



**UNIVERSIDADE FEDERAL DA PARAÍBA
CENTRO DE CIÊNCIAS EXATAS E DA NATUREZA
DEPARTAMENTO DE QUÍMICA
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM QUÍMICA**

TESE DE DOUTORADO

**Um método automático para extração em fase sólida
magnética de Cd e Pb em águas e de Cd em óleo
comestível e detecção por GF AAS**

Inakã Silva Barreto

João Pessoa - PB - Brasil

Maio de 2016



UNIVERSIDADE FEDERAL DA PARAÍBA
CENTRO DE CIÊNCIAS EXATAS E DA NATUREZA
DEPARTAMENTO DE QUÍMICA
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM QUÍMICA



TESE DE DOUTORADO

**Um método automático para extração em fase sólida
magnética de Cd e Pb em águas e de Cd em óleo
comestível e detecção por GF AAS**

Inakã Silva Barreto*

Tese de doutorado apresentada ao Programa de Pós-Graduação em Química da Universidade Federal da Paraíba como parte dos requisitos exigidos para obtenção do título de Doutor em Química, área de concentração Química Analítica.

Orientador: Prof. Dr. Luciano Farias de Almeida

* Bolsista CAPES

João Pessoa - PB - Brasil

Maio de 2016

B273u Barreto, Inakã Silva.

Um método automático para extração em fase sólida magnética de Cd e Pb em águas e de Cd em óleo comestível e detecção por GF AAS / Inakã Silva Barreto.- João Pessoa, 2016.

114f.

Orientador: Luciano Farias de Almeida

Tese (Doutorado) - UFPB/CCEN

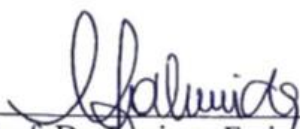
1. Química analítica. 2. Amostras *on-line* - preparo. 3. Determinação de metais. 4. Extração em fase sólida magnética. 5. Sistema em fluxo-batelada. 6. Espectrometria - absorção atômica - forno de grafite.

UFPB/BC

CDU: 543(043)

Um método automático para extração em fase sólida magnética de Cd e Pb em águas e de Cd em óleo comestível e detecção por GF AAS.

Tese de Doutorado apresentada pelo aluno Inakã Silva Barreto e aprovada pela banca examinadora em 25 de maio de 2016.



Prof. Dr. Luciano Farias de Almeida
Orientador/Presidente



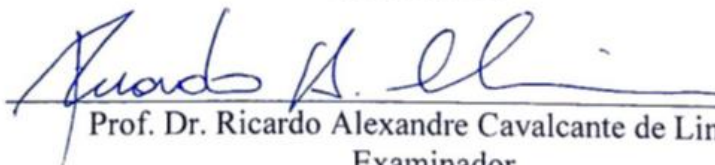
Prof. Dr. Sérgio Ricardo Bezerra dos Santos
Examinador



Profa. Dra. Amália Geiza Gama Pessoa
Examinadora



Profa. Dra. Ilda Antonieta Salata Toscano
Examinadora



Prof. Dr. Ricardo Alexandre Cavalcante de Lima
Examinador

Dedicatória

Àquele que não tem nem ideia do que é o mundo,
mas já norteia os meus passos e os meus pensamentos.

Ao meu filho eu dedico.

Agradecimentos

O curso de doutorado é uma trilha longa e árdua, sendo fundamental o apoio direto e indireto de muitas pessoas para se chegar ao fim. Dessa forma, aproveito este espaço para agradecer a todos que colaboraram para essa conquista, seja com o seu conhecimento, incentivo, compreensão ou crítica. Em especial agradeço:

À minha família, sobretudo aos meus pais por tudo que me proporcionaram. Se hoje estou aqui é devido a dedicação, entusiasmo, apoio, amor e carinho que deles emergiram.

À minha esposa, que sempre esteve ao meu lado, incentivando e me fazendo acreditar que a realização desse sonho era possível. Por sua compreensão perante as minhas ausências ou os meus momentos de reclusão, principalmente nesse último ano, meu muito obrigado.

Aos meus grandes companheiros de pesquisa Marcelo Batista e Stéfani Iury. Com eles tive a oportunidade de aprender conhecimentos (de bancada) preciosos e discutir abertamente sobre assuntos de profunda relevância para a minha vida acadêmica e profissional.

A Sófacles Figueiredo, Dayvison Ribeiro e Francisco Cunha pelo companheirismo e pelas constantes contribuições científicas.

Aos membros do LCCQS, LACOM e LSR por todos os empréstimos de vidrarias e reagentes, além da disponibilização de equipamentos indispensáveis para a obtenção dos resultados aqui comentados. Em especial à colaboração de Arnayra Silva, Laís Chantelle, Israel Ferreira, Gilvan Pires, João Batista, Geórgia Batista e Jacqueline Bueno.

Aos professores Luciano Farias e Mário Ugolino, por terem me acolhido no LAQA desde o mestrado e me guiado no mundo da pós durante todos esses anos.

Aos professores, membros da banca, Ilda Toscano, Ricardo Alexandre, Amália Pessoa e Sérgio Ricardo pelas inestimáveis contribuições para o aperfeiçoamento e finalização da presente tese.

Aos demais membros do LAQA, pela amizade e bons momentos.

Estendo ainda meus agradecimentos a PPGQ, à UFPB e à CAPES pelas bolsas concedidas durante o mestrado e o primeiro ano do doutorado.

E por fim, mas não necessariamente nesta ordem, gostaria de agradecer a Deus, não por este trabalho, mas por ter proporcionado de uma forma ou de outra que as pessoas, acima citadas, fizessem parte da minha vida.

Resumo

Na última década, a extração em fase sólida magnética (MSPE) tem sido alvo de intenso estudo na Química Analítica, principalmente em virtude do seu potencial de aplicação no preparo de amostras. Recentemente, tendo como motivação o desenvolvimento de métodos analíticos automáticos, essa técnica vem sendo combinada aos sistemas em fluxo. Contudo, a integração sinérgica da MSPE com esses sistemas ainda é um desafio, principalmente quando envolve a manipulação de matrizes viscosas. Nessa perspectiva, a presente tese propõe o desenvolvimento de um eficiente método automático para realização da MSPE em matrizes aquosas e oleosas. Para serem aplicadas como adsorvente magnético foram sintetizadas nanopartículas de Fe_3O_4 revestidas com alumina e funcionalizadas com dodecil sulfato de sódio (SDS) e 1-(2-piridilazo)-2-naftol (PAN). As nanopartículas foram caracterizadas através da análise de difratometria de raios-X e da microscopia eletrônica de varredura, onde confirmou-se que o método empregado para obtenção das partículas foi adequado. Num segundo momento, o sistema automático para executar a MSPE foi desenvolvido. Para isso, uma câmara de extração foi confeccionada em Teflon, com uma janela de quartzo na lateral, onde todos os passos da MSPE foram realizados sem a necessidade de qualquer aparato auxiliar para imobilizar o adsorvente. Para geração do campo magnético, na câmara de extração, um dispositivo robótico foi desenvolvido. Depois de estabelecida essas etapas, a aplicabilidade do método foi demonstrada na extração e preconcentração de Cd e Pb em amostras de água de abastecimento e de Cd em óleos comestíveis, empregando como detecção a espectrometria de absorção atômica em forno de grafite. Fatores que afetam a MSPE, tais como o pH, a quantidade de adsorvente, o tipo e a concentração do eluente e o tempo de eluição foram estudados. Nas melhores condições experimentais, para a amostra água, o limite de detecção foi 0,004 e 0,043 $\mu\text{g L}^{-1}$ para o Cd e o Pb, respectivamente. Ainda nessa matriz, desvios padrão relativos menores que 3,5 % foram alcançados com um fator de enriquecimento de 15 vezes para ambos os analitos. No caso da determinação de Cd em óleos comestíveis, limite de detecção (0,006 $\mu\text{g L}^{-1}$) e desvio padrão relativo (< 3,3 %) satisfatório foi obtido com um fator de enriquecimento de 9 vezes. Os estudos de interferentes foram realizados com êxito para as duas determinações, não revelando interferência percentual significativa nas determinações. O método automático desenvolvido é simples e robusto, uma vez que não requer a imobilização do adsorvente, e foi aplicado com sucesso na determinação de Cd e Pb em amostras de água de abastecimento e de Cd em óleos comestíveis.

Palavras-chave: Preparo de amostras *on-line*; Determinação de metais; Extração em fase sólida magnética; Sistema em fluxo-batelada; Espectrometria de absorção atômica em forno de grafite.

Abstract

In the last decade, the extraction magnetic solid phase (MSPE) has been intense study target in Analytical Chemistry, mainly because of its potential application in sample preparation. Recently, with the development motivation automatic analytical methods, this technique has been combined with flow systems. However, the synergistic integration of MSPE with these systems is still a challenge, especially when it involves the handling of viscous matrices. In this perspective, this thesis proposes the development of an effective automated method to perform the MSPE in aqueous and oily matrices. For be applied as magnetic adsorbent nanoparticles of Fe_3O_4 coated with alumina and functionalized with sodium dodecyl sulfate (SDS) and 1-(2-pyridylazo)-2-naphthol (PAN) were synthesized. The nanoparticles were characterized by diffraction analysis X-ray and scanning electron microscopy, where it was confirmed that the method used to obtain the particles was adequate. Secondly, the automatic system to run the MSPE was developed. To this end an extraction chamber was made of Teflon with a quartz window on the side, where all steps of MSPE was performed without the need for any auxiliary apparatus for immobilizing the adsorbent. For generating the magnetic field in the extraction chamber, a robotic device has been developed. After these steps, the applicability of the method was demonstrated in the extraction and preconcentration of Cd and Pb in drinking water samples and Cd in edible oils, using as detection atomic absorption spectrometry graphite furnace. Factors affecting MSPE, such as pH, the amount of adsorbent, the type and concentration of the eluent and the elution time were studied. In the best experimental conditions to the sample water, the detection limit was 0.004, and 0.043 $\mu\text{g L}^{-1}$ for Cd and Pb, respectively. Even in this array, relative standard deviations less than 3.5% were achieved with a 15-fold enrichment factor for both analytes. In the case of determination of Cd in edible oils, detection limit (0.006 $\mu\text{g L}^{-1}$) and standard deviation ($< 3.3\%$) was obtained satisfactorily with a 9-fold enrichment factor. Interfering studies have been performed successfully for the two determinations, not revealing significant percentage interference in determinations. The developed automatic method is simple and robust since it does not require immobilization of the adsorbent, and was successfully applied in the determination of Cd and Pb in drinking water samples and Cd in edible oils.

Keywords: Sample preparation on-line; Determination of metals; Magnetic solid phase extraction; Flow-batch system; Graphite furnace atomic absorption spectrometry.

Lista de figuras

- Figura 2.1. Procedimento da microextração líquido-líquido dispersiva. Adaptada da ref. (CALDAS *et al.*, 2011). 22
- Figura 2.2. Comparação do tamanho dos nanomateriais com outros materiais comuns. Adaptada da ref. (PANNEERSELVAM e CHOI, 2014). 23
- Figura 2.3. Principais rotas de síntese de nanopartículas magnéticas. Adaptada da ref. (MAHMOUDI *et al.*, 2011). 24
- Figura 2.4. Ilustração de tipos de nanoestruturas. Núcleo (caroço) de magnetita sem revestimento e núcleo de magnetita com revestimento (casca). 26
- Figura 2.5. Representação esquemática do procedimento da extração em fase sólida magnética. Adaptada da ref. (GIAKISIKLI *et al.*, 2013). 27
- Figura 2.6. Tipos de revestimento do núcleo das partículas magnéticas. Adaptada da ref. (GIAKISIKLI e ANTHEMIDIS, 2013). 28
- Figura 2.7. Modelo sugerido de interação entre o SDS-PAN na superfície da alumina. Adaptada ref. (EZODDIN *et al.*, 2010). 31
- Figura 2.8. Esquema representando a linha do tempo para os principais analisadores automáticos em fluxo desenvolvidos ao longo das décadas. 33
- Figura 2.9. Diagrama esquemático de um sistema de análise em fluxo simples. Exemplos de (a) sistemas para propulsão dos fluidos, (b) sistemas de injeção, (c) sistemas de mistura e (d) detectores. 34
- Figura 2.10. Esquema ilustrativo dos principais componentes do sistema em fluxo-batelada. (a) bomba peristáltica, (b) câmara de mistura, (c) válvulas solenoides, (d) agitador magnético, (e) sistema de detecção, (f) computador e (g) acionador de válvulas. 35
- Figura 2.11. Bomba pistão acoplada à câmara de mistura para propulsão dos fluidos em um sistema em fluxo-batelada. (a) motor de passos, (b) câmara de mistura e (c) visualização interna da câmara de mistura com o pistão inserido em seu interior. As setas indicam os sentidos de movimento do pistão. 36
- Figura 2.12. Apresentação esquemática dos diferentes tipos de hifenização entre o preparo da amostra e o sistema de detecção. Adaptada da ref (VERAART *et al.*, 1999). 38
- Figura 2.13. Diagramas esquemáticos de duas estratégias de execução da MSPE *on-line*. a) SIA-MSPE (GIAKISIKLI e ANTHEMIDIS, 2013b); b) SIA *lab-on-valve* - MSPE (WANG *et al.*, 2012). 40
- Figura 3.1. Etapas envolvidas no procedimento de síntese do adsorvente magnético. 46

Figura 3.2. Fluxograma do processo de síntese das nanopartículas de Fe_3O_4 .	47
Figura 3.3. Fluxograma do processo de revestimento das nanopartículas de Fe_3O_4 com alumina.	48
Figura 3.4. Fotografia do sistema automático em fluxo batelada. (a) recipientes dos fluidos, (b) câmara de extração, (c) motor de <i>drive</i> , (d) bomba peristáltica, (e) válvulas solenoides, (f) acionador de válvulas, (g) interface, (h) microcomputador e (i) detalhe do armazenamento das soluções no frasco em polietileno.	55
Figura 3.5. Diagrama esquemático da ligação entre o acionador, as válvulas solenoides, motor de <i>drive</i> e a interface NI USB-6009.	57
Figura 3.6. Circuito para acionamento do motor de passo. Onde: L1, L2, L3 e L4 são as bobinas do motor de passo.	58
Figura 3.7. Detalhes do sistema magnético-mecânico. Posição de (a) aproximação e de (b) distanciamento do campo magnético em relação a câmara de extração.	59
Figura 3.8. Diagrama esquemático do sistema magnético-mecânico (SMM).	59
Figura 3.9. Interface do programa de controle do sistema automático proposto.	60
Figura 3.10. Interface do programa para gerenciar as configurações de comunicação com a interface e a bomba peristáltica.	61
Figura 3.11. Interface do programa para gerenciar o estudo da vazão em cada linha de fluxo no automático sistema em fluxo-batelada.	62
Figura 3.12. Diagrama esquemático do sistema automático em fluxo-batelada proposto. A: amostra ou padrão, S: solvente, N: nanopartículas magnéticas, E: eluente, R: resíduo, SMM: sistema magnético-mecânico, MD: motor de <i>drive</i> , CE: câmara de extração, h: haste de agitação e V: válvulas solenoides.	63
Figura 3.13. Etapas do procedimento de análise. Em destaque (preto) são os eventos que estão ocorrendo. Em transparência (cinza) são os eventos inativados.	64
Figura 4.1. Imagem das nanopartículas magnéticas sintetizadas (a) dispersas e (b) atraídas pelo ímã.	72
Figura 4.2. Difratoograma do núcleo de Fe_3O_4 .	73
Figura 4.3. Difratoograma do núcleo de Fe_3O_4 revestido com Al_2O_3 .	74
Figura 4.4. Micrografia obtida no microscópio eletrônico de varredura mostrando a morfologia das nanopartículas de Fe_3O_4 .	75
Figura 4.5. Micrografia obtida no microscópio eletrônico de varredura mostrando a morfologia das nanopartículas de Fe_3O_4 revestidas com Al_2O_3 .	75
Figura 4.6. Influência do pH na adsorção de Cd e Pb em água.	77

Figura 4.7. Formas adquiridas pelo ligante PAN a partir da variação do pH do meio. Figura adaptada da ref (SOARES, 2006).	77
Figura 4.8. Estrutura do complexo M-PAN. Onde: M representa o metal Cd ou Pb. Figura adaptada da ref (THARAKESWAR <i>et al.</i> , 2012).	78
Figura 4.9. Efeito da quantidade de nanopartículas magnéticas na adsorção de Cd e Pb em água.	78
Figura 4.10. Influência do tempo na adsorção de Cd e Pb em água.	79
Figura 4.11. Influência do tipo e da concentração do eluente na adsorção de Cd e Pb em água.	80
Figura 4.12. Curva analítica para os padrões de cádmio (a) e chumbo (b) em água.	82
Figura 4.13. Efeito da quantidade de nanopartículas magnéticas na adsorção de Cd em óleo.	85
Figura 4.14. Influência do tempo na adsorção de Cd em óleo.	86
Figura 4.15. Influência do tipo e da concentração do eluente na adsorção de Cd em óleo.	86
Figura 4.16. Curva analítica para os padrões de Cd em óleo mineral.	89

Lista de tabelas

Tabela 2.1. Comparação entre as principais técnicas de preparo de amostras.	21
Tabela 2.2. Características analíticas dos estudos que integram a técnica da MSPE <i>on-line</i> e os sistemas automáticos em fluxo para determinação de metais.	37
Tabela 3.1. Reagentes utilizados na síntese das nanopartículas magnéticas e suas procedências.	45
Tabela 3.2. Reagentes e soluções utilizados no procedimento analítico e suas procedências.	50
Tabela 3.3. Programa de pirólise e atomização para a determinação de chumbo.	54
Tabela 3.4. Programa de pirólise e atomização para a determinação de cádmio.	54
Tabela 3.5. Sequência de acionamento do das bobinas do motor de passo.	58
Tabela 3.6. Procedimento automático para extração de Cd e Pb nas amostras de água.	66
Tabela 3.7. Procedimento automático para extração de Cd nas amostras de óleos comestíveis.	67
Tabela 4.1. Tabela de potenciais interferentes em água. Dados referentes a concentração em $\mu\text{g L}^{-1}$ para uma solução de Cd ou Pb de $0,5 \mu\text{g L}^{-1}$.	81
Tabela 4.2. Vazões médias dos canais individuais das soluções para determinação de Cd e Pb em amostras de águas de abastecimento.	82
Tabela 4.3. Parâmetros obtidos no método proposto para determinação de Cd e Pb em amostras de águas de abastecimento.	83
Tabela 4.4. Resultados obtidos para determinação de Cd e Pb em amostras de águas de abastecimento antes e após a realização da adição dos analitos.	84
Tabela 4.5. Tabela de potenciais interferentes em óleos comestíveis. Dados referentes a concentração em $\mu\text{g L}^{-1}$ para uma solução de Cd de $0,5 \mu\text{g L}^{-1}$.	87
Tabela 4.6. Vazões médias dos canais individuais das soluções empregadas para determinação de Cd em óleos comestíveis.	88
Tabela 4.7. Densidades das amostras de óleos comestíveis empregadas na avaliação do método proposto.	88
Tabela 4.8. Parâmetros obtidos no método proposto para determinação de Cd em óleos comestíveis.	89
Tabela 4.9. Resultados obtidos para determinação de Cd em amostras de óleos comestíveis antes e após a realização da adição e recuperação dos analitos. Os valores de concentração de cádmio e suas quantidades adicionadas estão expressas em $\mu\text{g L}^{-1}$.	90

Sumário

Capítulo 1. Introdução	15
1.1. Caracterização da problemática	16
1.2. Objetivo e metas	18
1.2.1. Objetivo geral	18
1.2.2. Metas	18
Capítulo 2. Fundamentação teórica	19
2.1. Técnicas de preparo de amostras	20
2.2. Extração em fase sólida magnética	23
2.2.1. Breve discussão sobre as nanopartículas magnéticas	23
2.2.2. Fundamentos da extração em fase sólida magnética	26
2.2.3. Aplicações na preconcentração e/ou separação de metais	29
2.3. Sistemas automáticos em fluxo	32
2.3.1. Sistemas automáticos em fluxo-batelada	34
2.4. Extração em fase sólida magnética <i>on-line</i>	37
2.5. Determinação de metais pesados em matrizes aquosas e oleosas	41
Capítulo 3. Experimental	44
3.1. Síntese das nanopartículas magnéticas	45
3.1.1. Reagentes e solventes	45
3.1.2. Procedimento de síntese das nanopartículas magnéticas	45
3.1.2.1. Síntese do núcleo de Fe_3O_4	46
3.1.2.2. Revestimento do núcleo de Fe_3O_4 com Al_2O_3	47
3.1.2.3. Funcionalização das nanopartículas de $\text{Fe}_3\text{O}_4@ \text{Al}_2\text{O}_3$	48
3.2. Caracterização das nanopartículas magnéticas	49
3.2.1. Microscopia eletrônica de varredura (MEV)	49
3.2.2. Difratometria de raios-X	49
3.3. Determinação de metais em amostras de água e óleo comestível	50
3.3.1. Reagentes, soluções e solventes	50
3.3.2. Amostras	51
3.3.3. Otimização das condições da MSPE de Cd e Pb em água	51

3.3.4.	Otimização das condições da MSPE de Cd em óleos comestíveis.....	52
3.3.5.	Determinação dos analitos por GF AAS.....	53
3.4.	Desenvolvimento do sistema automático.....	55
3.4.1.	Equipamentos e montagem.....	55
3.4.2.	Desenvolvimento do <i>software</i> de controle.....	60
3.5.	Precisão das válvulas solenoides.....	62
3.6.	Procedimento automático de análise.....	63
3.6.1.	Procedimento de enchimento dos canais.....	63
3.6.2.	Procedimento de análise das soluções de calibração.....	64
3.6.3.	Procedimento de preparação do branco.....	65
3.6.4.	Procedimento de análise das amostras.....	66
3.6.5.	Limpeza da câmara de extração.....	67
3.7.	Avaliação do desempenho analítico.....	68
3.7.1.	Exatidão e precisão.....	68
3.7.2.	Linearidade e sensibilidade.....	69
3.7.3.	Limite de detecção e quantificação.....	69
3.7.4.	Seletividade.....	70
Capítulo 4.	Resultados e discussão.....	71
4.1.	Avaliação da síntese e do revestimento do núcleo magnético.....	72
4.1.1.	Aspecto visual das nanopartículas.....	72
4.1.2.	Caracterização cristalográfica e morfológica das nanopartículas.....	72
4.2.	Determinação de Cd e Pb em amostras de água.....	76
4.2.1.	Condições para MSPE de Cd e Pb em água.....	76
4.2.2.	Estudo dos potenciais interferentes em água.....	81
4.2.3.	Estudo da precisão das válvulas solenoides para MSPE de Cd e Pb em água.....	81
4.2.4.	Curva analítica para determinação de Cd e Pb em água.....	82
4.2.5.	Determinação de Cd e Pb em amostras de águas de abastecimento.....	83
4.3.	Determinação de Cd em amostras de óleo comestível.....	85
4.3.1.	Otimização da MSPE de Cd em óleo.....	85
4.3.2.	Estudo dos potenciais interferentes em óleo comestível.....	87

4.3.3.	Estudo da precisão das válvulas solenoides para MSPE de Cd em óleo ..	88
4.3.4.	Curva analítica para determinação de Cd em óleo comestível.....	89
4.3.5.	Determinação de Cd em amostras de óleos comestíveis	90
Capítulo 5. Conclusão e perspectivas		91
5.1.	Conclusão	92
5.2.	Perspectivas	93
Capítulo 6. Referências bibliográficas.....		94
Anexo I. Fundamentos do eletromagnetismo		105
Anexo II. Produção científica		112

1

Introdução

1.1. Caracterização da problemática

Nas últimas décadas, o desenvolvimento de novas estratégias e métodos de preparação de amostra, como a extração, tem recebido considerável destaque. Esses procedimentos inovadores são derivados dos métodos de preparo de amostras tradicionais, sobretudo da extração líquido-líquido (LLE) e da extração em fase sólida (SPE) (KORN *et al.*, 2008).

Recentemente, uma nova técnica, denominada extração em fase sólida magnética (MSPE), tem ganhado crescente popularidade para separação e preconcentração de diversos analitos (XIE *et al.*, 2014; WUL *et al.*, 2016). A MSPE consiste em adicionar partículas magnéticas (geralmente nanopartículas de óxido de ferro funcionalizado) na amostra para que o analito seja adsorvido sobre a sua superfície. Em seguida, esse adsorvente é separado da solução, através da aplicação de um campo magnético externo e, com o auxílio de um solvente adequado, promove-se a eluição do analito retido na superfície das partículas. Por fim, a solução resultante é direcionada para detecção (CHEN *et al.*, 2011).

Dessa forma, a MSPE apresenta-se como uma conveniente ferramenta para determinação de analitos em nível traço, já que proporciona uma elevada área de contato para a adsorção e fácil separação de fases, quando comparada à outros procedimentos de preparo de amostras. Essas características permitem uma execução rápida e simples da técnica, além de proporcionar elevados fatores de enriquecimento (LUCENA *et al.*, 2011).

Com o objetivo de diminuir o consumo de reagentes e amostras, reduzir o tempo de análise, aumentar o fator de enriquecimento e promover a integração das várias etapas operacionais do procedimento analítico com menor possibilidade de erro humano, os recentes estudos foram concentrados no desenvolvimento da MSPE *on-line*.

Nessa perspectiva, metodologias foram propostas explorando o potencial analítico dos sistemas automáticos em fluxo (GIAKISIKLI *et al.*, 2013; WUL *et al.*, 2016). No entanto, em todas essas abordagens foi indispensável a imobilização das partículas magnéticas em uma microcoluna, o que provoca diversos inconvenientes. Dificuldades relacionadas, por exemplo, ao entupimento da coluna durante o procedimento analítico, devido ao grau de compactação das partículas, são recorrentes e precisam ser superadas (PASSOS *et al.*, 2015).

Nesse contexto, a integração sinérgica das partículas magnéticas com os métodos de automação em fluxo é um desafio, sendo um tópico de investigação necessário e emergente (PASSOS *et al.*, 2015). A essa lacuna no estado da arte, soma-se o insuficiente estudo do potencial da MSPE para o isolamento e enriquecimento de metais em matrizes

viscosas, sendo ainda um extenso campo a ser explorado, na direção de novas aplicações e metodologias analíticas.

Diante do exposto, o presente trabalho tem como principal objetivo a elaboração de um método eficiente para realizar a extração em fase sólida magnética *on-line*. A aplicabilidade do novo método foi demonstrada inicialmente na determinação de Cd e Pb em amostras de água de abastecimento, empregando como adsorvente nanopartículas de Fe_3O_4 revestidas com Al_2O_3 e funcionalizadas com dodecil sulfato de sódio (SDS) e 1-(2-piridilazo)-2-naftol (PAN). Todo o procedimento da MSPE foi automatizado utilizando um sistema em fluxo-batelada integrado a um dispositivo robótico *labmade*, antes da detecção por espectrometria de absorção atômica em forno de grafite. Esse mesmo método também foi empregado para determinação de Cd em óleos comestíveis.

Para uma melhor compreensão das estratégias e metodologias empregadas nesta pesquisa, a tese foi subdividida em capítulos. O Capítulo 1 aborda, de uma maneira geral, a justificativa e os principais objetivos do presente trabalho. No Capítulo 2 é apresentada uma revisão da literatura, na qual compreende informações e discussões das técnicas de preparo de amostra, princípios teóricos da MSPE, bem como os seus desenvolvimentos e aplicações. Adicionalmente, é feita uma breve discussão sobre os sistemas automáticos em fluxo, aprofundando-se no sistema em fluxo-batelada. Por fim, é comentado sobre o estágio atual da MSPE *on-line* e a importância da determinação do teor de Cd e Pb nas matrizes trabalhadas.

O Capítulo 3 aborda a estrutura experimental da tese. Sendo assim, a metodologia da síntese, funcionalização e caracterização das nanopartículas magnéticas são apresentadas nessa subdivisão. Nesse capítulo também é descrito o desenvolvimento do sistema automático e do *software* de controle, além da metodologia empregada para extração e determinação dos metais.

No Capítulo 4 são relatados, analisados e discutidos os resultados obtidos e os aspectos sobre a validação da metodologia analítica, a fim de oferecer subsídios para as considerações finais da tese. Na continuidade, o Capítulo 5 traz as conclusões, possibilidades e perspectivas do estudo desenvolvido.

Como conteúdo suplementar é relatado, em anexo, os fundamentos do eletromagnetismo para os materiais em escala reduzida, um tópico indispensável para o entendimento das propriedades intrínsecas das nanopartículas magnéticas.

1.2. Objetivo e metas

Diante do exposto são propostos como objetivo e metas para este trabalho de pesquisa o que segue.

1.2.1. Objetivo geral

Desenvolver um método automático eficiente para extração em fase sólida magnética de Cd e Pb em amostras de água e Cd em óleo comestível.

1.2.2. Metas

Como metas para o cumprimento do objetivo, têm-se:

- Síntezar nanopartículas magnéticas de óxidos de ferro revestidas com alumina e funcionalizadas com dodecil sulfato de sódio (SDS) e 1-(2-piridilazo)-2-naftol (PAN);
- Caracterizar as partículas obtidas quanto às suas propriedades químicas, estruturais e morfológicas;
- Desenvolver a câmara de extração adequada para execução da MSPE *on-line*;
- Desenvolver o sistema magnético-mecânico para geração do campo magnético na câmara de extração;
- Montar o sistema automático em fluxo-batelada, integrando a câmara de extração e o sistema magnético-mecânico;
- Desenvolver o programa de gerenciamento do sistema automático;
- Avaliar as condições de extração;
- Empregar o método para extração em fase sólida magnética *on-line* de Cd e Pb em amostras de água de abastecimento e de Cd em óleo comestível e detecção por espectrometria de absorção atômica em forno de grafite;
- Avaliar a performance analítica do método proposto.

Fundamentação teórica

2.1. Técnicas de preparo de amostras

Na atualidade, embora se disponha de uma série de técnicas analíticas que propiciem cada vez mais a obtenção de uma melhor seletividade e sensibilidade, o emprego de algumas operações preliminares à quantificação das espécies de interesse ainda é requisitada, principalmente quando o analito se encontra em concentrações em nível traço.

Nesse contexto, os procedimentos de preparo da amostra, como o isolamento e a preconcentração do analito, são de fundamental importância. Contudo, diante dos potenciais interferentes e das baixas concentrações das substâncias de interesse, como ocorre nas matrizes complexas, tornar a amostra compatível com o método e a forma de detecção, é uma etapa crítica e determinante (CHEN *et al.*, 2008).

Uma importante técnica para remoção do analito da matriz original e transferência para um solvente apropriado é a extração líquido-líquido (LLE - *Liquid-Liquid Extraction*) (SILVESTRE *et al.*, 2009). A LLE é considerada, hoje, uma técnica clássica de extração, possuindo como principais vantagens a simplicidade e o baixo investimento na aquisição dos dispositivos para execução do procedimento. No entanto, essa técnica apresenta desvantagens que vão contra a tendência da química verde, como o uso de grandes volumes de solventes tóxicos e a exposição do operador aos seus vapores. A LLE ainda tem como inconveniente a baixa seletividade da técnica e o tempo de extração, geralmente longo para que ocorra uma boa transferência do soluto (PICHON, 2000).

Nesse sentido, com a intenção de contornar essas dificuldades, alternativas à LLE vêm sendo desenvolvidas e aplicadas. Dentre essas técnicas, a extração em fase sólida (SPE - *Solid Phase Extraction*), a microextração em fase sólida (SPME - *Solid Phase Microextraction*), a extração sortiva em barra magnética (SBSE - *Stir Bar Sorptive Extraction*) e a microextração líquido-líquido dispersiva (DLLME - *Dispersive Liquid-Liquid Microextraction*) ganharam maior evidência (CALDAS *et al.*, 2011).

