



1150057298



IQ

T/UNICAMP P414m

Universidade Estadual de Campinas
Instituto de Química
Departamento de Química Analítica

***MATERIAIS ADSORVENTES PARA A PRÉ-CONCENTRAÇÃO DE
CÁDMIO E CHUMBO EM SISTEMA DE FLUXO ACOPLADO A
ESPECTRÔMETRO DE ABSORÇÃO ATÔMICA***

**Madson de Godoi Pereira
Químico**

Orientador: Prof. Dr. Marco Aurélio Zezzi Arruda

Campinas
Estado de São Paulo – Brasil
28 de Outubro de 2003

BIB ID 314205

P414m **Pereira, Madson de Godoi**
Materiais adsorventes para pré-concentração de cádmio e chumbo em sistema de fluxo acoplado a espectrômetro de absorção atômica / Madson de Godoi Pereira. -- Campinas, SP: [s.n], 2003.

Orientador: Marco Aurélio Zezzi Arruda

Tese (doutorado) – Universidade Estadual de Campinas, Instituto de Química.

1. Adsorventes humificados. 2. FAAS. 3. TS-FF-AAS. 4. Fulerita. I. Arruda, Marco Aurélio Zezzi. II. Universidade Estadual de Campinas. III. Título.

DEDICATÓRIA

Mesmo que passasse a eternidade proferindo palavras de agradecimento ao meu Senhor, ainda assim seria pouco para expressar o imenso amor deste Deus maravilhoso, que é o meu Deus. A Ele, o Rei da Fidelidade, rendo graças e dedico minha vida e tese.

Compartilho com minha amada esposa, Lourdes Cardoso de Souza Neta, as alegrias de uma vida de amor e compreensão.

Aos meus amados pais, José Aparecido Pereira e Maria Efigênia de Godoi Pereira, expresso sinceros agradecimentos por uma vida de dedicação.

A todos os meus familiares que me incentivaram ao longo desta caminhada.

À Igreja do Nazareno Central de Campinas, pelas constantes orações.

Aos amigos Sr. Alceu, Sra. Marieta e Toni pela abençoada disponibilidade em me amparar em minha chegada à Campinas. Sem a ajuda de vocês, tudo teria sido mais difícil.

AGRADECIMENTOS

- Ao Instituto de Química da UNICAMP, pela oportunidade concedida.
- À FAPESP, pelo suporte financeiro.
- Ao professor Dr. Marco Aurélio Zezzi Arruda, pela orientação, confiança e amizade.
- Aos colegas e amigos, Adriana, Alessandra, Aline, André, Araceli, César, Clésia, Cristiana, Edenir, Fabíola, Flávia, Geraldo, Jerusa, Joselito, Luciana, Marcel, pela valiosa disponibilidade.
- Aos professores e funcionários do Instituto de Química da UNICAMP, pela boa vontade em ajudar.
- A todos que, de uma forma direta ou indireta, contribuíram na execução deste trabalho.
- A todos o meu muito obrigado e desculpem-me qualquer falha...

“O sucesso é vazio se você atingir a linha de chegada sozinho”

Howard Schultz

Existem quatro coisas na vida que não se recuperam:

A pedra depois de atirada,

A palavra depois de proferida,

A ocasião depois de perdida e

O tempo depois de passado.

Autor desconhecido

SÚMULA CURRICULAR

1. Dados pessoais

Brasileiro; Casado; 28 anos (E-mail: madson-pereira@ig.com.br)

2. Formação acadêmica

- 1997 - 1999 Mestrado em Agroquímica (Química Analítica Ambiental)
Universidade Federal de Viçosa, Viçosa - MG.
- 1993 - 1997 Bacharelado e Licenciatura em Química
Universidade Federal de Viçosa, Viçosa - MG.

3. Principais atividades docentes

- Participação no Programa de Estágio Docente (PED - nível II); carga horária de 135 h (Química Geral - QG100) e 135 h (Química Analítica III - QA313). Universidade Estadual de Campinas (Campinas - SP).

4. Estágio

Trombini Papel e Embalagens S.A. (Ponte Nova – MG) no período de 17/02/1997 a 07/03/1997 com carga horária de 160 h. Áreas de atuação: Tratamento de efluentes, laboratório físico e químico e processo de fabricação do papel.

5. Trabalhos apresentados em congressos internacionais

- *Cadmium and lead preconcentrations by using fullerite and thermospray flame furnace atomic absorption spectrometry.* 2003. Colloquium Spectroscopicum Internationale CSI XXXIII (Granada - Espanha).
- *On-line lead preconcentration using an alternative humic substance as adsorbent.* 2002. Seventh Rio Symposium on Atomic Spectrometry; Universidade Federal de Santa Catarina (Florianópolis - SC).

- *Interactions between cadmium and humic material: principles and preconcentration purposes by using AAS*. 2001. Colloquium Spectroscopicum Internationale CSI XXXII (Pretória - África do Sul).
- *Vermicompost as a new material for preconcentration approaches: characterization and potentialities*. 2000. Sixth Rio Symposium on Atomic Spectrometry; Universidad de Concepción (Concepción - Chile).

5. Patente

Patente: Privilégio e Inovação. N° PI0201464-5, Utilização de vermicomposto como material adsorvente de metais para o tratamento de efluentes. 28/02/2002.

6. Principais artigos publicados

- Pereira, MG, Arruda, MAZ. Vermicompost as a natural adsorbent material: characterization and potentialities for cadmium adsorption. *J. Braz. Chem. Soc.* 2003; 14(1): 39-47.
- Pereira, MG, Arruda, MAZ. Trends in preconcentration procedures for metal determination using atomic spectrometry techniques. *Microchim. Acta* 2003; 141(1-2): 115-131.
- Jordão, CP, Pereira, MG, Bellato, CR, Pereira, JL, Matos, AT. Assessment of water systems for contaminants from domestic and industrial sewages. *Environ. Monit. Assess.* 2002; 79(1): 75-100.
- Jordão, CP, Pereira, MG, Pereira, JL. Effects of kaolin processing plants on the water quality of streams in Brazil. *Toxicol. Environ. Chem.* 2002; 82(3/4): 139-158.
- Jordão, CP, Pereira, MG, Pereira, JL. Metal contamination of river waters and sediments from effluents of kaolin processing in Brazil. *Water Air Soil Poll.* 2002; 140(1-4): 119-138.
- Jordão, CP, Pereira, MG, Einloft, R, Santana, MB, Bellato, CR, de Melo, JWV. Removal of Cu, Cr, Ni, Zn and Cd from electroplating wastes and synthetic solutions by vermicompost of cattle manure. *J. Environ. Sci. Heal A.* 2002; 37(5): 875-892.

MATERIAIS ADSORVENTES PARA A PRÉ-CONCENTRAÇÃO DE CÁDMIO E CHUMBO EM SISTEMA DE FLUXO ACOPLADO A ESPECTRÔMETRO DE ABSORÇÃO ATÔMICA

Aluno: Madson de Godoi Pereira

Orientador: Prof. Dr. Marco Aurélio Zezzi Arruda

RESUMO

Esta tese descreve a utilização de dois adsorventes naturais (vermicomposto e ácido húmico) e de um sintético (fulerita) para a pré-concentração de Cd e Pb. Após otimização, os analitos foram pré-concentrados em colunas contendo 25 mg de cada adsorvente natural com posterior determinação por FAAS (*Flame Atomic Absorption Spectrometry*). Ambos os metais foram pré-concentrados durante 4 min a $4,0 \text{ mL min}^{-1}$ e eluídos com 220 μL de HNO_3 1 mol L^{-1} (Pb em ácido húmico) ou 3 mol L^{-1} (demais experimentos) na mesma vazão. Limites de detecção de 0,4 a 12,1 $\mu\text{g L}^{-1}$ foram verificados e os fatores de pré-concentração variaram de 27 a 82. A exatidão foi comprovada pela análise de água, medicamento e alimentos fortificados com Cd e Pb (comparação com a GFAAS – *Graphite Furnace Atomic Absorption Spectrometry*) e amostras biológicas certificadas. Os sistemas pré-concentradores contendo fullerita (40 mg) foram operados em vazões de pré-concentração e de eluição de 2,0 e 0,9 mL min^{-1} , respectivamente e a concentração do complexante amônio pirrolidinaditiocarbamato foi mantida em 0,05 ou 0,2% (m/v) dependendo da matriz. O eluente empregado foi etanol a 80% (v/v) e a técnica de detecção foi a TS-FF-AAS (*Thermospray Flame Furnace Atomic Absorption Spectrometry*). Os limites de detecção foram de 0,4 (Cd) e 2,4 (Pb) $\mu\text{g L}^{-1}$ e fatores de pré-concentração de 675 (Cd) e 201 (Pb) foram atingidos. A exatidão foi atestada com amostras de água fortificadas com Cd e Pb (comparação com a GFAAS) e com amostras biológicas certificadas.

**ADSORBENT MATERIALS FOR CADMIUM AND LEAD
PRECONCENTRATION BY USING FLOW INJECTION SYSTEMS COUPLED TO
ATOMIC ABSORPTION SPECTROMETER**

Author: Madson de Godoi Pereira

Advisor: Prof. Dr. Marco Aurélio Zezzi Arruda

ABSTRACT

This thesis describes the application of two natural adsorbents (vermicompost and humic acid) and one synthetic (fullerite) for preconcentrations of Cd and Pb. After optimization, the analytes were preconcentrated in columns packed with 25 mg of each natural adsorbent with posterior determination by FAAS (Flame Atomic Absorption Spectrometry). Both metals were preconcentrated during 4 min (at 4.0 mL min⁻¹) and eluted with 220 µL of 1.0 mol L⁻¹ HNO₃ (Pb in humic acid) or 3.0 mol L⁻¹ (for other experiments) using the same flow rate. Detection limits from 0.4 to 12.1 µg L⁻¹ were obtained, while the preconcentration factors varied from 27 to 82. The accuracy was checked by using fortified (with Cd and Pb) water, pharmaceutical and food samples (comparing to GFAAS – Graphite Furnace Atomic Absorption Spectrometry) and biological certified materials. At the optimized conditions, the preconcentrator systems containing fullerite (40 mg) were operated at preconcentration and elution flow rates of 2.0 and 0.9 mL min⁻¹, respectively and the concentration of the chelating agent ammonium pyrrolidinedithiocarbamate was 0.05 or 0.2% (m/v) depending on matrix composition. Ethanol at 80% (v/v) was employed as eluent and TS-FF-AAS (Thermospray Flame Furnace Atomic Absorption Spectrometry) was used as detection technique. Detection limits of 0.4 and 2.4 µg L⁻¹ were observed for Cd and Pb, respectively, while preconcentration factors of 675 (Cd) and 201 (Pb) were attained. The accuracy was checked by analyzing fortified water samples (with Cd and Pb) and biological certified materials.

SUMÁRIO

	Página
SUMÁRIO	xvii
LISTA DE ABREVIATURAS	xxi
LISTA DE TABELAS	xxxiii
LISTA DE FIGURAS	xxvii
LISTA DE QUADROS	xxxi
1. INTRODUÇÃO GERAL	1
1.1. Estrutura da tese	2
1.2. Objetivos gerais	2
2. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS	2
CAPÍTULO 1	5
1. OBJETIVOS	6
2. REVISÃO DE LITERATURA	7
2.1. Cádmio e chumbo: ocorrência, principais usos e toxicologia	7
2.1.1. Cádmio	7
2.1.2. Chumbo	8
2.2. Metodologias de determinação de Cd e Pb usando a FAAS como técnica de detecção	10
2.2.1. Pré-concentração de Cd e Pb por extração sólido-líquido	10
2.2.1.1. Adsorventes sintéticos	11
2.2.1.2. Adsorventes naturais	15
2.2.1.2.1. Substâncias húmicas: definição, características e origem	16
3. PARTE EXPERIMENTAL	19

3.1. Instrumentação	19
3.2. Padrões, reagentes e amostras	20
3.3. Procedimentos	22
3.3.1. Caracterização física e química	22
3.3.1.1. Vermicomposto	22
3.3.1.1.1. Medidas de pH e umidade	22
3.3.1.1.2. Teores totais de cinza e matéria orgânica	22
3.3.1.1.3. Espectroscopia no IV, composição elementar, difratometria de raios-X e microscopia eletrônica de varredura	23
3.3.1.1.4. Análise granulométrica	23
3.3.1.1.5. Teores trocáveis de Ca, Mg, Na e K	23
3.3.1.1.6. Acidez trocável e potencial	24
3.3.1.1.7. CTC efetiva e potencial	24
3.3.1.1.8. Concentrações totais de Cd e Pb	24
3.3.1.1.9. Otimização dos parâmetros adsortivos	25
3.3.1.1.10. Isoterma de adsorção e experimentos preliminares de pré-concentração	26
3.3.1.2. Ácido húmico (etapas de caracterização)	26
3.3.2. Otimização dos sistemas pré-concentradores empregando vermicomposto e ácido húmico como adsorventes	27
3.3.3. Influência da vazão de pré-concentração sobre a cinética de adsorção	28
3.3.4. Avaliação do desempenho analítico	28
3.3.4.1. Homogeneidade e estabilidade do vermicomposto e ácido húmico	29

3.3.4.2. Faixa linear, cálculo dos fatores de pré-concentração, limites de detecção (LD) e quantificação (LQ) e precisão	29
3.3.4.3. Testes de seletividade	29
3.3.4.4. Testes de exatidão	32
4. RESULTADOS E DISCUSSÃO	34
4.1. Caracterização física e química (vermicomposto e ácido húmico)	34
4.2. Otimização dos sistemas pré-concentradores contendo vermicomposto e ácido húmico como adsorventes	54
4.3. Influência da vazão de pré-concentração sobre a cinética de adsorção	58
4.4. Desempenho analítico	59
4.4.1. Homogeneidade e estabilidade do vermicomposto e ácido húmico	59
4.4.2. Faixa linear, cálculo dos fatores de pré-concentração, limites de detecção (LD) e quantificação (LQ) e precisão	61
4.4.3. Testes de seletividade	64
4.4.4. Testes de exatidão	71
5. CONCLUSÕES	73
6. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS	75
ANEXOS	89
CAPÍTULO 2	93
1. OBJETIVOS	94
2. REVISÃO DE LITERATURA	94
2.1. Fullerenos: obtenção e características	94
2.2. Princípios da TS-FF-AAS	97
2.2.1. Potencialidades do acoplamento da TS-FF-AAS a um sistema pré-concentrador	100

3. PARTE EXPERIMENTAL	100
3.1. Instrumentação	100
3.2. Padrões, amostras e reagentes	101
3.3. Procedimentos	101
3.3.1. Análise de superfície da fullerita	101
3.3.2. Testes preliminares sobre os sistemas pré-concentradores	102
3.3.3. Otimização definitiva dos sistemas pré-concentradores	103
3.3.4. Avaliação do desempenho analítico	104
3.3.4.1. Faixa linear, cálculo dos fatores de pré-concentração, limites de detecção (LD) e quantificação (LQ) e precisão	104
3.3.4.2. Testes de exatidão	105
4. RESULTADOS E DISCUSSÃO	106
4.1. Análise de superfície da fullerita	106
4.2. Testes preliminares	106
4.3. Otimização definitiva dos sistemas pré-concentradores	109
4.4. Avaliação do desempenho analítico	118
4.4.1. Faixa linear, cálculo dos fatores de pré-concentração, limites de detecção (LD) e quantificação (LQ) e precisão	118
4.4.2. Testes de exatidão	119
5. CONCLUSÕES	121
6. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS	122
CONCLUSÕES GERAIS	127

LISTA DE ABREVIATURAS

BIFF-AAS - Espectrometria de Absorção Atômica com Tubo na Chama e Jato de Amostra (do Inglês *Beam Injection Flame Furnace Atomic Absorption Spectrometry*)

CTC - Capacidade de Troca Catiônica

FAAS – Espectrometria de Absorção Atômica com Chama (do Inglês, *Flame Atomic Absorption Spectrometry*)

FAES – Espectrometria de Emissão Atômica com Chama (do Inglês, *Flame Atomic Emission Spectrometry*)

FIA – Análise por Injeção em Fluxo (do Inglês, *Flow Injection Analysis*)

GFAAS – Espectrometria de Absorção Atômica com Forno de Grafite (do Inglês, *Graphite Furnace Atomic Absorption Spectrometry*)

ICP OES – Espectrometria de Emissão Atômica por Plasma Indutivamente Acoplado (do Inglês, *Inductively Coupled Plasma Optical Emission Spectrometry*)

ICP-MS – Espectrometria de Massa por Plasma Indutivamente Acoplado (do Inglês, *Inductively Coupled Plasma Mass Spectrometry*)

IV - Infravermelho

TS – *Thermospray*

TS-FF-AAS – Espectrometria de Absorção Atômica com Tubo na Chama e Spray Térmico (do Inglês, *Thermospray Flame Furnace Atomic Absorption Spectrometry*)

LISTA DE TABELAS

	Página
Tabela 1: Valores de pH e umidade (somente vermicomposto) e teores totais de matéria orgânica e cinzas (ácido húmico e vermicomposto)	34
Tabela 2: Determinação granulométrica das amostras de vermicomposto, em % (m/m)	38
Tabela 3: Concentrações totais de C, N e H dos compostos humificados, em % (m/m)	40
Tabela 4: Valores ($\text{cmol}_c \text{ kg}^{-1}$) da acidez trocável (AT) e potencial (AP) e das concentrações trocáveis de Ca, Mg, Na e K	41
Tabela 5: Valores de CTC efetiva e potencial, em $\text{cmol}_c \text{ kg}^{-1}$	41
Tabela 6: Dados referentes aos experimentos adsorptivos de Cd em vermicomposto e ácido húmico	44
Tabela 7: Dados referentes aos experimentos adsorptivos de Pb em vermicomposto	45
Tabela 8: Dados referentes aos experimentos adsorptivos de Pb em ácido húmico	46
Tabela 9: Dados sobre a saturação dos adsorventes humificados em relação ao Cd	47
Tabela 10: Dados sobre a saturação dos adsorventes humificados em relação ao Pb	51
Tabela 11: Resultados dos experimentos de pré-concentração (Cd em vermicomposto)	54
Tabela 12: Dados referentes à otimização (planejamento fatorial) dos sistemas pré-concentradores para Cd usando vermicomposto e ácido húmico como adsorventes	55

Tabela 13: Dados referentes à otimização (planejamento fatorial) dos sistemas pré-concentradores para Pb usando vermicomposto e ácido húmico como adsorventes	56
Tabela 14: Áreas de pico (A.s) obtidas dos testes da influência da vazão de pré-concentração sobre a cinética de adsorção de Cd e Pb	59
Tabela 15: Resultados dos testes de homogeneidade para os adsorventes humificados	59
Tabela 16: Fatores de pré-concentração para as metodologias de determinação de Cd e Pb empregando vermicomposto e ácido húmico como pré-concentradores	63
Tabela 17: Limites de detecção e de quantificação dos métodos de determinação de Cd e Pb empregando vermicomposto e ácido húmico como pré-concentradores	63
Tabela 18: Efeitos de concomitantes sobre o sinal do Cd	65
Tabela 19: Efeitos de concomitantes sobre o sinal do Pb	68
Tabela 20: Resultados dos testes de exatidão das metodologias de determinação de Cd empregando amostras fortificadas (n=3)	72
Tabela 21: Resultados dos testes de exatidão das metodologias de determinação de Pb empregando amostras fortificadas (n=3)	72
Tabela 22: Resultados dos testes de exatidão das metodologias de determinação de Cd e Pb ($\mu\text{g kg}^{-1}$) empregando material certificado e de referência (n=3)	73
Tabela 23: Características estabelecidas nas etapas de otimização e avaliação dos sistemas pré-concentradores para Cd e Pb	74
Tabela 24: Absorbâncias máximas obtidas após a pré-concentração de Cd nos testes preliminares (variação de acordo como o pH de complexação)	108

Tabela 25: Variações na absorbância máxima para Cd com o pH da amostra	109
Tabela 26: Variações na absorbância máxima para Pb de acordo com o pH da amostra	111
Tabela 27: Variações na absorbância máxima para Cd e Pb de acordo com a concentração do APDC	112
Tabela 28: Variações na absorbância máxima para Cd e Pb de acordo com o comprimento da bobina de reação	113
Tabela 29: Variações na absorbância máxima para Cd e Pb de acordo com a vazão de pré-concentração	115
Tabela 30: Variações na absorbância máxima para Cd e Pb de acordo com a vazão de eluição	116
Tabela 31: Dados referentes aos testes de exatidão (n=5) das metodologias de determinação de Cd e Pb pelo uso de amostras de água (sem adição de analito)	120
Tabela 32: Dados referentes aos testes de exatidão das metodologias de determinação de Cd e Pb pelo emprego de materiais certificados de referência	120
Tabela 33: Características estabelecidas nas etapas de otimização e avaliação das metodologias de determinação de Cd e Pb empregando a fullerita como adsorvente	121

LISTA DE FIGURAS

	Página
Figura 1: Estrutura da lignina	17
Figura 2: (a) Pré-concentração e (b) Eluição. S – solução contendo Cd ou Pb, D - descarte, C-coluna adsorvente, A - alça de eluição, FC - frasco de coleta.	28
Figura 3: Perfis termogravimétricos - (a) MH, (b) SM, (c) XA e (d) ácido húmico	36
Figura 4: Espectros no IV - (a) MH; (b) SM; (c) XA e (d) ácido húmico	37
Figura 5: Difrátogramas de raios-X - (a) MH; (b) SM; (c) XA e (d) ácido húmico	38
Figura 6: Micrografias eletrônicas – (a) MH 2000X; (b) SM 750X; (c) XA 2000X e (d) ácido húmico 750X	39
Figura 7: Perfil de lixiviação do Pb em vermicomposto	42
Figura 8: Superfície resposta para a adsorção de Cd: (a) vermicomposto, (b) ácido húmico. Equação 1: $\text{Ads. Cd (\%)} = 37,0 + 14,3 \times \text{pH} - 15,0 \times \text{pH}^2$ e equação 2: $\text{Ads. Cd (\%)} = 17,1 + 9,7 \times \text{pH} - 5,1 \times \text{pH}^2 - 0,7 \times \text{pH} \times \text{TA}$, onde TA significa tempo de agitação	44
Figura 9: Superfície resposta para a adsorção de Pb: (a) vermicomposto, (b) ácido húmico. Equação 3: $\text{Ads Pb (\%)} = 27,8 + 19,6 \times \text{pH} + 5,4 \times \text{TA}$ e equação 4: $\text{Ads Pb (\%)} = 83,9 + 24,1 \times \text{pH} + 4,2 \times \text{TA} - 26,8 \times \text{pH}^2 - 6,5 \times \text{TA}^2$, onde TA significa tempo de agitação	47
Figura 10: Isoterma de adsorção do Cd em vermicomposto	48
Figura 11: Linearização dos dados referentes à adsorção do Cd em vermicomposto	49
Figura 12: Isoterma de adsorção do Cd em ácido húmico	50
Figura 13: Isoterma de adsorção do Pb em vermicomposto	51

Figura 14: Linearização dos dados referentes à adsorção do Pb em vermicomposto	52
Figura 15: Isoterma de adsorção do Pb em ácido húmico	53
Figura 16: Superfície resposta para a otimização dos sistemas pré-concentradores para Cd: (a) vermicomposto e (b) ácido húmico	55
Figura 17: Superfície resposta para a otimização dos sistemas pré-concentradores para Pb: (a) vermicomposto e (b) ácido húmico	57
Figura 18: Perfis de sinal empregando vermicomposto como adsorvente: (a) Cd e (b) Pb	58
Figura 19: Perfis de sinal empregando ácido húmico como adsorvente: (a) Cd e (b) Pb	58
Figura 20: Gráficos de estabilidade: (a) vermicomposto e (b) ácido húmico com cada ponto representando a média de cinco valores de área de pico	60
Figura 21: Faixa linear das metodologias de determinação de Cd: (a) vermicomposto e (b) ácido húmico	61
Figura 22: Faixa linear das metodologias de determinação de Pb: (a) vermicomposto e (b) ácido húmico	62
Figura 23: Faixa linear obtida sem a etapa de pré-concentração: (a) Cd e (b) Pb	62
Figura 24: Estrutura do C ₆₀	95
Figura 25: Estrutura do APDC	97
Figura 26: Tubo de níquel posicionado sobre o suporte	98
Figura 27: Tubo de níquel aquecido sobre a chama ar/acetileno	99
Figura 28: Configuração do sistema FIA usado nos testes preliminares: (a) pré-concentração e (b) eluição. S - solução Cd-APDC, E- MIBC, etanol absoluto ou a 80% (v/v), C - coluna preenchida com 20 mg de fullerita, D - descarte, TN - Tubo de Ni, Q - Queimador, CC - Capilar cerâmico	102

Figura 29: Configuração do sistema FIA usado nos testes definitivos de pré-concentração de Cd e Pb: (a) pré-concentração e (b) eluição. A – Alça de amostragem, S – Solução da amostra, E – etanol a 80% (v/v), C – coluna preenchida com fullerita, D – descarte, TN – tubo de Ni, Q – Queimador, CC – Capilar cerâmico, APDC - solução do complexante amônio pirrolidinaditiocarbamato	103
Figura 30: Fotografia da fullerita (32X)	106
Figura 31: Variação do sinal do Cd em função do pH de complexação	108
Figura 32: Variação do sinal para Cd em função do pH da amostra	110
Figura 33: Variação do sinal para Pb em função do pH da amostra	111
Figura 34: Variação do sinal para Cd e Pb em função da concentração do APDC	112
Figura 35: Variação do sinal para Cd e Pb em função do comprimento da bobina de reação	114
Figura 36: Variação do sinal para Cd e Pb em função da vazão de pré-concentração	115
Figura 37: Variação do sinal para Cd e Pb em função da vazão de eluição	116
Figura 38: Perfil de sinal para Cd nas condições otimizadas	117
Figura 39: Perfil de sinal para Pb nas condições otimizadas	117
Figura 40: Faixa linear das metodologias de determinação de (a) Cd e (b) Pb	118
Figura 41: Faixa linear obtida sem a etapa de pré-concentração: (a) Cd e (b) Pb	119

LISTA DE QUADROS

	Página
Quadro 1: Ocorrência do Cd em diferentes amostras	7
Quadro 2: Ocorrência do Pb em diferentes amostras	9
Quadro 3: Aplicações relacionadas a procedimentos de pré-concentração de Cd e Pb por extração sólido-líquido empregando adsorventes quelantes e outros tipos de adsorventes (1995 a 2003)	12
Quadro 4: Aplicações relacionadas a procedimentos de pré-concentração de Cd e Pb por extração sólido-líquido empregando adsorventes naturais (1990 a 2003)	16
Quadro 5: Sais utilizados no preparo das soluções dos testes de concomitantes	21
Quadro 6: Programa empregado na decomposição total de vermicomposto (duração de 35 min)	24
Quadro 7: Combinações efetuadas nos planejamentos fatoriais 3^2	25
Quadro 8: Combinações efetuadas no planejamento fatorial 2^2	25
Quadro 9: Combinações efetuadas nos planejamentos fatoriais 2^3	27
Quadro 10: Relações observadas entre as concentrações de concomitantes e a concentração de Cd e Pb em água certificada	30
Quadro 11: Faixa de relações entre a concentração dos concomitantes e a concentração de Cd e Pb	31
Quadro 12: Concentrações dos concomitantes	31
Quadro 13: Amostras empregadas nos testes de exatidão	32
Quadro 14: Programa de aquecimento usado na decomposição por microondas das amostras de rim de porco e de folhas de faia (duração: 17 min)	34

Quadro 15: Capacidade máxima adsortiva para cádmio em alguns materiais	49
Quadro 16: Capacidade máxima adsortiva para chumbo em alguns materiais	52
Quadro 17: Influência do tipo de resina sobre os efeitos concomitantes para Pb	70
Quadro 18: Aplicações dos fulerenos e seus derivados	95
Quadro 19: Trabalhos relevantes sobre o emprego de fulereno em sistemas pré-concentradores de metais acoplados à espectrometria de absorção atômica (1994-2003)	96
Quadro 20: Aplicações do APDC como complexante de espécies metálicas	97
Quadro 21: Programa de aquecimento usado na decomposição por microondas das amostras de gramínea de centeio (duração: 17 min)	105

1. INTRODUÇÃO GERAL

As determinações de elementos químicos em reduzidas concentrações ($\leq \mu\text{g L}^{-1}$) constituem-se em um dos mais proeminentes desafios da química analítica [1], visto que o desenvolvimento de metodologias apresentando boa sensibilidade é de suma importância para a medicina [2], meio ambiente, nutrição [3,4], geoquímica [5], arqueologia [6], entre outras áreas.

A espectrometria de absorção atômica com chama (FAAS) tem sido extensivamente empregada na determinação de diversas espécies [7]. Entretanto, limites de detecção na ordem de mg L^{-1} inviabilizam o uso desta técnica em análises de amostras contendo reduzidas concentrações dos analitos. Alternativas no sentido de melhorar a sensibilidade da FAAS residem, principalmente, em três mecanismos: a) etapas de pré-concentração [8], b) modificações no processo de introdução da amostra, ressaltando-se o emprego do spray térmico (TS-FF-AAS) [9] e c) aumento no tempo de residência dos analitos no caminho ótico.

Dentre as diferentes modalidades de pré-concentração, a extração sólido-líquido é largamente utilizada em virtude da simplicidade de operação e dos acentuados fatores de enriquecimento [10], motivos pelos quais se adotou a referida modalidade no desenvolvimento deste trabalho. Vários tipos de adsorventes sintéticos têm sido reportados em procedimentos de pré-concentração de cátions e ânions, enquanto que a grande maioria das publicações associada aos adsorventes naturais refere-se à biossorção, onde células microbianas são empregadas para pré-concentrar diferentes elementos [11].

No intuito de ampliar o número de adsorventes naturais orgânicos empregados em sistemas pré-concentradores, o presente trabalho propõe o uso do vermicomposto e ácido húmico comercial em procedimentos visando à determinação de Cd e Pb por FAAS. Além desta aplicação inédita, esta tese também emprega a fullerita (90% de C_{60} e 10% de C_{70}), um adsorvente sintético ainda pouco explorado, para a pré-concentração de Cd e Pb tendo a TS-FF-AAS como técnica de detecção. A última naturalmente garante limites de detecção na ordem de $\mu\text{g L}^{-1}$ e o acoplamento desta técnica a etapas de pré-concentração pode oferecer reduções

excepcionais nestes limites, tornando-os comparáveis aos obtidos pela GFAAS, justificando, deste modo, a execução da referida parte experimental.

1.1. Estrutura da tese

Para um melhor entendimento da tese, o seu conteúdo foi dividido em dois capítulos, sendo o primeiro dedicado à caracterização e aplicação dos adsorventes vermicomposto e ácido húmico como pré-concentradores de Cd e Pb e, o segundo, a aspectos relacionados ao uso da fullerita com este mesmo propósito.

1.2. Objetivos gerais

Os objetivos gerais desta tese podem ser assim delineados:

- Caracterização do vermicomposto e ácido húmico;
- Otimização das metodologias de determinação de Cd e Pb empregando os diferentes sistemas pré-concentradores contendo vermicomposto, ácido húmico ou fullerita acoplados à FAAS ou à TS-FF-AAS;
- Avaliação das figuras de mérito das metodologias citadas no item anterior.

2. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

[1] Alfassi, ZB, Wai, CM. *Preconcentration techniques for trace elements*. CRC Press, London, 1992, 461p.

[2] McKenzie, HA, Smythe, LE. *Quantitative trace analysis of biological materials*. Elsevier, New York, 1988, 791p.

[3] Yebra-Biurrun, MC, García-Garrido, A. Continuous flow systems for the determination of trace elements and metals in seafood. *Food Chem.* 2001; 72(3): 279-287.

- [4] Cid, BP, Boia, C, Pombo, L, Rebelo, E. Determination of traces metals in fish species of the Ria de Aveiro (Portugal) by electrothermal atomic absorption spectrometry. *Food Chem.* 2001; 75(1): 93-100.
- [5] Dalway, JS. Why trace metals are important. *Fuel Process. Technol.* 2000; (65-66): 21-33.
- [6] Mallory-Greenough, LM, Greenough, JD. New data for old pots: trace-element characterization of ancient egyptian pottery using ICP-MS. *J. Archeol. Sci.* 1998; 25(1): 85-97.
- [7] Robinson, JW. *Atomic Spectroscopy*, 2nd edition. Marcel Dekker, Inc., New York, 1996, 391p.
- [8] Pyrzyńska, K, Trojanowicz, M. Functionalized cellulose sorbents for preconcentration of trace metals in environmental analysis. *Crit. Rev. Anal. Chem.* 1999; 29(4): 313-321.
- [9] Zhang, X, Chen, D, Marquardt, R, Koropchak, JA. Thermospray sample introduction to atomic spectrometry. *Microchem. J.* 2000; 66(1-3): 17-53.
- [10] Devon, JR, Butler, O, Fisher, A, Garden, LM, Cresser, MC, Watkins, P, Cave, M. Atomic spectrometry update-environmental analysis. *J. Anal. Atom. Spectrom.* 1998; 13(2): 1R-56R.
- [11] Pereira, MG, Arruda, MAZ. Trends in preconcentration procedures for metal determination using atomic spectrometry techniques. *Microchim. Acta* 2003; 141(1-2): 115-131.

CAPÍTULO 1

DESENVOLVIMENTO DAS METODOLOGIAS PARA A DETERMINAÇÃO DE CÁDMIO E CHUMBO EMPREGANDO VERMICOMPOSTO E ÁCIDO HÚMICO COMO PRÉ- CONCENTRADORES E FAAS COMO TÉCNICA DE DETECÇÃO

1. OBJETIVOS

Além da exposição conceitual referente à ocorrência, uso e toxicologia do Cd e Pb, aos procedimentos de pré-concentração destes analitos por extração sólido-líquido acoplada à FAAS e à produção e estrutura dos compostos humificados, este capítulo também apresenta como objetivos a descrição dos seguintes aspectos experimentais:

- Quantificação dos teores totais de matéria orgânica, cinzas, carbono, nitrogênio, hidrogênio, cádmio e chumbo presentes no vermicomposto e ácido húmico;
- Identificação, na composição dos adsorventes humificados, de grupos funcionais orgânicos (por meio da espectroscopia no IV) e estruturas cristalinas (por meio da difratometria de raios-X);
- Avaliação da distribuição granulométrica do vermicomposto;
- Análise, por microscopia eletrônica de varredura, da morfologia das partículas de vermicomposto e ácido húmico;
- Elucidação dos perfis adsorptivos do Cd e Pb no vermicomposto e ácido húmico;
- Construção das isotermas de adsorção destes analitos nos adsorventes humificados;
- Determinação dos valores de pH, umidade, concentrações trocáveis de cálcio, magnésio, sódio e potássio, acidez trocável e potencial das amostras de vermicomposto, assim como a estimativa da capacidade de troca catiônica efetiva (CTC_{ef}) e potencial (CTC_{pot}) deste adsorvente;
- Realização de testes acerca da capacidade de pré-concentração do vermicomposto em relação ao cádmio;
- Otimização, para ambos os adsorventes humificados, das metodologias de determinação de cádmio e chumbo por meio do acoplamento dos sistemas pré-concentradores à FAAS;
- Estudos da influência da vazão de pré-concentração sobre a cinética de adsorção de Cd e Pb nos adsorventes vermicomposto e ácido húmico;

- Avaliação do desempenho analítico dos métodos anteriormente descritos.

2. REVISÃO DE LITERATURA

2.1. Cádmio e chumbo: ocorrência, principais usos e toxicologia

2.1.1. Cádmio

O cádmio apresenta reduzida ocorrência natural (Quadro 1), ocupando o 67º lugar na ordem de abundância na crosta terrestre. Este metal se encontra predominantemente ligado ao enxofre na forma de CdS e se constitui no principal co-produto do beneficiamento dos minérios de zinco [1].

Quadro 1: Ocorrência do Cd em diferentes amostras [1]

Amostras	Concentração média
Água de mar	$< 0,2 \mu\text{g L}^{-1}$
Água potável	$5 \mu\text{g L}^{-1}$
Águas naturais	$< 1 \mu\text{g L}^{-1}$
Solos não poluídos	$0,4 \mu\text{g kg}^{-1}$
Plantas	$0,05 - 2 \mu\text{g kg}^{-1}$
Tecidos humanos	$700 \mu\text{g kg}^{-1}$

As aplicações industriais do cádmio residem, principalmente, em atividades de recobrimento de superfícies ferrosas no intuito de retardar processos de corrosão. Estes recobrimentos, além de apresentarem boa resistência à alcalinidade e à presença de sais, exibem alta ductibilidade e possuem brilho intenso [2]. Adicionalmente, o cádmio é aplicado na fabricação do PVC como estabilizante térmico, na produção de células fotocondutoras e fotoelétricas e, também, na formulação de fungicidas [3].

Entre os metais tóxicos, o cádmio apresenta meia-vida biológica relativamente elevada (cerca de 20 anos), o que ocasiona problemas de bioacumulação [4,5]. Os efeitos induzidos pela contaminação com cádmio são manifestados por uma variedade de sintomas, tais como: disfunções renais, hipertensão, infertilidade, edemas pulmonares e doenças ósseas. Ao nível bioquímico, o cádmio é responsável pela inativação de enzimas devido à sua afinidade pelos grupamentos sulfidrilas (-SH) de aminoácidos como cisteína e cistina [6-8]. Ainda como efeitos toxicológicos do cádmio, estudos recentes demonstraram que este metal é capaz de promover a autólise de células hepáticas de organismos marinhos [9], induzir a uma queda na produção espermática de pequenos mamíferos [10] e aumentar a quantidade das espécies reativas de oxigênio (NO, por exemplo); as quais são capazes de promover o surgimento de diversos tipos de tumores, artrites reumáticas, mal de Parkinson e a demência de Alzheimer [11]. À contaminação por cádmio, são ainda atribuídos distúrbios relacionados com perda de peso, hemorragia, rinofaringite, fibrose dos brônquios, efizema pulmonar e a morte de microorganismos aquáticos como algas, cianobactérias e protozoários [12,13].

Setenta por cento do cádmio em circulação no corpo humano são encontrados nas células sangüíneas. Parte deste encontra-se ligado às moléculas de metalotioneína e o restante disperso no plasma. Estudos em determinadas populações indicam que cerca de 50% da carga corporal se deposita nos rins, 15% no fígado e 20% nos músculos. Desta forma, o rim é considerado o órgão crítico e a intoxicação por cádmio leva primordialmente à lesão renal [7].

2.1.2. Chumbo

A ocorrência do chumbo se apresenta mais relevante que a observada para cádmio, conforme demonstrado no Quadro 2.

