



UNIVERSIDADE FEDERAL DE PERNAMBUCO

Centro de Ciências Exatas e da Natureza

Departamento de Química Fundamental

Programa de Pós-Graduação em Química

dQF
Departamento
de Química Fundamental

**PRÉ-CONCENTRAÇÃO E DETERMINAÇÃO DE ÍONS Pb(II)
EMPREGANDO SÍLICA MODIFICADA COM 3,6-DITIA-1,8-
OCTANODIOL POR MCFIA-FAAS EM AMOSTRAS DE LEITE**

PAULO ALBERTO BEZERRA DA SILVA

Recife-PE Brasil

2012

PAULO ALBERTO BEZERRA DA SILVA

**PRÉ-CONCENTRAÇÃO E DETERMINAÇÃO DE ÍONS Pb(II)
EMPREGANDO SÍLICA MODIFICADA COM 3,6-DITIA-1,8-
OCTANODIOL POR MCFIA-FAAS EM AMOSTRAS DE LEITE**

Dissertação apresentada ao Programa de Pós-Graduação em Química da UFPE como parte dos requisitos para a obtenção do título de Mestre em Química.

Orientador: Prof. Dr. André Fernando Lavorante

Co-Orientadora: Prof.^a Dr.^a Mônica Freire Belian

Co-Orientadora: Prof.^a Dr^a Ana Paula Silveira
Paim

Recife-PE Brasil

2012

Catalogação na fonte
Bibliotecário Joana D'Arc L. Salvador, CRB 4-572

Silva, Paulo Alberto Bezerra da.
Pré-concentração e determinação de íons Pb(II)
empregando sílica modificada com 3,6-Ditia-1,8-
octanodiol por MCFIA-FAAS em amostras de leite /
Paulo Alberto Bezerra da Silva. – Recife: O Autor, 2012.
88 f.: fig., tab.

Orientador: André Fernando Lavorante.
Dissertação (Mestrado) - Universidade Federal de
Pernambuco. CCEN. Química Fundamental, 2012.
Inclui referências e anexo.

1. Química analítica. 2. Espectroscopia de absorção
atómica. 3. Sílica. I. Lavorante, André Fernando
(orientador). II. Título.

Dissertação submetida ao Corpo Docente do Programa de Pós-Graduação em Química do Departamento de Química Fundamental da Universidade Federal de Pernambuco como parte dos requisitos necessários para a obtenção do Grau de Mestre em Química.

Aprovada:

Prof. André Fernando Lavorante
(Orientador)
Departamento de Química
Universidade Federal Rural de Pernambuco

Prof. Luciano Farias de Almeida
Departamento de Química
Universidade Federal da Paraíba

Prof. Ricardo Oliveira da Silva
Departamento de Química Fundamental
Universidade Federal de Pernambuco

**"Pré-concentração e Determinação de Íons Pb(II) Empregando
Sílica Modificada com 3,6-Ditia-1,8-octanodiol por MCFIA-FAAS
em amostras de Leite"**

Por

Paulo Alberto Bezerra da Silva

Departamento de Química Fundamental
Centro de Ciências Exatas e da Natureza
Universidade Federal de Pernambuco
Recife-PE-Brasil
06 de Setembro de 2012

Dedicatória

Dedico este trabalho principalmente a duas pessoas que se dedicaram durante toda minha vida. Ensinando-me valores como dignidade, lealdade, fé, honestidade e respeito, propiciando está realização.

Com muito amor e carinho aos meus avós, José Soares e Maria Zenaide.

A minha amada esposa Elaine, pelo apoio emocional, compreensão, amizade e amor, em todos esses anos que estamos juntos.

A minha mãe Edilza que sempre me ajudou nos momentos difíceis e está sempre disposta a ajudar, também pela compreensão e apoio dedicado.

A minha tia Maria que sempre me apoiou e a toda minha família pelo incentivo.

Agradecimentos

Agradeço primeiramente a Deus pelo Dom da vida e ajuda dada através das pessoas que conhecemos, pois consigo perceber o seu apoio através da amizade sincera, de um sorriso, de uma brincadeira, de uma conversa descontraída durante um café, onde tudo isso pode parecer perda de tempo para algumas pessoas, para mim é ajuda divina, pois é isso também que dá forças para superar momentos negativos e assim continuar a caminhada.

Ao meu orientador André Lavorante, pela confiança, oportunidade e ensinamentos científicos.

A minha co-orientadora Mônica Belian, pela amizade, ensinamentos e ajuda científica.

A minha co-orientadora Ana Paula Paim, pelo apoio.

A meus amigos, Gustavo Campelo e Dilmo Marques, pela ajuda e discussões científicas que ajudaram muito na realização deste trabalho.

A todos os colegas que fazem parte do grupo SALA F.

Ao LAQIS/UFRPE pela oportunidade de fazer parte desta família.

A todos os professores e alunos do LAQIS.

A UFPE e ao DQF pela oportunidade de fazer parte do programa de pós-graduação em química.

Ao CNPq pela bolsa concedida.

A UFRPE e ao CENAPESQ por permitir a utilização de equipamentos e espaço físico.

Ao professor Luciano Almeida professor da UFPB e a todos do LAQA pela oportunidade de cursar a disciplina de eletrônica oferecida na UFPB. Disciplina que ajudou na montagem dos equipamentos de comunicação utilizados neste trabalho e pela ótima recepção.

Ao amigo Paulo Ricardo pela ajuda instrumental do FAAS, essencial para o entendimento da técnica.

Rafael Nascimento pela ajuda na realização de algumas análises de caracterização.

A todos os amigos que participaram de maneira direta ou indiretamente.

Resumo

Silva, Paulo Alberto Bezerra da. **Pré-concentração e determinação de íons Pb(II) empregando sílica modificada com 3,6-ditia-1,8-octanodiol por MCFIA-FAAS em amostras de leite.** 2012, 88f. Dissertação – Departamento de Química Fundamental, Universidade Federal de Pernambuco, Recife, 2012.

O objetivo deste trabalho foi a determinação de chumbo em amostras de leite por espectrometria de absorção atômica por chama (FAAS). Para tanto foi desenvolvido um sistema em fluxo multicomutado para a pré-concentração de Pb^{2+} acoplado ao FAAS utilizando um material de sílica funcionalizada como fase estacionária no processo de extração em fase sólida. O sistema em fluxo proposto consiste de uma bomba peristáltica para a propulsão dos fluidos e seis válvulas solenóide de três vias para o gerenciamento das soluções. Esses dispositivos foram controlados por um computador, empregando um programa desenvolvido em LabVIEW® interfaceada por um sistema eletrônico baseado no circuito integrado (CI) ULN2803A acoplado a porta paralela LPT1 do computador. A síntese da sílica modificada foi realizada pelo processo sol-gel e para sua funcionalização com 3,6-ditia-1,8-octanodiol utilizou-se o métoxido de sódio como catalisador. As análises dos espectros de infravermelho e das curvas termogravimétricas evidenciaram a formação da sílica modificada. A coluna foi preenchida com 100mg do material sintetizado, o qual apresentou boa regeneração, usada em média por 50 pré-concentrações. Nos estudos de otimização os melhores resultados foram pH 9,0, o eluente foi o HNO_3 0,5 mol L⁻¹ com volume de 1,4 mL e vazão de 1,4 mL min⁻¹. Para a amostra, a vazão foi de 2,20 mL min⁻¹ e verificou-se que quanto maior o volume e menor a vazão, maior será o fator de enriquecimento (F.E.), porém os melhores valores não foram escolhidos devido ao longo tempo de pré-concentração. Assim, foi estabelecido o volume de amostra entre 8,0 e 52,8 mL dependendo da faixa de concentração que se deseja trabalhar e do F.E. que é almejado. Essas possibilidades estão diretamente relacionadas com a frequência analítica que variou-se de 2 a 6 determinações h⁻¹. As amostras de leite tipo A, foram preparadas através da digestão ácida por aquecimento em micro-ondas. A precisão do sistema foi estimada através de 30 determinações, apresentando desvio padrão relativo de 3,8%, a exatidão foi satisfatória e atestada através da análise de recuperação. O sistema proposto possibilitou um aumento de 100 vezes no limite de detecção (de 100 para 1,0 $\mu\text{g L}^{-1}$) e 20 vezes no limite de quantificação (de 100 para 5,0 $\mu\text{g L}^{-1}$) para os íons Pb^{2+} . Este fato nos deu a possibilidade de detectar contaminações a níveis abaixo do permitido em amostras de leite. O sistema em fluxo possibilitou à automatização da extração e detecção, diminuindo assim a interferência do analista, além de assegurar a repetibilidade dos volumes injetados e coletados, proporcionando assim uma boa precisão. Com isso, o sistema proposto apresentou robustez e eficiência para a pré-concentração e determinação por FAAS de íons Pb^{2+} em amostras de leite.

Palavras-chave: Leite. Chumbo. Análise por injeção em fluxo. Multicomutação. Sílica modificada. Extração em fase sólida. Absorção atômica.

ABSTRACT

Silva, Paulo Alberto Bezerra da. **Pre-concentration and determination of Pb(II) using silica modified with 3,6-dithia-1,8-octanediol by MCFIA-FAAS in milk samples.** 2012, 88f. Dissertação – Departamento de Química Fundamental, Universidade Federal de Pernambuco, Recife, 2012.

The objective of this job was the determination of lead in milk samples through of flames atomic absorption spectrometry (FAAS). For this was developed a flow system multicommutated for the pre-concentration of Pb^{2+} coupled to FAAS using functionalized silica to function as the stationary phase in the solid phase extraction process. The flow system proposed is a peristaltic pump for propelling the fluids and six solenoid three-way valves for management of the solutions. These devices were controlled by a computer using a program developed in LabVIEW, through an electronic interface based on the integrated circuit (IC) ULN2803A coupled to the computer LPT1 parallel port. The synthesis of this silica was carried out through the sol-gel process, to be used with 3,6-ditria-1,8-octanediol employing sodium methoxide as the catalyst. The infrared analysis and thermogravimetric curves showed the formation of modified silica. The column was filled with 100 mg of the synthesized material, which regenerated well and could be used with an average of 50 pre-concentrations. In the optimization studies, the best results were pH 9.0, the eluent was HNO_3 0.5 mol L^{-1} with a volume of 1.4 ml and flow rate of 1.4 ml min^{-1} . In the sample flow, the rate was 2.20 mL min^{-1} , noting that the higher the volume the lower the flow rate, the higher would be the enrichment factor (EF). The best values, however, were not chosen because of the long pre-concentration time. Thus, the sample volume was set at between 8.0 and 52.8 ml, depending on the desired concentration range and EF. These possibilities are directly related to the sampling rate that varied from 2 to 6 determinations h^{-1} . The samples were of type A milk, prepared by acid digestion using microwave heating. The precision of the system was estimated from 30 determinations, with standard deviation of 3.8%, the accuracy was satisfactory and attested by analyzing recovery. The proposed system allowed a 50 fold increase in detection limits (1.0 to 100 mg L^{-1}) and 20 times the limit of quantification (5.0 to 100 mg L^{-1}) for Pb^{2+} ions. This fact gave us the possibility to detect contamination at levels below permissible in milk samples. The flow system enabled automation in the extraction and detection, thus reducing both the interference of the analyst and the limit of detection of analyte in the technique, as well as ensuring repeatability of the injected volumes and collected, providing a good precision. Thus, the proposed system can be considered robust and efficient for the pre-concentration and FAAS determination of Pb^{2+} ions in milk samples.

Keywords: Milk. Lead. Flow injection analysis. Multicommunication. Modified silica. Solid phase extraction. Atomic Absorption.

INDICE DE FIGURAS

Figura 1: Mecanismo de hidrolise e condensação na catalise ácida.	29
Figura 2: Mecanismo de hidrólise e condensação na catalise básica.....	30
Figura 3: Influência do pH na obtenção de géis em função da presença de eletrólito(HIRATSUKA; SANTILLI; PULCINELLI, 1995).	31
Figura 4: Etapas do processo de SPE. Adaptada (CAMEL, 2003) a: lavagem ou condicionamento; b: extração; c: lavagem; d: eluição.	34
Figura 5: Processo de decomposição das amostras de Leite. a: micro-ondas;	45
Figura 6: Diagrama do sistema multicomutado. V ₁ , V ₂ , V ₃ , V ₄ , V ₅ , V ₆ = Válvulas solenóide de três vias; S = Amostra; T = solução Tampão; E = Eluente; A = água deionizada; D = Descarte; BP = Bomba peristáltica; C = Confluência; CL = Coluna de pré-concentração; AA = Absorção Atômica.....	47
Figura 7: Diagrama esquemático do circuito de controle e acionamento das válvulas solenóide e seu acoplamento com a porta paralela LPT1. (LAVORANTE, 2006).	48
Figura 8:Painel frontal do programa de controle do processo de SPE	49
Figura 9: Mini-coluna de pré-concentração	51
Figura 10: Espectros de IR: a) Sílica pura; b) Sílica modificada e Pb ²⁺ ; c) Sílica modificada	58
Figura 11: Espectros de IR: a) 3,6-Ditia-1,8-octanodiol pura; b) Sílica modificada ...	59
Figura 12: Curvas termogravimétricas: Sílica modificada com ditia e ditia.	60
Figura 13: Estudo de pH.	61
Figura 14: Influência da natureza e concentração do eluente.	63
Figura 15: Influência do volume de eluente.	64
Figura 16: Influência da vazão de HNO ₃	65
Figura 17: Gráfico do estudo da recuperação do adsorvente	66
Figura 18: Influência da vazão da solução de referência.....	67
Figura 19: Influência de volume de amostra.....	68
Figura 20: Curva analítica na condição de pré-concentração.....	70
Figura 21: Curva analítica das soluções de referência não pré-concentrados.....	71

INDICE DE TABELAS

Tabela 1: Ranking dos estados brasileiros na produção de leite	18
Tabela 2: Preparo das soluções tampão.	43
Tabela 3: Reagentes e solventes	44
Tabela 4: Rampa de aquecimento usada no processo de decomposição.	45
Tabela 5: Parâmetros de operação do espectrômetro.....	46
Tabela 6: Acionamento das válvulas	47
Tabela 7: Comparação das vazões das soluções de referência com F.E.....	67
Tabela 8: Parâmetros de otimização para determinação de Pb ²⁺	69
Tabela 9: Comparação entre as curvas analíticas.....	69
Tabela 10:Teste de adição e recuperação para amostras de leite	72
Tabela 11: Parâmetros de avaliação do sistema de pré-concentração	74
Tabela 12: Figuras de mérito da metodologia proposta.....	76

Lista de Abreviaturas e siglas

AAS	Atomic Absorption spectrometry
ANVISA	Agência Nacional de Vigilância Sanitária
CLAE	Cromatografia Líquida de alta eficiência
DHHS	Department of Health and Human Services
Ditia	3,6-ditia-1,8-octanodiol
EFS	Extração em Fase Sólida
ELL	Extração Líquido-Líquido
EPA	Environmental Protection Agency
EPN	Extração em Ponto de Nuvem
ER	Eficiência de Retenção
FAAS	Flame Atomic Absorption spectrometry
FE	Fator de Enriquecimento
EF	Enrichment fator
FIA	Flow Injection analysis
F_{PC}	Fator de pré-concentração
GFAAS	Graphite Furnace Atomic Absorption spectrometry
IARC	International Agency for Research on Cancer
ICP	Inductively Coupled Plasma
ICP-MS	Inductively Coupled Plasma Mass Spectrometry
ICP-OES	Inductively Coupled Plasma Optics Emission Spectrometry
INMETRO	Instituto Nacional de Metrologia, Qualidade e Tecnologia
LD	Limite de Detecção
LQ	Limite de Quantificação
MCFIA	Multicommutation flow Injection analysis
MIPs	Polímeros Moleculares Impressos
PSG	Processo sol-gel
R	Coeficiente de correlação
R%	Recuperação de amostra
SAI	Sequential injection analysis
SPE	Solid Phases extraction
SR	Solução de Referência
SRPC	Solução de Referência Pré-concentrada
TEOS	Tetraetilortossilicato
UV	Ultra Violeta

Sumário

1. INTRODUÇÃO	15
2. FUNDAMENTAÇÃO TEÓRICA.....	17
2.1 Leite	17
2.2 Contaminação por metais pesados	19
2.3 Determinação de Pb por espectrometria de absorção atômica com chama (FAAS).....	23
2.4 Preparo de Amostra	25
2.5 Sílica	26
2.6 Processo Sol-gel (PSG)	27
2.6.1 Mecanismos.....	29
2.6.1.1 Catálise ácida.....	29
2.6.1.2 Catálise básica.....	30
2.7 Adsorção.....	32
2.8 Extração em fase sólida (SPE).....	33
2.9 Análise em fluxo	39
3. MATERIAIS UTILIZADOS.....	42
3.1 Equipamentos e Acessórios	42
3.2 Soluções	42
3.3 Soluções estoque.....	42
3.4 Soluções de trabalho.....	43
3.5 Reagentes e Solventes	44
3.6 Amostras	45
3.6.1 Procedimento da preparação de Amostra.....	45

3.7	Parâmetros de operação do espectrômetro de absorção atômica por chama	46
3.8	Descrição geral do sistema	46
3.9	Descrição do programa	48
4	METODOLOGIA.....	50
4.1	Síntese e funcionalização da sílica.....	50
4.2	Espectrometria na região do infravermelho (IR)	50
4.3	Análise Termogravimétrica (TGA).	50
4.4	Mini-coluna de pré-concentração.	51
4.4.1	Dimensões.....	51
4.4.2	Preenchimento da coluna	52
4.5	Avaliação das variáveis relacionadas ao processo de pré-concentração.....	52
4.5.1	Estudo de pH.....	52
4.5.2	Influência das variáveis físicas e químicas relacionadas ao eluente.....	52
4.5.2.1	Natureza e concentração	52
4.5.2.2	Volume	52
4.5.2.3	Vazão.....	53
4.5.3	Influência das variáveis físicas relacionadas à solução de referência.....	53
4.5.3.1	Vazão.....	53
4.5.3.2	Volume	53
4.6	Figuras de mérito	54
4.6.1	Curvas analíticas	54
4.6.2	Precisão.....	54
4.6.3	Exatidão.....	54
4.6.4	Limites de detecção (LD) e quantificação (LQ)	55

4.7	Parâmetros de avaliação da eficiência do sistema de pré-concentração.....	55
4.7.1	Fator de enriquecimento (F.E.)	55
4.7.2	Eficiência de retenção (E.R.)	56
4.7.3	Fator de pré-concentração.....	56
5	RESULTADOS E DISCUSSÃO.....	57
5.1	Síntese e funcionalização da sílica.....	57
5.2	Espectrometria na região do infravermelho	57
5.3	Análise Termogravimétrica (TGA)	59
5.4	Avaliação das variáveis relacionadas ao sistema de pré-concentração.....	61
5.4.1	Estudo de pH	61
5.4.2	Influência das variáveis físicas relacionadas à solução de referência.....	62
5.4.2.1	Natureza e concentração	62
5.4.2.2	Volume do eluente	63
5.4.2.3	Vazão.....	64
5.4.3	Eficiência na recuperação do material adsorvente	65
5.4.4	Influência das variáveis físicas relacionadas à solução de referência.....	66
5.4.4.1	Vazão.....	66
4.1.1.1	Volume	67
5.5	Características analíticas	69
5.5.1	Curvas analíticas	69
5.5.2	Precisão.....	71
5.5.3	Exatidão.....	72
5.5.4	Limite de detecção e quantificação	73

5.6 Parâmetros de avaliação da eficiência do sistema de pré-concentração.....	74
5.7 Figuras de mérito	76
6 CONCLUSÃO	77
7 PERSPECTIVAS	78
8 REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS.....	79
ANEXO A	86
ANEXO B	87

1. INTRODUÇÃO

A contaminação decorrente da poluição ambiental tem causado muitos danos à saúde do ser humano. Grande parte desses danos acontece através da ingestão de alimentos. Isto evidencia que a segurança alimentar está diretamente relacionada com o controle de contaminantes residuais nos alimentos. Esses contaminantes são encontrados como consequência do uso, muitas vezes indevido, de pesticidas e drogas veterinárias, como também da utilização de águas e solos contaminados, provenientes também de acidentes ambientais e indústrias que descartam seus efluentes sem tratamento adequado (GONÇALVES; MESQUITA; GONÇALVES, 2008). Com isso, é de extrema importância o desenvolvimento de métodos que visam à determinação de contaminantes, principalmente em alimentos que são muito consumidos, tais como, carne, peixe, feijão, arroz, leite e seus derivados.

O leite é um dos alimentos mais consumidos no mundo e é considerado como parte da alimentação básica, fonte de nutrientes essenciais, como, proteínas, lipídios e carboidratos, fornecendo também minerais, vitaminas e enzimas. Por outro lado, por ser muito consumido, o leite pode ser também um potencial veículo de contaminação, principalmente por elementos tóxicos, como por exemplo, os metais cádmio, mercúrio e chumbo, os quais provocam sérios danos à saúde. Desses, o mais perigoso é o chumbo, pois é o mais abundante e sua contaminação causa graves problemas à saúde, como por exemplo, problemas neurológicos (BIZZI et al., 2011).

O Brasil é um dos maiores produtores de leite do mundo e apresenta um crescimento marcante da agroindústria, principalmente do setor de laticínios, em que se concentra grande quantidade de indústrias de processamento de leite e derivados (EMBRAPA, 2011). Isso faz com que cresça a importância de desenvolver métodos de controle de qualidade eficazes e apropriados para determinação do chumbo em amostras de leite.