As principais características e uma breve descrição das técnicas citadas acima estão elencadas na **Tabela 2.1**:

Tabela 2.1. Comparação entre as principais técnicas de preparo de amostras.

TÉCNICA	DESCRIÇÃO	CARACTERÍSTICAS
Extração líquido-líquido	Distribuição do analito entre dois líquidos imiscíveis em função de um coeficiente de partição.	- Simplicidade de operação; - Baixo investimento em vidrarias; - Exige solventes puros; - Procedimento lento; - Elevada quantidade de resíduo.
Extração em fase sólida	Adsorção seletiva do analito no material sólido seguido de uma dessorção com solvente adequado.	- Grande disponibilidade adsorventes; - Extração exaustiva dos analitos; - Altas recuperações; - Baixo consumo de solventes; - Necessita de cartuchos/discos.
Microextração em fase sólida	Distribuição do analito entre duas fases imiscíveis onde a fase extratora é um polímero que reveste uma fibra de sílica.	- Baixo consumo de solventes; - Necessita de pouca amostra; - Fibras de extração recicláveis; - Limite de quantificação alto; - Poucos adsorventes disponíveis.
Extração sortiva em barra magnética	Sorção do analito sobre uma camada polimérica que reveste uma barra magnética envolta em uma camada de vidro.	- Dessorção térmica ou por solventes; - Elevada relação área-volume do extrator; - Procedimento lento; - Difícil execução <i>on-line</i>.
Microextração líquido-líquido dispersiva	Dispersão de um solvente extrator (imiscível em água) e de um solvente dispersor (miscível em água e no solvente extrator) na solução aquosa, com posterior centrifugação e separação do analito.	- Baixo consumo de solventes; - Altas recuperações; - Elevado fator de enriquecimento; - Solventes de elevada toxicidade; - Requisitos para o solvente; - Difícil execução <i>on-line</i>.

Uma recente alternativa que vem ganhado destaque no campo do preparo de amostras é a extração em fase sólida magnética (MSPE) (PASSOS *et al.*, 2015; WUL *et al.*, 2016). Nas seções seguintes, serão descritos os fundamentos e as aplicações dessa técnica. No entanto, primeiramente será apresentado alguns fundamentos da DLLME, com o objetivo de estabelecer um paralelo didático entre os princípios dessa técnica e os da MSPE.

Como apontado na tabela anterior, a DLLME (CALDAS *et al.*, 2011) consiste em injetar uma mistura apropriada de dois solventes (um que atua como solvente extrator e o outro como solvente dispersor) em uma solução aquosa da amostra com uma seringa. Subsequente à formação de uma mistura turva (formação de gotículas do solvente de extração com o analito aprisionado), completamente dispersa na fase aquosa, é realizada a centrifugação, que promove

a acumulação da fase extratora na parte inferior do recipiente. Por fim, a fase sedimentada é transferida para um frasco apropriado e o procedimento analítico é dado sequência. As etapas descritas estão ilustradas na **Figura 2.1**.

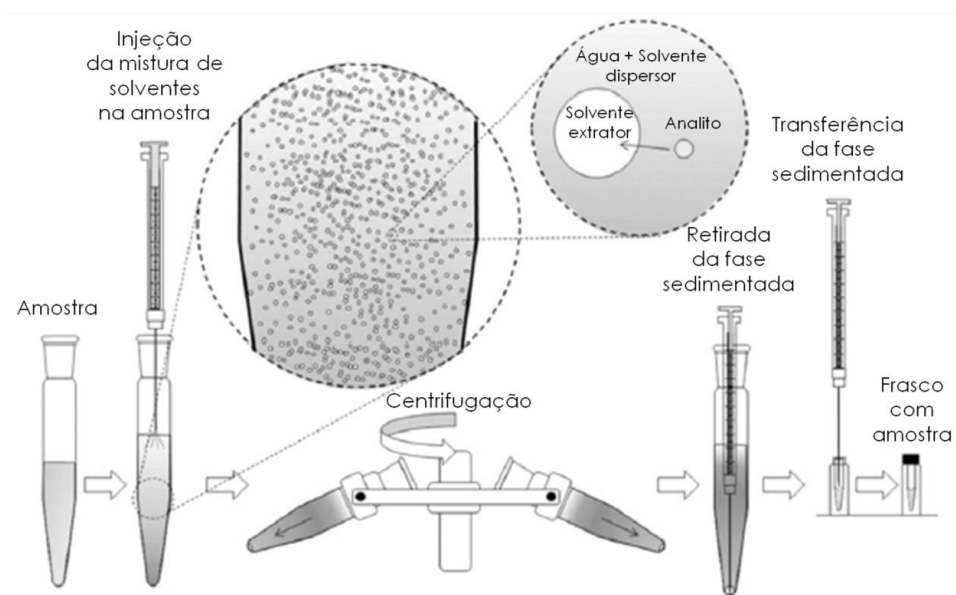


Figura 2.1. Procedimento da microextração líquido-líquido dispersiva. Adaptada da ref. (CALDAS *et al.*, 2011).

Na DLLME, a área entre o solvente de extração e a fase aquosa (onde encontra-se o analito) é consideravelmente grande. Assim, a transferência dos analitos da fase aquosa para a fase extratora é rápida e, portanto, o estado de equilíbrio é atingido em um curto intervalo de tempo. Além disso, essa técnica mostra-se eficiente e com potencial para miniaturização (GRZESKOWIAK e GRZESKOWIAK, 2011).

Por outro lado, devido a DLLME basear-se no processo de partição dos analitos entre duas fases líquidas imiscíveis e a solubilização dos compostos ser governada pela polaridade do meio, a escolha do solvente extrator e dispersor é uma etapa delicada (AL-SAIDI e EMARA, 2014).

São pré-requisitos e desvantagens dessa técnica a escolha de um solvente extrator que possua densidade maior que a da água, que permita a formação da fase sedimentada, e que apresente pressão de vapor relativamente baixas e temperatura de ebulição alta, para evitar perdas durante o processo de extração. Soma-se a esses inconvenientes à elevada toxicidade dos solventes orgânicos empregados (GRZESKOWIAK e GRZESKOWIAK, 2011).

2.2. Extração em fase sólida magnética

Para a efetiva compreensão da extração em fase sólida magnética (MSPE), na seção seguinte serão abordados os conceitos e a conjectura das nanopartículas magnéticas. Na sequência será apresentado os fundamentos da MSPE e as suas aplicações em Química Analítica.

2.2.1. Breve discussão sobre as nanopartículas magnéticas

Internacionalmente ainda não está consolidada uma definição categórica do termo nanopartícula, mas pode-se afirmar que são materiais constituídos por aglomerados de átomos ou moléculas que apresentam dimensões reduzidas, na faixa de 1 a 100 nm (**Figura 2.2**) (FERREIRA e RANGEL, 2009).

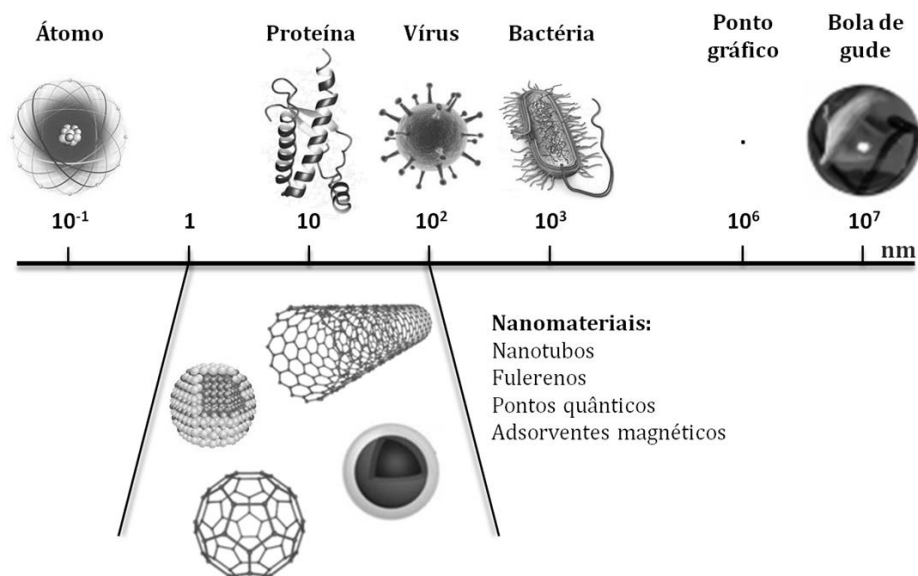


Figura 2.2. Comparação do tamanho dos nanomateriais com outros materiais comuns. Adaptada da ref. (PANNEERSELVAM e CHOI, 2014).

Como consequência do seu tamanho finito esses materiais apresentam um aumento da razão área superficial/volume e isso faz com que os efeitos quânticos se tornem mais evidentes. Dessa forma, os nanomateriais passam a exibir um comportamento diferente dos sólidos macroscópicos (*bulk*) (LESLIE-PELECKY e RIEKE, 1996).

As peculiares propriedades eletrônicas, ópticas, catalíticas e magnéticas ressaltadas aos nanomateriais torna-os bastante atrativos para nanociência, em seus mais diversos ramos.

Aplicações médicas, biológicas, farmacêuticas, ambientais, ópticas, eletrônicas, químicas e bioquímicas têm sido motivadas (PRADEEP, 2011).

Nesse cenário, uma vertente que vem sendo amplamente desenvolvida ao longo dos últimos anos é o das nanopartículas magnéticas (XIE *et al.*, 2014; WUL *et al.*, 2016). Essas consistem, geralmente, de óxido de ferro (principalmente magnetita) e exibem um comportamento peculiar, o superparamagnetismo (ver **Anexo I**), que possibilita a aplicação de um campo magnético, sem a retenção de qualquer magnetismo residual depois que o campo é removido.

Conforme indica a **Figura 2.3**, para a obtenção de nanopartículas superparamagnéticas com propriedades e tamanho controlados, vários métodos físicos, químicos e biológicos de síntese foram desenvolvidos.

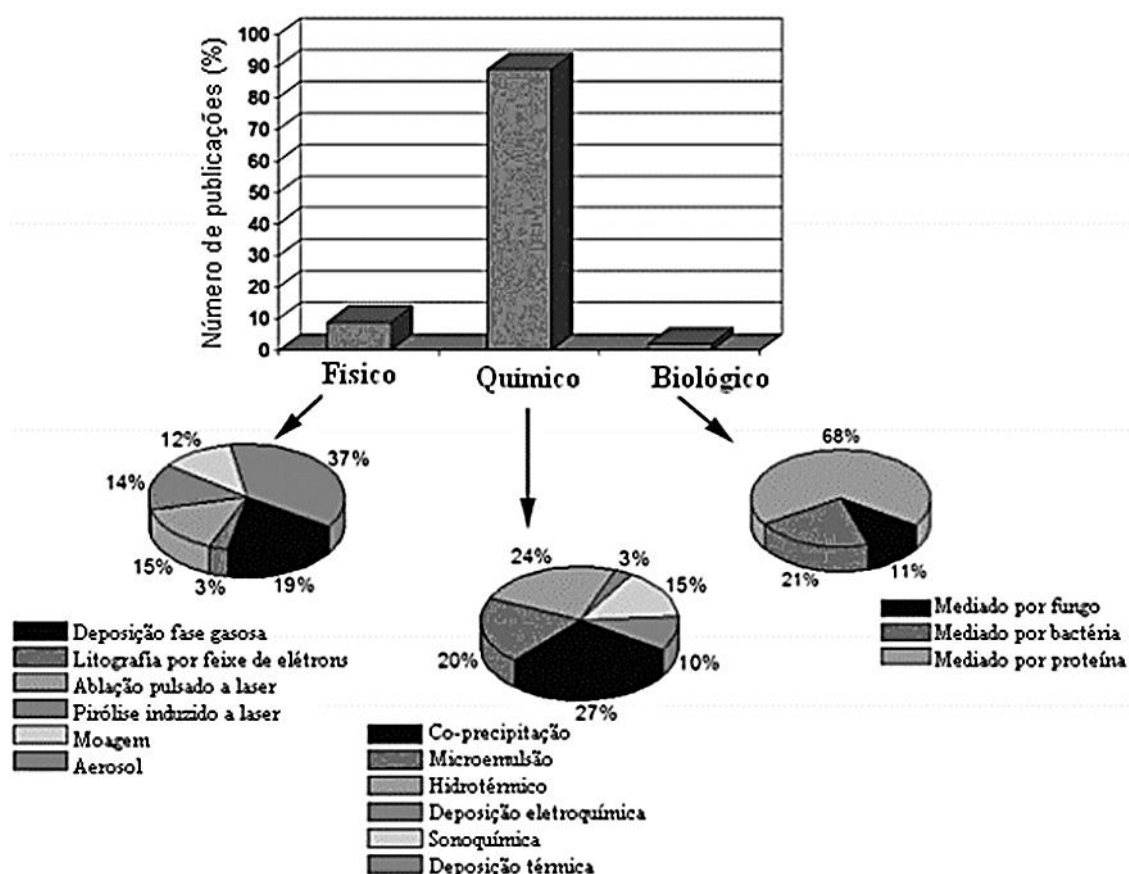
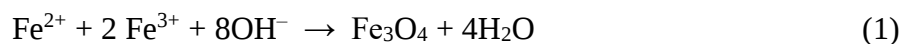


Figura 2.3. Principais rotas de síntese de nanopartículas magnéticas. Adaptada da ref. (MAHMOUDI *et al.*, 2011).

As principais estratégias são por deposição em fase gasosa, litografia, ablação à laser, microemulsão, reações hidrotérmicas, deposição eletroquímica e coprecipitação, sendo esse último o mais conveniente e popular (KHALIL, 2015).

A síntese por coprecipitação é um método eficiente de obtenção da magnetita nanoparticulada e consiste basicamente na mistura de uma solução aquosa de sais de ferro(II) e ferro(III) com posterior precipitação por hidrólise alcalina (LAURENT *et al.*, 2008). A formação da magnetita pode ser simplificada descrita pela seguinte equação:



Pela via da coprecipitação, é sintetizada uma grande quantidade de nanopartículas com boa reatividade e uniformidade, com pouca aglomeração, em um tempo de reação relativamente pequeno e a baixo custo (TARAT *et al.*, 2005).

A obtenção de magnetita com características morfológicas e químicas adequadas é diretamente influenciada pelas condições do meio e variáveis reacionais, como temperatura, velocidade de adição e agitação, pH, base empregada e relação estequiométrica dos íons Fe^{2+} e Fe^{3+} devem ser controladas (SOLER *et al.*, 2007).

No entanto, a determinação dessas condições experimentais para formação das nanoestruturas não é trivial (GUPTA e GUPTA, 2005). As constantes divergências e indefinições encontradas na literatura para os ajustes da síntese destoam a qualidade do produto final. Como forma de superar tais incoerências alguns métodos alternativos de coprecipitação têm sido propostos (FERREIRA, 2009).

De qualquer forma, controladas as condições de síntese, a superfície da magnetita por conter átomos de ferro que não estão ligados aos átomos de oxigênio, pode agir como ácidos de Lewis, coordenando-se com diferentes moléculas (LAURENT *et al.*, 2008). Essa propriedade permite envolver a magnetita nanoparticulada com vários tipos de revestimentos, formando estruturas do tipo *core@shell* (caroço@casca), **Figura 2.4**.

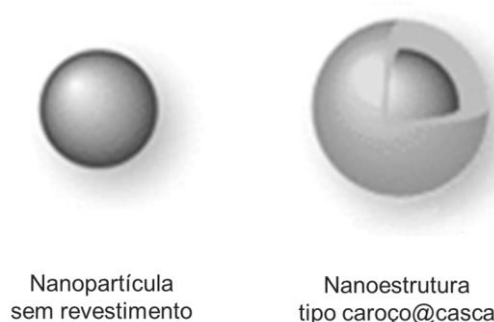


Figura 2.4. Ilustração de tipos de nanoestruturas. Núcleo (caroço) de magnetita sem revestimento e núcleo de magnetita com revestimento (casca).

O caroço pode modificar a carga superficial e como tal, condicionar a dispersibilidade e a estabilidade coloidal. Através da casca é possível promover a inserção de um ligante funcional, de modo que as nanoestruturas apresentem seletividade nas suas propriedades e funcionalidades (PRADEEP, 2007), o que justifica a sua adequação às inúmeras aplicações.

Na Química, essas partículas vêm sendo consideradas uma inovação tecnológica com significativo potencial no preparo de amostras, sendo amplamente empregada na técnica de extração em fase sólida magnética (XIE *et al.*, 2014; WUL *et al.*, 2016).

2.2.2. Fundamentos da extração em fase sólida magnética

A separação magnética foi relatada pela primeira vez para fins biotecnológicos em 1973 (ROBINSON *et al.*, 1973), mas foi só em 1996 que um material magnético veio a ser utilizado no âmbito da Química Analítica (TOWLER *et al.*, 1996). Na ocasião, magnetita revestida com dióxido de manganês foi empregada para preconcentração e separação de rádio, paládio e chumbo em água do mar. Três anos mais tarde, foi cunhado o termo extração em fase sólida magnética (do inglês: *magnetic solid phase extraction* - MSPE) (ŠAFAŘÍKOVÁ e ŠAFAŘÍK, 1999).

No procedimento usual da MSPE, o adsorvente magnético é colocado em contato direto com a solução que contém o composto de interesse para que ele seja seletivamente adsorvido na superfície das esferas magnéticas. Na sequência, o adsorvente com o analito é recuperado da suspensão pela aplicação de um campo magnético externo e posteriormente o analito é eluído por uma solução ácida ou solvente adequado e encaminhado para análise (CHEN *et al.*, 2011). O procedimento descrito está esquematizado na **Figura 2.5**.

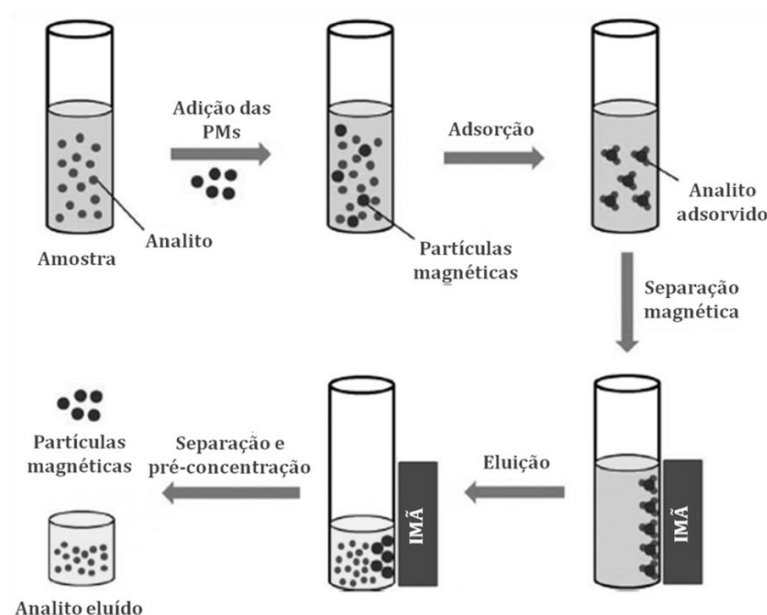


Figura 2.5. Representação esquemática do procedimento da extração em fase sólida magnética. Adaptada da ref. (GIAKISIKLI *et al.*, 2013).

Como pode ser observado na **Figura 2.5**, na MSPE o adsorvente encontra-se disperso na matriz (semelhante à DLLME), não sendo necessário o uso de cartuchos, diferentemente da SPE convencional. Assim, tem-se elevada área de sítios de adsorção disponíveis e fácil separação de fases, o que torna a execução da técnica rápida e simples, quando comparada à outros procedimentos de preparo de amostras.

Entretanto, apesar desses nanomateriais apresentarem uma elevada relação superfície/volume, eles estão suscetíveis à formação de aglomerados que resultam em alterações das suas propriedades magnéticas.

A estabilização coloidal da suspensão ocorre naturalmente pela repulsão entre as superfícies das partículas eletricamente carregadas e pode ser controlada através do uso de diferentes solventes ou dispersantes com diferentes polaridades, ou ainda, por um material espaçador (geralmente surfactante ou polímero) que pode adsorver-se fisicamente ou quimicamente à superfície da partícula (SCHMIDT, 2007).

Outro agravante no uso dessas partículas sem revestimento é a falta de seletividade, tornando-os inadequados para procedimentos que envolvem adsorção de analitos (GIAKISIKLI e ANTHEMIDIS, 2013). Assim, uma modificação adequada da superfície do núcleo magnético com grupos ativos específicos é necessária.

Diversos modificadores orgânicos e inorgânicos têm sido propostos para melhorar a funcionalidade e a estabilidade química (LU *et al.*, 2007; AGUILAR-ARTEAGA *et al.*, 2010).

Na **Figura 2.6** é apresentada uma classificação dos materiais magnéticos em duas categorias, de acordo com o tipo de revestimento do núcleo.

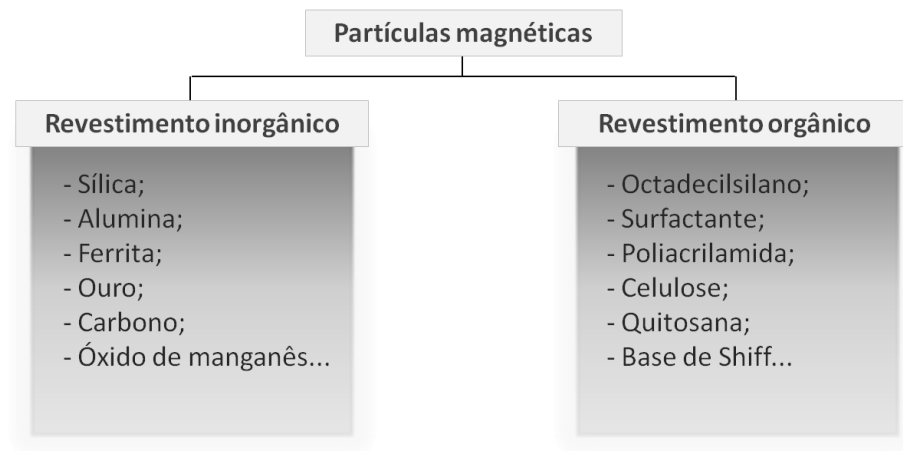


Figura 2.6. Tipos de revestimento do núcleo das partículas magnéticas. Adaptada da ref. (GIAKISIKLI e ANTHEMIDIS, 2013).

Diversas rotas para obtenção dessas modificações ou funcionalizações têm sido propostas (AGUILAR-ARTEAGA *et al.*, 2010) e a escolha do revestimento apropriado depende da natureza do analito e da matriz na qual ele se encontra. De maneira geral, o mecanismo de retenção do analito na superfície das partículas dar-se por processos de adsorção.

O fenômeno da adsorção é um processo de equilíbrio entre duas fases e é termodinamicamente explicado pela existência de forças de atração perpendiculares ao plano da superfície da partícula. Dependendo da força das ligações entre o analito que está sendo adsorvido e o material de revestimento, pode-se ter duas categorias de adsorção: a adsorção física (fisiossorção) e a adsorção química (quimiossorção) (ORTIZ, 2000).

- Adsorção física

Na adsorção física o analito interage com a superfície do adsorvente de acordo com sua polaridade, causando uma atração superficial. Assim, não há quebra nas ligações químicas das espécies adsorvidas, acarretando a manutenção da identidade do analito (ADAMSON e GAST, 1997).

- Adsorção química

Quando ocorre o processo de adsorção na superfície da partícula, pode haver a formação de ligações químicas entre as valências livres do adsorvente e do analito. Esse processo ocorre por rearranjo de forças e é restrito à primeira camada superficial do adsorvente. A natureza das

espécies envolvidas é que permitirá ou não a ocorrência da ligação química e consequente imobilização da substância de interesse (ADAMSON e GAST, 1997).

Dentre os principais fatores experimentais que afetam a eficiência da MSPE e que devem ser controlados e otimizados, encontram-se:

- pH;
- Quantidade do adsorvente;
- Seleção e concentração do solvente para eluição;
- Tempo de extração e dessorção.

Na sequência é apresentada algumas aplicações da MSPE na separação e preconcentração de diversos analitos em diferentes amostras.

2.2.3. Aplicações na preconcentração e/ou separação de metais

Devido as características inerentes da técnica, a MSPE permite ser empregada em diferentes modos de operação analítica, conforme descrito a seguir:

- Isolamento do analito (*clean-up*)

Em muitos casos, o analito até pode encontrar-se concentrado o suficiente para a realização da sua análise por uma determinada técnica, entretanto os constituintes da matriz poderão interferir no processo de análise. Dessa forma, aqui o principal objetivo é, como o próprio termo sugere, isolar o analito dos outros componentes presentes na amostra, antes da medida analítica.

- Preconcentração do analito

Neste modo, a finalidade é elevar a concentração da espécie de interesse a um nível apropriado para ser analisado por uma técnica analítica predefinida. Na execução dessa operação o analito é adsorvido pelas partículas magnéticas em uma quantidade considerável da amostra. Em seguida elui-se o analito com um pequeno volume de eluente, de forma que a concentração do analito seja maior do que na amostra original. Convém ressaltar que esse tipo de procedimento pode ser realizado em conjunto com o anterior, de forma que o aumento da concentração e o isolamento do analito ocorram concomitantemente em um mesmo procedimento de MSPE.

- Estocagem do analito

Semelhante à SPE, a MSPE, dada a estabilidade das nanopartículas magnéticas funcionalizadas, é também uma forma de extração que permite a retenção do analito no adsorvente para posterior análise. Embora esse procedimento não venha sendo relatado na

literatura, é passível de ser executado, evidentemente mediante um estudo preliminar para se conhecer a estabilidade do analito adsorvido, a temperatura, o tempo de estocagem, etc.

Mediante essas possibilidades de operação os adsorventes magnéticos funcionalizados têm sido amplamente explorados na biomedicina para separar células e isolar proteínas, enzimas ou peptídeos (NIEMIROWICZ *et al.*, 2012; CHATTERJEE *et al.*, 2014). A MSPE também tem sido cada vez mais empregada na Química Analítica para o isolamento e enriquecimento de uma variedade de compostos em diversas matrizes (XIE *et al.*, 2014; WUL *et al.*, 2016).

Nos últimos anos, tem sido relatado na literatura uma grande quantidade de trabalhos propondo novas metodologias e aperfeiçoamentos da MSPE para o preparo de diferentes matrizes, associadas a determinação de compostos orgânicos e inorgânicos, tais como: espécies metálicas, hormônios, agrotóxicos e corantes (XIE *et al.*, 2014).

Embora já tenha sido descrito metodologias de preconcentração e separação de metais com nanopartículas magnéticas sem nenhuma funcionalização (MOHAMMADI *et al.*, 2012), atualmente é habitual o emprego de algum tipo de revestimento. Nesse contexto, interessantes combinações têm sido propostas, empregando diferentes modificadores, como por exemplo a alumina (óxido de alumínio).

A alumina tem sido proposta como um eficiente revestimento inorgânico, protegendo o núcleo magnético e servindo como suporte para funcionalização, uma vez que apresenta elevada área superficial, alta capacidade de absorção e apreciável atividade química (GIAKISIKLI e ANTHEMIDIS, 2013).

O revestimento das nanopartículas magnéticas com alumina tem sido aliado a uma série de complexantes. Dentre esses complexantes um que vem sendo amplamente empregado para determinação de metais é o 1-(2-piridilazo)-2-naftol (PAN). O surfactante dodecil sulfato de sódio (SDS) combinado com o complexante PAN foi empregado para determinação de Cd e Pb em amostras de águas reais e certificadas por espectrometria de absorção atômica com chama (FAAS) (EZODDIN *et al.*, 2010).

Nesse trabalho, vários parâmetros foram estudados, tais como: pH, volume da amostra, quantidade do adsorvente, da amostra e do eluente, que no caso foi o HNO₃. Um fator de enriquecimento de 250 foi obtido, sendo possível obter um LOD de 0,15 e 0,17 µg L⁻¹ de Cd e Pb, respectivamente.

Essa mesma estratégia de funcionalização foi empregada por Tavallali para determinação de Cd (TAVALLALI, 2011a) e Pb (TAVALLALI, 2011b) e por Wang e colaboradores para determinação de Co em amostras de água (WANG *et al.*, 2012).

Um relato de determinação de multielementos em diferentes matrizes, foi recentemente descrito na literatura (ASGHARI e MOHAMMADI, 2014). Nesse trabalho o complexante 4-(2-piridilazo) resorcinol (PAR) combinado ao SDS funcionalizou partículas de $\text{Fe}_3\text{O}_4@\text{Al}_2\text{O}_3$ para isolar e preconcentrar traços de Ni, Pb, Cu e Zn antes da determinação por ICP-AES. O método apresentou fatores de enriquecimento entre 125 - 250 e LOD entre 0,12 - 0,71 $\mu\text{g L}^{-1}$, com DPR inferiores a 1,6%. Estratégia com esse mesmo adsorvente já tinha sido anteriormente descrita para determinação de cobre em amostras de alimentos e águas (MIRABI e HOSSEINI, 2012).

O emprego dessas modificações para o isolamento e preconcentração desses metais só foi possível devido a estrutura do revestimento, que originam espécies de armadilhas através de interações físicas e químicas com a estrutura do complexo (EZODDIN *et al.*, 2010), tal como ilustrado na **Figura 2.7**.

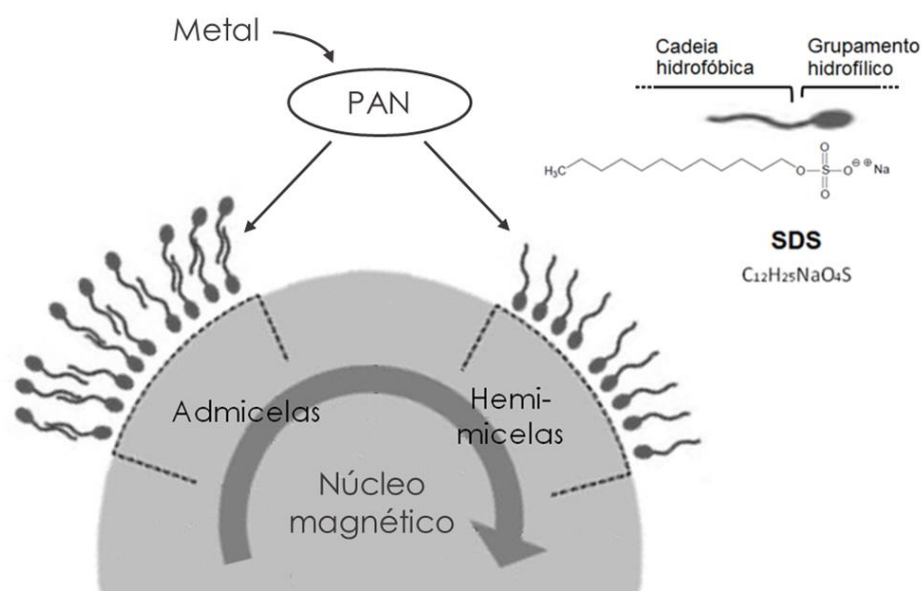


Figura 2.7. Modelo sugerido de interação entre o SDS-PAN na superfície da alumina. Adaptada ref. (EZODDIN *et al.*, 2010).