Quadro 2: Ocorrência do Pb em diferentes amostras [1]

Amostras	Concentração média
Água de mar	0,02 $\mu\text{g L}^{-1}$
Água potável	50 $\mu\text{g L}^{-1}$
Águas naturais	1 - 10 $\mu\text{g L}^{-1}$
Solos não poluídos	2 - 200 $\mu\text{g kg}^{-1}$
Tecidos humanos	500 - 2000 $\mu\text{g kg}^{-1}$

A ampla utilização do chumbo recai sobre características singulares tais como baixo ponto de fusão e resistência mecânica reduzida e, devido à sua inércia frente a processos corrosivos, é bastante empregado em instalações e equipamentos [14]. Ainda, o $\text{Pb}(\text{CH}_3\text{COO})_2$ é usado na produção de pesticidas e repelentes, ao passo que o $\text{Pb}(\text{NO}_3)_2$ encontra aplicação nas indústrias bélica e eletrônica. O composto PbO , por sua vez, atua como matéria-prima para a fabricação de vidros, tintas anticorrosivas e baterias [15].

Os efeitos prejudiciais do chumbo são bastante severos e são responsáveis por disfunções de ordem fisiológica, bioquímica e psíquica. Estudos indicam a elevada afinidade dos cátions chumbo por macromoléculas (lipídios principalmente) presentes nas membranas celulares, ocasionando deficiência na permeabilidade das mesmas. A intoxicação por chumbo pode também induzir à redução da atividade de importantes enzimas envolvidas em processos antioxidantes, destacando-se a catalase e a glutathione-peroxidase [16,17]. Além destes distúrbios, outras disfunções acrescentam-se aos danos induzidos pela intoxicação por chumbo. Neste sentido, são relatados casos de síndrome neuromuscular, devido à paralisia de nervos motores periféricos; anemia causada pela inibição de enzimas responsáveis pela biossíntese da hemoglobina; falências hepáticas, cardiovasculares e renais; esterilidade (em indivíduos de ambos os sexos); formação defeituosa de fetos e mutações genéticas [15]. Também, o desenvolvimento anormal dos neurônios e anomalias psíquicas (perda de memória, redução da capacidade de aprendizagem, aumento da irritabilidade, entre outros) são freqüentemente associados ao chumbo [18].

Em função da relevância toxicológica do cádmio e chumbo e das potenciais fontes de introdução destes metais no ambiente, torna-se necessária a busca pelo desenvolvimento e/ou aprimoramento de metodologias suficientemente sensíveis para permitir a determinação dos referidos elementos em variados tipos de amostra, conforme abordado na próxima seção.

2.2. Metodologias de determinação de Cd e Pb usando a FAAS como técnica de detecção

Em relação a outras técnicas de espectrometria atômica (GFAAS, ICP OES e ICP-MS, principalmente) empregadas na determinação de Cd e Pb, a FAAS exhibe características atraentes como baixos custos, alta frequência analítica e facilidade de operação [19]. Entretanto, esta técnica possui inadequada sensibilidade quando são consideradas concentrações diminutas das espécies de interesse, sendo esta limitação devida à baixa eficiência de amostragem e ao reduzido tempo (2 ms) de permanência dos analitos no caminho ótico [20]. Conforme comentado na Introdução Geral (página 1), os procedimentos mais comumente adotados no sentido de contornar este problema residem nas seguintes alternativas: etapas de pré-concentração; modificações no processo de introdução da amostra e aumento do tempo de residência dos analitos no caminho ótico.

Neste capítulo, são abordadas as etapas de pré-concentração com ênfase para a extração sólido-líquido, que foi a modalidade empregada na presente tese.

2.2.1. Pré-concentração de Cd e Pb por extração sólido-líquido

As principais modalidades de pré-concentração enquadram-se nos seguintes grupos: eletrodeposição, co-precipitação, precipitação, extração líquido-líquido e, notadamente, a extração sólido-líquido. A predominância desta última em relação às demais categorias de procedimentos é evidenciada na revisão de Pereira e Arruda [21], onde 60% dos trabalhos citados (entre 1996 e 2001) referem-se a este tipo de pré-concentração, à qual estão associadas as seguintes características:

simplicidade, elevada frequência analítica e adequados fatores de pré-concentração [21].

Segundo Cave *et al.* [22], as resinas trocadoras iônicas e/ou quelantes e as apolares (sem grupamentos químicos em sua estrutura) compreendem os principais grupos de adsorventes sintéticos empregados na extração sólido-líquido, ao passo que as células microbianas constituem-se na classe predominante dos adsorventes naturais. Nas próximas duas seções, são abordados aspectos sobre a estrutura dos pré-concentradores comentados neste parágrafo.

2.2.1.1. Adsorventes sintéticos

A estrutura básica dos adsorventes trocadores iônicos é formada pelo entrelaçamento de unidades monoméricas e, dependendo da natureza dos grupamentos localizados na parte periférica destes polímeros, a resina pode trocar ânions ou cátions [23].

Os adsorventes quelantes, por sua vez, são formados após a incorporação de grupamentos químicos específicos à estrutura polimérica das resinas de troca iônica no intuito de aumentar a seletividade das mesmas [21]. A diversidade dos grupos quelantes é bastante extensa e a escolha de um grupo em particular será ditada pela natureza do analito e da matriz analisada. Informações mais detalhadas acerca da produção e das características destas resinas podem ser encontradas na literatura [24-26].

A aplicabilidade dos adsorventes quelantes e de outros tipos de adsorventes na pré-concentração de Cd e Pb empregando a FAAS como técnica de detecção é atestada pelo elevado número de publicações (Quadro 3). No intuito de facilitar a apresentação deste Quadro, as resinas foram divididas em quelantes e não quelantes, sendo que as últimas incluem desde as resinas de simples troca catiônica ou aniônica até os sorventes como o C₁₈, sílica gel e carbono ativado.

Quadro 3: Aplicações relacionadas a procedimentos de pré-concentração de Cd e Pb por extração sólido-líquido empregando adsorventes quelantes e outros tipos de adsorventes (1995 a 2003)

Analito	Amostra	Tipo de adsorvente	Fator de pré-concentração	Referência
Pb ¹	Materiais biológicos	Quelante	27	27
Cd ²	Água marinha e de rio	Quelante	150	28
Pb ¹	Alimentos	Quelante	26	29
Cd ¹	Águas e materiais biológicos	Quelante	110	30
Pb ¹	Águas naturais	Quelante	47-197	31
Cd e Pb ²	Águas subterrâneas	Quelante	200	32
Cd ¹	Água marinha, materiais biológicos e geológicos	Não quelante	32	33
Pb ¹	Água de torneira e solos	Não quelante	13 -25	34
Cd e Pb ²	Água potável	Quelante	100 (Cd e Pb)	35
Cd e Pb ²	Efluentes	Não quelante	5 -150 (Cd e Pb)	36
Pb ¹	Soluções aquosas	Não quelante	23 -166	37

¹Sistema em linha ²Sistema em batelada

Quadro 3: Continuação

Analito	Amostra	Tipo de adsorvente	Fator de pré-concentração	Referência
Cd e Pb ²	Águas	Quelante	250 (Cd) e 200 (Pb) ¹	54
Cd e Pb ²	Água de lago	Quelante	400 (Cd e Pb)	55
Cd e Pb ²	Águas e sedimentos	Não quelante	300 (Cd e Pb)	56
Cd ¹	Materiais biológicos	Quelante	41	57
Cd ¹	Águas naturais	Quelante	36	58
Cd e Pb ²	Água marinha	Não quelante	5 (Cd e Pb)	59
Pb ¹	Vinho	Quelante	26	60
Pb ¹	Águas de torneira e mineral	Não quelante	100	61
Cd e Pb ²	Água de lago	Não quelante	360 (Cd e Pb)	62
Cd e Pb ¹	Amostras ambientais	Quelante	35 (Cd) e 26 (Pb)	63
Cd ¹	Alimentos	Quelante	27	64
Pb ¹	Águas de hemodiálise e de rio	Quelante	63 e 294	65
Cd e Pb ²	Aço e Al e Zn metálicos	Não quelante	200 (Cd) e 50 (Pb)	66
Pb ²	Amostras de água	Não quelante	80	67
Cd e Pb ¹	Amostras de água	Quelante	37 (Cd) e 50 (Pb)	68
Pb ¹	Águas naturais	Quelante	60	69

¹Sistema em linha ²Sistema em batelada

Quadro 3: Continuação

Analito	Amostra	Tipo de adsorvente	Fator de pré-concentração	Referência
Pb ¹	Águas de rio e marinha	Quelante	Não especificado	70
Pb ¹	Águas naturais	Quelante	Não especificado	71
Cd ²	Águas de rio e marinha	Quelante	20	72
Pb ²	Água de rio	Quelante	100	73
Cd ²	Combustível	Quelante	Não especificado	74

¹Sistema em linha ²Sistema em batelada

2.2.1.2. Adsorventes naturais

Apesar da potencialidade dos adsorventes naturais [75], o número de aplicações destes adsorventes em propostas de pré-concentração de metais tendo a FAAS como técnica de detecção é ainda bastante discreto. Neste contexto, a grande maioria das publicações relacionadas à pré-concentração de Cd e Pb diz respeito ao processo biossorbitivo caracterizado pela retenção de espécies iônicas por microorganismos como algas, fungos e bactérias [76]. O fenômeno de biossorção pode ser dividido em duas categorias dependendo se células vivas ou mortas são empregadas. No caso de células mortas, ocorrem preferencialmente processos adsorptivos na membrana celular, ao passo que em microorganismos vivos são observados fenômenos absorptivos em função da atividade biológica [77]. A retenção de cátions metálicos na membrana celular é devida à presença de ligantes, incluindo os grupos amina, hidroxilas, carboxilas, fosfatos e sulfidrilas [78-80].

A utilização de outros pré-concentradores naturais que não sejam microorganismos é bastante reduzida quando é considerado o acoplamento de sistemas pré-concentradores à FAAS (Quadro 4). No período de 1990 a 2003,

poucos artigos foram publicados nesta área enfocando a referência [81], onde foi usado cabelo para pré-concentrar Cd e Pb. Dada a esta escassez de adsorventes naturais, as substâncias húmicas surgem como potenciais alternativas.

Quadro 4: Aplicações relacionadas a procedimentos de pré-concentração de Cd e Pb por extração sólido-líquido empregando adsorventes naturais (1990 a 2003).

Analito	Amostra	Tipo de adsorvente	Fator de pré-concentração	Referência
Cd e Pb ¹	Efluentes	Cabelo	40 (Cd e Pb)	81
Cd ²	Águas de rio e marinha	<i>Saccharomyces cerevisiae</i> ³	75	82
Cd e Pb ¹	Sedimentos	<i>Saccharomyces cerevisiae</i> ³	250 (Cd) e 125 (Pb)	83
Cd e Pb ²	Soluções aquosas	<i>Selenestrum capricornutum</i> ⁴	500 (Cd) e 80 (Pb)	84
Pb ²	Soluções aquosas	<i>Stichococcus bacillaris</i> ⁴	278	85
Cd e Pb ²	Lodo de esgoto	<i>Sprulina platensis</i> ⁵	125 (Cd) e 100 (Pb)	86
Cd e Pb ¹	Água mineral e de torneira	<i>Penicillium notatum</i> ³	20 (Cd) e 50 (Pb)	87
Cd ²	Ligas metálicas	<i>Escherichia coli</i> ⁵	10	88
Cd ²	Amostras geológicas	<i>Aspergillus niger</i> ³	50	89

¹Sistema em linha ²Sistema em batelada ³Fungo ⁴Alga ⁵Bactéria

2.2.1.2.1. Substâncias húmicas: definição, características e origem

As substâncias húmicas originam-se da degradação química e microbiológica de resíduos vegetais e animais, por meio do processo de humificação.

Uma estrutura bem definida destas substâncias ainda é um ponto indefinido, embora sejam conhecidas a heterogeneidade e complexidade das mesmas [90, 91].

Segundo Rashid [92], a complexidade das substâncias húmicas é entendida ao se considerar a estrutura de precursores como a lignina (Figura 1) que podem sofrer recombinações aleatórias. Uma das teorias mais aceitas sobre a formação destas substâncias baseia-se em reações de polimerização e condensação mediadas por microorganismos, onde a lignina (que pode responder por até 30% da massa vegetal) e seus produtos de degradação (fenóis, quinonas, entre outros) combinam-se com substâncias nitrogenadas, tais como proteínas, aminoácidos e ácidos nucleicos. A contribuição de compostos mais simples como os carboidratos também se apresenta relevante, uma vez que estes se incorporam nos tecidos microbianos para produzir moléculas maiores e estas, por sua vez, podem se tornar precursoras das moléculas húmicas [93,94].

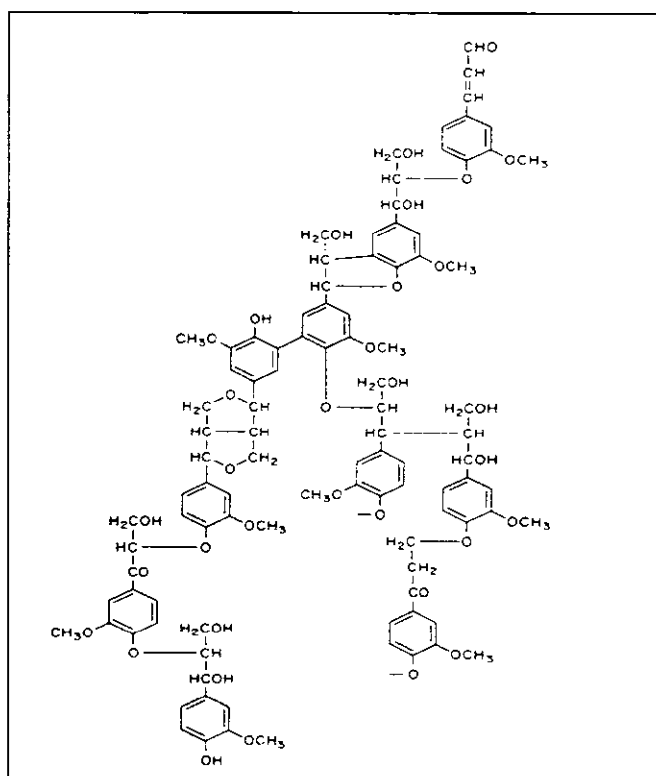


Figura 1: Estrutura da lignina

A forma mais usual de classificar as substâncias húmicas consiste em agrupá-las de acordo com a solubilidade em meio ácido ou alcalino. Desta forma, os ácidos húmicos são solúveis somente em meio alcalino, enquanto que os ácidos fúlvicos permanecem solúveis independentemente do pH. As huminas, por sua vez, são praticamente insolúveis tanto em condições de acidez quanto de alcalinidade [95]. Estas últimas são consideradas como compostos orgânicos extremamente estáveis e estudos de datação por ^{14}C identificaram huminas com até 6000 anos de idade em amostras de solos brasileiros [96]. A acentuada inércia química destas moléculas é devida à cadeia polimérica entrelaçada, a qual é altamente resistente à ação de agentes decompositores físicos, químicos e biológicos [97].

Os ácidos húmicos e fúlvicos diferenciam-se principalmente quanto à natureza dos grupos funcionais, sendo os últimos mais ricos em grupos alifáticos [98]. As substâncias húmicas ainda podem apresentar diferenças estruturais dependendo de sua localização. Assim, os compostos terrestres originam-se principalmente a partir da lignina e da celulose, enquanto que os compostos marinhos são sintetizados predominantemente a partir de carboidratos e proteínas [99].

A estrutura básica dos ácidos fúlvicos e húmicos apresenta anéis aromáticos ligados por longas cadeias formando uma estrutura flexível. Nestas moléculas, o oxigênio encontra-se na forma de carboxilas, hidroxilas alcólicas e fenólicas, carbonilas, ésteres e éteres. O nitrogênio, por sua vez, participa de estruturas heterocíclicas e nitrilas. Estes grupos funcionais conferem uma excepcional capacidade de interação [100] com metais [101-108] e pesticidas [100,109,110].

A obtenção natural dos compostos humificados ocorre de forma muito lenta [105] e a compostagem constitui-se em um procedimento eficaz no sentido de acelerar a humificação. Durante a compostagem, substratos orgânicos são degradados pela atividade microbiana, originando CO_2 , H_2O , íons minerais e matéria orgânica estabilizada (genericamente denominada de húmus) [111-113]. Uma forma especial de compostagem denomina-se vermicompostagem, cujo produto (vermicomposto) é formado quando matéria orgânica de diferentes fontes é metabolizada por minhocas (*Eisenia foetida* e *Lumbricus rubellus*, principalmente).

No trato digestivo destes animais, alguns tipos de microorganismos encarregam-se de converter compostos orgânicos não humificados em húmus. Deve-se ressaltar que após a excreção do vermicomposto pelas minhocas, o processo de humificação ainda continua por um período de 3 a 6 meses [101, 114].

Ao vermicomposto são atribuídas características tais como: elevado grau de subdivisão das partículas, altos teores de matéria humificada (ácidos fúlvicos e húmicos) e acentuada CTC [115]. Apesar destes atributos, o vermicomposto e, também o ácido húmico, ainda não foram aplicados com a finalidade de pré-concentrar metais. Desta forma, a presente tese surge como uma contribuição no sentido de ampliar o número de pré-concentradores naturais.

3. PARTE EXPERIMENTAL

3.1. Instrumentação

Nas etapas de caracterização, os seguintes equipamentos foram usados: difratômetro de raios-X Shimadzu XRD6000 (Kioto, Japão); espectrômetro de IV Perkin-Elmer FT-IR1605 (Überlingen, Alemanha); analisador elementar Perkin-Elmer PE2400 (Norwalk, EUA); analisador termogravimétrico TA Instruments TGA2950 (New Castle, EUA) e microscópio eletrônico de varredura Jeol JMST-300 (Tóquio, Japão).

No estabelecimento das concentrações totais de Cd e Pb nos adsorventes humificados e das concentrações trocáveis de Ca e Mg em vermicomposto, utilizou-se um espectrômetro de absorção atômica com chama Perkin-Elmer AAnalyst300 (Norwalk, EUA) equipado com sistema de correção de fundo com lâmpada de deutério. Este equipamento foi também usado nas quantificações de Cd e Pb descritas nas próximas seções. Ainda, o referido espectrômetro foi empregado (no modo emissão) para quantificar os teores trocáveis de Na e K no vermicomposto. Um espectrômetro de absorção atômica com atomização eletrotérmica Perkin-Elmer AAnalyst600 (Überlingen, Alemanha), equipado com sistema de correção de fundo por efeito Zeeman, foi adotado na quantificação das concentrações naturais de Cd e

Pb (de acordo com as recomendações do fabricante) presentes nas amostras de água, alimento e medicamento e, também, nas etapas de validação.

Lâmpadas de cátodo oco constituíram as fontes de radiação para Ca ($\lambda=422,7$ nm) e Mg ($\lambda=285,2$ nm), enquanto que as medidas de Cd e Pb foram executadas empregando-se lâmpadas do tipo EDL ($\lambda=228,8$ nm para Cd e $283,3$ nm para Pb). Selecionaram-se linhas de emissão de $589,0$ nm para Na e de $766,5$ nm para K. Dependendo do elemento, aberturas de fenda de $0,7$ ou $2,0$ nm foram utilizadas, enquanto que vazões de acetileno e ar de $2,0$ e 10 L min⁻¹, respectivamente, foram empregadas para as determinações dos 4 elementos.

As decomposições totais do ácido húmico e vermicomposto foram realizadas por intermédio de um forno de microondas de alta pressão QCI QWave3000 (Mississauga, Canadá) munido de sensores de pressão e temperatura e magnetron de 2450 ± 13 MHz. As medidas de pH foram efetuadas em potenciômetro Digimed DM20 (São Paulo, Brasil) e a obtenção de HNO₃ ultrapuro em destilador sub-ebulição de quartzo Marconi (Piracicaba, Brasil).

Os sistemas pré-concentradores consistiram de uma bomba peristáltica IPC (Glattbrugg, Suíça) munida de 8 rolamentos e de um sistema comutador (3 vias) confeccionado em acrílico. Tubos de Tygon® ($1,4$ mm de diâmetro interno) e de polietileno ($0,7$ mm de diâmetro interno) foram adquiridos da Masterflex® (Vernon Hills, EUA). Os primeiros conduziram soluções aquosas, ao passo que os tubos de polietileno funcionaram como linhas de transmissão. Ponteiras de micropipetas com lâ de vidro nas extremidades (3 cm) foram usadas na confecção da mini-coluna.

3.2. Padrões, reagentes e amostras

Reagentes (ácidos e sais) de grau analítico (Merck – Darmstadt - Alemanha, J. T. Baker - Phillipsburg - EUA e Mallinckrodt – Xalostoc - México) e água ultrapura (Millipore-Mosheim-França) foram usados no preparo de todas as soluções. Para a calibração do espectrômetro de absorção atômica com chama, soluções de Cd e Pb a 1000 mg L⁻¹ foram preparadas a partir dos sais CdCl₂.H₂O (98,0% de pureza) e Pb(NO₃)₂ (99,7% de pureza) dissolvidos em HNO₃ 10% (v/v), respectivamente.

Soluções de trabalho contendo Cd ($0,5 - 2 \text{ mg L}^{-1}$) e Pb ($5 - 20 \text{ mg L}^{-1}$) foram diariamente obtidas pela diluição das soluções estoque com HNO_3 2% (v/v). No preparo das soluções estoque de Ca, Mg, Na e K (a 1000 mg L^{-1}), quantidades adequadas de $\text{Ca}(\text{NO}_3)_2 \cdot 4\text{H}_2\text{O}$, $\text{Mg}(\text{NO}_3)_2 \cdot 6\text{H}_2\text{O}$, NaCl e KNO_3 foram respectivamente solubilizadas em HNO_3 10% (v/v). Destes estoques, soluções contendo $1 - 5 \text{ mg L}^{-1}$ de Ca; $0,1 - 0,5 \text{ mg L}^{-1}$ de Mg e $1 - 10 \text{ mg L}^{-1}$ de Na ou K foram obtidas por diluições diárias também com HNO_3 2% (v/v).

As soluções empregadas nos testes de concomitantes foram preparadas a partir dos sais listados no Quadro 5.

Quadro 5: Sais utilizados no preparo das soluções dos testes de concomitantes

Elemento	Sal empregado
Ca	$\text{Ca}(\text{NO}_3)_2 \cdot 4\text{H}_2\text{O}$
Cd	$\text{CdCl}_2 \cdot \text{H}_2\text{O}$
Co	$\text{Co}(\text{NO}_3)_2 \cdot 6\text{H}_2\text{O}$
Cr (III)	$\text{Cr}(\text{NO}_3)_3 \cdot 9\text{H}_2\text{O}$
Cu	$\text{Cu}(\text{NO}_3)_2 \cdot 3\text{H}_2\text{O}$
K	KNO_3
Mg	$\text{Mg}(\text{NO}_3)_2 \cdot 6\text{H}_2\text{O}$
Mn (II)	$\text{Mn}(\text{NO}_3)_2$
Ni	$\text{Ni}(\text{NO}_3)_2$
Pb	$\text{Pb}(\text{NO}_3)_2$
Se (IV)	Na_2SeO_3
Zn	$\text{Zn}(\text{NO}_3)_2 \cdot 6\text{H}_2\text{O}$

O vermicomposto foi adquirido de diferentes regiões dos Estados de Minas Gerais e São Paulo. Duas destas amostras (MH e SM) foram coletadas nas cidades mineiras de Tabuleiro do Pomba e Coimbra, respectivamente, enquanto que a amostra XA foi comprada em Campinas. O ácido húmico foi importado da *Aldrich Chemicals Company* (Milwaukee, EUA). As procedências das amostras usadas nos testes de validação encontram-se listadas a seguir: água mineral (1 - Lindóia/SP, 2 -

Rio de Janeiro/RJ e 3 - São Lourenço/MG); complemento alimentar (Barueri-SP) e suco de uva (Americana-SP). Água de torneira e de bebedouro foram coletadas no Instituto de Química da Unicamp. O rim de porco (CRM186) e as folhas de faia (CRM100) foram adquiridos da Community *Bureau of Reference* (Bruxelas - Bélgica).

3.3. Procedimentos

3.3.1. Caracterização física e química

3.3.1.1. Vermicomposto

Exceto na determinação da umidade, o vermicomposto foi seco em estufa a 60°C por 24 h (até massa constante) e peneirado até obtenção de partículas entre 75 e 150 μm . Nos procedimentos dedicados à análise granulométrica, as amostras de vermicomposto foram somente secas em estufa. Os procedimentos das seções 3.3.1.1.1, 3.3.1.1.5 e 3.3.1.1.6 foram adaptados da referência [101].

3.3.1.1.1. Medidas de pH e umidade

Na medida do pH, 10,0 g de amostra foram agitados com 25 mL de KCl 1 mol L⁻¹ durante 1 min, seguindo-se repouso por 1 h. Após este período, realizou-se nova agitação por mais 1 min e o pH da suspensão resultante foi medido. A umidade foi determinada pela diferença entre as massas de vermicomposto antes e após o aquecimento em estufa, a 60°C, até massa constante.

3.3.1.1.2. Teores totais de cinza e matéria orgânica

Conforme adaptações de Prado e Rezende [116], as porcentagens totais de matéria orgânica e cinzas foram estimadas por termogravimetria, submetendo-se as amostras a aquecimento em atmosfera oxidante na faixa de 20 a 980°C (10°C min⁻¹).

3.3.1.1.3. Espectroscopia no IV, composição elementar, difratometria de raios-X e microscopia eletrônica de varredura

Os grupos funcionais orgânicos presentes no vermicomposto foram identificados por espectroscopia no IV, usando-se discos de KBr no preparo das amostras. A faixa espectral variou de 4000 a 400 cm^{-1} . Para a identificação de estruturas cristalinas, as amostras foram expostas aos raios-X ($\lambda=1,54060 \text{ \AA}$) com variação do ângulo 2θ na faixa de 5 a 50°. A voltagem e a corrente aplicadas foram de 40 kV e 30 mA, respectivamente.

Os teores de carbono, nitrogênio e hidrogênio foram determinados pelo analisador elementar descrito na seção 3.1, ao passo que o registro das micrografias eletrônicas efetuou-se após a deposição de uma fina camada de ouro sobre a superfície das partículas com posterior aplicação de uma voltagem de aceleração eletrônica correspondente a 20 kV.

3.3.1.1.4. Análise granulométrica

Uma massa equivalente a cem gramas de vermicomposto (submetida a aquecimento em estufa) foi peneirada, usando-se a seguinte série de peneiras: 150, 75, 63, 45 e 38 μm . Após a obtenção das diferentes massas, estas foram avaliadas a fim de expressar os resultados em porcentagem de tamanho de partículas.

3.3.1.1.5. Teores trocáveis de Ca, Mg, Na e K

Três gramas de amostra foram agitados por 1 h com 75 mL de KCl 1 mol L^{-1} para a extração de Ca e Mg ou com 75 mL de HCl 0,05 mol L^{-1} para a extração de Na e K. Após agitação, um período de 16 h foi requerido para a sedimentação das partículas e obtenção de um sobrenadante límpido, a partir do qual foram pipetados volumes adequados para balões volumétricos de 25 ou 50 mL com posterior aferição com HNO_3 2% (v/v). As técnicas FAAS ou FAES foram empregadas para a determinação dos metais considerados.

3.3.1.1.6. Acidez trocável e potencial

A acidez trocável foi extraída pela agitação (1 h) de 3,0 g de amostra com 75 mL de KCl 1 mol L⁻¹, enquanto que, para a acidez potencial, a referida massa de vermicomposto foi agitada com 75 mL de solução tampão de ácido acético/acetoato (pH 7). Após 16 h de sedimentação, 25 mL do sobrenadante destinado à acidez trocável foram titulados com NaOH 0,025 mol L⁻¹. Azul de bromotimol foi empregado como indicador. Para a acidez potencial foram mantidos o volume de sobrenadante titulado e o agente titulante, mudando-se, porém, o indicador para fenolftaleína.

3.3.1.1.7. CTC efetiva e potencial

A CTC efetiva (CTC_{ef}) foi calculada pelo somatório das concentrações trocáveis de Ca, Mg, Na e K com os valores da acidez trocável, enquanto que a CTC potencial (CTC_{pot}) foi calculada pela soma das concentrações dos cátions trocáveis com a acidez potencial [117].

3.3.1.1.8. Concentrações totais de Cd e Pb

Neste experimento, 15 mL de uma mistura composta por HCl, HNO₃ e HF (3:1:2, v/v) foram utilizados para decompor 600 mg de amostra em forno de microondas (Quadro 6). Após a decomposição, o excesso de fluoreto foi eliminado pela adição de H₃BO₃, o volume foi aferido para 25 mL com HNO₃ 2% (v/v) e as amostras obtidas analisadas por FAAS.

Quadro 6: Programa empregado na decomposição total do vermicomposto (duração de 35 min)

Etapa	Potência (W)	Tempo (min)
1	200	3
2	400	5
3	600	5
4	700	20
5	80	2

3.3.1.1.9. Otimização dos parâmetros adsortivos

Os parâmetros envolvidos na construção das isotermas (próxima seção) foram otimizados via planejamento fatorial 3^2 para Cd em vermicomposto (XA) e ácido húmico e para Pb em ácido húmico [118], resultando em 9 possíveis combinações de experimentos conforme demonstrado no Quadro 7. No caso dos estudos adsortivos de Pb em vermicomposto (XA), adotou-se um planejamento fatorial 2^2 (Quadro 8).

Soluções de Cd ou Pb (60 mg L^{-1}) tiveram os valores de pH ajustados para 2, 4 ou 6 e os tempos de agitação destas soluções, com uma massa especificada de vermicomposto, foram avaliados nos níveis 5; 32,5 e 60 min. De acordo com adaptações feitas de Slavek *et al.* [119], para cada combinação anteriormente especificada, 40 mL de solução de Cd e Pb foram submetidos à agitação com 20 mg de adsorvente. Após sedimentação das partículas, volumes adequados do sobrenadante foram transferidos para balões de 25 mL [aferidos com solução de HNO_3 2% (v/v)] com posterior determinação do Cd e Pb por FAAS.

Quadro 7: Combinações efetuadas nos planejamentos fatoriais 3^2 *

Ensaio	pH	Tempo de agitação
1	-1	-1
2	0	-1
3	1	-1
4	-1	0
5	0	0
6	1	0
7	-1	1
8	0	1
9	1	1

Os números -1, 0 e 1 correspondem, respectivamente, para os fatores pH e tempo de agitação, aos níveis 2, 4 e 6 e 5, 32,5 e 60 minutos.

Quadro 8: Combinações efetuadas no planejamento fatorial 2^2 *

Ensaio	pH	Tempo de agitação
1	-1	-1
2	1	-1
3	-1	1
4	1	1

Os números -1 e 1 correspondem, respectivamente, para os fatores pH e tempo de agitação, aos níveis 2 e 6 e 5 e 60 minutos.

3.3.1.1.10. Isotermas de adsorção e experimentos de pré-concentração

A capacidade adsortiva do vermicomposto (amostra XA) em relação ao Cd e Pb foi avaliada por isotermas de adsorção, cuja construção consistiu em agitar ($22 \pm 2^\circ\text{C}$) 40 mL de diferentes soluções dos metais (10, 50, 200, 600, 800 e 1000 mg L^{-1}) com 40 mg de adsorvente. O valor do pH de adsorção foi 5 para Cd e 6 para Pb, enquanto que os tempos de agitação foram de 5 e 60 min para Cd e Pb, respectivamente.

Nos testes de pré-concentração, 60 ou 120 mg de vermicomposto foram condicionados em uma coluna de vidro e, por esta coluna, foram percolados 1000 mL (10 mL min^{-1}) de solução sintética de Cd ($5 \mu\text{g L}^{-1}$) ou de água mineral fortificada com Cd (até $5 \mu\text{g L}^{-1}$), ambas a pH 5. Posteriormente, a massa de Cd adsorvida em 60 ou em 120 mg de vermicomposto (a partir da solução sintética e da água mineral fortificada, respectivamente) foi eluída pela passagem de 10 mL de HNO_3 1 mol L^{-1} (10 mL min^{-1}) com posterior quantificação do Cd por FAAS. O fator de pré-concentração real foi estimado a partir da razão entre as concentrações de Cd encontradas no eluato e nas soluções analisadas (antes da pré-concentração).

3.3.1.2. Ácido húmico (etapas de caracterização)

A caracterização do ácido húmico foi conduzida como descrito na seção 3.3.1.1, exceto no tocante às isotermas que, neste caso, foram obtidas em pH 6 e 5 para Cd e Pb, respectivamente, e em tempo de agitação de 41 min (Pb). Ainda, as determinações da umidade, pH, concentrações trocáveis de Ca, Mg, Na e K, acidez trocável e potencial e CTC não foram efetuadas para o adsorvente ácido húmico. Igualmente, os testes preliminares de pré-concentração e análise granulométrica foram realizados somente para o vermicomposto.

3.3.2. Otimização dos sistemas pré-concentradores empregando vermicomposto e ácido húmico como adsorventes

Nos experimentos com vermicomposto (amostra XA) e ácido húmico, soluções de Cd ($10 \mu\text{g L}^{-1}$) e Pb ($100 \mu\text{g L}^{-1}$) foram bombeadas através de uma coluna contendo 25 mg de cada adsorvente. No processo de otimização, as variáveis concentração do eluente HNO_3 (1 e 3 mol L^{-1}), volume de eluição (220 e $440 \mu\text{L}$) e tempo de pré-concentração (2 e 4 min) foram avaliadas por meio de planejamento fatorial 2^3 [118] como indicado no Quadro 9. Na pré-concentração de Cd em vermicomposto e ácido húmico, os valores de pH das soluções foram ajustados para 5 e 6, respectivamente, enquanto que soluções a pH 6 (vermicomposto) e 5 (ácido húmico) foram empregadas para a pré-concentração de Pb. As vazões de pré-concentração e de eluição foram mantidas em $4,0 \text{ mL min}^{-1}$.

Quadro 9: Combinações efetuadas nos planejamentos fatoriais 2^3 *

Ensaio	Concentração de HNO_3	Volume de eluição	Tempo de pré-concentração
1	- 1	- 1	- 1
2	1	- 1	- 1
3	- 1	1	- 1
4	1	1	- 1
5	- 1	- 1	1
6	1	- 1	1
7	- 1	1	1
8	1	1	1

* Os níveis - 1 e 1 correspondem, para os fatores concentração de HNO_3 , volume de eluição e tempo de pré-concentração, respectivamente a: 1 e 3 mol L^{-1} , 220 e $440 \mu\text{L}$ e 2 e 4 minutos.

De acordo com a Figura 2a, padrões e amostras são bombeados através da mini-coluna durante 2 ou 4 min, enquanto a alça (220 ou $440 \mu\text{L}$) é preenchida com o eluente HNO_3 (1 ou 3 mol L^{-1}) e o carreador (H_2O) é conduzido para o sistema nebulizador/queimador do espectrômetro. Durante a eluição (Figura 2b), o carreador transporta o volume de HNO_3 contido na alça para a mini-coluna, ocasionando a dessorção das espécies de interesse. O registro dos sinais analíticos foi na forma de área de pico (tempo de integração de 25 s) e, na presente configuração, cada ciclo de análise levou 2,5 ou 5 min dependendo do tempo de pré-concentração adotado.

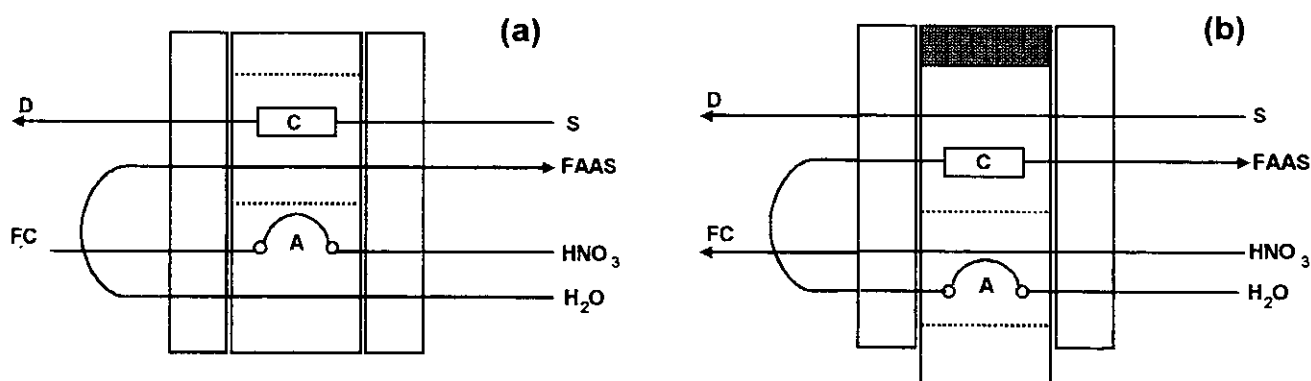


Figura 2: (a) Pré-concentração e (b) Eluição. S – solução contendo Cd ou Pb, D - descarte, C-coluna adsorvente, A - alça de eluição, FC - frasco de coleta.

Após as etapas de otimização, os experimentos envolvendo os adsorventes humificados descritos nas seções 3.3.3 e 3.3.4 foram feitos em tempo de pré-concentração de 4 min, volume de eluição de 220 μL e concentração de HNO_3 de 3 mol L^{-1} (para Cd e Pb em vermicomposto e Cd em ácido húmico) e 1 mol L^{-1} (para Pb em ácido húmico). A única exceção foi o teste de estabilidade executado com tempo de pré-concentração de 2 min. As pré-concentrações de Cd e Pb em vermicomposto foram conduzidas nos valores de pH especificados no início desta seção.

3.3.3. Influência da vazão de pré-concentração sobre a cinética de adsorção

A avaliação da influência da vazão de pré-concentração sobre a cinética de adsorção do Cd e Pb em ambos os adsorventes humificados foi realizada empregando-se vazões de: 1,0; 2,0; 3,0 e 4,0 mL min^{-1} .

3.3.4. Avaliação do desempenho analítico

Neste item são descritos os testes de homogeneidade e estabilidade dos adsorventes humificados, assim como a avaliação da faixa linear, seletividade, precisão, exatidão, fatores de pré-concentração, limites de detecção e de quantificação das metodologias desenvolvidas.

3.3.4.1. Homogeneidade e estabilidade do vermicomposto e ácido húmico

Nos testes de homogeneidade (diâmetro de partículas entre 75 e 150 μm), cinco diferentes colunas foram montadas para cada adsorvente e analito e, em cada coluna, foram efetuados cinco ciclos de pré-concentração/eluição, sendo o desvio padrão relativo (DPR) entre as médias de cada grupo de 5 colunas empregado como indicativo da homogeneidade. Em relação à estabilidade (monitorada pelo sinal do Cd), uma mesma coluna contendo 25 mg de vermicomposto ou ácido húmico foi submetida a 120 e 100 sucessivos ciclos de pré-concentração/eluição, respectivamente.