O leite é considerado uma matriz muito complexa, com muitos interferentes, o que dificulta o desenvolvimento de procedimentos rápidos e seletivos ao analito que se deseja determinar. Com isso, na maioria das vezes é preciso executar procedimentos laboriosos de preparo de amostra, como a dissolução das

amostras através de digestão. Vários procedimentos podem ser encontrados na literatura, porém o mais usado é a digestão ácida por aquecimento em bloco digestor ou micro-ondas (KAZI et al., 2009). Devido a se tratar de uma amostra complexa, a técnica mais utilizada para determinação de metais após o pré-tratamento é a espectrometria de absorção atômica que é uma técnica de detecção com baixa influência de interferentes, pois se baseia na atomização e na absorção da radiação específica do analito em seu estado fundamental. Outras estratégias estão sendo usadas para a preparação de amostras complexas, entre elas a mais utilizada é a extração em fase sólida (SPE), que através de interações eletrostáticas, separa e concentra determinados analitos, conseguindo assim, eliminar os principais interferentes. A fase estacionária do processo de extração é constituída muitas vezes de sílicas e polímeros modificados.

O interesse no desenvolvimento de novos materiais de sílica funcionalizada aplicada na SPE, com o enfoque na adsorção de metais em nível traço e separação em matrizes complexas tem crescido cada vez mais, principalmente devido às características da sílica que permite a modificação da sua superfície por outras moléculas de interesse através de ligações covalentes, o que irá conferir estabilidade térmica e a possibilidade de usar a sílica modificada tanto em meio aquoso ou não (VILAR; JESUS; BENVENUTTI, 2008).

Tão importante quanto as propriedades do material adsorvente são as variáveis relacionadas ao processo de extração, tal como, vazão, volume, pH, etc. Com isso é importante realizar estudos com o objetivo de conhecer os melhores valores dessas variáveis e fixá-los, aumentando assim o sinal analítico. Para melhorar as características analíticas, têm sido utilizados programas computacionais visando o melhoramento da precisão e exatidão.

Neste trabalho objetivou-se a determinação de íons chumbo em amostras de leite, para tanto foi desenvolvimento um material de sílica quimicamente modificada com 3,6-ditia-1,8-octanodiol aplicado na extração e pré-concentração através de um sistema em fluxo multicomutado e detecção por espectrometria de absorção atômica com chama. Aplicando o sistema proposto almeja-se verificar o nível de contaminação desse metal em amostras de leite.

2. FUNDAMENTAÇÃO TEÓRICA

2.1 Leite

“Entende-se por leite, o produto oriundo da ordenha completa e ininterrupta, em condições de higiene, de vacas sadias, bem alimentadas e descansadas. O leite de outros animais deve denominar-se segundo a espécie de que proceda”. (MAPA, 2002).

O leite é um dos alimentos mais importantes no desenvolvimento do corpo e manutenção da saúde humana, pois é rico em proteínas e minerais essenciais. Na infância o leite é importante porque auxilia no crescimento, visto que também é o alimento mais consumido nesta etapa da vida. Na adolescência ajuda no crescimento rápido de músculos, ossos, etc. Para os idosos é a principal fonte de cálcio, imprescindível para a fortificação dos ossos (OKADA; SAKUMA; MAIO, 1997; SOARES et al., 2010). A composição média do leite em termos percentuais é: água, 85,8%; lactose, 4,9%; gordura, 3,9%; proteína, 3,5% e sais 0,9% (IEA, 2004).

Visto que o leite é um dos alimentos mais consumidos e essenciais, fica evidente a necessidade de ter um controle de qualidade mais eficiente, desde a criação do animal ao produto final, garantindo assim que o leite seja obtido de animais saudáveis, bem como coletado e armazenado em condições sanitárias satisfatórias e livres de contaminação ambiental.

No mundo atual, a segurança alimentar está no controle do processamento dos alimentos. Esse controle é decorrente de potenciais fontes de contaminação devido o uso indevido de pesticidas e drogas veterinárias que aumentam a capacidade de retenção de proteínas e minerais aumentando assim a absorção de contaminantes pelo organismo do animal, por acidentes envolvendo contaminantes ambientais, pesticidas, etc. (DUARTE; SILVA; MEIRELLES, 2002). A presença de elementos metálicos nos alimentos varia amplamente, em função de numerosos fatores associados a condições ambientais, às práticas tecnológicas e ao uso indiscriminado de substâncias tóxicas e na produção animal, tem provocado o

aparecimento de elementos tóxicos em alimentos, a exemplo do chumbo e cádmio (Flynn, A.¹, 1992 apud GONÇALVES, J. R. *et al.*, 2008, p. 1).

A importância na melhoria da produção e controle na fabricação do leite cresce ainda mais quando sabemos que o Brasil tem a 5^a posição mundial no ranking de produtores de leite com 29.112.000 toneladas de leite em 2009, representando 5% da produção mundial (**Tabela 1**) (EMBRAPA, 2011).

Tabela 1: Ranking dos estados brasileiros na produção de leite

Estado	Volume de produção (mil litros)			Total
	2008	2009	2010 *	
Minas Gerais	7.657.305	7.931.115	8.231.295	27,0
Rio Grande do Sul	3.314.573	3.400.179	3.668.050	12,0
Paraná	2.827.931	3.339.306	3.644.883	12,0
Goiás	2.873.541	3.003.182	3.139.378	10,3
Santa Catarina	2.125.856	2.237.800	2.441.554	8,0
São Paulo	1.588.943	1.583.882	1.549.438	5,1
Bahia	952.414	1.182.019	1.308.827	4,3
Pernambuco	725.786	788.250	861.621	2,8
Rondônia	723.108	746.873	772.060	2,5
Mato Grosso	656.558	680.589	707.109	2,3
Pará	599.538	596.759	574.721	1,9
Mato Grosso do Sul	496.045	502.485	506.044	1,7
Rio de Janeiro	475.592	483.129	489.410	1,6
Ceará	425.210	432.537	447.956	1,5
Espírito Santo	418.938	421.553	419.545	1,4
Maranhão	364.104	355.082	361.638	1,2
Sergipe	259.700	286.568	311.005	1,0
Rio Grande do Norte	19.279	235.986	243.284	0,8
Tocantins	222.624	233.022	239.187	0,8
Paraíba	193.567	213.857	236.773	0,8
Alagoas	236.852	231.991	230.573	0,8
Piauí	77.784	87.165	91.221	0,3
Amazonas	40.656	41.749	51.161	0,2
Distrito Federal	29.000	36.000	37.710	0,1
Acre	70.054	42.595	33.716	0,1
Amapá	5.271	6.706	7.737	0,0
Roraima	5.117	5.117	4.950	0,0
TOTAL	27.585.346	29.105.495	30.429.515	100,0

*Estimativa de produção.

Fonte: IBGE(EMBRAPA, 2011)

A poluição ambiental provocada por metais pesados tem chamado a atenção para o estudo da contaminação de alimentos principalmente para chumbo,

¹ FLYNN, A. Minerals and trace elements in milk. Advances in Food and Nutrition Research, 1992.

cádmio e mercúrio (Carl, M.², 1991 apud GONÇALVES, J. R. et al., 2008, p. 1). Como estes metais têm efeito acumulativo, mesmo em pequenas quantidades podem causar danos a animais e ao ser humano com o passar do tempo. A utilização de fertilizantes fosfatados, pesticidas, anabolizantes e de rejeitos industriais contendo esses metais podem resultar em uma elevada concentração desses elementos no solo e nas plantas (MALAVOLTA, E.³, 1994 apud GONÇALVES, J. R. et al., 2008, p. 1). Estas podem fazer parte da alimentação de animais, como os bovinos, no emprego de ração e suplementos minerais de baixa qualidade, tendo como resultado um aumento da concentração de metais pesados, como cádmio e chumbo que são excretados no leite e consequentemente poderão ter o homem como receptor da contaminação (MARÇAL; NETO; NASCIMENTO, 1998).

Portanto, fica evidente a importância de realizar acompanhamentos rigorosos de níveis de contaminação de metais em leite com o intuito de detectar e apontar as causas e soluções das possíveis contaminações.

2.2 Contaminação por metais pesados

Aproximadamente a 60 anos é usado o termo “metal pesado”, porém este termo nunca foi definido por um órgão autorizado como a IUPAC. Este termo pode ter vários significados e não tem nenhuma relação entre a densidade e qualquer outro parâmetro físico-químico que tem sido utilizado para definir “metais pesados” e sua toxicidade. Porém este termo é usado para enfatizar o grau de toxicidade do elemento e de seus compostos contaminantes ao meio ambiente. Vários autores utilizam este termo definindo-os em termos de densidade, massa atômica, número atômico, toxicidade, etc. (IUPAC, 2002). Neste trabalho o termo “metal pesado” será abordado para fazer referências a metais tóxicos com alta unidade de massa atômica e seus compostos tóxicos, como por exemplo, Pb, Hg, Cd, Cr, Cu, etc.

² CARL, M. heavy metals and other trace elements. In: Residues and contaminants in milk and milk products. Brussels: International Dairy Federation, 1991.

³ MALAVOLTA, E. Fertilizantes e seu impacto ambiental: micronutrientes e metais pesados. São Paulo: Produquímica, 1994.

Contaminantes podem ser definidos como sendo qualquer substância adicionada, não intencionalmente, ao alimento e está presente como resultado da produção, como por exemplo, operações realizadas em produção agrícola, pecuária, medicina veterinária, transporte, fabrico, transformação, preparação, tratamento, acondicionamento, embalagem, transporte ou armazenagem do referido alimento ou como resultado de contaminação ambiental (CODEX ALIMENTARIUS COMMITTEE, 1995). Metais pesados como Cd, Pb, Hg e As são considerados muito tóxicos. Destes o mais encontrado é o Pb, (GONÇALVES; MESQUITA; GONÇALVES, 2008) proveniente de baterias de automóveis, tintas, combustíveis, agrotóxicos, como consequência principalmente da intensa atividade industrial.

O chumbo (do latim *plumbum*) é um elemento químico representado pelo símbolo Pb, número atômico 82, massa molar de 207,2 u, está localizado no grupo 14 no 6º período da tabela periódica. É um metal tóxico, maleável, mau condutor de eletricidade, densidade de 11,4 g cm⁻³, ponto de fusão 327,4°C e temperatura de vaporização 1725 °C (PAOLIELLO & CHASIN, 2001). É encontrado na crosta terrestre em 15-20 mg Kg⁻¹, e se encontra na maioria das vezes em seu estado de oxidação 2+. Os compostos mais importantes contendo chumbo são PbS, PbSO₄ e PbCO₃. Suas reservas são estimadas com 7,1 x 10⁷ toneladas (ATSDR, 2007).

O chumbo é um metal bastante conhecido, suspeita-se que este metal já fosse trabalhado há 7000 anos, utilizado pelos egípcios sendo parte de ligas metálicas devidas suas características e pelos romanos como componentes de tintas, cosméticos e em alimentos (ICZ, 2012).

A poluição é definida como qualquer alteração física, química ou biológica que modifique o ciclo biológico normal, interferindo na fauna e na flora. Mesmo em quantidades traços, os cátions de metais pesados, uma vez lançados, por exemplo, em rios, mares e lagoas, podem provocar o chamado efeito de amplificação biológica, que ocorre porque esses metais não participam do ciclo metabólico dos seres vivos, deste modo, não são excretados facilmente pelo organismo, tendo um efeito acumulativo, que eleva a concentração do metal a níveis prejudiciais causando intoxicações ao consumidor. (AGUIAR; NOVAES, 2002).

A intoxicação por metais tóxicos tem um quadro clínico específico. Esses atuam no funcionamento normal das enzimas impedindo o transporte de

minerais essenciais como sódio e potássio (AGUIAR; NOVAES, 2002). Por exemplo, a intoxicação por chumbo acontece principalmente por via oral, mais também por via respiratória. Enquanto na exposição profissional a contaminação ocorre principalmente pela via inalatória (PAOLIELLO; CHASIN, 2001).

O principal alvo para a toxicidade do chumbo é o sistema nervoso, tanto em adultos como em crianças. A exposição também pode causar fraqueza nos dedos, pulsos e tornozelos, também pode causar aumentos na pressão arterial, especialmente em pessoas acima dos 40 anos e anemia. Em níveis elevados, o chumbo pode prejudicar gravemente o cérebro, os rins em adultos ou crianças e causar a morte. Em gestantes, níveis elevados de chumbo podem causar aborto e em homens prejudicar os órgãos responsáveis pela reprodução (ATSDR, 2007).

A contaminação por chumbo causa complicações à saúde, agindo no sistema cardiovascular através do aumento da pressão arterial; efeitos gastrointestinais, que é caracterizada por dor abdominal, constipação, câimbras, náusea, vômito, anorexia e perda de peso; efeitos hematológicos, o chumbo, afeta ou inibe a atividade de algumas enzimas o que irá provocar anemia; efeitos renais; os efeitos neurológicos em adultos causam a encefalopatia, termo usado para descrever doenças que afetam o funcionamento cerebral. Os sintomas são irritabilidade, dificuldade de concentração, dor de cabeça, tremor muscular, perda de memória e alucinações. Encefalopatia aguda, geralmente não é observada em adultos, exceto em níveis de chumbo extremamente elevada, por exemplo, 3 mg L^{-1} . Os efeitos neurológicos em crianças são mais pronunciados provavelmente devido à baixa massa corpórea, porém seus efeitos são associados ao tempo de exposição (ATSDR, 2007; PAOLIELLO; CHASIN, 2001).

Quando adsorvido pelo organismo, o chumbo é distribuído no corpo através da circulação sanguínea e fica retido em tecidos moles como fígado e rins, e rígidos como ossos e dentes. Esses servindo como depósito de chumbo no organismo (PAOLIELLO; CHASIN, 2001).

O chumbo apresenta um tempo de meia-vida no sangue de 36 dias, nos tecidos moles de 40 dias e 27 anos nos ossos (ATSDR, 2007; PAOLIELLO; CHASIN, 2001; WHO, 1995). A transferência desses elementos dos ossos para a corrente sanguínea em gestantes que estão no período de amamentação, constitui um risco proeminente para o feto, pois nesses períodos a transferência de chumbo

da mãe para o feto é feita muito rápido através do cordão umbilical (PAOLIELLO; CHASIN, 2001; WHO, 1995).

Não existe nenhuma prova conclusiva de que o Pb é carcinogênico aos seres humanos. Porém, muitos órgãos como o *Department of Health and Human Services* (DHHS), *Environmental Protection Agency* (EPA) e *International Agency for Research on Cancer* (IARC), constataram que o chumbo é um possível carcinogênico (ATSDR, 2007).

Pesquisas mostram que os níveis de chumbo em crianças americanas estão caindo cada vez mais. Resultado da proibição do uso de compostos de chumbo, muito usado como aditivo na gasolina, pintura residenciais, brinquedos, latas de alimento, tubulações de água, etc. No entanto cerca de 310.000 crianças americanas de 1 a 5 anos apresentam concentrações de chumbo superior a $100 \mu\text{g L}^{-1}$ (ATSDR, 2007).

As crianças são mais suscetíveis a contaminação devido ao contato mais frequente com o chão onde tem poeira, areia, cerâmica contendo chumbo e objetos como lascas de tinta que a criança pode levar a boca. Assim, devido a baixa massa corpórea da criança pode ocorrer um grande aumento da concentração de chumbo na corrente sanguínea. Tratamentos médicos podem ser necessários a pessoas com concentrações de chumbo acima de $450 \mu\text{g L}^{-1}$ (ATSDR, 2007).

Independentemente do modo de contaminação, todo o chumbo não absorvido pelo organismo é excretado principalmente na urina e fezes, mas também no suor, saliva, cabelo, unhas e no leite materno (Chamberlain et. al.⁴ 1978, apud ATSDR, 2007). A taxa de excreção varia com a idade (PAOLIELLO; CHASIN, 2001).

Visto que os metais pesados são bastante tóxicos, causando sérios danos à saúde, fica clara a importância do desenvolvimento de procedimentos e técnicas que visam a diminuição do limite de detecção para a determinação de metais tóxicos em alimentos, especialmente em leite, que é um alimento muito consumido, principalmente por crianças que são mais vulneráveis a contaminação por metais.

A determinação das concentrações residuais de metais em leite pode ser um indicador importante do estado higiênico do leite e de seus derivados,

⁴ Chamberlain A, et. al. Investigations into lead from motor vehicles, 1978.

bem como um indicador indireto do grau de poluição do meio ambiente em que o leite foi produzido. (LICATA et al., 2004)

2.3 Determinação de Pb por espectrometria de absorção atômica com chama (FAAS)

A espectrometria de absorção atômica (AAS, do inglês *Atomic Absorption Spectrometry*), tem como princípio fundamental a quantificação da energia absorvida por átomos no estado fundamental, da radiação eletromagnética proveniente de uma fonte primária. A AAS utiliza este princípio para a determinação de metais, semi-metais e alguns não metais, em vários tipos de matrizes como materiais biológicos, rejeitos industriais, efluentes, materiais orgânicos, alimentos, etc. Na AAS os atomizadores são uma das partes mais importantes, pois é onde serão gerados os átomos gasosos no estado fundamental que irão absorver a radiação em um comprimento de onda específico irradiada pela lâmpada de cátodo oco, a radiação não absorvida pelo analito irá para o monocromador e em seguida para o detector e assim quantificar o elemento desejado. O processo de atomização pode ocorrer por chama, em tubo aquecido acoplado a gerador de hidretos, através de vapor a frio, eletrotérmica e outros meios alternativos. No processo de atomização do analito os atomizadores mais utilizados são o de chama (FAAS) e o de forno de grafite (GFAAS, do inglês *Graphite Furnace Atomic Absorption Spectrometry*). O FAAS, mais utilizado para determinação em níveis de concentração na maioria das vezes em mg L^{-1} , porém dependendo do elemento que se deseja determinar ou com ajuda de acessórios é possível obter concentrações em $\mu\text{g L}^{-1}$, Enquanto que o GFAAS é mais utilizado para a obtenção de concentrações na faixa de $\mu\text{g L}^{-1}$ (KRUG; NÓBREGA; OLIVEIRA, 2004). Destes atomizadores o FAAS é muito mais versátil no acoplamentos com sistemas em fluxo, permitindo a sincronia de um preparo de amostras em linha e detecção simultânea.

O nebulizador pneumático funciona pela ação do fluxo do gás comprimido, a solução é aspirada e nebulizada em aerossol na câmara de nebulização. Com estes tipos de nebulizadores a vazão da solução aspirada varia entre 4 a 7 ml min^{-1} , e somente 5% da amostra chega à chama, onde acontece a desolvatação, que é o aerossol seco formado de partículas sólidas do soluto. Em

seguida ocorrem várias etapas até chega a volatilização destas partículas seguida da excitação e assim gerar o sinal em absorbância. A chama tem a finalidade de fornecer energia para promover a transformação de íons e moléculas em seu estado fundamental (KRUG; NÓBREGA; OLIVEIRA, 2004).

O funcionamento do espectro se dá basicamente através das seguintes etapas: a fonte de radiação que é a lâmpada cátodo oco incide uma radiação específica do analito que deseja determinar no vapor atômico da chama, onde os analitos irão absorver essa energia. A radiação que não foi absorvida segue para o monocromador onde é selecionada a linha espectral desejada, a mesma vai para o detector onde é amplificada por um amplificador, convertida em sinal elétrico e registrado no computador (LAJUNEN; PERAMAKI, 2004).

Várias técnicas analíticas são empregadas na determinação de chumbo, a utilização de agentes colorimétricos é muito utilizada como nos casos dos trabalhos de Zaijun e colaboradores (ZAIJUN et al., 2003), de Fang e colaboradores (FANG; WELZ, 1989) e Ahmed (AHMED; MAMUN, 2001). Porém as mais utilizadas são a espectrometria de absorção atômica com chama, forno de grafite e plasma indutivamente acoplado (ICP), esta é mais utilizada acoplada a um espectrômetro de massa (ICP-MS, do inglês *Inductively Coupled Plasma Mass Spectrometry*) e plasma acoplado indutivamente por emissão atômica óptica (ICP-OES, do inglês *Inductively Coupled Plasma Optical Emission Spectrometry*) (CAO; LIANG; LIU, 2008).

A determinação de chumbo por FAAS é praticamente livre de interferentes e utiliza ar comprimido como oxidante e acetileno como combustível (ar-acetileno) esta técnica é bastante sensível, porém não é suficiente para análise de traços (KORN et al., 2006). Neste sentido faz-se necessário o uso de acessórios e artifícios, como os métodos de separação, pré-concentração e geração de vapor acoplado ao espectrômetro (ELÇI; ARSLAN; TYSON, 2009).

O uso de GFAAS na determinação de chumbo é uma boa alternativa, visto que é possível realizar detecções de traços, em uma grande variedade de amostras, porém muitas vezes também é necessário etapas de separação e pré-concentração de amostra (KORN et al., 2006). O GFAAS oferece limites de detecção em ppb ($\mu\text{g L}^{-1}$) (KUMMROW et al., 2008).