Esse processo de adsorção não está restrito às interações surfactante-complexo. Revestimentos de interações hidrofóbicas entre analito e adsorvente, como ocorre com espécies químicas e o octadecil silano, e interações entre analito e elétrons π de materiais, como o grafeno e nanotubos, também têm sido relatados (LIU e JIA, 2008; WANG *et al.*, 2012; LI *et al.*, 2013).

De qualquer maneira, até o presente momento, essas estratégias citadas ainda não foram descritas para o isolamento e enriquecimento de metais em matrizes viscosas. Sendo encontrado

na literatura apenas procedimentos de MSPE, sem tratamento prévio da amostra, exclusivamente para analitos orgânicos (XIE *et al.*, 2014).

2.3. Sistemas automáticos em fluxo

Métodos analíticos convencionais são comumente desenvolvidos e aplicados em laboratórios e centros de pesquisas de todo o mundo. No entanto, procedimentos que possibilitem um menor consumo de reagentes e amostras, redução na geração de resíduos, maior sensibilidade, menor custo, elevada frequência de amostragem, menor risco de intoxicação do analista e, além disso, de fácil execução, ainda são fortemente requisitados e aplicados em determinações de rotina, dada a elevada demanda de análises (TROJANOWICZ, 2008).

Dessa forma, nas últimas décadas, uma grande parte da Química Analítica tem-se dedicado para o desenvolvimento de sistemas automáticos, bem como de metodologias e adaptações para esse fim. Os analisadores automáticos podem ser classificados em três grupos: analisadores automáticos discretos ou em batelada; analisadores automáticos robotizados; analisadores automáticos em fluxo.

Os analisadores automáticos discretos, ou em batelada, são versões mecanizadas de métodos clássicos manuais. Geralmente, caracterizam-se por usarem um recipiente individual para cada amostra e por transportar a mistura reacional para o detector através de um sistema mecânico, comumente, em forma de bandeja. Normalmente, as medidas são realizadas após o estabelecimento do equilíbrio químico e físico da reação em estudo, objetivando alcançar a máxima sensibilidade analítica (FACCHIN, 1996).

Os analisadores automáticos robotizados são caracterizados por executar as operações analíticas com o auxílio de um braço mecânico controlado por computador, que mimetiza os procedimentos executados por um operador. A complexidade mecânica e o custo elevado fazem com que esses sistemas possuam diversas limitações na realização de análises automáticas. No entanto, eles desempenham um importante papel em etapas preliminares do procedimento analítico, como em tarefas que envolvam a manipulação de materiais tóxicos ou explosivos.

Os analisadores em fluxo apresentam as características de processamento da amostra e reagente em fluxo contínuo, seccionado ou não por bolhas de ar. De uma forma geral, devido à quantidade crescente de analisadores em fluxo desenvolvidos, a IUPAC (*International Union of Pure and Applied Chemistry*) (ZAGATTO *et al.*, 2002) tem recomendado uma classificação

de acordo com o processamento da amostra e/ou reagente(s), bem como da característica básica de seu fluxo.

Apesar da importância dos métodos discretos, e sobretudo dos métodos robotizados, na implementação e automatização de procedimentos laboratoriais, os métodos de fluxo registram um acentuado crescimento, tanto em termos de divulgação, como em áreas de aplicação e receptividade por parte da comunidade científica (KOLOV e MCKELVIE, 2008).

Desde o desenvolvimento do primeiro analisador automático em fluxo em 1957 (SKEGGS, 1957), inúmeros analisadores têm sido propostos, os principais são: análise por injeção em fluxo (do inglês: *flow injection analysis* - FIA) (RUZICKA e HANSEN, 1975), análise em fluxo monossegmentado (*monosegmented flow analysis* - MSFA) (PASQUINI e OLIVEIRA, 1985), análise por injeção sequencial (*sequential injection analysis* - SIA) (RUZICKA e MARSHALL, 1990), análise em fluxo multicomutado (*multicommutation in flow analysis* - MFA) (REIS *et al.*, 1994) e análise em fluxo-batelada (*flow-batch analysis* - FBA) (HONORATO *et al.*, 1999), como pode ser visto na **Figura 2.8**.

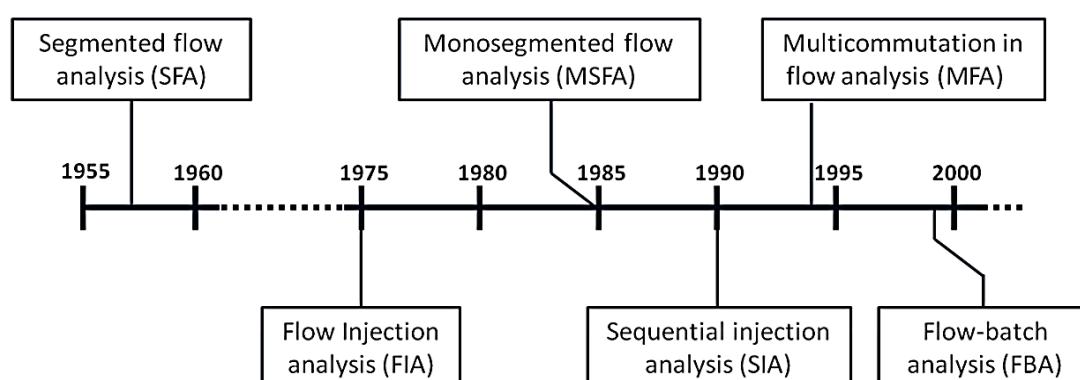


Figura 2.8. Esquema representando a linha do tempo para os principais analisadores automáticos em fluxo desenvolvidos ao longo das décadas.

As diferentes combinações de características, como o tipo de confluência, bombeamento/aspiração de amostras e reagentes e sua segmentação definem as peculiaridades de cada sistema.

Embora cada um desses sistemas em fluxo apresentem suas peculiaridades, todos eles exibem uma configuração geral comum, como mostrado na **Figura 2.9**. A propulsão dos fluidos geralmente é realizada por uma bomba peristáltica, embora vários outros mecanismos possam ser utilizados com essa finalidade, como as bombas pistão (**Figura 2.9(a)**). O controle adequado das alíquotas de reagentes e amostras adicionadas ao sistema é,

normalmente, realizado por válvulas solenoides, rotatórias, ou por injetor proporcional (**Figura 2.9(b)**).

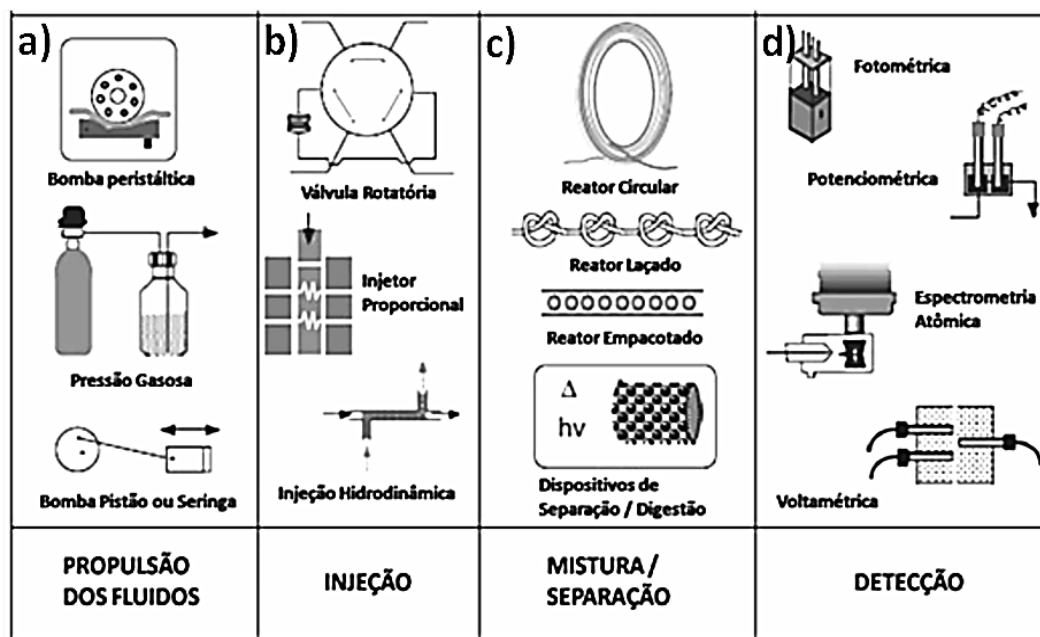


Figura 2.9. Diagrama esquemático de um sistema de análise em fluxo simples. Exemplos de (a) sistemas para propulsão dos fluidos, (b) sistemas de injeção, (c) sistemas de mistura e (d) detectores.

Comumente, análises em fluxo exigem acessórios para promover misturas, digestões ou extrações. Essas etapas são promovidas por uma bobina de reação que podem ser modificadas de acordo com a reação requerida (**Figura 2.9(c)**). A detecção do(s) analito(s) em um analisador em fluxo pode ser realizada das mais diversas formas (**Figura 2.9(d)**).

Dos analisadores elencados na **Figura 2.8**, para melhor entendimento da tese, será discutido, na próxima seção, apenas o sistema em fluxo-batelada (FB).

2.3.1. Sistemas automáticos em fluxo-batelada

Em geral, o sistema automático em fluxo-batelada (FB), conforme descrito na literatura (DINIZ *et al.*, 2012), apresenta melhores características analíticas, como limite de detecção e taxa de amostragem, que outros sistemas automáticos. Outras vantagens, quando comparado aos anteriores, é a facilidade de preparar as soluções de calibração *in-line* e a baixa geração de resíduos por análise, devido à ausência do fluido carregador.

Essas evidentes vantagens do sistema FB perante os outros sistemas deve-se a sua própria configuração. Como pode ser visto no esquema ilustrativo apresentado na **Figura 2.10**, o sistema FB é constituído basicamente das seguintes partes:

- Sistema de propulsão: para efetuar a propulsão dos fluidos no FB, geralmente é utilizado uma bomba peristáltica (**Figura 2.10(a)**), devido a sua capacidade de impulsionar os líquidos por vários canais simultaneamente, mantendo a vazão constante.

- Sistema de adição dos fluidos: no FB, volumes predefinidos e precisos de reagentes e amostras, adicionados ou aspirados da câmara de mistura, são controlados pelas válvulas solenoides (**Figura 2.10(c)**). Outros sistemas de comutação podem ser empregados, como válvulas pinça, válvulas SIA, microbombas (que executam a função da válvula e do sistema de propulsão), etc;

- Câmara de mistura: a câmara de mistura ou câmara reacional (**Figura 2.10(b)**) é uma das principais características do sistema FB. É constituída por uma pequena peça cilíndrica, geralmente de Teflon[®] ou acrílico. Nessa câmara de mistura ocorre a maior parte dos procedimentos analíticos, como por exemplo, a adição, homogeneização, preparo de amostras, reações, acondicionamento dos fluidos, preparo de soluções de calibração, detecção do analito, etc. A eficiente mistura dos fluidos pode ser alcançada pela utilização de uma pequena barra magnética no interior da câmara, sendo o movimento da barra magnética estimulado pelo campo gerado pelo acionamento de um agitador magnético (**Figura 2.10(d)**);

- Sistema de detecção: o dispositivo empregado para detecção (**Figura 2.10(e)**) irá depender do método empregado na análise, podendo ser, caso necessário, integrado à câmara de mistura;

- Sistema de controle: todo o controle do sistema é realizado com o auxílio do computador (**Figura 2.10(f)**), garantindo velocidade e precisão nas análises. Para o controle das válvulas é utilizado um acionador de válvulas (**Figura 2.10(g)**).

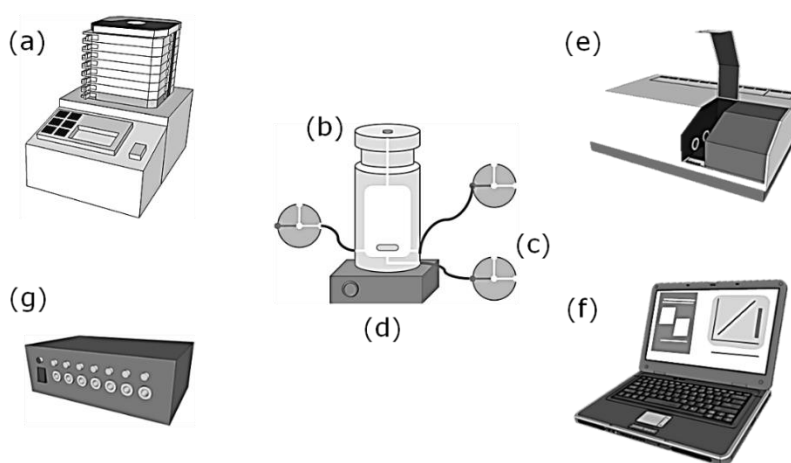


Figura 2.10. Esquema ilustrativo dos principais componentes do sistema em fluxo-batelada. (a) bomba peristáltica, (b) câmara de mistura, (c) válvulas solenoides, (d) agitador magnético, (e) sistema de detecção, (f) computador e (g) acionador de válvulas.

A combinação desses acessórios garante características intrínsecas dos analisadores em fluxo (alta velocidade analítica, baixo consumo de amostra e reagentes, baixo custo de montagem e facilidade de automatização) e dos analisadores em batelada (universalidade de aplicações, robustez e versatilidade), fornecendo ao analisador em fluxo-batelada desempenho como: alta precisão e velocidade analítica, baixo custo por análise, baixo consumo, baixa manipulação e contaminação de reagentes e amostras e geração de pouco resíduo por análise.

Apesar do sistema FB ter sido proposto originalmente, para viabilizar a execução de titulações, empregando o método de Fibonacci para detectar o ponto final (HONORATO *et al.*, 1999), os trabalhos desenvolvidos ao longo dos primeiros anos demonstrou que esse sistema tinha um escopo bastante diferente dos anteriormente propostos e que essa estratégia analítica poderia ser aplicada à outros processos analíticos. E nesse contexto, várias metodologias analíticas têm sido abordadas explorando as características do FB nos últimos 17 anos.

Estratégias de preparo de amostras, como extração líquido-líquido (LIMA *et al.*, 2012a) e digestão (DOMÍNGUEZ, 2012), titulações (OLIVEIRA *et al.*, 2006), adição de padrão (SILVA *et al.*, 2006) e abordagens explorando quimiluminescência (GRÜNHUT *et al.*, 2011), fluorescência (LIMA *et al.*, 2012b), turbidimetria (LIMA *et al.*, 2012c), dentre outras já foram desenvolvidas.

Variações na configuração básica do FB também têm sido realizadas. Almeida e colaboradores (ALMEIDA *et al.*, 2007) desenvolveram um sistema FB utilizando uma bomba pistão acoplada à câmara de mistura para propulsão dos fluidos (**Figura 2.11**).

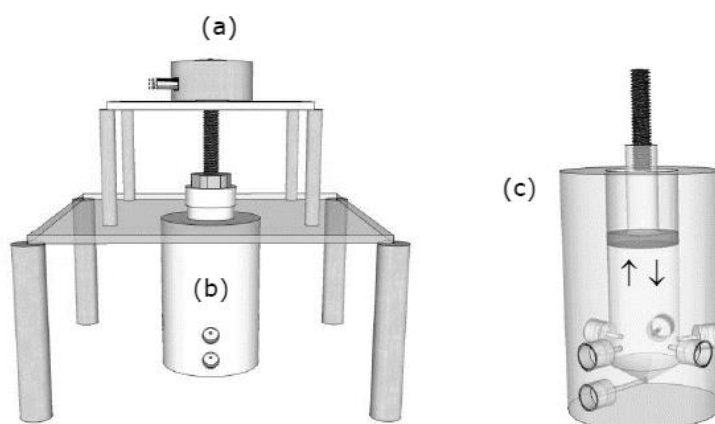


Figura 2.11. Bomba pistão acoplada à câmara de mistura para propulsão dos fluidos em um sistema em fluxo-batelada. (a) motor de passos, (b) câmara de mistura e (c) visualização interna da câmara de mistura com o pistão inserido em seu interior. As setas indicam os sentidos de movimento do pistão.

Nesse tipo de dispositivo a propulsão é promovida dentro da própria câmara de mistura através da ação de um pistão pneumático inserido no seu interior, sendo o seu funcionamento baseado na diferença de pressão dentro da câmara de mistura. Assim, o acoplamento entre a câmara de mistura e o pistão é a unidade de propulsão do analisador, que funciona de forma similar a uma bomba seringa.

Outra modificação no sistema FB foi a sua miniaturização, empregando a técnica de litografia UV em polímero comercial uretana-acrilato para construção da câmara de mistura (MONTE-FILHO *et al.*, 2011). Com essa proposta de redução do sistema, procedimentos analíticos podem ser realizados utilizando um volume total de 200 μL .

Recentemente, uma outra alteração proposta pelo nosso grupo de pesquisa foi a adaptação do sistema FB para execução de métodos que envolvem reações de cinética lenta (BARRETO *et al.*, 2012). Com o chamado sistema em fluxo-batelada monossegmentado (MSFB) foi possível implementar métodos lentos sem perda de sensibilidade ou de frequência analítica.

Diante disso, embora o FB seja uma técnica relativamente recente, comparado aos outros analisadores em fluxo, suas potencialidades já vêm sendo reconhecidas no meio científico, sendo inclusive mencionadas em livros-texto da área (TROJANOWICZ, 2008; KOLEV e MCKELVIE, 2008; IÑÓN e TUBINO, 2008).

2.4. Extração em fase sólida magnética *on-line*

A integração da etapa de preparo da amostra com o método de detecção pode ser realizada de quatro modos diferentes de operação (VERAART *et al.*, 1999), ver **Figura 2.12**.

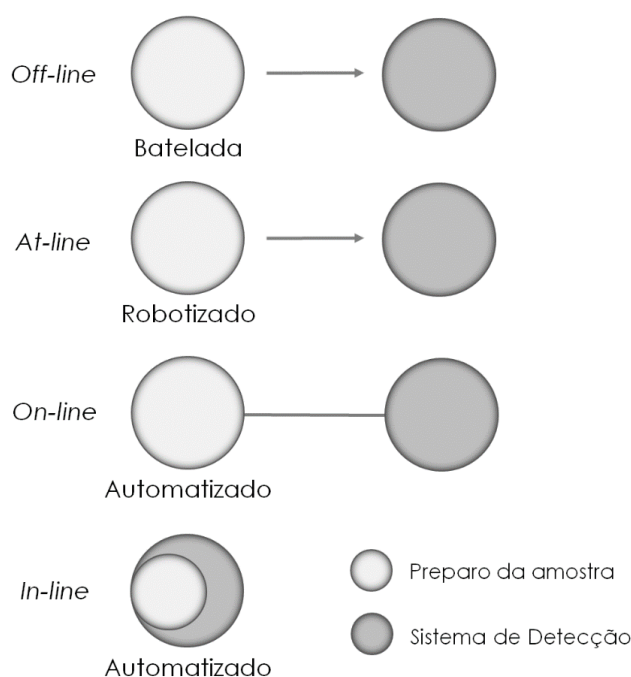


Figura 2.12. Apresentação esquemática dos diferentes tipos de hifenização entre o preparo da amostra e o sistema de detecção. Adaptada da ref (VERAART et al., 1999).

O modo mais empregado é o *off-line*, no qual todas as etapas são realizadas manualmente em batelada pelo analista. Entretanto, a realização das técnicas de preconcentração na forma automática oferece inúmeras vantagens sobre o procedimento em batelada. Maior simplicidade e velocidade, menor consumo de solventes e amostra, redução no risco de contaminação do analista e melhor desempenho analítico, são apenas alguns benefícios inerentes à automação, o que torna atraente o emprego das modalidades *at-line*, *on-line* e *in-line* (WANG e HANSEN, 2003).

O modo *at-line* surge na ocasião em que todas as etapas de tratamento da amostra do modo *off-line* são robotizados. Já quando são conduzidas todas as etapas de preparo da amostra e de detecção integradas e automatizadas, tem-se a modalidade *on-line*. Um aumento na produtividade é alcançado com esse arranjo, pois enquanto a próxima amostra é automaticamente preparada, os analitos da extração anterior são encaminhados para detecção.

No grau mais integralizado, modo *in-line*, ambos os procedimentos são realizados dentro de um mesmo espaço, sem a presença de conectores, tubos ou dispositivos para interligação das etapas.

Embora em termos históricos, tenha ocorrido progresso na utilização de analisadores em fluxo para o preparo de amostras, poucos sistemas têm sido descritos para realização da MSPE *on-line* com fins analíticos. As poucas aplicações são recentes e estão centradas nos

sistemas com injeção em fluxo (FIA) (HUANG *et al.*, 2010; LI *et al.*, 2011; CHEN *et al.*, 2010; CHEN *et al.*, 2013), com injeção sequencial (SIA) (GIAKISIKLI e ANTHEMIDIS, 2013b) ou técnicas relacionadas, como a *lab-on-valve* (WANG *et al.*, 2012; LEE *et al.*, 2009) (Tabela 2.2).

Tabela 2.2. Características analíticas dos estudos que integram a técnica da MSPE *on-line* e os sistemas automáticos em fluxo para determinação de metais.

Sistema	Análito	Amostra	Nanopartículas	Funcionalização	Técnica	Faixa linear	RSD %	Ref.
FIA	Cr (III) Cr (VI)	Água	Fe ₂ O ₃ @SiO ₂	γ-mercaptopropil triethoxisilano	ICP-MS	0,05-100 µg.L ⁻¹	1,9 (0,1 µg.L ⁻¹) 4,5 (0,1 µg.L ⁻¹)	HUANG <i>et al.</i> , 2010
FIA	Ru Rh Pd Pt Ir Au	Biológicas e geológicas	Fe ₂ O ₃ @SiO ₂	γ-mercaptopropil trimetoxisilano	ICP-MS	-	1,2 (30 ng.L ⁻¹) 1,9 (30 ng.L ⁻¹) 2,1 (30 ng.L ⁻¹) 1,4 (30 ng.L ⁻¹) 1,2 (30 ng.L ⁻¹) 1,3 (30 ng.L ⁻¹)	LI <i>et al.</i> , 2011
µ-FIA	Se	Biológicas	Fe ₂ O ₃ @sulfonato de poliestireno	-	ICP-MS	0,2-20 µg.L ⁻¹	5,1-9,3 (2 µg.L ⁻¹)	CHEN <i>et al.</i> , 2013
µ-FIA	Cd (II) Hg (II) Pb (II)	Biológicas	Fe ₂ O ₃ @SiO ₂	γ-mercaptopropil trimetoxisilano	EIV-ICP-MS	0,01-10 µg.L ⁻¹	5,5 (0,1 µg.L ⁻¹) 10,2 (0,1 µg.L ⁻¹) 6 (0,1 µg.L ⁻¹)	CHEN <i>et al.</i> , 2010
SIA	Cd (II)	Água	Fe ₂ O ₃ @SiO ₂	Octadecilsilano (ODS)	ETAAS	9-350 ng.L ⁻¹	3,9 (50 ng.L ⁻¹)	GIAKISIKLI <i>et al.</i> , 2013
SIA-LOV	Co (II)	Água	Fe ₂ O ₃ @Al ₂ O ₃	Dodecil sulfato de sódio (SDS)	ETAAS	0,01-5 µg.L ⁻¹	2,8 (0,5 µg.L ⁻¹)	WANG <i>et al.</i> , 2012
SIA-LOV	Mn (II) Co (II) Cu (II) Zn (II) Pb (II)	Água e urina	Fe ₂ O ₃ @ácido poliacrílico	-	ICP-MS	0,5-50 µg.L ⁻¹	2 (5 µg.L ⁻¹) 1 (5 µg.L ⁻¹) 1 (5 µg.L ⁻¹) 4 (5 µg.L ⁻¹) 3 (5 µg.L ⁻¹)	LEE <i>et al.</i> , 2009

Os diagramas apresentados na **Figura 2.13** foram extraídos de dois trabalhos que ilustram bem as metodologias propostas, até o momento, na literatura.

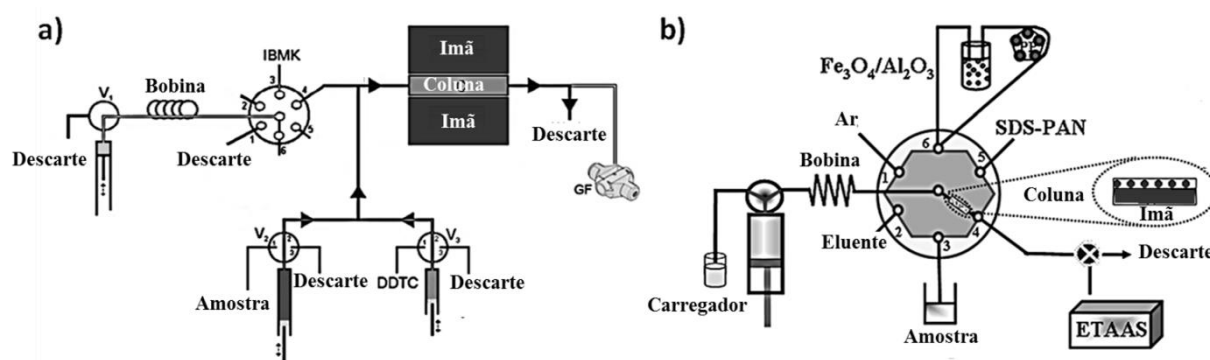


Figura 2.13. Diagramas esquemáticos de duas estratégias de execução da MSPE *on-line*. a) SIA-MSPE (GIAKISIKLI e ANTHERMIDIS, 2013b); b) SIA *lab-on-valve* - MSPE (WANG *et al.*, 2012).

Como pode ser observado na **Figura 2.13**, essas estratégias requerem a imobilização do adsorvente magnético numa coluna. Porém o uso de colunas para execução da MSPE *on-line*, não explora as características intrínsecas da técnica de MSPE *off-line*, como a dispersão do adsorvente e a dispensa de cartuchos, promovendo os problemas abaixo, como mencionado na literatura (GIAKISIKLI e ANTHERMIDIS, 2013a; WUL *et al.*, 2016; PASSOS *et al.*, 2015):

- Minimização do contato entre o adsorvente e o analito, ocasionando menores fatores de enriquecimento;
- Perda de reprodutibilidade dos resultados, uma vez que a formação de canais preferenciais no interior da coluna e a progressiva compactação das nanopartículas (distribuição desigual) são transtornos recorrentes;
- Efeitos de intercontaminação (*carry-over*) são teoricamente mais fáceis de ocorrer;
- Perdas inestimáveis das nanopartículas magnéticas pelo fluxo das soluções durante as etapas do procedimento analítico.

Além desses inconvenientes, um outro, talvez o principal deles, é a dificuldade de reproduzir a confecção da coluna, quando necessitar a sua troca (por desativação da superfície das nanopartículas ou por qualquer outro motivo), uma vez que a imobilização do material adsorvente no tubo não é trivial. Sendo assim, é indispensável a otimização dos parâmetros para revalidação do método de preparo da amostra.

Os problemas acima mencionados afetam de forma adversa o desempenho analítico do sistema e são grandes desafios para o progresso da MSPE, sendo indispensável estudos

que vislumbrem o desenvolvimento de novas estratégias para a efetiva execução da MSPE *on-line* (GIAKISIKLI e ANTHERMIDIS, 2013a).

Diante do exposto e das suas inerentes propriedades, o sistema FB é uma alternativa com potencial para superar tal problemática, uma vez que permite realizar a MSPE *on-line* sem a necessidade de cartuchos para empacotamento do adsorvente magnético.

2.5. Determinação de metais pesados em matrizes aquosas e oleosas

Os metais designados como pesados, podem ser definidos como os elementos químicos que possuem densidade atômica superior a 5 g cm^{-3} (SRIVASTAVA e MAJUMDER, 2008). Tais metais podem se comportar de maneira bastante reativa ou serem bioacumulativos nos organismos animal e vegetal (FU e WANG, 2011).

Metais pesados, como o cádmio e o chumbo, expõe a saúde humana a graves riscos. A exposição crônica ao metal cádmio, por exemplo, resulta em disfunção renal e desordem gastrointestinal grave, podendo resultar em morte, quando em altos níveis de exposição. Já o chumbo pode causar sérios danos ao sistema nervoso central, podendo também danificar órgãos como o rim e o fígado, bem como o sistema reprodutivo (FU e WANG, 2011).

É importante salientar que os metais Cd e Pb são acidentalmente integrados às águas durante a sua distribuição, principalmente pelos encanamentos e as peças metálicas envolvidas no processo (XU *et al.*, 2013). Assim, é necessário estabelecer critérios para assegurar a qualidade da água.

No Brasil, por exemplo, a portaria 2914/2011 do Ministério da Saúde, que substitui a 518/2004, estabelece como valores máximos permitidos para o cádmio e o chumbo, em água para consumo humano, a concentração de $5 \mu\text{g L}^{-1}$ e $10 \mu\text{g L}^{-1}$, respectivamente (BRASIL, 2011).

No caso dos óleos comestíveis, a introdução de cádmio em sua composição está associada aos vários processos da produção, desde o refino da matéria-prima até o envazamento para o consumidor final. Além disso, a presença desse metal também pode estar relacionada a adulterações com produtos de menor qualidade, que estão mais susceptíveis a uma maior carga inorgânica.

Outro efeito negativo, somado à toxicidade, é o fato de que o cádmio presente nos óleos comestíveis acelera a oxidação natural do produto, reduzindo assim o seu prazo de validade, uma vez que atua como catalisador sobre o mecanismo de auto-oxidação dessa matriz (LEPRI *et al.*, 2011).

Muito embora, ainda não exista um limite de concentração predefinido para o teor de cádmio em óleos comestíveis, internacionalmente, procedimentos de avaliação conduzidos por comitês científicos, como o JECFA (*Joint FAO/WHO Expert Committee on Food Additives*), recomendam uma ingestão máxima diária de cádmio e chumbo, considerando todas as fontes (alimento, ar e água), na faixa de 1,0 a 1,2 µg por kg de massa corpórea (FAO, 1972).

Nesse contexto, o monitoramento dessas espécies químicas em amostras de águas e óleos comestíveis pode ser considerado de relevância para a manutenção da saúde humana, sendo ainda um tópico de estudo (GARCÍA *et al.*, 2014; SATARPAI *et al.*, 2016; SANTOS *et al.*, 2014). Contudo, a quantificação desses elementos em baixas concentrações requer a utilização de técnicas analíticas suficientemente sensíveis, o que torna a determinação de elementos em nível traço, nessas matrizes, honerosa e dispendiosa, principalmente nas matrizes oleosas, devido a complexidade e elevada carga orgânica da amostra (KARA, 2015; BURGUERA e BURGUERA, 2011). Nesse sentido, para matrizes oleosas, uma etapa de tratamento eficiente, aliada a uma técnica sensível e seletiva de detecção é um passo essencial e desafiador (BURGUERA e BURGUERA, 2011).

As estratégias de extração comumente empregadas nesse caso é a mineralização da amostra por via seca (ANWAR *et al.*, 2004) ou via úmida (BAKKALI *et al.*, 2012). No entanto, a elevada dissolução, ao final do procedimento analítico, pode prejudicar o limite de detecção, bem como aumentar o risco de contaminação das amostras e perda do analito.

Por essas razões, várias pesquisas empregando a espectrometria de emissão atômica por plasma indutivamente acoplado (ICP AES), espectrometria de massa com plasma indutivamente acoplado (ICP-MS) e espectrometria de absorção atômica (AAS), usado especialmente no modo de atomização eletrotérmica (ET-AAS), aliada a técnicas de preparo de amostras como extração em fase sólida (KOWALEWSKA *et al.*, 2005; ASCI *et al.*, 2008), microextração líquido-líquido dispersiva (GARCÍA *et al.*, 2014), microemulsões (JIMENEZ *et al.*, 2003; NUNES *et al.*, 2011), diluições orgânicas (CHAVES *et al.*, 2011), dentre outras (LEPRI, 2011 e KARA *et al.*, 2015) têm sido propostas.