3.3.4.2. Faixa linear, cálculo dos fatores de pré-concentração, limites de detecção (LD) e quantificação (LQ) e precisão

A faixa linear das metodologias desenvolvidas foi testada até 400 e 4000 $\mu\text{g L}^{-1}$ para Cd e Pb, respectivamente. Após obtenção das curvas e sucessivas leituras do branco ($n=15$), efetuaram-se os cálculos dos LDs e LQs conforme descrito na literatura [120]. Os fatores de pré-concentração foram estimados pela razão entre os coeficientes angulares das curvas com e sem pré-concentração [121], sendo estas últimas construídas pela injeção direta de 220 μL de soluções de referência de Cd (500-2000 $\mu\text{g L}^{-1}$) e Pb (5000-20000 $\mu\text{g L}^{-1}$) no espectrômetro de absorção atômica com chama. A precisão foi avaliada em termos da repetibilidade após 10 determinações de Cd ou Pb nas respectivas concentrações de 10 e 100 $\mu\text{g L}^{-1}$.

3.3.4.3. Testes de seletividade

A seletividade dos adsorventes humificados frente à adsorção do Cd e Pb foi testada na presença de 11 possíveis concomitantes. Neste sentido, prepararam-se soluções teste binárias contendo relações de concentração estabelecidas entre cada um destes concomitantes e os analitos Cd e Pb (Quadro 10). Estas relações foram

calculadas com base em valores contidos na carta de certificação (anexo A) de uma amostra de água. Como exemplo, cita-se o cálculo feito para a relação de concentração entre Ca e Cd (3770, no Quadro 10). Este valor foi obtido pela divisão da concentração de Ca na amostra de água certificada ($9800 \mu\text{g L}^{-1}$) e a concentração de Cd na mesma amostra ($2,6 \mu\text{g L}^{-1}$). Analogamente, foram calculadas todas as demais relações de concentração.

Os valores contidos no Quadro 10 foram divididos por 10 ou multiplicados por 100 para a obtenção de uma faixa de relações (Quadro 11) entre os concomitantes avaliados e os analitos.

Quadro 10: Relações observadas entre as concentrações de concomitantes e a concentração de Cd e Pb em água certificada*

Concomitante	Relação com a concentração de Cd	Relação com a concentração de Pb
Ca	3770	2880
Cd	-----	0,8
Co	3	2,5
Cr(III)**	3	2,5
Cu	4	3
K	115	90
Mg	770	590
Mn(II)**	3	2,5
Ni	3	2,5
Pb	1,3	-----
Se(IV)**	0,5	0,4
Zn	2	1,6

*Algumas das relações listadas acima sofreram aproximações. **Estes elementos, na carta de certificação, não possuem especificações a respeito de seus estados de oxidação.

A concentração de cada concomitante nas soluções teste foi calculada a partir das faixas de relações contidas no Quadro 11, uma vez que a concentração de cádmio foi mantida em $10 \mu\text{g L}^{-1}$ e a de chumbo em $100 \mu\text{g L}^{-1}$. Como exemplo, uma solução teste a $770 \mu\text{g L}^{-1}$ de Mg e a $10 \mu\text{g L}^{-1}$ de Cd foi preparada a fim de obter uma relação de concentração Mg/Cd de 77. Similarmente, foram calculadas as concentrações de todos os demais concomitantes (Quadro 12). Os sais empregados no preparo das soluções teste estão listados no Quadro 5, sendo feitos pequenos ajustes de pH no intuito de atingir os valores descritos na seção 3.3.2.

Quadro 11: Faixa de relações entre a concentração dos concomitantes e a concentração de Cd e Pb

Concomitante	Faixa de relações de concentração para Cd			Faixa de relações de concentração para Pb		
Ca	377	3770	377000	288	2880	288000
Cd		----		0,08	0,8	80
Co	0,3	3	300	0,25	2,5	250
Cr(III)	0,3	3	300	0,25	2,5	250
Cu	0,4	4	400	0,3	3	300
K	11,5	115	11500	9	90	9000
Mg	77	770	77000	59	590	59000
Mn(II)	0,3	3	300	0,25	2,5	250
Ni	0,3	3	300	0,25	2,5	250
Pb	0,13	1,3	130		----	
Se(IV)	0,05	0,5	50	0,04	0,4	40
Zn	0,2	2	200	0,16	1,6	160

Para evitar a precipitação do $\text{Cr}(\text{OH})_3$ em pH 6, a solução teste contendo 25 mg L^{-1} de Cr(III) e 100 $\mu\text{g L}^{-1}$ de Pb não foi preparada no caso da utilização do vermicomposto (Quadro 12). Para o adsorvente ácido húmico, a solução contendo 3 mg L^{-1} de Cr(III) e 10 $\mu\text{g L}^{-1}$ de Cd (a pH 6) não foi preparada novamente no intuito de evitar a precipitação do $\text{Cr}(\text{OH})_3$.

Quadro 12: Concentrações dos concomitantes

Concomitante	Concentração (mg L^{-1}) dos concomitantes para Cd			Concentração (mg L^{-1}) dos concomitantes para Pb		
Ca	3,77	37,7	3770	28,8	288	28800
Cd		----		0,008	0,08	8
Co	0,003	0,03	3	0,025	0,25	25
Cr(III)	0,003	0,03	3*	0,025	0,25	25**
Cu	0,004	0,04	4	0,03	0,3	30
K	0,115	1,15	115	0,9	9	900
Mg	0,77	7,7	770	5,9	59	5900
Mn(II)	0,003	0,03	3	0,025	0,25	25
Ni	0,003	0,03	3	0,025	0,25	25
Pb	0,0013	0,013	1,3		----	
Se(IV)	0,0005	0,005	0,5	0,004	0,04	4
Zn	0,002	0,02	2	0,016	0,16	16

Concentração não testada para o adsorvente ácido húmico. **Concentração não avaliada para o adsorvente vermicomposto

3.3.4.4. Testes de exatidão

Os testes de exatidão foram executados pela análise de amostras fortificadas com Cd ou Pb (água mineral e de torneira, medicamento e suco de fruta), de amostra certificada para Cd (rim de porco, CRM186) e de referência para Pb (folhas de faia, CRM100). O Quadro 13 relaciona a matriz analisada com cada metal e adsorvente.

Quadro 13: Amostras empregadas nos testes de exatidão

Amostra	Cd		Pb	
	Vermicomposto	Ácido húmico	Vermicomposto	Ácido húmico
Água mineral (1)	X			
Água mineral (2)	X			
Água mineral (3)		X	X	X
Água de torneira		X		
Medicamento	X	X		
Suco de fruta			X	X
Rim de porco	X	X		
Folhas de faia			X	X

As amostras de água mineral 1 e 2 e de torneira (Quadro 13) foram fortificadas com Cd pela transferência de volumes adequados de solução padrão deste metal a 1 mg L^{-1} para balões volumétricos de 100 mL até que as concentrações de 15 e $55 \text{ } \mu\text{g L}^{-1}$ fossem obtidas (após a aferição destes balões com as próprias matrizes consideradas). Os valores de pH foram ajustados para 5 ou 6 dependendo do adsorvente a ser empregado nas etapas de pré-concentração. A amostra de água mineral 3 foi analogamente fortificada com Pb até as concentrações de 150 e $550 \text{ } \mu\text{g L}^{-1}$ (a partir de uma solução padrão de Pb a 10 mg L^{-1}) com posterior ajuste de pH para 6 e 5 quando vermicomposto e ácido húmico foram respectivamente usados. Neste caso, o volume dos balões foi também aferido com a própria matriz de água. No intuito de determinar as concentrações das amostras fortificadas, foram construídas curvas variando de 10 a $80 \text{ } \mu\text{g L}^{-1}$ para Cd e de 100 a

800 $\mu\text{g L}^{-1}$ para Pb adotando-se procedimentos idênticos àqueles já descritos neste parágrafo.

Amostras de medicamento (na forma líquida) foram fortificadas com Cd até 8 mg L^{-1} e, posteriormente, 2,5 mL desta amostra foram submetidos à decomposição em chapa aquecedora (ca. 85 °C) pela adição de 10 mL de HNO_3 a 65% (v/v) e de 5 mL de H_2O_2 a 30% (v/v). O aquecimento foi mantido até quase a secura. Em seguida, os reduzidos volumes (ca. 1 mL) foram transferidos para balões de 50 mL com posterior aferição com água desionizada (concentração de Cd de 400 $\mu\text{g L}^{-1}$). Esta solução foi diluída para 40 $\mu\text{g L}^{-1}$ e a referida concentração foi determinada mediante a construção de uma curva de adição de analito nas concentrações de 40, 60 e 80 $\mu\text{g L}^{-1}$. Não houve correção de acidez. Amostras de suco de fruta foram fortificadas com Pb até 80 mg L^{-1} e, em seguida, efetuou-se a decomposição ácida desta amostra conforme descrito para o medicamento, resultando em uma solução de Pb a 4 mg L^{-1} , com posterior diluição até 400 $\mu\text{g L}^{-1}$. Esta última concentração foi quantificada por meio da construção de curva de adição de analito contendo os pontos de 400, 600 e 800 $\mu\text{g L}^{-1}$. Novamente, a correção de acidez não foi efetuada.

Em todos os procedimentos descritos nos dois últimos parágrafos, a técnica GFAAS foi utilizada para determinar as concentrações de Cd ou Pb nas amostras antes e após as fortificações.

Porções de 450 mg das amostras certificadas de rim de porco ($2710 \pm 150 \mu\text{g kg}^{-1}$ de Cd) foram decompostas em forno de microondas pela adição de 10 mL de HNO_3 a 65% (v/v) de acordo com o programa de aquecimento indicado no Quadro 14. Finalizado o programa, os frascos de teflon foram resfriados e abertos, seguindo-se a etapa de aquecimento em chapa aquecedora (ca. 85 °C) até quase secura. A próxima etapa consistiu em neutralizar, pela adição de NaOH 1 mol L^{-1} , as soluções obtidas até pH 5 (vermicomposto) ou 6 (ácido húmico) com posterior transferência dos volumes para balões de 100 mL, originando soluções com concentração de Cd igual a 12,2 $\mu\text{g L}^{-1}$. Amostras de referência de folhas de faia ($16300 \mu\text{g kg}^{-1}$ de Pb), em porções de 500 mg, foram também digeridas pela adição de 12 mL de HNO_3 (65% v/v) e de 2 mL de H_2O_2 (30% v/v) em forno de microondas (Quadro 14). Após o término da digestão, etapas idênticas às descritas para o rim de porco foram

adotadas, exceto no tocante aos valores de pH que foram de 6 (vermicomposto) e 5 (ácido húmico). Soluções de Pb a $81,5 \mu\text{g L}^{-1}$ foram originadas. Em ambas as amostras, as concentrações dos analitos foram determinadas por meio de curvas de adição de analito (40 a $80 \mu\text{g L}^{-1}$ para Cd e 200 a $600 \mu\text{g L}^{-1}$ para Pb).

Quadro 14: Programa de aquecimento usado na decomposição por microondas das amostras de rim de porco e de folhas de faia (duração: 17 min)

Etapa	Potência (W)	Tempo (min)
1	400	5
2	790	5
3	320	4
4	0	3

4. RESULTADOS E DISCUSSÃO

4.1. Caracterização física e química (vermicomposto e ácido húmico)

Os resultados dos teores totais de matéria orgânica (MO) e cinzas para as amostras de vermicomposto e ácido húmico, e as medidas de pH e de umidade para as amostras de vermicomposto encontram-se na Tabela 1.

Tabela 1: Valores de pH e umidade (somente vermicomposto) e teores totais de matéria orgânica e cinzas (ácido húmico e vermicomposto)

Amostra	pH (n=3)	Umidade (%, m/m) (n=3)	Cinzas (%, m/m)*	MO (%, m/m)*
MH	$5,8 \pm 0,1$	$59,8 \pm 0,3$	53,7	41,2
SM	$7,8 \pm 0,1$	$56,2 \pm 0,1$	41,1	53,5
XA	$5,7 \pm 0,1$	$57,9 \pm 1,3$	68,8	27,0
Ácido húmico	----	----	28,6	64,3

*Sem replicatas

Os elevados teores de umidade ($56,2$ - $59,8\%$, m/m) nas amostras de vermicomposto estão concordantes com a literatura [100, 115]. Estes teores são

influenciados pela proporção entre a quantidade de grupos alifáticos e aromáticos, visto que os primeiros apresentam boa afinidade por moléculas de água. Assim, quanto maior o número de grupamentos hidrofílicos como carboxilas, carbonilas e hidroxilas, maior será a umidade natural do vermicomposto [92]. O teor de umidade natural do ácido húmico não foi determinado em função deste adsorvente já ter sido previamente submetido a um processo de secagem executado pelo fornecedor (*Aldrich Chemicals Company*). Os valores de pH próximos à neutralidade de todas as amostras de vermicomposto indicam a ausência de quantidades significativas de espécies trocáveis geradoras de acidez adsorvidas nas partículas.

Todas as amostras de vermicomposto exibiram teores de cinzas bastante acentuados, sendo este comportamento compatível com a complexidade do material empregado na produção deste adsorvente [122]. A menor quantidade de cinzas observada no ácido húmico é coerente com o fato desta amostra ter sido industrialmente purificada.

Os níveis totais de matéria orgânica das amostras de vermicomposto são similares a dados fornecidos pela literatura, uma vez que amostras coletadas nas cidades de Juiz de Fora (MG) e São Carlos (SP) mostraram composição orgânica de 47,7 [101] e 31,5% (m/m) [90], respectivamente. O fato do ácido húmico deter a maior fração orgânica (64,3%) está concordante com o maior grau de pureza deste material.

As Figuras 3a-d ilustram o comportamento termogravimétrico do vermicomposto e ácido húmico. Estes gráficos, além permitirem o cálculo dos teores totais de matéria orgânica e cinzas (seção 3.3.1.1.2), possibilitam a identificação dos perfis térmicos das amostras. Assim, verifica-se que as temperaturas iniciais de decomposição são semelhantes para as amostras de vermicomposto [245 °C (MH), 240 °C (SM), 245 °C (XA)] e de aproximadamente 100 °C para ácido húmico, ao passo que as temperaturas finais foram de 500, 480, 645 e 845 °C para as amostras MH, SM, XA e ácido húmico, respectivamente. Estas diferenças evidenciam a variedade de compostos orgânicos presentes nos materiais huificados em termos da resistência ao aquecimento. Deve-se ressaltar que o decréscimo de massa (ca 5%) para as 4 amostras analisadas é devido à umidade.

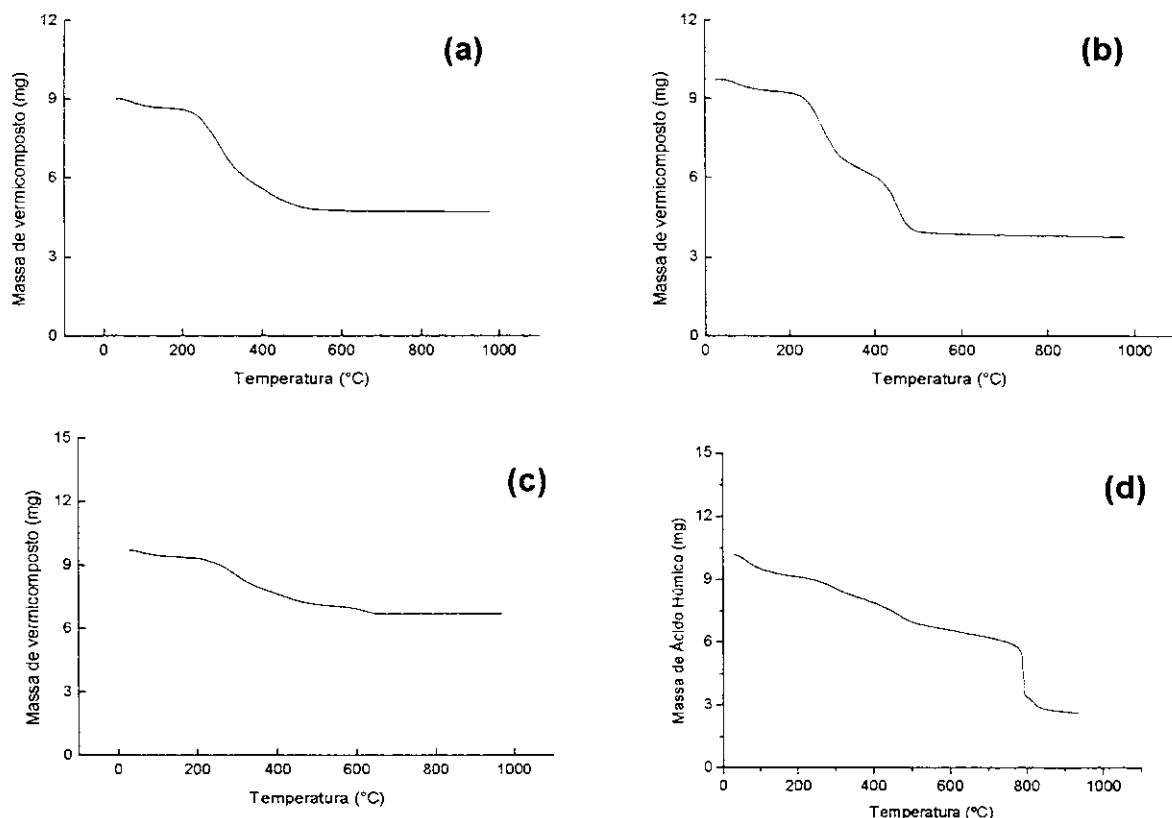


Figura 3: Perfis termogravimétricos - (a) MH, (b) SM, (c) XA e (d) ácido húmico

Os espectros na região do infravermelho encontram-se nas Figuras 4a-d, sendo possível detectar bandas de absorção características de grupamentos químicos orgânicos quelantes. Os picos na região de 3500 a 3000 cm^{-1} são atribuídos às ligações N-H de aminas e amidas e de hidroxilas de alcóois, fenóis e ácidos carboxílicos (4a: $3445,7\text{ cm}^{-1}$; 4b: $3433,9\text{ cm}^{-1}$; 4c: $3527,0\text{ cm}^{-1}$; 4d: $3422,24\text{ cm}^{-1}$). Na região de 3000 a 2800 cm^{-1} , são caracterizadas as ligações C-H de grupos alifáticos (4a: $2917,9\text{ cm}^{-1}$; 4b: $2920,1\text{ cm}^{-1}$; 4c: $2927,8\text{ cm}^{-1}$; 4d: $2918,7$ e $2849,51\text{ cm}^{-1}$) e, entre 2000 e 1000 cm^{-1} , os picos podem estar associados às ligações C-O e C=O [123] (4a: $1027,3\text{ cm}^{-1}$; 4b: $1032,5\text{ cm}^{-1}$; 4c: $1034,8\text{ cm}^{-1}$; 4d: $1717,55$; $1619,7$; $1255,24$ e $1031,11\text{ cm}^{-1}$).

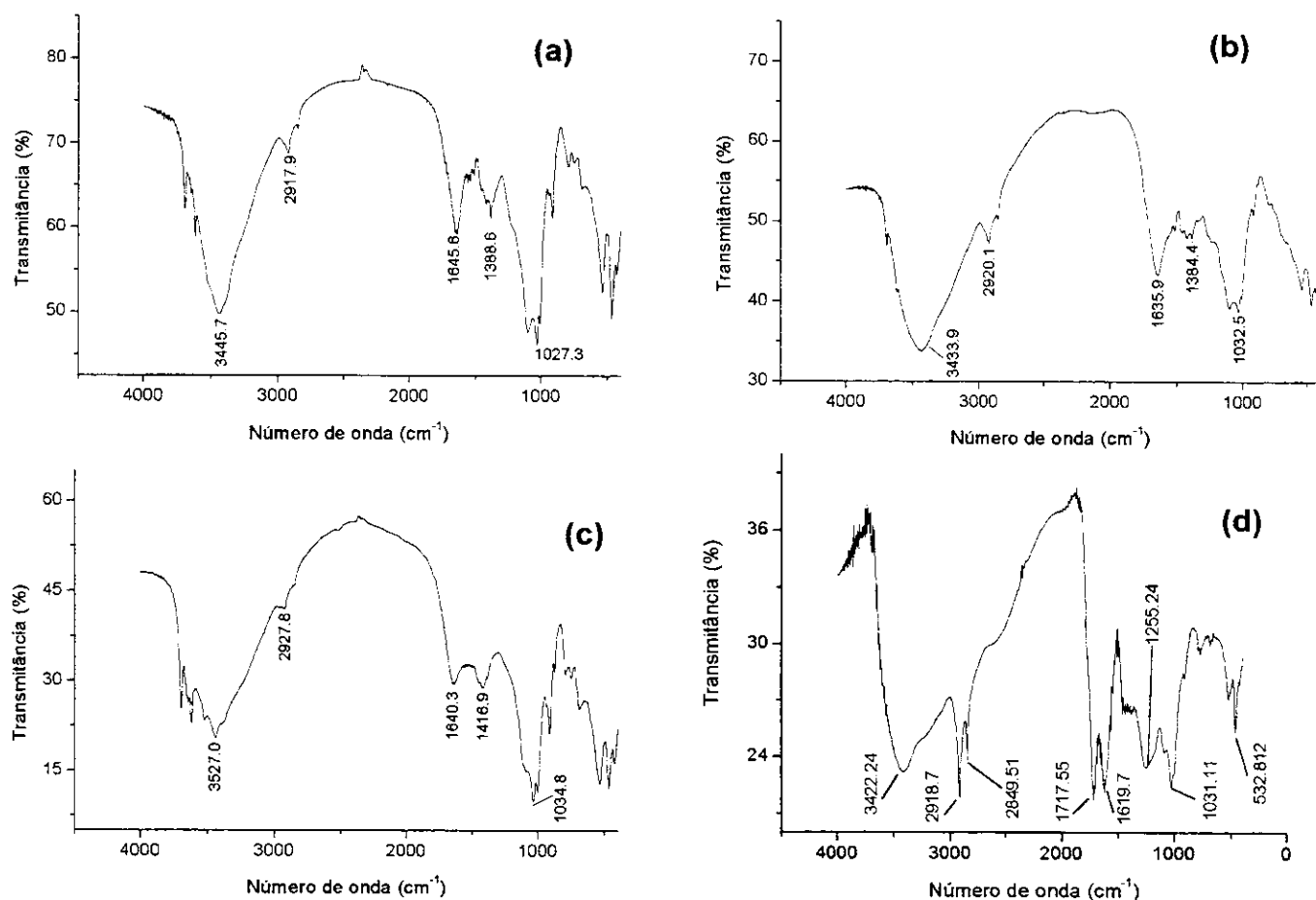


Figura 4: Espectros no IV - (a) MH; (b) SM; (c) XA e (d) ácido húmico

Os difratogramas de raios-X estão indicados nas Figuras 5a-d. Em todas as amostras observou-se um intenso pico em 2θ próximo de $26,8^\circ$ característico de distâncias interplanares do SiO_2 (informação fornecida pela biblioteca eletrônica do difratômetro empregado). A presença do óxido de silício, de elevada resistência térmica [124], explica, em parte, os acentuados teores de cinzas observados nas amostras de vermicomposto (Tabela 1).

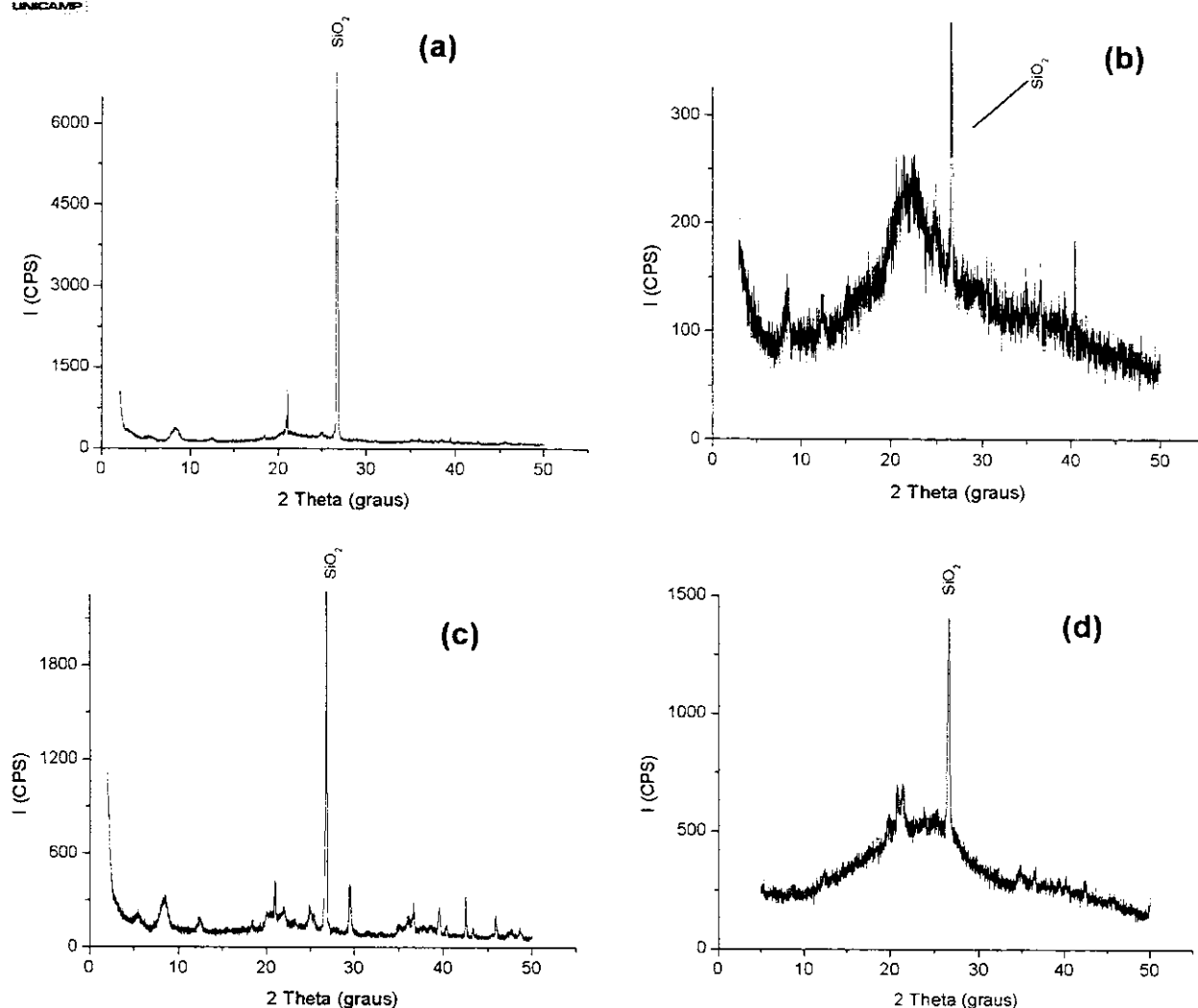


Figura 5: Difratogramas de raios-X: (a) MH, (b) SM, (c) XA e (d) ácido húmico

As Figuras 6a-d contêm as micrografias eletrônicas das 4 amostras avaliadas, evidenciando superfícies bastante irregulares e porosas com a conseqüente existência de numerosas possibilidades de retenção das espécies consideradas. A granulometria do vermicomposto encontra-se na Tabela 2.

Tabela 2: Determinação granulométrica das amostras de vermicomposto, em % (m/m)*

Amostra	150 – 75 μm	75 – 63 μm	63 – 45 μm	45 – 38 μm	< 38 μm
MH	14,8 $\pm$ 0,7	7,2 $\pm$ 0,5	4,0 $\pm$ 0,3	1,9 $\pm$ 0,1	1,7 $\pm$ 0,1
SM	2,2 $\pm$ 0,1	0,9 $\pm$ 0,1	0,6 $\pm$ 0,1	0,4 $\pm$ 0,03	0,3 $\pm$ 0,02
XA	21,5 $\pm$ 0,9	13,2 $\pm$ 0,9	5,5 $\pm$ 0,2	1,5 $\pm$ 0,1	1,3 $\pm$ 0,1

*n=3

A interpretação desta Tabela leva à constatação de que a amostra XA apresenta, naturalmente, o maior grau de sub-divisão das partículas. A análise granulométrica do ácido húmico *in natura* não foi executada porque este material foi inicialmente triturado em função do tamanho original de seus grânulos (> 2 mm) inadequado para as propostas analíticas.

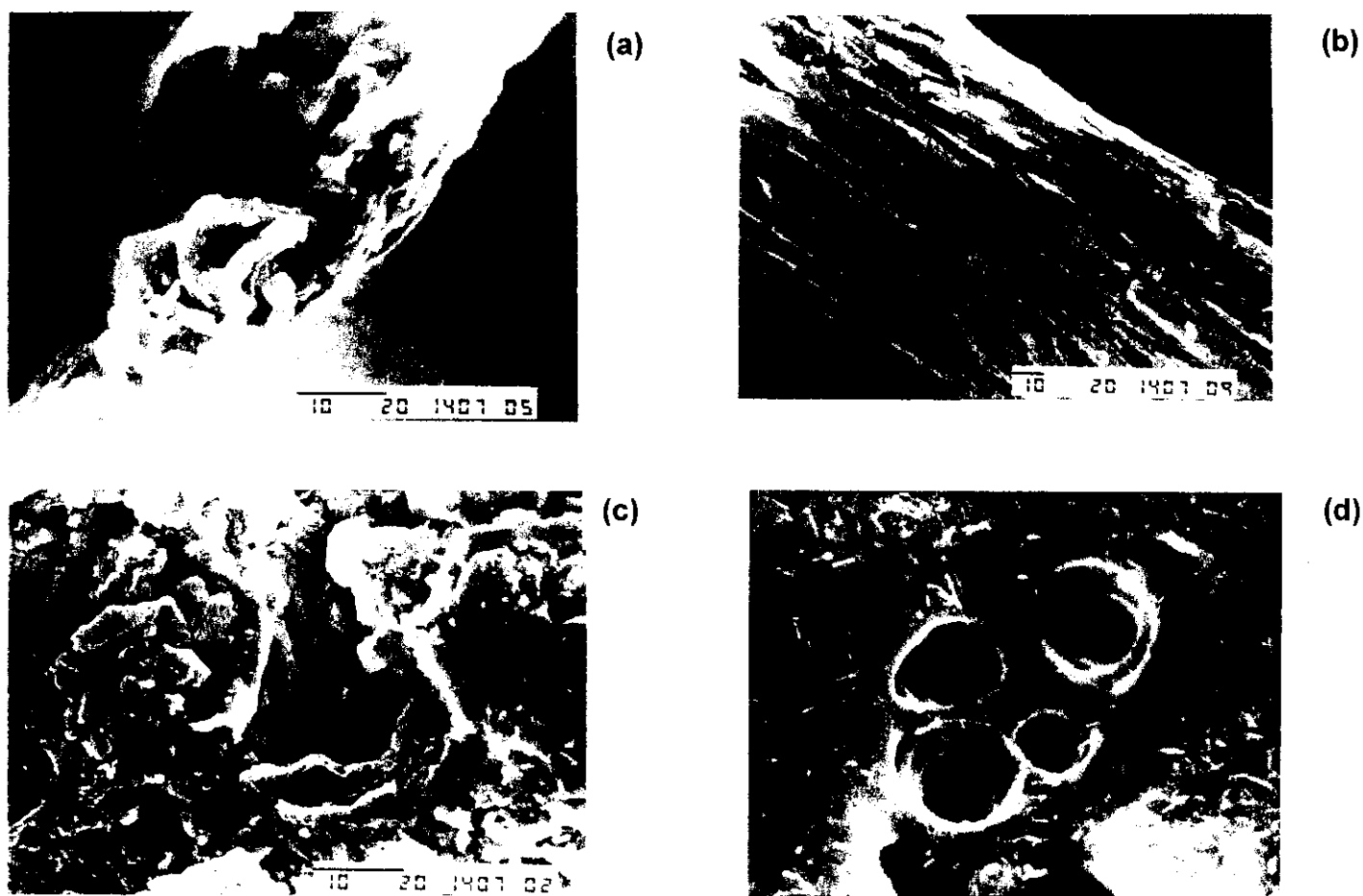


Figura 6: Micrografias eletrônicas - (a) MH 2000X; (b) SM 750X; (c) XA 2000X e (d) ácido húmico 750X

A Tabela 3 contém os teores totais de C, N e H dos compostos humificados.

Tabela 3: Concentrações totais de C, N e H dos compostos humificados, em % (m/m)*

Amostra	C	N	H
MH	17,1 ± 0,1	2,0 ± 0,1	3,0 ± 0,02
SM	33,2 ± 1,0	2,3 ± 0,05	5,0 ± 0,2
XA	10,4 ± 0,2	0,7 ± 0,08	1,8 ± 0,03
Ácido húmico	36,2 ± 3,0	0,6 ± 0,03	4,1 ± 0,1

*n=3

Amostras de vermicomposto analisadas por Atiyeh *et al.* [115] apresentaram teores médios de carbono e nitrogênio de 27,4 e 2,4% (m/m), respectivamente. Em comparação a estes valores, os resultados da Tabela 3 apresentam-se bastante diversificados, o que é natural ao se considerar as diferenças de matriz de vermicompostos distintos. A composição elementar do ácido húmico, de um forma geral, apresentou-se similar à composição do vermicomposto. Nota-se uma correlação entre os teores totais de matéria orgânica (Tabela 1) e os teores de carbono das amostras de vermicomposto, pois a amostra SM com maior teor de matéria orgânica também apresentou a mais elevada quantidade percentual de carbono. Da mesma forma, a amostra XA, com menor percentual orgânico, exibiu a menor proporção carbonácea.

Associando-se os adsorventes humificados com os solos, verifica-se que o teor de nitrogênio dos primeiros é bem maior, considerando a composição percentual média de nitrogênio em solos agriculturáveis de 0,15% (m/m) [124]. Deste modo, a amostra MH possui uma quantidade de nitrogênio cerca de 13 vezes maior, enquanto que para as amostras SM e XA as concentrações de nitrogênio apresentam-se, respectivamente, 16 e 5 vezes mais elevadas que o valor médio encontrado nos solos. Para o ácido húmico, a referida proporção atinge 4 vezes. Estas observações são importantes ao considerar que grande parte do nitrogênio presente em um material compostado faz parte de grupamentos químicos capazes de reter cátions [100].

Os resultados referentes às concentrações trocáveis de Ca, Mg, Na e K, e à acidez trocável e potencial do vermicomposto encontram-se na Tabela 4.

Tabela 4: Valores ($\text{cmol}_c \text{ kg}^{-1}$) da acidez trocável (AT) e potencial (AP) e das concentrações trocáveis de Ca, Mg, Na e K*

Amostra	AP	AT	Ca	Mg	Na	K
MH	$4,4 \pm 0,2$	$0,9 \pm 0,1$	$32,4 \pm 2,0$	$9,2 \pm 0,7$	$1,6 \pm 0,1$	$1,5 \pm 0,1$
SM	$4,1 \pm 0,2$	0,0	$20,9 \pm 1,0$	$18,4 \pm 0,6$	$6,4 \pm 0,1$	$4,7 \pm 0,2$
XA	$3,2 \pm 0,1$	$1,1 \pm 0,1$	$52,2 \pm 3,3$	$1,5 \pm 0,1$	$9,3 \pm 0,3$	$6,7 \pm 0,4$

*n=3

A acidez trocável é originada quando espécies adsorvidas nas partículas do vermicomposto (principalmente Al) são deslocadas por outra espécie química em maior concentração, usualmente Ca ou K. Estes últimos são capazes de deslocar os íons Al para a solução, ocasionando a hidrólise deste cátion e a liberação de íons hidrogênio [125]. Na acidez potencial, além dos íons H_3O^+ provenientes da hidrólise do alumínio, ocorre a desprotonação de grupos ácidos da matéria orgânica em virtude do tampão a pH 7 [126]. Deste modo, os resultados da acidez potencial são maiores que os apresentados pela acidez trocável, ressaltando a coerência entre os valores obtidos nesta tese. A diferença entre as concentrações de cátions trocáveis reflete a variabilidade entre amostras de vermicomposto oriundas de distintas regiões. Os resultados da CTC (calculados segundo item 3.3.1.1.7) encontram-se na Tabela 5.

Tabela 5: Valores de CTC efetiva e potencial, em $\text{cmol}_c \text{ kg}^{-1}$ *

Amostra	CTC_{ef}	CTC_{pot}
MH	$45,6 \pm 2,1$	$49,1 \pm 2,1$
SM	$50,4 \pm 1,2$	$54,5 \pm 1,2$
XA	$70,8 \pm 3,3$	$72,9 \pm 3,3$

*n=3

A extensão da CTC em amostras de vermicomposto pode ser melhor visualizada ao se comparar os resultados da Tabela 5 com outros materiais adsorvivos. Neste sentido, Wershaw *et al.* [127] observaram que solos agrícolas das Filipinas exibem capacidade de troca catiônica próxima a $24 \text{ cmol}_c \text{ kg}^{-1}$ consideravelmente inferior aos resultados obtidos para vermicomposto. A justificativa

para a amostra XA ter exibido a maior CTC recai sobre o maior grau de sub-divisão das partículas desta amostra (Tabela 2). Esta propriedade também explica a maior concentração dos cátions trocáveis. Outra explicação reside na possibilidade da amostra XA deter uma fração orgânica com maior grau de humificação.

Como a amostra XA apresentou a maior CTC, que se constitui em um dos mais importantes parâmetros para propostas de adsorção metálica, decidiu-se adotar a referida amostra em todos os demais experimentos descritos nesta seção e nas seções 4.2 - 4.4. Em função da semelhança estrutural entre vermicomposto e ácido húmico, foi possível considerar que este último também apresenta desejável CTC.

A determinação dos teores totais de Cd e Pb revelou concentrações reduzidas de ambos os metais no ácido húmico ($< 2,0$ e $20 \mu\text{g g}^{-1}$, respectivamente) e de Cd no vermicomposto ($< 2,0 \mu\text{g g}^{-1}$). Por outro lado, a concentração total de Pb no vermicomposto foi elevada, atingindo valores de $2,7 \pm 0,1 \text{ mg g}^{-1}$. Caso a referida concentração se tornasse disponível (trocável), seria impraticável propor o vermicomposto como pré-concentrador para Pb em virtude das contaminações durante a eluição. Entretanto, estudos conduzidos pela percolação de 19 alíquotas (100 mL) de HNO_3 $0,1 \text{ mol L}^{-1}$ através de 20 g de vermicomposto revelaram concentrações trocáveis de Pb (GFAAS) aceitáveis conforme ilustrado na Figura 7.