A determinação de chumbo é muitas vezes complicada devido à baixa concentração e efeitos de matriz, sendo necessária muitas vezes a utilização de técnicas para o tratamento de amostras, como por exemplo, a extração líquido-

líquido (ELL), extração em ponto de nuvem (EPN), extração em fase sólida (SPE), etc. (CAO; LIANG; LIU, 2008) alguns desses preparamos de amostras podem ser realizados em linha, através da utilização de análise em fluxo, acoplado ao detector, afim de tornar o sistema rápido e preciso. Além disso, para algumas amostras é preciso realizar procedimentos de preparo mais laboriosos, como é o caso da digestão de amostra que é realizado na maioria das vezes por via úmida e ácida, com aquecimento em bloco digestor ou em micro-ondas.

2.4 Preparo de Amostra

A análise química consiste de quatro etapas: a primeira é a de coleta e acondicionamento, a segunda é pré-tratamento e preparação da amostra, a terceira é a medida e a quarta é o processo e interpretação dos dados (MITRA, 2003).

Até chegar ao processo de preparação, existem outras etapas que são tão importantes quanto, como é o caso da coleta e acondicionamento das amostras. Estas duas etapas também necessitam de muita atenção, visto que o processo de amostragem tem que representar bem a população em estudo e uma coleta de forma errônea irá resultar em dados analíticos que não condizem com a realidade, também é preciso ter cuidado com contaminações, pois quando se trabalha em níveis de concentrações de $\mu\text{g L}^{-1}$ causam erros absurdos. Outra etapa é o condicionamento das amostras, que tem que ser estocada de forma a preservar as características físico-químicas da amostra em estudo, não prejudicando assim os resultados analíticos (MITRA, 2003).

O objetivo da preparação de amostra é a transformação da mesma, a estados que permitam a coleta de informações do analito por determinadas técnicas, sem a influência de interferentes, baixa concentração, ou efeito de matriz.

A preparação de amostra é a etapa do processo de análise que requer o maior cuidado do analista, pois esta etapa é a mais susceptível a erros. Na análise em AAS normalmente as amostras são introduzidas no estado líquido. O preparo da amostra irá depender do tipo da amostra e em qual concentração se encontra o analito a ser determinado. A amostra antes de ser levada ao detector

pode passar por processos de separação e extração como, por exemplo, ELL e SPE (LAJUNEN; PERAMAKI, 2004; MITRA, 2003).

Na maioria das vezes é necessário que a amostra passe por processo de digestão, que por sua vez tem uma variedade muito grande de técnicas, tal como decomposição por combustão, decomposição por via úmida em sistemas abertos e fechados, decomposição por radiação ultravioleta e decomposição ácida por radiação micro-ondas. Esta é atualmente a mais utilizada na determinação de metais por espectrofotometria de absorção atômica (KRUG; NÓBREGA; OLIVEIRA, 2004).

A decomposição de amostras por micro-ondas teve seus primeiros trabalhos na década de 1970 em fornos micro-ondas domésticos, mas este tipo de decomposição só passou a ser utilizado na dissolução de amostras com um número significativo de trabalhos com diversas aplicações no final da década de 1990. O sistema de decomposição por radiação micro-ondas, utiliza oxidantes como HCl, HNO_3 , HF, peróxido de hidrogênio, entre outros, como também a combinação desses, como por exemplo, a água régia, juntamente com a amostras em sistema fechado, o que permite altas pressões e altas temperaturas, diminuindo bastante o tempo de digestão das amostras (KRUG; NÓBREGA; OLIVEIRA, 2004).

2.5 Sílica

A sílica é constituída de dióxido de silício, SiO_2 , nas formas cristalinas ou amorfas. Sendo assim, a sílica é formada pelos dois elementos mais abundante da crosta terrestre, silício e oxigênio. A sílica é o principal constituinte das rochas e areias, correspondendo a aproximadamente 60% em peso de toda a crosta (BELIAN, 2008).

Os primeiros haletos de sílica sintetizados foram o SiCl_4 em 1823 e SiF_4 em 1771, obtidos pela dissolução de SiO_2 em HCl e HF. Em 1863 o primeiro organossilano, o tetraetilssilano SiEt_4 foi sintetizado por C. Friedel e J. M. Crafts. (BELIAN, 2008).

A sílica é um polímero inorgânico formada por grupos siloxanos (Si-O-Si) em seu interior, e na superfície grupos silanóis (Si-OH). A superfície da sílica é a principal parte, pois esta possibilita sua modificação, resultando em diferentes

propriedades, podendo ser aplicada na adsorção de moléculas ou íons (NASSAR; MESSADDEQ; RIBEIRO, 2002).

A sílica pode ser sintetizada a partir de precursores alcóxidos preparada através do método sol-gel. Essas alterações na superfície da sílica nos proporcionam uma variedade muito grande de propriedades químicas, essas e outras vantagens são responsáveis pelo amplo campo de atuação, com aplicações em catálise, cromatografia e preparação de materiais luminescentes. As reações de modificação da superfície da sílica podem ser feita através da condensação de alcoxissilano e/ou na preparação da sílica (NASSAR; MESSADDEQ; RIBEIRO, 2002).

A substituição dos grupos silanóis da superfície da sílica por um novo grupo, o qual irá servir como sítio ativo, dando a essa sílica novas propriedades e possibilidades de interação (NASSAR; MESSADDEQ; RIBEIRO, 2002). Esse processo despertou e vem despertando o interesse de muitos pesquisadores, pois, possibilita aplicação desses compostos em diversas áreas como, por exemplo, na separação e pré-concentração através da extração em fase sólida (SPE, do inglês *solid phases extraction*), na construção de sensores, etc.

2.6 Processo Sol-gel (PSG)

O processo sol-gel, é conhecido pelos químicos a muito tempo, sendo utilizada a primeira vez em escala industrial pela Schott Glass em 1939. Na mesma época Kistler, demonstrou que a estrutura do gel não é destruída quando a secagem é efetuada em condições supercríticas (KISTLER, 1932). Isso permitiu demonstrar a estabilidade térmica proveniente do esqueleto estrutural sólido no interior dos géis. No fim dos anos 60, Dislich mostrou a viabilidade de preparar vidros multicomponentes controlando as taxas das reações de hidrólise e condensação de alcóxidos durante a transição sol-gel (DISLICH, 1971). Desde então foi percebido um grande crescimento no uso do processo sol-gel nas mais diversas áreas da tecnologia. Na década de 70 muitos grupos de pesquisa utilizaram o processo sol-gel na preparação de corpos monolíticos de sílica. Sakka e Kozuka em seu grupo de pesquisa mostraram a possibilidade de preparar fibras diretamente a parti de géis (SAKKA; KOZUKA, 1988). Outro importante acontecimento ocorreu em

meados da década de 80, quando Schmidt e seu grupo preparam materiais compósitos constituídos por géis inorgânicos impregnados por polímeros orgânicos e copolímeros (HIRATSUKA; SANTILLI; PULCINELLI, 1995).

O processo sol-gel é uma rota sintética de matérias, onde em determinada etapa ocorre à transição do estado sol para o gel (ALFAYA, 2002) formado a partir da hidrólise de alcóxidos, para um sistema gel (FERREIRA, 2009). O termo sol é usado para definir partículas em dispersão coloidais de dimensão entre 1 e 100 nm, estáveis em um fluido, enquanto o termo gel é usado para definir um sistema formado pela estrutura rígida de partículas coloidais (gel coloidal) ou de cadeias poliméricas (gel polimérico), nesses a fase líquida fica imobilizada em seus interstícios, ou seja, no seu interior. Sendo assim, os géis coloidais são resultados da agregação de partículas primárias, que só ocorrem pela alteração apropriada das condições físico-químicas da suspensão, em relação aos géis poliméricos são geralmente provenientes de soluções que promovem reações de polimerização. Neste caso a formação do gel ocorre pela interação entre as longas cadeias poliméricas (ALFAYA, 2002).

Dependendo do precursor inorgânico, o processo sol-gel pode ser dividido em duas partes, a dos sais e a dos alcóxidos. A rota decorrente de precursores alcóxido é a rota mais versátil, por exemplo, a hidrólise da solução de tetra-alcoxissilanos em solvente orgânico, como o álcool, promovendo à formação de partículas com função silanol, que constitui o sistema sol pela polimerização via condensação e a continuação deste processo leva a formação de um sistema gel. O produto após a secagem é denominado xerogel. Durante as transformações que ocorrem entre a transição do sistema sol, gel e xerogel, as reações químicas envolvidas, influenciam bastante nas propriedades químicas do produto final, por isso faz-se necessário um conhecimento básico das cinéticas das reações envolvidas nessas transições, este conhecimento é de fundamental importância na obtenção de materiais com propriedades controladas (ALFAYA, 2002).

2.6.1 Mecanismos

2.6.1.1 Catálise ácida

Na síntese de sílica pelo processo sol-gel a condensação ocorre com a liberação de água ou álcool, dependendo do precursor de silício e do tipo de grupo que se condensa. Caso ocorra entre um alcóxido e um grupo silanol, libera-se álcool caso ocorra entre silanóis libera-se água. **Figura 1** (HIRATSUKA; SANTILLI; PULCINELLI, 1995; NASSAR; MESSADDEQ; RIBEIRO, 2002).

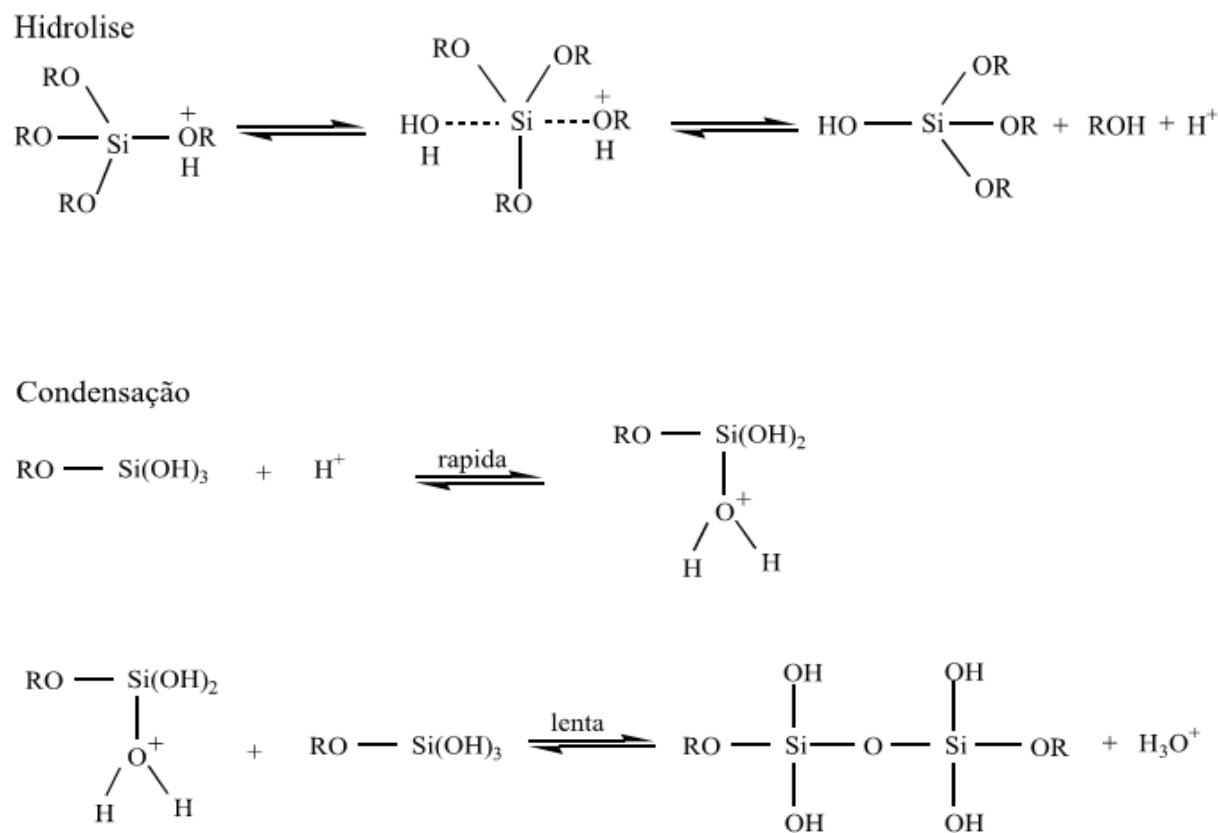


Figura 1: Mecanismo de hidrólise e condensação na catalise ácida.

As hidrólises e condensações podem ser catalisadas por ácidos e bases, pois a cinética da condensação é dependente do pH como podemos observar na **Figura 3**.

2.6.1.2 Catálise básica

No mecanismo sol-gel apenas a primeira etapa, a hidrólise é bem conhecida, porque as reações de condensação se iniciam antes das reações de hidrólise terminarem, tornando o mecanismo de reação muito complexo e envolvendo muitas reações de hidrólise e condensação simultaneamente, **Figura 2.**

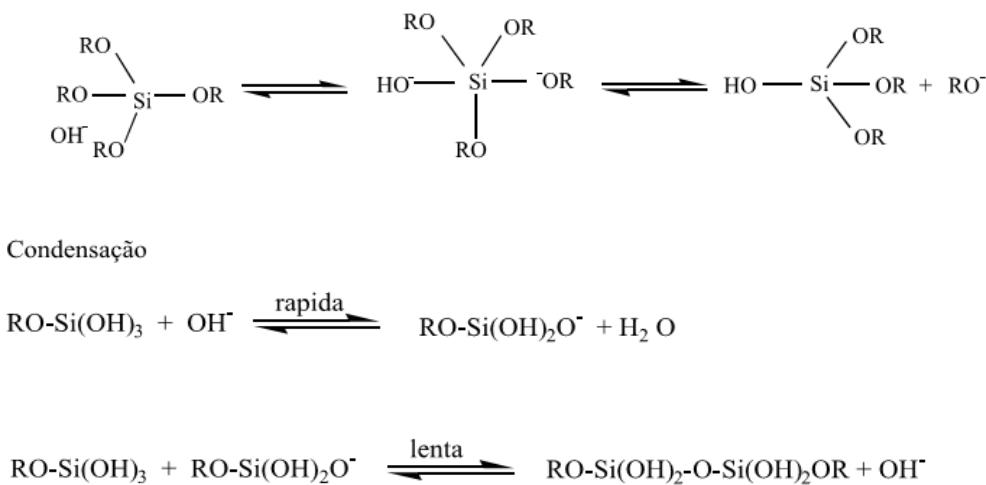


Figura 2: Mecanismo de hidrólise e condensação na catalise básica

As reações de hidrólise e condensação ocorrem por substituição nucleofílica bimolecular no átomo de silício (S_N2). Devido aos alcóxidos de silício apresentar baixa reatividade é usado catalisadores ácidos, básicos ou nucleofílicos com o objetivo de acelerar o processo de hidrólise e condensação. A hidrólise ácida promove a protonação do grupo alcóxido, em seguida ocorre o ataque nucleofílico da água formando um intermediário penta-coordenado, a carga positiva no alcóxido, torna-o um melhor grupo de saída promovendo assim a sua saída e completando o processo de substituição. Em condições básicas o ânion OH^- promove o ataque nucleofílico ao átomo de silício, formando o intermediário penta-coordenado carregado negativamente, promovendo assim a saída deste ânion (ALFAYA, 2002).

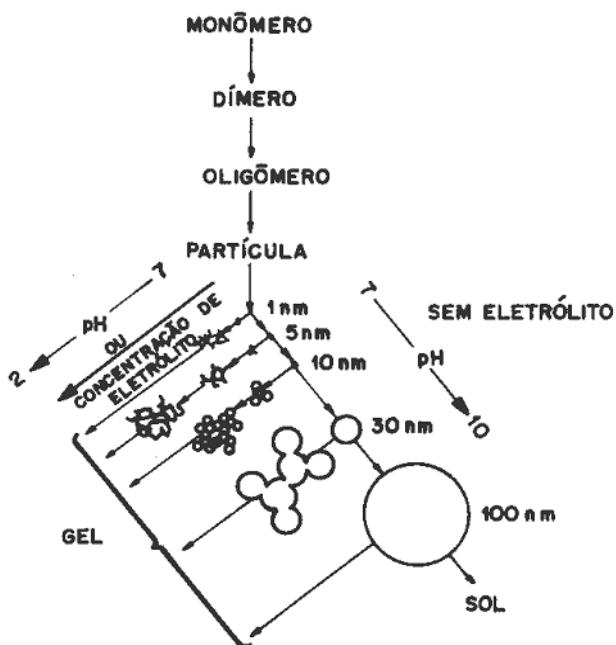


Figura 3: Influência do pH na obtenção de géis em função da presença de eletrólito(HIRATSUKA; SANTILLI; PULCINELLI, 1995).

Em pH menor que 2, a velocidade do processo sol-gel é proporcional à concentração de H_3O^+ , com pH entre 2 e 7 a condensação é sensível à catálise básica. Acima de pH 7, a polimerização é extremamente rápida, levando à formação de partículas com diâmetro de 2 nm rapidamente, na ausência de eletrólito, a elevada carga superficial das partículas primárias impedem a agregação das partículas por repulsão eletrostática, **Figura 3** (FERREIRA, 2009; HIRATSUKA; SANTILLI; PULCINELLI, 1995).

Nos últimos anos a sílica vem despertando o interesse de diversos grupos de pesquisas, devido as suas propriedades, como por exemplo, estabilidade térmica e mecânica, porém a principal propriedade da sílica que chama mais atenção é a da possibilidade da modificação de sua superfície por grupos que irá modificar suas propriedades físico-químicas dando a ela características diferentes, possibilitando sua aplicação em diversas áreas (NASSAR; MESSADDEQ; RIBEIRO, 2002). A possibilidade desta modificação se dá pela presença dos grupos silanóis em sua superfície que agem como ácidos doando prótons H^+ , possibilitando à

ligação de agentes sililantes a superfície da sílica carregada negativamente. Além disso, alguns agentes sililantes contêm bons grupos abandonadores, como o bromo e cloro, que possibilita a ligação de compostos orgânicos aos agentes sililantes já ligados a sílica, aumentando a capacidade do material em adsorver íons metálicos (BRINKER; SCHERER, 1990).

Há diversas vantagens na utilização da sílica organofuncionalizada, pois a mesma permite o uso de compostos orgânicos que se coordenam a íons metálicos fortemente e como estes compostos estão imobilizados na superfície da sílica, é possível regenerá-los, além da estabilidade térmica e mecânica, e a possibilidade da sua utilização tanto em soluções polares ou apolares.

A sílica modificada pode ser obtida por rota heterogênea ou homogênea. Na rota heterogênea a sílica reage primeiramente com o agente sililante e posteriormente com a molécula orgânica, já na rota homogênea o agente sililante reage primeiro com a molécula orgânica que tem o grupo sequestrante, para depois, se ligar a superfície da sílica (FERREIRA, 2009).

Neste trabalho, a síntese foi realizada utilizando o metóxido de sódio como catalisador básico. Esta rota foi escolhida porque ocorre de maneira mais lenta, permitindo um maior controle e seletividade na substituição dos grupos silanóis da superfície da sílica por moléculas do 3,6-ditia-1,8-octanodiol.

2.7 Adsorção

A adsorção pode ser definida como o acúmulo de determinada espécie química (adsorbato) na superfície sólida da fase estacionária (adsorvente). É um processo físico-químico que ocorre entre o adsorbato e o adsorvente. A adsorção é classificada em adsorção química ou quimissorção e adsorção física ou fisissorção. Na adsorção química, o processo de adsorção ocorre através da formação de ligações químicas covalentes ou iônicas, ou seja, há mudança nas propriedades químicas, sendo por isso, considerado como uma nova espécie química. Na adsorção física, não ocorre à formação ou quebra de ligações químicas, ou seja, não há mudanças químicas, esse tipo adsorção ocorre por interações do tipo Van der Waals e ligações de hidrogênio (ARAKAKI, 2000; OLIVEIRA, 2008).

A adsorção de íons metálicos em solução ocorre através da sua imobilização na superfície do adsorvente, tal processo é à base da extração em fase sólida aplicada na separação e pré-concentração de espécies metálicas. A adsorção de íons metálicos também dependerá fortemente dos fatores de interações químicos e físicos descritos no parágrafo anterior (FERREIRA, 2009).

2.8 Extração em fase sólida (SPE)

Apesar da evolução da tecnologia e técnicas analíticas com o desenvolvimento de instrumentos com baixos limites de detecção e alta seletividade e sensibilidade, vários tipos de amostra ainda necessitam de tratamento, tais como separação e pré-concentração.

Em determinadas análises a espécie a ser detectada está em concentrações abaixo do limite detectável pela técnica utilizada, deste modo, é necessário utilizar métodos como pré-concentração com resinas ou sílicas modificadas. Esse processo permite a diminuição do efeito de matriz através da separação dos interferentes e possibilita o aumento da concentração da espécie química, permitindo assim sua detecção. (REIS, B. F. et al., 1996). Para este tipo de tratamento são utilizados vários métodos, como por exemplo, extração em fase sólida (EFS ou SPE do inglês *solid phase extraction*), extração em ponto de nuvem (EPN), extração líquido-líquido (ELL). Dentre essas, o mais versátil, rápido, prático e com menos riscos de contaminação é o método de SPE, o qual foi utilizado neste trabalho para fins de pré-concentração e separação de íons chumbo (Pb^{2+}) em amostras de leite.