Para qualquer que seja o método utilizado, é evidente que a determinação de baixas concentrações de metais em óleos comestíveis é uma tarefa complicada, e a dificuldade em reproduzir os experimentos aumenta à medida que se diminui a concentração do analito. Com relação ao nível de concentração de cádmio, limites de detecção de 0,4 (DALEN, 1996), 1,5 (MENDIL *et al.*, 2009) e 44 ng.g⁻¹ (JURANOVIC *et al.*, 2003) são relatados para ET-AAS, ICP-MS e ICP-AES, respectivamente.

Assim sendo, combinar a alta sensibilidade da ET-AAS com a técnica de extração em fase sólida magnética, no modo automático, como única etapa de preparo da amostra, pode determinar baixas concentrações do analito, com mínima manipulação da amostra e considerável confiabilidade nos resultados.

No entanto, até o presente momento, essa alternativa não foi descrita na literatura para o isolamento e enriquecimento de metais em matrizes viscosas, sendo ainda um extenso campo a ser explorado, na direção de novas aplicações e metodologias analíticas.

Aqui é importante mencionar que, embora a manipulação de matrizes viscosas em sistemas automáticos em fluxo não seja trivial, estratégias de se trabalhar com elas têm sido propostas (RIBEIRO e ROCHA, 2013; BATISTA *et al.*, 2014), inclusive por nosso grupo de pesquisa (BARRETO *et al.*, 2013; LIMA *et al.*, 2015).

3

Experimental

3.1. Síntese das nanopartículas magnéticas

3.1.1. Reagentes e solventes

Os reagentes e os solventes utilizados para síntese das nanopartículas magnéticas, bem como suas procedências, encontram-se listados na **Tabela 3.1**. Essas substâncias foram utilizadas sem nenhum tratamento prévio.

Tabela 3.1. Reagentes utilizados na síntese das nanopartículas magnéticas e suas procedências.

Reagente	Procedência
Ácido clorídrico	Vetec
Hidróxido de sódio	Vetec
Etanol anidro	Sigma-Aldrich
Cloreto de ferro(III) hexahidratado	Sigma-Aldrich
Cloreto de ferro(II) tetrahidratado	Sigma-Aldrich
Isopropóxido de alumínio	Sigma-Aldrich
1-(2-piridilazo)-2-naftol (PAN)	Sigma-Aldrich
Dodecil sulfato de sódio (SDS)	Merck

A água deionizada empregada, quando necessário, foi produzida a partir do sistema Milli-Q (*Millipore Corporation*) com resistividade $\geq 18,2 \text{ M}\Omega \text{ cm}^{-1}$. O gás nitrogênio empregado foi o ultrapuro (Linde gás).

O complexante PAN foi utilizado em solução alcoólica. Essa solução foi preparada empregando 0,25 g do quelante em 100 mL de etanol.

3.1.2. Procedimento de síntese das nanopartículas magnéticas

O procedimento de síntese das nanopartículas magnéticas de Fe_3O_4 revestidas com Al_2O_3 e funcionalizadas com dodecil sulfato de sódio (SDS) e 1-(2-piridilazo)-2-naftol (PAN) foi realizado em três etapas, conforme ilustrado na **Figura 3.1**.

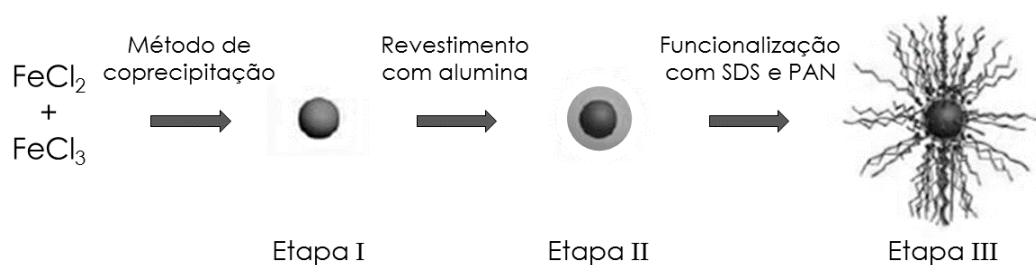


Figura 3.1. Etapas envolvidas no procedimento de síntese do adsorvente magnético.

Na primeira etapa do procedimento de síntese do adsorvente magnético tem-se a formação do núcleo de magnetita. Na sequência, ao longo da segunda etapa, esse núcleo nanoestruturado é recoberto com alumina. Por último, na terceira etapa, é realizada a funcionalização das nanopartículas magnéticas com o surfactante SDS e o complexante PAN.

3.1.2.1. Síntese do núcleo de Fe_3O_4

A síntese do núcleo das nanopartículas magnéticas foi realizada pelo processo químico de coprecipitação, semelhante ao procedimento reportado por Kang e colaboradores (KANG *et al.*, 1996).

Inicialmente, num balão de três vias com 25 mL de água deionizada foram acrescentados e dissolvidos, à temperatura ambiente, 2,0 g de cloreto de ferro(II) tetra hidratado ($\text{FeCl}_2 \cdot 4\text{H}_2\text{O}$), 5,2 g de cloreto de ferro(III) hexa hidratado ($\text{FeCl}_3 \cdot 6\text{H}_2\text{O}$) e 0,85 mL de ácido clorídrico (12 mol L^{-1}). Em seguida, à temperatura de 80°C , foi adicionado 250 mL de NaOH ($1,5 \text{ mol L}^{-1}$) gota a gota, sob agitação vigorosa (800 rpm) e fluxo de nitrogênio. Nesse momento, observa-se com o gotejamento da base, o surgimento imediato de um precipitado negro na solução, evidenciando a formação dos óxidos de ferro. A solução resultante permaneceu nessas condições por 2 h.

Em seguida, o sistema foi resfriado à temperatura ambiente pela remoção da fonte de calor e o sólido resultante separado do meio de reação sob a ação do campo magnético e lavado cinco vezes ($5 \times 50 \text{ mL}$) com água deionizada e seco a 60°C na estufa.

O procedimento descrito acima, para síntese das nanopartículas magnéticas de Fe_3O_4 está sucintamente representado na **Figura 3.2**.

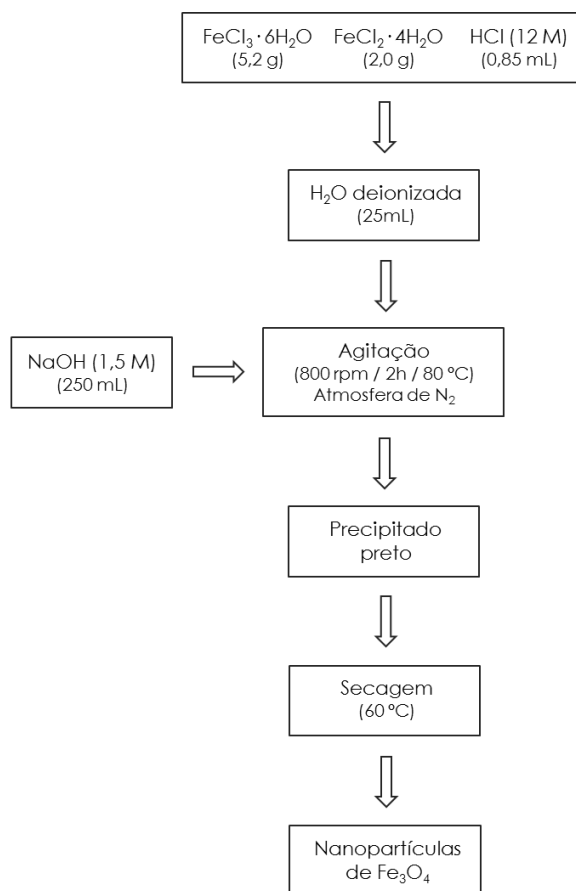


Figura 3.2. Fluxograma do processo de síntese das nanopartículas de Fe₃O₄.

3.1.2.2. Revestimento do núcleo de Fe₃O₄ com Al₂O₃

O recobrimento das nanopartículas de óxido de ferro com alumina foi realizado seguindo o procedimento descrito anteriormente na literatura (LI *et al.*, 2007). Nesse processo, 1,0 g do isopropóxido de alumínio foi dissolvido em 60 mL de etanol. Posteriormente, 0,1 g de Fe₃O₄ nanoparticulado foi acrescentado à solução e solubilizado por 5 minutos com o auxílio do ultrassom. A essa suspensão foi adicionado 100 mL de etanol lentamente e a mistura agitada vagarosamente por 30 min à temperatura ambiente. Por fim, com a ajuda de um imã, o sobrenadante foi descartado e o precipitado lavado cinco vezes (5 x 50 mL) com etanol. O material resultante foi seco na estufa (60 °C) e encaminhado para mufla, onde foi efetuado um tratamento térmico durante 6h.

Esse tratamento teve como finalidade eliminar grupos hidroxilo e aumentar o grau de cristalinidade da amostra. A temperatura inicial foi de 25 °C e foi aumentando até a temperatura de 500 °C, com uma taxa de aquecimento de aproximadamente de 4 °C/min.

A amostra permaneceu a 500 °C durante duas horas e o resfriamento foi realizado na própria mufla até a temperatura ambiente.

Todo o procedimento realizado para o revestimento das nanopartículas magnéticas de Fe_3O_4 está representado de forma simplificada na **Figura 3.3**.

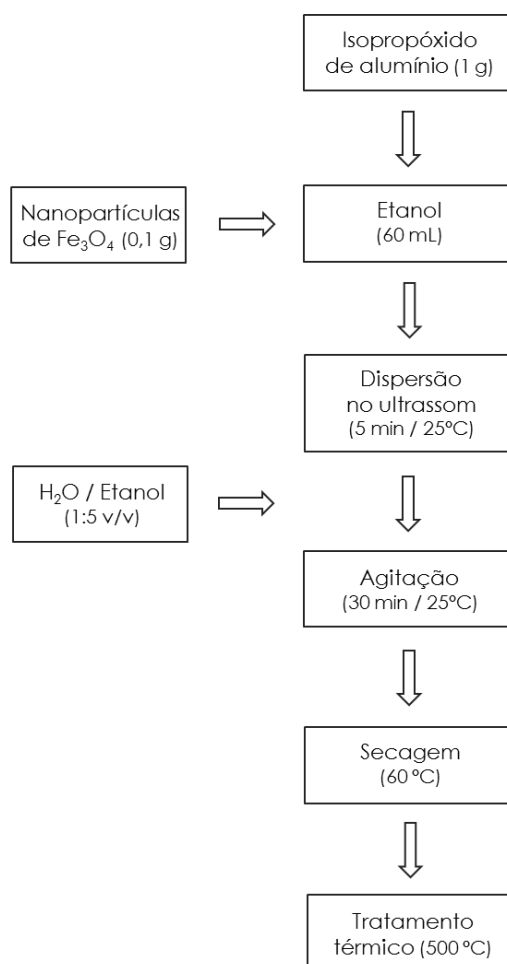


Figura 3.3. Fluxograma do processo de revestimento das nanopartículas de Fe_3O_4 com alumina.

3.1.2.3. Funcionalização das nanopartículas de $\text{Fe}_3\text{O}_4@ \text{Al}_2\text{O}_3$

Em linhas gerais, a funcionalização das nanopartículas magnéticas seguiu o procedimento descrito por Shemirani e Akhavi (SHEMIRANI e AKHAVI, 2001). Inicialmente, 1,5 g de nanopartículas magnéticas de $\text{Fe}_3\text{O}_4@ \text{Al}_2\text{O}_3$, 100 mg do surfactante SDS e 1 mL da solução do complexante PAN foram misturados com um volume final de 100 mL de etanol. O pH foi ajustado a aproximadamente 1 com uma solução de HCl (3 mol L^{-1}).

Na etapa seguinte, a mistura foi submetida a uma agitação mecânica em baixa rotação, 200 rpm, durante 15 minutos. Finalmente, as nanopartículas magnéticas de $\text{Fe}_3\text{O}_4@\text{Al}_2\text{O}_3$ funcionalizadas com SDS e PAN foram isoladas sob a ação de um campo magnético externo. O sobrenadante foi descartado e o conteúdo restante lavado com etanol (3 x 50 mL).

3.2. Caracterização das nanopartículas magnéticas

Mediante os três estágios de síntese das partículas utilizadas neste trabalho, dois métodos de caracterização foram aplicados: a microscopia eletrônica de varredura (MEV), para caracterização das amostras quanto à sua morfologia e distribuição dos tamanhos e a difração de raios-X (DRX), para caracterização cristalográfica das nanopartículas magnéticas.

3.2.1. Microscopia eletrônica de varredura (MEV)

Para análise da morfologia e das características nanoestruturais das partículas obtidas, após a síntese do núcleo de Fe_3O_4 e revestimento com Al_2O_3 , fez-se uso de um microscópio eletrônico de varredura, marca ZEISS DSM, modelo 940 A. As amostras foram dispersas em acetona, gotejadas no suporte do porta-amostra do MEV (*stub*) e deixadas para secagem. Antes das análises ocorrerem, as partículas foram recobertas com uma fina camada de ouro (aproximadamente 40 nm), com o objetivo de garantir uma melhor condutividade dos elétrons na sua superfície e melhorar a resolução das micrografias, tornando-as mais nítidas. O metalizador *Mtech*, modelo K 550X, foi empregado para realizar a deposição do ouro, pela técnica de *sputtering*, no material sintetizado. Todas as análises foram realizadas no Laboratório de Solidificação Rápida (LSR), no Departamento de Engenharia Mecânica/CT da UFPB.

3.2.2. Difratometria de raios-X

Para confirmar a constituição do núcleo e do revestimento das nanopartículas magnéticas sintetizadas a técnica de difratometria de raios-X foi empregada. Os materiais secos foram compactados em porta-amostras, antes das análises. Os difratogramas de raios X foram obtidos utilizando um difratômetro, marca *Shimadzu*, modelo XRD - 6000, na faixa de $2\theta = 10 - 80^\circ$, com um passo de $2^\circ/\text{min}$ e tempo de passo de 0,60 segundos, utilizando como fonte de radiação monocromática a radiação $\text{K}\alpha$ de cobre. Os resultados obtidos foram comparados com os padrões cristalográficos do banco de dados do JCPDS (*Joint Committee on Powder*

Diffraction Standards). Todos os ensaios foram realizados no Laboratório de Combustíveis e Materiais (LACOM) da Universidade Federal da Paraíba (UFPB).

3.3. Determinação de metais em amostras de água e óleo comestível

3.3.1. Reagentes, soluções e solventes

Os reagentes e os padrões utilizados durante o procedimento analítico, bem como suas procedências, encontram-se listados na **Tabela 3.2**.

Tabela 3.2. Reagentes e soluções utilizados no procedimento analítico e suas procedências.

Reagente/solução	Procedência
Ácido nítrico ultrapuro	Merck
Ácido clorídrico	Vetec
Hidróxido de sódio	Vetec
Etanol anidro	Sigma-Aldrich
Álcool isopropílico	Synth
Clorofórmio	Synth
Padrão aquoso de 1000 mg L ⁻¹ Cd(II)	Fluka
Padrão aquoso de 1000 mg L ⁻¹ Pb(II)	Fluka
Padrão organometálico certificado de 100 mg.kg ⁻¹ Cd	Quimlab
Óleo mineral	Sigma-Aldrich
Nitrato de magnésio	Merck
Di-hidrogenofosfato de amônio	Merck

Da mesma forma que na etapa da síntese, a realização de todo o processo analítico utilizou-se de água previamente destilada e deionizada (sistema de deionização Milli-Q *Millipore Corporation*), apresentando condutividade $\geq 18,2 \text{ M}\Omega \text{ cm}^{-1}$.

O modificador químico foi preparado para as determinações diluindo 1 mL de uma solução estoque de 1 g L⁻¹ de NH₄H₂PO₄ e 0,1 mL de uma solução estoque de 1 g L⁻¹ de Mg(II), completando o volume de 10 mL com água deionizada.

Soluções de trabalho de Cd(II) e Pb(II) foram preparadas pela adequada diluição das soluções estoque com água deionizada e acidificadas com solução de 1% HNO₃. Para a preparação das soluções de trabalho de cádmio organometálico, diluições apropriadas foram realizadas empregando óleo mineral. Todas as soluções foram preparadas anteriormente às análises.

3.3.2. Amostras

Para a avaliação do método proposto seis amostras de água de abastecimento foram coletadas em torneiras de diferentes locais de João Pessoa, Paraíba, Brasil. Em seguida as amostras foram filtradas empregando um papel de filtro com membrana de celulose 0,45 µm (*Whatman*), acidificadas com 1,0 mL de ácido nítrico 0,1 mol L⁻¹ e armazenadas em recipientes de polietileno antes das análises.

Para as análises com matrizes oleosas, oito amostras de óleos comestíveis de diferentes marcas foram analisadas, sendo duas de cada tipo: canola, milho, girassol e soja. Todas as amostras foram adquiridas no mercado local da cidade de João Pessoa, Paraíba, Brasil, dentro do prazo de validade e de diferentes lotes.

3.3.3. Otimização das condições da MSPE de Cd e Pb em água

Para a execução da primeira etapa do procedimento analítico, as melhores condições da extração em fase sólida magnética de Cd e Pb em água foram investigadas. Dessa forma, a partir das soluções de trabalho, buscou-se as condições adequadas para o preparo das amostras.

Foram estudados os seguintes parâmetros: influência do pH na adsorção dos metais, quantidade de adsorvente necessário para extração, tempo de extração e dessorção e tipo e concentração do eluente.

Para avaliação do efeito que o pH provoca na adsorção de Cd e Pb, o intervalo de 4,0 a 10,0 foi estudado. O ajuste do meio reacional foi realizado empregando soluções de 1,0 mol L⁻¹ de NaOH ou 1,0 mol L⁻¹ de HCl, em concordância com a literatura (EZZODIN *et al.*, 2010).

Na execução desse estudo, o procedimento da MSPE foi reproduzido em batelada, empregando 50,0 mL de um padrão de 1,0 µg L⁻¹ de Cd ou Pb e nanopartículas magnéticas (NPM) dispersas em etanol na concentração de 50,0 mg L⁻¹. É importante salientar que essa

quantidade de NPM garante um excesso de adsorvente no meio de extração, conforme apontado na literatura (TAVALLALI, 2011a; TAVALLALI, 2011b) e verificado nos ensaios.

Selecionada a faixa de trabalho do pH para a adsorção de Cd e Pb, e considerando que a quantidade de adsorvente disponível no meio reacional influencia diretamente na obtenção de adsorções quantitativas dos metais analisados, essa variável foi investigada na sequência. Para a realização desse estudo o procedimento analítico foi reproduzido, de forma automática, empregando 4,0 mL de soluções padrão $5,0 \mu\text{g L}^{-1}$ de Cd e Pb. A quantidade de NPM adicionadas variou na faixa de 0,1 a 1,2 mg com o objetivo de confirmar os valores relatados na literatura para essa análise. Convém mencionar que para adicionar no sistema, essas foram dispersas em etanol.

Considerando que um tempo insuficiente de contato entre o analito e o adsorvente diminui o nível de recuperação e que o uso de tempo extra reduz a frequência analítica, a otimização desse parâmetro também foi realizada. Dessa maneira, em ordem de promover recuperações quantitativas no menor intervalo de tempo possível, a relação do tempo na adsorção de Cd e Pb foi investigado no intervalo de 0 a 5 min. Para esses ensaios, o sistema automático foi empregado utilizando os fatores anteriormente determinados.

Para o estudo da eficiência de eluição de Cd e Pb em água, alguns experimentos foram realizados, conforme recomendado na literatura (EZZODIN *et al.*, 2010). Assim, diferentes ácidos de distintas concentrações foram utilizados. Foram eles: HCl, na concentração de 1,0 e 2,0 mol L⁻¹ e HNO₃, na concentração de 1,0, 2,0 e 4,0 mol L⁻¹. Além disso, também foi observado o tempo necessário para promover a dessorção do Cd e do Pb em águas.

3.3.4. Otimização das condições da MSPE de Cd em óleos comestíveis

Vários ensaios químicos, empregando metodologia semelhante à descrita na seção anterior, foram executados para escolha dos valores ótimos dos parâmetros que influenciam a adsorção de Cd em óleos comestíveis.

O primeiro desses ensaios consistiu na escolha de um solvente apropriado para diluir o óleo, pois verificou-se que, devido a viscosidade da matriz, o adsorvente magnético não apresentava dispersão uniforme. Assim, experimentos com diversos solventes e misturas orgânicas foram realizados. Esses ensaios foram norteados por trabalhos, envolvendo matrizes oleosas do nosso grupo de pesquisa (BARRETO *et al.*, 2013; LIMA *et al.*, 2015) e abarcaram como solventes o metil-isobutil-cetona, clorofórmio, álcool isopropílico, etanol, metanol, bem como misturas desses.

De forma análoga a realizada nas amostras de água, a quantidade de adsorvente necessário para perfazer uma extração quantitativa foi investigada na faixa de 0,1 a 1,0 mg de nanopartículas magnéticas para extração em óleo comestível. Para isso, um volume de 2,5 mL do padrão com concentração $5,0 \mu\text{g L}^{-1}$ de Cd foi adotado para os estudos.

Com intuito de otimizar o tempo de adsorção estudos foram conduzidos empregando o sistema automático, após a seleção da quantidade de adsorvente ideal para realizar a extração. As partículas magnéticas foram dispersas na amostra de óleo, concentração $1,0 \mu\text{g L}^{-1}$ de Cd, permanecendo sob agitação no intervalo de tempo de 0 a 5 min.

Para seleção do eluente adequado para o procedimento de extração de Cd em óleos comestíveis diferentes substâncias e misturas em distintas concentrações foram utilizadas. Solventes como o hexano, metil-isobutil-cetona e ácido como o ácido nítrico e clorídrico foram empregados. Nessa etapa também foi observado o tempo requerido para promover a dessorção do analito.

3.3.5. Determinação dos analitos por GF AAS

Um espectrômetro de absorção atômica em forno de grafite, modelo AA-6800, equipado com lâmpada de deutério para a correção da radiação de fundo, com amostrador automático, modelo ASC 6100, e tubo de grafite pirolítico de aquecimento longitudinal foi utilizado para análise do teor de cádmio e chumbo nas amostras após a extração em fase sólida magnética.

Foi empregada uma lâmpada de catodo oco com abertura de fenda de 0.7 mm e com linha de ressonância 217,0 nm foi empregada para determinação de chumbo. Já para a determinação de cádmio uma outra lâmpada de catodo oco foi empregada com linha de ressonância de 228,8 nm e mesma abertura de fenda. O Argônio (99.999%) foi utilizado como gás inerte em todas as medidas, sendo essas realizadas em unidades de absorbância integradas. O volume de 20 μL foi utilizado para a introdução das soluções no forno de grafite.

O programa de aquecimento do forno de grafite, empregado para obtenção das curvas de pirólise e atomização do chumbo e do cádmio, pode ser visualizado na **Tabela 3.3** e **3.4**, respectivamente.

Tabela 3.3. Programa de pirólise e atomização para a determinação de chumbo.

Temperatura (°C)	Tempo (s)	Modo de aquecimento
150	20	Rampa
250	10	Rampa
800	10	Rampa
800	10	Step
800	3	Step
2400	2	Step
2500	2	Step

Tabela 3.4. Programa de pirólise e atomização para a determinação de cádmio.

Temperatura (°C)	Tempo (s)	Modo de aquecimento
150	20	Rampa
250	10	Rampa
500	10	Rampa
500	10	Step
500	3	Step
2200	2	Step
2400	2	Step

Anteriormente às medidas foi feita a limpeza dos materiais de trabalho. Esses foram imersos em solução de detergente neutro por pelo menos 3 horas. Em seguida, foram enxaguados com água corrente, e submetidos a três lavagens com água deionizada. O material foi então imerso em solução de HNO₃ 10% (v/v) por 24 horas. Após o enxágue com água deionizada, o material foi colocado para secar em posição invertida e protegido de partículas suspensas no ar.

3.4. Desenvolvimento do sistema automático

3.4.1. Equipamentos e montagem

O equipamento construído e empregado no presente trabalho pode ser dividido, didaticamente, em dois módulos: o sistema automático em fluxo-batelada (FB) e o sistema magnético-mecânico (SMM).

Para a montagem do sistema automático foram empregados os equipamentos e componentes relacionados abaixo:

- Uma câmara de extração;
- Um motor de *drive* de CD/DVD;
- Uma bomba peristáltica;
- Tubos de bombeamento dos fluidos;
- Frasco (vial) em polietileno;
- Seis válvulas solenoides;
- Um acionador de válvulas;
- Uma interface;
- Um microcomputador.

Na **Figura 3.4** é apresentada a fotografia do sistema com as indicações dos seus componentes, especificados e comentados nos tópicos seguintes.

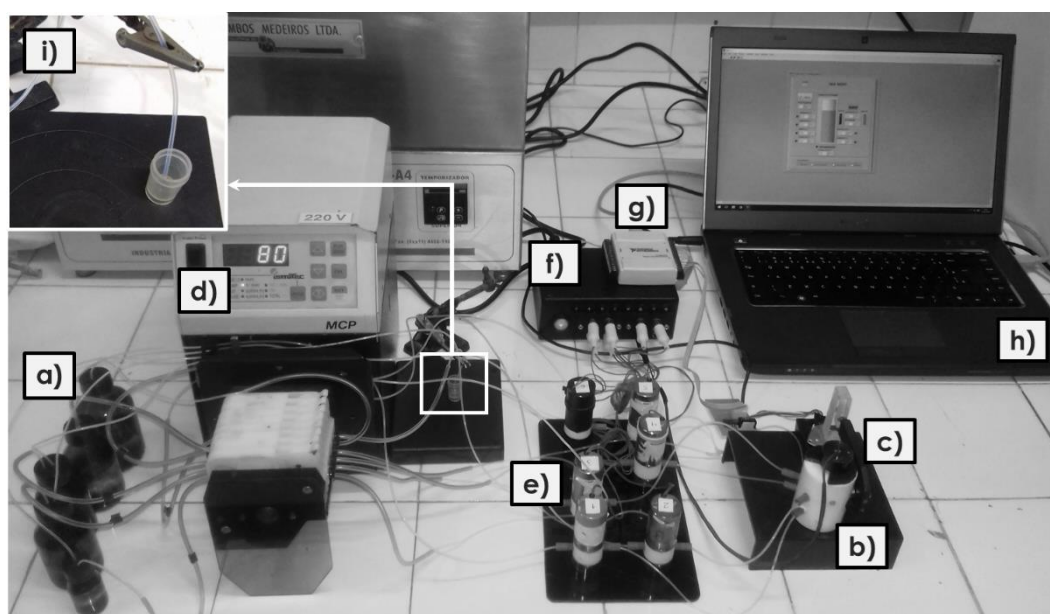


Figura 3.4. Fotografia do sistema automático em fluxo batelada. (a) recipientes dos fluidos, (b) câmara de extração, (c) motor de *drive*, (d) bomba peristáltica, (e) válvulas solenoides, (f) acionador de válvulas, (g) interface, (h) microcomputador e (i) detalhe do armazenamento das soluções no frasco em polietileno.

A câmara de extração (CE) foi confeccionada em politetrafluoretileno, comercialmente conhecido como Teflon[®], contendo uma janela de quartzo, quatro canais de entrada, um canal de saída e um volume interno de 5 mL, aproximadamente. A janela de quartzo foi requerida para promover uma maior proximidade entre o interior da CE e o ímã de neodímio (NdFeB), utilizado para geração do campo magnético para retenção das partículas magnéticas.

No interior da câmara foi alocada uma haste de Teflon[®] de 0,8 mm de diâmetro, com uma das extremidades achatada e a outra conectada a um motor de *drive* de CD/DVD-ROM (modelo MDN3GT3CPAC, 2000 rpm, 12 V) para promover a homogeneização dos fluidos e auxiliar na dispersão das partículas magnéticas.

Uma bomba peristáltica Ismatec[®], (modelo IPC 78002-00) equipada com 8 canais, seis válvulas solenoides *three-way* da Cole Parmer[®] (modelo EW-01540-13) e tubos de bombeamento de Viton[®], Teflon[®] e Tygon[®] foram empregados para propulsão e direcionamento dos fluidos à CE.

Frascos em polietileno com 2 mL de volume total foram utilizados para armazenar as soluções preparadas no sistema automático FB. Na sequência, esses recipientes foram alocados no amostrador do espectrômetro de absorção atômica em forno de grafite para posterior detecção. Assim, devido ao impedimento para sincronização do sistema proposto com o amostrador do instrumento, a transferência do frasco ocorreu no modo *off-line*.

Para controlar o acionamento do motor de *drive* e abertura/fechamento das válvulas solenoides um acionador de válvulas foi construído no nosso laboratório. O acionador é baseado em um circuito integrado ULN2803, fabricado pela Toshiba composto por um arranjo de oito transistores do tipo *Darlington*, apropriados para suportar alta tensão e corrente. O uso desse dispositivo possibilita o controle simultâneo, ou independente, de até 8 portas de saída. Na **Figura 3.5** é apresentado o diagrama do circuito eletrônico do acionador e sua comunicação com as válvulas solenoides e a interface NI USB-6009, da *National Instruments*[®].

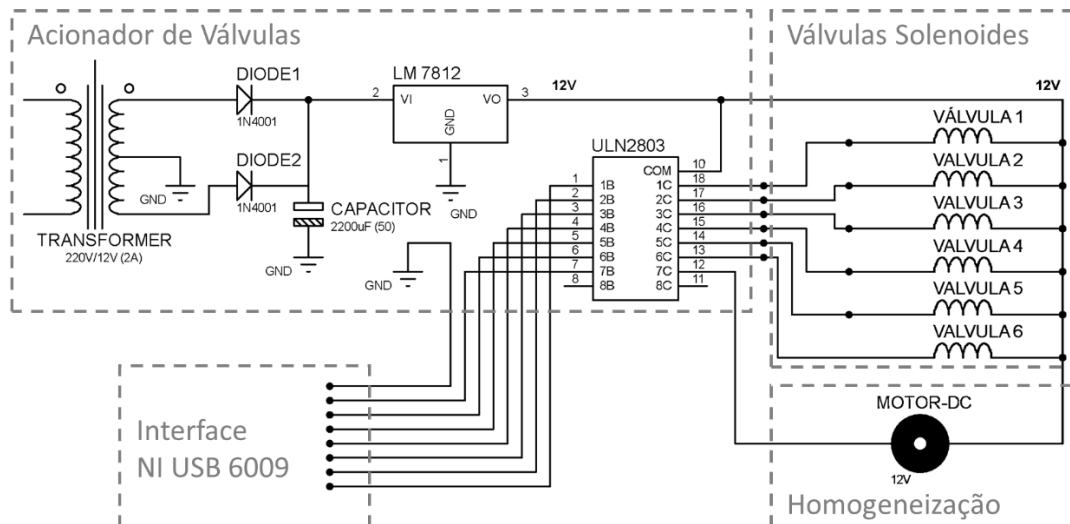


Figura 3.5. Diagrama esquemático da ligação entre o acionador, as válvulas solenoides, motor de *drive* e a interface NI USB-6009.

As válvulas solenoides e o motor de *drive* são alimentados com uma tensão de 12 V, e são acionados quando o ULN2803 recebe uma tensão superior a 3,8 V em suas portas de entrada, gerando uma corrente de 150 mA nas portas de saída, onde estão conectadas as válvulas e os motores. O comando de acionamento é realizado via notebook, que utiliza uma interface de controle NI USB- 6009, a qual é conectada às portas de entrada do ULN2803 presente no acionador de válvulas.