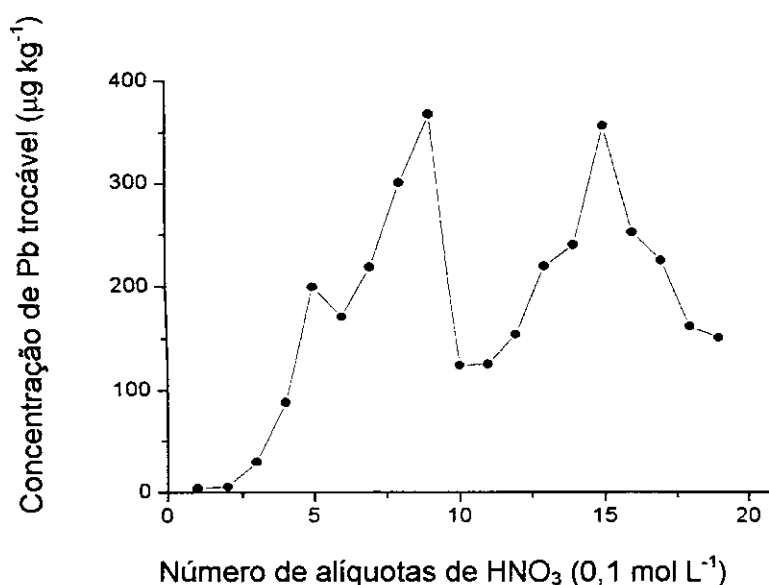


Figura 7: Perfil de lixiviação do Pb em vermicomposto

Observa-se que a maior concentração trocável de chumbo atingiu o valor de $370 \mu\text{g kg}^{-1}$, descartando-se, portanto, as possibilidades de contaminação, visto que a massa de vermicomposto utilizada no sistema de pré-concentração foi de 25 mg (800 vezes menor que a massa de 20 g usada no procedimento de lixiviação). Desta forma, os estudos de aplicação do vermicomposto para pré-concentrar Pb puderam ser conduzidos.

A Tabela 6 contém os resultados concernentes aos estudos adsorptivos do Cd em vermicomposto e ácido húmico. A elevação do pH ocasionou aumento significativo da retenção de Cd em ambos os adsorventes, ressaltando a importância da matéria orgânica para a retenção metálica por meio da desprotonação de grupamentos químicos. Para o vermicomposto, ocorrem aumentos expressivos (de 3 a 5 vezes) na porcentagem de adsorção quando o pH varia de 2 para 4, enquanto que as diferenças entre as adsorções em pH 4 e 6 demonstram pouca significância, indicando que o ótimo encontra-se entre estes dois valores. Já para o ácido húmico, nota-se a maior adsorção em pH 6 com incrementos na porcentagem de 8 a 11 vezes em relação ao pH 2. O tempo de agitação, por outro lado, não influenciou as respostas analíticas ao se considerar ambos os adsorventes.

Identifica-se um ótimo em pH 5 para a adsorção de Cd em vermicomposto (Figura 8a), enquanto que a adsorção deste analito em ácido húmico apresenta o máximo localizado em pH > 6 (Figura 8b). Entretanto, experimentos adsorptivos em regiões mais alcalinas não foram conduzidos dada à proximidade do ótimo em relação a este ponto indicada pela elevada inflexão da curva. Portanto, os valores otimizados de pH (empregados na construção das isotermas e nos procedimentos de pré-concentração) foram de 5 e 6 para vermicomposto e ácido húmico, respectivamente. No tocante ao tempo de agitação (usado somente na obtenção das isotermas), adotou-se 5 min para ambos os materiais. As escalas normalizadas na Figura 8 foram convertidas em escala de pH segundo Barros Neto *et al.* [118], sendo a referida conversão adotada em todos os demais experimentos fundamentados no planejamento fatorial em cujos gráficos foram identificados valores máximos.

Tabela 6: Dados referentes aos experimentos adsorptivos de Cd em vermicomposto e ácido húmico*

Ensaio	Níveis dos fatores		Adsorção de Cd (%)	
	pH	Tempo de agitação	Vermicomposto	Ácido húmico
1	-1	-1	7,3 ± 0,6	2,3 ± 0,2
2	0	-1	38,7 ± 0,4	16,5 ± 1,2
3	1	-1	34,0 ± 2,4	22,7 ± 1,1
4	-1	0	11,6 ± 1,2	1,9 ± 0,2
5	0	0	34,8 ± 1,0	17,6 ± 0,7
6	1	0	34,6 ± 1,4	21,8 ± 0,3
7	-1	1	9,1 ± 0,3	2,5 ± 0,2
8	0	1	34,5 ± 2,1	16,9 ± 1,0
9	1	1	32,2 ± 1,3	20,1 ± 0,7

*n=3, consultar a seção 3.3.1.1.9 para obter o significado dos números -1, 0 e 1

O tratamento estatístico e matemático [118] dos dados acima forneceu as equações 1 e 2 graficamente representadas pelas Figuras 8a e 8b, respectivamente.

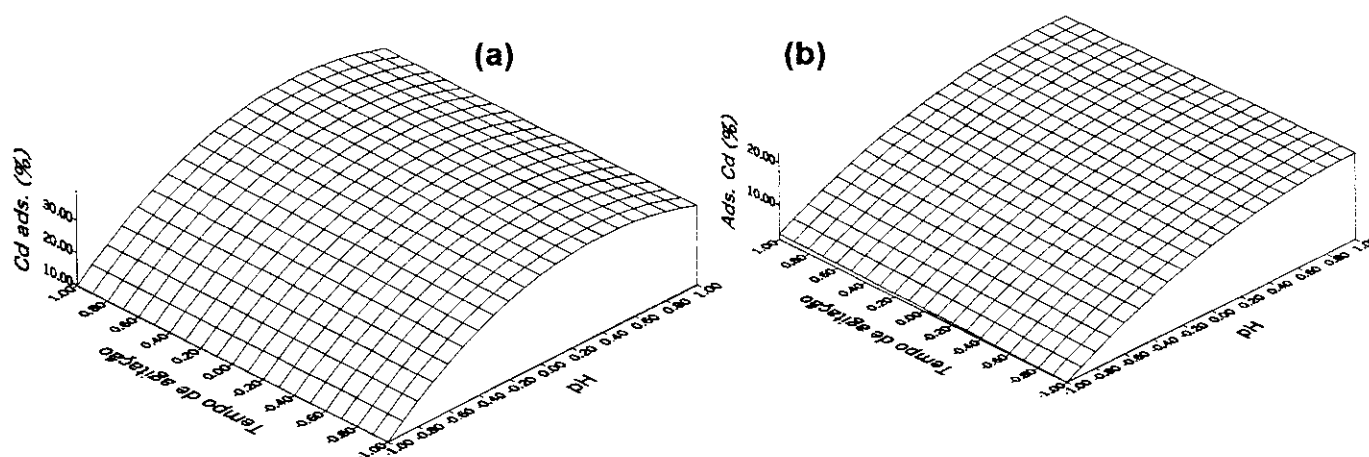


Figura 8: Superfície resposta para a adsorção de Cd: (a) vermicomposto, (b) ácido húmico. Equação 1: $Ads. Cd (\%) = 37,0 + 14,3 \times pH - 15,0 \times pH^2$ e equação 2: $Ads. Cd (\%) = 17,1 + 9,7 \times pH - 5,1 \times pH^2 - 0,7 \times pH \times TA$, onde TA significa tempo de agitação.

A Tabela 7 lista as porcentagens de adsorção do Pb em vermicomposto em função do pH e do tempo de agitação.

Tabela 7: Dados referentes aos experimentos adsorptivos de Pb em vermicomposto*

Ensaio	Níveis dos fatores		Adsorção de Pb (%)
	pH	Tempo de agitação	
1	-1	-1	$9,7 \pm 0,4$
2	1	-1	$35,2 \pm 1,0$
3	-1	1	$6,8 \pm 0,3$
4	1	1	$59,5 \pm 2,1$

*n=3, consultar a seção 3.3.1.1.9 para obter o significado dos números -1 e 1

A adoção de um planejamento fatorial mais simples (do tipo 2^2) para o estudo do perfil adsorptivo do chumbo em vermicomposto fundamentou-se em informações prévias contidas na literatura [101]. Na publicação [101], os autores verificaram constância de sinal na faixa de pH de 4 a 10 com o ótimo localizado em pH 5,5. Baseado nestas informações, decidiu-se adotar na presente tese o valor 6 como nível superior do fator pH, enquanto que a escolha do pH 2 (nível -1) objetivou à avaliação do perfil adsorptivo do chumbo em condições mais ácidas. Vale ressaltar que as relações entre a massa de chumbo e a massa do vermicomposto, nesta tese e na referência [101], foram as mesmas.

Os coeficientes indicados na equação 3 revelaram elevada influência do fator pH, enquanto que o tempo de agitação demonstrou efeito menos pronunciado sob o comportamento adsorptivo do Pb em vermicomposto. Apesar da Figura 9a indicar maiores porcentagens de adsorção em $\text{pH} > 6$, deve-se observar que a notável inclinação no eixo do pH é devida à pronunciada diferença nas respostas nos dois níveis avaliados e não a uma tendência propriamente dita no acréscimo da adsorção do Pb em regiões mais alcalinas. Deste modo, o pH 6 foi fixado como valor otimizado. Além disso, estabelecer valores de pH maiores torna-se problemático em função da acidez de muitas amostras que passam, por exemplo, por procedimentos de decomposição. Assim, seria necessário adicionar quantidades expressivas de soluções básicas que, dependendo da composição da matriz, poderia acarretar a precipitação de macroconstituintes como o ferro(III) e o alumínio. Adicionalmente, existem relatos de que valores de pH superiores a 7,5 promovem a solubilização

parcial do vermicomposto [101]. No tocante ao tempo de agitação, níveis superiores a 60 min não foram testados devido ao aumento não proporcional da porcentagem de adsorção do Pb com o acréscimo do tempo de agitação. Para confirmar esta tendência, realizou-se um experimento com 120 min de agitação ($n = 3$), obtendo-se um valor de adsorção do Pb de $63,7 \pm 5,3\%$. Deste modo, constatou-se a independência da retenção deste analito em relação ao tempo de agitação em valores maiores que 1 h. Acima de 2 h de agitação, a referência [101] reporta uma constância na porcentagem de adsorção até um limite superior de 24 h.

A Tabela 8 contém os dados acerca da adsorção do Pb em ácido húmico e, analogamente ao vermicomposto, observou-se forte influência do pH (ótimo em 5) evidenciada pelos coeficientes da equação 4. A análise desta equação também indica o efeito reduzido do tempo de agitação sobre a resposta analítica com um ótimo localizado em 41 min, conforme a discreta inflexão observada na Figura 9b.

Tabela 8: Dados referentes aos experimentos adsorptivos de Pb em ácido húmico*

Ensaio	Níveis dos fatores		Adsorção (%)
	pH	Tempo de agitação	
1	-1	-1	$28,8 \pm 1,8$
2	0	-1	$66,2 \pm 1,9$
3	1	-1	$70,8 \pm 0,4$
4	-1	0	$29,6 \pm 0,5$
5	0	0	$87,4 \pm 1,2$
6	1	0	$80,9 \pm 2,7$
7	-1	1	$27,5 \pm 1,3$
8	0	1	$84,9 \pm 2,6$
9	1	1	$78,6 \pm 2,3$

* $n=3$, consultar a seção 3.3.1.1.9 para obter o significado dos números -1, 0 e 1

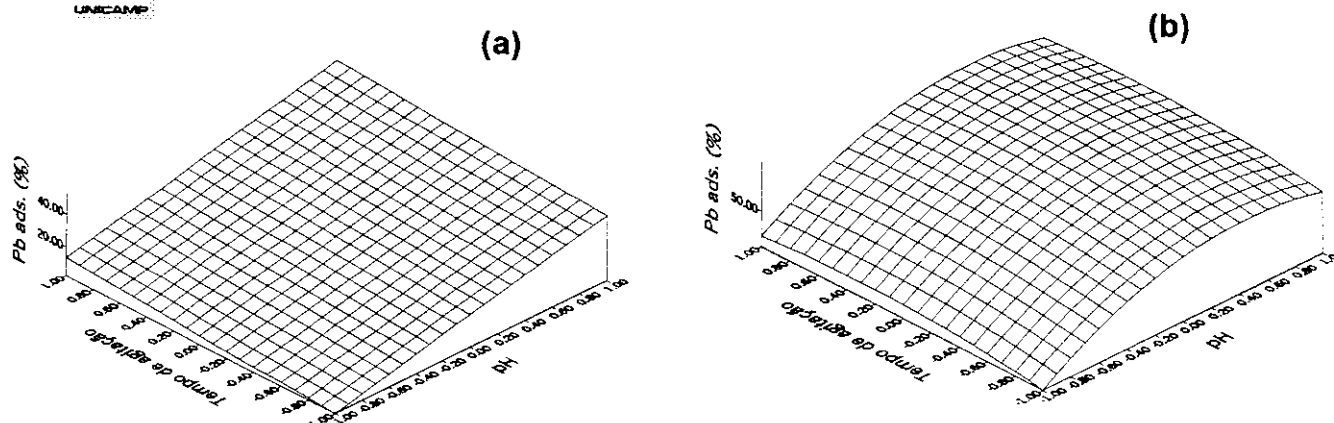


Figura 9: Superfície resposta para a adsorção de Pb: (a) vermicomposto, (b) ácido húmico. Equação 3: $\text{Ads Pb (\%)} = 27,8 + 19,6 \times \text{pH} + 5,4 \times \text{TA}$ e equação 4: $\text{Ads Pb (\%)} = 83,9 + 24,1 \times \text{pH} + 4,2 \times \text{TA} - 26,8 \times \text{pH}^2 - 6,5 \times \text{TA}^2$, onde TA significa tempo de agitação.

A saturação dos adsorventes humificados pelo Cd encontra-se na Tabela 9.

Tabela 9: Dados sobre a saturação dos adsorventes humificados em relação ao Cd

Vermicomposto		Ácido húmico	
Massa de Cd adicionada (mg)	Massa de Cd adsorvida (mg)*	Massa de Cd adicionada (mg)	Massa de Cd adsorvida (mg)*
0,4	$0,3 \pm 0,01$	0,5	$0,4 \pm 0,005$
1,9	$0,8 \pm 0,03$	2,0	$1,2 \pm 0,004$
8,2	$1,4 \pm 0,05$	7,7	$1,6 \pm 0,1$
25,0	$1,5 \pm 0,04$	26,9	$2,8 \pm 0,2$
32,0	$1,6 \pm 0,03$	31,7	$2,6 \pm 0,1$
40,70	$1,5 \pm 0,04$	37,6	$1,4 \pm 0,1$

*n=3

Para o vermicomposto, pode-se constatar uma tendência à saturação em concordância com o comportamento previsto pelas isotermas de Langmuir, descritas matematicamente pela equação 5 [128]:

$qM = a \times b \times C_{eq}M \times (1 + a \times C_{eq}M)$ [Eq. 5], onde:

- qM é a quantidade do metal adsorvido no vermicomposto (mg g^{-1});
- a é uma constante relacionada com a energia de adsorção;
- b é a capacidade máxima adsortiva (CMA) (mg g^{-1});
- $C_{eq}M$ representa a concentração do metal em equilíbrio (mg L^{-1}).

A representação gráfica da saturação do vermicomposto em relação ao cádmio encontra-se na Figura 10.

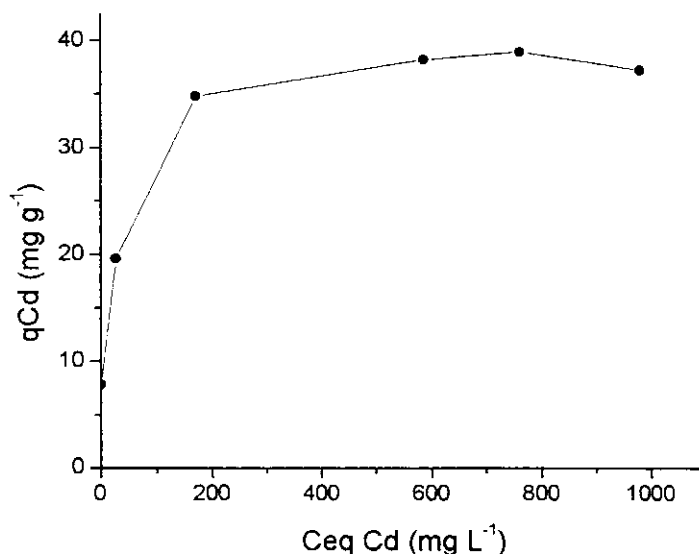


Figura 10: Isoterma de adsorção do Cd em vermicomposto

A linearização da equação 5 leva à equação 6 apta a fornecer a capacidade máxima adsortiva (CMA), que é o inverso do coeficiente angular [129].

$$C_{eq}M/qM = (a \times b)^{-1} + (b)^{-1} \times C_{eq}M \text{ [Eq. 6]}$$

Os valores do termo $C_{eq}M$ foram obtidos diretamente das análises dos sobrenadantes pela técnica FAAS.

Aplicando-se a equação 6 aos dados obtidos da adsorção de Cd em vermicomposto, obtém-se a Figura 11. Por esta regressão, foi calculada uma CMA de 39 mg g^{-1} , indicando adequada capacidade adsortiva do vermicomposto, quando comparado com outros adsorventes (Quadro 15).

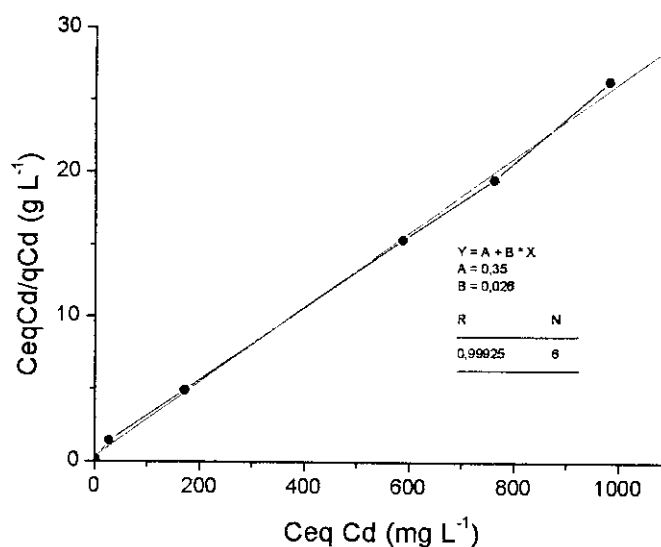


Figura 11: Linearização dos dados referentes à adsorção do Cd em vermicomposto

Quadro 15: Capacidade máxima adsortiva para cádmio em alguns materiais [130]

Adsorvente	Capacidade máxima de adsorção para cádmio (mg g ⁻¹)
<i>Rhizopus arrhizus</i> (fungo)	30,4
<i>Penicillium chrysogenum</i> (bactéria)	43,8
<i>Pseudomonas aeruginosa</i> (bactéria)	42,7
<i>Saccharomyces cerevisiae</i> (alga)	38,2
<i>Durvillaea potatorum</i> (alga)	125,9
<i>Padina</i> sp. (alga)	59,6
Turfa	22,5
Clinoptiloita	23,6
Fe(OH) ₃ / Cr(OH) ₃	47,2
Duolite GT-73	66,3
Carbono ativado	7,9

Ao contrário do vermicomposto, o ácido húmico não exibiu tendência à saturação frente ao Cd conforme demonstrado na Figura 12. Devido a este comportamento, não foi possível realizar a linearização e, conseqüentemente, o valor da CMA não foi estipulado. Uma provável explicação para o perfil da Figura 12 reside na formação de agregados do tipo Cd-Cd em valores mais elevados de concentração.

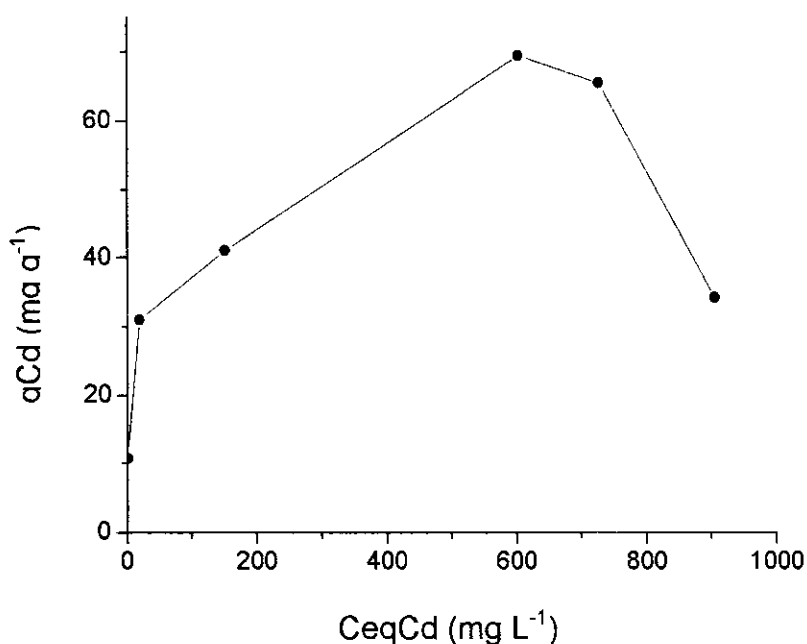


Figura 12: Isoterma de adsorção do Cd em ácido húmico

Na Tabela 10 estão contidos os resultados referentes ao processo de saturação dos adsorventes naturais quando o analito chumbo é considerado.

A isoterma de adsorção do Pb em vermicomposto encontra-se na Figura 13, observando-se tendência à saturação. A linearização dos resultados da Tabela 10 para o vermicomposto conduz à Figura 14.

Tabela 10: Dados sobre a saturação dos adsorventes humificados em relação ao Pb

Vermicomposto		Ácido húmico	
Massa de Pb adicionada (mg)	Massa de Pb adsorvida (mg)*	Massa de Pb adicionada (mg)	Massa de Pb adsorvida (mg)*
0,4	$0,4 \pm 0,01$	0,4	$0,3 \pm 0,01$
2,1	$1,8 \pm 0,05$	1,8	$1,7 \pm 0,04$
8,4	$2,9 \pm 0,2$	7,5	$4,8 \pm 0,04$
26,5	$3,2 \pm 0,4$	23,3	$6,2 \pm 0,09$
31,9	$3,3 \pm 0,1$	34,1	$6,3 \pm 0,1$
40,0	$3,7 \pm 0,06$	42,3	$7,6 \pm 0,1$

*n=3

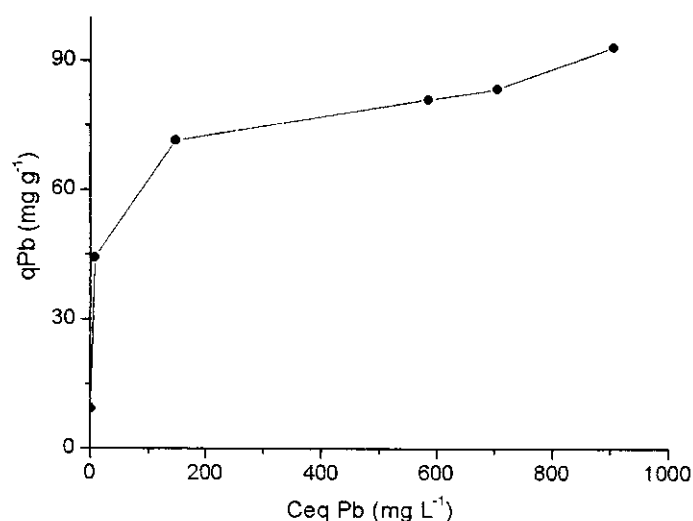


Figura 13: Isoterma de adsorção do Pb em vermicomposto

Pela equação de reta contida na figura 14, foi possível determinar uma CMA do vermicomposto frente ao chumbo de 91 mg g^{-1} . Este valor é bastante efetivo conforme indicado no Quadro 16.

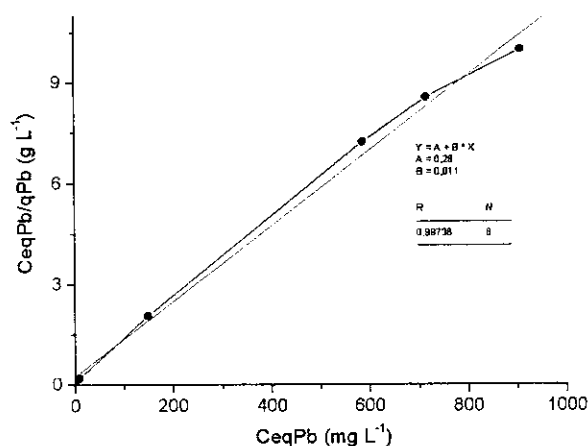


Figura 14: Linearização dos dados referentes à adsorção do Pb em vermicomposto

Quadro 16: Capacidade máxima adsortiva para chumbo em alguns materiais

Adsorvente	Capacidade máxima de adsorção para chumbo (mg g ⁻¹)	Referência
Carvão mineral	8,5	131
<i>Phellinus badius</i> (fungo)	35,2	132
<i>Rhizopus arrhizus</i> (fungo)	76,4	133
Grãos de cereais	68,4	134
<i>Streptoverticillium cinnamoneum</i> (fungo)	38,0	135
<i>Ecklonia radiata</i> (alga)	282	136
<i>Durvillae potatorum</i> (alga)	332	137
<i>Rhizopus arrhizus</i> (fungo)	71,0	138

A Figura 15 ilustra o comportamento gráfico da saturação do ácido húmico pelo chumbo.

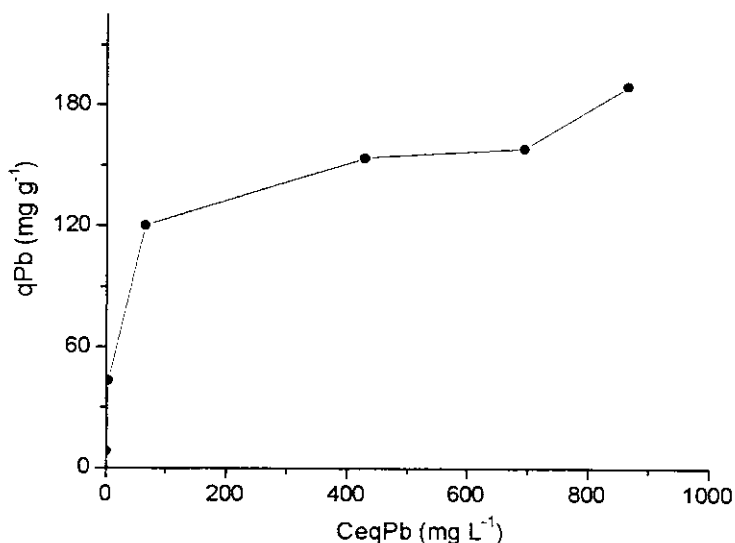


Figura 15: Isoterma de adsorção do Pb em ácido húmico

A diferença entre a quantidade de chumbo adsorvido no último e penúltimo pontos da isoterma é de aproximadamente 20%, caracterizando um comportamento distinto do esperado para os estudos de saturação. Por este motivo, a CMA do ácido húmico para Pb não foi estimada.

Conforme demonstrado ao longo desta seção, os procedimentos de caracterização física e química dos adsorventes humificados revelaram propriedades promissoras em termos das propostas de pré-concentração, notadamente no que diz respeito às CMAs. No intuito de finalizar estas etapas, avaliou-se a magnitude do poder adsorvedor do vermicomposto através do cálculo do fator de pré-concentração, empregando-se soluções sintéticas de Cd e amostra de água mineral fortificada com este elemento (seção 3.3.1.1.10).

O fator de pré-concentração real foi avaliado dividindo-se a concentração de Cd nos eluatos (10 mL de HNO₃ 1 mol L⁻¹) pelas concentrações de Cd nas amostras sintética e fortificada (antes da etapa pré-concentradora), sendo estas últimas concentrações fornecidas pela GFAAS. Os resultados obtidos encontram-se na Tabela 11.

Tabela 11: Resultados dos experimentos de pré-concentração (Cd em vermicomposto)

Amostra	Concentração de Cd antes da pré-concentração ($\mu\text{g L}^{-1}$)*	Concentração de Cd no eluato ($\mu\text{g L}^{-1}$)*	Fator de pré-concentração calculado
Sintética	$4,8 \pm 0,06$	456 ± 23	$95 \pm 4,9$
Água mineral fortificada	$4,8 \pm 0,04$	479 ± 31	$100 \pm 6,5$

*n=3

Considerando que o fator de pré-concentração teórico é 100 [razão entre os volumes de amostra (1000 mL) e eluato (10 mL)], foram observadas ótimas recuperações, confirmando as expectativas acerca da capacidade pré-concentradora do vermicomposto. Os resultados aqui obtidos foram extrapolados para o ácido húmico novamente devido à similaridade entre este adsorvente e o vermicomposto.

4.2. Otimização dos sistemas pré-concentradores contendo vermicomposto e ácido húmico como adsorventes

A Tabela 12 contém os resultados da otimização das metodologias de determinação de Cd empregando os adsorventes humificados. A relação matemática entre a área do pico e as variáveis estudadas encontram-se na equação 7 (vermicomposto) e 8 (ácido húmico), graficamente representadas pelas Figuras 16a e 16b, respectivamente.

$$\text{Área do pico para Cd} = 0,2 + 0,03 \times \text{conc. HNO}_3 + 0,06 \times \text{TPC} \text{ [Eq. 7]}$$

$$\text{Área do pico para Cd} = 0,15 + 0,008 \times \text{conc. HNO}_3 + 0,04 \times \text{TPC} \text{ [Eq. 8],}$$

onde TPC significa tempo de pré-concentração.

Pelo fato do erro associado ao coeficiente do fator volume de eluição ter sido maior que o referido coeficiente, este último não foi considerado na obtenção das equações 7 e 8. Desta forma, pode-se afirmar que o volume de eluição, na avaliação conjunta dos resultados, não apresentou efeito significativo sobre as respostas analíticas.

Tabela 12: Dados referentes à otimização (planejamento fatorial) dos sistemas pré-concentradores para Cd usando vermicomposto e ácido húmico como adsorventes

Ensaio	Níveis dos fatores			Áreas de pico (A.s) [*]	
	Conc. HNO ₃	Vol. eluição	Tempo de pré-concentração	Vermicomposto	Ácido húmico
1	-1	-1	-1	0,083 ± 0,007	0,093 ± 0,004
2	1	-1	-1	0,147 ± 0,008	0,104 ± 0,007
3	-1	1	-1	0,111 ± 0,006	0,099 ± 0,007
4	1	1	-1	0,114 ± 0,006	0,108 ± 0,006
5	-1	-1	1	0,154 ± 0,01	0,180 ± 0,006
6	1	-1	1	0,293 ± 0,009	0,192 ± 0,01
7	-1	1	1	0,231 ± 0,008	0,172 ± 0,008
8	1	1	1	0,244 ± 0,007	0,203 ± 0,01

^{*} n = 5, consultar a seção 3.3.2 para obter o significado dos números -1 e 1

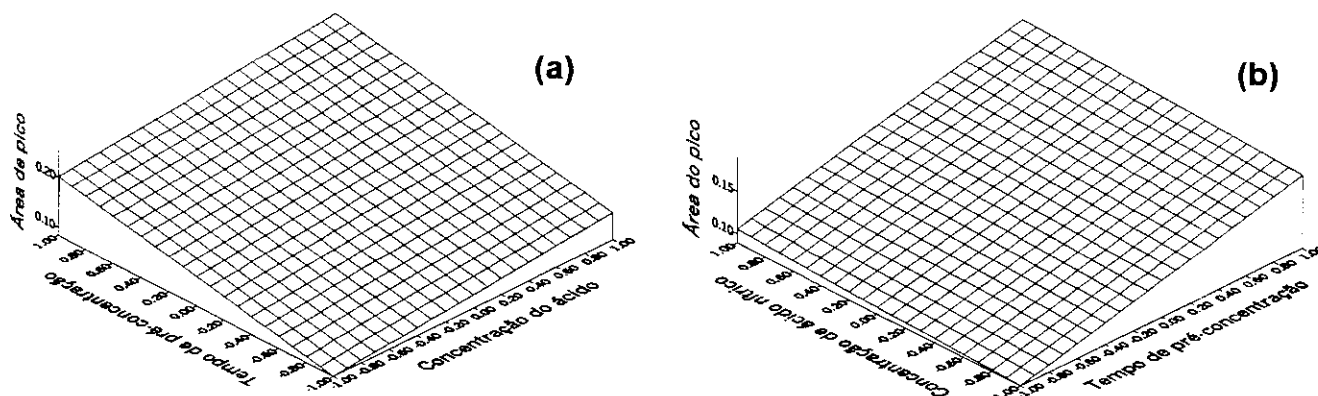


Figura 16: Superfície resposta para a otimização dos sistemas pré-concentradores para Cd: (a) vermicomposto e (b) ácido húmico

O tempo de pré-concentração exibiu, por outro lado, alta influência na resposta analítica (área de pico) obtida para cádmio como pode ser observado pela acentuada inclinação dos eixos correspondentes nas Figuras 16a e 16b. A concentração do HNO₃, ao contrário do tempo de pré-concentração, exibiu um efeito discreto sobre a resposta analítica para o vermicomposto e ácido húmico.

Frente aos resultados, adotou-se para a pré-concentração do cádmio em ambos os adsorventes as seguintes condições otimizadas: tempo de pré-concentração de 4 min, concentração do HNO_3 de 3 mol L^{-1} e volume de eluição de $220 \mu\text{L}$. Apesar da concentração do HNO_3 ter sido pouco expressiva (notadamente para o ácido húmico), adotou-se o maior nível (3 mol L^{-1}) a fim de evitar problemas de efeito de memória após um elevado número de sucessivos ciclos de pré-concentração/eluição. Tempos de pré-concentração superiores a 4 min não foram testados a fim de evitar metodologias economicamente inviáveis (alto consumo de acetileno) e com baixa frequência analítica.

Os resultados da otimização dos sistemas pré-concentradores para Pb encontram-se listados na Tabela 13. As equações 9 e 10 referem-se ao tratamento estatístico e matemático dos dados contidos nesta Tabela.

$$\text{Área do pico para Pb} = 0,09 + 0,005 \times \text{Conc. HNO}_3 + 0,03 \times \text{TPC. [Eq. 9]}$$

$$\text{Área do pico para Pb} = 0,05 + 0,02 \times \text{TPC. [Eq. 10]}$$

Tabela 13: Dados referentes à otimização (planejamento fatorial) dos sistemas pré-concentradores para Pb usando vermicomposto e ácido húmico como adsorventes

Ensaio	Níveis dos fatores			Áreas de pico (A.s) [*]	
	Conc. HNO_3	Vol. eluição	Tempo de pré-concentração	Vermicomposto	Ácido húmico
1	-1	-1	-1	$0,063 \pm 0,003$	$0,039 \pm 0,003$
2	1	-1	-1	$0,063 \pm 0,003$	$0,037 \pm 0,002$
3	-1	1	-1	$0,057 \pm 0,003$	$0,040 \pm 0,003$
4	1	1	-1	$0,064 \pm 0,004$	$0,035 \pm 0,003$
5	-1	-1	1	$0,109 \pm 0,008$	$0,070 \pm 0,002$
6	1	-1	1	$0,131 \pm 0,004$	$0,072 \pm 0,004$
7	-1	1	1	$0,112 \pm 0,007$	$0,063 \pm 0,005$
8	1	1	1	$0,120 \pm 0,003$	$0,073 \pm 0,004$

^{*} n = 5, consultar a seção 3.3.2 para obter o significado dos números -1 e 1

Novamente, o volume de eluição não foi significativo e, portanto, o referido fator foi desconsiderado nas equações 9 e 10. Para a avaliação da influência dos

demais fatores sobre os valores das áreas de pico obtidas para chumbo, foi adotado o mesmo raciocínio empregado na análise da Tabela 12. Assim, o tempo de pré-concentração novamente exibiu a maior influência sobre as respostas analíticas conforme indicado nas Figuras 17a e 17b. Deste modo, para ambos os adsorventes, adotou-se o tempo de pré-concentração de 4 min.

No caso da concentração de HNO_3 , praticamente não foi detectado acréscimo significativo na área do pico para o chumbo, principalmente quando empregado o ácido húmico. Este comportamento é claramente visualizado pela superfície resposta da Figura 17b. Pelo motivo anteriormente mencionado para as eluições do Cd, decidiu-se empregar a concentração de HNO_3 de 3 mol L^{-1} nas etapas de eluição do chumbo em vermicomposto. Ao se considerar o adsorvente ácido húmico, a insignificância estatística da concentração do eluente permitiu adotar o nível de 1 mol L^{-1} .

Conforme descrito no item 3.3.2 (página 26), o valor de $4,0 \text{ mL min}^{-1}$ foi fixado como vazão de eluição. O motivo desta escolha foi o de não comprometer a eficiência de nebulização do espectrômetro e, nesta vazão, 25 mg de vermicomposto ou ácido húmico foi o máximo suportado pelo sistema em fluxo sem que houvesse vazamentos. Por este motivo, a escolha da vazão de pré-concentração também ficou limitada a $4,0 \text{ mL min}^{-1}$.

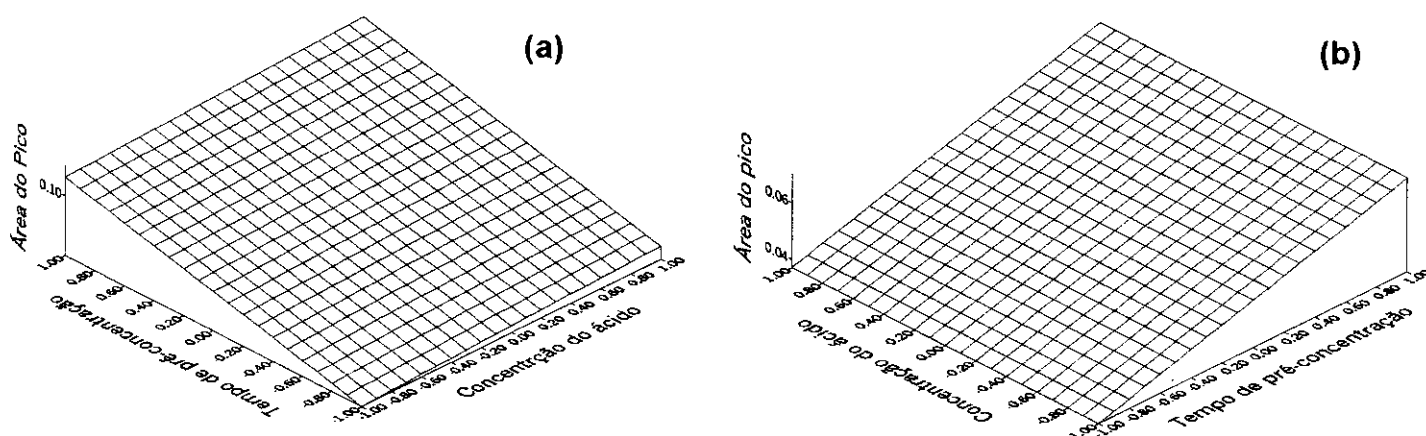


Figura 17: Superfície resposta para a otimização dos sistemas pré-concentradores para Pb: (a) vermicomposto e (b) ácido húmico

Os perfis de sinal obtidos nas condições otimizadas para Cd e Pb em vermicomposto e ácido húmico encontram-se nas Figuras 18 e 19, respectivamente.