A extração de metais é um método clássico de separação, onde é conhecida uma grande quantidade de materiais adsorventes. A extração líquido-líquido tem como vantagem uma cinética rápida e seletividade no processo de extração, porém tem o inconveniente do grande gasto de solventes, o que a torna um método que pode causar danos ao meio ambiente, além de não ser indicado para extração de espécie em baixa concentração. (TEIXEIRA; COUTINHO; GOMES, 2004).

A SPE é baseada na passagem da fase líquida que contém o analito, por uma coluna, um cartucho ou algum outro objeto que retenha a fase

estacionária, que é o adsorvente, o qual irá adsorver a espécie de interesse. Posteriormente, com o auxílio de um eluente apropriado, podendo ser um ácido, álcool ou solução que consiga recuperar com eficiência e rapidez a espécie adsorvida. (CAMEL, 2003).

Um método SPE sempre consiste de três ou quatro etapas sucessivas, como é ilustrado na **Figura 4**. Na **Figura 4a**, conhecida como etapa de condicionamento, o adsorvente sólido deve ser condicionado utilizando um solvente apropriado, seguido pelo mesmo solvente da amostra. Posteriormente (**Figura 4b**), ocorre a etapa de extração que consiste na passagem da amostra através do adsorvente sólido. Dependendo do sistema usado, os volumes podem variar de 1 mL a 1 L. A amostra pode ser aplicada à coluna, por gravidade, bombeamento, aspirada por vácuo ou por sistema automatizado. A terceira etapa (que é opcional) pode ser a lavagem do adsorvente sólido com um solvente apropriado, com uma resistência de eluição baixa, para eliminar os componentes da matriz que foram retidos pelo sorvente, sem deslocar os analito, **Figura 4c**. A etapa final consiste na eluição dos analitos de interesse por um solvente apropriado, sem necessidade de remover os componentes da matriz retidos **Figura 4d** (CAMEL, 2003).

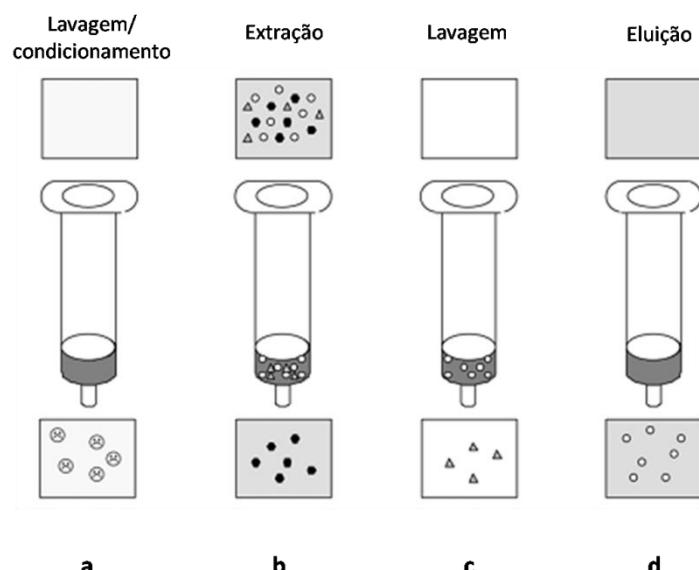


Figura 4: Etapas do processo de SPE. Adaptada (CAMEL, 2003) **a:** lavagem ou condicionamento; **b:** extração; **c:** lavagem; **d:** eluição.

A extração em fase sólida é uma técnica de preparo de amostra cada vez mais útil. Com SPE, muitos dos problemas associados com a extração

líquido-líquido podem ser evitados, tais como separação de fases incompleta, baixo rendimento, o uso de vidrarias caras e geração de grandes quantidades efluente proveniente do grande consumo de solventes orgânicos (SIGMA-ALDRICH, 1998). A SPE é facilmente automatizada, rápida e geralmente mais eficiente que a extração líquido-líquido. As partículas usadas em SPE não são poluentes e o consumo de solvente é extremamente baixo em relação à extração líquido-líquido. O uso de solventes e tempo de laboratório são extremamente reduzidos (FRITZ, 1999).

Na década de 1970, houve um crescimento significativo na utilização da extração em fase sólida tanto no uso como nas pesquisas utilizando carvão ativado e resinas poliméricas aplicadas na extração de traços de constituintes orgânicos em água. Nos trabalhos pioneiros de SPE, as colunas de pré-concentração eram conhecidas como *colunas de acumulação* (FRITZ, 1999).

O primeiro campo de aplicações da SPE ocorreram na área de analítica com o objetivo de separação e posteriormente aplicado a processos cromatógráficos (LISKA, 2000). O segundo campo, se refere a preparação de amostra, sendo muitas vezes considerado como uma parte, trabalhosa e inevitável do método analítico. Só depois que sistemas analíticos altamente sensíveis se tornou um padrão comum, se percebeu que a preparação de amostra foi um importante fator. Tornou-se evidente que qualquer erro que ocorre na coleta e processamento de uma amostra pode levar a erros substanciais no resultado final, independentemente do excelente desempenho da técnica analítica aplicada. Deste modo foi dada uma maior atenção a técnicas de manipulação de amostra, consequentemente começaram a atrair o interesse por parte dos fabricantes. Naquela época o crescimento começou também para extração em fase sólida (SPE). Na última década, esta técnica de manipulação da amostra tornou-se o método de escolha em muitas aplicações analíticas e ambientais.

Os primeiros trabalhos de SPE utilizavam carvão ativado, conhecido como adsorvente universal, porém o carvão apresentava algumas desvantagens, como a rápida saturação e difícil recuperação (FRITZ, 1999).

A busca de um material universal começou no final de 1960 e durou até início de 1980. Naturalmente, novos materiais aplicados a SPE estão sendo desenvolvidos com aplicações específicas, ao invés de um adsorvente universal (LISKA, 2000).

Em meados dos anos 1960, a empresa Rohm and Haas introduzia uma resina de poliestireno, Amberlite XAD-1. A resina era em forma de pérolas, os quais era um conglomerado de um grande número de micro-esferas. Riley e Taylor (1969) foram os primeiros que relataram o uso de materiais poliméricos para a pré-concentração de compostos orgânicos a partir de amostras de água (RILEY; TAYLOR, 1969).

A série de resinas Amberlite poliméricas começou a atrair a atenção de outros analistas no início de 1970. Além de XAD-1, outras como estireno-divinilbenzeno Amberlites (XAD-2, XAD-4), etileno-dimetacrilato e resinas (XAD-7 e XAD-8) também foram introduzidos. Burnham e colaboradores (1972), desenvolveram um método para extrair traço de contaminantes orgânicos de água potável utilizando XAD-2 e XAD-7. As resinas foram capazes de extrair ácidos e bases orgânicos fracos e os compostos orgânicos neutros quantitativamente a partir de soluções de água em níveis de $\mu\text{g L}^{-1}$ (BURNHAM et al., 1972).

Além das resinas Amberlite, outros materiais poliméricos foram utilizados para apré-concentração. Gesser e colaboradores (1971), utilizaram opoliuretano poroso para sorção de bifenilos policlorados em amostras de água. Mieure e Dietrich em 1973, extraíram compostos orgânicos a partir de água com uma coluna empacotada com Chromosorb 102 (GESER et al., 1971).

Um grande número de estudos, envolvendo a separação e pré-concentração por SPE de espécies químicas em água na faixa de 10-100 $\mu\text{g L}^{-1}$, demonstraram que este método era preciso e viável. Este fato estimulou o interesse de pesquisadores à síntese de novos materiais, em busca de uma melhor seletividade no processo de extração em fase sólida (LISKA, 2000). Essa busca teve como incentivo o rápido desenvolvimento da cromatografia líquida de alta eficiência (CLAE ou HPLC do inglês *high performance liquid chromatography*).

Na década de 1970, May e colaboradores e Little e Fallick, parecem terem sido os primeiros a relatar a aplicabilidade das fases estacionária no processo de pré-concentração de compostos orgânicos em água (FRITZ, 1999; LISKA, 2000).

O uso da extração em fase sólida tem sido estimulado pela fabricação de cartuchos de SPE comerciais utilizando sílica empacotada. O desenvolvimento de aplicações em SPE, reforçou a utilidade das sílicas quimicamente modificadas como principal material adsorvente. A octadecil-sílica (C_{18}) tornou-se uma das mais conhecida e utilizada, embora mereça destaque

também os grupos como alquil e aril (C_2 , C_4 , C_8 , C_{22} , cicloexil, diol, cianopropil, fenil, difenil ou fenantril) (LISKA, 2000).

Como a sílica permite a modificação de sua superfície e com isso pode ser aplicada na separação de diversas substâncias, estimulou o comparativo do método ELL e SPE. Como pode ser observado no trabalho de Chladek e Marano, onde foi comparado o procedimento de SPE com o método padrão Nº625 da Agência de Proteção Ambiental dos Estados Unidos (EPA, do inglês, Environmental Protection Agency) onde foi obtida recuperação média 20% maior com SPE do que com ELL (CHLADEK; MARANO, 1984).

Atualmente nota-se uma ampla aceitação dessa técnica de preparo de amostra e também um crescente interesse de pesquisadores e fabricantes. Desde a década de 1990 aos dias atuais, muitas resinas com diferentes grupos funcionais foram desenvolvidas e aplicadas em grande variedade de matrizes, estas resinas modificadas apresentam maior eficiência na adsorção do que seus análogos não modificados. Neste período vários tipos de SPE foram introduzidos no mercado como os discos de extração, assim como novas abordagens empregando sorventes mais seletivos baseados em imunoafinidade empregando interações analito-anticorpo e polímeros molecularmente impresso (MIPS) que são polímeros sintetizados usando a substância que se deseja adsorver como molde (LISKA, 2000).

Devido a todas essas formas de SPE, atualmente é notado um crescimento na pré-concentração de metais pesados como Hg, Pb, Cd, e Cr. Essas extrações não se restringem apenas a amostras de água, mas há uma visível evolução na aplicação da SPE em diversas matrizes.

Com o objetivo de garantir uma maior repetibilidade dos processos de extração, a SPE foi e vem sendo aplicado em sistemas de análise em fluxo acoplado a técnicas de detecção como espectrometria de absorção atômica. Nos últimos anos, tem crescido muito o número de trabalho utilizando pré-concentração em fase sólida acoplado ao FAAS, devido principalmente, a facilidade e robustez do processo e da técnica utilizada.

Em 1981, Olsen e colaboradores propuseram o acoplamento de sistemas em fluxo com espectrofotômetro de absorção atômica (FIA-FAAS) e foram os pioneiros desta junção processo-técnica (FIA-FAAS). Tal aplicação deu tão certo que em 1983 Olsen e colaboradores acoplaram um sistema em fluxo ao absorção

atômica usando a resina Chelex-100 como adsorvente e em 1984, Fang e colaboradores propuseram um sistema com válvula multifuncional, no qual foi utilizado duas colunas de pré-concentração em paralelo. Com o objetivo de aumentar a frequência analítica, onde as colunas eram pré-concentradas e eluidas alternadamente, caracterizando o FIA-SPE (FANG; RUZICKA; HANSEN, 1984; OLSEN et al., 1983)

O maior número dos trabalhos envolvendo FIA-SPE refere-se a acoplamento do sistema FIA ao FAAS. O sistema proposto por Fang e Welz em 1989, utilizava a 8-hidroxiquinolinol como material adsorvente acoplado a FAAS. Este sistema se caracterizou também pelo baixo consumo de amostra e boa frequência analítica. Com a evolução da tecnologia, foi proposto também sistemas de pré-concentração automatizados, como o proposto por Liu e Ingle em 1989, que apresentaram um sistema multicomutado utilizando duas bomba peristáltica e válvulas solenóide de três vias, aplicado a pré-concentração de metais de transição utilizando a resina chelex-100 como adsorvente (FANG; WELZ, 1989b; LIU; INGLE, 1989)

O acoplamento de sistemas de pré-concentração ao espectrofotômetro de absorção atômica possibilitou o aumento do limite de detecção de 20 vezes em comparação aos métodos convencionais. A utilização de mais de uma coluna também possibilitou o aumento da frequência analítica, garantindo também maior controle dos volumes das soluções injetadas e eliminação de interferentes contidos na matriz, que podem prejudicar o nebulizador e a possibilidade de especiação de elementos traço (MIRANDA et al., 2002; REIS; MIRANDA; BACCAN, 1996).

Além destes, outros sistemas em fluxo utilizando resinas e sílicas modificadas foram acoplados também em outras técnicas, como por exemplo, ICP-OES e espectrofotômetro de absorção atômica por atomização em forno de grafite (GFAAS)(KUMAMARU; MATSUO, 1986; RASMUSSEN, 1981).

2.9 Análise em fluxo

A necessidade de metodologias de análise mais precisa e rápida, fez com que houvesse um crescimento significativo no desenvolvimento de métodos de análise automatizados. Isso foi o incentivo que levou a Ruzicka & Hansen em 1975 a propor um novo conceito da análise por injeção em fluxo contínuo (FIA), que consistia na inserção de amostras em fluxo transportador não segmentado por ar (RUZICKA; HANSEN, 1975). Essa inserção da solução de amostra era realizada através de uma seringa hipodérmica. Mesmo tendo o intuito de automatização ainda dependia muito da experiência do operador para o sinal não oscilar devido à forma muito “rústica” de inserção da amostra, que tinha como principais desvantagens a variação de volume de amostra, durabilidade do septo de borracha onde era injetada a amostra e a irreprodutibilidade ocasionada pela variação de pressão na inserção da amostra. Este problema de inserção foi minimizado com o uso do injetor comutador (RUZICKA et al., 1977) e o injetor proporcional proposto por Bergamin e colaboradores em 1978 (BERGAMIN; MEDEIROS; REIS, 1978). O injetor permitia a introdução da amostra de forma mais eficaz, o que permitia uma reproduzibilidade em torno de 1% (BERGAMIN; MEDEIROS; REIS, 1978). Posteriormente, outras formas de inserção de amostra foram desenvolvidas visando minimizar os erros ao depender cada vez menos do analista, como pode ser visto na revisão sobre a evolução dos injetores utilizados em FIA publicado por Reis e Bergamin em 1993 (REIS; BERGAMIN, 1993).

O grande sucesso do processo FIA se deve não apenas da necessidade de procedimentos automatizados, mas também por ser um sistema simples de fácil operação, robusto, de baixo custo, apresenta boas repetibilidade e reproduzibilidade, maior frequência analítica, melhor possibilidade de exploração cinética da reação e menor consumo de reagentes e amostras, quando comparados com seus métodos tradicionais. Todas essas características despertaram o interesse de vários pesquisadores, o que ocasionou um enorme desenvolvimento da análise em fluxo e assim surgindo novas possibilidades de acoplamento de etapas no tratamento de amostra em linha, como por exemplo, separação e pré-concentração. Uma consequência imediata, dessas vantagens é o grande número de aplicações usando a análise por injeção em fluxo em diversas áreas do conhecimento.

Devido a essa evolução dos sistemas FIA podem ser definidos como sendo um processo de automatização, no qual a amostra é introduzida em um fluido transportador em direção ao detector. Durante este transporte a amostra pode passar por processos de tratamentos de preparo em linha, receber reagentes, sofrer reações químicas e passar por etapas de separação, pré-concentração, extração, etc. (REIS; GINÉ; KRONKA, 1989).

Com o passar do tempo e o avanço da tecnologia foram surgindo novos analisadores em fluxo, como a análise por injeção sequencial (SIA, do inglês: Sequential Injection Analysis) proposta por Rüzicka e Marshall em 1990 (RUZICKA; MARSHALL, 1990), a multicomutação em análise em fluxo (MCFA) proposta por Reis e colaboradores (REIS, B. F.*et al.*, 1994), os sistemas multi-seringas desenvolvida por Cerdá e colaboradores (CERDA *et al.*, 1999) e sistema de multi-bombeamento desenvolvido por Lapa e colaboradores (LAPA *et al.*, 2002).

O sistema de análise por injeção sequencial (SIA) proposta por Rüzicka e Marshall em 1990 (RUZICKA; MARSHALL, 1990), tem como sua principal característica uma válvula seletora rotatória (multi-portas) cuja finalidade é fazer a comunicação entre cada uma das portas através da porta central, que está conectada a uma bobina coletora que tem o objetivo de armazenar e misturar amostra e reagentes durante a formação da zona de amostragem. Cada uma das portas pode estar associada aos recipientes de reagentes, resíduos, bobinas auxiliares, câmaras de mistura, detectores ou outros sistemas complementares. O sistema de propulsão é formado por seringas acopladas a bomba de pistão, que através da válvula seletora aspira e injeta o fluido ou solução transportadora realizando toda a movimentação bidirecional dos fluidos (SANTOS; MASINI, 2010).

Reis e colaboradores propuseram em 1994 um novo processo para gerenciamento e introdução de amostra e reagentes denominado multicomutação e amostragem binária, respectivamente. Esse processo consiste em inserir, alternadamente, pequenas alíquotas de amostra e reagente no percurso analítico, utilizando válvulas solenóide controladas por microcomputador (REIS, B. F.*et al.*, 1994). A inserção alternada de pequenas alíquotas das soluções de amostra e de reagentes permite melhorar a mistura, devido a maior inter penetração das interfaces amostra/reagente. Uma das grandes vantagens da multicomutação e amostragem binária é a inserção das soluções no percurso analítico que pode ser manipulada empregando-se apenas um canal para a propulsão, enquanto que os sistemas FIA

convencional utilizavam um canal para gerenciar cada solução (KRONKA et al., 1997).

Cada introdução sequencial das soluções de reagente e amostra é conhecida como ciclo de amostragem, o processo repetido várias vezes mantendo o mesmo volume dessas soluções permite uma maior homogeneização, pois aumenta o número de interfaces, ou seja, aumenta superfície de contato entre amostra e reagente na relação $2n-1$, onde n é a quantidade de ciclos necessários para a formação da zona de amostragem (ROCHA et al., 2002).

O conceito fundamental de multicomutação e amostragem binária é a inserção sequencial de pequenas alíquotas das soluções de amostra e dos reagentes no sistema. Deste modo a reação é iniciada durante a formação da zona de amostragem produzindo a substância química a ser detectada (KRONKA et al., 1997). Com isso, a economia de tempo no processo da reação faz grande diferença quando se trata de reações lentas e na frequência analítica.

Sendo assim um sistema multicomutado pode ser então considerado como um conjunto analítico que envolve a atuação de n dispositivos ou n operações com um único dispositivo em uma única amostra permite o estabelecimento de até 2^n estados. Na multicomutação, o tempo de acionamento das válvulas e a vazão de bombeamento determinam o volume de cada alíquota, assim os parâmetros de entradas e saídas são interdependentes, tornando-se peculiar aos sistemas em fluxo, que podem apresentar diversos estados combinados, ou seja, são as posições possíveis que as válvulas podem assumir em conjunto (ROCHA et al., 2002).

Como já foi dito anteriormente, a multicomutação apresenta uma grande versatilidade, permitindo sua exploração em diferentes procedimentos analíticos e acoplamento com diversas técnicas de detecção. É muito fácil encontrar trabalhos empregando sistemas de análise em fluxo acoplado a espectrofotômetros de absorção atômica de atomização por chama, forno de grafite, eletrotérmica e ICP's, assim como também a espectrofotômetros UV/visível, infravermelho, fluorímetro, potenciostato, etc. e permite realizar diversos tratamentos na amostra, como, concentração e separação em linha (LOPES, 2008).

3. MATERIAIS UTILIZADOS

3.1 Equipamentos e Acessórios

Para o sistema multicomutado utilizado para pré-concentração das soluções de referência de Pb²⁺ e de amostras, foram utilizadas 6 válvulas solenóide de três vias (Ref. P/N 161T031) fabricadas pela NResearch (West Caldwell, NJ, EUA) e para propulsão dos fluidos foi usada uma bomba peristáltica modelo Minipuls3 fabricada pela Gilson® (Inc., Villiers-le-Bel, França). Tubos de polietileno de 0,8 mm de diâmetro para a confecção do percurso das soluções no sistema. Para a detecção foi utilizado um espectrômetro de absorção atômica de chama, modelo AA240FS, fabricado pela Varian® (Inc., Palo Alto, Califórnia, USA). Para dissolução das amostras de leite foi utilizado um digestor por radiação micro-ondas modelo MarsExpress, fabricado pela CEM (Corporation, USA). Acessórios complementares, tais como funis, balões volumétricos, bêqueres e micropipetas, foram utilizados para o preparo e manuseio de soluções.

3.2 Soluções

As soluções foram preparadas com água deionizada (18,2 MΩ cm) obtida através do sistema Milli-Q, fabricado pela Millipore (Molsheim, France) e reagente de grau analítico.

3.3 Soluções estoque.

A solução estoque utilizada para o preparo das soluções de referência Pb²⁺ em matriz de HNO₃ SpecSol® de 1000 ppm (m/v) (Ref. AAPB1000V-125).

3.4 Soluções de trabalho

Soluções de referência entre 0,001 a 20 mg L⁻¹ de Pb²⁺ foram preparadas por diluições da solução estoque de referência de 1000 mg L⁻¹ descrita no item anterior.

As soluções para eluição entre 0,1 – 2,5 mol L⁻¹ foram preparadas por diluições da solução de HNO₃ 65% P.A.

Os preparamos das soluções tampão estão descritas na **Tabela 2**.