Para a aproximação e distanciamento do campo magnético nas paredes da CE, foi construído um sistema magnético-mecânico (SMM). Os principais componentes para a construção desse dispositivo foram: um motor de passo, um braço confeccionado em acrílico e ímãs de neodímio.

O circuito eletrônico de controle do motor de passo foi construído no nosso laboratório e o seu diagrama é apresentado na **Figura 3.6**. O motor de passo unipolar com 4 fases (L1, L2, L3 e L4), modelo 28BYJ-48, é alimentado com uma tensão de 12 V e uma corrente de cerca de 150 mA, fornecida pelo circuito integrado ULN 2803.

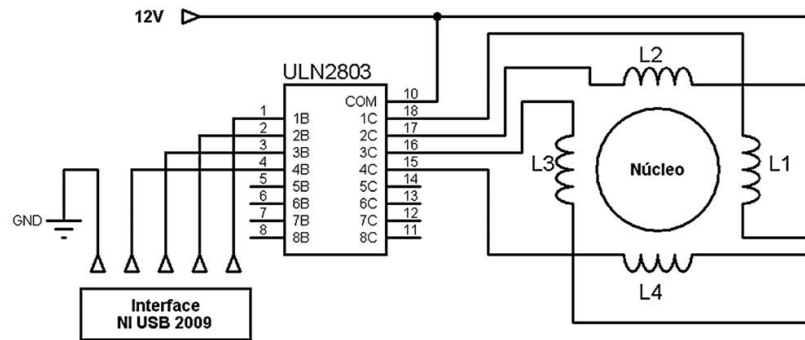


Figura 3.6. Circuito para acionamento do motor de passo. Onde: L1, L2, L3 e L4 são as bobinas do motor de passo.

A forma de operação do motor de passo ocorre a partir do acionamento sequencial das bobinas. A **Tabela 3.5** apresenta a sequência de acionamento das bobinas do motor de passo. Caso haja a necessidade da alteração da direção do motor basta inverter a sequência dos passos. Para completar um giro de 360° em seu eixo, o motor de passo utilizado necessita de 48 passos.

Tabela 3.5. Sequência de acionamento do das bobinas do motor de passo. Onde: 1 = acionada; 0 = não acionada.

Passo	Bobina 01	Bobina 02	Bobina 03	Bobina 04
01	1	0	0	0
02	0	1	0	0
03	0	0	1	0
04	0	0	0	1

Duas barras confeccionadas em acrílico foram empregadas para a construção do braço do SMM. O braço foi acoplado ao pino do motor de passo, de forma que seu giro promovesse o deslocamento do ímã de neodímio (NdFeB) e consequentemente, a aproximação ou distanciamento do campo magnético em relação a câmara de extração, conforme mostrado na **Figura 3.7 (a) e (b)**, respectivamente.

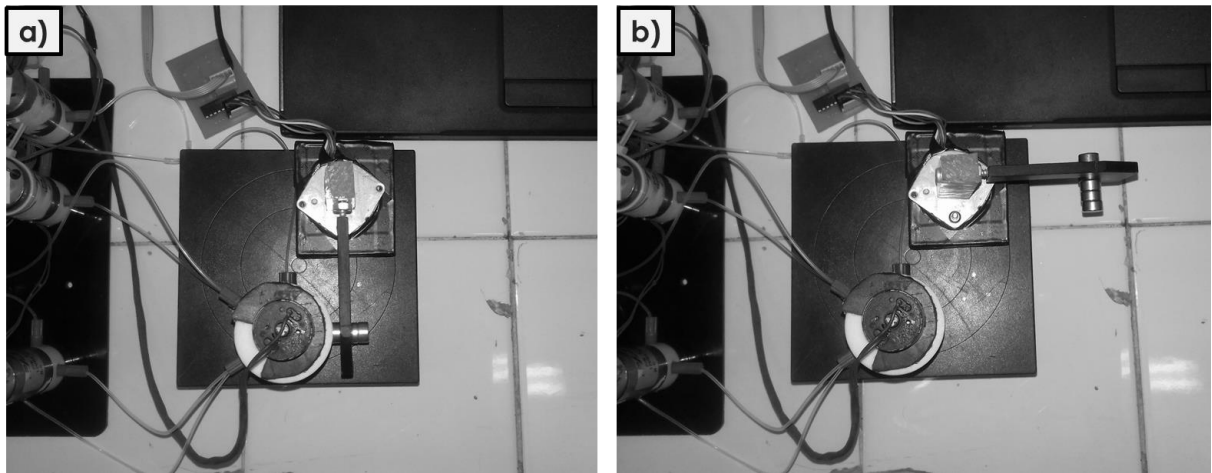


Figura 3.7. Detalhes do sistema magnético-mecânico. Posição de (a) aproximação e de (b) distanciamento do campo magnético em relação a câmara de extração.

O diagrama esquemático do SMM, com as dimensões dos componentes empregados na sua construção, é exposto na **Figura 3.8**.

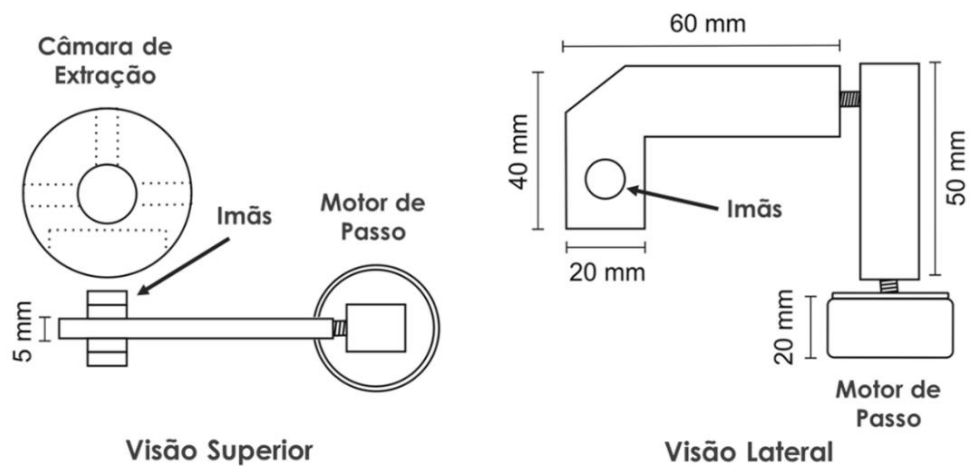


Figura 3.8. Diagrama esquemático do sistema magnético-mecânico (SMM).

3.4.2. Desenvolvimento do *software* de controle

Para controle e gerenciamento do sistema automático proposto foi desenvolvido um programa escrito em linguagem de programação gráfica, empregando o *software* LabVIEW 2013. A interface desse programa de controle (ver **Figura 3.9**) é simples e encontra-se dividida conforme os procedimentos a ele atribuídos.

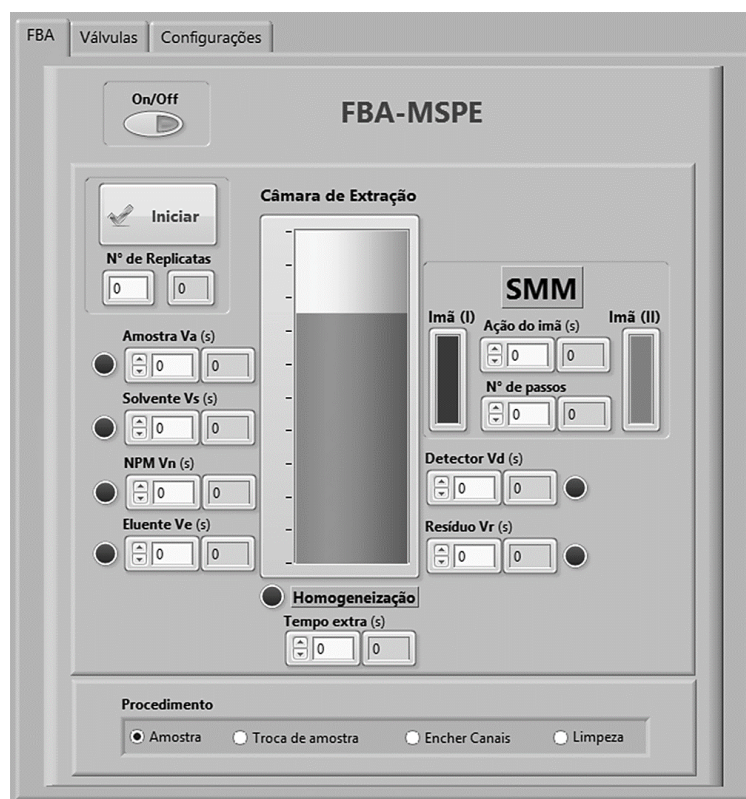


Figura 3.9. Interface do programa de controle do sistema automático proposto.

O programa desenvolvido foi dividido em três abas apresentadas no painel frontal. Na aba FBA (ver **Figura 3.9**) o usuário controla as inúmeras etapas da análise do sistema FBA-MSPE. O tempo de abertura das válvulas da amostra, solventes, nanopartículas magnéticas, eluente, detector e descarte são configurados em suas respectivas caixas de controle digital e são dependentes do tempo, que deve ser inserido em segundos pelo usuário. Dessa forma, o analista pode implementar procedimentos analíticos, como a curva analítica, configurando apenas os parâmetros de tempo de abertura das válvulas de acordo com o procedimento desejado.

Antes da análise, o usuário deve selecionar o tipo de análise, clicando nas opções disponíveis na caixa de controle “Procedimento”. Nela o usuário poderá optar entre realizar a análise de “Amostra”, “Troca de amostra”, “Encher canais” e “Limpeza”.

Para executar o procedimento de limpeza da câmara de extração, o operador deve selecionar a opção “Limpeza”, na caixa de controle “Procedimento”, especificar o tempo de acionamento da válvula V_R e o número de ciclos de limpeza em suas respectivas caixas de controle e logo em seguida acionar o botão “Iniciar”.

Ainda na primeira aba, o programa também permite o controle do SMM, onde são informados os números de passos (“n° de passos”), necessários para aproximação e distanciamento do campo magnético em relação a câmara de extração, e o tempo de ação (“Ação do imã”) do campo magnético em segundos.

Na aba “Configurações” da interface do programa, também é possível controlar os parâmetros de comunicação e controle da interface NI USB 6009 e da bomba peristáltica utilizados no sistema em fluxo-batelada (Ver **Figura 3.10**). São inseridos dados como velocidade de rotação da bomba peristáltica, e o endereçamento das portas de comando das válvulas e do motor de passo.

The screenshot shows the 'Configurações' (Settings) tab of a software interface. It is organized into three main sections:

- Bomba peristáltica:** Includes a 'Checar' (Check) button, a 'Port. B. Peristáltica' dropdown menu set to 'COM1', and a 'Desligada' (Off) status indicator.
- Rotação da bomba peristáltica:** A grid of six RPM settings for different components:
 - Amostra V1: RPM V1 (0100)
 - Solvente V2: RPM V2 (0100)
 - NPM V3: RPM V3 (0100)
 - Eluente V4: RPM V4 (0100)
 - Detector V5: RPM V5 (0100)
 - Resíduo V6: RPM V6 (0100)
- Interface NI 6009 - Válvulas Solenoides:** Includes a 'Checar' button, a 'Port. Interface Válvulas' dropdown set to 'Dev1/port0', and a section for 'Endereço de acionamento das válvulas em binário' (Binary addressing of valve actuation) with six fields:
 - Válvula_1 Amostra: 10000000
 - Válvula_2 Solvente: 1000000
 - Válvula_3 NPM: 100000
 - Válvula_4 Eluente: 10000
 - Válvula_5 Detector: 1000
 - Válvula_6 Resíduo: 100
- Interface NI 6009 - Motor de Passo:** Includes a 'Checar' button, a 'Port. Interface Motor de Passo' dropdown set to 'Dev1/port1', and a section for 'Endereço de acionamento dos passos em binário' (Binary addressing of steps) with four fields:
 - Passo 1: 1000
 - Passo 2: 100
 - Passo 3: 10
 - Passo 4: 1

Figura 3.10. Interface do programa para gerenciar as configurações de comunicação com a interface e a bomba peristáltica.

3.5. Precisão das válvulas solenoides

Como todos os volumes adicionados ou aspirados da câmara de extração são proporcionais ao tempo de acionamento das válvulas solenoides, faz-se necessário descobrir a relação de tempo de acionamento com o volume adicionado ou aspirado envolvido no processo, ou seja, determinar a vazão em cada linha de fluxo, para depois definir os tempos de acionamento.

A vazão em cada linha de fluxo foi determinada usando volumes de água ou óleo coletados e pesados numa balança analítica (*Scientech*, modelo SA210). Também foi investigada a possível influência do campo magnético gerado pela válvula solenoide, no canal das nanopartículas magnéticas.

O programa de gerenciamento do sistema automático desenvolvido apresenta uma interface (**Figura 3.11**) que possibilita que esse procedimento seja realizado com maior facilidade. Na aba “Válvulas” é possível configurar o tempo de abertura e o acionamento de cada válvula isoladamente.

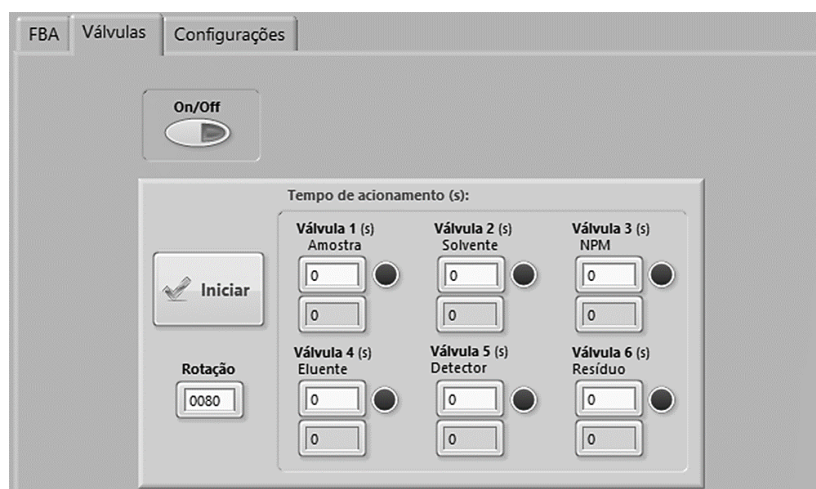


Figura 3.11. Interface do programa para gerenciar o estudo da vazão em cada linha de fluxo no automático sistema em fluxo-batelada.

3.6. Procedimento automático de análise

A **Figura 3.12** representa o diagrama esquemático do sistema proposto para realizar as etapas analíticas anteriores à detecção. A configuração física do sistema permaneceu inalterada durante todos os procedimentos analíticos empregados nas matrizes aquosas e oleosas.

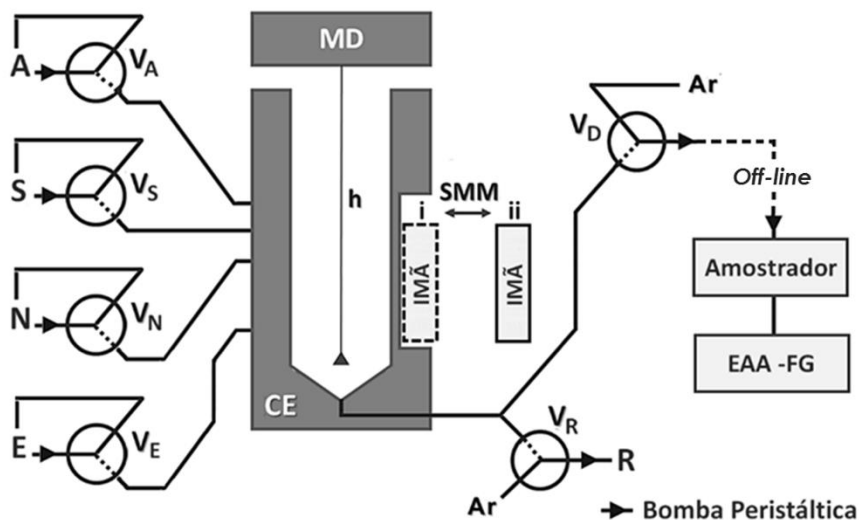


Figura 3.12. Diagrama esquemático do sistema automático em fluxo-batelada proposto. A: amostra ou padrão, S: solvente, N: nanopartículas magnéticas, E: eluente, R: resíduo, SMM: sistema magnético-mecânico, MD: motor de drive, CE: câmara de extração, h: haste de agitação e V: válvulas solenoides.

Abaixo estão descritos todos os procedimentos analíticos necessários para execução do procedimento automático.

3.6.1. Procedimento de enchimento dos canais

Antes de qualquer procedimento do método automático, é necessário uma etapa de enchimento dos canais. Para isso, as válvulas da amostra ou solução padrão de trabalho (V_A), do solvente (V_S), das nanopartículas magnéticas (V_N) e do eluente (V_E) são simultaneamente acionadas durante um intervalo de 10 s e as respectivas soluções de trabalho são bombeadas em direção à câmara de extração (CE), preenchendo todos os canais localizados entre as válvulas e a CE. Em seguida, a válvula do descarte (V_R) é acionada durante 10 s e a CE é esvaziada usando uma bomba peristáltica para aspiração. Esse procedimento de enchimento de canais é importante e deve ser realizado sempre que houver uma alteração dos líquidos do reservatório, como durante a etapa de troca de amostra.

3.6.2. Procedimento de análise das soluções de calibração

As etapas do procedimento de análise das soluções de calibração, empregadas na construção da curva analítica para determinação de Cd e Pb em água, estão esquematizadas na **Figura 3.13**.

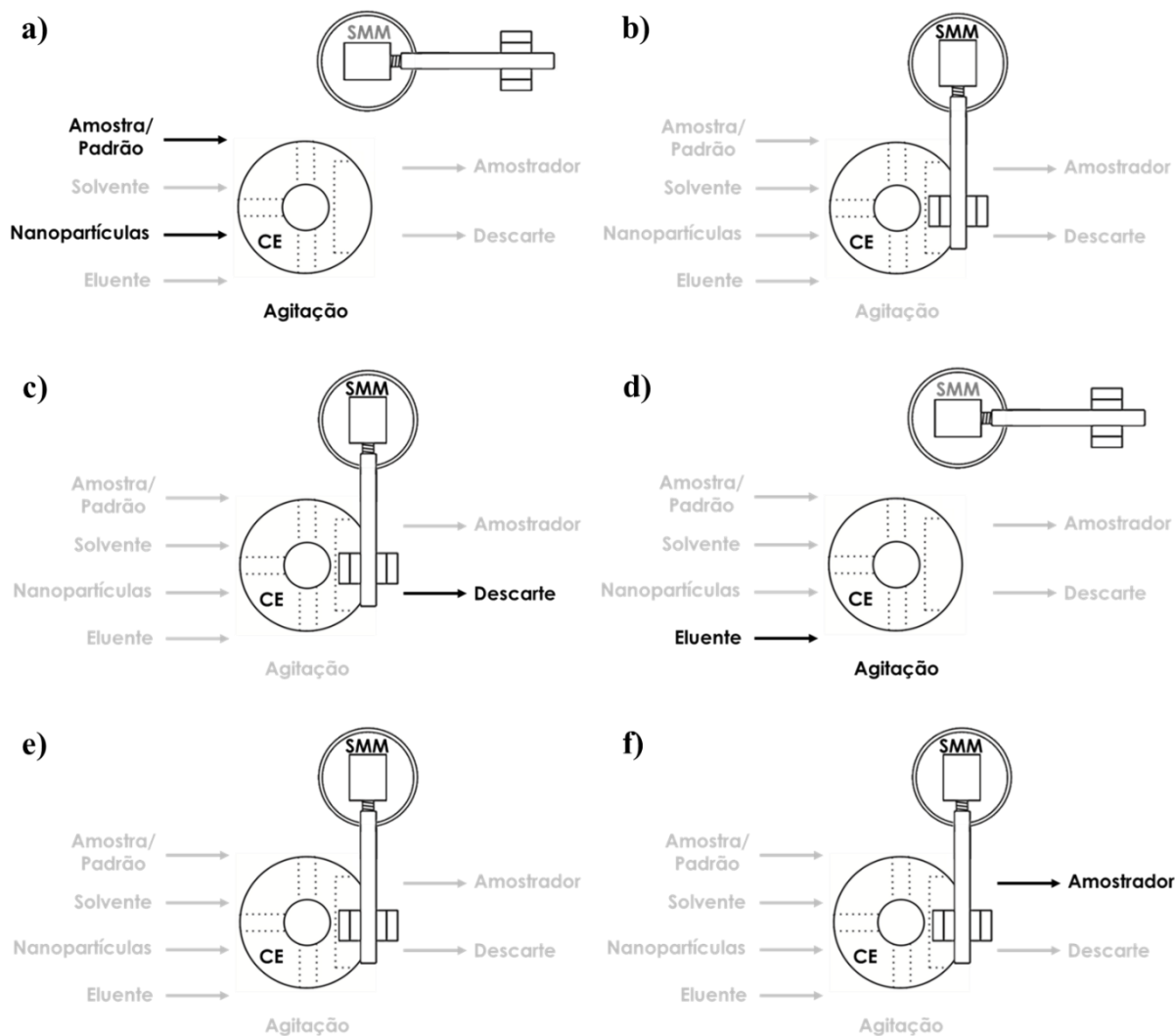


Figura 3.13. Etapas do procedimento de análise. Em destaque (preto) são os eventos que estão ocorrendo. Em transparência (cinza) são os eventos inativados.

Para a construção da curva analítica foram empregadas diferentes soluções padrão, nas seguintes concentrações: 0,05, 0,25, 0,50, 0,75 e 1,0 $\mu\text{g L}^{-1}$ de Cd e 0,1, 0,5, 1,0, 1,5 e 2,0 $\mu\text{g L}^{-1}$ de Pb.

Primeiramente, as válvulas V_A e V_N são acionadas durante períodos de tempos pré-determinados, de forma sequencial. Isso permite a adição de alíquotas da solução padrão e das nanopartículas magnéticas, respectivamente, na CE (**Figura 3.13a**). Posteriormente, o

motor de *drive* é ativado, promovendo a dispersão e o contato do adsorvente magnético com o analito. Em seguida, o motor é desligado e acontece a aproximação do imã na lateral da CE, com a ativação do SMM (**Figura 3.13b**).

Finalizada a atração das partículas (com o analito adsorvido) pela ação do campo magnético, a válvula V_R é acionada (**Figura 3.13c**) e o conteúdo presente na CE é eliminado, restando apenas o adsorvente-analito. Neste momento, o SMM é ativado, afastando o imã da parede da CE, a válvula V_E é acionada, adicionando eluente na CE, e motor de agitação é ativado (**Figura 3.13d**). Após o tempo adequado de dessorção do analito, a agitação é desligada e o SMM é acionado, aproximando o imã da lateral da CE novamente (**Figura 3.13e**). Na sequência, a válvula V_D é acionada e todo o conteúdo eluído é direcionado para um recipiente, que posteriormente será encaminhado de forma *off-line* para o amostrador do EAA FG (**Figura 3.13f**). O restante do conteúdo da CE (as nanopartículas magnéticas) são descartadas na sequência, através do procedimento de limpeza. Esse procedimento é repetido em todas as soluções de calibração necessárias para a construção da curva analítica de Cd e Pb.

Para determinação de Cd em óleo comestível foram empregados os mesmos procedimentos da análise esquematizada na **Figura 3.13**. Apenas na **Figura 3.13a** há uma modificação no procedimento. Aqui, diferentemente do procedimento anterior, além das válvulas V_A e V_N , a válvula V_S também é acionada juntamente com as outras, de forma sequencial. Dessa forma, são adicionados alíquotas da solução padrão, solvente e das nanopartículas magnéticas, respectivamente, na CE. Os demais procedimentos (**Figuras 3.13b a 3.13f**) são semelhantes aos empregados para a determinação de Cd e Pb em água, ocorrendo apenas alterações no tempo de ativação. Para a construção da curva analítica, foram empregadas diferentes soluções padrão, a partir da diluição do padrão organometálico de Cd em óleo mineral, de modo a obter-se concentrações finais de 0,05; 0,25; 0,50; 0,75 e 1,0 $\mu\text{g L}^{-1}$.

3.6.3. Procedimento de preparação do branco

O procedimento analítico do branco foi realizado da mesma forma que o procedimento descrito para a análise das soluções de calibração (**Figura 3.13**). Nesse caso, o padrão/amostra, adicionado pela válvula V_A , foi substituído por água deionizada ou por óleo mineral, para as determinações envolvendo, respectivamente, matrizes aquosas e oleosas. Os demais procedimentos (**Figuras 3.13b a 3.13f**) são semelhantes aos empregados para a análise das soluções de calibração.

3.6.4. Procedimento de análise das amostras

Na **Tabela 3.6** está detalhada as etapas do procedimento automático para a determinação de Cd e Pb em amostras aquosas, com os respectivos tempos de acionamento das válvulas solenoides, do motor de agitação, do sistema magnético-mecânico, bem como os volumes envolvidos nas etapas.

Tabela 3.6. Procedimento automático para extração de Cd e Pb nas amostras de água de abastecimento.

Etapa	Evento	Tempo (s)	Volume (μL)	Ilustração
1	Adição da amostra (V_A)	21,02	4000	Fig. 3.14a
2	Adição das nanopartículas magnéticas (V_N)	2,66	380	Fig. 3.14a
3	Homogeneização	180,00	-	Fig. 3.14a
4	Aproximação do imã	30,00	-	Fig. 3.14b
5	Descarte (V_R) com o SMM ativado	37,23	4500	Fig. 3.14c
6	Retirada do campo magnético	-	-	Fig. 3.14d
7	Adição do eluente (V_E)	1,91	270	Fig. 3.14d
8	Homogeneização	30,00	-	Fig. 3.14d
9	Aproximação do imã	30,00	-	Fig. 3.14e
10	Analito aspirado para o amostrador (V_D)	3,45	400	Fig. 3.14f

Os passos detalhados do procedimento automático para análise de Cd em amostras de óleos comestíveis estão elencados na **Tabela 3.7**.

Tabela 3.7. Procedimento automático para extração de Cd nas amostras de óleos comestíveis.

Etapa	Evento	Tempo (s)	Volume (μL)	Ilustração
1	Adição da amostra (V_A)	16,10	2500	Fig. 3.14a
2	Adição do solvente (V_S)	7,94	1500	Fig. 3.14a
3	Adição das nanopartículas magnéticas (V_N)	2,66	380	Fig. 3.14a
4	Homogeneização	200,00	-	Fig. 3.14a
5	Aproximação do imã	40,00	-	Fig. 3.14b
6	Descarte (V_R) com o SMM ativado	37,26	4500	Fig. 3.14c
7	Retirada do campo magnético	-	-	Fig. 3.14d
8	Adição do eluente (V_E)	1,92	270	Fig. 3.14d
9	Homogeneização	30,00	-	Fig. 3.14d
10	Aproximação do imã	30,00	-	Fig. 3.14e
11	Analito aspirado para o amostrador (V_D)	3,50	400	Fig. 3.14f

Finalizado o procedimento de análise, duas etapas de limpeza da CE são realizadas, conforme descrito na seção a seguir.

3.6.5. Limpeza da câmara de extração

O procedimento de limpeza da CE, após as etapas de análise, é realizado pelo acionamento da válvula V_S , com agitação coexistente. Para isso, é adicionado um volume de 4,5 mL de solvente. Em seguida, a agitação é cessada e o descarte é realizado através da válvula V_D . Esse procedimento de limpeza e descarte é realizado duas vezes com o intuito de garantir a adequada limpeza da CE. É importante ressaltar que todas as etapas mencionadas anteriormente ocorrem sem a aproximação do imã a CE, ou seja, na ausência do campo magnético. Para a determinação de Cd e Pb em água, a válvula V_S foi empregada para a adição de água deionizada, enquanto que, para a determinação de Cd em óleo comestível, foi utilizado uma mistura de álcool isopropílico e clorofórmio na proporção de 70:30 (v/v).

3.7. Avaliação do desempenho analítico

O desenvolvimento de um método analítico, a sua aplicação ou adaptação envolve etapas de avaliação para atestar que o novo procedimento apresenta desempenho analítico estatisticamente adequado. Assim, o presente trabalho foi validado empregando os parâmetros de validação descritos abaixo. Esses foram norteados pelas normas de validação para metodologias analíticas (THOMPSON *et al.*, 2002).

3.7.1. Exatidão e precisão

A exatidão é definida como a concordância entre um resultado analítico e o valor convencionalmente aceito como verdadeiro ou como referência (HOLLER *et al.*, 2009). Assim, com o objetivo de avaliar esse parâmetro no método analítico proposto o teste de adição e recuperação foi executado.

No ensaio, quantidades conhecidas do analito foram adicionadas em metade das amostras, após escolha aleatória, para respectiva quantificação e comparação com o valor verdadeiro. Importante mencionar que as adições ocorreram em três níveis de concentração em ambas as amostras.

Nas amostras de água os níveis trabalhados foram 0,05, 0,25 e 0,5 $\mu\text{g L}^{-1}$ para o Cd e 0,1, 0,5 e 1,0 $\mu\text{g L}^{-1}$ para o Pb. No caso dos óleos comestíveis, uma amostra de cada tipo de óleo, totalizando quatro amostras, foram escolhidas aleatoriamente e fortificações de 0,05, 0,25 e 0,5 $\mu\text{g L}^{-1}$ de Cd foram realizadas.

A taxa de recuperação foi calculada empregando a expressão a seguir:

$$\text{Recuperação (\%)} = \left(\frac{C_1 - C_2}{C_3} \right) \times 100$$

Onde: C_1 = concentração da substância de referência mais a concentração da amostra; C_2 = concentração da amostra; C_3 = concentração da substância de referência adicionada.

Para avaliar a precisão do método, o desvio padrão relativo (DPR%) das recuperações foi calculado para três repetições por amostra, empregando a expressão abaixo.

$$\text{DPR\%} = \frac{S}{\bar{X}} \times 100$$

Onde: S = desvio padrão; $\bar{X}$ = média dos valores de recuperação.

3.7.2. Linearidade e sensibilidade

A linearidade refere-se à capacidade do método de gerar resultados linearmente proporcionais à concentração do analito, enquadrados em uma faixa analítica especificada, geralmente através do método dos mínimos quadrados (NETO *et al.*, 2010). Como esse parâmetro pode ser demonstrado pelo coeficiente de correlação do gráfico analítico, as curvas analíticas para as amostras de água foram construídas na faixa de 0,05 a 1,0 $\mu\text{g L}^{-1}$ de Cd e de 0,1 a 2,0 $\mu\text{g L}^{-1}$ de Pb. Já para as amostras oleosas, os seguintes níveis de concentração de Cd em óleo mineral foi utilizado para construção da curva analítica: 0,05; 0,25; 0,50; 0,75 e 1,0 $\mu\text{g L}^{-1}$.

Simultaneamente aos testes de linearidade a sensibilidade foi determinada, como mostrado na expressão a seguir:

$$S = \frac{dx}{dc}$$

Sob o ponto de vista prático, a sensibilidade foi calculada através da inclinação da curva de calibração para cada analito.

É importante mencionar que a curva analítica, somente pode ser usada para estimar a concentração do analito, se for capaz de descrever o comportamento dos valores experimentais de maneira satisfatória. Portanto, o modelo obtido não pode apresentar evidências de falta de ajuste e deve refletir uma regressão estatística significativa. Dessa forma, a validação do modelo de calibração proposto foi realizada por meio de uma análise de variância (ANOVA) (NETO *et al.*, 2010).