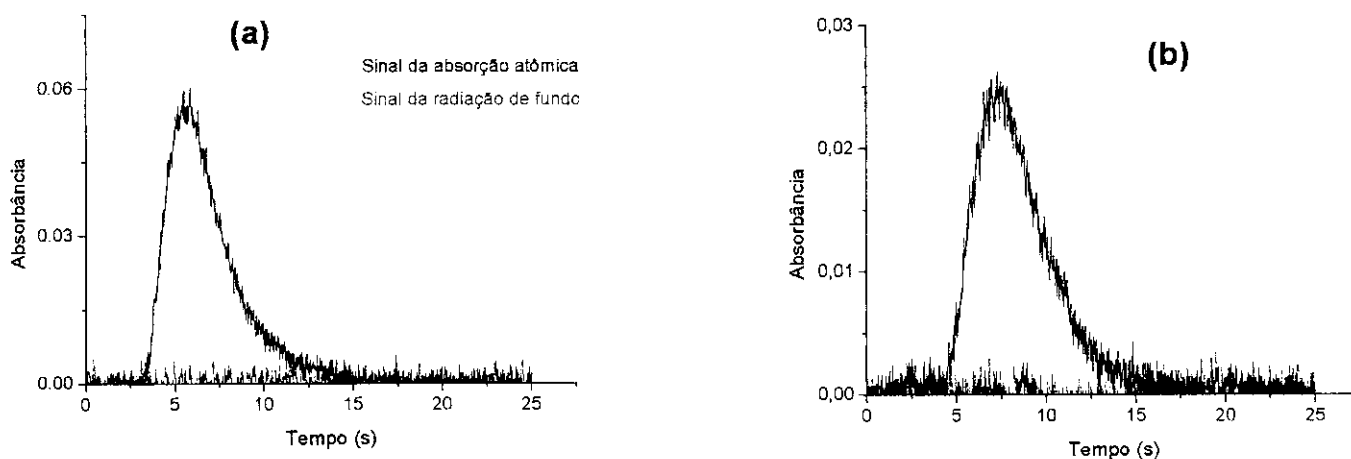


Figura 18: Perfis de sinal empregando vermicomposto como adsorvente: (a) Cd e (b) Pb

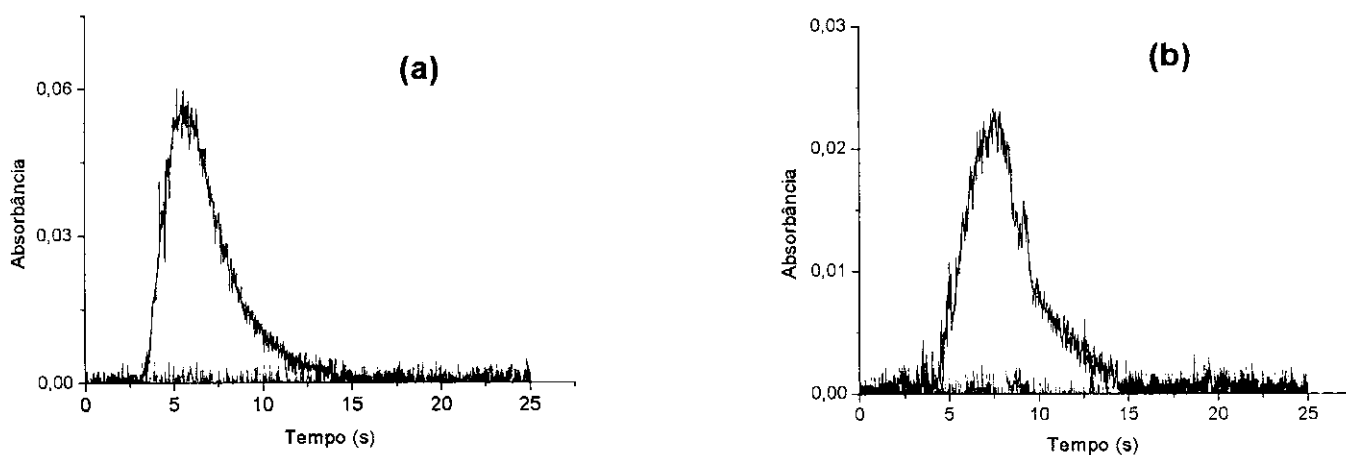


Figura 19: Perfis de sinal empregando ácido húmico como adsorvente: (a) Cd e (b) Pb

4.3. Influência da vazão de pré-concentração sobre a cinética de adsorção

Segundo a Tabela 14, o aumento da vazão de pré-concentração assume papel importante sobre o sinal analítico. Este comportamento revela que, na faixa de vazão especificada ($1,0 - 4,0 \text{ mL min}^{-1}$), não existem limitações associadas à cinética de adsorção e, portanto, quanto maior a vazão (até o limite de $4,0 \text{ mL min}^{-1}$), maior será a resposta em função da maior massa de analito adsorvida.

Tabela 14: Áreas de pico (A.s) obtidas dos testes da influência da vazão de pré-concentração sobre a cinética de adsorção de Cd e Pb*

Vazão de pré- concentração (mL min ⁻¹)	Cd		Pb	
	Vermicomposto	Ácido húmico	Vermicomposto	Ácido húmico
1,0	0,062 ± 0,004	0,041 ± 0,003	0,034 ± 0,002	0,023 ± 0,002
2,0	0,133 ± 0,007	0,093 ± 0,006	0,067 ± 0,005	0,042 ± 0,004
3,0	0,198 ± 0,009	0,139 ± 0,006	0,091 ± 0,004	0,053 ± 0,003
4,0	0,261 ± 0,014	0,185 ± 0,007	0,127 ± 0,005	0,078 ± 0,003

*n = 3

4.4. Desempenho analítico

4.4.1. Homogeneidade e estabilidade do vermicomposto e ácido húmico

Os resultados da homogeneidade dos adsorventes humificados na faixa granulométrica de 75-150 µm encontram-se na Tabela 15, onde os valores indicam o DPR entre as médias obtidas de cada conjunto de 5 colunas (seção 3.3.4.1, página 28).

Tabela 15: Resultados dos testes de homogeneidade para os adsorventes humificados

Analito	DPR (%)	
	Vermicomposto	Ácido húmico
Cd	11	9
Pb	8	11

Os resultados da Tabela 15 revelam uma homogeneidade satisfatória para ambos os adsorventes. Deve-se ainda ressaltar que as pequenas diferenças de sinal são contornadas se uma mesma coluna for empregada em todas as etapas.

Os testes de estabilidade do vermicomposto e ácido húmico estão representados nas Figuras 20a e 20b, respectivamente. Estes resultados indicam que ambos os adsorventes exibem boa estabilidade frente a sucessivas passagens de solução ácida ($220 \mu\text{L}$ de HNO_3 3 mol L^{-1}). Em última análise, isso significa que os sítios adsorptivos permanecem inalterados nas condições especificadas de acidez. Alguns comentários sobre estes testes tornam-se necessários. Como os adsorventes humificados apresentaram boa estabilidade ao longo dos vários ciclos de análise em relação ao Cd, conclui-se que são esperados comportamentos bastante similares para o Pb. Por este motivo, a utilização de apenas um analito tornou-se confiável para a avaliação da estabilidade. No tocante ao tempo de pré-concentração de 2 min adotado para a execução dos referidos testes, deve-se salientar que este tempo foi utilizado em detrimento ao tempo de 4 min com base no fato de que a estabilidade depende das condições de eluição e não das de pré-concentração. Portanto, a massa de Cd pré-concentrada em 2 min é suficiente para acompanhar possíveis decaimentos nos sinais analíticos ocasionados pela inativação dos sítios adsorptivos.

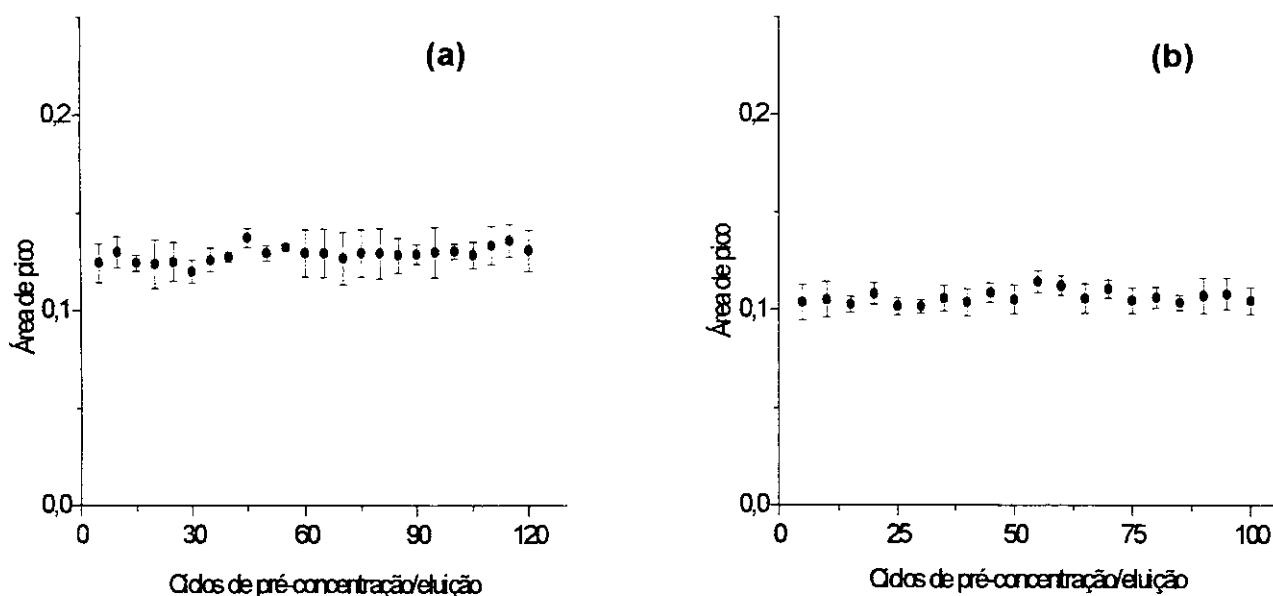


Figura 20: Gráficos de estabilidade: (a) vermicomposto e (b) ácido húmico com cada ponto representando a média de cinco valores de área de pico

4.4.2. Faixa linear, cálculo dos fatores de pré-concentração, limites de detecção (LD) e quantificação (LQ) e precisão

A faixa linear das metodologias de determinação de Cd em vermicomposto e ácido húmico foi mantida até a concentração de 200 $\mu\text{g L}^{-1}$ conforme indicado nas Figuras 21a e 21b.

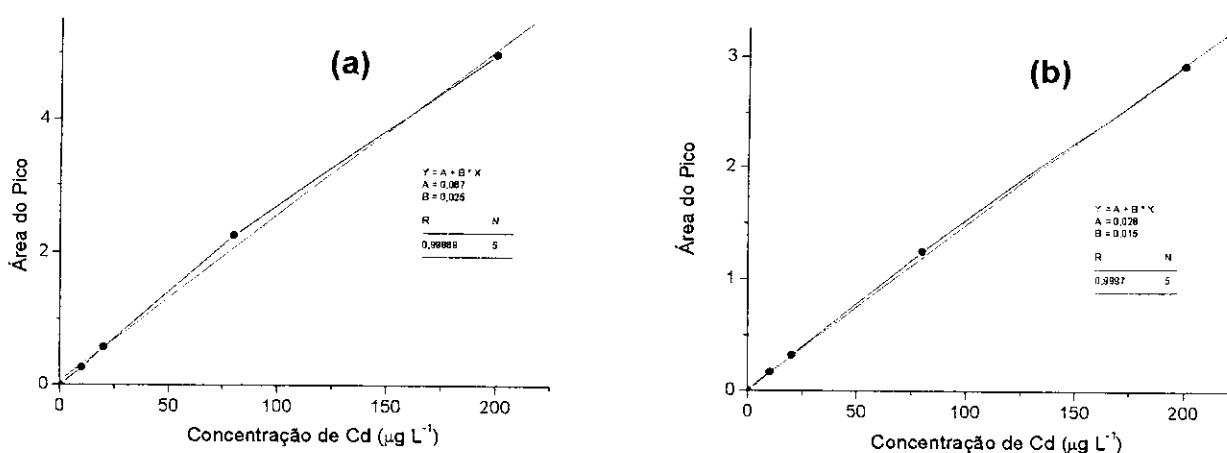


Figura 21: Faixa linear das metodologias de determinação de Cd: (a) vermicomposto e (b) ácido húmico

Acima de 200 $\mu\text{g L}^{-1}$ (testes realizados até 400 $\mu\text{g L}^{-1}$) ocorrem desvios consideráveis do comportamento linear, refletindo a ineficiência das etapas de eluição. Entretanto, o limite de 200 $\mu\text{g L}^{-1}$ é bastante adequado em termos do desenvolvimento de métodos destinados à análise de amostras contendo reduzidas concentrações de cádmio.

As metodologias de determinação de chumbo, conforme indicado nas Figuras 22a e 22b, exibem faixa linear até 2000 $\mu\text{g L}^{-1}$. Acima deste valor (testes efetuados até 4000 $\mu\text{g L}^{-1}$), a relação linear é também prejudicada devido à ineficiência de eluição. Conforme discutido para as metodologias de determinação do Cd, o limite de concentração especificado para chumbo também demonstra adequabilidade ao se considerar amostras com diminutas quantidades deste metal.

Os fatores de pré-concentração (Tabela 16) foram calculados com base na razão entre o coeficiente angular das curvas obtidas com e sem pré-concentração, sendo estas últimas construídas até $2000 \mu\text{g L}^{-1}$ para Cd (Figura 23a) e até $20000 \mu\text{g L}^{-1}$ para Pb (Figura 23b).

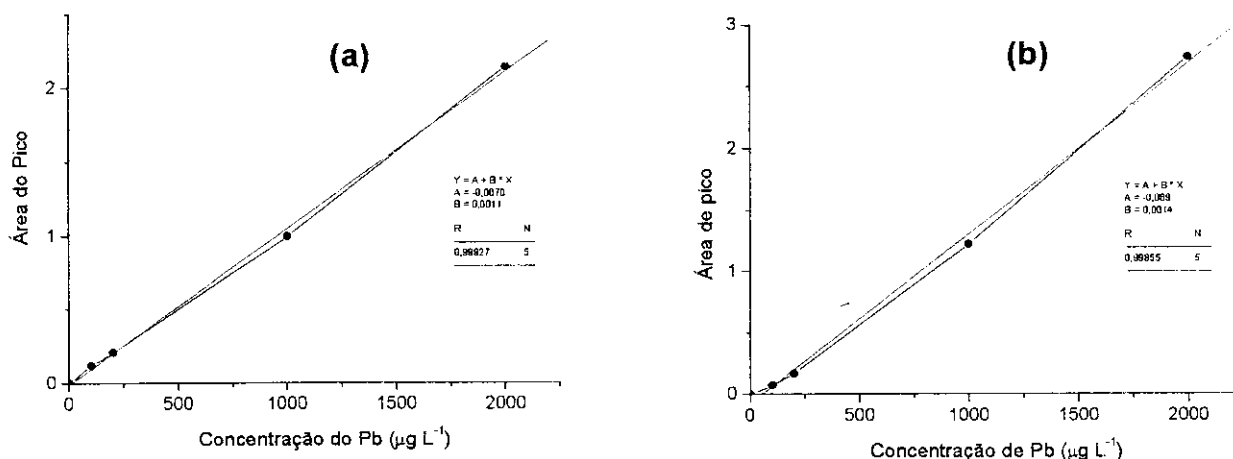


Figura 22: Faixa linear das metodologias de determinação de Pb: (a) vermicomposto e (b) ácido húmico

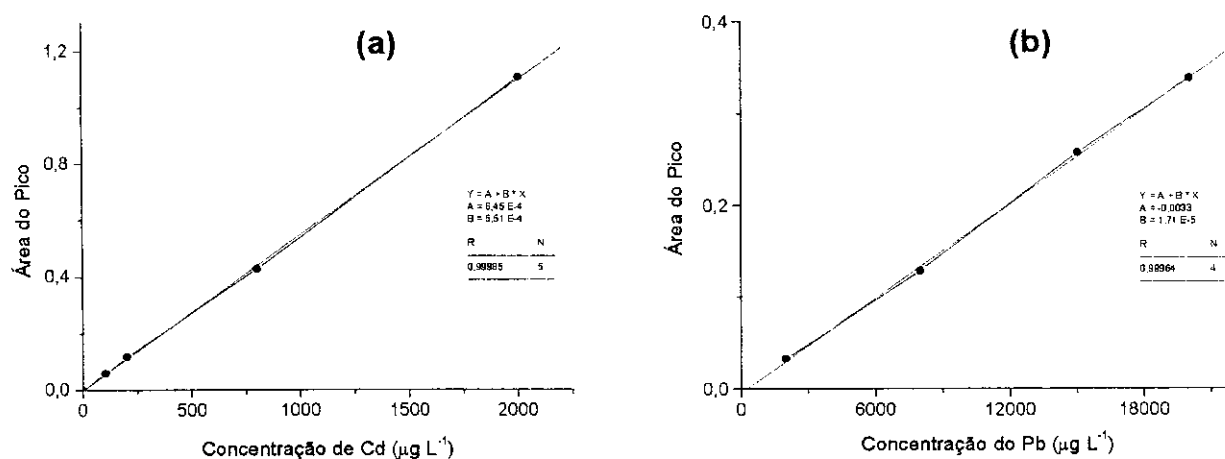


Figura 23: Faixa linear obtida sem a etapa de pré-concentração: (a) Cd e (b) Pb

Tabela 16: Fatores de pré-concentração para as metodologias de determinação de Cd e Pb empregando vermicomposto e ácido húmico como pré-concentradores

Analito	Vermicomposto	Ácido húmico
Cd	45	27
Pb	64	82

Em comparação ao Quadro 3 (páginas 11-14), constata-se que o uso dos adsorventes humificados confere fatores de pré-concentração compatíveis com os fornecidos por muitas resinas sintéticas e, em alguns casos, observa-se maior desempenho dos pré-concentradores naturais. No entanto, deve-se ressaltar que as comparações com o Quadro 3 são relativas a aspectos tais como volume de amostra analisado, massa do adsorvente e tempo de pré-concentração.

As equações de reta contidas nas Figuras 21 e 22 permitem, mediante leituras sucessivas do branco ($n=15$), que os limites de detecção (LD) e quantificação (LQ) dos métodos propostos sejam calculados [120]. Os valores destes limites encontram-se na Tabela 17.

Tabela 17: Limites de detecção e de quantificação dos métodos de determinação de Cd e Pb empregando vermicomposto e ácido húmico como pré-concentradores

Parâmetro	Cd		Pb	
	Vermicomposto	Ácido húmico	Vermicomposto	Ácido húmico
LD ($\mu\text{g L}^{-1}$)	0,4	0,8	8,8	12,1
LQ ($\mu\text{g L}^{-1}$)	1,2	2,7	29,4	49,2

Quando comparados com os limites de quantificação da FAAS convencional ($0,05$ e $0,5 \text{ mg L}^{-1}$ para Cd e Pb, respectivamente), são observados aumentos na sensibilidade desta técnica após o acoplamento dos sistemas pré-concentradores contendo os adsorventes naturais. Após 10 determinações de Cd ($10 \mu\text{g L}^{-1}$) e Pb ($100 \mu\text{g L}^{-1}$), constataram-se DPRs menores que 7%, indicando adequada precisão para as 4 metodologias desenvolvidas.

4.4.3. Testes de seletividade

Os comportamentos adsorptivos do Cd em vermicomposto e ácido húmico na presença de outros elementos encontram-se na Tabela 18. Os resultados dividem-se em dois grupos: um com diminuição da área de pico e outro com aumento desta área.

Os casos de depreciação dos sinais podem ser atribuídos tanto à natureza dos adsorventes avaliados quanto a fenômenos específicos da técnica FAAS. No primeiro caso, a redução do sinal para Cd pode ocorrer devido à competição de outros cátions pelos sítios de troca do vermicomposto e ácido húmico. A segunda possibilidade para a diminuição das respostas fundamenta-se em associações físico-químicas na chama, considerando a complexidade das etapas existentes em uma via de atomização. É importante notar que, na eluição, o cádmio adsorvido na coluna de vermicomposto ou ácido húmico é conduzido ao sistema nebulizador/queimador juntamente com os concomitantes extraídos das soluções teste. Nestas circunstâncias, pode ocorrer a formação de compostos termicamente estáveis que acarretam quedas na resposta analítica. Assim, é provável que o cádmio esteja se recombinando com alguns dos concomitantes testados originando óxidos duplos estáveis na temperatura da chama ar/acetileno (2000 - 2300 °C) [139]. É também provável que aluminatos e aluminossilicatos, oriundos principalmente do vermicomposto, estejam participando da formação dos referidos compostos com estabilidade térmica.

Os acréscimos de sinal são principalmente explicados ao nível de perturbações nos equilíbrios presentes na chama, representados por numerosas reações de dissociação e associação responsáveis pela atomização do analito [139]. A seguir, encontram-se exemplos típicos destas reações:



Em alguns casos, outros átomos, além do analito, competem pelo consumo das espécies de oxigênio (aqui representadas por O_x) presentes no ambiente da chama, conforme esquema abaixo:

Tabela 18: Efeitos de concomitantes sobre o sinal do Cd

Concomitante	Concentração do concomitante (mg L ⁻¹)	Variação observada (%) [*]	
		Vermicomposto	Ácido húmico
Ca	3,77	-8,9 ± 0,4	-7,7 ± 0,6
	37,7	-23,1 ± 2,1	-14,2 ± 0,6
	3770	-28,0 ± 1,9	-38,2 ± 2,3
Co	0,003	0,00	-10,2 ± 0,4
	0,03	-1,0 ± 0,02	-22,0 ± 1,2
	3	-1,5 ± 0,009	-32,0 ± 2,3
Cr(III)	0,003	18,2 ± 0,7	11,9 ± 0,5
	0,03	27,7 ± 0,8	26,3 ± 0,8
	3	94,5 ± 5,9	----- ^{**}
Cu	0,004	-3,6 ± 0,08	-20,2 ± 1,1
	0,04	-8,4 ± 0,2	-23,6 ± 2,1
	4	-10,7 ± 0,5	-36,1 ± 1,4
K	0,115	-0,9 ± 0,008	-7,1 ± 0,4
	1,15	-1,8 ± 0,04	-13,4 ± 0,5
	115	-2,2 ± 0,07	-23,4 ± 1,6
Mg	0,77	0,0	-12,3 ± 0,7
	7,7	-19,6 ± 1,2	-26,3 ± 1,2
	770	-25,8 ± 1,4	-38,5 ± 1,8
Mn(II)	0,003	-2,0 ± 0,08	-2,1 ± 0,1
	0,03	9,3 ± 0,5	-1,5 ± 0,09
	3	24,9 ± 2,4	3,1 ± 0,2
Ni	0,003	-14,2 ± 0,2	-15,1 ± 0,6
	0,03	-27,1 ± 1,0	-15,1 ± 0,6
	3	-34,7 ± 1,9	-25,2 ± 1,3
Pb	0,0013	15,1 ± 0,5	9,6 ± 0,3
	0,013	25,3 ± 0,2	13,7 ± 0,5
	1,3	19,9 ± 0,3	17,6 ± 0,8
Se(IV)	0,0005	-2,0 ± 0,1	1,7 ± 0,1
	0,005	-3,3 ± 0,1	2,1 ± 0,2
	0,5	-4,8 ± 0,3	-3,5 ± 0,2
Zn	0,002	-5,3 ± 0,03	-9,3 ± 0,4
	0,02	-5,3 ± 0,2	-20,0 ± 1,1
	2	-9,8 ± 0,1	-37,9 ± 2,2

^{*} Média de 3 réplicas ± desvio padrão, relativa à área para uma solução contendo somente Cd a 10 µg L⁻¹ em pH 5 (vermicomposto) ou 6 (ácido húmico). ^{**} Precipitação do Cr(OH)₃ em pH 6.



$\text{M}_2\text{O}_x \Leftrightarrow \text{M}_2 + \text{O}_x$, onde M é o átomo do analito e M_1 e M_2 representam os átomos de outros elementos.

Nestas situações, a concentração das espécies O_x torna-se suficientemente reduzida a ponto de permitir o deslocamento do equilíbrio $\text{MO}_x \Leftrightarrow \text{M} + \text{O}_x$ para a direita e, desta forma, originar mais átomos livres do analito com o conseqüente aumento na absorção. Um exemplo clássico deste tipo de interferência está na determinação de vanádio na presença de alumínio e titânio. Para os concomitantes que promovem o aumento da absorção do Cd, é provável a ocorrência de associações como a descrita acima. Estas afirmações são confirmadas pela literatura [140] que reporta casos de acréscimo de sinal quando o cádmio é determinado na presença de crômio trivalente. Outra possibilidade para o aumento da absorbância do Cd na presença do Cr(III) recai sobre a formação de microcristais de óxido crômico na chama capazes de provocar o espalhamento da radiação.

Algumas diferenças em termos da seletividade para vermicomposto e ácido húmico devem ser enfatizadas. Comparada ao vermicomposto, a pré-concentração de Cd em ácido húmico na presença de outros elementos revelou 3 comportamentos distintos. Os concomitantes Co, Cu, K, Mg e Zn promoveram maior depreciação dos sinais analíticos. Estas observações indicam a possibilidade do ácido húmico apresentar energias de ligação menores em relação ao cádmio, justificando o maior deslocamento deste na presença de concomitantes catiônicos. O fato de o cádmio estar mais propenso ao deslocamento por outros íons justifica a maior redução dos sinais em relação ao vermicomposto uma vez que uma quantidade menor deste analito é conduzida à chama no momento da eluição.

O íon manganoso não promoveu aumentos de sinal como verificado no vermicomposto. No ácido húmico, os efeitos da presença do Mn(II) sobre a área de pico foram pouco significativos para as 3 concentrações avaliadas, e uma possível explicação novamente recai sobre uma ligação mais fraca do cádmio em relação ao ácido húmico. Esta propriedade (considerando as competições nas etapas de adsorção) faz com que menos cádmio seja pré-concentrado e posteriormente

conduzido à chama em comparação ao vermicomposto, ocasionando uma elevação de sinal do cádmio menos pronunciada em função das perturbações nos equilíbrios de dissociação. Esta hipótese também encontra suporte nos dados obtidos da pré-concentração de cádmio na presença de Pb e Cr(III). Em ambos os casos, a elevação do sinal foi ligeiramente menor (ver tabela 18) quando comparada aos desvios obtidos para o vermicomposto. Cálcio e níquel exerceram efeitos similares aos observados no vermicomposto. No caso do selênio, as reduzidas alterações em ambos os adsorventes são explicadas em termos da espécie SeO_3^{2-} , que exibe pouca interação com os sítios negativamente carregados.

Para chumbo, as áreas de pico obtidas dos diversos testes de concomitantes encontram-se listados na Tabela 19. Aqui, é razoável adotar os raciocínios aplicados à pré-concentração do Cd e, deste modo, os conceitos de formação de compostos de baixa volatilidade e deslocamento de equilíbrio de dissociação continuam válidos para explicar as reduções e os acréscimos das respostas analíticas.

Mecanismos alternativos de redução do chumbo podem ser utilizados para explicar os acréscimos de sinal deste elemento na presença de crômio trivalente. Segundo Chakrabarti *et al.* [141], a redução dos cátions chumbo via carbono apresenta favorecimento termodinâmico. Este fato cria uma possibilidade adicional de formação de chumbo atomizado (além das perturbações de dissociação de equilíbrio), visto que o acentuado consumo de espécies Ox pelos cátions Cr(III) cria uma chama redutora com o conseqüente aumento da população de átomos de chumbo originados pela redução carbonácea. Para o cádmio, tal argumentação não é válida em função do impedimento termodinâmico [141].

Quando comparados aos efeitos concomitantes sobre o sinal do chumbo no vermicomposto, os elementos cálcio, cádmio, cobalto, crômio(III) e potássio ocasionaram, no ácido húmico, desvios (positivos ou negativos) menores. Por outro lado, magnésio, manganês(II), níquel e zinco proporcionaram (em termos comparativos) maiores quedas no sinal do chumbo quando se considera o adsorvente ácido húmico. Estas observações indicam que a magnitude e a natureza dos desvios dependem, não somente do analito, mas também da estrutura dos íons concomitantes e das características do adsorvente.

Tabela 19: Efeitos de concomitantes sobre o sinal do Pb

Concomitante	Concentração do concomitante (mg L ⁻¹)	Variação observada (%)	
		Vermicomposto	Ácido húmico
Ca	28,8	-25,9 ± 1,8	-24,3 ± 1,4
	288	-45,0 ± 4,2	-33,3 ± 1,4
	28800	-64,0 ± 2,8	-38,8 ± 1,4
Cd	0,008	-27,1 ± 1,4	-2,2 ± 0,03
	0,08	-36,4 ± 2,4	-25,8 ± 0,9
	8	-53,3 ± 3,7	-44,3 ± 2,2
Co	0,025	-11,8 ± 0,4	-7,0 ± 0,4
	0,25	-37,8 ± 3,5	-9,5 ± 0,6
	25	-46,3 ± 2,5	-18,0 ± 1,0
Cr(III)	0,025	12,6 ± 1,0	3,9 ± 0,1
	0,25	99,5 ± 8,7	9,8 ± 0,4
	25	-----**	40,8 ± 2,3
Cu	0,03	0,0	-12,7 ± 0,6
	0,3	2,8 ± 0,2	-11,8 ± 0,5
	30	26,4 ± 2,2	-14,9 ± 1,0
K	0,9	-3,2 ± 0,07	-0,8 ± 0,04
	9	-28,5 ± 4,1	-19,8 ± 0,8
	900	-49,4 ± 4,2	-18,6 ± 0,7
Mg	5,9	-6,7 ± 0,07	-12,5 ± 0,5
	59	-16,0 ± 1,2	-27,1 ± 0,7
	5900	-18,0 ± 0,6	-37,9 ± 2,4
Mn(II)	0,025	-2,9 ± 0,1	-14,1 ± 0,5
	0,25	-12,4 ± 0,7	-31,0 ± 0,6
	25	-18,3 ± 0,8	-39,6 ± 2,7
Ni	0,025	-7,8 ± 0,3	-13,5 ± 0,5
	0,25	-14,6 ± 0,9	-20,1 ± 1,3
	25	-21,1 ± 1,1	-30,2 ± 0,8
Se(IV)	0,004	0,0	1,7 ± 0,08
	0,04	2,7 ± 0,2	-6,6 ± 0,2
	4	3,4 ± 0,2	-8,0 ± 0,5
Zn	0,016	-11,8 ± 0,4	-7,4 ± 0,4
	0,16	-19,1 ± 0,7	-20,2 ± 1,5
	16	-27,4 ± 1,6	-36,8 ± 1,6

*Média de 3 réplicas ± desvio padrão, relativa à área observada para uma solução contendo somente Pb a 100 µg L⁻¹ em pH 6 (vermicomposto) ou 5 (ácido húmico). **Precipitação do Cr(OH)₃ em pH 6.

O cobre, que no vermicomposto ocasionou acréscimos ao sinal do Pb, exerceu efeito contrário nos testes empregando ácido húmico. Uma explicação

aceitável baseia-se na afinidade pronunciada do Cu^{2+} por adsorventes humificados [142,143], proporcionando uma retenção maior e mais estável deste metal no ácido húmico. Provavelmente, devido à eluição mais eficiente do cobre no vermicomposto (em função deste adsorvente possuir menor fração humificada em relação ao ácido húmico), uma quantidade adequada deste cátion foi conduzida ao sistema nebulizador/queimador refletindo no aumento do sinal para Pb. Isso revela para este caso específico, a predominância dos desvios positivos ocasionados pelas alterações nas vias de atomização sobre os erros negativos originados da competição na etapa adsortiva. No ácido húmico, como os íons Cu^{2+} possivelmente não foram eluídos na mesma extensão, a quantidade deste concomitante na chama não foi suficiente para aumentar o sinal do Pb, ressaltando os decréscimos da etapa competitiva.

Deve-se notar que limitações em seletividade podem ocorrer na mesma extensão quando resinas sintéticas são usadas. Assim, Tunçeli e Türker [144] constataram que altas concentrações de Ca, Cu, Fe, K, Mg, Na e Ni incrementaram a absorvância da Ag. Adicionalmente, Naghmush *et al.* [71] encontraram consideráveis acréscimos na absorvância do Pb quando este analito foi pré-concentrado na presença de Ca, Mg e Na. Este último trabalho revela uma propriedade interessante sobre os mecanismos de interferência desde que foi comprovada a participação do tipo de adsorvente sobre a magnitude dos desvios. Desta forma, foram empregadas três resinas na pré-concentração de Pb e, para cada uma delas, observou-se diferentes alterações na resposta analítica conforme indicado no Quadro 17.

Pelas discussões acima, conclui-se que os adsorventes humificados exibem limitações em seletividade que dependem da concentração e da natureza do concomitante considerado. Adicionalmente, alternativas no sentido de contornar estes problemas podem ser realizadas por procedimentos relativamente simples como o aumento da massa do adsorvente ou a adição de analito que se constitui na estratégia empregada na presente tese.

Quadro 17: Influência do tipo de resina sobre os efeitos concomitantes para Pb^{*}

Resina	Concentração do concomitante (mg L ⁻¹)	% no aumento do sinal do Pb		
		Ca	Na	Mg
<i>Cellex P</i>	5	0	Sem	0
	10	15	acrêscimos	5
	20	0		0
	50	7,5		8
	100	7,5		3
<i>Cellex CM</i>	5	Sem	Sem	0
	10	acrêscimos	acrêscimos	0
	20			0
	50			0
	100			11
	200			11
<i>Spheron Oxine-1000</i>	5	Sem	0	Sem
	10	acrêscimos	65	acrêscimos
	20		0	
	50		65	
	100		76	
	200		106	

^{*}Dados extraídos da referência [71]

Deve-se notar que, nos testes de seletividade, os elementos alumínio e ferro não foram considerados. A exclusão destes metais é justificada pela elevada insolubilidade dos mesmos nas condições otimizadas de pH (5 ou 6), visto que o Kps do Al(OH)₃ e do Fe(OH)₃ encontram-se na ordem de 2×10^{-32} e $1,5 \times 10^{-36}$, respectivamente. Deste modo, as concentrações de Al e Fe seriam muito reduzidas nas soluções teste binárias não refletindo as elevadas concentrações destes metais em muitas matrizes importantes como os materiais biológicos. Embora testes não tenham sido efetuados para os dois concomitantes citados, vale ressaltar que a presença dos mesmos não afetou a exatidão das determinações de Cd e Pb nas matrizes analisadas (rim de porco e folhas de faia) nos testes de exatidão. Deve-se notar que estas amostras contêm elevadas concentrações de ferro(III) e alumínio: $299 \pm 10 \mu\text{g g}^{-1}$ de Fe(III) em rim de porco e $435 \mu\text{g g}^{-1}$ de Al nas folhas de faia.

4.4.4. Testes de exatidão

A Tabela 20 lista os resultados referentes aos testes de exatidão para as metodologias de determinação de Cd em amostras de água fortificadas. Para a maioria dos resultados houve igualdade estatística ao nível de 5% de probabilidade (teste *t*) entre as concentrações fornecidas pelas metodologias desenvolvidas e aquelas obtidas pela técnica de referência (GFAAS). Os testes de exatidão dos métodos de determinação de Pb também foram bem satisfatórios conforme indicado na Tabela 21, onde a aplicação do teste *t* não identificou diferenças estatísticas entre as médias de concentração ao nível de 5% de probabilidade para a maior parte dos experimentos.

No tocante às amostras de medicamento e de suco de fruta é importante notar que, embora tenham sido obtidos resultados exatos, foi necessário empregar amostras com concentrações de Cd e Pb mais elevadas ($40 \mu\text{g L}^{-1}$ de Cd no medicamento e $400 \mu\text{g L}^{-1}$ de Pb no suco de fruta) para que fossem registrados sinais mensuráveis e reprodutíveis. Isso se explica pelo fato das referidas amostras terem sido analisadas em condições drásticas de acidez ($\text{pH} < 1$) conforme descrito no item 3.3.4.4 (página 32), ocasionando a protonação dos sítios adsorptivos. Portanto, o uso do vermicomposto e ácido húmico como adsorventes em meio ácido implica na queda de sensibilidade (ca. de 60 a 70% em relação aos sinais obtidos nos valores otimizados de pH). Ainda, a pré-concentração de Cd e Pb é viável em meio ácido somente quando a matriz analisada apresentar concentrações reduzidas de concomitantes catiônicos como as duas amostras consideradas (anexo B).

A análise de materiais certificados e de referência também forneceu resultados satisfatórios como demonstrado na Tabela 22 após aplicação do teste *t* (5% de probabilidade). No caso das amostras de rim de porco e folhas de faia com altas concentrações de concomitantes, não foram obtidos sinais analíticos exatos e precisos em condições de elevada acidez devido ao efeito pronunciado de competição entre os analitos Cd e Pb com os íons H_3O^+ e os demais constituintes (Ca, Mg, Na, K, Cu, Ni, Zn, entre outros). Por este motivo, foram requeridas etapas de neutralização para estas amostras (item 3.3.4.4).