Tabela 2: Preparo das soluções tampão.

pH	Volume das soluções (mL)	
	Cloreto de potássio (KCl) 0,2 mol L ⁻¹	Ácido clorídrico (HCl) 0,2 mol L ⁻¹
2	50,0	10,6
	Biftalato de potássio (C ₈ H ₅ KO ₄) 0,2 mol L ⁻¹	HCl 0,2 mol L ⁻¹
3	50,0	44,6
	Ácido acético 0,2 mol L ⁻¹	Acetato de sódio 0,2 mol L ⁻¹
4	41,0	9,0
5	14,8	35,2
	Fosfato monobásico de sódio (NaH ₂ PO ₄) 0,2 mol L ⁻¹	Fosfato dibásico de sódio (Na ₂ HPO ₄) 0,2 mol L ⁻¹
6	87,7	12,3
7	39,0	61,0
8	5,3	94,7
	Carbonato de sódio (Na ₂ CO ₃) 0,2 mol L ⁻¹	Bicarbonato de sódio (NaHCO ₃) 0,2 mol L ⁻¹
9	4,0	46,0
10	27,5	22,5
11	45,0	5,0
	KCl 0,2 mol L ⁻¹	Hidróxido de sódio (NaOH) 0,2 mol L ⁻¹
12	50,0	12,0
13	50,0	132,0

3.5 Reagentes e Solventes

Para a realização da síntese e preparo das soluções não foi realizada nenhuma purificação prévia dos reagentes ou solventes. Os reagentes, solventes e suas especificações estão resumidos na **Tabela 3**.

Tabela 3: Reagentes e solventes

Reagentes e solventes	Procedência	Massa molar g mol ⁻¹	Teor %
Tetraetilortossilicato (C ₈ H ₂₀ O ₄ Si)	Sigma-Aldrich	208,33	98
1,4-dioxano (C ₄ H ₈ O ₂)	Vetec	88,11	99
3,6-ditia-1,8-octanodiol (C ₆ H ₁₄ O ₂ S ₂)	Sigma-Aldrich	182,31	97
Sódio metálico	Vetec	23	99
Etanol (CH ₃ CH ₂ OH)	Fmaia	46,07	99,3
Metanol (CH ₃ OH)	Cinética	32,04	99,5
Ácido nítrico (HNO ₃)	Vetec	63,01	65
Hidróxido de sódio (NaOH)	Dinâmica	40	97
Ácido clorídrico (HCl)	Dinâmica	36,5	37
Cloreto de potássio (KCl)	Dinâmica	74,56	99,5
Ácido acético (CH ₃ COOH)	CRQ	60,05	99,5
Acetato de sódio CH ₃ COONa	Riedel-de Haen	136,08	99,5
Carbonato de sódio (Na ₂ CO ₃)	Vetec	105,99	99,5
Bicarbonato de sódio (NaHCO ₃)	Vetec	84	99,5
Fosfato monobásico de sódio (NaH ₂ PO ₄)	Vetec	119,98	99
Fosfato dibásico de sódio (Na ₂ HPO ₄)	Quimex	141,96	99

3.6 Amostras

Cinco amostras de leite líquido integral de diferentes fabricantes foram adquiridas em supermercados locais e estocadas a 3ºC. Posteriormente, foram digeridas utilizando ácido nítrico 65% P.A. e aquecimento através do digestor por micro-ondas ilustrado na **Figura 5a** e na **Figura 5b**, estão representados a amostra digerida e a amostra de leite.

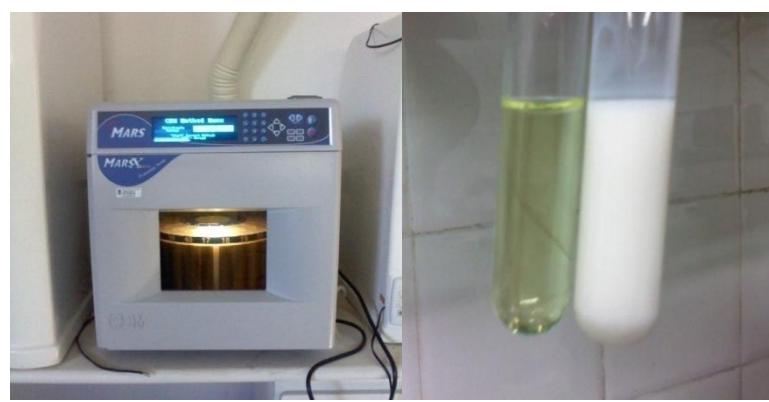


Figura 5: Processo de decomposição das amostras de Leite. **a:** micro-ondas; **b:** amostra de decomposta e amostra de leite.

3.6.1 Procedimento da preparação de Amostra

Para o processo de decomposição das amostras de leite colocou-se 1 mL da amostra e 1mL de HNO₃ 65% nos frascos de digestão e posteriormente, realizou-se a dissolução da amostra empregando forno de micro-ondas. Os parâmetros de aquecimento do processo de digestão estão descritos na **Tabela 4**. Foram realizados 3 repetições por amostra e 3 repetições do branco.

Tabela 4: Rampa de aquecimento usada no processo de decomposição.

Etapas	Potência		Rampa		Permanência Minutos
	Watts	%	Temperatura ºC	Minutos	
1	800	100	110	10:00	00:00
2	1600	100	170	10:00	10:00

As escolhas dos parâmetros de aquecimento para o processo de decomposição foram adaptadas segundo Santos e colaboradores (SANTOS et al., 2005).

3.7 Parâmetros de operação do espectrômetro de absorção atômica por chama.

Os parâmetros de operação do espectrômetro de absorção atômica para a determinação de chumbo foram configurados de acordo com o manual do equipamento fornecido pela Varian, os quais são apresentados na **Tabela 5**.

Tabela 5: Parâmetros de operação do espectrômetro.

Parâmetros	Chumbo
Comprimento de onda (nm)	217,0
Largura da fenda (nm)	1,0
Faixa de trabalho ($\mu\text{g L}^{-1}$)	0,1 – 30
Intensidade da lâmpada (mA)	10
Fluxo de ar (L min^{-1})	13,5
Fluxo de acetileno (L min^{-1})	2,0
Background	Ligado

3.8 Descrição geral do sistema

O diagrama esquemático do sistema multicomutado empregado para a pré-concentração é mostrado na **Figura 6**. Um computador, Intel Pentium dual core foi utilizado para o desenvolvimento e utilização de um programa para o controle das variáveis do sistema utilizando a linguagem de programação gráfica LabView. O controle das válvulas solenóide foi feito através de um drive de corrente baseado no circuito integrado ULN2803A, o qual tem seus pinos de controle conectados à porta paralela LPT1 do PC. A alimentada foi feita através de fonte externa de 12 V e corrente continua (CC) de 1 ampere (A). A interface eletrônica está resumidamente representada pela **Figura 7**. Na **Tabela 6**, estão representados a sequência de acionamentos das válvulas.

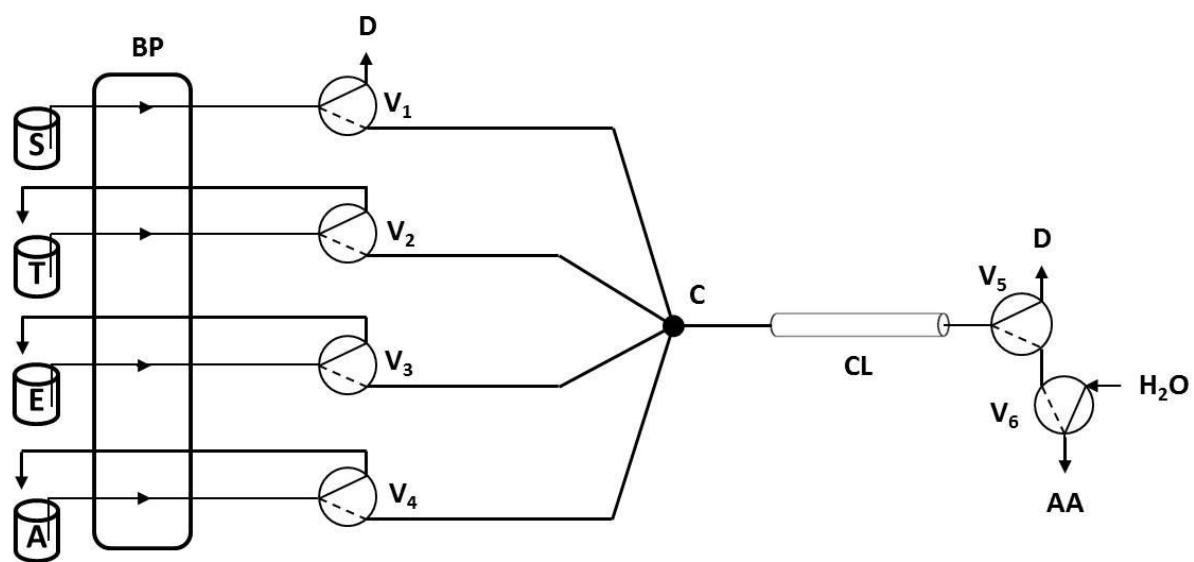


Figura 6: Diagrama do sistema multicomutado. $V_1, V_2, V_3, V_4, V_5, V_6$ = Válvulas solenóide de três vias; S = Amostra; T = solução Tampão; E = Eluente; A = água deionizada; D = Descarte; BP = Bomba peristáltica; C = Confluência; CL = Coluna de pré-concentração; AA = Absorção Atômica.

Tabela 6: Acionamento das válvulas

Etapa	V_1	V_2	V_3	V_4	V_5	V_6	t (s)	Ciclos
	1	0	0	0	0	0	5	
Lavagem inicial e ativação do adsorvente	0	1	0	0	0	0	5	1
	0	0	1	0	0	0	5	
	0	0	0	1	0	0	5	
Extração	1	0	0	0	0	0	8	180
	0	1	0	0	0	0	2	
Eluição	0	0	1	0	1	1	60	1
Lavagem	0	0	0	1	0	0	30	1

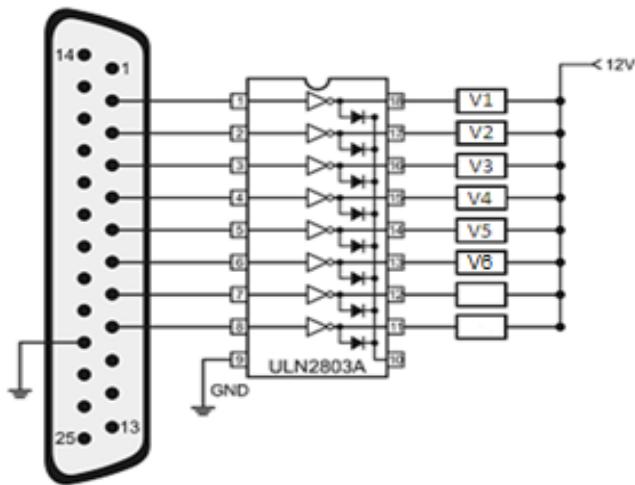


Figura 7: Diagrama esquemático do circuito de controle e acionamento das válvulas solenóide e seu acoplamento com a porta paralela LPT1. (LAVORANTE, 2006).

3.9 Descrição do programa

O programa de controle do sistema multicomutado foi desenvolvido em linguagem de programação gráfica LabView. Para a aquisição de dados do espectrofotômetro de absorção atômica AA240FS foi utilizado o software SpectrAA da Varian® Inc.

O LabVIEW (Laboratory Virtual Instrument Engineering Work bench) é uma linguagem de programação gráfica desenvolvida pela National Instruments Corporation, que em vez de linhas usa-se ícones na criação de aplicativos. O LabVIEW é aplicado principalmente no campo de medições e automações (GASPAR, 2005).

A interface de operação foi construída por um conjunto de ferramentas e objetos. O programa também foi executado utilizando representações gráficas para controlar os objetos no painel frontal (GASPAR, 2005).

O painel frontal do programa desenvolvido para a pré-concentração do chumbo foi dividido em várias etapas. A etapa de enchimento dos tubos de polietileno até a confluência, de pré-concentração, de eluição e lavagem. Na etapa de pré-concentração é possível controlar quantas pré-concentrações seguidas se deseja realizar, o volume da amostra e a proporção entre a solução de amostra e da

solução tampão. O painel frontal tem uma interface amigável e de fácil entendimento e operação, como pode ser visto na **Figura 8**.

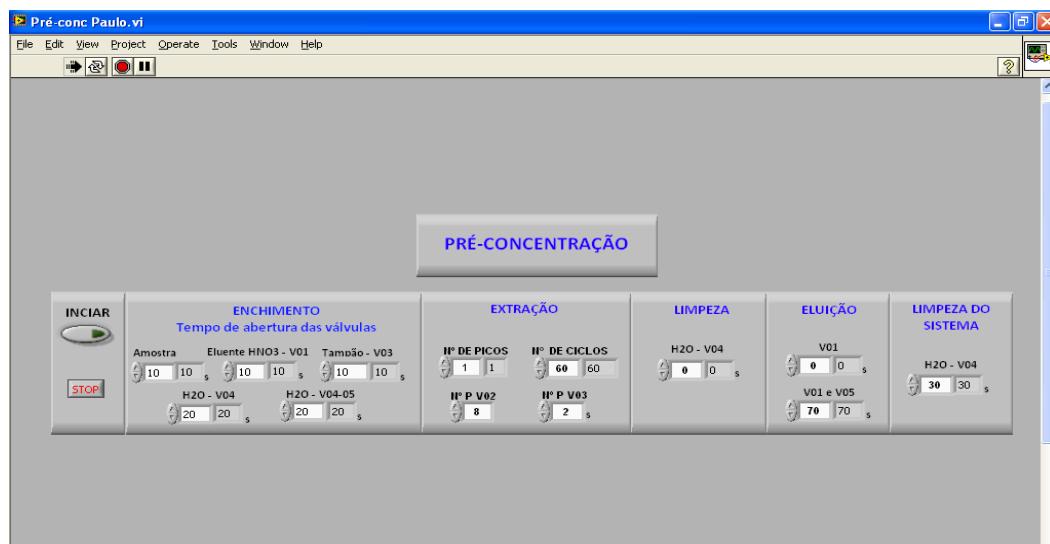


Figura 8:Painel frontal do programa de controle do processo de SPE

4 METODOLOGIA

4.1 Síntese e funcionalização da sílica

A síntese da sílica e sua funcionalização foram realizadas colocando 3 mL da solução de Tetraetilortossilicato (TEOS), 20 mL de 1,4-dioxano e 2,45 g de 3,6-ditia-1,8-octanodiol (Ditia) catalisada com solução de metóxido de sódio, sobre fluxo e agitação durante 4 horas a 120°C. O produto formado foi lavado 3 vezes com 1,4-dioxano e três vezes com etanol para retirar possíveis moléculas de Ditia que não se ligaram a sílica e posto para secar em estufa a 80°C por 2 horas para a evaporação do solvente. Depois de seca a sílica funcionalizada está pronta para ser posta e usada na mini-coluna para o processo de pré-concentração.

4.2 Espectrometria na região do infravermelho (IR)

Os espectros de absorção no infravermelho foram realizados na região do IR médio, entre, 4000 e 400 cm⁻¹. Esses foram obtidos em pastilhas de KBr a 20°C em um espetrômetro de infravermelho com transformada de Fourier (FT-IR), fabricado pela Varian® (Inc., Palo Alto, Califórnia, USA), modelo 640-IR, FT-IR Spectrometer. Os espectros foram obtidos com resolução 4 cm⁻¹ e 32 varreduras espectrais das amostras.

4.3 Análise Termogravimétrica (TGA).

As curvas termogravimétricas da sílica e sílica funcionalizada foram obtidas através de um analisador térmico TA-50 fabricado pela SHIMADZU Corporation. Os materiais a serem analisados foram retirados do dessecador, pesados e acondicionados em mini-cadinhos de platina pesados previamente na termo balança.

Parâmetros de análise:

Massa de amostra: 10,0 mg;
Atmosfera dinâmica: Argônio;
Vazão: 50mL min⁻¹;
Razão de aquecimento: 10°C min⁻¹;
Variação de temperatura: 30 –700°C.

4.4 Mini-coluna de pré-concentração.

4.4.1 Dimensões

A coluna utilizada para o acondicionamento da fase estacionária, confeccionada em acrílico, tendo a forma interna cilíndrica de 40 mm de comprimento e raio de 2,0 mm (4 mm de diâmetro), totalizando um volume interno de aproximadamente 0,5 mL e dois conectores barb fitting em suas extremidades, como pode ser visualizado na **Figura 9**.



Figura 9: Mini-coluna de pré-concentração

4.4.2 Preenchimento da coluna

Cada preenchimento da coluna foi realizado com 100,0mg do material de sílica modificada, o qual foi inserido seco na coluna e retido com a ajuda de uma tela de polietileno tereftalato (PET, conhecido mais comumente como “poliéster”) com granulometria de 90 mesh.

4.5 Avaliação das variáveis relacionadas ao processo de pré-concentração

4.5.1 Estudo de pH

Para a seleção do melhor pH na extração dos íons chumbo foi necessário fazer um estudo em duplicata do processo de extração, utilizando 20 mL (em cada pré-concentração) da solução de referência $1,0 \text{ mg L}^{-1}$ de Pb^{2+} e variando-se o pH entre 2 a 13, com incrementos de uma unidade de pH. Para tanto, utilizou-se as soluções tampão descritas na sessão 3.4. Todas as soluções foram gerenciadas a uma vazão de $1,4 \text{ mL min}^{-1}$.

4.5.2 Influência das variáveis físicas e químicas relacionadas ao eluente

4.5.2.1 Natureza e concentração

O estudo de qual solução e concentração adequada de ácido empregada como eluente, foi realizado variando a concentração das soluções de ácido clorídrico e nítrico separadamente em 0,1; 0,5; 1,0; 1,5; 2,0 e $2,5 \text{ mol L}^{-1}$.

4.5.2.2 Volume

O estudo do volume ideal de eluente foi realizado variando o volume da solução de HNO_3 $0,5 \text{ mol L}^{-1}$ de 1,4 a 2,4 mL, com incrementos de 0,2 mL. Todo

o controle dos volumes da solução de eluente foi realizado através do programa de pré-concentração desenvolvido em LabVIEW.

4.5.2.3 Vazão

O estudo de vazão do eluente na etapa de dessorção dos íons metálicos foi realizado variando a vazão do eluente em 0,1; 0,2; 0,45; 0,85; 1,4 e 2,2 mL min⁻¹ e mantendo fixo o volume de eluente em 1,4 mL.

4.5.3 Influência das variáveis físicas relacionadas à solução de referência

4.5.3.1 Vazão

O estudo da vazão da solução de referência ou da amostra durante a pré-concentração dos íons metálicos foi realizado com o intuito de encontrar o melhor valor da vazão da solução de referência analisando a magnitude do sinal analítico. O estudo foi realizado variando-se a vazão em 0,45; 0,85; 1,4 e 2,2 mL min⁻¹. O número de ciclos foi devidamente ajustado para garantir o mesmo volume de amostra (17,6 mL) em todas as vazões estudadas.

4.5.3.2 Volume

O estudo do volume da amostra ou estudo do tempo de pré-concentração foi feito com o objetivo de verificar a influência da quantidade de amostra sobre a magnitude do sinal analítico. Toda a variação foi controlada pelo programa através da variação da quantidade de ciclos de 30; 60; 120; 240; 360 e 480, os quais são equivalentes a 4, 8, 16, 32, 48 e 64 minutos respectivamente, a uma vazão fixa da amostra. O aumento do volume da amostra é uma das formas de aumentar a sensibilidade na determinação do analito.

4.6 Figuras de mérito

Os cálculos de precisão, exatidão, limite de detecção e quantificação, foram realizados de acordo com as especificações da Agência Nacional de Vigilância Sanitária (ANVISA, 2003), do Inmetro - Instituto Nacional de Metrologia, Qualidade e Tecnologia (INMETRO, 2010) e da *International Union of Pure and Applied Chemistry* (IUPAC, 2002).

4.6.1 Curvas analíticas

As curvas analíticas foram construídas empregando os parâmetros do sistema de pré-concentração MCFIA previamente estabelecidos. Para a construção da curva analítica pré-concentrada foram utilizadas soluções padrão de Pb^{2+} nas concentrações de 0,001; 0,005; 0,010; 0,05; 0,1; 0,5 e 1,0 mg L⁻¹. Para a curva analíticas em pré-concentração foram utilizadas concentrações de 0,1; 0,5; 1,0; 5,0; 10,0; 15,0 e 20,0 mg L⁻¹.

4.6.2 Precisão

O cálculo da precisão foi realizado com os parâmetros físicos e químicos previamente estudados e fixados. A repetibilidade do método foi calculada através de 30 medidas consecutivas da solução de referência com concentração de 100,0 µg L⁻¹ de Pb^{2+} .

4.6.3 Exatidão

O parâmetro de exatidão foi realizado com o objetivo de obter concordância entre os resultados encontrados com um valor de referência tido como verdadeiro. No nosso caso a exatidão evidenciada através dos resultados das recuperações.

4.6.4 Limites de detecção (LD) e quantificação (LQ)

Os limites de detecção e quantificação foram obtidos utilizando o método visual, o qual é realizado através da adição de amostras com concentração conhecida da substância de interesse, de modo que possamos diferenciar o ruído do sinal analítico através da visualização da menor concentração detectável ou qualificável (RIBANI et al., 2004).

4.7 Parâmetros de avaliação da eficiência do sistema de pré-concentração.

Alguns parâmetros são utilizados para avaliar a eficiência de sistemas de pré-concentração, alguns destes serão utilizados como critério de avaliação deste trabalho, como é o caso do fator de enriquecimento, eficiência de retenção e fator de pré-concentração.