3.7.3. Limite de detecção e quantificação

Com o objetivo de estimar a menor concentração do analito que pode ser detectada pelo método desenvolvido, o limite de detecção (LOD) foi calculado em termos do desvio padrão de medidas do branco (HOLLER *et al.*, 2009). Assim, para estimá-lo empregou-se a seguinte expressão:

$$\text{LOD} = \frac{3 \cdot s}{S}$$

Onde: s é o desvio padrão da resposta; S é o coeficiente angular da curva analítica (sensibilidade do método).

A menor concentração do analito que pode ser quantificada na amostra, com exatidão e precisão aceitáveis, foi calculado empregando a expressão do limite de quantificação (LOQ):

$$\text{LOQ} = \frac{10 \cdot s}{S}$$

3.7.4. Seletividade

Para indicar quanto o método analítico proposto está livre de interferência de outras substâncias contidas nas matrizes aquosas e oleosas, a seletividade foi estudada comparando os resultados obtidos de amostras contaminadas, com quantidades apropriadas de potenciais interferentes, e amostras não contaminadas.

No caso da determinação de Cd e Pb em água, os estudos foram realizados, conforme sugere a literatura, adicionando os seguintes interferentes: Ni^{2+} , Cr^{6+} , Ag^+ , Fe^{3+} , Cu^{2+} , Zn^{2+} e Hg^{2+} (TAVALLALI, 2011a; TAVALLALI, 2011b). Para essa etapa, cada espécie interferente foi adicionada em $0,5 \mu\text{g L}^{-1}$ de Cd ou Pb (nas concentrações de 0,5, 5,0, 25,0 e $50,0 \mu\text{g L}^{-1}$), a partir do seu sal, e depois de aplicar o método, a quantidade aceitável de cada íon foi determinada. O valor aceitável foi definido como a concentração máxima que poderia causar uma alteração inferior a 5 % em comparação com o sinal analítico sem qualquer interferência.

Para a realização do estudo de potenciais interferentes na matriz oleosa, soluções estoque de chumbo, cobre, níquel, zinco, cálcio e magnésio foram preparadas em óleo mineral a partir dos seus respectivos padrões organometálicos certificados ($0,10 \text{ mg g}^{-1}$) (Quimlab). Esses metais foram adicionados às soluções contendo $0,5 \mu\text{g L}^{-1}$ de Cd. O valor aceitável foi definido conforme descrito anteriormente.

Aqui é importante destacar que o termo seletividade, que muitas vezes é utilizado, erroneamente, como sinônimo de especificidade, indica a capacidade do método em produzir resposta para vários analitos, apesar de distinguir o sinal de um analito frente aos outros. Já a especificidade é utilizada para expressar a capacidade do método em determinar somente o analito, mesmo na presença de outros componentes da matriz (substâncias ativas, excipientes, impurezas ou contaminantes) (HOLLER *et al.*, 2009).

Resultados e discussão

4.1. Avaliação da síntese e do revestimento do núcleo magnético

Nas seções seguintes estão descritas as características das partículas obtidas após a etapa de síntese do núcleo magnético, bem como à etapa de revestimento.

4.1.1. Aspecto visual das nanopartículas

Com o intuito de ilustrar as características do nanomaterial sintetizado neste trabalho, na **Figura 4.1**, pode ser visualizado as fotografias das nanopartículas dispersas em etanol, sob a ausência do campo magnético (**Figura 4.1a**) e sob a presença do campo magnético (**Figura 4.1b**).

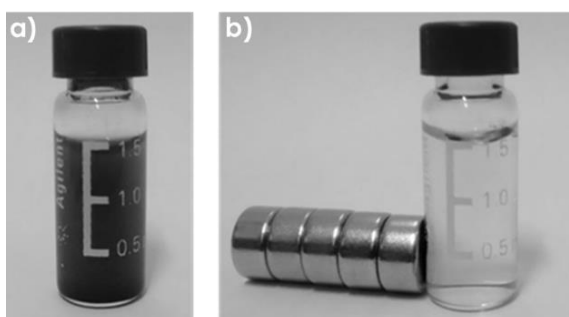


Figura 4.1. Imagem das nanopartículas magnéticas sintetizadas (a) dispersas e (b) atraídas pelo imã.

4.1.2. Caracterização cristalográfica e morfológica das nanopartículas

Após a realização do procedimento de síntese das nanopartículas de Fe_3O_4 , foi realizada a caracterização cristalográfica, empregando a técnica de difratometria de raios-X (DRX), para descobrir a natureza do material obtido.

O difratograma do material obtido no processo químico de coprecipitação, na primeira etapa da síntese, está apresentado na **Figura 4.2**.

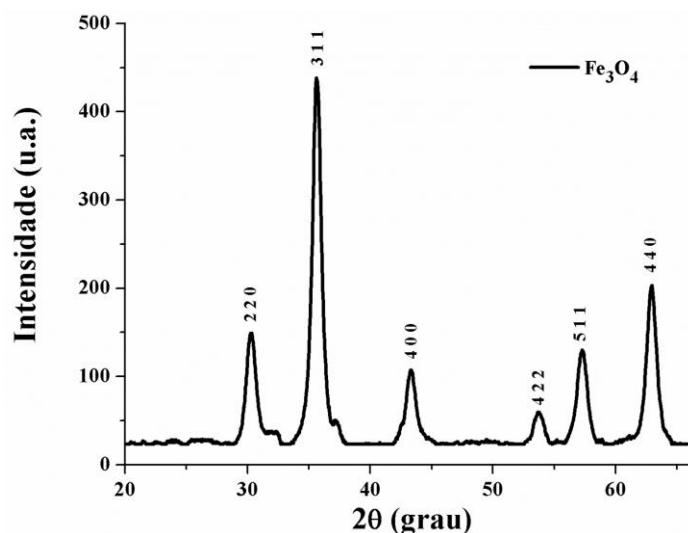


Figura 4.2. Difratoograma do núcleo de Fe₃O₄.

Através do difratograma observa-se a presença de seis picos característicos do Fe₃O₄, no intervalo de 20° a 67°, consistentes com os valores de identificação (2θ) fornecidos pela ficha cristalográfica de referência JCPDS #00-039-1346. Dessa forma, pode-se inferir que a fase predominante do material corresponde à estrutura cristalina cúbica, do tipo espinélio inversa, característica da magnetita.

Isso é um indicativo de que não houve a formação de fases competitivas durante a síntese, bastante comum nesse meio reacional. Assim, as adaptações realizadas no método proposto por Kang e colaboradores (KANG *et al.*, 1996) foram adequadas.

Alcançado esse resultado na primeira etapa da síntese, foi realizado o procedimento de revestimento com alumina, conforme descrito na **Seção 3.1.2**. O mesmo estudo de caracterização foi realizado e o difratograma da análise de DRX obtido está disposto na **Figura 4.3**.

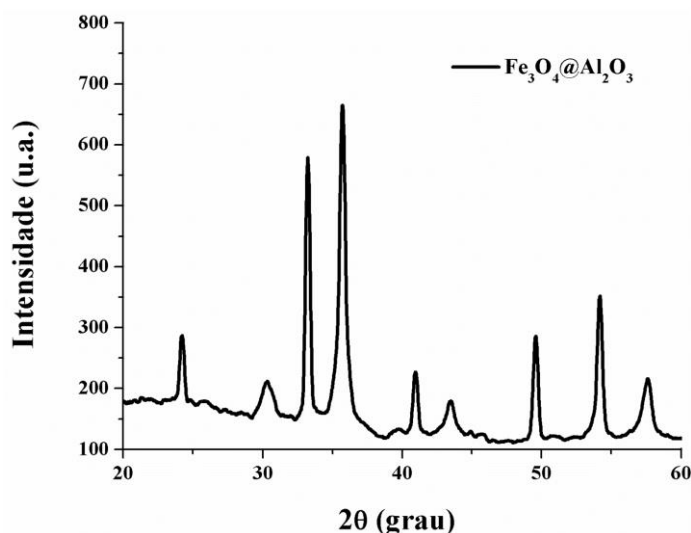


Figura 4.3. Difratograma do núcleo de Fe_3O_4 revestido com Al_2O_3 .

No gráfico acima, pode-se observar que o difratograma obtido para a magnetita revestida com alumina é similar ao difratograma da partícula sem revestimento, apontando que o núcleo não sofreu processos oxidativos, que alterasse a sua fase cristalina, durante a etapa de recobrimento. O aparecimento dos picos extras nas posições indicadas é atribuído à presença da alumina, de acordo com a ficha cristalográfica #00-029-0063, da base de dados JCPDS. Assim, pode-se afirmar que a segunda etapa de síntese foi satisfatoriamente realizada.

Além disso, a observação de picos alargados e de baixa intensidade, nos dois difratogramas, confirma a presença de material com boa cristalinidade e em nanoescala, como sugere a literatura (SOUZA, 2011).

Considerando as discussões acima, pode-se afirmar que a obtenção de nanopartículas de Fe_3O_4 revestidas com Al_2O_3 foi satisfatoriamente alcançada. É importante observar que difratogramas semelhantes foram relatados na literatura para o mesmo material (KARIMI e KAFI, 2015).

Para complementar o resultado da DRX e verificar a morfologia e a distribuição de tamanho das nanopartículas obtidas, a microscopia eletrônica de varredura (MEV) foi empregada.

Na micrografia eletrônica do núcleo sem revestimento (**Figura 4.4**) é visível que as partículas de Fe_3O_4 estão dispersas e uniformemente distribuídas. Em relação à morfologia, as partículas estão esféricas e com boa homogeneidade de tamanho.

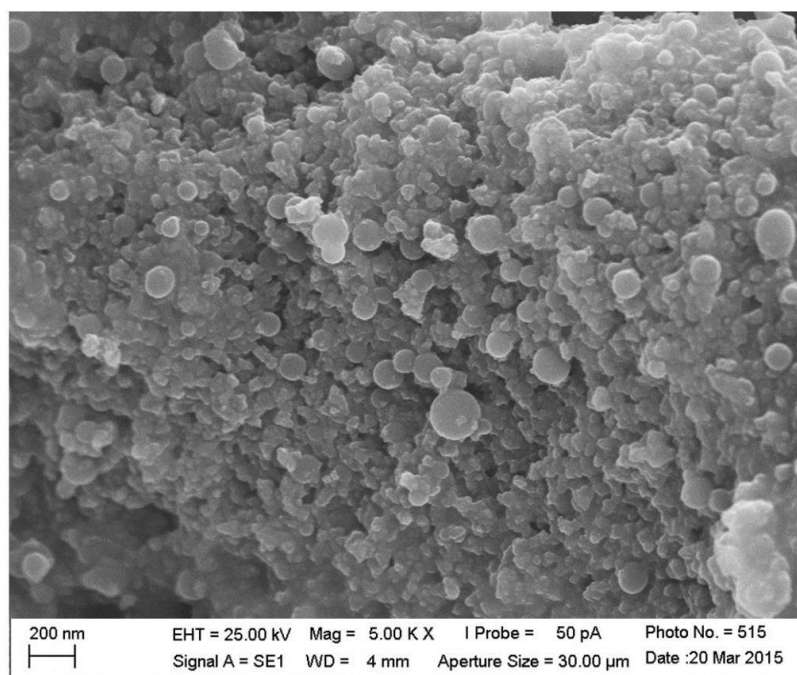


Figura 4.4. Micrografia obtida no microscópio eletrônico de varredura mostrando a morfologia das nanopartículas de Fe_3O_4 .

Na **Figura 4.5** pode ser visualizado a microscopia eletrônica das nanopartículas, após a etapa de revestimento.

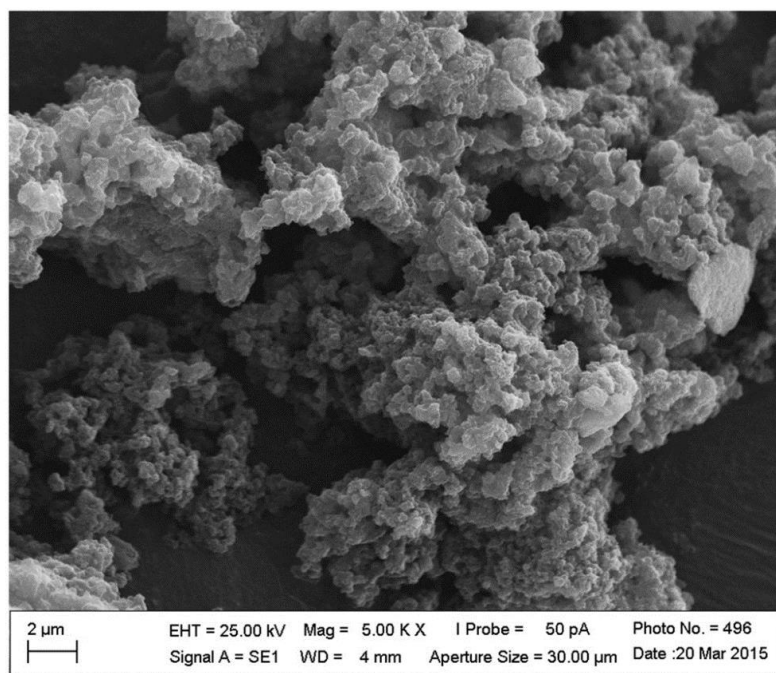


Figura 4.5. Micrografia obtida no microscópio eletrônico de varredura mostrando a morfologia das nanopartículas de Fe_3O_4 revestidas com Al_2O_3 .

Pela análise da morfologia superficial das nanopartículas revestidas, percebe-se que o recobrimento do núcleo durante a segunda etapa da síntese não prejudicou as características morfológicas do material. Resultados análogos foram descritos na literatura para microscopias do mesmo material (KARIMI *et al.*, 2012), indicando a consistência dos resultados aqui apontados.

Em relação ao tamanho das partículas, é importante salientar que a cobertura de ouro, realizada previamente às medidas no MEV, para promover maior condutividade dos elétrons na superfície do material e consequentemente melhorar as resoluções das imagens, impediu a aferição exata da dimensão das nanoestruturas. No entanto, mesmo com essa cobertura superficial com cerca de 40 nm, pode-se estimar que os materiais se encontram com diâmetros próximos da escala nanométrica.

Em suma, foi constatado que, após as adaptações efetuadas nos procedimentos de sínteses relatados na literatura (KANG *et al.*, 1996; LI *et al.*, 2007), o objetivo de obter nanopartículas de Fe_3O_4 revestidas com Al_2O_3 de tamanho uniforme e dispersas foi alcançado. Contudo, é importante registrar que a formação dessas nanoestruturas com características químicas e morfológicas apropriadas não é trivial. A reprodução da síntese depende do controle de diversas variáveis, principalmente no que tange a temperatura, o tempo de reação, a velocidade da adição da base e a forma de agitação.

4.2. Determinação de Cd e Pb em amostras de água

4.2.1. Condições para MSPE de Cd e Pb em água

Conforme descrito na **Seção 3.3.3**, vários fatores experimentais que influenciam a adsorção de Cd e Pb em água, tais como pH, quantidade do adsorvente, seleção e concentração do solvente para eluição e o tempo de adsorção/dessorção foram estudados. As condições para a realização da MSPE eficiente estão descritas a seguir.

O pH da solução é um dos fatores que podem influenciar o processo de complexação dos metais. Conforme apresentado na **Figura 4.6**, a adsorção, e consequentemente a recuperação, de Cd e Pb é inicialmente crescente com o aumento do pH, mas começa a reduzir acima do pH 8.

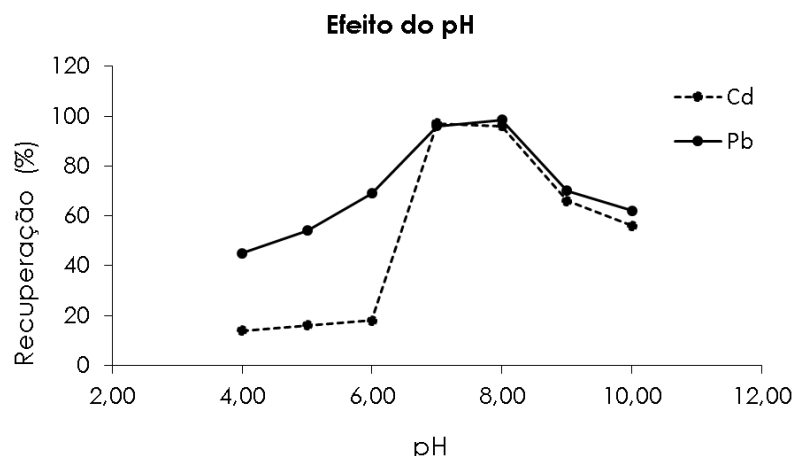


Figura 4.6. Influência do pH na adsorção de Cd e Pb em água.

Um máximo de recuperação de Cd e Pb foi obtido na faixa de pH compreendida entre 7 e 8. Assim, esse intervalo de pH foi escolhido como apropriado, uma vez que possibilita a realização de extrações simultâneas e quantitativas.

É importante ressaltar que esses valores concordam com os apresentados na literatura para complexação dos analitos em questão (CARLETTI, 2013). A variação dos níveis de recuperação com a alteração do pH pode estar associada aos equilíbrios químicos que estão ocorrendo no meio.

Pois, em alta concentração hidrogênionica no meio reacional, o ligante PAN está com o átomo de nitrogênio, do grupo piridina, protonado. Enquanto que, em meio básico ocorre a ionização do hidrogênio no grupo hidroxila (SANDELL e ONISH, 1978), ver **Figura 4.7**.

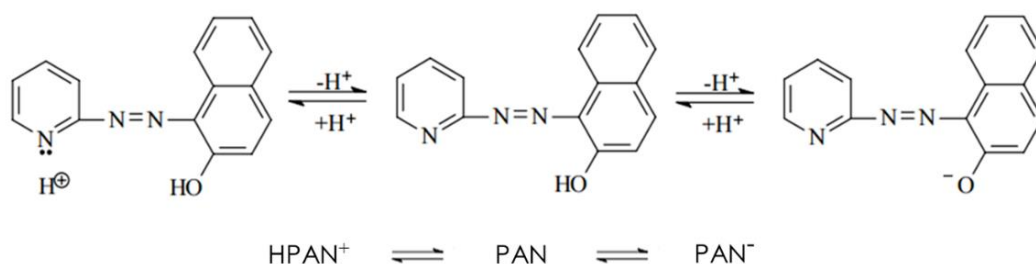


Figura 4.7. Formas adquiridas pelo ligante PAN a partir da variação do pH do meio. Figura adaptada da ref (SOARES, 2006).

Assim, pode-se afirmar que a forma assumida pelo PAN em pH intermediário favorece a formação do complexo Cd-PAN e Pb-PAN, conforme indicado na literatura (THARAKESWAR *et al.*, 2012) e verificado no experimental. Uma estrutura química plausível para esses compostos de coordenação é demonstrado na **Figura 4.8**.

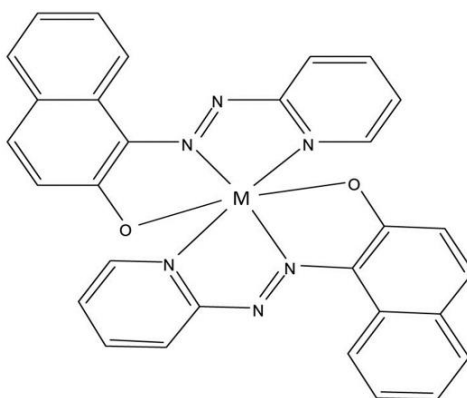


Figura 4.8. Estrutura do complexo M-PAN. Onde: M representa o metal Cd ou Pb. Figura adaptada da ref (THARAKESWAR *et al.*, 2012).

Para discussão da influência do pH na adsorção de Cd e Pb, deve-se considerar ainda o estado químico desses metais no meio extrator. Uma vez que, em pH básico, além do estado do complexante PAN, tem-se a formação dos hidróxidos de cádmio e chumbo, devido a elevada concentração de hidroxilas na solução. Assim, considerando as constantes dos produtos de solubilidades de ambos ($4,5 \cdot 10^{-15}$ e $1,4 \cdot 10^{-20}$, respectivamente), a temperatura de 25 °C, há a provável precipitação desses metais, o que prejudica a complexação e consequente adsorção das espécies de interesse (BACCAN *et al.*, 2001).

Em resumo, em valores muito baixos de pH o ligante PAN encontra-se menos disponível (protonado) para coordenar com o Cd e o Pb e em valores elevados de pH os metais encontram-se disponíveis em menor quantidade para complexar com o ligante, agora desprotonado (CARLETTO, 2013).

Os resultados das adsorções de Cd e Pb em água, variando a quantidade de adsorvente magnético estão apresentados na **Figura 4.9**.

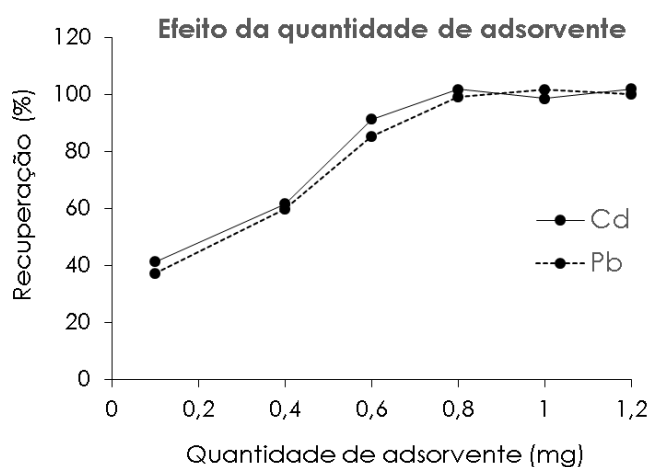


Figura 4.9. Efeito da quantidade de nanopartículas magnéticas na adsorção de Cd e Pb em água.

Os dados acima apresentados indicam que adsorções quantitativas, de ambos os analitos, são alcançadas em quantidades próximas a 0,80 mg de adsorvente magnético. Abaixo desse valor, recuperações bem menores são obtidas, o que sugere que a quantidade de adsorvente é insuficiente para a quantidade de Cd e Pb presente no meio.

Dessa forma, 0,80 mg de nanopátículas magnéticas, dispersas em etanol anidro, foi empregada nos experimentos seguintes, conferindo assim uma quantidade de adsorvente magnético em excesso no meio adsortivo.

Outro parâmetro estudado foi o efeito do tempo na adsorção do Cd e do Pb em amostras de água. As recuperações obtidas no intervalo de tempo de 0 a 5 min foram realizadas e os dados são mostrados na figura abaixo.

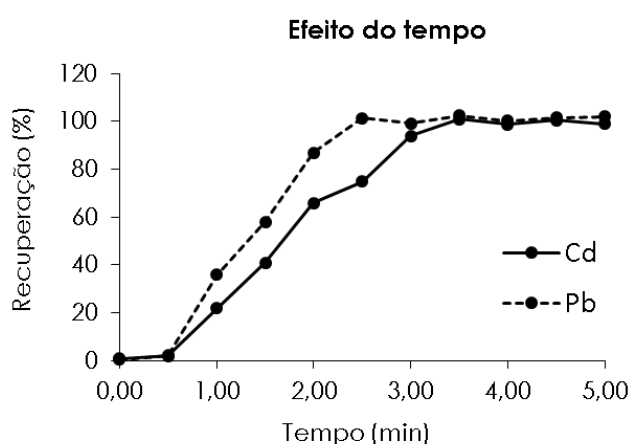


Figura 4.10. Influência do tempo na adsorção de Cd e Pb em água.

Na **Figura 4.10** pode-se observar que recuperações quantitativas são alcançadas após o tempo de 2,5 min para o Pb e de 3,0 min para o Cd. Com isso, pode-se inferir que o equilíbrio de formação do complexo metal-quelante foi atingido e que esse tempo é suficiente para que o imã possa atrair o adsorvente. Assim, para garantir uma adsorção reproduzível dos analitos, em todos os procedimentos futuros o tempo de 3,5 min foi empregado, sendo 30 s desse tempo usado para aplicação do campo magnético (aproximação do imã à CE).

Aqui é importante mencionar que esse curto intervalo de tempo para se obter recuperações quantitativas deve-se, além da cinética de adsorção das partículas empregadas, a característica do próprio sistema automático em fluxo batelada que, por empregar reduzidos volumes de amostras e promover a agitação das soluções na câmara de extração, permite um maior contato entre as partículas magnéticas e o analito.

Por fim, os ensaios do efeito do tipo e da concentração do eluente na dessorção do analito confirmaram os estudos descritos na literatura (EZZODIN *et al.* 2010; TAVALLALI, 2011a; TAVALLALI, 2011b). Os resultados estão mostrados na **Figura 4.11**.

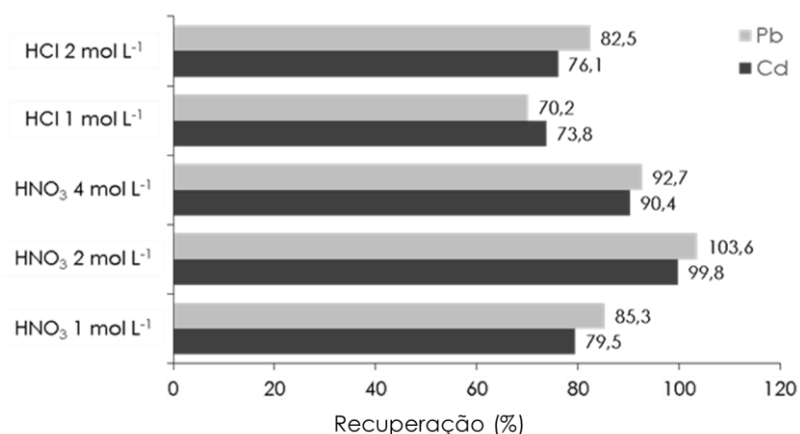


Figura 4.11. Influência do tipo e da concentração do eluente na adsorção de Cd e Pb em água.

A análise da **Figura 4.11** sugere que eficientes eluições podem ser obtidas com o uso de HNO₃ na concentração de 2,0 mol L⁻¹ como eluente. A partir dessa constatação, essa solução foi empregada em todas as extrações de Cd e Pb em água.

Durante os estudos do tipo e da concentração do eluente também foi observado que um período de 30 s constitui um intervalo de tempo suficiente para a realização da dessorção do Cd e do Pb com o HNO₃ (2,0 mol L⁻¹), sob agitação. Logo, esse foi o tempo de homogeneização empregado no procedimento automático.

4.2.2. Estudo dos potenciais interferentes em água

Com o intuito de avaliar o efeito de potenciais interferentes no meio estudado, alguns íons foram adicionados à solução contendo $0,5 \mu\text{g L}^{-1}$ de Pb ou Cd, conforme descrito na **Seção 3.7.4**. Os resultados obtidos estão apresentados na **Tabela 4.1**.

Tabela 4.1. Tabela de potenciais interferentes em água. Dados referentes a concentração em $\mu\text{g L}^{-1}$ para uma solução de Cd ou Pb de $0,5 \mu\text{g L}^{-1}$.

Potenciais interferentes	Limite de tolerância [íon interferente]/[analito]	
	Cd	Pb
Ni²⁺	> 100	> 100
Cr⁶⁺	> 100	> 100
Ag⁺	> 100	> 100
Fe³⁺	> 100	> 100
Cu²⁺	> 100	> 50
Zn²⁺	> 10	> 50
Hg²⁺	> 10	> 10

O valor aceitável foi definido como a concentração que causa uma variação máxima de 5 % no sinal analítico em comparação com o sinal sem qualquer interferência. Tal como indicado na **Tabela 4.1** o método não sofre interferências significativas em razões [íon interferente]/[analito] relativamente altas, o que indica a seletividade das partículas magnéticas nas condições experimentais selecionadas. Dessa forma, o método proposto pode ser aplicado à amostras reais que possuam concentrações de cádmio e chumbo em nível traço.

4.2.3. Estudo da precisão das válvulas solenoides para MSPE de Cd e Pb em água

Conforme apontado na **Seção 3.5**, logo após a montagem do sistema é necessário a realização da calibração das válvulas solenoides. Assim, foram construídas curvas de calibração correlacionando a quantidade de massa do fluido bombeado/aspirado da câmara de extração em função do tempo de acionamento de cada válvula.

As vazões médias obtidas nos canais individuais das soluções empregadas durante a determinação de Cd e Pb em água são apresentadas na **Tabela 4.2**.

Tabela 4.2. Vazões médias dos canais individuais das soluções para determinação de Cd e Pb em amostras de águas de abastecimento.

Válvula	Solução	Vazão (mL s ⁻¹)	Rotação (rpm)
V _A	Amostra ou padrão	0,1903 ± 0,0041	160
V _S	Água deionizada	0,1930 ± 0,0056	160
V _N	Nanopartículas magnéticas	0,1431 ± 0,0037	120
V _E	HNO ₃ (2 mol L ⁻¹)	0,1410 ± 0,0053	120

Durante o decorrer de todos os experimentos foi observado que o campo magnético, gerado a partir do acionamento da válvula solenoide, não atrai as nanopartículas magnéticas. Dessa forma, não foram constatados desvios, estatisticamente significativos, na vazão desse canal.

4.2.4. Curva analítica para determinação de Cd e Pb em água

As curvas analíticas foram construídas e um comportamento linear entre os valores das absorbâncias e as concentrações na faixa de 0,05 a 1,0 µg L⁻¹ de Cd e na faixa de 0,1 a 2,0 µg L⁻¹ de Pb foram obtidas. Nas **Figura 4.12(a)** e **(b)** podem ser observadas as curvas analíticas e os coeficientes de correlação obtidos para ambos os metais, empregando o método proposto.

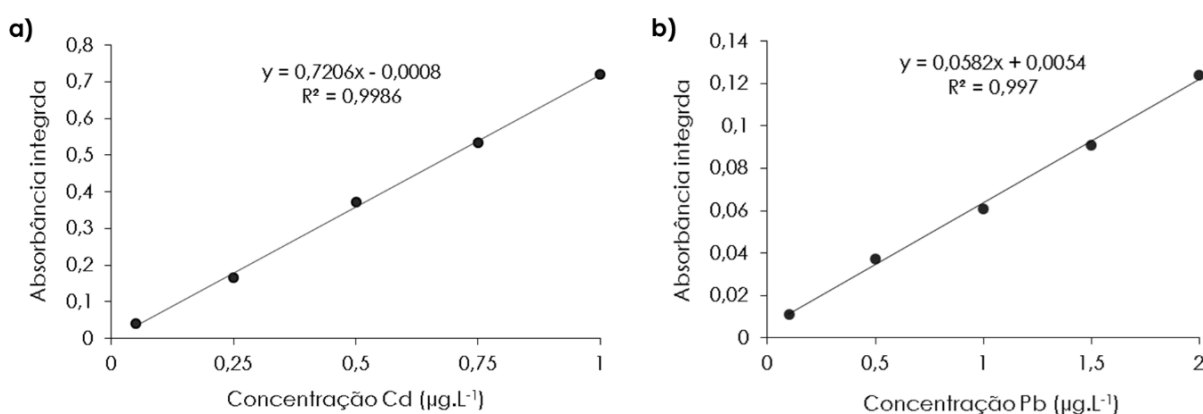


Figura 4.12. Curva analítica para os padrões de cádmio (a) e chumbo (b) em água (n=3).

A inferência da forte correlação entre a concentração dos padrões e a absorbância, ao longo da faixa de concentração de trabalho, foi verificada pela aplicação da análise de variancia (ANOVA), para validar os modelos de calibração postulados.

A partir da análise dos valores de F (ao nível de confiança de 95%) em comparação com a relação MQ_{faj}/MQ_{ep} pode-se verificar que os modelos propostos não apresentam falta de ajuste. Regressões significativas foram comprovadas ao analisar a relação MQ_R/MQ_F e os coeficientes de regressão estimados para ambos os modelos.