Tabela 20: Resultados dos testes de exatidão das metodologias de determinação de Cd empregando amostras fortificadas (n=3)*

Amostras fortificadas**	Vermicomposto		Ácido húmico	
	Método proposto ($\mu\text{g L}^{-1}$)	GFAAS ($\mu\text{g L}^{-1}$)	Método proposto ($\mu\text{g L}^{-1}$)	GFAAS ($\mu\text{g L}^{-1}$)
Água mineral	$15,5 \pm 0,6$	$15,2 \pm 0,3$	----	----
(1)	$54,3 \pm 1,7$	$55,6 \pm 1,2$	----	----
Água mineral	$14,9 \pm 0,6$	$15,9 \pm 0,4$	----	----
(2)	$56,2 \pm 3,4$	$55,2 \pm 2,1$	----	----
Água mineral	----	----	$13,2 \pm 0,9$	$14,1 \pm 0,5$
(3)	----	----	$51,4 \pm 2,1$	$54,0 \pm 0,6$
Água de torneira	----	----	$13,9 \pm 0,6$	$14,7 \pm 0,4$
	----	----	$56,5 \pm 2,0$	$54,3 \pm 1,2$
Medicamento	$42,4 \pm 2,5$	$38,9 \pm 1,3$	$43,4 \pm 2,9$	$40,5 \pm 0,7$

*Procedimento de adição de analito **Amostras contendo concentrações naturais de Cd < $0,1 \mu\text{g L}^{-1}$ (LQ da GFAAS)

Tabela 21: Resultados dos testes de exatidão das metodologias de determinação de Pb empregando amostras fortificadas (n=3)*

Amostras fortificadas**	Vermicomposto		Ácido húmico	
	Método proposto ($\mu\text{g L}^{-1}$)	GFAAS ($\mu\text{g L}^{-1}$)	Método proposto ($\mu\text{g L}^{-1}$)	GFAAS ($\mu\text{g L}^{-1}$)
Água mineral	$148 \pm 8,8$	$140 \pm 5,8$	$141 \pm 8,3$	$148 \pm 5,4$
(3)	512 ± 14	538 ± 17	527 ± 15	$545 \pm 8,3$
Suco de fruta	$422 \pm 7,5$	397 ± 10	406 ± 19	371 ± 13

*Procedimento de adição de analito **Amostras contendo concentrações naturais de Pb < $0,2 \mu\text{g L}^{-1}$ (LQ da GFAAS)

Tabela 22: Resultados dos testes de exatidão das metodologias de determinação de Cd e Pb ($\mu\text{g kg}^{-1}$) empregando material certificado e material de referência (n=3)

Amostra	Metodologias propostas		Valores esperados
	Vermicomposto	Ácido húmico	
Rim de porco CRM186 (Cd)	2537 ± 218	2830 ± 161	$2710 \pm 150^*$
Folhas de faia CRM100 (Pb)	16022 ± 1423	15078 ± 1382	16300^{**}

*Valor certificado, **Valor de referência

5. CONCLUSÕES

A caracterização física e química do vermicomposto confirmou as expectativas teóricas acerca do potencial adsorvedor deste material, notadamente no tocante à capacidade de troca catiônica e às capacidades máximas adsorptivas. As referidas etapas também identificaram diferenças na composição das 3 amostras avaliadas (MH, SM e XA), revelando a complexidade da matéria-prima empregada na obtenção do vermicomposto. Entretanto, deve-se ressaltar que as diferenças observadas são de nível quantitativo, ou seja, amostras distintas de vermicomposto podem conter maiores ou menores quantidades de grupos funcionais quelantes (carboxilas, hidroxilas, sulfidrilas entre outros) ou teores mais ou menos expressivos de matéria orgânica, mas a presença destes constituintes é praticamente garantida em qualquer amostra analisada. Esta observação é de fundamental importância no sentido de estabelecer quais são as análises essenciais quando uma amostra desconhecida de vermicomposto for proposta como material pré-concentrador. Assim, de todos os procedimentos descritos no item 3.3.1.1, os seguintes são classificados como os mais relevantes:

- Concentrações totais e trocáveis dos analitos;
- Estabelecimento dos parâmetros adsorptivos (pH e tempo de agitação);
- Cálculo, quando possível, das CMAs por meio das isoterms de adsorção.

A determinação das concentrações totais dos analitos justifica-se pela possibilidade de contaminação das amostras durante a eluição caso existam

elevados teores naturais dos elementos de interesse no vermicomposto. No entanto, quantidades totais elevadas podem não ser problemáticas se as concentrações trocáveis forem reduzidas. A importância da otimização do pH recai sobre as futuras aplicações da amostra de vermicomposto em procedimentos de pré-concentração, enquanto que o conhecimento da CMA possibilita previsões acerca da saturação do adsorvente. Após otimização dos sistemas pré-concentradores, as seguintes características (Tabela 23) foram obtidas.

Tabela 23: Características estabelecidas nas etapas de otimização e avaliação dos sistemas pré-concentradores para Cd e Pb

Característica analítica	Cd		Pb	
	Vermicomposto	Ácido húmico	Vermicomposto	Ácido húmico
LD ($\mu\text{g L}^{-1}$)	0,4	0,8	8,8	12,1
LQ ($\mu\text{g L}^{-1}$)	1,2	2,7	29,4	49,2
Faixa linear ($\mu\text{g L}^{-1}$)	1,2-200	2,7-200	29,4-2000	49,2-2000
Fator de pré-concentração	45	27	64	82
Volume de amostra (mL)	16,0	16,0	16,0	16,0
pH de adsorção	5,0	6,0	6,0	5,0
Determinações por hora	12	12	12	12

Foram observadas limitações em seletividade, atribuídas principalmente às características estruturais dos adsorventes humificados, dependendo da composição da matriz analisada. Entretanto, os testes de exatidão demonstraram que procedimentos de adição de analito foram suficientes para compensar as referidas limitações e garantir determinações quantitativas de Cd e Pb em diversos tipos de amostras (águas mineral e de torneira, medicamento, alimento, tecidos vegetais e animais).

Pode-se também concluir que as 4 metodologias desenvolvidas foram eficazes tanto no sentido de permitir a análise de amostras contendo concentrações

diminutas de Cd e Pb quanto no aspecto de ampliar o número de adsorventes naturais disponíveis que, até o momento, são primordialmente representados pelas células microbianas (algas, fungos e bactérias). Adicionalmente, deve-se mencionar que a aquisição do vermicomposto apresenta-se bastante acessível e de reduzidos custos, visto que a tonelada deste material pode ser adquirida por aproximadamente R\$ 300. O preço do ácido húmico (cerca de R\$ 180 cada 100 g), embora seja bem mais elevado que o do vermicomposto, ainda se apresenta razoável quando comparado com as resinas sintéticas.

6. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- [1] Cox, PA. *The elements on Earth: inorganic chemistry in the environment*. Oxford University Press, Oxford, 1997, 287p.
- [2] Aylett, BJ. *The chemistry of zinc, cadmium and mercury*. In: *Comprehensive Inorganic Chemistry*. Pergamon Press, Oxford, 1975, 328p.
- [3] Fergusson, JE. *The Heavy Elements – chemistry, impact and health effects*. Pergamon Press, London, 1990, 614p.
- [4] Robards, K, Worshfold, P. Cadmium: Toxicology and Analysis. *Analyst* 1991; 116(6): 549-568.
- [5] Matsuoka, M, Wispriyono, B, Igisu, H. Increased cytotoxicity of cadmium in fibroblasts lacking *e-fos*. *Biochem. Pharmacol.* 2000; 59(12): 1573-1576.
- [6] Mena, C, Cabrera, C, Lorenzo, ML, López, MC. Cadmium levels in wine, beer and other alcoholic beverages: possible sources of contamination. *Sci. Total Environ.* 1996; 181(3): 201-208.
- [7] Tavares, TM, Carvalho, FM. Avaliação de exposição de populações humanas a metais pesados no ambiente: exemplos do recôncavo baiano. *Quim. Nova* 1992; 15(2): 147-154.
- [8] Stanley, EM. *Environmental chemistry*. 6th edition, Lewis Publishers, London, 1994, 810p.
- [9] Najle, R, Elissondo, M, Gentile, S, Gentile, M, Vacarezza, G, Solana, H. Histopathology of the digestive gland of an Antarctic limped exposed to cadmium. *Sci. Total Environ.* 2000; 247(2-3): 263-268.

- [10] Berry, NR, Axford, RFE, Dewi, IA, Chiy, PC, Phillips, CJC. The effect of a low dose of cadmium on spermatogenesis in rams. *Small Ruminant Res.* 1999; 31(2); 97-102.
- [11] Liu, F, Jan, KY. DNA damage in arsenite and cadmium treated bovine aortic endothelial cells. *Free Radical Bio. Med.* 2000; 28(1); 55-63.
- [12] Pozebon, D, Dressler, VL, Curtius, AJ. Análise de cabelo: uma revisão dos procedimentos para a determinação de elementos traço e aplicações. *Quim. Nova* 1999; 22(6): 838-846.
- [13] Bonnet, JL, Bohatier, J, Pépin, D. Effects of cadmium on the performance and microbiology of laboratory-scale lagoons treating domestic sewages. *Chemosphere* 1999; 38(13): 3155-3168.
- [14] Bresciani Filho, E. *Seleção de metais não ferrosos*. 2ª edição, Editora da UNICAMP, Campinas, 1997, 161p.
- [15] Jonhson, FM. The genetic effects of environmental lead. *Mutat. Res-Rev. Mutat.* 1998; 410(2): 123-140.
- [16] Gurer, H, Ercal, N. Can antioxidants be beneficial in the treatment of lead poisoning? *Free Radical Bio. Med.* 2000; 29(10); 927-945.
- [17] Hunaiti, AA, Soud, M. Effect of lead concentration on the level of glutathione, glutathione S-transferase, reductase and peroxidase in human blood. *Sci. Total Environ.* 2000; 248(1): 45-50.
- [18] Solé, E, Ballabriga, A, Dominguez, C. Lead exposure in the general population of the metropolitan area of Barcelona: blood levels and related factors. *Sci. Total Environ.* 1998; 224(1-3): 19-27.
- [19] Narin, I, Soylak, M, Elçi, L, Dogan, M. Determination of trace metal ions by AAS in natural water samples after preconcentration of pyrocatechol violet complexes on an activated carbon column. *Talanta* 2000; 52(9): 1041-1046.
- [20] Lajunen, LHJ. *Spectrochemical analysis by atomic absorption and emission*. Royal Society of Chemistry, Cambridge, 1992, 241p.
- [21] Pereira, MG, Arruda MAZ. Trends in preconcentration procedures for metal determination using atomic spectrometry techniques. *Microchim. Acta* 2003; 141 (3-4): 115-131.
- [22] Cave, MR, Buttler, O, Cook, MS, Cresser, LM, Garden, LM, Miles, DL. Environmental Analysis. *J. Anal. Atom. Spectrom.* 2000; 15(2); 181-235.

- [23] Vogel, AI. *Análise Química Quantitativa*. 5ª edição, Editora Guanabara Koogan S.A., Rio de Janeiro, 1992, 712p.
- [24] Terada, K. Preconcentration of trace elements by sorption. *Anal. Sci.* 1991; 7(2): 187-197.
- [25] Garg, BS, Sharma, RK, Bhojak, N, Mittal, S. Chelating resins and their applications in the analysis of the trace metal ions. *Microchem. J.* 1999; 61(2): 94-114.
- [26] Tsizin, GI, Zolotov, YA. Flow sorption-spectroscopic analysis. *J. Anal. Chem.* 2002; 57(7): 678-698.
- [27] Ferreira, SLC, Lemos, VA, Santelli, RE, Ganzarolli, E, Curtius, AJ. An automated on-line flow system for the preconcentration and determination of lead by flame atomic absorption spectrometry. *Microchem. J.* 2001; 68(1): 41-46.
- [28] Bag, H, Turker, AR, Coskun, R, Saçak, M, Yigitoglu, M. Determination of zinc, cadmium, cobalt and nickel by flame atomic absorption spectrometry after preconcentration by poly(ethylene terephthalate) fibers grafted with methacrylic acid. *Spectrochim. Acta* 2000; 55B(7): 1101-1108.
- [29] Lemos, VA, Ferreira, SLC. On-line preconcentration system for lead determination in seafood by flame atomic absorption spectrometry using polyurethane foam loaded with 2-(2-benzothiazolylazo)-2-*p*-cresol. *Anal. Chim. Acta* 2001; 441(2): 281-289.
- [30] Peña, YP, López, W, Burguera M, Burguera, JL, Carrasquero, L, Carrillo, M. Flow injection system for cadmium preconcentration on poly(octadecyl diitaconate) (PDI - 18) and atomic absorption spectrometry detection. *Anal. Chim. Acta* 2001; 438(1-2): 259-266.
- [31] Pyrzyńska, K, Cheregi, M. Lead determination with on-line enrichment system. *Wat. Res.* 2000; 34(17): 4215-4219.
- [32] Chakrapani, G, Murty, DSR, Mohanta, PL, Rangaswamy, R. Sorption of PAR-metal complexes on activated carbon as a rapid preconcentration method for the determination of Cu, Co, Cd, Cr, Ni, Pb and V in ground water. *J. Geochem. Exploration* 1998; 63(2): 145-152.
- [33] Ali, A, Yin, X, Shen, H, Ye, Y, Gu, X. 1,10-Phenanthroline as a complexing agent for on-line sorbent extraction/preconcentration for flow injection-flame atomic absorption spectrometry. *Anal. Chim. Acta* 1999; 392(2-3): 283-289.
- [34] Elçi, L, Arslan, Z, Tyson, JF. Flow injection solid phase extraction with chromosorb 102: determination of lead in soil and waters by flame atomic absorption spectrometry. *Spectrochim. Acta* 2000; 55B(7): 1109-1116.

- [35] Narin, I, Soylak, M, Elçi, L, Dogan, M. Determination of trace metal ions by AAS in natural water samples after preconcentration of pyrocatechol violet complexes on an activated carbon column. *Talanta* 2000; 52(6): 1041-1046.
- [36] Uzun, A, Soylak, M, Elçi, L. Preconcentration and separation with Amberlite XAD-4 resin; determination of Cu, Fe, Pb, Ni, Cd and Bi at trace levels in waste water samples by flame atomic absorption spectrometry. *Talanta* 2001; 54(1): 197-202.
- [37] Quináia, SP, Silva, JBB, Rollemberg, MCE, Curtius, AJ. Preconcentration of lead complexed with O,O-diethyl-dithiophosphate by column solid-phase extraction using different sorbents in a flow injection system coupled to a flame atomic absorption spectrometer. *Talanta* 2001; 54(4): 687-696.
- [38] Tewari, PK, Singh, AK. Synthesis, characterization and applications of purocatechol modified Amberlite XAD-2 resin for preconcentration and determination of metal ions in water samples by flame atomic absorption spectrometry (FAAS). *Talanta* 2001; 53(4): 823-833.
- [39] Lima, R, Leandro, KC, Santelli, RE. Lead preconcentration onto C-18 minicolumn in continuous flow and its determination in biological and vegetable samples by flame atomic absorption spectrometry. *Talanta* 1996; 43(6): 977-983.
- [40] Kubová, J, Hanáková, V, Medved J, Stresko, V. Determination of lead and cadmium in human hair by atomic absorption spectrometry procedures after solid phase extraction. *Anal. Chim. Acta* 1997; 337(3): 329-334.
- [41] Vassileva, E, Varimezova, B, Hadjiivanov, K. Column solid-phase extraction by heavy metal ions on a high surface area CeO₂ as a preconcentration method for trace determination. *Anal. Chim. Acta* 1996; 336(1-3): 141-150.
- [42] Hashemi, OR, Kargar, MR, Raoufi, F, Moghimi, A, Aghabozorgi, H, Ganjali, MR. Separation and preconcentration of trace amounts of lead on octadecyl silica membrane discs modified with a new S-containing Schiff's base and its determination by flame atomic absorption spectrometry. *Microchem. J.* 2001; 69(1): 1-6.
- [43] Melo, MHA, Ferreira, SLC, Santelli, RE. Determination of cadmium by FAAS after on-line enrichment using a mini column packed with Amberlite XAD-2 loaded with TAM. *Microchem. J.* 2000; 65(1): 59-65.
- [44] Seki, T, Takigawa, H, Hirano, Y, Ishibashi, Y, Oguma, K. On-line preconcentration and determination of lead and iron in steel by flow injection-flame atomic absorption spectrometry. *Anal. Sci.* 2000; 16(5): 513-516.
- [45] Taher, MA. Flame atomic absorption spectrometry determination of trace cadmium in alloys and biological samples after solid-liquid extraction and preconcentration with use of nitroso-S. *Microchim. Acta* 2003; 141(3-4): 101-106.

- [46] Budziak, D, Silva, EL, Campos, SD, Carasek, E. Application of $\text{Nb}_2\text{O}_5\text{-SiO}_2$ in preconcentration and determination of copper and cadmium by flow system with flame atomic absorption spectrometry. *Microchim. Acta* 2003; 141(3-4): 169-174.
- [47] Ferreira, SLC, Santos, WNL, Bezerra, MA, Lemos, VA, Bosque-Sendra, JM. Use of factorial design and Doehlert matrix for multivariate optimisation of an on-line preconcentration system for lead determination by flame atomic absorption spectrometry. *Anal. Bioanal. Chem.* 2003; 375(3): 443-449.
- [48] Abou-El-Sherbini, KS, Kenawy, IMM, Hamed, MA, Issa, RM, Elmorsi, R. Separation and preconcentration in a batch mode of Cd(II), Cr(III, VI), Cu(II), Mn (II, VII) and Pb(II) by solid-phase extraction by using of silica modified with N-propylsalicylaldimine. *Talanta* 2002; 58(2): 289-300.
- [49] Narin, I, Soylak, M. The uses of 1-(2-pyridylazo) 2-naphtol (PAN) impregnated Ambersorb 563 resin on the solid phase extraction of traces heavy metal ions and their determinations by atomic absorption spectrometry. *Talanta* 2003; 60(1): 215-221.
- [50] Anthemidis, AN, Zachariadis, GA, Stratis, JA. On-line preconcentration and determination of copper, lead and chromium(VI) using unloaded polyurethane foam packed column by flame atomic absorption spectrometry in natural waters and biological samples. *Talanta* 2002; 58(5): 831-840.
- [51] Goswami, A, Singh, AK. 1,8-dihydroxyanthraquinone anchored on silica gel: synthesis and application as solid phase extractant for lead(II), zinc(II) and cadmium(II) prior to their determination by flame atomic absorption spectrometry. *Talanta* 2002; 58(4): 669-678.
- [52] Malla, ME, Alvarez, MB, Batistoni, DA. Evaluation of sorption and desorption characteristics of cadmium, lead and zinc on Amberlite IRC-718 iminodiacetate chelating ion exchanger. *Talanta* 2002; 57(2): 277-287.
- [53] Soylak, M, Divrikli, U, Elçi, L, Dogan, M. Preconcentration of Cr(III), Co(II), Cu(II), Fe(III) and Pb(II) as camalgite chelates on cellulose nitrate membrane filter prior to their flame atomic absorption spectrometric determinations. *Talanta* 2002; 56(3): 565-570.
- [54] Gurnani, V, Singh, AK, Venkataramani, B. Cellulose functionalized with 8-hydroxyquinoline: new method of synthesis and applications as a solid phase extractant in the determination of metal ions by flame atomic absorption spectrometry. *Anal. Chim. Acta* 2003; 485(2): 221-232.
- [55] Çekiç, SD, Filik, H, Apak, R. Use of an o-aminobenzoic acid-functionalized XAD-4 copolymer resin for the separation and preconcentration of heavy metal(II) ions. *Anal. Chim. Acta* 2003; artigo no prelo.

- [56] Saraçoğlu, S, Elçi, L. Column solid-phase extraction with Chromosorb-102 resin and determination of trace elements in water and sediment samples by flame atomic absorption spectrometry. *Anal. Chim. Acta* 2002; 452(1): 77-83.
- [57] Lemos, VA, Santelli, RA, Carvalho, MS, Ferreira, SLC. Application of polyurethane foam loaded with BTAC in an on-line preconcentration system: cadmium determination by FAAS. *Spectrochim. Acta* 2000; 55B(9): 1497-1502.
- [58] Kilian, K, Pyrzyńska, K. Application of 5,10,15,20-tetrakis(4-carboxyphenyl)porphine for cadmium preconcentration in flow-injection system. *Anal. Sci.* 2002; 18(5): 571-574.
- [59] Akman, S, Özcan, M, Demirel, E. Use of a syringe-mountable filter resin technique for the separation and enrichment of lead and cadmium prior to their determination by flame atomic absorption spectrometry. *J. Anal. Atom. Spectrom.* 2002; 17(7): 743-745.
- [60] Lemos, VA, de la Guardia, M, Ferreira, SLC. An on-line system for preconcentration and determination of lead in wine samples by FAAS. *Talanta* 2002; 58(3): 475-480.
- [61] Cabañero, AI, Madrid, Y, Cámara, C. Capability of diatomaceous earth to preconcentrate and store Pb and Cr: on-line determination by FI-FAAS. *Anal. Bioanal. Chem.* 2002; 373(4-5): 244-250.
- [62] Tokaliouglu, S, Kartal, S, Elçi, L. Speciation and determination of heavy metals in lake waters by atomic absorption spectrometry after sorption on Amberlite XAD-16 resin. *Anal. Sci.* 2000; 16(11): 1169-1174.
- [63] Ma, R, Adams, F. Flow injection sorbent extraction with dialkyldithiophosphates as chelating agent for the determination of cadmium, copper and lead by flame atomic absorption spectrometry. *Spectrochim. Acta* 1996; 51B(9-10): 1917-1923.
- [64] Bruhn, CC, Campos VH, Diaz, VP, Cid, HJ, Nóbrega, JA. Determination of Cd in mussels and non-fat milk powder by flow injection-flame atomic absorption spectrophotometric (FI-FAAS) with on-line extraction by a chelating resin. *Bol. Soc. Chil. Quim.* 2002; 47(2): 123-135.
- [65] Silva, JBB, Quinária, SP, Rollemberg, MCE. On-line preconcentration with different solid adsorbents for lead determination. *Fresenius J. Anal. Chem.* 2001; 369(7-8): 657-660.
- [66] Tokalioglu, S, Kartal, S, Elçi, L. Determination of some trace elements in high-purity aluminium, zinc and commercial steel by AAS after preconcentration on Amberlite XAD-1180 resin. *Microchim. Acta* 1997; 127(3-4): 281-286.

- [67] Karatepe, AU, Soylak, M, Elçi, L. Separation/preconcentration of Cu(II), Fe(III), Co(II) and Cr(III) in aqueous samples on cellulose nitrate membrane filter and their determination by atomic absorption spectrometry. *Anal. Lett.* 2002; 35(9): 1561-1574.
- [68] Chen, SY, Sun, M. Flow injection on-line double micro-column with chelating resin preconcentration system for Cu, Pb, Cd and Mn determination by FAAS. *Spectrosc. Spect. Anal.* 2001; 21(3): 377-381.
- [69] Araújo, AN, Costa, RCC, Lima, JLFC. Application of sequential injection analysis to the assay of lead retention characteristics by poly(vinylpyrrolidone): trace analysis of lead in waters. *Anal. Sci.* 1999; 15(10): 991-994.
- [70] Seki, T, Hirano, Y, Oguma, K. On-line preconcentration and determination of traces of lead in river-water and seawater by flow injection-flame atomic absorption spectrometry and ICP-mass spectrometry. *Anal. Sci.* 2002; 18(3): 351-354.
- [71] Naghmush, AM, Pyrzńska, K, Trojanowicz, M. Flame AAS determination of lead in water with flow-injection preconcentration and speciation using functionalized cellulose sorbent. *Talanta* 1995; 42(6): 851-860.
- [72] Padilha, PM, Rocha, JC, Moreira, JC, Campos, JTS, Federici, CC. Preconcentration of heavy metal ions from aqueous solutions by means of cellulose phosphate: an application in water analysis. *Talanta* 1997; 45(2): 317-323.
- [73] Jain, VK, Sait, SS, Shrivastav, P, Agrawal, YK. Application of chelate forming resin Amberlite XAD-2 - o - vanillinthiosemicarbazone to the separation and preconcentration of copper(II), zinc (II) and lead (II). *Talanta* 1997; 45(2): 397-404.
- [74] Dias Filho, NL, Gushikem, Y, Polito, WL, Moreira, JC, Ehirim, EO. Sorption and preconcentration of metal ions in ethanol solution with a silica gel surface chemically modified with benzimidazole. *Talanta* 1995; 42(11): 1625-1630.
- [75] Reis, BF, Miranda, CES, Baccan N. Pré-concentração por extração sólido-líquido em sistema de análise em fluxo com detecção espectrométrica. *Quim. Nova* 1996; 19(6): 623-635.
- [76] Madrid, Y, Cámara, C. Biological substrates for metal preconcentration and speciation. *Trend Anal. Chem.* 1997; 16(1): 36-44.
- [77] Beceiro-González, E, Taboada de la Calzada, A, Alonso-Rodríguez, E, López-Mahía, P, Muniategui-Lorenzo, S, Prada-Rodríguez, D. Interaction between metallic species and biological substrates: approximation to possible interaction mechanisms between the alga *Chlorella vulgaris* and arsenic(III). *Trend Anal. Chem.* 2000; 19(8): 475-480.
- [78] Bhanoori, M, Venkateswerlu, G. In vivo chitin-cadmium complexation in cell wall of *Neurospora crassa*. *Biochim. Biophys. Acta* 2000; 1523(1): 21-28.

- [79] Godlewska-Zylkewicz, B. Analytical applications of living organisms for preconcentration of trace metals and their speciation. *Crit. Rev. Anal. Chem.* 2001; 31(3): 175-189.
- [80] Cañizares-Villanueva, RO. Biosorción de metales pesados mediante el uso de biomasa microbiana. *Rev. Lat. Am. Microbiol.* 2000; 42(2): 131-143.
- [81] Sweileh, JA. Sorption of trace metals on human hair and application for cadmium and lead preconcentration with flame atomic absorption determination. *Anal. Bioanal. Chem.* 2003; 375(3): 450-455.
- [82] Bag, H, Lale, M, Tunçeli, AR. Determination of Cu, Zn and Cd in water by FAAS after preconcentration by Baker's yeast (*Saccharomyces cerevisiae*) immobilized on sepiolite. *Fresenius J. Anal. Chem.* 1999; 363(3): 224-230.
- [83] Maquieira, A, Elmahadi, HAM, Purchades, R. Use of *Saccharomyces cerevisiae* in FI-FAAS for trace metal preconcentration. *Anal. Chem.* 1994; 66(9): 1462-1467.
- [84] Elmahadi, HAM, Greenway, GM. Immobilized alga as a reagent for preconcentration in trace element atomic absorption spectrometry. *J. Anal. Atom. Spectrom.* 1991; 6(8): 643-646.
- [85] Mahan, CA, Holcombe, JA. Immobilization of algae cells on silica gel and their characterization for trace metal preconcentration. *Anal. Chem.* 1992; 64(17): 1933-1939.
- [86] Maquieira, A, Elmahadi, HAM, Purchades, R. Immobilized cyanobacteria for on-line trace metal enrichment by flow injection atomic absorption spectrometry. *Anal. Chem.* 1994; 66(21): 3632-3638.
- [87] Maquieira, A, Elmahadi, HAM, Purchades, R. Technique and support for microorganism immobilization. Application to trace metals enrichment by flow injection atomic absorption spectrometry. *Analyst* 1996; 121(11): 1633-1640.
- [88] Bag, H, Turker, AR, Lale, M. Determination of Cu, Zn, Fe, Ni and Cd by flame atomic absorption spectrophotometry after preconcentration by *Escherichia coli* immobilized on sepiolite. *Talanta* 2000; 51(5): 1035-1043.
- [89] Bag, H, Turker, AR, Lale, M. Determination of trace metals in geological samples by atomic absorption spectrophotometry after preconcentration by *Aspergillus niger* immobilized on sepiolite. *Anal. Sci.* 1999; 15(12): 1251-1256.
- [90] Rocha, JC, Rosa, AH, Furlan, M. An alternative methodology for the extraction of humic substances from organic soils. *J. Braz. Chem. Soc.* 1998; 9(1): 51-56.

- [91] Schulten, HR. The 3-dimensional structure of humic substances and soil organic-matter studied by computational analytical chemistry. *Fresenius J. Anal. Chem.* 1995; 351(1): 62-73.
- [92] Rashid, MA. *Geochemistry of marine humic compounds*. Springer-Verlag, Berlin, 1985, 300p.
- [93] Sánchez-Monedero, MA, Roig, J, Cegarra, J, Bernal, MP. Relationships between water-soluble carbohydrate and phenol fractions and the humification indices of different organic wastes during composting. *Bioresource. Technol.* 1999; 70(2): 193-201.
- [94] Tuomela, M, Vikman, M, Hatakka, A, Itavaara, M. Biodegradation of lignin in a compost environment: a review. *Bioresource. Technol.* 2000; 72(2): 169-183.
- [95] Barros, MCP, de Paula, JR, Rezende, MOO. Caracterização físico-química do ácido húmico e de solo da ilha de Cananéia e de sua interação com Fe(III), Cu(II) e Cd(II). *Quim. Nova* 1994; 17(5): 376-380.
- [96] Gouveia, SEM, Pessenda, LCR. Datação da fração humina da matéria orgânica do solo e sua comparação com idades ^{14}C de carvões fósseis. *Quim. Nova* 1999; 22(6): 810-814.
- [97] Stevenson, FJ. *Humus Chemistry*. John Wiley & Sons, New York, 1982, 443p.
- [98] Calace, N, Capolei, M, Lucchese, M, Petronio, BM. The structural composition of humic compounds as indicator of organic carbon sources. *Talanta* 1999; 49(2): 277-284.
- [99] Fooker, U, Liebezeit, G. Distinction of marine and terrestrial origin of humic acids in North Sea surface sediments by absorption spectroscopy. *Mar. Geol.* 2000; 164(3-4): 173-181.
- [100] Landgraf, MD, da Silva, SC, Rezende, MOO. Mechanism of metribuzin herbicide sorption by humic acid samples from peat and vermicompost. *Anal. Chim. Acta* 1998; 368(1-2): 155-164.
- [101] Lamim, SSM, Jordão, CP, Brune, W, Pereira, JL. Caracterização química e físico-química de vermicomposto de esterco bovino e avaliação da adsorção competitiva por cádmio e chumbo. *Quim. Nova* 1996; 19(5): 457-463.
- [102] Lamin, SSM, Jordão, CP, Brune, W, Pereira, JL, Bellato, CR. Caracterização física e química de vermicomposto de esterco bovino e avaliação da retenção competitiva de cobre e zinco. *Quim. Nova* 1998; 21(3): 278-283.

- [103] Jordão, CP, Pereira, MG, Einloft R, Santana, MB, Bellato, CR, de Mello, JWV. Removal of Cu, Cr, Ni, Zn and Cd from electroplating wastes and synthetic solutions by vermicompost of cattle manure. *J. Environ. Sci. Health* 2002; A37(5): 875-892.
- [104] Matos, GD, Arruda, MAZ. Vermicompost as a adsorbent for removing metal ions from laboratory effluents. *Process. Biochem.* 2003; 39(1): 81-88.
- [105] Pereira, MG, Arruda, MAZ. Vermicompost as a natural adsorbent material: characterization and potentialities for cadmium adsorption. *J. Braz. Chem. Soc.* 2003; 14(1): 39-47.
- [106] Petroni, SLG, Pires, MAF, Munita, CS. Adsorção de zinco e cádmio em colunas de turfa *Quim. Nova* 2000; 23(4): 477-481.
- [107] Burba, P, Rocha, JC, Klockow, D. Labile complexes of trace metals in aquatic humic substances – investigations by mean an ion exchange-based flow procedure. *Fresenius J. Anal. Chem.* 1994; 349(1-2): 800-807.
- [108] Rocha, JC, Sene, JJ, Burba P, Klockow, D. Interaction of mercury(II) with humic substances from the Rio Negro (Amazonas State, Brazil) by means of an ion exchange procedure. *J. Braz. Chem. Soc.* 1998; 9(1): 79-84.
- [109] Santos, TCR, Rocha, JC, Alonso, RM, Martínez, E, Ibanez, C, Barceló, D. Rapid degradation of propanil in rice crops fields. *Environ. Sci. Technol.* 1998; 32(22): 3479-3484.
- [110] Martinneto, L, Vieira, EM, Sposito, G. Mechanism of antrazine sorption by humic-acid – a spectroscopy study. *Environ. Sci. Technol.* 1994; 28(1): 1867-1873.
- [111] Ro, KS, Preston, KT, Seiden, S, Bergs, MA. Remediation composting process principles: focus on soils contaminated with explosive compounds. *Crit. Rev. Environ. Sci. Technol.* 1998; 28(3): 253-282.
- [112] Kennedy, AC. Bacterial diversity in agroecosystems. *Agr. Ecosyst. Environ.* 1999; 74(1-3): 65-76.
- [113] Landgraf, MD, Alves, MR, Rezende, MOO. Estudo da interação entre o herbicida metribuzin e o ácido húmico de vermicomposto. *Anais Assoc. Bras. Quim.* 1997; 46(3): 176-183.
- [114] Landgraf, MD, Alves, MR, da Silva, SC, Rezende, MOO. Caracterização de ácidos húmicos de vermicomposto de esterco bovino compostado durante 3 e 6 meses. *Quim. Nova* 1999; 22(4): 483 – 486.
- [115] Atiyeh, RM, Arancom, N, Edwards, CA, Metzger, JD. Influence of earthworm-processed pig manure on the growth and yield of greenhouse tomatoes. *Bioresource Technol.* 2000; 75(3): 175-180.

- [116] Prado, AGS, Rezende, MOO. Caracterização da turfa e dos ácidos húmicos das margens do rio Mogi-Guaçu. *Anais Assoc. Bras. Quim.* 1999; 48(4): 186-191.
- [117] Ribeiro, AC, de Mello, JWV, de Novais, RF. *Propriedades físico-químicas do solo*. In: Fertilidade do solo. Universidade Federal de Viçosa, Viçosa, 1996, pp. 30-65.
- [118] Barros Neto, B, Scarminio, IS, Bruns, RE. *Planejamento fatorial de experimentos*, 2ª edição. Editora da UNICAMP, Campinas, 1996, 299p.
- [119] Slavek, J, Wold, J, Pickering, WF. Selective extraction of metal ions associated with humic acids. *Talanta* 1982; 29(9): 743-749.
- [120] Analytical Methods Committee. Recommendations for the definition, estimation and use of the detection limit. *Analyst* 1987; 112(1): 199-204.
- [121] Ferreira, SLC, Lemos, VA, Moreira, BC, Costa, ACS, Santelli, RE. An on-line continuous flow system for copper enrichment and determination by flame atomic absorption spectrometry, *Anal. Chim. Acta* 2000, 403(1-2): 259-264.
- [122] Hervas, L, Mazuelos, C, Senesi, N. Chemical and physicochemical characterization of vermicomposts and their humic acid fractions. *Sci. Total Environ.* 1989; 81(2): 543-550.
- [123] Silverstein, RM, Bassler, GC, Morrill, TC. *Identificação espectrométrica de compostos orgânicos*, 5ª edição. Guanabara Koogan, Rio de Janeiro, 1994, 383p.
- [124] Lindsay, WL. *Chemical Equilibria in Soils*. John Wiley & Sons, New York, 1979, 449p.
- [125] van Raij, de Andrade, JC, Cantarella, H, Quaggio, JA. *Análise química para avaliação da fertilidade de solos tropicais*. Instituto Agronômico, Campinas, 2001, 284p.
- [126] Luchese, EB, Favero, LOB, Lenzi, E. *Fundamentos da química do solo*. Freitas Barros Editora S.A., Rio de Janeiro, 2001, 159p.
- [127] Wershaw, RL, Pinckney, DJ, Llaguno, EC. NMR characterization of humic acid fractions from different Philippine soils and sediments. *Anal. Chim. Acta* 1990; 232(1): 31-42.
- [128] Sag, Y, Kutsal, T. Determination of the biosorption heats of heavy metals ions on *Zoogloea ramigera* and *Rhizopus arrhizus*. *Biochem. Eng. J.* 2000, 6(2): 145-151.
- [129] Hsieh, CT, Teng, H. Influence of mesopore volume and adsorbate size on adsorption capacities of activated carbon in aqueous solutions. *Carbon* 2000; 38(6): 863-869.

- [130] Kaewsam, P, Yu, Q. Cadmium(II) removal from aqueous solutions by pre-treated biomass of marine alga *Padina* sp. *Environ. Pollut.* 2001; 112(2): 209-213.
- [131] Arpa, C, Basyil, E, Bektas, S, Genc, O, Yurum, Y. Cation exchange properties of low rank Turkish coals: removal of Hg, Cd and Pb from wastewater. *Fuel Process. Technol.* 2000; 68(2): 111-120.
- [132] Matheickal, JT, Yu, Q. Biosorption of lead(II) from aqueous solutions by *Phellinus badius*. *Miner. Eng.* 1997; 10(9): 947-957.
- [133] Sag, Y, Kutsal, T. The simultaneous biosorption process of lead(II) and nickel(II) on *Rhizopus arrhizus*. *Process. Biochem.* 1997; 32(7): 591-597.
- [134] Vaughan, T, Seo, CW, Marshall, WE. Removal of selected metal ions from aqueous solution using modified corncobs. *Biores. Technol.* 2001; 78(2): 133-139.
- [135] Puranik, PR, Paknikar, KM. Biosorption of lead and zinc from solutions using *Streptovorticillium cinnamoneum* waste biomass. *J. Biotechnol.* 1997; 55(2): 113-124.
- [136] Matheickal, JT, Yu, Q. Biosorption of lead from aqueous solutions by marine algae *Ecklonia radiata*. *Wat. Sci. Technol.* 1996; 34(9): 1-7.
- [137] Matheickal, JT, Yu, Q. Biosorption of lead(II) and copper(II) from aqueous solutions by pre-treated biomass of Australian marine algae. *Biores. Technol.* 1999; 69(3): 223-229.
- [138] Ozer, A, Ekiz, HI, Ozer, D, Kutsal, T, Caglar, A. A staged purification process to remove heavy metal ions from waste water using *Rhizopus arrhizus*. *Process. Biochem.* 1997; 32(4): 319-326.
- [139] Skoog, DA, Holler, FJ, Nieman, TA. *Princípios de Análise Instrumental*, 5ª edição. Artmed Editora S.A., Porto Alegre, 2002, 836p.
- [140] Mostafa, MA. Elimination of chemical interference in the determination of cadmium by flame atomic absorption spectrometry. *Analyst* 1996; 12(4): 635-640.
- [141] Chakrabarti, CL, Wan, CC, Teskey, RJ, Chang, SB, Hamed, HA, Bertels, PC. Mechanism of atomization at constant temperature in capacitive discharge graphite furnace atomic absorption spectrometry. *Spectrochim. Acta* 1981; 36B(5): 427-438.
- [142] McLaren, RG, Williams, JG, Swift, RS. Some observations on the desorptions and distribution behavior of copper with soil components. *J. Soil Sci.* 1983; 34(2): 325-331.
- [143] Elliott, HA, Liberati, MR, Huang, CP. Competitive adsorption of heavy metals by soils. *J. Environ. Qual.* 1986; 15(3): 214-219.

[144] Tunçeli, A, Türker, AR. Flame atomic absorption spectrometry determination of silver after preconcentration on Amberlite XAD-16 resin from thiocyanate solution. *Talanta* 2000; 51(5): 889-894.



ANEXOS

**ANEXO A: CARTA DE CERTIFICAÇÃO DA AMOSTRA DE ÁGUA
USADA COMO BASE PARA OS TESTES DE SELETIVIDADE
(*Trace Metal Fortified Water* – National Water Research Institute –
Canadá)**

Elemento	Concentração ($\mu\text{g L}^{-1}$)
Ca	9800
Cd	$2,6 \pm 1,0$
Co	$8,0 \pm 2,7$
Cr	$8,3 \pm 2,8$
Cu	$9,2 \pm 2,3$
K	300
Mg	2000
Mn	$8,5 \pm 2,3$
Ni	$8,6 \pm 2,9$
Pb	$3,4 \pm 1,8$
Se	$1,2 \pm 1,0$
Zn	$5,6 \pm 2,4$

ANEXO B: Composição química das amostras de complemento alimentar e suco de fruta empregadas nos testes de exatidão

Complemento alimentar

Constituinte	Concentração (mg L ⁻¹)*
Ca	0,39 ± 0,0027
Fe	0,85 ± 0,016
K	2,1 ± 0,094
Mg	0,064 ± 0,0017
Na	0,84 ± 0,033
SO ₄ ²⁻	1,5**

* Média de 3 replicatas ± desvio padrão, ** Valor fornecido pelo fabricante

Suco de fruta (sabor uva)

Constituinte	Concentração (mg L ⁻¹)*
Ca	0,62 ± 0,030
Fe	0,12 ± 0,0021
K	1,7 ± 0,057
Mg	0,16 ± 0,014
Na	1,8 ± 0,091

* Média de 3 replicatas ± desvio padrão

CAPÍTULO 2

DESENVOLVIMENTO DAS METODOLOGIAS PARA A DETERMINAÇÃO DE CÁDMIO E CHUMBO EMPREGANDO FULERITA COMO PRÉ-CONCENTRADOR E TS-FF-AAS COMO TÉCNICA DE DETECÇÃO

1. OBJETIVOS

Este capítulo objetiva a abordagem dos seguintes aspectos teóricos:

- obtenção e propriedades dos fulerenos;
- características da TS-FF-AAS;
- potencialidades do acoplamento da TS-FF-AAS a sistemas de pré-concentração.