4.7.1 Fator de enriquecimento (F.E.)

O fator de enriquecimento (F.E. ou E.F. do inglês Enrichment factor) é o parâmetro mais utilizado para avaliar sistemas de pré-concentração e é definido como sendo a razão entre a concentração da solução do analito pré-concentrado (C_{PC}) e a concentração real da solução de analito usada na pré-concentração (C_R) (Fang, Z.⁵ 1993 apud MIRANDA, 1998).

$$FE = \frac{C_{CP}}{C_R} \quad (1)$$

⁵ Fang Z. **Flow Injection Separation and Preconcentration**. 1^a ed. VHC, 1993.

4.7.2 Eficiência de retenção (E.R.)

A eficiência de retenção avalia a percentagem do analito que está sendo adsorvido pelo material adsorvente. A ER é definida por Hartenstein e colaboradores (HARTENSTEIN; RUIIEKA; CHRISTIAN, 1985) através da equação 2.

$$ER = \frac{(C_{PC} - C_L)}{C_{PC}} \times 100 \quad (2)$$

Onde C_{PC} é a concentração da solução da amostra pré-concentrada; C_L é a concentração da solução de descarte durante a pré-concentração.

4.7.3 Fator de pré-concentração

O fator de pré-concentração (F_{PC}) é definido como sendo a razão entre o volume da inicial amostra (V_{AI}) utilizado na pré-concentração e o volume final do pré-concentrado que é o volume do eluente (V_F) (MATOSO, 2001).

$$F_{PC} = \frac{V_{AI}}{V_F} \quad (3)$$

5 RESULTADOS E DISCUSSÃO

5.1 Síntese e funcionalização da sílica

A superfície da sílica foi modificada através da rota homogênea, utilizando o metóxido de sódio com catalisador básico. A funcionalização foi realizada em um mesmo balão de reação. A formação da sílica ocorreu a partir da hidroxilação do TEOS, seguida de condensação e substituição da superfície da sílica pelo 3,6-ditia-1,8-octanodiol. A eficiência da síntese foi comprovada através do FT-IR e análise termogravimétrica.

5.2 Espectrometria na região do infravermelho

A análise espectral na região do infravermelho é uma técnica muito útil na caracterização de compostos químicos, pois evidencia a presença de grupos funcionais em regiões específicas.

A radiação infravermelha corresponde ao espectro eletromagnético entre 14290 a 200 cm⁻¹. A região mais utilizada na identificação de grupos funcionais de compostos químicos é a região conhecida como *infravermelho médio*, que apresenta números de onda entre 4000-400 cm⁻¹. Diferente das radiações ultravioleta e visível que provocam transições eletrônicas nas espécies químicas, a radiação infravermelha causa alteração nos modos vibracionais e rotacionais das moléculas (BARBOSA, 2007; SILVERSTEIN; WEBSTER; KIEMLE, 2005).

Nesse caso podemos identificar facilmente os grupos funcionais da sílica e comparar com a sílica modificada obtendo assim um indício da eficiência da síntese na modificação dos grupos silanóis pelo 3,6-ditia-1,8-octanodiol, conforme apresentado na **Figura 10**.

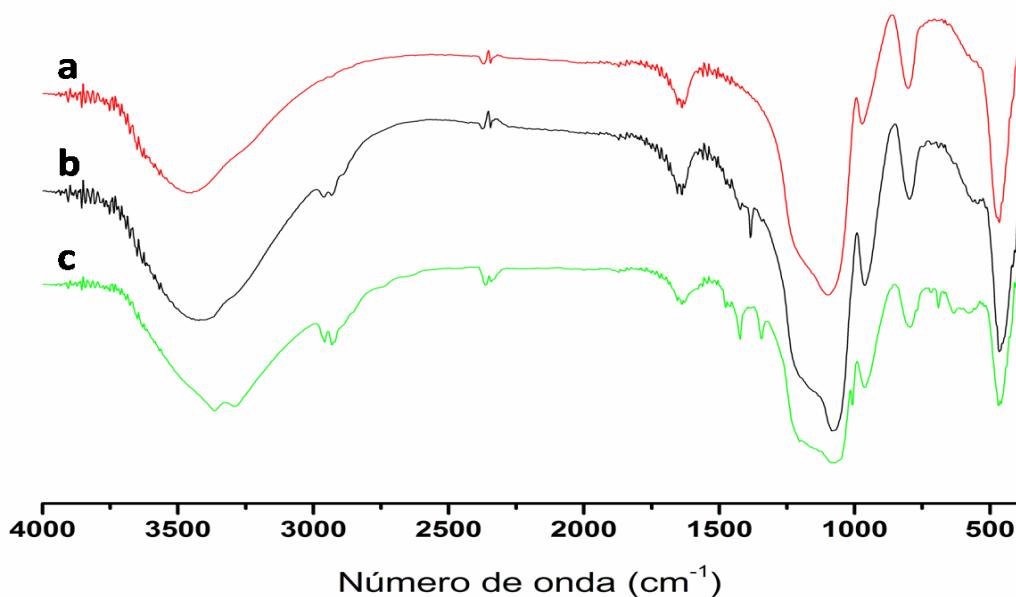


Figura 10: Espectros de IR: a) Sílica pura; b) Sílica modificada e Pb^{2+} ; c) Sílica modificada.

Analisando o espectro de infravermelho da sílica pura na **Figura 10a**, a banda observada na região entre 3700-3200 cm^{-1} foi atribuída ao estiramento O-H dos grupos silanóis e moléculas de água. A banda de absorção em 972 cm^{-1} foi atribuída à deformação angular dos grupos silanóis livres. As bandas referentes aos grupos siloxanos (Si-O-Si) são as de estiramento simétrico em 1097 cm^{-1} , estiramento assimétrico em 802 cm^{-1} e *rocking* (balanço) em 465 cm^{-1} . A banda que aparece em 1635 cm^{-1} é referente à deformação angular das moléculas de água. Após a funcionalização da sílica com 3,6-ditia-1,8-octanodiol ($(\text{HO}(\text{CH}_2)_2\text{S}(\text{CH}_2)_2\text{S}(\text{CH}_2)_2\text{OH})$) foi verificado o aparecimento de novas bandas, como pode ser observado no espectro da **Figura 10c**.

Ao analisar os espectros da **Figura 10**, observa-se uma mudança no perfil da banda entre 3700-3200 cm^{-1} , referente a estiramento Si-O-H e CO-H, o aparecimento de novas bandas em 2958, 2931 e 2921 cm^{-1} atribuídas a estiramentos assimétrico e simétrico de $\text{CH}_2\text{-CH}_2$, as bandas entre 1480 e 1345 cm^{-1} são de deformação angular C-H dos grupos CH_2 , as de estiramento C-O em 1050 e 1009 cm^{-1} , a banda de estiramento C-S em 690 cm^{-1} e outras bandas entre 700-500 cm^{-1} , atribuídas a dobramentos fora do plano C-H, C-C e OH. Após a comparação do espectro do infravermelho da sílica modificada com o Ditia puro apresentado na

Figura 11, todas essas novas bandas observadas foram atribuídas ao ancoramento do HO(CH₂)₂S(CH₂)₂S(CH₂)₂OH à sílica. Pode-se observar também no espectro da **Figura 10b**, que o íon Pb²⁺ com a sílica modificada ocorreu um deslocamento das bandas 1480 e 1345 cm⁻¹ para 1385 e a outra banda perdeu intensidade e não apareceu no espectro respectivamente, acontecendo à mesma coisa com a banda em 690 cm⁻¹, atribuída ao estiramento C-S, dando a evidência da coordenação dos íons chumbo ao átomo de enxofre, visto que os deslocamentos observados em 1480 e 1345 cm⁻¹, podem ser atribuídos um deslocamento ao CH₂ ligado ao átomo de enxofre na molécula do 3,6-ditia-1,8-octanodiol, conforme representada na **Figura 11a** junto ao espectro de FT-IR.

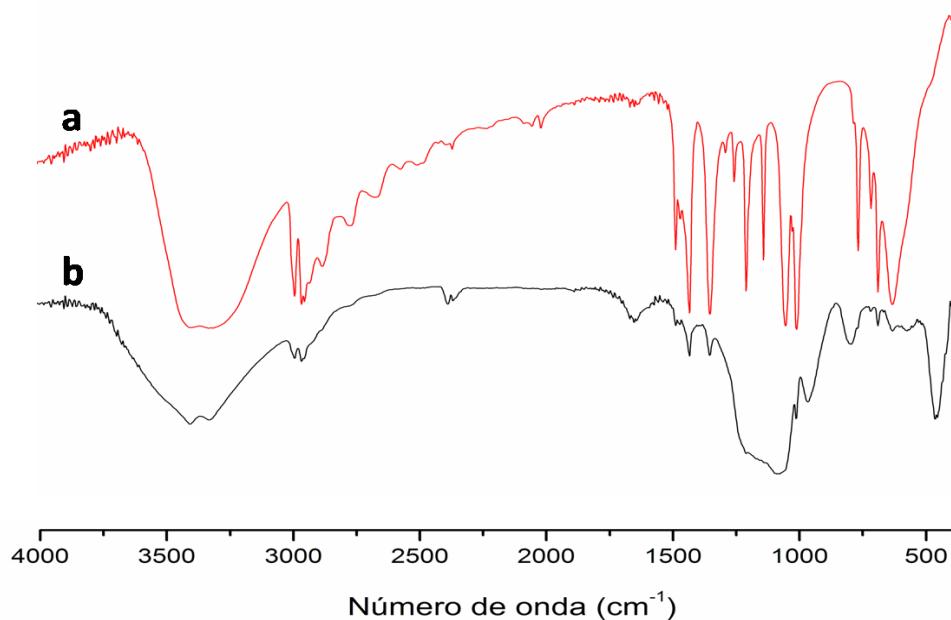


Figura 11: Espectros de IR: a) 3,6-Ditia-1,8-octanodiol pura; b) Sílica modificada

5.3 Análise Termogravimétrica (TGA)

Para avaliar a estabilidade térmica dos materiais sintetizados foram realizadas análises térmicas e a partir das curvas TG obtidas pôde-se avaliar as perdas de massa, relacionando-as assim com a quantidade de moléculas ancoradas na sílica.

Na **Figura 12** são apresentados os termogramas comparativos do 3,6-ditia-1,8-octanodiol e da sílica modificada com o mesmo composto, obtida através processo sol-gel, tal síntese já foi descrita nos itens 5.1 e 6.1.

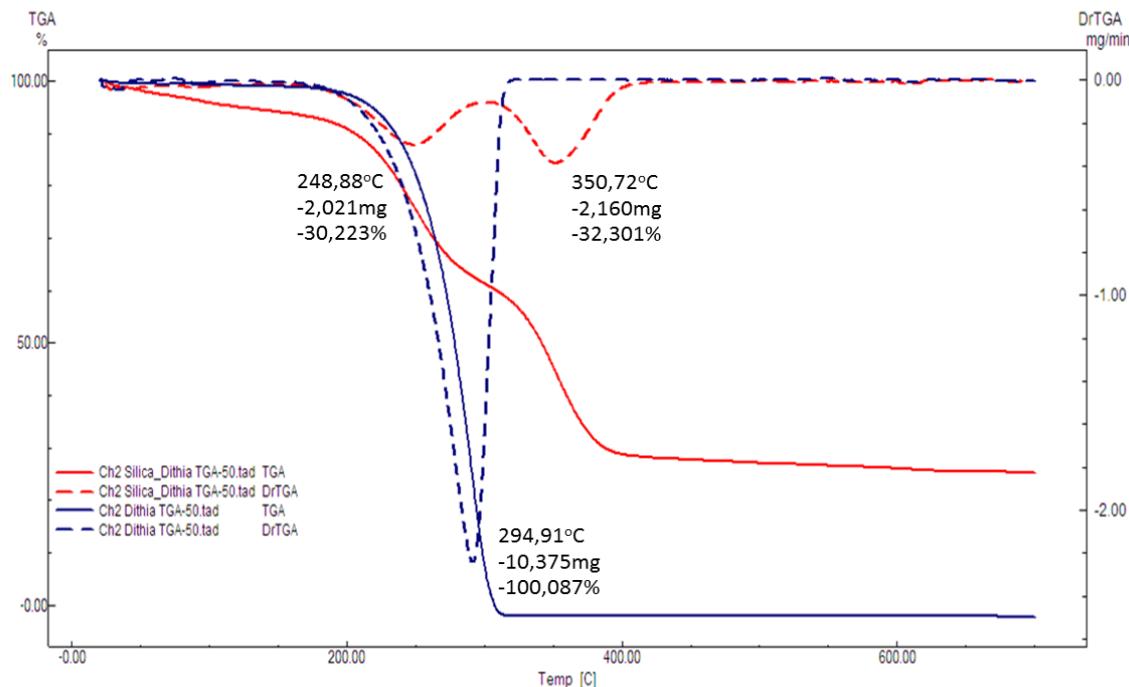


Figura 12: Curvas termogravimétricas: Sílica modificada com ditia e ditia.

Observa-se na **Figura 12**, que a sublimação do ditia se inicia a temperatura de 230,94°C e tem perda de 100% da massa até 295°C em um único evento (em azul na **Figura 12**). Na mesma Figura também está ilustrada a perda de massa em dois eventos para sílica modificada com ditia, a primeira perda acontece em 250°C com perda de 30.2% da massa e a segunda em 350°C com perda de 32% da massa total. Os primeiros 30% da amostra podem ser comparados ao termograma das moléculas de Ditia livres. Devido as perdas se iniciarem em temperaturas próximas (230°C), essa primeira perda pode ser atribuída a moléculas de Ditia livre, ou seja, não ancoradas a sílica. Isso ocorre, provavelmente, pelo excesso de ditia adicionado durante a síntese. Com o aumento da temperatura observa-se um segundo evento com maior estabilidade térmica nas moléculas de Ditia, evidenciando assim, ligação química ou encapsulamento dessas na matriz de sílica. O restante são atribuídos à formação de óxido, onde esse, não se degrada nessa faixa térmica de trabalho. Esses dados evidenciam a interação das moléculas da Ditia com a sílica, principalmente devido ao aumento de estabilidade térmica, concordando assim com os dados apresentados nos espectros de infravermelho.

5.4 Avaliação das variáveis relacionadas ao sistema de pré-concentração

5.4.1 Estudo de pH

Inicialmente foi realizado um estudo de pH com o objetivo de começar a etapa de otimização do sistema com um fator de enriquecimento alto. Para este estudo foram utilizados 17,6 mL de solução de referência $1,0 \text{ mg L}^{-1} \text{ Pb}^{2+}$ com vazão $2,2 \text{ mL min}^{-1}$ e a solução de $\text{HNO}_3 0,5 \text{ mol L}^{-1}$ com vazão $1,4 \text{ mL min}^{-1}$.

Em estudo preliminar realizado em batelada foi obtido como melhor pH = 10,0, porém com estudo de otimização, algumas variáveis foram modificadas e ao final da otimização do sistema foi realizado outro estudo de pH, onde foram observados maiores destaques nos sinais analíticos em pH 6,0; 9,0 e 10,0. Apesar dos sinais serem relativamente próximos o pH 9,0 apresentou maior destaque, como pode ser visto na

Figura 13, obtendo maior absorbância nas três repetições com média de 0,2338, em compensação a absorbância média do pH 6,0 e 10,0 de 0,2264 e 0,2225, respectivamente. Sendo assim o pH 9,0 foi selecionado para os testes posteriores.

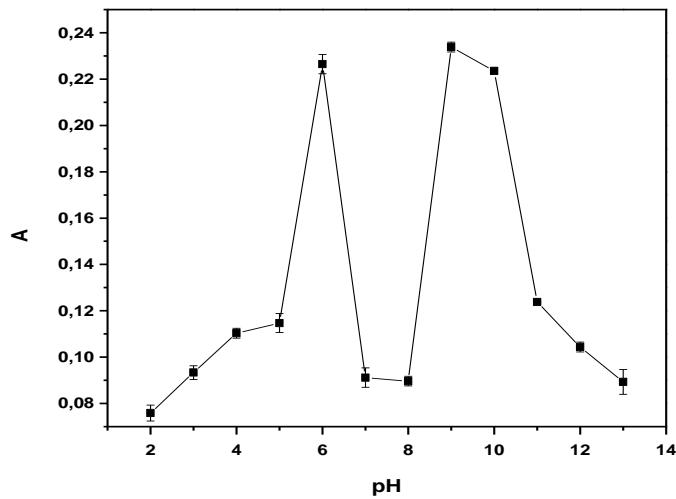


Figura 13: Estudo de pH.

Em pH ácido ocorre a protonação dos sítios ativos da sílica modificada devido ao acesso de H^+ , dificultando a adsorção do Pb^{2+} na superfície do adsorvente. Pode-se observar na

Figura 13 que conforme é aumentado o pH a adsorção de íons Pb^{2+} aumenta (LIU; LIANG, 2008; WANG et al., 2012). Deste modo, podemos observar que há um aumento da adsorção de Pb^{2+} nos pHs 6,0; 9,0 e 10,0. Nos pHs 6,0; 7,0 e 8,0, o tampão utilizado é o fosfato, que com o aumento do pH, aumenta também a concentração de OH^- , o que pode ter influenciado na formação de interações mais fortes entre o chumbo e o OH^- , com formação de complexos, como: PbOH^+ ; $[\text{Pb}_3(\text{OH})_4]^{+2}$; $[\text{Pb}_6(\text{OH})_8]^{+4}$, que por terem carga positiva também pode ter apresentado afinidade dessas espécies com o material adsorvente. Este fato explicaria os maiores sinais analíticos nos pHs 9 e 10, quando utilizado o tampão carbonato (XUE; HOU; ZHU, 2009). De fato se trata de equilíbrios e interações eletrostáticas diversas, porém é fato que o maior sinal adquirido foi em pH 9,0, o qual foi escolhido para prosseguir com o estudo de otimização do sistema. Porém é preciso realizar uma investigação mais detalhada dessas interações entre os íons presentes na solução e o material adsorvente, a fim de entender e explicar melhor o mecanismo de adsorção da sílica modificada com Ditia, que até então, ainda não tinha sido aplicada com o propósito de pré-concentração.

5.4.2 Influência das variáveis físicas relacionadas à solução de referência

Todos os estudos de eluição foram realizados em triplicata utilizando 17,6 mL (em cada pré-concentração) da solução padrão de 1,0 mg L⁻¹ de Pb^{2+} , vazões das soluções em 1,4 mL min⁻¹ e pH 9.

5.4.2.1 Natureza e concentração

Este estudo consistiu em encontrar a melhor solução eluente e concentração adequada, a fim de tornar a etapa de eluição eficiente e rápida, sem perda no fator de enriquecimento. A escolha foi realizada analisando a capacidade do eluente de extrair quantitativamente da fase adsorvente os íons Pb^{2+} . Tal

capacidade foi estudada através da análise dos sinais analíticos gerados no espectro de absorção atômica por chama.

A natureza da solução de eluição foi estudada entre o ácido nítrico e clorídrico nas concentrações de 0,1; 0,5; 1,0; 1,5; 2,0 e 2,5 mol L⁻¹. Conforme apresentado na **Figura 14**, o HNO₃ foi escolhido como melhor eluente, obtendo maior absorbância na concentração de 0,50 mol L⁻¹.

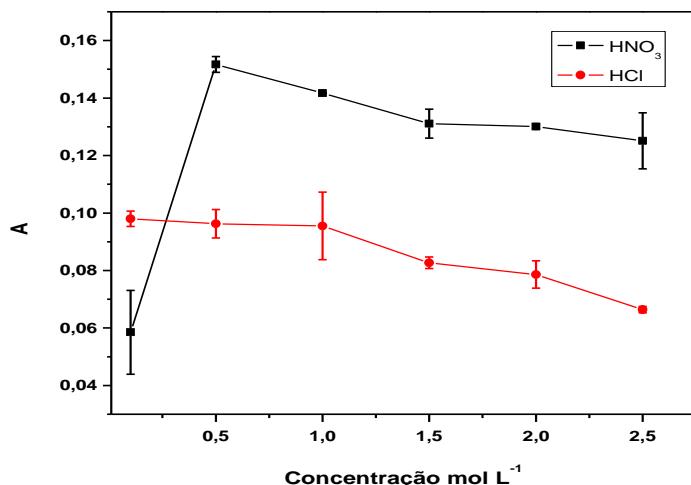


Figura 14: Influência da natureza e concentração do eluente.

Os ácidos selecionados para realização dos estudos de natureza do eluente foram baseados em estudos realizados em diferentes autores (LIU; LIANG, 2008; MATOSO, 2001; MIRANDA et al., 2002; TARLEY et al., 2010; WANG et al., 2012; ZHANG; HU, 2012).

5.4.2.2 Volume do eluente

O estudo do volume do eluente é um fator importante, pois é o volume de amostra pré-concentrada que será quantificada no detector, neste caso, o FAAS limita a quantidade de solução necessária para efetuar a detecção. Porém, o estudo é válido porque é um indicativo da eficiência da etapa de eluição. Como pode ser visualizado na **Figura 15**, o valor mínimo de eluente coletado do sistema de pré-concentração foi de 1,4 mL que é o volume que apresentou maior sinal analítico, sendo escolhido para volume de amostra. A eficiência pode ser verificada

qualitativamente através da observação de que quanto maior o volume menor será a absorbância, ou seja, o volume é inversamente proporcional a concentração, o que significa que os volumes mínimos empregados foram suficientes para promover a eluição.