Com o objetivo de avaliar as condições de operação do instrumento a massa característica foi calculada para ambos os metais. A partir dos dados da curva analítica as massas características determinadas para o Cd e o Pb, foram de 0,12 pg e 10,53 pg, respectivamente. Esses valores são comparáveis com os encontrados na literatura (WELZ e SPERLING, 1999). Aqui, é importante mencionar que valores de massa característica diferem para cada tipo de forno, variando de acordo com às dimensões do tubo de grafite e do gradiente de temperatura no seu interior durante o aquecimento, assim os valores obtidos são considerados adequados.

Na **Tabela 4.3** estão elencados os parâmetros de desempenho alcançados pelo método desenvolvido.

Tabela 4.3. Parâmetros obtidos no método proposto para determinação de Cd e Pb em amostras de águas de abastecimento.

Analito	Faixa de trabalho ($\mu\text{g L}^{-1}$)	Sensibilidade ($\text{s L } \mu\text{g}^{-1}$)	LOD ($\mu\text{g L}^{-1}$)	LOQ ($\mu\text{g L}^{-1}$)	Fator de enriquecimento*
Cd	0,05 - 1,0	0,7206	0,004	0,012	15
Pb	0,1 - 2,0	0,0582	0,043	0,143	15

*Calculado com base na razão do volume da amostra pelo volume do eluente.

A partir da informação contida na tabela acima, pode-se afirmar que o método proposto apresenta sensibilidade satisfatória e valores de LOD e LOQ suficientemente baixos, o que torna este método significativamente apropriado para a determinação de Cd e Pb em amostras de águas de abastecimento.

4.2.5. Determinação de Cd e Pb em amostras de águas de abastecimento

Após os estudos descritos e a verificação das curvas analíticas, seis amostras de água de diferentes locais foram analisadas para determinação de Cd e Pb e os resultados obtidos estão apresentados na **Tabela 4.4**. Adicionalmente, resultados obtidos nos testes de adição e recuperação também estão elencados.

Tabela 4.4. Resultados obtidos para determinação de Cd (linha cinza) e Pb (linha branca) em amostras de águas de abastecimento antes e após a realização da adição e recuperação dos analitos. As concentrações dos metais e as quantidades adicionadas são expressas em $\mu\text{g L}^{-1}$.

Amostras	Concentração	Recuperação (% , n = 3)		
	Cd	0,05	0,25	0,5
	Pb	0,1	0,5	1,0
A1	< LOQ	101,6 (2,5) ^a	102,5 (2,7)	97,7 (2,2)
	< LOQ	103,3 (3,2)	97,5 (2,8)	101,2 (3,1)
A2	0,33	99,3 (2,7)	102,3 (2,3)	103,2 (2,4)
	0,81	98,0 (2,8)	98,7 (3,0)	101,5 (2,7)
A3	< LOQ	100,4 (2,8)	102,8 (2,6)	98,1 (2,1)
	< LOQ	103,0 (3,5)	97,8 (3,2)	102,9 (2,5)
A4	< LOQ	NR ^b	NR	NR
	< LOQ	NR	NR	NR
A5	< LOQ	NR	NR	NR
	0,26	NR	NR	NR
A6	< LOQ	NR	NR	NR
	< LOQ	NR	NR	NR

^a DPR = desvio padrão relativo (%).

^b NR = não realizada adição na amostra.

Observa-se na **Tabela 4.4** que os resultados das recuperações obtidas em três níveis nas amostras variaram de 98 a 103 % para ambos os analitos. Esse intervalo de recuperação é bastante significativo para a determinação de Cd e Pb em amostras de águas de abastecimento, dentro do nível de concentração estudado, como descreve Wood (WOOD, 2009).

Com relação à precisão do método proposto, foi possível verificar uma boa reprodutibilidade dos resultados, já que os valores máximos dos desvios padrão relativos (DPR) obtidos para o Cd e o Pb foram 2,8 % e 3,5 %, respectivamente, garantindo assim a confiabilidade dos resultados.

Convém ressaltar que, apesar de não ter sido quantificado analito em quase todas as amostras, isso era previsível, como apresentado na literatura (SATARPAI *et al.*, 2016; SANTOS *et al.*, 2014). De qualquer forma, esse resultado não compromete a validação do

método, que foi realizado através do estudo de adição e recuperação semelhante aos descritos na literatura (GIAKISIKLI e ANTHERMIDIS, 2013b; SANTOS *et al.*, 2014).

4.3. Determinação de Cd em amostras de óleo comestível

4.3.1. Otimização da MSPE de Cd em óleo

Dos vários ensaios químicos relatados na **Seção 3.3.4** os valores ideais dos parâmetros que influenciam a extração e separação de Cd em óleos comestíveis foram escolhidos e estão descritos na sequência.

Devido a viscosidade do óleo o primeiro dos ensaios realizados consistiu na escolha de um solvente apropriado para diluir o óleo e possibilitar a dispersão do adsorvente magnético. Diante das observações, a mistura de álcool isopropílico/clorofórmio, na proporção de 70:30 (v/v), foi escolhida para os estudos seguintes.

Com relação a influência da quantidade de adsorvente magnético na adsorção de Cd em óleo, como mostra a **Figura 4.13** a quantidade de 0,30 mg de nanopartículas magnéticas foi considerada adequada por possibilitar melhores recuperações.

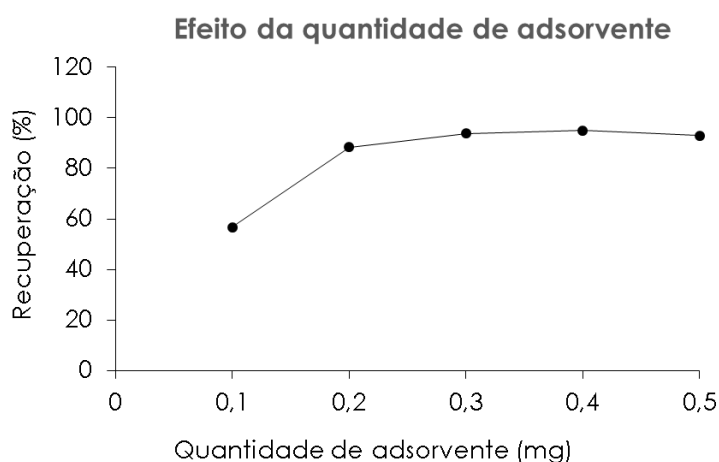


Figura 4.13. Efeito da quantidade de nanopartículas magnéticas na adsorção de Cd em óleo.

Selecionado os parâmetros descritos acima, a influência do tempo na adsorção de Cd em óleo foi realizado. Como mostra a **Figura 4.14**, após o tempo de 3 min recuperações quantitativas começam a ser obtidas. Para garantir o máximo de recuperação, o tempo de 3,3 min de contato entre o analito e as partículas magnéticas, sob agitação, foi escolhido para os estudos seguintes.

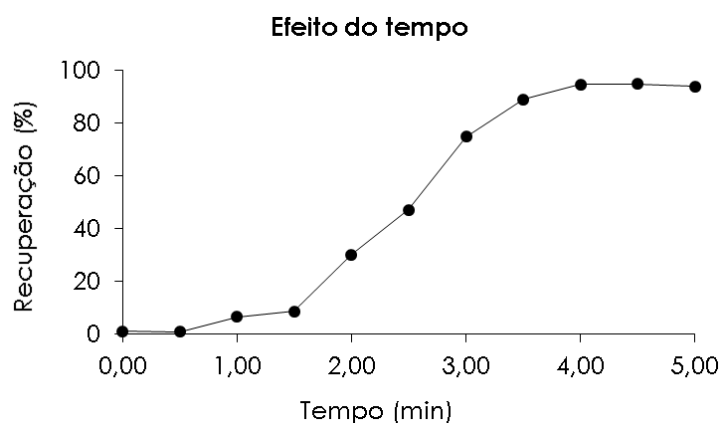


Figura 4.14. Influência do tempo na adsorção de Cd em óleo.

Nesse estudo também foi constatado que o tempo de 40 s é suficiente para garantir a atração do analito adsorvido, pelo campo magnético, sendo esse o tempo empregado durante todo o procedimento analítico.

Embora esses intervalos de tempo sejam maiores que os alcançados nas amostras aquosas, é razoável afirmar que o equilíbrio de adsorção foi atingido de maneira rápida em ambos os procedimentos. Isso pode ser atribuído ao fato do adsorvente magnético conseguir dispersar-se uniformemente na solução, fazendo com que a área de contato entre o adsorvente e o analito seja suficientemente grande.

Por fim, estudos foram conduzidos para a escolha do eluente adequado para o procedimento da MSPE de Cd em óleos comestíveis. As soluções que ofereceram as melhores recuperações estão apresentadas na **Figura 4.15**.

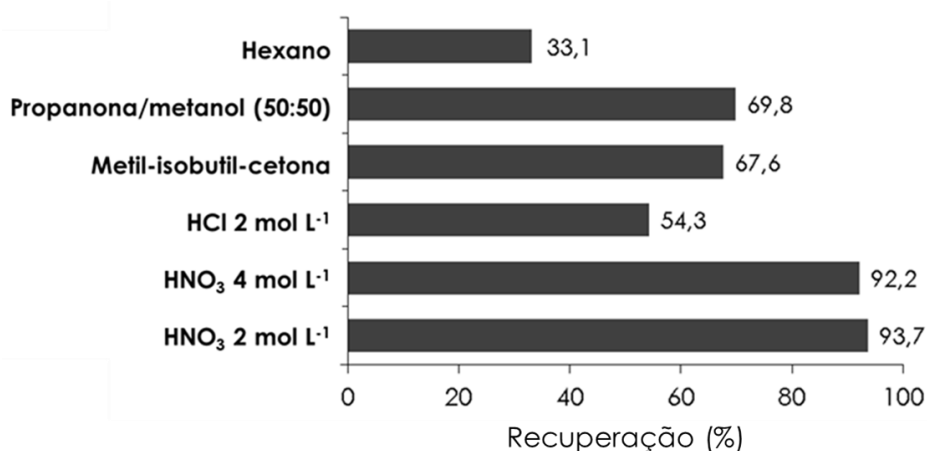


Figura 4.15. Influência do tipo e da concentração do eluente na adsorção de Cd em óleo.

A partir da análise dos dados acima, pode-se notar que o emprego das soluções de $2,0 \text{ mol L}^{-1}$ e $4,0 \text{ mol L}^{-1}$ de HNO_3 proporcionam melhores recuperações. Considerando que o uso de soluções muito ácidas em determinações por absorção atômica podem danificar o forno de grafite, optou-se por utilizar a solução de HNO_3 de menor concentração nos experimentos seguintes.

De maneira idêntica à determinação anterior, o tempo requerido para promover a dessorção do Cd foi de 30 s, sob agitação. Essa observação nos ensaios já era esperado, uma vez que o meio nessa etapa é semelhante em ambas as determinações. Dessa forma, foi adotado como eluente o HNO_3 $2,0 \text{ mol L}^{-1}$ e o tempo de 30 s para eluição do analito em todos os procedimentos analíticos seguintes.

4.3.2. Estudo dos potenciais interferentes em óleo comestível

Para a realização do estudo de potenciais interferentes, diversos metais foram adicionados às soluções de óleo mineral, contendo $0,5 \text{ } \mu\text{g L}^{-1}$ de Cd. Os resultados desse estudo estão apresentados na **Tabela 4.5**.

Tabela 4.5. Tabela de potenciais interferentes em óleos comestíveis. Dados referentes a concentração em $\mu\text{g L}^{-1}$ para uma solução de Cd de $0,5 \text{ } \mu\text{g L}^{-1}$.

Potenciais interferentes	Limite de tolerância [íon interferente]/[analito]
Pb²⁺	> 100
Cu²⁺	> 100
Ni²⁺	> 100
Zn²⁺	> 50
Ca²⁺	> 100
Mg²⁺	> 50

Como pode ser observado na tabela anterior, a análise dos interferentes não demonstraram alteração significativa na resposta analítica em baixas concentrações, podendo ser um indicativo da seletividade do adsorvente magnético nas condições experimentais selecionadas.

4.3.3. Estudo da precisão das válvulas solenoides para MSPE de Cd em óleo

O estudo descrito na **Seção 3.5** foi realizado para descobrir a vazão no canal das soluções para determinação de Cd em amostras oleosas. As vazões obtidas estão elencadas na **Tabela 4.6**.

Tabela 4.6. Vazões médias dos canais individuais das soluções empregadas para determinação de Cd em óleos comestíveis.

Válvula	Solução	Vazão (mL s ⁻¹)	Rotação (rpm)
V _A	Amostra	0,1553 ± 0,0052	160
V _S	Álcool isopropílico/clorofórmio 70:30 (v/v)	0,1890 ± 0,0061	160
V _N	Nanopartículas magnéticas dispersas	0,1426 ± 0,0040	120
V _E	HNO ₃ (2 mol L ⁻¹)	0,1408 ± 0,0045	120

É importante enfatizar que a semelhança entre as densidades das amostras dos óleos comestíveis empregados (ver **Tabela 4.7**) justifica o uso de uma única vazão para o canal de fluxo das amostras durante as análises.

Tabela 4.7. Densidades das amostras de óleos comestíveis empregadas na avaliação do método proposto.

Amostra	Densidade (g mL ⁻¹)
Canola	0,8495
	0,8489
Girassol	0,8458
	0,8397
Milho	0,8488
	0,8493
Soja	0,8504
	0,8510

4.3.4. Curva analítica para determinação de Cd em óleo comestível

Investigado a faixa de trabalho para a determinação de cádmio em óleos comestíveis após o procedimento de extração em fase sólida magnética, construiu-se uma curva analítica a partir dos seguintes níveis de concentração de cádmio em óleo mineral, em triplicata: 0,05; 0,25; 0,50; 0,75 e 1,0 $\mu\text{g L}^{-1}$. A **Figura 4.16** mostra a curva analítica obtida a partir dos dados coletados no GF AAS.

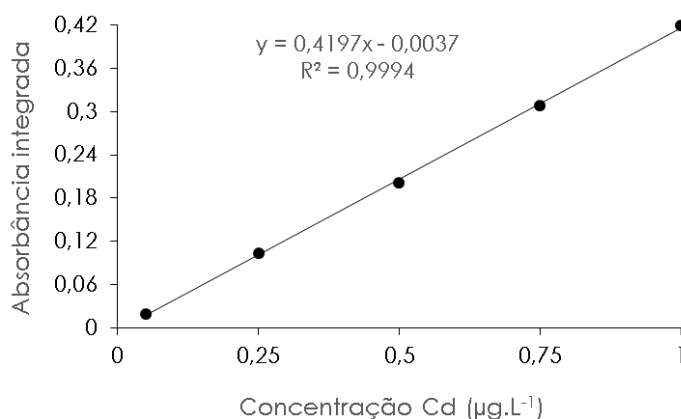


Figura 4.16. Curva analítica para os padrões de Cd em óleo mineral.

A **Figura 4.16** evidencia um comportamento linear entre as respostas analíticas e as concentrações de cádmio nas soluções padrão. Essa inferência de correlação baseada, inicialmente, em uma inspeção visual, foi observada pelos resultados da ANOVA.

Da mesma forma que foi realizado para a amostra de água, a massa característica para o Cd em óleos comestíveis foi calculada com base na curva analítica e a massa característica encontrada foi próxima de 0,18 pg.

Os valores do limite de detecção (LOD), limite de quantificação (LOQ) e sensibilidade foram estimados para o método proposto. Os valores obtidos estão mostrados na **Tabela 4.8**.

Tabela 4.8. Parâmetros obtidos no método proposto para determinação de Cd em óleos comestíveis.

Analito	Faixa de trabalho ($\mu\text{g L}^{-1}$)	Sensibilidade ($\text{s L } \mu\text{g}^{-1}$)	LOD ($\mu\text{g L}^{-1}$)	LOQ ($\mu\text{g L}^{-1}$)	Fator de enriquecimento*
Cd	0,05 - 1,0	0,4197	0,006	0,019	9

*Calculado com base na razão do volume da amostra pelo volume do eluente.

Como pode ser observado na tabela anterior, os parâmetros obtidos foram satisfatórios, quando comparados a outros trabalhos descritos na literatura (JURANOVIC *et al.*, 2003;

MENDIL *et al.*, 2009; GARCÍA *et al.*, 2014), tornando o método apropriado para a determinação de cádmio em amostras de óleos comestíveis.

4.3.5. Determinação de Cd em amostras de óleos comestíveis

Com base nas determinações do teor de cádmio nas soluções padrão e a verificação da curva analítica, oito amostras reais de óleos comestíveis de diferentes origens, marcas e/ou lotes foram analisadas para demonstrar a aplicabilidade do método em matrizes oleosas.

As determinações foram realizadas sempre em triplicatas e os resultados estão apresentados na **Tabela 4.9**, juntamente com os resultados das adições e recuperações dos analitos, em três níveis.

Tabela 4.9. Resultados obtidos para determinação de Cd em amostras de óleos comestíveis antes e após a realização da adição e recuperação dos analitos. Os valores de concentração de cádmio e suas quantidades adicionadas estão expressas em $\mu\text{g L}^{-1}$.

Amostras	Concentração Cd	Recuperação (% , n = 3)		
		0,05	0,25	0,5
A1	0,055	90,8 (3,0) ^a	93,7 (2,5)	91,4 (2,2)
A2	< LOQ	92,0 (3,1)	89,7 (3,3)	94,9 (2,9)
A3	0,070	91,1 (2,7)	95,3 (3,0)	89,8 (2, 6)
A4	0,082	89,2 (2,8)	90,5 (2,9)	93,3 (2,4)
A5	< LOQ	NR ^b	NR	NR
A6	0,057	NR	NR	NR
A7	0,063	NR	NR	NR
A8	< LOQ	NR	NR	NR

^a DPR = desvio padrão relativo (%).

^b NR = não realizada adição na amostra.

Observa-se na **Tabela 4.9** que os valores alcançados são semelhantes aos encontrados na literatura para outros tipos de extração ou digestão (GARCÍA *et al.*, 2014). Com relação ao intervalo de recuperação, esse pode ser considerado satisfatório para a determinação do analito em óleos comestíveis, bem como o desvio padrão relativo (DPR) que apresentou 3,3 % como maior valor.

Conclusão e perspectivas

5.1. Conclusão

Nesta tese, uma eficiente estratégia automática para realizar a extração em fase sólida magnética (MSPE) de metais em amostras aquosas e oleosas foi desenvolvido. O método foi aplicado na determinação de Cd e Pb em amostras de águas de abastecimento e de Cd em óleos comestíveis.

Para esse método, nanopartículas de Fe_3O_4 , revestidas com alumina e funcionalizadas com dodecil sulfato de sódio (SDS) e 1-(2-piridilazo)-2-naftol (PAN) foram sintetizadas para serem aplicadas como adsorvente magnético. A natureza do núcleo e do revestimento das partículas foi confirmada através da análise de difratometria de raios-X. A técnica de microscopia eletrônica de varredura mostrou que as partículas sintetizadas estavam satisfatoriamente dispersas e com distribuição de tamanho uniforme.

No entanto, a aferição exata da dimensão do material obtido foi prejudicada pela cobertura de ouro, requerida anteriormente às medidas, para promover melhor condutividade dos elétrons na superfície do material e consequentemente ampliar as resoluções das imagens microscópicas. Com esse resultado sinaliza-se, para o aperfeiçoamento da caracterização, a aplicação da técnica de microscopia eletrônica de transmitância. De qualquer maneira, essa imprecisão nas medidas não foi um impedimento para aplicação dessas partículas como adsorvente magnético no método proposto.

A segunda parte do trabalho, que consistiu no desenvolvimento do sistema automático para executar a MSPE foi realizada com sucesso. Para isso, uma câmara de extração foi confeccionada em Teflon, com uma janela de quartzo na lateral, permitindo a execução da MSPE *on-line* sem a necessidade de qualquer aparato auxiliar para imobilizar o adsorvente. Para geração do campo magnético na câmara de extração, um dispositivo robótico foi desenvolvido e empregado. A configuração física do sistema automático proposto permaneceu inalterada durante a execução de todos os procedimentos analíticos.

Fatores que afetam a MSPE, tais como o pH, a quantidade de adsorvente, o tipo e a concentração do eluente e o tempo de adsorção e dessorção, foram investigados. De acordo com os resultados obtidos, nas melhores condições experimentais, o método apresentou precisão, exatidão, limites de detecção e quantificação compatíveis com outros métodos descritos na literatura.

Diante do exposto, pode-se afirmar que o método automático desenvolvido é simples e robusto, uma vez que não requer a imobilização do material adsorvente, e foi aplicado com

sucesso na extração em fase sólida magnética de Cd e Pb em amostras de água de abastecimento e de Cd em óleos comestíveis.

Convém mencionar que o uso da presente estratégia para realização, de forma automática, da MSPE não está limitada às aplicações demonstradas aqui. As particularidades observadas ao longo desta tese apontam para uma promissora linha de estudo no nosso grupo de pesquisa.

5.2. Perspectivas

São vislumbradas diversas perspectivas para essa tese, que podem vir a ser exploradas. Assim, almeija-se realizar:

- O estudo de determinações multielementares de metais nas mesmas matrizes investigadas, através de uma mistura conveniente de complexantes e/ou variações nas condições de extração;
- A investigação do emprego da metodologia proposta para outras matrizes viscosas. Esses estudos podem fornecer informações importantes para o desenvolvimento de novos métodos baseados em MSPE e consequente expansão dos seus campos de aplicação frente à amostras de elevada complexidade, como gasolina, petróleo bruto, pomada, creme, dentre outros materiais.
- A hifenização da MSPE com outras formas de preparo de amostras *on-line*, como também à outras técnicas de detecção. Esses acoplamentos vêm sendo descritos na literatura e correspondem a uma tendência no campo da MSPE.
- A aplicação da MSPE juntamente com outros tipos de nanopartículas, como por exemplo os nanocristais semicondutores. Estudos prévios, realizados por nosso grupo de pesquisa, mostra que essa combinação é viável e promissora.

Referências bibliográficas

1. ADAMSON, A. W.; GAST, A. P. **Physical chemistry of Surfaces**. 6. ed. New York: John Wiley & Sons, 1997. 808 p.
2. AGUILAR-ARTEAGA, K.; RODRIGUEZ, J. A.; BARRADO, E. Magnetic solids in analytical chemistry: A review. **Analytica Chimica Acta**, v. 674, p. 157–165, 2010.
3. ALMEIDA, L. F. et al. A flow-batch analyzer with piston propulsion applied to automatic preparation of calibration solutions for Mn determination in mineral waters by ET ASS. **Talanta**, v. 73, p. 906-912, 2007.
4. AL-SAIDI, H.M.; EMARA, A. A. A. The recent developments in dispersive liquid–liquid microextraction for preconcentration and determination of inorganic analytes. **Journal of Saudi Chemical Society**, v. 18, p. 745–761, 2014.
5. ANWAR, F. et al. Rapid determination of some trace metals in several oils and fats. **Grasas Aceites**, v. 55, p. 160–168, 2004.
6. ASCI, M.Y.; EFENDIOGLU, A.; BATI, B. Solid Phase Extraction of Cadmium in Edible Oils Using Zinc Piperazinedithiocarbamate and Its Determination by Flame Atomic Absorption Spectrometry. **Turkish Journal of Chemistry**, v. 32, p. 431–440, 2008.
7. ASGHARI, A.; MOHAMMADI, B. Nano-alumina coated with sodium dodecyl sulfate and modified with 4-(2-Pyridylazo) resorcinol for extraction of heavy metals in different matrixes. **Journal of Industrial and Engineering Chemistry**, v. 20, p. 824-829, 2014.
8. BACCAN, N. et al. **Química Analítica Quantitativa elementar**. 3. Ed. São Paulo: Edgard Blucher LTDA, 2001. 308 p.
9. BAKKALI, K. et al. Determination of Heavy Metal Content in Vegetables and Oils From Spain and Morocco by Inductively Coupled Plasma Mass Spectrometry. **Analytical Letters**, v. 45, p. 907–919, 2012.
10. BARRETO, I. S. et al. A monosegmented flow-batch system for slow reaction kinetics: Spectrophotometric determination of boron in plants. **Talanta**, v. 94, p. 111– 115, 2012.
11. BARRETO, I. S. et al. Using a flow-batch analyzer for photometric determination of Fe(III) in edible and lubricating oils without external pretreatment. **Analytical Methods**, v. 5, p. 1040-1045, 2013.
12. BATISTA, A. D. et al. Flow analysis in Brazil: contributions over the last four decades. **Analyst**, v. 139, p. 3666-3682, 2014.
13. BRASIL. Ministério da Saúde. **Portaria n.º 2914, de 12 de dezembro de 2011**. Dispõe sobre os procedimentos de controle e de vigilância da qualidade da água para consumo humano e seu padrão de potabilidade. Brasília, 2011.

14. BURGUERA, J. L.; BURGUERA, M. Pretreatment of oily samples for analysis by flow injection spectrometric methods. **Talanta**, v. 83, p. 691-699, 2011.
15. CALDAS, S.S. et al. Principais técnicas de preparo de amostra para a determinação de resíduos de agrotóxicos em água por cromatografia líquida com detecção por arranjo de diodos e por espectrometria de massas. **Química Nova**, v. 34, p. 1604-1617, 2011.
16. CARLETTO, J. S. **Determinação de cádmio, chumbo e cobalto em matrizes aquosas usando micro extração líquido-líquido-sólido com detecção por SS-GF AAS**. 2013. 110p. Tese (Doutorado em Química). Universidade Federal de Santa Catarina, Santa Catarina.
17. CHATTERJEE, K. et al. Core/shell nanoparticles in biomedical applications. **Advances in Colloid and Interface Science**, v. 209, p. 8-39, 2014.
18. CHAVES, E.S. et al. Determination of trace elements in biodiesel and vegetable oil by inductively coupled plasma optical emission spectrometry following alcohol dilution **Spectrochimica Acta Part B: Atomic Spectroscopy**, v. 66, p. 733–739, 2011.
19. CHEN, B. et al. Magnetic solid phase microextraction on a microchip combined with electrothermal vaporization-inductively coupled plasma mass spectrometry for determination of Cd, Hg and Pb in cells. **Journal of Analytical Atomic Spectrometry**, v. 25, p. 1931–1938, 2010.
20. CHEN, B. et al. Speciation of selenium in cells by HPLC-ICP-MS after (on-chip) magnetic solid phase extraction. **Journal of Analytical Atomic Spectrometry**, v. 28, p. 334–343, 2013.
21. CHEN, L.; WANG, T.; TONG, J. Application of derivatized magnetic materials to the separation and the preconcentration of pollutants in water samples. **Trends in Analytical Chemistry**, v. 30, p. 1095-1108, 2011.
22. CHEN, Y. et al. Sample preparation. **Journal Chromatography A**, v. 1184, p. 191-219, 2008.
23. DALEN, G. V. Determination of cadmium in edible oils and fats by direct electrothermal atomic absorption spectrometry. **Journal of Analytical Atomic Spectrometry**, v. 11 p. 1087–1092, 1996.
24. DINIZ, P. H. G. D. et al. Flow-batch analysis. **Trends in Analytical Chemistry**, v. 35, p. 39-49, 2012.
25. DOMÍNGUEZ, M. A. Automatic flow-batch system for cold vapor atomic absorption spectroscopy determination of mercury in honey from Argentina using online sample treatment. **Journal of Agricultural and Food Chemistry**, v. 60, p. 4812-4817, 2012.

26. EZODDIN, M. et al. Application of modified nano-alumina as a solid phase extraction sorbent for the preconcentration of Cd and Pb in water and herbal samples prior to flame atomic absorption spectrometry determination. **Journal of Hazardous Materials**, v. 178, p.900-905, 2010.
27. FACCHIN, I. **Extração líquido-líquido em sistema de fluxo monossegmentado**. 1996. 188 p. Tese (Doutorado em Química). Universidade Estadual de Campinas, São Paulo.
28. FAO/WHO **Joint Expert Committee on Food Additives**. WHO Tech. Rep. Senal n°. 50532; 1972.
29. FERREIRA, H. S.; RANGEL, M. C. Nanotecnologia: aspectos gerais e potencial de aplicação em catálise. **Química Nova**, v. 32, p. 1860-1870, 2009.
30. FERREIRA, R. V. **Síntese e Caracterização de Nanopartículas Magnéticas Funcionalizadas com Núcleo Magnético de Magnetita**. 2009. 87 p. Dissertação (Mestrado em Química). Universidade Federal de Minas Gerais, Minas Gerais.
31. FU, F.; WANG, Q. Removal of heavy metal ions from wastewaters: A review. **Journal of Environmental Management**, v. 92, 407-418, 2011.
32. GARCÍA, I. L.; MARTÍNEZ, Y. V.; CÓRDOBA, M. H. Determination of cadmium and lead in edible oils by electrothermal atomic absorption spectrometry after reverse dispersive liquid-liquid microextraction. **Talanta**, v. 124, p. 106-110, 2014.
33. GIAKISIKLI, G.; ANTHEMIDIS, A. N. Automated magnetic sorbent extraction based on octadecylsilane functionalized maghemite magnetic particles in a sequential injection system coupled with electrothermal atomic absorption spectrometry for metal determination. **Talanta**, v. 110, p. 229–235, 2013b.
34. GIAKISIKLI, G.; ANTHEMIDIS, A. N. Magnetic materials as sorbents for metal/metalloid preconcentration and/or separation. A review. **Analytica Chimica Acta**, v. 789, p. 1-16, 2013a.
35. GRÜNHUT, M. et al. Flow-batch analyzer for the chemiluminescence determination of catecholamines in pharmaceutical preparations. **Analytical Letters**, v. 44, p. 67-81, 2011.
36. GRZESKOWIAK, A.; GRZESKOWIAK, T. Dispersive liquid-liquid microextraction. **Trends in Analytical Chemistry**, v. 30, p. 1382-1399, 2011.
37. GUPTA, A. K.; GUPTA, M. Synthesis and surface engineering of iron oxide nanoparticles for biomedical applications. **Biomaterials**, v. 26, p. 3995-4021, 2005.

38. HOLLER, F. J.; SKOOG, D. A.; CROUCH, S. R. **Princípios de análise instrumental**. 6ª ed. Porto Alegre: Bookman, 2009.
39. HONORATO, R. S. et al. A flow-batch titrator exploiting a one-dimensional optimisation algorithm for end point search. **Analytica Chimica Acta**, v. 396, p. 91-97, 1999.
40. HUANG, Y. et al. Magnetic immobilization of amine-functionalized magnetite microspheres in a knotted reactor for on-line solid-phase extraction coupled with ICP-MS for speciation analysis of trace chromium. **Journal of Analytical Atomic Spectrometry**, v. 25, p. 1467–1474, 2010.
41. IÑÓN, F. A., TUBINO, M. B. in: TROJANOWICZ, M. (Editor). **Advances in Flow Analysis**. 1. Ed. Weinheim: Wiley-VCH, 2008. p. 6.
42. JIMENEZ, M.S.; VELARTE, R.; CASTILLO, J. R. On-line emulsions of olive oil samples and ICP-MS multi-elemental determination. **Journal of Analytical Atomic Spectrometry**, v. 18, p. 1154–1162, 2003.
43. JURANOVIC, I.; BREINHOELDER, P.; STEFFAN, I. Determination of trace elements in pumpkin seed oils and pumpkin seeds by ICP-AES. **Journal of Analytical Atomic Spectrometry**, v. 18, p. 54–58, 2003.
44. KANG, Y.S. et al. Synthesis and Characterization of Nanometer-Size Fe_3O_4 and $\gamma\text{-Fe}_2\text{O}_3$ Particles. **Chemistry of Materials**, v. 8, p. 2209–2211, 1996.
45. KARA, D.; FISHER, A.; HILL, S. Extraction of trace elements by ultrasound-assisted emulsification from edible oils producing detergentless microemulsions. **Food Chemistry**, v. 188, p. 143-148, 2015.
46. KARIMI, M. A. et al. Solid phase extraction of lead(II) trace amounts in opium, heroin, lipstick, plants and water samples using modified magnetite nanoparticles prior to atomic absorption spectrometric determination. **Journal of the Iranian Chemical Society**, v. 9, p. 171–180, 2012.
47. KARIMI, M. A.; KAFI, M. Removal, preconcentration and determination of Ni(II) from different environmental samples using modified magnetite nanoparticles prior to flame atomic absorption spectrometry. **Arabian Journal of Chemistry**, v. 8, p. 812-820, 2015.
48. KHALIL, M. I. Co-precipitation in aqueous solution synthesis of magnetite nanoparticles using iron(III) salts as precursors. **Arabian Journal of Chemistry**, v. 8, p. 279-284, 2015.