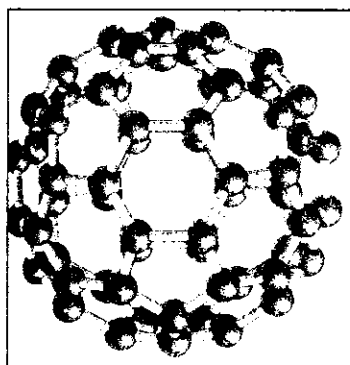
No que se refere à parte experimental e à discussão dos resultados, o presente capítulo tem como objetivos os pontos delineados a seguir:

- Análise da morfologia das partículas de fullerita;
- Otimização das metodologias de determinação de cádmio e chumbo por meio do acoplamento do sistema pré-concentrador contendo fullerita à TS-FF-AAS;
- Avaliação do desempenho analítico dos métodos citados no item anterior.

2. REVISÃO DE LITERATURA

2.1. Fulerenos: obtenção e características

Os fulerenos são conhecidos como a terceira forma alotrópica do carbono e são produzidos por diversos procedimentos, destacando-se a passagem de intensas descargas elétricas em material carbonáceo [1], a incidência de laser em grafite [2] e, também, o uso de fontes de energia como o plasma [3]. A estrutura destes compostos, com elevada inércia química, consiste exclusivamente de átomos de carbono [4] em diversas formas análogas tais como: C_{60} (Figura 24), C_{70} , C_{240} , C_{540} e C_{720} [5].


Figura 24: Estrutura do C₆₀ [6]

Logo após a obtenção do C₆₀ em 1985, a atenção de diversos pesquisadores foi atraída para a síntese de novos materiais baseados na família dos fulerenos [7,8]. Este interesse estende-se desde a fabricação de sensores químicos até a medicina, conforme indicado no Quadro 18.

Quadro 18: Aplicações dos fulerenos e seus derivados

Aplicações	Referência
Bioquímica	9-12
Sensores químicos	13
Síntese orgânica	14
Supercondutores	15-17
Medicina	18
Geração de fotocorrente	19
Catalisador para hidrogenação	20
Construção de receptores eletrônicos	21

Das aplicações acima, ressaltam-se aquelas relacionadas com a Bioquímica e Medicina, onde os fulerenos são empregados com sucesso na prevenção e/ou cura de diversas doenças. Segundo Baena *et al.* [5], enfermidades como arterioesclerose, Alzheimer, tuberculose e meningite bacteriana estão sendo eficientemente combatidas pelos referidos compostos.

Em Química Analítica, os fulerenos foram primeiramente empregados em cromatografia como componentes de fases estacionárias, conforme demonstrado na publicação de Jinno *et al.* [22]. Na pré-concentração de metais envolvendo técnicas

de espectrometria atômica, os fulerenos foram pioneiramente utilizados por Gallego *et al.* [23] e posteriores aplicações [24] forneceram excelentes fatores de enriquecimento. Apesar destas características, as aplicações nesta área são bastante escassas e, de 1994 a 2003, somente cinco artigos foram publicados sobre o emprego dos fulerenos em propostas de pré-concentração metálica tendo a detecção baseada em técnicas de espectrometria atômica (Quadro 19).

Quadro 19: Trabalhos relevantes sobre o emprego de fulereno em sistemas pré-concentradores de metais acoplados à espectrometria de absorção atômica (1994-2003)

Analitos	Amostra	Fatores de pré-concentração	Técnica	Referência
Pb	Águas	50	FAAS ¹	23
Cu	Soluções	40-185	FAAS ¹	24
Cd	Material biológico	110	FAAS ¹	25
Cd, Ni e Pb	Águas naturais	97 (Cd), 99 (Ni) e 149 (Pb)	TCAAS ¹	26
Co	Tecido vegetal	40	GFAAS ¹	27

¹Sistema em linha

O número reduzido de trabalhos nos últimos 10 anos justifica o interesse da presente tese em desenvolver procedimentos de pré-concentração empregando fulerenos. Estes adsorventes, em função do caráter apolar, requerem que analitos eletricamente carregados sejam convertidos em complexos neutros com posterior eluição em solventes orgânicos.

No trabalho de Gallego *et al.* [23], o analito Pb²⁺ foi complexado com o amônio pirrolidina-ditiocarbamato - APDC (Figura 25), enquanto que Peña *et al.* [24] utilizaram o mesmo complexante para efetuar a pré-concentração de cobre. Além destes dois trabalhos, a literatura reporta diversas aplicações do APDC como agente de complexação metálica (Quadro 20).

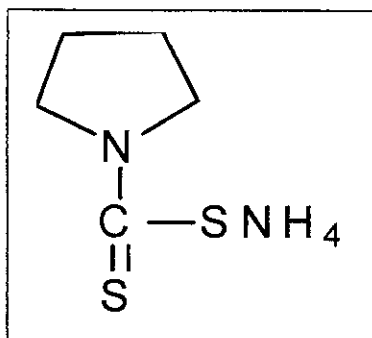


Figura 25: Estrutura do APDC

Quadro 20: Aplicações do APDC como complexante de espécies metálicas

Metal	Matriz	Referência
Pb	Sangue	28
Cd, Co, Cu, Fe, Ni, Pb e Zn	Água marinha	29
Cd, Co, Cu, Fe, Ni e Pb	Alumina	30
Sb(III)	Água e urina	31
Cd	Água marinha e de rio	32

Em virtude da eficiência de complexação apresentada pelas moléculas de APDC, este composto foi escolhido para os trabalhos de pré-concentração de cádmio e chumbo usando fullerita como adsorvente, sendo a dessorção dos complexos Cd-APDC e Pb-APDC efetuada com etanol.

2.2. Princípios da TS-FF-AAS

Nas últimas 3 décadas, alguns esforços têm sido direcionados no sentido de melhorar a sensibilidade da FAAS convencional. O princípio básico destas tentativas (conforme comentado na Introdução Geral – página 1) consiste, além dos sistemas pré-concentradores, na elaboração de dispositivos capazes de aumentar a eficiência de transporte e nebulização da amostra e o tempo de residência do analito no caminho ótico [33]. Pioneiramente, surgiram o *boat-in-flame* e o copo de Delves e, posteriormente, várias outras técnicas foram reportadas na literatura conforme revisão de Matusiewicz [34]. Apesar dos méritos destas técnicas, somente espécies

gasosas são completamente introduzidas nas células de absorção [35] e no intuito de possibilitar a análise de amostras líquidas, surgiram as técnicas BIFF-AAS [36] e TS-FF-AAS [35].

Na BIFF-AAS, a amostra líquida é transportada na forma de um jato de alta velocidade para o interior de um tubo de níquel aquecido e posicionado sobre uma chama ar/acetileno. O jato de amostra, após sua entrada no tubo por meio de um orifício lateral, é conduzido à superfície oposta com a imediata vaporização da amostra e atomização do(s) analito(s) [36]. Segundo Gáspár e Berndt [36], a utilização da BIFF-AAS permitiu aumentos de sensibilidade na faixa de 6 a 202 vezes em relação à FAAS convencional para a determinação de 17 analitos (Ag, As, Au, Bi, Cd, Cu, Hg, In, K, Pd, Pb, Rb, Sb, Se, Te, Tl, Zn).

O princípio de funcionamento da TS-FF-AAS difere da BIFF-AAS no tocante à utilização de um capilar cerâmico apto a introduzir no interior de um tubo de níquel a amostra líquida na forma de spray. O referido tubo necessita de um suporte adequado a fim de posicioná-lo convenientemente sobre o queimador (Figura 26).

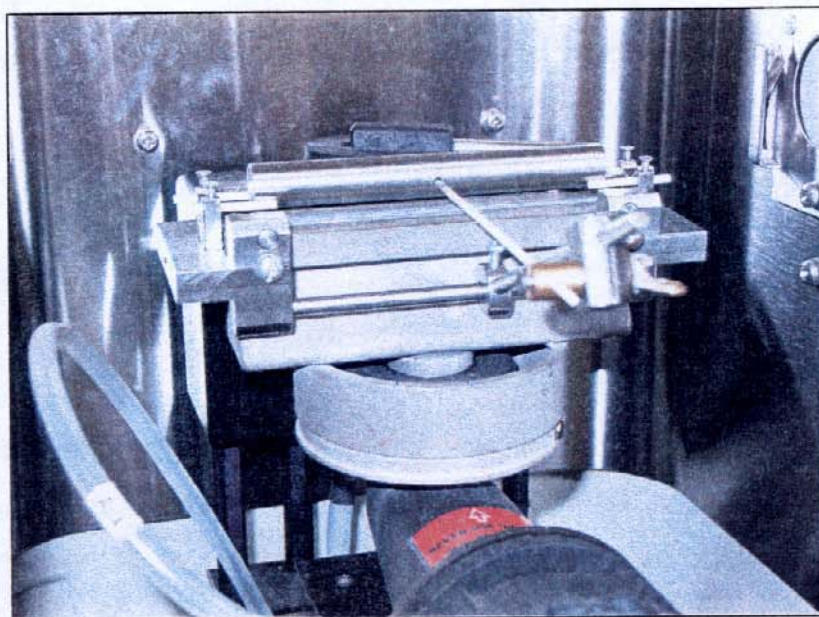


Figura 26: Tubo de níquel posicionado sobre o suporte

Na Figura 26, o capilar cerâmico encontra-se apoiado pelas extremidades ao orifício do tubo e ao orifício do suporte. Como na BIFF-AAS, a vaporização da

amostra e a atomização do analito ocorrem tão logo a amostra atinja o tubo aquecido. A Figura 27 ilustra o tubo de níquel aquecido sobre a chama.

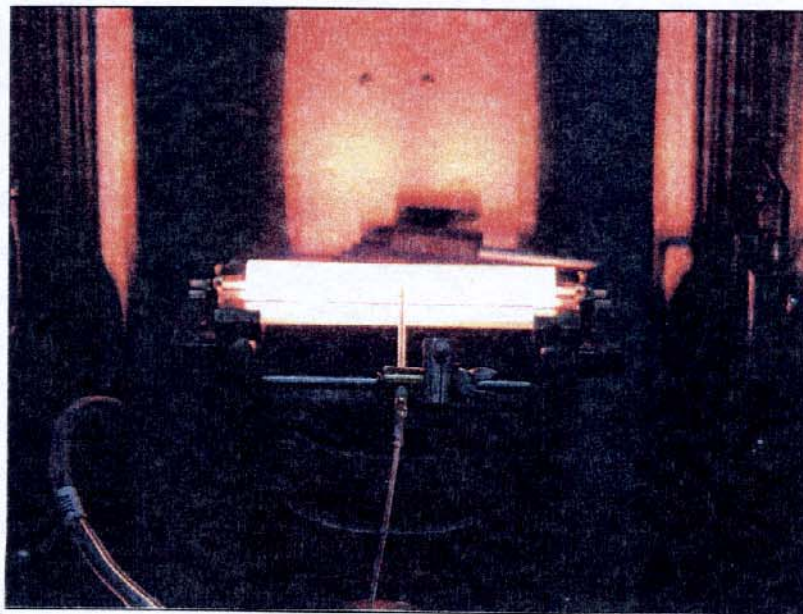


Figura 27: Tubo de níquel aquecido sobre a chama ar/acetileno

O TS foi originalmente desenvolvido como uma interface entre a cromatografia líquida e a espectrometria de massas, enquanto que em espectrometria atômica, foi primeiramente empregado nas técnicas ICP OES e ICP-MS. A utilização do TS como forma de introdução de amostras na TS-FF-AAS apresenta a vantagem de dispensar dispositivos sofisticados de aquecimento do capilar, visto que este último atinge rapidamente temperaturas elevadas (ca. 1000 °C) pelo simples contato com o tubo de níquel [35].

Na publicação [35], os autores constataram que a TS-FF-AAS, em relação à FAAS convencional, possibilitou a quantificação de Cd, Cu, Hg, Pb e Tl em concentrações de 14 a 67 vezes mais reduzidas. Adicionalmente, Pereira-Filho *et al.* [37] obtiveram bons limites de detecção para Cd, Cu e Pb (0,5; 4,3 e 3,5 $\mu\text{g g}^{-1}$ respectivamente) quando foram analisadas amostras biológicas na forma de suspensão pela referida técnica.

2.2.1. Potencialidades do acoplamento da TS-FF-AAS a um sistema pré-concentrador

Os comentários do item anterior evidenciam o poder de detecção oferecido pela TS-FF-AAS para diferentes analitos metálicos, incluindo os elementos de interesse desta tese (Cd e Pb). Limites de detecção e quantificação ainda menores são possíveis ao se considerar etapas de pré-concentração empregando materiais como a fullerita. Pelo referido acoplamento, figuras de mérito comparáveis à GFAAS são previstos a custos operacionais acessíveis, visto que o metro do tubo de níquel e do capilar cerâmico podem ser adquiridos a R\$ 60 e R\$ 630, respectivamente. Deve-se ainda mencionar que, além dos preços relativamente reduzidos, a vida útil do tubo de níquel e do capilar cerâmico supera 500 horas de uso [37]. A fullerita, por outro lado, impõe um custo relativamente alto, visto que o frasco (ca. 100 mg) é adquirido por aproximadamente US\$ 100. Entretanto, é importante ressaltar que a inércia química acentuada deste adsorvente [23] viabiliza vários ciclos de análise, compensando eventuais gastos iniciais com a montagem do sistema.

A escolha do capilar cerâmico foi ditada por experimentos previamente realizados por Davies e Berndt [38], onde foi comprovada a maior eficiência deste material.

3. PARTE EXPERIMENTAL

3.1. Instrumentação

A maioria dos equipamentos e dispositivos utilizados já foram descritos na seção 3.1 do capítulo anterior à exceção do analisador de imagens Zeiss axiolab (Munique, Alemanha) e do forno de microondas de alta pressão Provecto Analítica DGT100 Plus (Campinas, Brasil), que substituiu o forno de microondas adotado do capítulo 1.

3.2. Padrões, amostras e reagentes

Assim como na execução da parte experimental do primeiro capítulo, todos os reagentes empregados foram da marca Merck ou equivalente e água destilada-desionizada foi usada ao longo de todos os procedimentos.

As calibrações de Cd e Pb no espectrômetro de absorção atômica por atomização eletrotérmica foram efetuadas conforme descrito no primeiro capítulo a partir de soluções estoque de 1000 mg L⁻¹. Pela diluição das referidas soluções estoque, foram também preparadas as soluções de Cd e Pb empregadas durante a operação dos sistemas pré-concentradores (seções 3.3.2 - 3.3.4).

Nos testes de exatidão das metodologias desenvolvidas, as seguintes amostras foram utilizadas: água mineral 1 (Lindóia – SP), 2 (Rio de Janeiro - RJ) e 3 (Águas da Prata – SP), compradas no comércio local de Campinas e águas de torneira e de bebedouro, coletadas no Instituto de Química da Unicamp. Ainda, os materiais certificados de referência de rim de porco (CRM186) e de *rye grass* (CRM281) foram adquiridos da *Community Bureau of Reference* (Bruxelas - Bélgica). A fullerita foi importada da *Aldrich Chemicals Company* (St. Louis, EUA).

3.3. Procedimentos

3.3.1. Análise de superfície da fullerita

Esta parte foi executada pelo analisador de imagens, posicionando-se a fullerita (10 mg) sob a lente de aumento (32X). Após o registro das imagens, estas foram tratadas pelo programa Axovision 3.0 (*Microsoft corporation*).

3.3.2. Testes preliminares sobre os sistemas pré-concentradores

Devido à falta de informações acerca do acoplamento da TS-FF-AAS a um sistema pré-concentrador, tornou-se necessário verificar as reais potencialidades do referido acoplamento. Deste modo, alguns testes para o Cd foram efetuados com uma configuração de injetor bastante simples (Figura 28a-b) no intuito de avaliar a possibilidade de quantificação a reduzidas concentrações. Neste injetor, uma solução mista de Cd a $10 \mu\text{g L}^{-1}$ e de APDC a 0,05 % (m/v) foi bombeada na vazão de 1 mL min^{-1} , por 2 min, através de uma coluna contendo 20 mg de fullerita. O complexo Cd-APDC foi eluído ($0,9 \text{ mL min}^{-1}$) pela passagem contínua de metil-isobutil-cetona (MIBC), etanol absoluto ou etanol a 80% (v/v).

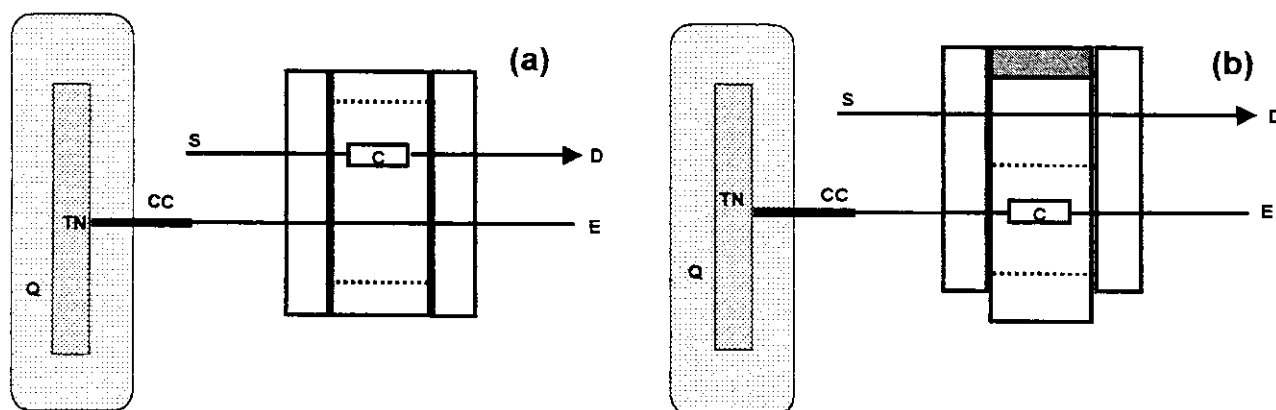


Figura 28: Configuração do sistema FIA usado nos testes preliminares: (a) pré-concentração e (b) eluição. S - solução Cd-APDC, E- MIBC, etanol absoluto ou a 80% (v/v), C - coluna preenchida com 20 mg de fullerita, D - descarte, TN - Tubo de Ni, Q - Queimador, CC - Capilar cerâmico.

O único parâmetro otimizado foi o pH (faixa de 2 a 6 com incrementos de 0,5 unidades) cujo ajuste realizou-se pela adição de HNO_3 ou NaOH $0,1 \text{ mol L}^{-1}$ à solução mista de Cd e APDC. As dimensões do capilar cerâmico (0,5 mm de diâmetro interno) e do tubo de níquel (10 x 1 cm) foram retiradas da referência [37]. O referido tubo foi confeccionado com 6 furos de 2,5 mm de diâmetro cada em sua parte inferior, com o objetivo de permitir a entrada parcial da chama em seu interior.

O registro dos sinais analíticos efetuou-se na forma de absorbância máxima, ao invés de área de pico. Esta escolha foi necessária porque o tempo requerido para

a geração dos sinais foi superior ao tempo máximo de integração que pode ser obtido pelo espectrômetro de absorção atômica utilizado (60 s).

Um aspecto prático de operação do TS consiste em refrigerar a câmara de combustão do espectrômetro, dado o elevado aquecimento provocado pelo tubo de níquel sobre a chama. A etapa de refrigeração foi efetuada pela aspiração de água desionizada em uma vazão de $4,0 \text{ mL min}^{-1}$ suficiente para atenuar a temperatura sem, no entanto, resfriar excessivamente o tubo.

3.3.3. Otimização definitiva dos sistemas pré-concentradores

Os estudos definitivos acerca da pré-concentração de Cd e Pb foram efetuados com uma segunda configuração de injetor (Figura 29a-b), onde $1,5 \text{ mL}$ de soluções de referência ($10 \mu\text{g L}^{-1}$ Cd ou $50 \mu\text{g L}^{-1}$ de Pb) foram introduzidos no fluxo de APDC. Os parâmetros otimizados (univariadamente) foram: pH da amostra (níveis 2 - 6 para Cd e 0,5 - 6 para Pb), concentração do complexante APDC [$0,05$; $0,1$; $0,2$ e $0,4 \%$ (m/v)], comprimento da bobina (0 , 29 , 58 , 115 , 230 e 460 cm), vazão de pré-concentração ($0,6$; $1,0$; $2,0$ e $3,5 \text{ mL min}^{-1}$), vazão de eluição ($0,4$, $0,6$ e $0,9 \text{ mL min}^{-1}$) e massa de fullerita (20 e 40 mg para Cd e somente 40 mg para Pb). Nesta configuração de injetor, o eluente foi o etanol a 80% (v/v).

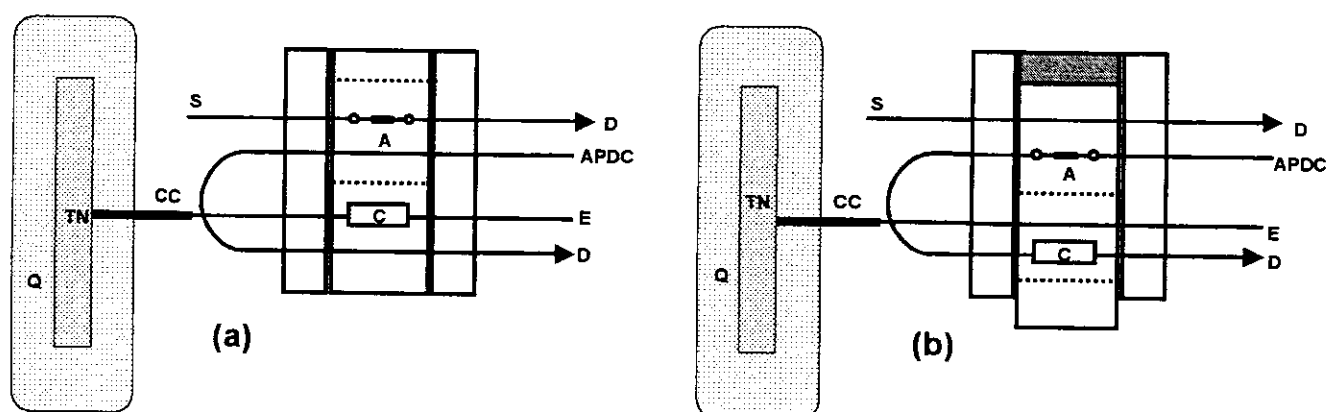


Figura 29 - Configuração do sistema FIA usado nos testes definitivos de pré-concentração de Cd e Pb: (a) pré-concentração e (b) eluição. A - alça de amostragem, S - solução da amostra, E - etanol a 80% (v/v), C - coluna preenchida com fullerita, D - descarte, TN - Tubo de Ni, Q - Queimador, CC - Capilar cerâmico, APDC - solução do complexante amônio pirrolidinaditiocarbamato.

Na eluição, o injetor assume a configuração indicada na Figura 29a, onde a coluna contendo o complexo Cd-APDC ou Pb-APDC é posicionada no fluxo de etanol com a conseqüente dessorção dos analitos e registro do sinal. Cada ciclo de análise durou 2,5 min.

3.3.4. Avaliação do desempenho analítico

3.3.4.1. Faixa linear, cálculo dos fatores de pré-concentração, limites de detecção (LD) e quantificação (LQ) e precisão

As faixas lineares das metodologias propostas foram avaliadas até $5 \mu\text{g L}^{-1}$ para Cd e até $250 \mu\text{g L}^{-1}$ para Pb. Para ambos os analitos, empregaram-se as seguintes condições experimentais: concentração de APDC de 0,05 % (m/v), vazões de pré-concentração e de eluição iguais a 2,0 e $0,9 \text{ mL min}^{-1}$, respectivamente e massa de fullerita de 40 mg. Não houve necessidade de usar uma bobina de reação. O pH adotado na pré-concentração de cádmio foi 2, enquanto que o analito chumbo foi pré-concentrado em pH 1. Estas condições (exceto a concentração do APDC) foram mantidas em todos os experimentos da seção 3.3.4.2.

Os fatores de pré-concentração, à semelhança do primeiro capítulo, foram calculados pelo quociente entre as inclinações das curvas obtidas com e sem pré-concentração. As últimas foram construídas pela injeção direta (no espectrômetro de absorção atômica com chama convencional) de 1,5 mL de soluções padrão de Cd ou Pb nas faixas de $500 - 2000 \mu\text{g L}^{-1}$ e de $5000 - 20000 \mu\text{g L}^{-1}$, respectivamente ou pela injeção direta de 1,5 mL de soluções de Cd ($0,5 - 5 \mu\text{g L}^{-1}$) ou de Pb ($10 - 250 \mu\text{g L}^{-1}$) empregando a técnica TS-FF-AAS sem a etapa de pré-concentração. A precisão foi avaliada em termos da repetibilidade após 10 sucessivas análises de soluções de Cd ($10 \mu\text{g L}^{-1}$) ou de Pb ($50 \mu\text{g L}^{-1}$), enquanto que os LDs e LQs foram estimados conforme indicado na seção 3.3.4.2. do capítulo anterior.

3.3.4.2. Testes de exatidão

Para esta finalidade, empregaram-se amostras de água mineral (1, 2 e 3) e de torneira fortificadas com Cd ($2,5 \mu\text{g L}^{-1}$) ou Pb (70 e $140 \mu\text{g L}^{-1}$) e amostras de água de bebedouro contendo naturalmente o elemento Cd. Ainda, amostras de rim de porco (CRM186) e de graminha de centeio (CRM281) foram adotadas para os testes de exatidão dos métodos de determinação de Cd e Pb, respectivamente.

Após a fortificação das amostras de água mineral e de torneira, estas amostras tiveram o pH corrigido para 2 (Cd) e 1 (Pb). O pH da amostra de água de bebedouro (contendo Cd naturalmente) foi também ajustado para 2. Em nenhum dos casos foi usado o procedimento de adição de analito, sendo os padrões ($0,5 - 5,0 \mu\text{g L}^{-1}$ para Cd e $10 - 250 \mu\text{g L}^{-1}$ para Pb) preparados em água desionizada com as correções de pH anteriormente especificadas.

A amostra certificada de rim de porco (200 mg) foi decomposta segundo o procedimento contido na seção 3.3.4.4 do capítulo antecessor, enquanto que a amostra de graminha de centeio (400 mg) foi digerida seguindo o programa listado no Quadro 21 após a adição de 6 mL de HNO_3 a 65% (v/v) e 0,5 mL de H_2O_2 a 30% (v/v).

Após as decomposições, os frascos de teflon foram abertos e aquecidos em chapa aquecedora (ca 85°C) até quase a secura com posterior transferência dos reduzidos volumes (ca 1 mL) para balões de 25 mL (graminha de centeio com concentração final de Pb de $38,1 \mu\text{g L}^{-1}$) e de 100 mL (rim de porco com concentração final de Cd de $5,4 \mu\text{g L}^{-1}$).

Quadro 21: Programa de aquecimento usado na decomposição por microondas das amostras de graminha de centeio (duração: 17 min)

Etapa	Potência (W)	Tempo (min)
1	400	5
2	790	6
3	320	3
4	0	3

A concordância entre as concentrações fornecidas pelas metodologias desenvolvidas e aquelas esperadas teoricamente foi constatada por análises paralelas com a técnica GFAAS ou pela consulta das cartas de certificação.

4. RESULTADOS E DISCUSSÃO

4.1. Análise de superfície da fullerita

A Figura 30 revela um material granulado fino, bem característica dos compostos pertencentes à classe dos fulerenos [23]. Outra informação interessante é que as partículas apresentam diâmetro variado. Entretanto, esta ampla faixa de tamanho de partículas não promove perdas em termos da precisão ou da exatidão conforme demonstrado nas próximas seções.

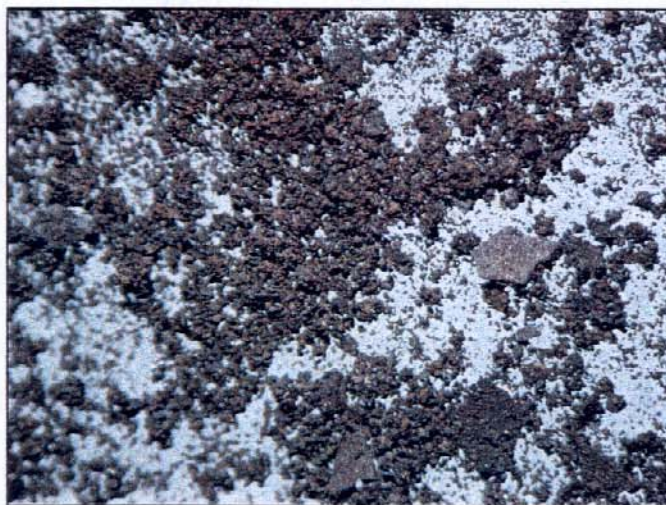


Figura 30: Fotografia da fullerita (32 X)

4.2. Testes preliminares

Antes da exposição dos resultados obtidos nestes testes, torna-se relevante tecer alguns comentários acerca das condições experimentais adotadas nesta etapa.

Em relação aos solventes usados na eluição, a MIBC foi descartada em virtude do acentuado desgaste ocasionado nas tubulações envolvidas (Tygon® e Vytan). O etanol absoluto, por sua vez, proporcionou intensa combustão no tubo de níquel com a conseqüente perda de amostra. Desta forma, foi necessário encontrar uma concentração de etanol suficiente para eluir o complexo adsorvido na fullerita sem, no entanto, promover queimas pronunciadas. Esta concentração foi de 80% (v/v), sendo o referido valor mantido nos testes definitivos sobre a pré-concentração de cádmio e chumbo (seção 4.3.).

A concentração do APDC de 0,05% (m/v) foi escolhida com base na literatura [39], que emprega a referida concentração para complexar efetivamente espécies como Cd^{2+} e Pb^{2+} . A vazão de eluição de $0,9 \text{ mL min}^{-1}$ foi o valor máximo conseguido sem que houvesse perdas de amostra pelas extremidades abertas do tubo de níquel.

Os parâmetros vazão de pré-concentração ($1,0 \text{ mL min}^{-1}$) e massa de adsorvente (20 mg) foram estipulados visando à obtenção de condições analíticas mais adequadas em relação à literatura [25], onde os autores desenvolveram uma metodologia de determinação de cádmio pelo acoplamento de um sistema pré-concentrador à FAAS. Nas condições otimizadas, soluções de Cd a $10 \mu\text{g L}^{-1}$ foram bombeadas ($3,0 \text{ mL min}^{-1}$), durante 2 min, através de uma coluna contendo 80 mg de C_{60} . Portanto, na referida publicação [25], foram requeridos volumes de amostra 3 vezes maiores e uma quantidade de adsorvente 4 vezes mais elevada em relação ao sistema pré-concentrador adotado nos testes preliminares. Ainda, as absorbâncias máximas aqui obtidas (Tabela 24 e Figura 31) foram 4 vezes maiores que o máximo obtido para a referência [25], que foi de 0,15.

Pela Figura 31, observa-se que mesmo em condições de elevada acidez (pH 2), ainda é possível obter consideráveis absorbâncias máximas, indicando a estabilidade do APDC. As comparações citadas no parágrafo anterior ilustram bem as capacidades do acoplamento da TS-FF-AAS a um sistema pré-concentrador contendo fullerita. Embora testes preliminares acerca do Pb não tenham sido efetuados, nota-se que o acoplamento proposto é potencialmente atrativo em oferecer resultados satisfatórios para qualquer metal facilmente complexado pelo

APDC. Apesar dos bons resultados obtidos com o injetor indicado na Figura 28, as otimizações definitivas foram conduzidas pelo emprego da configuração representada na Figura 29. Esta decisão baseou-se, principalmente, na perspectiva de menor consumo de amostra.

Tabela 24: Absorbâncias máximas* obtidas após a pré-concentração de Cd nos testes preliminares (variação de acordo com o pH de complexação)

pH de complexação	Absorbância máxima
2,0	0,433 $\pm$ 0,02
2,5	0,447 $\pm$ 0,02
3,0	0,494 $\pm$ 0,03
3,5	0,573 $\pm$ 0,02
4,0	0,548 $\pm$ 0,03
4,5	0,622 $\pm$ 0,03
5,0	0,623 $\pm$ 0,03
5,5	0,571 $\pm$ 0,04
6,0	0,540 $\pm$ 0,02

*n = 10

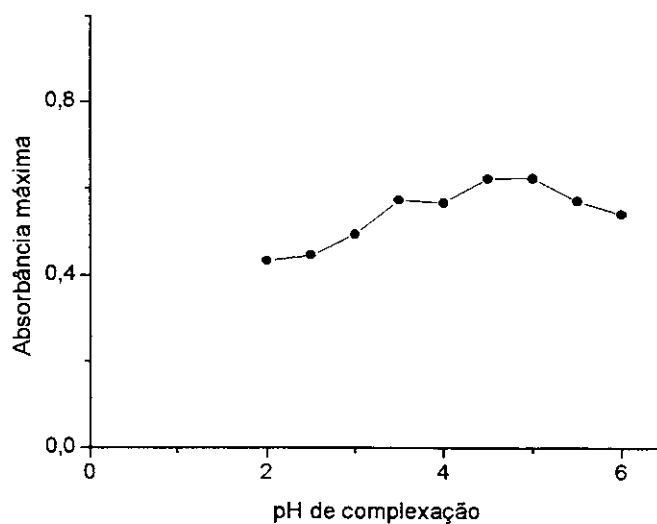


Figura 31: Variação do sinal do Cd em função do pH de complexação

4.3. Otimização definitiva dos sistemas pré-concentradores

A Tabela 25 mostra as variações sobre as absorvâncias máximas para Cd de acordo com o pH da amostra.

Tabela 25: Variações na absorvância máxima* para Cd com o pH da amostra

pH da amostra	Absorvância máxima
2,0	0,272 $\pm$ 0,02
2,5	0,286 $\pm$ 0,02
3,0	0,278 $\pm$ 0,01
3,5	0,289 $\pm$ 0,01
4,0	0,278 $\pm$ 0,01
4,5	0,298 $\pm$ 0,02
5,0	0,264 $\pm$ 0,01
5,5	0,222 $\pm$ 0,01
6,0	0,230 $\pm$ 0,01

*n = 10

Embora o pH 4,5 tenha apresentado o maior sinal, o pH 2 foi escolhido para os experimentos futuros em função deste pH ser mais próximo das condições de acidez de amostras submetidas a etapas de decomposição ácida, permitindo análises sem os inconvenientes da neutralização. Ainda, a queda em sinal relativa à passagem do pH 4,5 para 2 foi de apenas 9%. É importante ressaltar que testes em pH < 2 poderiam ter sido efetuados, mas estas verificações tornaram-se desnecessárias, visto que a literatura [25] reporta a estabilidade do complexo Cd-APDC na faixa de pH de 0,5 a 5,0 [25]. Esta expectativa foi confirmada pelos resultados contidos na Tabela 25 e Figura 32, onde se observou uma variação máxima de sinal de 11,4% na faixa de pH de 2,0 a 5,0. Portanto, o comportamento deste método associado às informações já contidas na literatura [25] acerca da estabilidade do complexo Cd-APDC permitem concluir que amostras com pH inferior a dois também poderiam ser analisadas sem perdas ou ganhos significativos na resposta analítica.

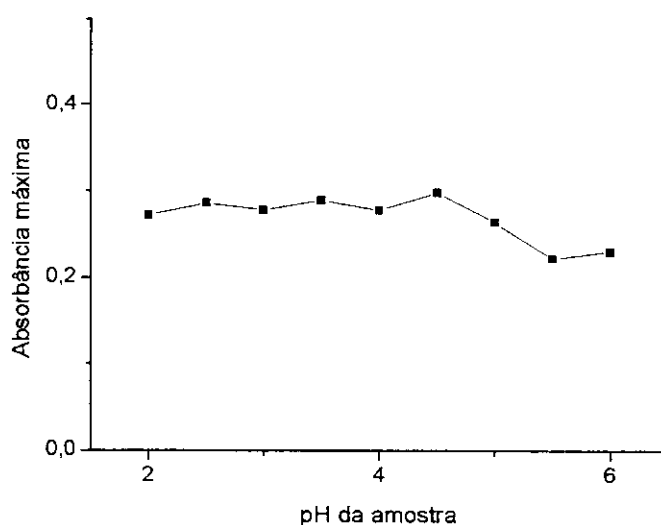


Figura 32: Variação do sinal para Cd em função do pH da amostra

O comportamento do sinal do chumbo segundo o pH da amostra encontra-se na Tabela 26 e Figura 33 com o ótimo localizado em pH 1. Os sinais analíticos mais acentuados foram obtidos nos menores valores de pH (0,5 a 2,0), sendo este comportamento provavelmente atribuído à hidrólise dos cátions Pb^{2+} em $pH > 3$ [23]. Frente a esta limitação, decidiu-se também avaliar o parâmetro pH em níveis mais reduzidos (< 2) no intuito de ampliar as possibilidades de localização do ótimo.

O cátion Cd^{2+} também hidrolisa em $pH > 3$, embora a faixa de pH capaz de manter a estabilidade do sinal tenha sido maior (0,5 – 5,0) que a observada para o chumbo. Isso possivelmente indica que, nas condições experimentais adotadas, houve um maior favorecimento para a complexação do cádmio em detrimento ao chumbo ao se considerar o complexante APDC.