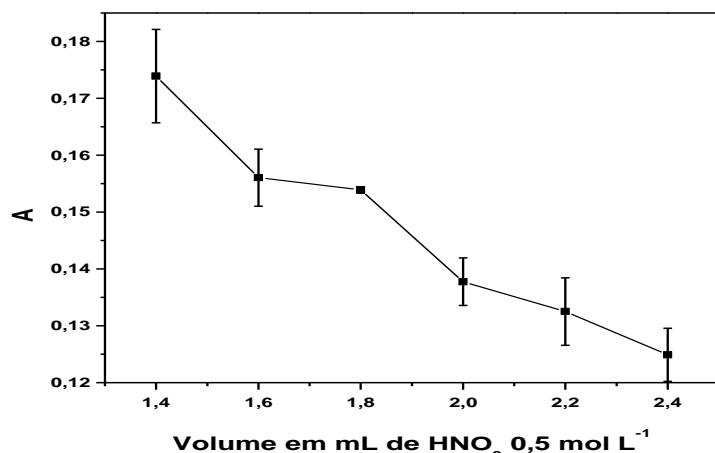


Figura 15: Influência do volume de eluente.

5.4.2.3 Vazão

Na pré-concentração em linha um dos fatores mais importantes é o estudo da vazão, pois ela é que determina o tempo necessário de contato do eluente com os sítios ativos da fase estacionária, afim de garantir uma remoção quantitativa do íon metálico e a regeneração do material adsorvente.

Este estudo tem como objetivo, determinar a maior vazão que pode ser utilizada durante a etapa de eluição sem comprometer o sinal analítico e em menor tempo. Na **Figura 16** é apresentado o estudo da vazão do eluente, HNO_3 0,5 mol L^{-1} , variando-se entre 0,1 a 2,2 mL min^{-1} . Sendo assim foi obtido como melhor resultado a vazão de 1,4 mL min^{-1} .

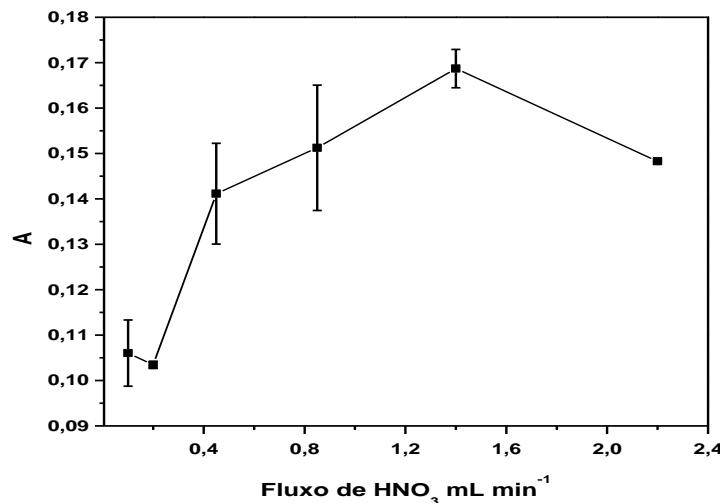


Figura 16: Influência da vazão de HNO_3

5.4.3 Eficiência na recuperação do material adsorvente

A escolha da natureza e concentração do ácido está diretamente relacionada com a eficiência na regeneração da sílica modificada. Assim, na **Figura 17** é apresentada a resposta do sinal analítico em função do número de determinações nas mesmas condições e mesma fase sólida. Nota-se que a resposta analítica se manteve constante, demonstrando a eficiência de regeneração da sílica modificada. Sendo assim, a recuperação do material foi satisfatória, visto que o desvio relativo foi de 3,8% e sem perda de intensidade de sinal após as 30 pré-concentrações.

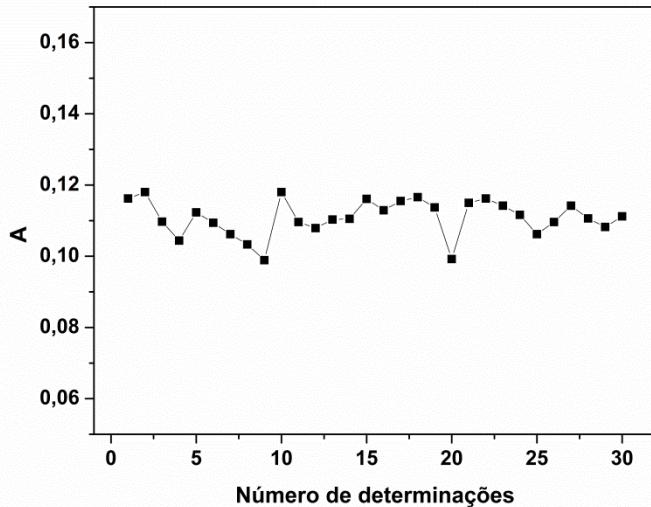


Figura 17: Gráfico do estudo da recuperação do adsorvente

5.4.4 Influência das variáveis físicas relacionadas à solução de referência

Os estudos de vazão e volume da solução de referência foram realizados mantendo-se fixas as variáveis físico-químicas do eluente HNO_3 0,50 mol L⁻¹, volume de 1,4 mL e vazão de 1,4 mL min⁻¹.

5.4.4.1 Vazão

A vazão da solução de referência irá definir o tempo necessário de interação entre o íon metálico e o adsorvente promovendo assim a retenção de um maior número de Pb^{2+} , ou seja, a eficiência da extração dos íons chumbo está inversamente relacionada com o tempo de contato da solução de referência, quanto menor a vazão, maior o tempo de contato e maior a eficiência de retenção da sílica modificada.

Na **Figura 18** é apresentado o estudo de vazão da solução de referência tendo o objetivo de identificar qual o melhor fluxo da solução de referência que propicia a maior amplitude do sinal analítico. Como pode ser observado na **Figura 18**, o sinal que apresentou maior destaque foi à vazão de 0,45 mL min⁻¹. Este estudo mostra que quanto maior o tempo de contato entre os íons Pb^{2+} e o material adsorvente maior é a eficiência do processo de pré-concentração. Porém é preciso analisar também o tempo de todo o procedimento, pois como o volume da solução

de referência foi mantido constante, o tempo de pré-concentração aumenta com a diminuição da vazão e, mesmo tendo a possibilidade de emparelhar várias colunas, a frequência analítica ainda permaneceria baixa, como pode ser observados os tempos de pré-concentração na **Tabela 7**. Como a maior vazão estudada promoveu um fator de enriquecimento (FE) de aproximadamente 8,0 em 9 minutos, enquanto a vazão de $0,45 \text{ mL min}^{-1}$ promovia um FE de 11,0 em 39 minutos. Sendo assim, com o objetivo de aumentar a velocidade da pré-concentração mantendo um bom fator de enriquecimento foi escolhida a vazão de $2,2 \text{ mL min}^{-1}$.

Tabela 7: Comparação das vazões das soluções de referência com F.E.

Vazão (ml min^{-1})	Tempo (minutos)	F.E.
0,45	44	10,9
0,85	23	9,3
1,4	14	8,1
2,2	9	7,7

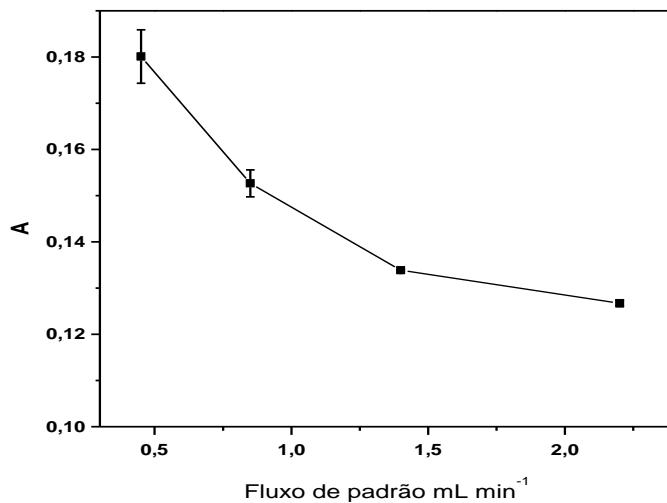


Figura 18: Influência da vazão da solução de referência

4.1.1.1 Volume

Quando o elemento que se deseja extrair se encontra em concentrações muito baixas é necessária à inserção de grandes quantidades de

volume de amostras durante a pré-concentração, para atingir concentrações detectáveis.

O estudo de volume de amostra tem a finalidade de definir o maior volume que pode ser utilizado na etapa de pré-concentração. Isso também permite saber qual o maior fator de enriquecimento que se pode atingir com a combinação de determinados vazão e volume da solução de referência.

Este estudo foi realizado com a vazão de $2,2 \text{ mL min}^{-1}$, fixada no estudo anterior e variou-se o volume entre 8,8 a 176 mL, que corresponde a 30 e 600 ciclos de amostragem respectivamente, mantendo-se a proporção 8:2 entre amostra:tampão em pH 9,0. Os resultados obtidos para o estudo do volume de solução de referência é apresenta na **Figura 19**. Nesta figura observa-se que o maior sinal analítico foi obtido com 70,4 mL, o que equivale a 240 ciclos. Pode-se perceber também que este ponto, é o ponto de saturação da sílica funcionalizada, visto que a partir dele o sinal permanece constante com o aumento do volume da amostra. Desta forma foi possível calcular a capacidade máxima de adsorção da sílica modificada, que foi de $3,4 \times 10^{-4} \text{ mmol de Pb}^{2+} \text{ em } 100\text{mg do adsorvente}$.

Com o aumento do volume de amostra, uma maior quantidade deste analito passará pela coluna, aumentando assim o tempo de contato com a sílica funcionalizada e consequentemente aumentando o fator de enriquecimento. Porém esse aumento é limitado pela saturação da sílica modificada que tem todos os seus sítios ativos coordenados a íons de Pb^{2+} .

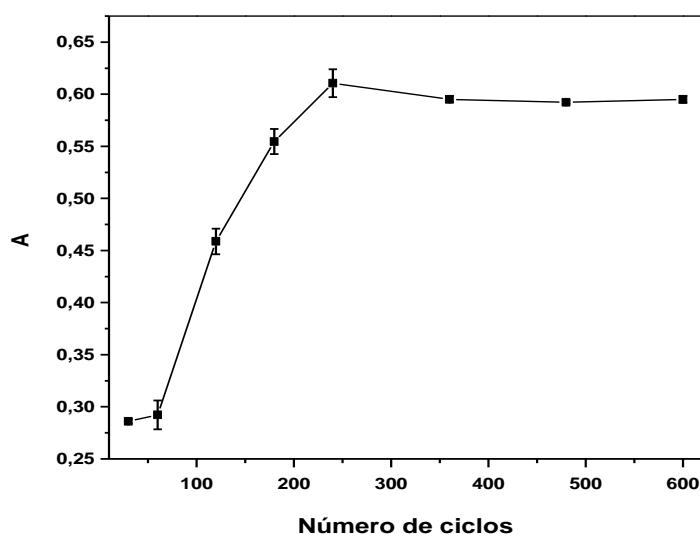


Figura 19: Influência de volume de amostra.

5.5 Características analíticas

5.5.1 Curvas analíticas

A curva analítica de separação e pré-concentração de íons Pb^{2+} foram construída utilizando os valores dos parâmetros de pré-concentração estabelecidos nos estudos de otimização do sistema. Estes valores se encontram resumidos na **Tabela 8**.

Tabela 8: Parâmetros de otimização para determinação de Pb^{2+} por FAAS

Parâmetros	Resultado
pH	9,0
Eluente:	
Natureza	HNO_3
Concentração (mol L^{-1})	0,50
Volume (mL)	1,4
Vazão (mL min^{-1})	1,4
Padrão:	
Volume (mL)	52,8
Vazão (mL min^{-1})	2,2

A curva analítica de pré-concentração apresentou bom coeficiente de correlação linear $R = 0,9939$ numa faixa de trabalho de 5 a 500 $\mu\text{g L}^{-1}$, como pode ser observado na **Figura 20**. Os parâmetros referentes às curvas estão resumidos na **Tabela 9**, onde contém os dados das curvas das soluções de referência pré-concentradas (SRPC) como as das soluções de referência não pré-concentradas (SR). Com base nos dados apresentados, é possível verificar a significância da diferença entre os coeficientes angulares das curvas.

Tabela 9: Comparação entre as curvas analíticas

Curvas	Analito	B	A	R	n
SRPC	Pb^{2+}	$0,5394 \pm 0,0109$	$0,0056 \pm 0,0004$	0,9939	7
SR		$0,0194 \pm 0,0002$	$-0,0003 \pm 0,0003$	0,9993	7

Onde, A é o coeficiente linear; B o coeficiente angular; R o coeficiente de correlação e n número de pontos na curva, como segue a equação de regressão linear $Y = A + B * X$.

Pode-se notar que tanto para os SRPC quanto para os SR as duas curvas apresentam coeficientes de correlações satisfatórios (R), porém a grande diferença está em seus coeficientes angulares, pois para SRPC a sensibilidade analítica é aproximadamente 28 vezes maior que a do SR, permitindo a determinação de íons chumbo a níveis de concentração mais baixos que se poderia obter utilizando somente o espectrofotômetro de absorção atômica com chama, como pode ser percebido nas **Figura 20**, **Figura 21** e especificações do equipamento no anexo B.

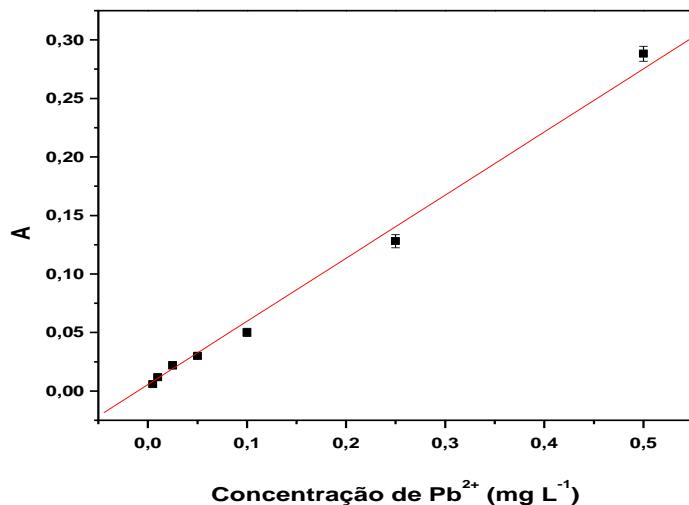


Figura 20: Curva analítica na condição de pré-concentração de Pb^{2+} para determinação por FAAS.

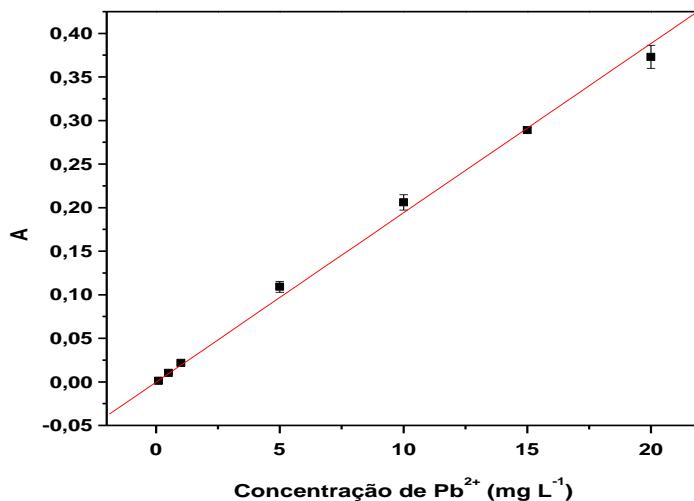


Figura 21: Curva analítica das soluções de referência não pré-concentrados

5.5.2 Precisão

A precisão representa a dispersão entre os valores de ensaios independentes e repetidos de uma mesma amostra. Os valores das determinações nos mostram a relação de concordância entre as repetições. A precisão pode ser medida de três formas diferentes: repetibilidade, reproduzibilidade e precisão intermediária (MATOSO, 2001; RIBANI et al., 2004).

A repetibilidade representa a concordância entre ensaios sucessivos utilizando a mesma metodologia em um mesmo dia, mesmo analista e mesmo local. A repetibilidade pode ser expressa como desvio padrão ou desvio padrão relativo (RIBANI et al., 2004).

Neste trabalho a precisão foi estimada realizando-se 30 determinações consecutivas, conforme apresentado na **Figura 17**. Calculou-se o desvio padrão relativo (%RSD). A média entre os valores foi de 0,1104 de absorbância, o desvio padrão (SD) $\pm 0,0042$ e o RSD estimado em 3,8%. Este resultado está de acordo com os valores aceitáveis, visto que para determinações a nível de $\mu\text{g L}^{-1}$ é aceitável valores de RSD até 20% (RIBANI et al., 2004).

5.5.3 Exatidão

A exatidão representa a concordância entre um valor medido e um valor tido como verdadeiro ou real, que pode ser medido através da comparação com materiais de referência certificados, comparação de métodos, ensaios de recuperação e adição de padrão.

O teste de exatidão utilizado neste trabalho foi o teste de recuperação de amostras (R%), que consiste na determinação do analito adicionado a partir de um padrão na amostra (fortificação da amostra), quantificando-o antes e o depois da adição. Calculando a relação entre o valor encontrado e o verdadeiro em percentagem. Quanto mais próximo de 100% o teste de recuperação, menos é o efeito da matriz (RIBANI et al., 2004). Os resultados do teste de recuperação estão descrito na **Tabela 10**.

Tabela 10: Teste de adição e recuperação para amostras de leite

Amostra	Pb ²⁺ (μL^{-1})		Recuperação %
	Adicionado	Encontrado	
1	0,0	ND*	-
	40,0	38,2	95,5
2	0,0	ND*	-
	40,0	40,3	100,7
3	0,0	ND*	-
	40,0	41,0	102,5
4	0,0	ND*	-
	40,0	38,1	95,2
5	0,0	ND*	-
	40,0	36,3	90,7
6	0,0	ND*	-
	40,0	38,7	96,7

* Não detectável

Como pode ser observado na **Tabela 10**, que nas 6 amostras a concentração de chumbo não foi detectável pelo FAAS sem a adição. Os valores de recuperação apresentados valores entre 90,7 a 102,5%. Estes valores são satisfatórios, visto que para análise de amostras nos níveis de concentração de $\mu\text{g L}^{-1}$

¹, a recuperação aceitável está em um intervalo entre 60 – 115% (BRITO et al., 2003; RIBANI et al., 2004).

5.5.4 Limite de detecção e quantificação

O limite de detecção (LD) é o menor valor de concentração que pode ser detectado, não necessariamente quantificado.

Existem três formas de calcular o LD, a primeira é o método sinal-ruído que se baseia da proporção de 3:1 ou 2:1 dependendo do limite de confiança, 99,7% ou 95%. Um detalhe deste método é que só é aplicado a equipamentos que apresentam ruído. A segunda maneira é o método baseado nos parâmetros da curva analítica e o terceiro método é o visual ou experimental que utiliza soluções de concentração conhecida de maneira a identificar experimentalmente o menor valor que possa ser distingível entre os ruídos e a sinal da amostra (IUPAC, 2002b; RIBANI et al., 2004). LD foi obtido usando o método visual, onde foi obtido o valor do limite de detecção de $0,001 \text{ mg L}^{-1}$ ($1,0 \mu\text{g L}^{-1}$), utilizando soluções de referência de Pb^{2+} . Do mesmo modo, foi obtido o limite de detecção do FAAS em inserção sem pré-concentração, obtendo um limite de detecção de $0,05 \text{ mg L}^{-1}$ ($50 \mu\text{g L}^{-1}$), ou seja, com o sistema de pré-concentração foi possível diminuir o limite de detecção em 100 vezes para a determinação de Pb^{2+} .

O limite de quantificação (LQ) representa o menor valor que pode ser determinado pelo método utilizado, segue os mesmos parâmetros de determinação que LD, ou seja, pode ser determinado através do método sinal-ruído em uma proporção de 10:1 (sinal:ruído), pelo método baseado na curva analítica e o método visual ou experimental. Neste trabalho o LQ foi calculado pelo método visual o limite de quantificação foi de $0,005 \text{ mg L}^{-1}$ ($5 \mu\text{g L}^{-1}$). Este valor de limite de detecção é 20 vezes menor que o LQ especificado pelo fabricante do FAAS.

5.6 Parâmetros de avaliação da eficiência do sistema de pré-concentração.

A partir da construção das curvas analíticas foi possível realizar os cálculos do fator de enriquecimento (FE), eficiência de retenção (ER) e o fator de pré-concentração (F_{PC}), os quais estão representados na **Tabela 11**.

Tabela 11: Parâmetros de avaliação do sistema de pré-concentração

Concentrações (C_R) mg L ⁻¹ Pb ²⁺	C_{PC} mg L ⁻¹	C_L mg L ⁻¹	V_{AI} mL	V_F mL	FE	ER %	F_{PC}
0,1	2,6	Nd	52,8	1,4	25,7	>99	37,7
0,5	14,8	Nd	52,8	1,4	29,7	>99	37,7
1,0	29,5	Nd	52,8	1,4	29,5	>99	37,7
Média	-	-	-	-	28,3	-	-

C_R = Concentração real da solução de analito usada na pré-concentração;

C_{PC} = Concentração da solução do analito pré-concentrado;

C_L = Concentração da solução de descarte durante a pré-concentração;

V_{AI} = Volume da inicial amostra;

V_F = Volume final do pré-concentrado;

FE = Fator de Enriquecimento;

ER = Eficiência de Retenção;

F_{PC} = Fator de pré-concentração.