49. KOLEV, S. D.; MCKELVIE, I. D. (Editores). **Comprehensive analytical chemistry. Advances in flow injection analysis and related techniques**. 2. ed. Amsterdam: Elsevier, 2008. 783 p.
50. KORN, M. G. A. et al. Sample Preparation for the Determination of Metals in Food Samples Using Spectroanalytical Methods - A Review. **Applied Spectroscopy Reviews**, v. 43, p. 67-92, 2008.
51. KOWALEWSKA, Z. et al. Application of Liquid-Liquid Extraction and Adsorption on Activated Carbon to the Determination of Different Forms of Metals Present in Edible Oils. **Chemia Analityczna**, v. 50, 1007–1019, 2005.
52. LAURENT, S. et al. Magnetic iron oxide nanoparticles: synthesis, stabilization, vectorization, physicochemical characterizations, and biological applications. **Chemical Review**, v. 108, p. 2064-2010, 2008.
53. LEE, P.; SUN, Y.; LING, Y. Magnetic nano-adsorbent integrated with lab-on-valve system for trace analysis of multiple heavy metals. **Journal of Analytical Atomic Spectrometry**, v. 24, p. 320–327, 2009.
54. LEPRI, F. G. et al. Determination of trace elements in vegetable oils and biodiesel by atomic spectrometric techniques – A review. **Applied Spectroscopy Reviews**, v. 46, p. 175–206, 2011.
55. LESLIE-PELECKY, D. L.; RIEKE, R. D. Magnetic properties of nanostructured materials. **Journal of Materials Chemistry**, v. 8, p. 1770-1783, 1996.
56. LI, Y. et al. Displacement solid-phase extraction on mercapto-functionalized magnetite microspheres for inductively coupled plasma mass spectrometric determination of trace noble metals. **Analytica Chimica Acta**, v. 692, p. 42–49, 2011.
57. LI, Y. et al. $\text{Fe}_3\text{O}_4@\text{Al}_2\text{O}_3$ magnetic core-shell microspheres for rapid and highly specific capture of phosphopeptides with mass spectrometry analysis. **Journal of Chromatography A**, v. 1172, p. 57–71, 2007.
58. LI, Z. et al. Extraction of imide fungicides in water and juice samples using magnetic graphene nanoparticles as adsorbent followed by their determination with gas chromatography and electron capture detection. **Analytical Sciences**, v. 29, p. 325-331, 2013.
59. LIMA, M. B. et al. Automatized flow-batch method for fluorescent determination of free glycerol in biodiesel samples using on-line extraction. **Talanta**, v. 89, p. 21-26, 2012a.

60. LIMA, M. B. et al. Automatized flow-batch method for fluorescent determination of free glycerol in biodiesel samples using on-line extraction. **Talanta**, v. 89, p. 21-26, 2012b.
61. LIMA, M. B. et al. In-line single-phase extraction for direct determination of total iron in oils using CdTe quantum dots and a flow-batch system. **Analytical Methods**, v. 7, p. 7707-7714, 2015.
62. LIMA, M. B. et al. Turbidimetric and photometric determination of total tannins in tea using a micro-flow-batch analyzer. **Talanta**, v. 88, p. 717-723, 2012c.
63. LIU, Y.; JIA, L. Analysis of estrogens in water by magnetic octadecylsilane particles extraction and sweeping micellar electrokinetic chromatography. **Microchemical Journal**, v. 89, p. 72-76, 2008.
64. LU, A.; SALABAS, E. L.; SCHUTH, F. Magnetic Nanoparticles: Synthesis, Protection, Functionalization, and Application. **Angewandte Chemie International Edition**, v. 46, p. 1222-1244, 2007.
65. LUCENA, R. et al. Review: Potential of nanoparticles in sample preparation. **Journal of Chromatography A**, v. 1218, p. 620–637, 2011.
66. MAHMOUDI, M. et al. Superparamagnetic iron oxide nanoparticles (SPIONs): Development, surface modification and applications in chemotherapy. **Advanced Drug Delivery Reviews**, v. 63, p. 24-26, 2011.
67. MENDIL, D. et al. Investigation of the levels of some element in edible oil samples produced in Turkey by atomic absorption spectrometry. **Journal of Hazardous Materials**, v. 165, p. 724–728, 2009.
68. MIRABI, A.; HOSSEINI, S. N. Use of Modified Nano Sorbent Materials for Extraction and Determination of Trace Amounts of Copper Ions in Food and Natural Water Samples. **Trends in Applied Sciences Research**, v. 7, p. 541-549, 2012.
69. MOHAMMADI, S. Z. et al. Preconcentration of trace amounts of Pb(II) ions without any chelating agent by using magnetic iron oxide nanoparticles prior to ETAAS determination. **The Scientific World Journal**. V. 12, p. 1-6, 2012.
70. MONTE-FILHO, S. S. et al. Flow-batch miniaturization. **Talanta**, v. 86, p. 208-213, 2011.
71. NETO, B. B.; SCARMINIO, I. S.; BRUNS, R. E. **Como Fazer Experimentos: Pesquisa e desenvolvimento na Ciência e na Indústria**. 4 ed. Porto Alegre: Bookman, 2010.

72. NIEMIROWICZ K. et al. Magnetic nanoparticles as new diagnostic tools in medicine. **Advances in Medical Sciences**, v. 52, p. 196-207, 2012.
73. NUNES, L. S. et al. Multi-element determination of Cu, Fe, Ni and Zn content in vegetable oils samples by high-resolution continuum source atomic absorption spectrometry and microemulsion sample preparation. **Food Chemistry**, v. 127, p. 780–783, 2011.
74. OLIVEIRA, S. C. B. et al. A coulometric flow cell for in-line generation of reagent, titrant or standard solutions. **Microchemical Journal**, v. 82, p. 220-225, 2006.
75. ORTIZ, N. **Estudo da utilização de magnetita como material adsorvedor dos metais Cu^{2+} , Pb^{2+} , Ni^{2+} e Cd^{2+} em solução**. 2000. 176 p. Tese (Doutorado em Química). Universidade de São Paulo, São Paulo.
76. PANNEERSELVAM, S.; CHOI, S. Nanoinformatics: Emerging Databases and Available Tools. **International Journal of Molecular Sciences**, v. 15, p. 7158-7182, 2014.
77. PASQUINI C.; OLIVEIRA, W.A. Monosegmented system for continuous flow analysis. Spectrophotometric determination of chromium(VI), ammonia and phosphorus. **Analytical Chemistry**, v. 57, p. 2575-2579, 1985.
78. PASSOS, M. L.C. et. al. Nanoparticle-based assays in automated flow systems: A review. **Analytica Chimica Acta**, v. 889, p. 22-34, 2015.
79. PICHON, V. Solid-phase extraction for multiresidue analysis of organic contaminants in water. **Journal of Chromatography A**, v. 885, p. 195-2015, 2000.
80. PRADEEP, T., **Nano: The Essentials**. New Delhi: McGraw-Hill, 2007. 215 p.
81. REIS, B. F. et al. Multicommution in flow analysis. Part 1. Binary sampling: concepts, instrumentation and spectrophotometric determination of iron in plant digests. **Analytica Chimica Acta**, v. 293, p. 129-138, 1994.
82. RIBEIRO, M. S.; ROCHA, F. R. P. A single-phase spectrophotometric procedure for in situ analysis of free glycerol in biodiesel. **Microchemical Journal**, v. 106, p. 23-26, 2013.
83. ROBINSON, P. J.; DUNNILL, P.; LILLY, M. D. The properties of magnetic supports in relation to immobilized enzyme reactors. **Biotechnology and Bioengineering**, v. 15, p. 603-606, 1973.
84. RUZICKA J.; HANSEN E. H. Flow injection analyses: Part I. A new concept of fast continuous flow analysis. **Analytica Chimica Acta**, v. 78, p. 145-157, 1975.

85. RUZICKA, J.; MARSHALL, G. D. Sequential injection: a new concept for chemical sensors, process analysis and laboratory assays. **Analytica Chimica Acta**, v. 237, p. 329-343, 1990.
86. ŠAFAŘÍKOVÁ, M.; ŠAFAŘÍK I. Magnetic solid-phase extraction. **Journal of Magnetism and Magnetic Materials**, v. 194, p. 108-112, 1999.
87. SANDELL, E. B.; ONISH, H. **Photometric Determination of Traces of Metals – Parte I**, 4 ed. New York: John Wiley & Sons, 1978.
88. SANTOS, V. B. et al. A thermostated electrochemical flow cell with a coupled bismuth film electrode for square-wave anodic stripping voltammetric determination of cadmium(II) and lead(II) in natural, waste water and tap water samples. **Talanta**, V. 126, p. 82-90, 2014.
89. SATARPAI, T.; SHIOWATANA, J.; SIRIPINYANOND, A. Paper-based analytical device for sampling, on-site preconcentration and detection of ppb lead in water. **Talanta**, v. 154, p. 504-510, 2016.
90. SCHMIDT, A. M. Thermoresponsive magnetic colloids. **Colloid and Polymer Science**, v 285, p. 953-966, 2007.
91. SHEMIRANI, F.; AKHAVI, B. T. S. Preconcentration and determination of trace cadmium using 1-(2-pyridylazo)-2-naphthol (PAN) immobilized on surfactant-coated alumina. **Analytical Letters**, v. 34, p. 2179-2188, 2001.
92. SILVA, J. E. et al. A flow-batch internal standard procedure for iron determination in hydrated ethanol fuel by flame atomic absorption spectrometry. **Talanta**, v. 70, p. 522-526, 2006.
93. SILVESTRE, C. I .C. et al. Liquid-liquid extraction in flow analysis: A critical review. **Analytica Chimica Acta**, v. 652, p. 54-65, 2009.
94. SKEGGS L. T. JR. An automatic method for colorimetric analysis. **American Society for Clinical Pathology**, v. 28, p. 311-22, 1957.
95. SOARES, D. F. **Proposta de tratamento e disposição adequada de resíduos químicos gerados no laboratório de separação e pré-concentração (LSPc) do IQ-UFU**. 2006. 62 p. Dissertação (Mestrado em Química). Universidade Federal de Uberlândia, Minas Gerais.
96. SOLER, M. A. G. et al. Study of molecular surface coating on the stability of maghemite nanoparticles. **Surface Science**, v. 601, p. 3921-3925, 2007.
97. SOUZA, A. T. **Síntese e caracterização de nanopartículas magnéticas de óxido de ferro para aplicações biomédicas - um estudo citotóxico em linhagem celular de**

- carcinoma cervical humano (células HeLa)**. 2011. 110 p. Dissertação (Mestrado em Biofísica Molecular). Universidade Estadual Paulista, São Paulo.
98. SRIVASTAVA, N.K., MAJUMDER, C.B. Novel biofiltration methods for the treatment of heavy metals from industrial wastewater. **Journal of Hazardous Materials**, v. 151, p. 1-8, 2008.
 99. TARAT, P. et al. Advances in magnetic nanoparticles for biotechnology applications. **Journal of Magnetism and Magnetic Materials**, v. 290, p. 28-34, 2005.
 100. TAVALLALI, H. Alumina-coated magnetite nanoparticles for solid phase extraction of Cd in water samples. **International Journal of ChemTech Research**, v. 3, p. 1647-1651, 2011a.
 101. TAVALLALI, H. Determination of Pb(II) in some real samples based on alumina-coated magnetite nanoparticles solid phase extraction method. **International Journal of ChemTech Research**, v. 3, p. 1641-1646, 2011b.
 102. THARAKESWAR et al. Optical Chemical Sensor for Screening Cadmium(II) in Natural Waters. **Journal of Sensor Technology**, v. 2, p. 68-74, 2012.
 103. THOMPSON, M.; ELLISON, S. L. R.; WOOD, R. Harmonized guidelines for single-laboratory validation of methods of analysis. **International Union of Pure and Applied Chemistry**, v. 74, p. 835-855, 2002.
 104. TOWLER, P. H.; SMITH, J. D.; DIXON, D. R. Magnetic recovery of radium, lead and polonium from seawater samples after preconcentration on a magnetic adsorbent of manganese dioxide coated magnetite. **Analytica Chimica Acta**, v. 328, p. 53-59, 1996.
 105. TROJANOWICZ, M. (editor). **Advances in Flow Analysis**. 1 ed. Weinheim: Wiley-VCH, 2008. 702 p.
 106. VERAART, J. R.; LINGEMAN, H.; BRINKMAN, U. A.T. Coupling of biological sample handling and capillary electrophoresis. **Journal of Chromatography A**, v. 856, p. 483-514, 1999.
 107. WANG, J.; HANSEN, E. H. On-line sample-pre-treatment schemes for trace-level determinations of metals by coupling flow injection or sequential injection with ICP-MS. **Trends in Analytical Chemistry**, v. 22, p. 836-846, 2003.
 108. WANG, W. N. et al. Extraction of neonicotinoid insecticides from environmental water samples with magnetic graphene nanoparticles as adsorbent followed by determination with HPLC. **Analytical Methods**, v. 4, p. 766-772, 2012.
 109. WANG, Y. et al. Extraction and preconcentration of trace levels of cobalt using functionalized magnetic nanoparticles in a sequential injection lab-on-valve system with

- detection by electrothermal atomic absorption spectrometry. **Analytica Chimica Acta**, v. 713, p. 92–96, 2012.
110. WELZ, B.; SPERLING, M.; **Atomic Absorption Spectrometry**. 3 ed. New York: Weinheim, Wiley, 1999.
111. WOOD, R. How to validate analytical methods. **Trends in Analytical Chemistry**, v. 18, n. 9-10, p. 624–632, 1999.
112. WUL, H. et al. Automated Magnetic Solid-Phase Extraction for Synthetic Food Colorant Determination. **Food Analytical Methods**, v. 9, p. 614-623, 2016.
113. XIE, L. et al. Application of functionalized magnetic nanoparticles in sample preparation. **Analytical and Bioanalytical Chemistry**, v. 406, p. 377-399, 2014.
114. XU, H. et al. Simultaneous preconcentration of cadmium and lead in water samples with silica gel and determination by flame atomic absorption spectrometry. **Journal Environmental Science**, v. 25, p. 45-49, 2013.
115. ZAGATTO, E. A. G. et al. Information essential for characterizing a flow-based analytical system. **Pure and Applied Chemistry**, v. 74, p. 585-592, 2002.

Anexo I

Fundamentos do eletromagnetismo

ANEXO I – FUNDAMENTOS DO ELETROMAGNETISMO

Comportamento magnético das nanopartículas

Quando se trata de dimensões nanométricas, os materiais apresentam alguns fenômenos exclusivos, tais como o superparamagnetismo, no caso das nanopartículas magnéticas (GOESMANN e FELDMANN, 2010). De qualquer forma, é necessário entender os fundamentos da magnetização de um sólido macroscópico, para entender o seu comportamento quando em nanoescala.

A interpretação do comportamento exibido pelos materiais, quando expostos a presença de um campo magnético externo, pode ser explicado de duas maneiras, através da teoria clássica ou da teoria quântica, sendo a primeira abordagem mais conveniente para esta breve discussão. Logo, é adequado enunciar que as propriedades magnéticas macroscópicas de um material são oriundas, principalmente, dos momentos magnéticos associados aos elétrons desse material.

Há dois tipos de movimentos do elétron, o movimento rotacional ao redor do núcleo e o movimento rotacional sobre seu próprio eixo, e cada um desses tem um momento magnético associado, são eles: o momento magnético orbital e o momento magnético de spin (CALLISTER e RETHWISCH, 2009). O primeiro pode ser representado por um vetor paralelo ao eixo de rotação e o segundo por um vetor normal ao plano de rotação do elétron, ver **Figura A.1**.

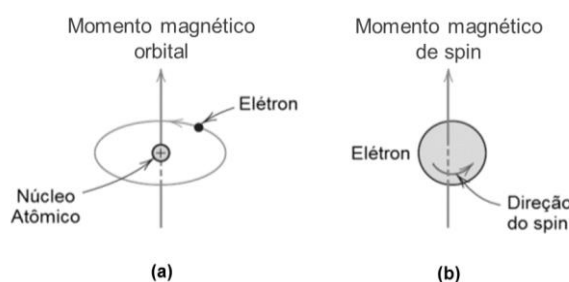


Figura A.1. Representação dos momentos magnéticos atômicos associados ao **(a)** movimento orbital e ao **(b)** movimento de spin eletrônico. Adaptada da ref. (CULLITY e GRAHAN, 2009).

Assim, os átomos apresentam um momento magnético resultante, também chamado de dipolo magnético, que é a somatória vetorial dos momentos dos elétrons, podendo ocorrer:

- **Diamagnetismo:** Condição em que há o cancelamento de todos os momentos magnéticos e o átomo não apresenta momento resultante na ausência de um campo magnético externo;

- Paramagnetismo: Condição em que há apenas o cancelamento parcial dos momentos magnéticos e o átomo exibe um momento magnético resultante, mesmo sem estar sob a ação de um campo magnético externo.

Já em sólidos estendidos, ou seja, em materiais constituídos por diversos átomos (*bulk*), os tipos mais comuns de comportamento, são: diamagnetismo, paramagnetismo e ferromagnetismo (YOUNG e FREEDMAN, 2009).

No diamagnetismo, na ausência de um campo magnético externo os átomos não apresentam momentos magnéticos resultantes e por esse motivo os materiais estendidos não apresentam um momento magnético líquido. Porém, na presença de um campo magnético, há uma mudança no movimento orbital dos elétrons, gerando um magnetismo de baixíssima magnitude e em sentido contrário ao campo magnético aplicado.

No paramagnetismo, devido ao cancelamento incompleto dos momentos magnéticos dos elétrons, na ausência de um campo externo a orientação randômica dos dipolos magnéticos é de tal forma que promove um momento magnético resultante igual a zero. Já na presença de um campo magnético esses dipolos alinham-se no mesmo sentido do campo aplicado, e se somam, ampliando assim a magnitude do campo magnético total.

No ferromagnetismo há um momento magnético permanente, mesmo na ausência de um campo externo, e comumente manifesta magnetizações muito grandes e persistentes. Isto ocorre devido à alguns efeitos cooperativos que acontecem entre os momentos magnéticos dos átomos do material, geralmente metálico, que resulta em um alinhamento dos dipolos magnéticos atômicos e propicia uma magnetização remanente mesmo na ausência do campo.

Outra importante característica dos materiais ferromagnéticos estendidos é a presença de pequenas regiões orientadas ao acaso, nas quais os momentos de dipolo encontram-se alinhados em uma mesma direção. Esses alinhamentos dos momentos nos sólidos ferromagnéticos são conhecidos como domínios magnéticos (CULLITY e GRAHAN, 2009), **Figura A.2 (a)**.

Tais regiões são separadas por interfaces móveis chamadas de paredes de domínios. Nessas interfaces, os momentos atômicos vão alterando gradativamente a sua direção, de modo a alinhar-se novamente no sentido dos momentos pertencentes ao domínio magnético adjacente, **Figura A.2 (b)**.

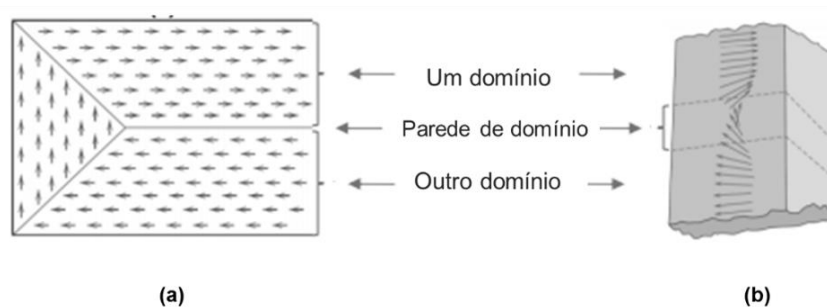


Figura A.2. Representações esquemáticas dos **(a)** domínios magnéticos com regiões com grupos de dipolos magnéticos alinhados em um mesmo sentido, separados por paredes de domínio; e **(b)** mudança gradual dos dipolos magnéticos na região da parede entre os domínios magnéticos. Adaptada da ref. (CULLITY e GRAHAN, 2009).

Com a aplicação de um campo magnético externo em um sólido ferromagnético estendido, ocorre um movimento das paredes de domínio desse material (**Figura A.3 (a)**), de tal forma que os domínios com dipolos magnéticos mais favoráveis à direção e ao sentido do campo magnético externo aumentam, e os domínios com dipolos magnéticos de sentido contrário ao campo externo diminuem. Isto ocorre até determinado ponto onde todos os momentos atômicos estão alinhados no sentido do campo aplicado e o material exibe sua magnetização máxima, chamada de saturação magnética ou magnetização de saturação, M_s . Porém, ao se retirar o campo aplicado, ocorre uma histerese na curva de magnetização (**Figura A.3 (b)**), devido ao forte acoplamento dos momentos magnéticos atômicos. Com isso, mesmo na ausência um campo magnético externo, o material fica com uma magnetização residual, e essa é chamada de remanência, R . Para retirar essa remanência do material é necessário a aplicação de um campo externo contrário ($-H$) ao sentido desses dipolos acoplados, de tal forma que torne essa remanência nula novamente. O campo necessário para tornar a remanência nula chama-se coercitividade ou campo coercitivo, H_c (CULLITY e GRAHAN, 2009)

Essas características dos materiais ferromagnéticos podem ser visualizadas abaixo, na curva de magnetização, gráfico da magnetização (M) *versus* campo magnético aplicado (H), conhecida por expor o ciclo de histerese magnética.

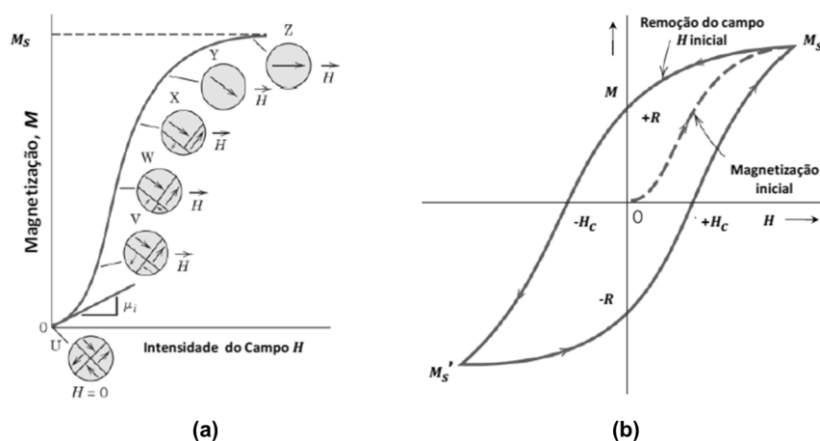


Figura A.3. Exemplo ilustrativo da curva de magnetização de um material ferromagnético até a sua magnetização de saturação (a) e da curva de histerese, com um ciclo de magnetização e desmagnetização do material (b). Adaptada da ref. (CULLITY e GRAHAN, 2009).

Esse processo de formação dos domínios magnéticos é governado pelo balanço energético entre a energia magnetostática, que é proporcional ao volume do material, e a energia de formação das paredes de domínio, que aumenta proporcionalmente com a área interfacial entre os domínios. Ao diminuir a dimensão desses materiais, a energia magnetostática também diminui até um determinado volume crítico, onde a partir desse ponto o custo energético de criação das paredes de domínio é maior que sustentar a energia magnetostática de um estado de monodomínio (*single-domain*, SD). Por esse motivo, as nanopartículas possuem um diâmetro crítico, D_c , característico de cada material, onde abaixo dessa dimensão os nanocristais não mais exibem múltidomínios (MD) e passam a existir como SD. Tal comportamento pode ser melhor interpretado pelo gráfico de coercitividade *versus* o diâmetro de uma partícula esférica, **Figura A.4 (a)**, pois a coercitividade das partículas possui uma grande dependência com seu tamanho (CULLITY e GRAHAN, 2009).

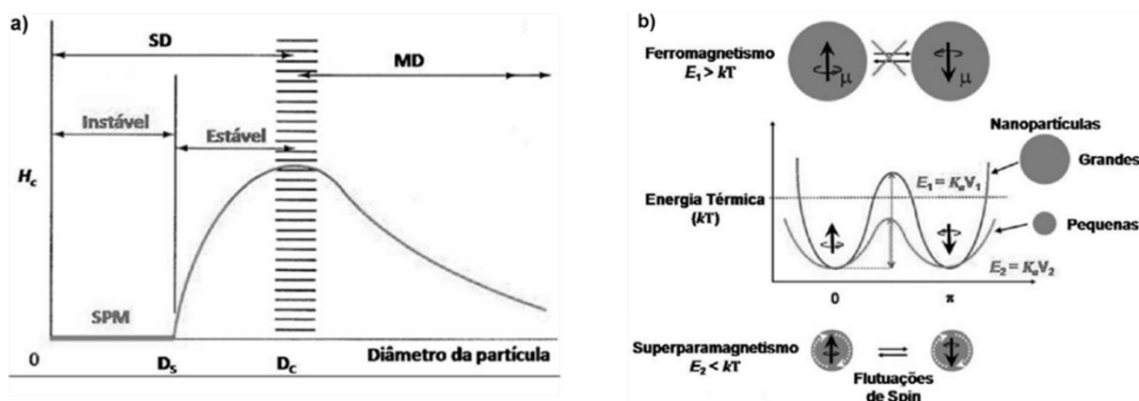


Figura A.4. (a) Gráfico ilustrando o comportamento da coercitividade com o diâmetro da partícula; (b) Figura demonstrando a variação anisotrópica com o tamanho das partículas e sua comparação com a energia térmica, evidenciando as flutuações de spin responsáveis pelo fenômeno de superamagnetismo. Adaptada da ref. (CULLITY e GRAHAN, 2009).

Observando a **Figura A.4 (a)**, quando o diâmetro da partícula decresce, H_c aumenta até seu máximo valor situado na região de transição MD/SD, ou seja, na região onde a partícula passa a existir como um monodomínio magnético tendo todos seus spins alinhados em um único sentido. A partir desse ponto a magnetização será revertida ou anulada apenas por efeito da rotação do spin, pois não há mais a formação das paredes de domínio. Assim, ao reduzir-se o diâmetro da partícula a valores abaixo de D_c a coercitividade diminui devido a efeitos térmicos.

Analisando agora o comportamento de uma partícula isolada no estado SD, a energia anisotrópica por partícula responsável por manter os momentos magnéticos atômicos alinhados em uma direção pode ser expressa por: $E(\theta_a) = K_a V \sin^2 \theta_a$, onde K_a é a constante anisotrópica, V o volume da partícula e θ_a o ângulo entre o eixo de fácil magnetização e a direção da magnetização.

Desse modo, sendo $K_a V$ a barreira energética que separa as duas direções de fácil magnetização contrárias, nanopartículas com diâmetros abaixo de D_s passam a exibir valores de energia anisotrópica menor que a energia térmica do ambiente, kT , onde k é a constante de Boltzmann e T a temperatura, curva inferior na **Figura A.4 (b)**. Logo, a direção dos momentos magnéticos de spin dessas nanopartículas fica instável (desestabilizado) e, assim, a magnetização total do material é nula na ausência de um campo externo e o seu comportamento magnético é como o de um material paramagnético. Porém, na presença de um campo H a sua resposta magnética é rápida exibindo valores de M_s muito maiores que as de um material paramagnético, ou seja, sua susceptibilidade magnética é elevada. Esse comportamento magnético é denominado superparamagnetismo (BATTLE e LABARTA, 2002).

Em resumo, como a remanência e a coercitividade são nulas, as partículas superparamagnéticas não são atraídas uma pelas outras, podendo assim ser suspensas na solução mesmo tendo sido aplicado um campo magnético externo anteriormente.

REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

GOESMANN, H.; FELDMANN, C. Nanoparticulate functional Materials. **Angewandte Chemie International Edition**, v. 49, p. 1362-1395, 2010.

BATLLE, X; LABARTA, A. Finite-size effects in fine particles: magnetic and transport properties. **Journal of Physics D: Applied Physics**, v. 35, p. 15-42, 2002.

CULLITY, B. D.; GRAHAN, C. D. **Introduction to Magnetic Materials**. 2 ed. Weinheim: Wiley - VHC, 2009, 537 p.

CALLISTER, W. D. JR.; RETHWISCH, D. G. **Materials Science and Engineering: An Introduction**. 8 ed. New York: Wiley, 2009, 992 p.

YOUNG, H. D.; FREEDMAN, R. A. **Física III – Eletromagnetismo**, 12^a ed, São Paulo, Pearson: Addison Wesley, 2009.

Anexo II

Produção científica

ANEXO II – PRODUÇÃO CIENTÍFICA

Durante o período do curso de doutorado (2012 - 2016) foram publicados artigos científicos que permitiram o desenvolvimento efetivo da presente tese. Os principais trabalhos estão elencados a seguir:

1. Barreto, I. S.; Andrade, S. I. E.; Lima, M. B.; Silva, E. C.; Araújo, M. C. U.; Almeida, L. F. A monosegmented flow-batch system for slow reaction kinetics: Spectrophotometric determination of boron in plants. **Talanta**, v. 94, p. 111-115, 2012.
2. Barreto, I. S.; Lima, M. B.; Andrade, Stéfani, I. E.; Araújo, M. C. U.; Almeida, L. F. Using a flow-batch analyzer for photometric determination of Fe(III) in edible and lubricating oils without external pretreatment. **Analytical Methods**, v. 5, p. 1040-1045, 2013.
3. Lima, M. B.; Barreto, I. S.; Andrade, S. I. E.; Almeida, L. F.; Araújo, M. C. U. Using Webcam, CdTe Quantum Dots and Flow-Batch System for Automatic Spectrofluorimetric Determination of N-Acetyl-L-cysteine in Pharmaceutical Formulations. **Journal of the Brazilian Chemical Society**, v. 25, p. 1638-1646, 2014.
4. Lima, M. B.; Andrade, S. I. E.; Barreto, I. S.; Araújo, M. C. U. Automatic Flow-Batch Approach Using CdTe Quantum Dots for Fluorescent Determination of Ascorbic Acid in Fruit Juices. **Food Analytical Methods**, v. 7, p. 1598-1603, 2014.
5. Lima, M. B.; Andrade, S. I. E.; Barreto, I. S.; Araújo, M. C. U. In-line single-phase extraction for direct determination of total iron in oils using CdTe quantum dots and a flow-batch system. **Analytical Methods**, v. 7, p. 7707-7714, 2015.

Outras produções científicas realizadas nesse período podem ser visualizadas na Plataforma Lattes: <http://buscatextual.cnpq.br/buscatextual/visualizacv.do?id=K4480077J3>.