Tabela 26: Variações na absorbância máxima* para Pb de acordo com o pH da amostra

pH da amostra	Absorbância máxima
0,5	0,077 ± 0,004
1,0	0,098 ± 0,004
1,5	0,085 ± 0,003
2,0	0,092 ± 0,005
3,0	0,059 ± 0,003
4,0	0,065 ± 0,003
5,0	0,046 ± 0,003
6,0	0,042 ± 0,002

*n = 10

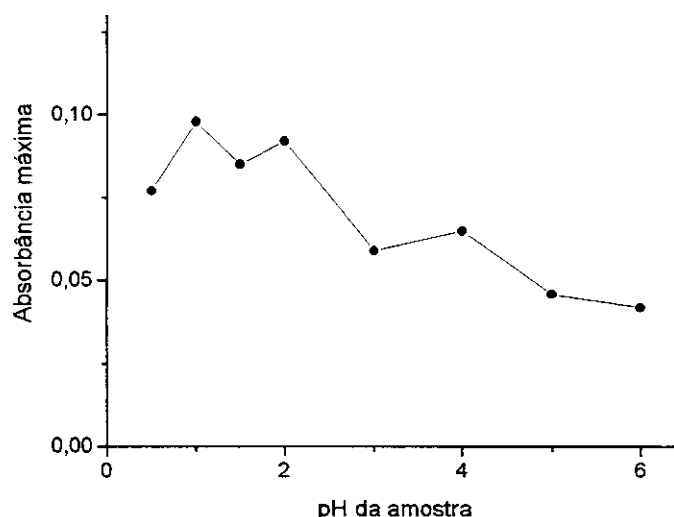


Figura 33: Variação do sinal para Pb em função do pH da amostra

As variações de sinal para Cd e Pb em função da concentração do APDC encontram-se na Tabela 27 e na Figura 34.

As respostas analíticas são pouco influenciadas pela concentração do complexante. Deve-se notar que este comportamento apresenta-se bastante similar ao observado na referência [25], onde foi constatada discreta modificação nas absorbâncias máximas para Cd em um intervalo de concentração do APDC variando de 0,01 a 0,3% (m/v). Para o analito chumbo, foi possível tecer conclusões similares.

Frente a estes resultados, decidiu-se empregar a menor concentração de APDC (0,05%) na condução dos experimentos.

Tabela 27: Variações na absorbância máxima* para Cd e Pb de acordo com a concentração do APDC

Concentração do APDC %(m/v)	Cd	Pb
0,05**	$0,272 \pm 0,02^{***}$	$0,098 \pm 0,004^{***}$
0,1	$0,260 \pm 0,01$	$0,085 \pm 0,003$
0,2	$0,264 \pm 0,01$	$0,086 \pm 0,003$
0,4	$0,264 \pm 0,01$	$0,088 \pm 0,003$

*n = 10. **Concentração do APDC adotada na otimização univariada do pH. ***Valor otimizado em relação ao pH

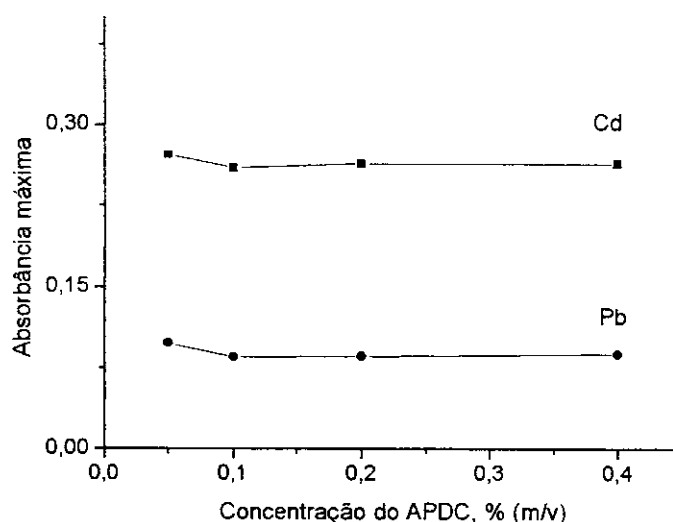


Figura 34: Variação do sinal para Cd e Pb em função da concentração do APDC

Considerando a inércia adsorptiva da fullerita frente a espécies eletricamente carregadas, pode-se prever que possíveis problemas de seletividade serão resolvidos por modificações na fase líquida (contendo os analitos). Uma alternativa consiste em aumentar a concentração do APDC no intuito de compensar a presença de outros cátions. O referido procedimento foi adotado na análise dos materiais certificados de referência, onde foi preciso aumentar a concentração do APDC para 0,2% (m/v) no sentido de contornar a presença de concomitantes tais como Cu, Ni,

Zn, entre outros íons capazes de competir com o Cd e o Pb pelas moléculas do complexante.

Conforme indicado na Tabela 28 e na Figura 35, a inclusão de uma bobina de reação no percurso analítico ocasionou decaimentos em sinal.

Tabela 28: Variações na absorbância máxima* para Cd e Pb de acordo com o comprimento da bobina de reação

Comprimento da bobina (cm)	Cd	Pb
0** (Pb)	$0,500 \pm 0,01$	$0,098 \pm 0,004^{***}$
29	$0,320 \pm 0,02$	$0,070 \pm 0,004$
58	$0,304 \pm 0,02$	$0,064 \pm 0,002$
115	$0,294 \pm 0,01$	$0,063 \pm 0,002$
230** (Cd)	$0,272 \pm 0,02^{***}$	$0,065 \pm 0,002$
455	$0,251 \pm 0,02$	$0,055 \pm 0,003$

*n = 10. ** Comprimento da bobina adotado na otimização univariada do pH e da concentração do APDC. *** Valor otimizado em relação às variáveis antecessoras.

Nota-se que o decréscimo em sinal oriundo do prolongamento da bobina foi menos intenso para o chumbo. Esta constatação não pode ser associada ao efeito de diluição, visto que este se apresenta idêntico para ambos os analitos. Assim, uma explicação plausível reside em fenômenos de adsorção dos complexos Cd-APDC e Pb-APDC sobre as paredes internas dos tubos empregados na condução das soluções, atribuindo-se à espécie Cd-APDC maior susceptibilidade à adsorção. A diminuição das absorbâncias máximas para Cd e Pb indicam que as reações de complexação destes metais com o APDC é instantânea e, portanto, a inclusão de bobinas agem somente no sentido de promover a dispersão e/ou retenção dos analitos ao invés de favorecer a eficiência de complexação. Assim, as bobinas foram retiradas da configuração dos sistemas pré-concentradores (Figuras 29a-b).

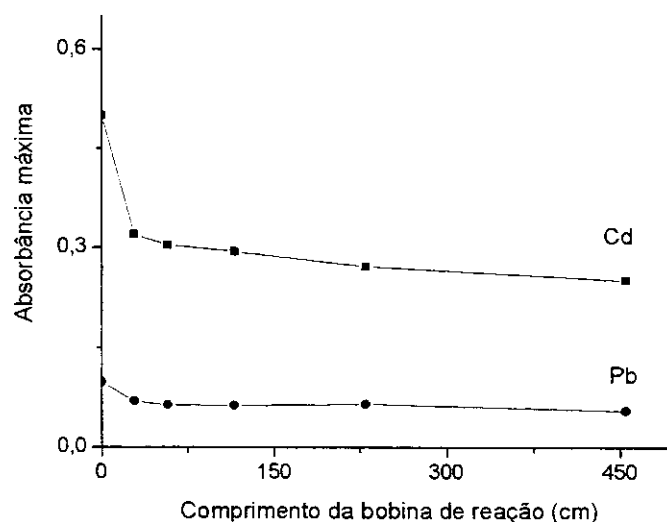


Figura 35: Variação do sinal para Cd e Pb em função do comprimento da bobina de reação

Os efeitos da vazão de pré-concentração sobre as alturas de pico para Cd e Pb encontram-se na Tabela 29 e na Figura 36.

As absorbâncias máximas obtidas na vazão de $3,5 \text{ mL min}^{-1}$ apresentaram redução de 10 e 19% para cádmio e chumbo, respectivamente em relação aos resultados registrados na vazão de $2,0 \text{ mL min}^{-1}$. Provavelmente, a referida queda foi devida à rápida percolação dos complexos Cd-APDC e Pb-APDC através da massa de fullerita, ocasionando problemas no que se refere à cinética de adsorção. Por outro lado, as reduções verificadas em vazões inferiores a $2,0 \text{ mL min}^{-1}$ podem ser atribuídas à perda de eficiência na complexação, já que a velocidade de pré-concentração refere-se ao fluxo de APDC responsável pelo deslocamento do volume de amostra a partir da alça de amostragem (Figuras 29a-b). Deste modo, quanto mais lenta for a retirada da amostra a partir da alça, menores serão as possibilidades de interação entre o APDC e os cátions Cd^{2+} e Pb^{2+} , pois o fenômeno de dispersão das moléculas do complexante no meio contendo os analitos torna-se menos favorecido [40]. Baseando-se nestas observações, a vazão de $2,0 \text{ mL min}^{-1}$ foi escolhida.

Tabela 29: Variações na absorbância máxima* para Cd e Pb de acordo com a vazão de pré-concentração

Vazão de pré-concentração (mL min ⁻¹)	Cd	Pb
0,6	0,401 ± 0,01	0,065 ± 0,003
1,0	0,463 ± 0,01	0,065 ± 0,002
2,0**	0,500 ± 0,01***	0,098 ± 0,004***
3,5	0,452 ± 0,02	0,079 ± 0,003

* $n = 10$. **Vazão de pré-concentração adotada na otimização univariada do pH, concentração do APDC e comprimento da bobina. ***Valor otimizado em relação às variáveis antecessoras.

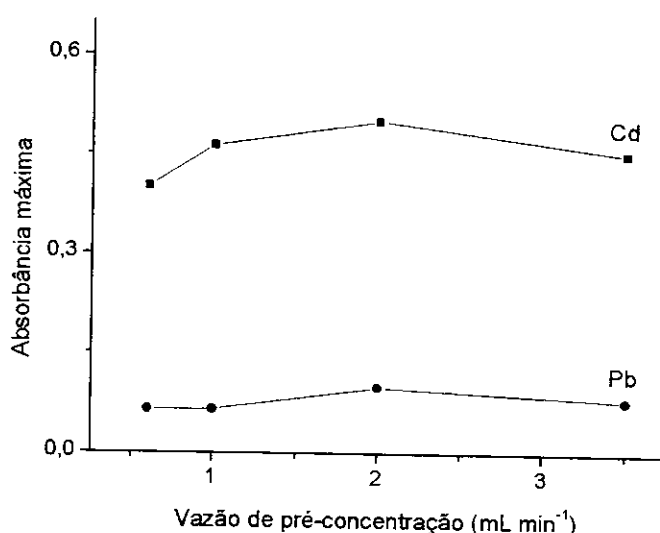


Figura 36: Variação do sinal para Cd e Pb em função da vazão de pré-concentração

As vazões de eluição exibiram influência bastante discreta para Cd conforme indicado na Tabela 30 e na Figura 37, ao passo que, para Pb, foram identificadas reduções em sinal de até 30% ao se passar da vazão de 0,9 para 0,4 mL min⁻¹. Provavelmente, a absorção do chumbo é influenciada pela intensidade de formação do spray que é maior na vazão de 0,9 mL min⁻¹. Além da geração de sinais mais acentuados, a utilização da vazão de 0,9 mL min⁻¹ foi fixada em virtude do menor tempo de registro dos sinais, proporcionando maior frequência analítica. Conforme mencionado na seção 4.2 (página 105), níveis superiores de vazão de eluição não

foram testados no intuito de evitar perdas de amostra pelas extremidades abertas do tubo de níquel.

Tabela 30: Variações na absorbância máxima* para Cd e Pb de acordo com a vazão de eluição

Vazão de eluição (mL min ⁻¹)	Cd	Pb
0,4	0,495 ± 0,005	0,069 ± 0,002
0,6	0,488 ± 0,009	0,076 ± 0,003
0,9**	0,500 ± 0,007***	0,098 ± 0,004***

*n = 10. **Vazão de eluição adotada na otimização univariada do pH, concentração do APDC, comprimento da bobina e vazão de pré-concentração. ***Valor otimizado em relação às variáveis antecessoras.

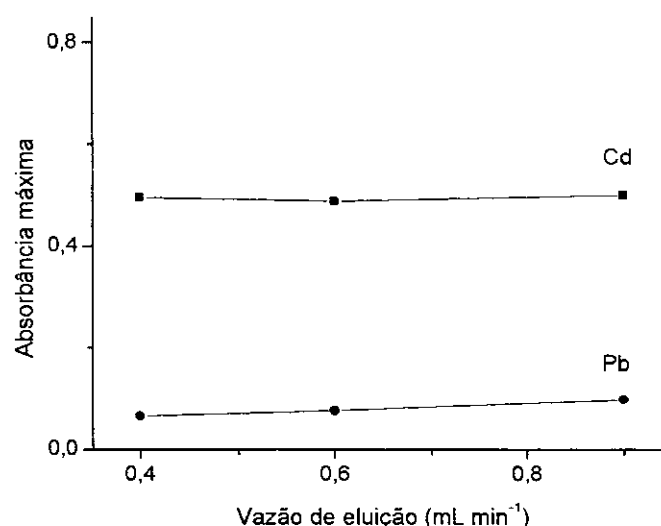


Figura 37: Variação do sinal para Cd e Pb em função da vazão de eluição

O aumento da massa da fullerita de 20 para 40 mg proporcionou acréscimos de 44% no sinal do Cd em termos da absorbância máxima (de $0,500 \pm 0,007$ para $0,721 \pm 0,03$). Devido a esta constatação experimental, adotou-se também a massa de fullerita de 40 mg para a pré-concentração do Pb na forma de Pb-APDC. Maiores massas de adsorvente não foram usadas por dois motivos principais:

- Os acréscimos de sinal não foram proporcionais, uma vez que foi preciso duplicar a quantidade de fullerita para que um aumento em absorbância máxima de 44% fosse observado. Desta forma, é razoável considerar ganhos em resposta cada vez menos efetivos à medida que for aumentada a massa do adsorvente.
- A elevação excessiva da massa de fullerita ocasiona problemas associados à retenção pronunciada dos analitos ao longo da coluna. Isso pode prejudicar a eluição e aumentar o tempo de registro dos sinais.

Nas condições otimizadas, picos como os das Figuras 38 e 39 foram obtidos para Cd e Pb, respectivamente.

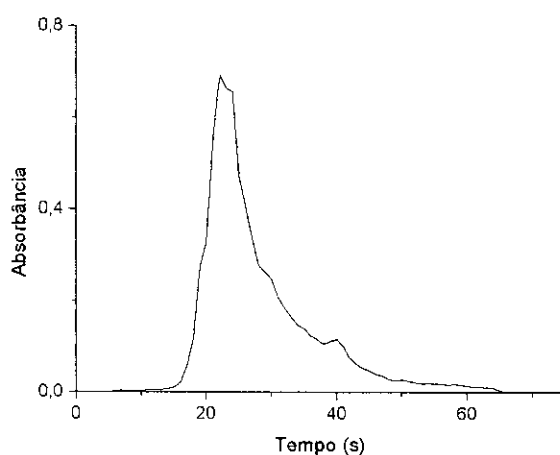


Figura 38: Perfil de sinal para Cd nas condições otimizadas

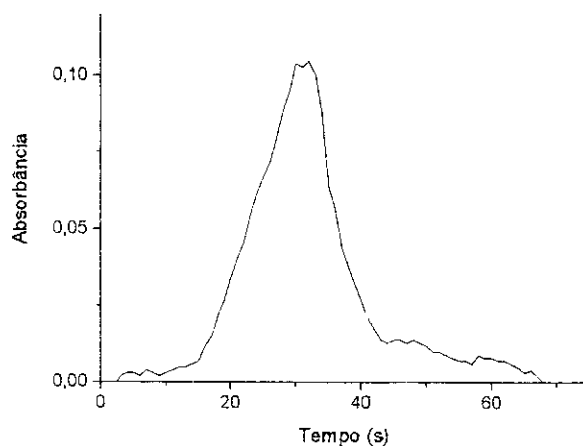


Figura 39: Perfil de sinal para Pb nas condições otimizadas

4.4. Avaliação do desempenho analítico

4.4.1. Faixa linear, cálculo dos fatores de pré-concentração, limites de detecção (LD) e quantificação (LQ) e precisão

A Figura 40 ilustra a faixa linear dos métodos desenvolvidos para a determinação de Cd e Pb empregando a fullerita como material pré-concentrador.

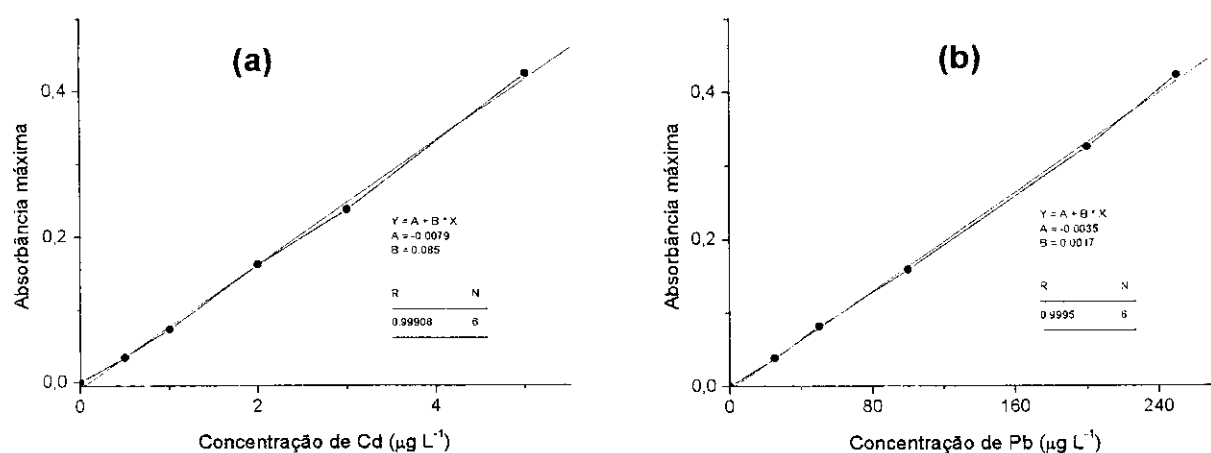


Figura 40: Faixa linear das metodologias de determinação de Cd (a) e Pb (b)

Deve-se ressaltar que, para ambos os analitos, a faixa linear poderia ter sido expandida. No entanto, pelas potencialidades de detecção oferecidas pelo acoplamento da TS-FF-AAS a um sistema pré-concentrador, torna-se desnecessário construir curvas com intervalos de concentrações mais amplos.

Como no capítulo anterior, o cálculo dos fatores de pré-concentração foi efetuado pela divisão dos coeficientes angulares das curvas obtidas com e sem pré-concentração. Os resultados destes testes estão indicados na Figura 41.

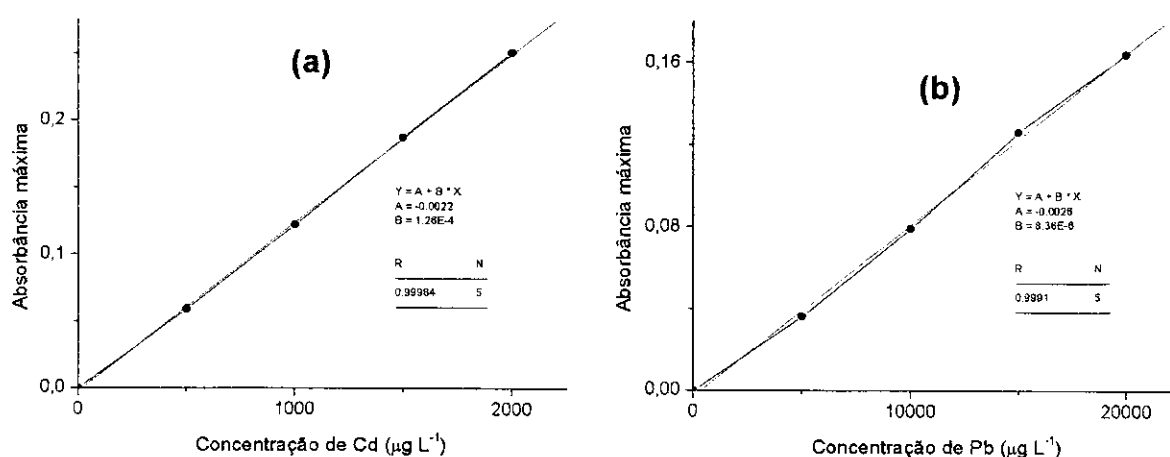


Figura 41: Faixa linear obtida sem a etapa de pré-concentração: (a) Cd e (b) Pb

Fatores de pré-concentração de 675 e 201 para Cd e Pb, respectivamente, foram calculados em relação à FAAS convencional. Quando somente a TS-FF-AAS é usada como comparação, observaram-se fatores de pré-concentração de 11 para Cd e de 5 para Pb. Estes últimos ganhos, mesmo que discretos, reforçam o uso da fullerita como pré-concentrador em vista do aumento das potencialidades da TS-FF-AAS, uma técnica naturalmente sensível e ainda pouco explorada.

Os limites de detecção e de quantificação foram estimados de acordo com as recomendações contidas no capítulo 1 (página 28), oferecendo os seguintes resultados: LDs de 0,1 e 2,4 $\mu\text{g L}^{-1}$ para cádmio e chumbo, respectivamente e LQs de 0,4 $\mu\text{g L}^{-1}$ (Cd) e 8,0 $\mu\text{g L}^{-1}$ (Pb). Após 10 análises de soluções contendo Cd a 10 $\mu\text{g L}^{-1}$ ou Pb a 50 $\mu\text{g L}^{-1}$, os métodos propostos exibiram valores de desvio padrão relativo < 5% para ambos os metais, expressando precisões aceitáveis.

4.4.2. Testes de exatidão

As Tabelas 31 e 32 contêm os dados referentes aos testes de exatidão das metodologias de determinação de Cd e Pb.

Tabela 31: Dados referentes aos testes de exatidão (n=5) das metodologias de determinação de Cd e Pb pelo uso de amostras água (sem adição de analito)

Amostra de água	Cd		Pb	
	Método proposto ($\mu\text{g L}^{-1}$)	GFAAS ($\mu\text{g L}^{-1}$)	Método proposto ($\mu\text{g L}^{-1}$)	GFAAS ($\mu\text{g L}^{-1}$)
Água mineral* (1)	$2,4 \pm 0,1$	$2,2 \pm 0,2$	$78 \pm 2,7$	$72 \pm 2,1$
			$135 \pm 5,2$	$140 \pm 3,8$
Água mineral* (2)	$2,3 \pm 0,1$	$2,4 \pm 0,2$	$69 \pm 2,6$	$65 \pm 1,7$
			$132 \pm 5,5$	$129 \pm 3,9$
Água mineral* (3)	$2,4 \pm 0,2$	$2,3 \pm 0,2$	$74 \pm 4,2$	$69 \pm 3,6$
			$138 \pm 3,3$	$142 \pm 2,6$
Água de torneira*	$2,5 \pm 0,2$	$2,3 \pm 0,2$	$72 \pm 2,9$	$67 \pm 1,8$
			$135 \pm 2,1$	$133 \pm 1,3$
Água de bebedouro**	$0,54 \pm 0,04$	$0,60 \pm 0,06$	-----	

*Amostras fortificadas **Amostra contendo Cd naturalmente

Tabela 32: Dados referentes aos testes de exatidão* das metodologias de determinação de Cd e Pb pelo emprego de materiais certificados de referência

Material certificado de referência**	Cd		Pb	
	Método proposto ($\mu\text{g kg}^{-1}$)	Valor certificado ($\mu\text{g kg}^{-1}$)	Método proposto ($\mu\text{g kg}^{-1}$)	Valor certificado ($\mu\text{g kg}^{-1}$)
Rim de porco (CRM186)	2537 ± 89	2710 ± 150	-----	-----
Gramínea de centeio (CRM281)	-----	-----	2421 ± 55	2380 ± 110

*n=3 **Sem adição de analito e com concentração do APDC igual a 0,2% (m/v)

Todas as amostras de água fortificadas contidas na Tabela 31 apresentaram concentrações naturais de Cd e Pb menores que $0,1$ e $0,2 \mu\text{g L}^{-1}$, respectivamente (limites de quantificação da GFAAS).

Pela aplicação do teste *t*, foram identificadas igualdades estatísticas entre as médias de concentrações de Cd e Pb fornecidas pelos métodos propostos e aquelas oferecidas pela GFAAS (técnica de referência) ao nível de 5% de probabilidade para a maioria dos casos. Conclusões similares foram observadas para os testes de exatidão efetuados com amostras certificadas de referência (Tabela 32).

5. CONCLUSÕES

As condições experimentais e as características analíticas otimizadas para as metodologias de determinação de Cd e Pb usando o acoplamento da TS-FF-AAS a um sistema pré-concentrador contendo a fullerita encontram-se sumarizadas na Tabela 33.

Tabela 33: Características estabelecidas nas etapas de otimização e avaliação das metodologias de determinação de Cd e Pb empregando a fullerita como adsorvente

Característica	Cd	Pb
LD ($\mu\text{g L}^{-1}$)	0,1	2,4
LQ ($\mu\text{g L}^{-1}$)	0,4	8,0
Faixa linear ($\mu\text{g L}^{-1}$)	0,4 - 5,0	8,0 - 250
Fator de pré-concentração	675* e 11**	201* e 5**
Volume de amostra (mL)	1,5	1,5
Frequência analítica (h^{-1})	24	24
pH da amostra	2,0	1,0

*Referente à FAAS convencional **Referente à TS-FF-AAS sem a etapa de pré-concentração

As características contidas na Tabela 33 apresentam-se bem adequadas a propostas de análise de rotina, principalmente em função do reduzido consumo de amostra e reagentes e à frequência analítica de 24 determinações por hora. Adicionalmente, a possibilidade de analisar amostras ácidas expande em muito a aplicabilidade dos métodos desenvolvidos. Deve-se também enfatizar que os testes de exatidão foram satisfatórios para uma grande variedade de amostras: águas, materiais de origem vegetal e animal.

Os baixos limites de quantificação para Cd e Pb indicam um poder de detecção comparável ao de técnicas consagradas como a GFAAS, porém, com um custo operacional bem mais acessível.

Ao contrário dos adsorventes humificados, a fullerita não foi submetida aos testes de estabilidade e seletividade. A exclusão do teste de estabilidade justifica-se pela existência na literatura [41] de informações atestando a inércia dos fulerenos frente a 47 tipos de solventes, incluindo o etanol empregado nesta tese. Os testes de seletividade também não foram efetuados devido a informações contidas nas referências [23] e [25] sobre o comportamento adsorativo do Pb e Cd, respectivamente, em compostos da família dos fulerenos na presença de diversos concomitantes. Assim, estudos empregando soluções binárias foram descartados e, ao invés disso, os aspectos de seletividade foram avaliados diretamente nas próprias matrizes analisadas (águas, tecidos animal e vegetal).

6. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- [1] Suchanek, WL, Libera, JL, Gogotsi, Y, Yoshimura, M. Behavior of C₆₀ under hydrothermal conditions: transformation to amorphous carbon and formation of carbon nanotubes. *J. Solid State Chem.* 2001; 160(1): 184-188.
- [2] Láská, L, Krása, J, Juha, L, Hamplová, V, Soukup, L. Fullerene production driven by long-pulses of near-infrared laser radiation. *Carbon* 1996; 34(3): 363-368.
- [3] Wang, C, Imahori, T, Tanaka, Y, Sakuta, T, Takikawa, H, Matsuo, H. Synthesis of fullerenes from carbon powder by using high power induction thermal power. *Thin Solid Films* 2001; 390(1-2): 31-36.
- [4] Weiss, FD, Elkind, JL, Obrien, SC, Curl, RF, Smalley, RE. Photophysics of metal-complexes of spheroidal carbon shells. *J. Am. Chem. Soc.* 1988; 110(13): 4464-4465.
- [5] Baena, JR, Gallego, M, Valcárcel, M. Fullerenes in the analytical sciences. *Trends Anal. Chem.* 2002; 21(3): 187-198.
- [6] Skoog, DA, West, DM, Holler, FJ. *Fundamentals of Analytical Chemistry*, 7th edition. Saunders College Publishing, Philadelphia, 1996, 870p.
- [7] Monti, D, Moretti, L, Salvioli, S, Straface, E, Malorni, W, Pellicciari, R, Schettini, G, Bisaglia, M, Pincelli, C, Fumelli, C, Bonafè, M, Franceschi, C. C₆₀ carboxyfullerene

exerts a protective activity against oxidative stress-induced apoptosis in human peripheral blood mononuclear cells. *Biochem. Bioph. Res. Co.* 2000; 277(3): 711-717.

[8] Innocenzi, P, Brusatin, G. Fullerene-based organic-inorganic nanocomposites and their applications. *Chem. Mater.* 2001; 13(10): 3126-3139.

[9] Wolff, DJ, Papoiu, ADP, Mialkowsky, K, Richardson, CF, Schuster, DI, Wilson, SR. Inhibition of nitric oxide synthase isoforms by tris-malonyl-C₆₀-fullerene adducts. *Arch. Biochem. Biophys.* 2000; 378(2): 216-223.

[10] Wolff, DJ, Barbieri, CM, Richardson, CF, Schuster, DI, Wilson, SR. Trisamine C₆₀-fullerene adducts inhibit neural nitric oxide synthase by acting as highly potent calmodulin antagonists. *Arch. Biochem. Biophys.* 2002; 399(2): 130-141.

[11] Tsuchiya, T, Ymakoshi, YN, Miyata, N. A novel promoting action of fullerene C₆₀ on the chondrogenesis in rat embryonic limb bud cell culture system. *Biochem. Bioph. Res. Co.* 1995; 206(3): 885-894.

[12] Mashino, T, Okuda, K, Hirota, T, Hirobe, M, Nagano, T, Mochizuki, M. Inhibition of *E. coli* growth by fullerene derivatives and inhibition mechanism. *Bioorg. Med. Chem. Lett.* 1999; 9(2): 2959-2962.

[13] Chao Y, Shih, J. Adsorption study of organic molecules on fullerene with piezoelectric crystal detection system. *Anal. Chim. Acta*, 1998; 74(1): 39-46.

[14] Hirsch, A. Aspects of organic chemistry of fullerenes. *J. Phys. Chem. Solids* 1997; 58(11): 1729-1740.

[15] Margadonna, S, Brown, CM, Lappas, A, Prassides, K, Tanigaki, K, Knudsen, KD, Bihan, T, Mézouar, M. Pressure and temperature evolution of the structure of the superconducting Na₂CsC₆₀ fulleride. *J. Solid State Chem.* 1999; 145(2): 471-478.

[16] Forley, S, Crowley, C, Smaih, M, Bonfils, C, Erlanger, BF, Seta, P, Larroque, C. Cellular localisation of a water-soluble fullerene derivative. *Biochem. Bioph. Res. Co.* 2002; 294(1): 116-119.

[17] Huang, HM, Ou, HC, Hsieh, SJ, Chiang, LY. Blockage of Amyloid β peptide-induced cytosolic free calcium by fullerenol-1, carboxylate C₆₀ in PC12 cells. *Life Sci.* 2000; 66(16): 1525-1533.

[18] Bisaglia, M, Natalini, B, Pellicciari, R, Straface, E, Malorni, W, Monti, D, Francheschi, C, Schettini, G. C-3-fullero-tris-methanodicarboxylic acids protects cerebellar granule cells from apoptosis. *J. Neurochem.* 2000; 74(3): 1197-1204.

[19] Huang Y, Zhao, Y, Gan, L, Huang C, Wu, N. Langmuir-blodgett film formation of a fullerene dicarboxylic acid derivative C₆₀(HOOCCHNHCHCOOH) and its photocurrent generation. *J. Colloid Interf. Sci.* 1998; 204(2): 277-283.

- [20] Coq, B, Brotons, V, Planeix, JM, Ménorval, LC, Dutrarte, R. Platinum supported on [60]fullerene-grafted silica as new potential catalyst for hydrogenation. *J. Cat.* 1998; 176(2): 358-364.
- [21] Guldi, DM. Fullerenes: three dimensional electron acceptor materials. *Chem. Comm.* 2000; 5: 321327.
- [22] Jinno, K, Yamamoto, K, Fetzer, JP. C₆₀ as a stationary phase for microcolumn liquid-chromatographic separation of polycyclic aromatic-hydrocarbons. *J. Microcolumn Sep.* 1992; 4(3): 187-190.
- [23] Gallego, M, Peña, YP, Valcárcel, M. Fullerenes as adsorbent materials for metal preconcentration. *Anal. Chem.* 1994; 66(22): 4074-4078.
- [24] Peña, YP, Gallego, M, Valcárcel, M. Preconcentration of copper traces on C₆₀-C₇₀ fullerenes by formation of ion-pairs and chelates. *Anal. Chem.* 1995; 67(15): 2524-2529.
- [25] Peña, YP, Gallego, M, Valcárcel, M. Fullerene: a sensitive and selective sorbent for the continuous preconcentration and atomic absorption determination of cadmium. *J. Anal. Atom. Spectrom.* 1997; 12(4): 453-457.
- [26] Silva, MM, Arruda, MAZ, Krug, FJ, Oliveira, PV, Queiroz, ZF, Gallego, M, Valcárcel, M. On-line separation and preconcentration of cadmium, lead and nickel in a fullerene (C₆₀) minicolumn coupled to flow injection tungsten coil atomic absorption spectrometry. *Anal. Chim. Acta* 1998; 368(3): 255-263.
- [27] González, MM, Gallego, M, Valcárcel, M. Effectiveness of fullerene as a sorbent for the determination of trace amounts of cobalt in wheat flour by electrothermal atomic absorption spectrometry. *J. Anal. Atom. Spectrom.* 1999; 14(4): 711-716
- [28] Salido, A, Sanford, CL, Jones, BT. Determination of lead in blood by chelation with ammonium pyrrolidine dithio-carbamate followed by tungsten-coil atomic absorption spectrometry. *Spectrochim. Acta* 1999; 54B(8): 1167-1176.
- [29] Munksgaard, NC, Parry, DL. Trace metals, arsenic and lead isotopes in dissolved and particulate phases of North Australian coastal and estuarine seawater. *Mar. Chem.* 2001; 75(3): 165-184.
- [30] Hiraide, M, Iwasawa, J, Kawaguchi, H. Collection of trace heavy metals complexed with ammonium pyrrolidinedithiocarbamate on surfactant-coated alumina sorbents. *Talanta* 1997; 44(2): 231-237.
- [31] Garbos, S, Rzepcka, M, Bulska, E, Hulanicki, A. Microcolumn sorption of antimony(III) chelate for antimony speciation studies. *Spectrochim. Acta* 1999; 54B(5): 873-881.

- [32] Xu, ZR, Pan, HY, Xu, SK, Fang, ZL. A sequential injection on-line column preconcentration system for determination of cadmium by electrothermal atomic absorption spectrometry. *Spectrochim. Acta* 2000; 55(B): 213-219.
- [33] Welz, B. *Atomic Absorption Spectrometry*, 2nd edition. Wiley-VCH, Weinheim, 1985, 506p.
- [34] Matusiewicz, H. Atom trapping and *in situ* preconcentration techniques for flame atomic absorption spectrometry. *Spectrochim. Acta* 1997; 52(12): 1711-1736.
- [35] Gáspár, A, Berndt, H. 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. *Spectrochim. Acta* 2000; 55B(6): 587-597.
- [36] Gáspár, A, Berndt, H. Beam injection flame furnace atomic absorption spectrometry: a new flame method. *Anal. Chem.* 2000; 72(1): 240-246.
- [37] Pereira-Filho, ER, Berndt, H, Arruda, MAZ. Simultaneous sample digestion and determination of Cd, Cu and Pb in biological samples using thermospray flame furnace atomic absorption spectrometry (TS-FF-AAS) with slurry sample introduction. *J. Anal. Atom. Spectrom.* 2002; 17(10): 1308-1315.
- [38] Davies, J, Berndt, H. Improvements in thermospray flame furnace atomic absorption spectrometry. *Anal. Chim. Acta* 2003; 479(2): 215-223.
- [39] Marczenko, Z, Balcerzak, M. *Separation, preconcentration and spectrophotometry in inorganic analysis*. In: Analytical Spectroscopy Library 10. Elsevier, Amsterdam, 2000, 521p.
- [40] Ruzicka, J, Hansen, EH. *Flow Injection Analysis*, 2nd edition. John Wiley & Sons., New York, 1988, 499p.
- [41] Ruoff, RS, Tse, DS, Malhotra, R, Lorents, DC. Solubility of C_{60} in a variety of solvents. *J. Phys. Chem.* 1993; 97(13): 3379-3383.

CONCLUSÕES GERAIS

Os trabalhos desenvolvidos na presente tese demonstraram a eficiência de seis metodologias destinadas à determinação de Cd e Pb, analitos geralmente encontrados em reduzidas concentrações e em uma grande variedade de amostras.

No tocante à FAAS convencional, o uso do vermicomposto e ácido húmico abriu novas possibilidades em termos da utilização de adsorventes naturais de fácil aquisição e de custos irrisórios (vermicomposto), sendo a eficiência dos mesmos comprovada pela análise de diversas amostras: águas, fármaco, alimento, tecidos vegetais e animais. As limitações em termos da seletividade destes adsorventes podem, como demonstrado, ser convenientemente contornadas por procedimentos comuns como a adição de analito.

O acoplamento de sistemas pré-concentradores contendo a fullerita como adsorvente à TS-FF-AAS forneceu métodos muito sensíveis aptos a serem empregados em laboratórios de rotina visando à quantificação de cádmio e chumbo em amostras de água e materiais biológicos. Uma característica notável do referido acoplamento consiste nos reduzidos custos de montagem e operação e no satisfatório desempenho analítico comparável à espectrometria de absorção atômica com forno de grafite.

A escolha de uma das metodologias propostas será ditada pela concentração dos analitos, composição da matriz, disponibilidade de amostra e rotina de trabalho de um determinado laboratório.

Os métodos empregando os adsorventes naturais são recomendados, por exemplo, para a análise de amostras com ofertas de volume suficientes para o consumo de algumas dezenas de mililitros. A disponibilidade de amostra é muito interessante para compensar possíveis perdas em sensibilidade, visto que fatores de pré-concentração bastante elevados podem ser obtidos se volumes adequados de solução forem analisados. Entretanto, um compromisso entre o ganho em sensibilidade e os aspectos referentes aos custos de análise (aqui representados principalmente pelo gasto de acetileno) e à frequência analítica deve ser considerado. Amostras com valores de pH naturalmente próximos da neutralidade

são mais acessíveis no que diz respeito aos menores riscos de contaminação e/ou perda dos analitos, uma vez que a neutralização das amostras não será requerida. Se um grande número de análises for exigido em um curto período de tempo, o procedimento de adição de analito pode limitar os métodos que empregam vermicomposto e ácido húmico.

As metodologias de quantificação de Cd e Pb tendo a TS-FF-AAS como técnica de detecção são recomendadas para a análise de matrizes mais complexas em virtude da maior tolerância aos concomitantes. Ainda, a notável sensibilidade dos referidos métodos os capacita para a análise de amostras naturalmente diluídas em relação aos metais cádmio e chumbo.

Finalmente, pode-se concluir que esta tese contribuiu de forma satisfatória para o estabelecimento de novas alternativas no sentido de ampliar as potencialidades da espectrometria de absorção atômica, destacando-se o pioneirismo do emprego de materiais pré-concentradores humificados até então utilizados somente em propostas agrícolas e de tratamento de descartes aquosos.