Como pode ser visto na **Tabela 11**, o fator de enriquecimento médio foi calculado empregando três concentrações, 0,1;0,5;1,0 mg L⁻¹, que são pontos em comum nas curvas analíticas. Deste modo obteve-se um valor médio de 28,3 do FE. É importante perceber que este valor é significativo, porém é possível obter valores ainda melhores, visto que na etapa de otimização alguns parâmetros escolhidos não foram os melhores sinais analíticos obtidos e sim muitas vezes optando pelo mais rápido. Assim adotando-se os melhores sinais dos estudos de otimização podemos calcular o FE máximo que pode ser obtido selecionando-se a vazão da amostra como sendo 0,45 mL min⁻¹ e um volume de amostra de 70,4 mL. Assim, podemos obter um valor máximo de FE de 41. Porém como já foi discutido, o processo de pré-concentração iria levar aproximadamente 156 minutos, enquanto nossos parâmetros escolhidos gastam 24 minutos, ou seja, 6,5 vezes mais rápido.

Ainda assim nos deparamos com uma frequência analítica baixa de 2,5 determinações por hora, porém é possível acoplar mais de uma coluna, para realizar pré-concentrações simultâneas, o que iria ocasionar o aumento da frequência analítica proporcionalmente ao número de colunas utilizadas. Esta estratégia foi utilizada por Miranda e colaboradores (MIRANDA et al., 2002).

A eficiência de retenção foi considerada acima de 99% porque a concentração da solução de descarte ou lixo (C_L) não foi determinada (ND), provavelmente devido à solução apresentar concentração abaixo do limite de detecção do FAAS, utilizado para a determinação de Pb^{2+} em amostras de leite.

A análise do fator de pré-concentração (F_{PC}) nos dá a relação entre o volume de amostra inserida no processo de pré-concentração e da quantidade da amostra pré-concentrada que está relacionado com o volume de eluente utilizado, no caso como pode ser visualizado na **Tabela 7**, temos um fator de 37,7, que nos diz que a quantidade do volume de amostra é 37,7 vezes maior que o volume do pré-concentrado.

5.7 Figuras de mérito

Com a obtenção de todos esses parâmetros analíticos podemos resumir esses dados analíticos em uma tabela de figuras de mérito, **Tabela 12**.

Tabela 12: Figuras de mérito da metodologia proposta.

Parâmetros	Pb ²⁺
Faixa de trabalho (mg L ⁻¹)	0,005 – 20
Coeficiente de correlação (R)	0,9939
Sensibilidade	0,5394
Precisão (RSD%)	3,8
Exatidão (%)	90,7 – 102,5
Limite de detecção (mg L ⁻¹)	0,001
Limite de quantificação (mg L ⁻¹)	0,005
Fator de enriquecimento	28,3
Eficiência de retenção (%)	>99
Fator de pré-concentração	37,7
Quantidade de adsorvente (mg)	100
Consumo de amostra (mL)	52,8

6 CONCLUSÃO

Através da análise do espectro de infravermelho e das curvas TG, evidenciou que a síntese da sílica modificada através do processo sol-gel foi satisfatória, o que possibilitou o uso da mesma no processo de pré-concentração. Empregando o sistema em fluxo desenvolvido foi possível realizar a pré-concentração dos íons Pb^{2+} de forma quantitativa utilizando a sílica modificada com 3,6-ditia-1,8-octanodiol como adsorvente. Esta eficiência foi aumentada com o uso de um pH específico e com a fixação das variáveis químicas e físicas, relacionadas ao sistema em fluxo nos estudos de otimização.

A curva analítica apresentou boa linearidade, alta sensibilidade, ampla faixa de trabalho, precisão satisfatória, baixo limite de detecção e quantificação. O sistema apresentou baixa frequência analítica, mas este fato pode ser aprimorado com a utilização de várias colunas em paralelo. O consumo de amostras é relativamente alto, porém isso é uma das características intrínsecas aos sistemas de pré-concentração.

O sistema proposto é simples, de fácil operação e possibilitou um alto fator de enriquecimento com apenas 100mg da sílica modificada, com boa recuperação do material adsorvente, podendo ser usada por aproximadamente 50 vezes, permitindo também a determinação de Pb^{2+} em concentrações 20 vezes menor, para a determinação por FAAS.

A eficiência da sílica modificada foi comprovada através dos cálculos do fator de enriquecimento (FE), eficiência de retenção (ER) e fator de pré-concentração, dos quais foram obtidos valores satisfatórios. O sistema apresentou também boa versatilidade ao ser acoplado como espectrofotômetro de absorção atômica por chama, que por sua vez, também é uma técnica bastante versátil e permite a determinação de elementos metálicos de maneira rápida e eficiente.

7 PERSPECTIVAS

Otimização da síntese da sílica quimicamente modificada, testando também outros catalisadores.

Caracterização do composto sintetizado

Aplicação da sílica modificada para pré-concentração de cádmio e mercúrio.

Realizar estudo de interferentes, a fim de diminuir o efeito de matriz no processo de extração.

Realizar o acoplamento com várias colunas para aumentar a frequência analítica.

8 REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- AGUIAR, R. M. P.; NOVAES, A. C. Remoção de metais pesados de efluente industrial por aluminossilicatos. **Química Nova**, v. 25, n. 6, p. 1145–1154, 2002.
- AHMED, M. J.; MAMUN, M. Spectrophotometric determination of lead in industrial , environmental , biological and soil samples using. **Talanta**, v. 55, p. 43–54, 2001.
- ALFAYA, A. A. S . K. L. T. A utilização de materiais obtidos pelo processo de sol-gel na construção de biossensores. **Química Nova**, v. 25, n. 5, p. 835–841, 2002.
- ANVISA, A. N. DE V. S. **Resolução - RE nº 899, de 29 de maio de 2003.**
- ARAKAKI, L. N. H. **Imobilização de etilenimina, etilenossulfeto, 2-aminoetanotiol em sílica gel-termodinâmica das interações dos centros básicos nitrogênio e enxopfre com cátions em solução aquosa.** [s.l.] Unicamp, 2000.
- ATSDR, A. FOR T. S. AND D. R. **Toxicological profile for lead.** Atlanta: p. 1–175
- BARBOSA, L. C. DE A. **Espectroscopia no infravermelho na caracterização de compostos orgânicos.** Viçosa-MG: Editora UFV, 2007. p. 189
- BELIAN, M. F. **Éteres Coroa Com Íons Lantanídeos : De Compostos de Coordenação a Novos Materiais Nanoestruturados de Sílica.** Universidade Federal de Pernambuco, 2008.
- BERGAMIN, N.; MEDEIROS, J. X.; REIS, B. F. SOLVENT EXTRACTION IN CONTINUOUS FLOW INJECTION ANALYSIS: Determination of Molybdenum in Plant Material. **Analytica chimica acta**, v. 101, p. 9–16, 1978.
- BIZZI, C. A. et al. Improvement of microwave-assisted digestion of milk powder with diluted nitric acid using oxygen as auxiliary reagent. **Spectrochimica Acta Part B: Atomic Spectroscopy**, v. 66, n. 5, p. 394–398, maio 2011.
- BRINKER, C. J.; SCHERER, G. W. **Sol-Gel Science The physics and chemistry of sol-gel processing.** San Diego: Academic press, 1990.
- BRITO, N. M. et al. Validação de métodos analíticos : estratégia e discussão. **R. Ecotoxicol. e meio ambiente**, v. 13, p. 129–146, 2003.
- BURNHAM, A. K. et al. Identification and estimation of neutral organic contaminants in potable water. **analycal chemistry**, v. 44, n. 1, p. 139, 1972.
- CAMEL, V. Solid phase extraction of trace elements. **Spectrochimica Acta**, v. 58, p. 1177–1233, 2003.

- CAO, J.; LIANG, P.; LIU, R. Determination of trace lead in water samples by continuous flow microextraction combined with graphite furnace atomic absorption spectrometry. **Journal of hazardous materials**, v. 152, n. 3, p. 910–4, 15 abr. 2008.
- CERDA, V. et al. Flow techniques in water analysis. **Talanta**, v. 50, n. 4, p. 695–705, 1999.
- CHLADEK, E.; MARANO, R. S. Use of Bonded Phase Silica Sorbents for the Sampling of Priority Pollutants in Wastewaters. **Journal of Chromatographic Science**, v. 22, n. 8, p. 313–320, 1984.
- CODEX ALIMENTARIUS COMMITTE. JOINT FAO/WHO FOOD STANDARDS PROGRAMME. **Food and Agriculture Organization**, v. 21, p. 3–8, 1995.
- DISLICH, H. New Routes to Multicomponent Oxide Glasses. **Angewandte Chemie**, v. 10, n. 6, p. 363–370, 1971.
- DUARTE, M. K. R.; SILVA, F. M. S. M.; MEIRELLES, C. F. Resíduos de anabolizantes na produção animal: importância e métodos de detecção. **Ciência Rural, Santa Maria**, v. 32, n. 4, p. 731–737, 2002.
- ELÇI, L.; ARSLAN, Z.; TYSON, J. F. Determination of lead in wine and rum samples by flow injection-hydride generation-atomic absorption spectrometry. **Journal of hazardous materials**, v. 162, n. 2-3, p. 880–5, 15 mar. 2009.
- EMBRAPA; EMPRESA BRASILEIRA DE PESQUISA AGROPECUÁRIA. **Principais países produtores de leite no mundo – 2009**. Disponível em: <<http://www.cnpgl.embrapa.br/nova/informacoes/estatisticas/producao/tabela0240.php>>. Acesso em: 20 dez. 2011.
- FANG, Z.; RUZICKA, J.; HANSEN, E. H. An efficient flow-injection system with on-line ion-exchange preconcentration for the determination of trace amounts of heavy metals by atomic absorption spectrometry. **Analytica chimica acta**, v. 164, p. 23–29, 1984.
- FANG, Z.; WELZ, B. High efficiency low sample consumption on-line ion-exchange pre-concentration system for flow injection flame atomic absorption spectrometry. **Journal of Analytical Atomic Spectrometry**, v. 4, n. 6, p. 543, 1989.
- FANG, Z.; WELZ, B. High efficiency low sample consumption on-line ion-exchange pre-concentration system for flow injection flame atomic absorption spectrometry. **Analytical Atomic Spectrometry**, v. 4, n. 6, p. 543–546, 1989.
- FERREIRA, G. **Aplicação de sílica organicamente modificada em sistema de extração em fase sólida de íons Cu (II), Cd (II) e Pb (II) em meio aquoso**. [s.l.] Universidade Estadual Paulista, 2009.
- FRITZ, J. S. **Analytical Solid Phase Extraction**. New York: John Wiley & Sons, 1999.

GASPAR, E. S. **Desenvolvimento de Equipamento para Avaliação da Degradação de Semicondutores de Potência.** [s.l.] Universidade Federal de Itajubá (UNIFEI), 2005.

GESER, H. D. et al. The Extraction And Recovery Of Polychlorinated Biphenyls (PCB) Using Porous Polyurethane Foam. **Analytical Letters**, v. 4, n. 12, p. 883–886, 1971.

GONÇALVES, J. R.; MESQUITA, A. J. DE; GONÇALVES, R. M. Determinação de metais pesados em leite integral bovino pasteurizado no estado de Goiás. **ciência animal brasileira**, v. 9, n. 2, p. 365–374, 2008.

HARTENSTEIN, S. D.; RUIIEKA, J.; CHRISTIAN, G. D. Sensitivity Enhancements for Flow Injection Analysis-Inductively Coupled Plasma Atomic Emission Spectrometry Using an On-Line Preconcentrating Ion-Exchange Column. **analycal chemistry**, v. 57, n. 6, p. 21–25, 1985.

HIRATSUKA, R. S.; SANTILLI, C. V.; PULCINELLI, S. H. O processo sol-gel: uma visão físico-química. **Química Nova**, v. 18, n. 2, p. 171–180, 1995.

ICZ, I. DE METAIS NÃO FERROSOS. **Chumbo e a Sociedade.** Disponível em: <<http://www.icz.org.br/chumbo-sociedade.php>>. Acesso em: 7 jul. 2012.

IEA - INSTITUTO DE ECONOMIA AGRÍCOLA. **Produtos lácteos: algumas considerações nutricionais e econômicas.** Disponível em: <<http://www.iea.sp.gov.br/OUT/verTexto.php?codText>>. Acesso em: 20 dez. 2011.

INMETRO - Instituto Nacional de Metrologia Qualidade e Tecnologia. **Orientação Sobre Validação de Métodos Analíticos.** [s.l.: s.n.]. p. 20

IUPAC, I. U. P. A. C. “Heavy metals” — a meaningless term? **Pure Application Chemistry**, v. 74, n. 5, p. 793–807, 2002.

IUPAC, U. I. OF A. P. Harmonized guidelines for single-laboratory validation of methods of analysis. **Pure Application Chemistry**, v. 74, n. 5, p. 835–855, 2002.

KAZI, T. G. et al. Assessment of toxic metals in raw and processed milk samples using electrothermal atomic absorption spectrophotometer. **Food and chemical toxicology: an international journal published for the British Industrial Biological Research Association**, v. 47, n. 9, p. 2163–2169, set. 2009.

KISTLER, S. S. Coherent Expanded-Aerogels. **Physical Chemistry**, v. 36, n. 1, p. 52–64, 1932.

KORN, M. D. G. A et al. Separation and preconcentration procedures for the determination of lead using spectrometric techniques: a review. **Talanta**, v. 69, n. 1, p. 16–24, 15 mar. 2006.

KRONKA, E. A. M. et al. Multicomutação e amostragem binária em análise química em fluxo. Determinação espectrofotométrica de ortofosfato em águas naturais. **Química Nova**, v. 20, n. 4, p. 372–376, 1997.

KRUG, F. J.; NÓBREGA, J. A.; OLIVEIRA, P. V. DE. **Espectrometria de Absorção Atômica Parte 1. Fundamentos e atomização com chama.** p. 40

KUMAMARU, T.; MATSUO, H. Sensitivity enhancement for inductively-coupled plasma atomic emission spectrometry of cadmium by suction-flow on-line ion-exchange preconcentration. **Analytica chimica acta**, v. 181, p. 271–275, 1986.

KUMMROW, F. et al. Biomonitoring method for the simultaneous determination of cadmium and lead in whole blood by electrothermal atomic absorption spectrometry for assessment of environmental exposure. **Talanta**, v. 75, n. 1, p. 246–52, 15 mar. 2008.

LAJUNEN, L. H. J.; PERAMAKI, P. **Spectrochemical Analysis by Atomic Absorption and Emission.** 2. ed. The Royal Society of Chemistry, 2004. p. 1–179

LAPA, R. A. S. et al. Multi-pumping in flow analysis: concepts, instrumentation, potentialities. **Analytica chimica acta**, v. 466, p. 125–132, 2002.

LAVORANTE, A. F. **Desenvolvimento de instrumentação e procedimentos analíticos automáticos para a determinação espectrofotométrica de tensoativos em águas.** USP-CENA, 2006.

LICATA, P. et al. Levels of “toxic” and “essential” metals in samples of bovine milk from various dairy farms in Calabria, Italy. **Environment international**, v. 30, n. 1, p. 1–6, mar. 2004.

LISKA, I. Fifty years of solid-phase extraction in water analysis--historical development and overview. **Journal of chromatography. A**, v. 885, n. 1-2, p. 3–16, 14 jul. 2000.

LIU, R.; LIANG, P. Determination of trace lead in water samples by graphite furnace atomic absorption spectrometry after preconcentration with nanometer titanium dioxide immobilized on silica gel. **Journal of hazardous materials**, v. 152, n. 1, p. 166–71, 21 mar. 2008.

LIU, Y.; INGLE, J. D. Automated on-line ion-exchange trace enrichment system with flame atomic absorption detection. **analycal chemistry**, v. 61, n. 6, p. 520–524, 1989.

LOPES, M. P. V. **Acoplamentos de sistemas de fluxo a equipamentos de espectrofotometria atômica e espectrometria de massas.** [s.l.] Universidade do Porto, 2008.

MAPA- MINISTÉRIO DE AGRICULTURA E ABASTECIMENTO. Instrução normativa Nº 51. 2002.

MARÇAL, W. S.; NETO, O. C.; NASCIMENTO, M. R. Valores sanguíneos de chumbo em bovinos nelore suplementados com sal mineral naturalmente contaminado por chumbo. **Ciência Rural, Santa Maria**, v. 28, p. 53–57, 1998.

MATOSO, E. **Pré-concentração de pb e cu com fosfato de zircônio e determinação por espectrometria de absorção atômica com chama.** [s.l.] UNIVERSIDADE ESTADUAL DE CAMPINAS (UNICAMP), 2001.

MIRANDA, C. E. . et al. Automated flow analysis system based on multicommutation for Cd, Ni and Pb on-line pre-concentration in a cationic exchange resin with determination by inductively coupled plasma atomic emission spectrometry. **Analytica Chimica Acta**, v. 453, n. 2, p. 301–310, fev. 2002.

MIRANDA, C. E. S. **Desenvolvimento de um sistema automatizado de análise em fluxo baseado em multicomutação para pré-concentração de Cd, Ni e Pb em resina de troca iônica com determinação por ICO-AES.** [s.l.] UNICAMP, 1998.

MITRA, S. (ED.). **Sample Preparation Techniques in Analytical Chemistry.** 162. ed. New Jersey: Wiley e Sons, 2003. p. 271

NASSAR, E. J.; MESSADDEQ, Y.; RIBEIRO, S. J. L. Influência da catálise ácida e básica na preparação da sílica funcionalizada pelo método sol-gel. **Química Nova**, v. 25, n. 1, p. 27–31, 2002.

OKADA, I. A.; SAKUMA, A. M.; MAIO, F. D. Revista de Saúde Pública. **Revista de Saúde Pública**, v. 31, n. 2, p. 140–143, 1997.

OLIVEIRA, V. V. **Novos adsorventes derivados de sílica gel modificada com aminas e glutaraldaído.** [s.l.] Universidade federal da Paraíba, 2008.

OLSEN, S. et al. Combination of flow injection analysis with flame atomic-absorption spectrophotometry: determination of trace amounts of heavy metals in polluted seawater. **analyst**, v. 108, n. 1289, p. 905–917, 1983.

PAOLIELLO, M. M. B.; CHASIN, A. A. M. **Ecotoxicologia do chumbo e seus compostos.** Salvador.

RASMUSSEN, L. Determination of trace metals in sea water by chelex-100 or solvent extraction techniques and atomic absorption spectrometry. **Analytica chimica acta**, v. 125, p. 117–130, 1981.

REIS, B. F.; BERGAMIN, H. F. Evolução dos injetores empregados em sistemas de análise química por injeção em fluxo. **Química Nova**, v. 16, n. 6, p. 570–573, 1993.

REIS, B. F.; GINÉ, M. F.; KRONKA, E. A. M. A análise química por injeção em fluxo. **Química Nova**, v. 12, p. 82–91, 1989.

REIS, B. F.; GINE, M. F.; ZAGATTO, E. A. G. Multicommunication 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.
- REIS, B. F. DOS; MIRANDA, C. E. S.; BACCAN, N. Pré-concentração empregando extração fase líquida-fase sólida em sistemas de análise em fluxo com detecção espectrométrica. **Química Nova**, v. 19, n. 6, p. 623–635, 1996.
- RIBANI, M. et al. Validação em métodos cromatográficos e eletroforéticos. **Química Nova**, v. 27, n. 5, p. 771–780, 2004.
- RILEY, J. P.; TAYLOR, D. The analytical concentration of traces of dissolved organic materials from sea water with Amberlite XAD-1 resin. **Analytica chimica acta**, v. 46, p. 307, 1969.
- ROCHA, F. R. P. et al. Multicommunication in flow analysis : concepts, applications and trends. **Analytica chimica acta**, v. 468, p. 119–131, 2002.
- RUZICKA, J. et al. Exchange of Comments: Pumping Pressure and Reagent Consumption in Flow Injection Analysis. **analytical chemistry**, v. 49, n. 12, p. 1858–1861, 1977.
- RUZICKA, J.; HANSEN, E. H. Flow injection analyses Part I. A new concept of fast continuos flow analysis. **Analytica chimica acta**, v. 78, p. 145–157, 1975.
- 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.
- SAKKA, S.; KOZUKA, H. Rheology of sols and fiber drawing. **Non-Crystalline Solids**, v. 100, n. 1-3, p. 142–153, 1988.
- SANTOS, D. M. et al. A new procedure for bovine milk digestion in a focused microwave oven: gradual sample addition to pre-heated acid. **Talanta**, v. 65, n. 2, p. 505–510, 30 jan. 2005.
- SANTOS, A. C. V.; MASINI, J. C. A análise por injeção sequencial (sia): vinte anos de uma perspectiva brasileira. **Química Nova**, v. 33, n. 9, p. 1949–1956, 2010.
- SIGMA-ALDRICH. **Guide to Solid Phase Extraction**. [s.l: s.n.].
- SILVERSTEIN, R. M.; WEBSTER, F. X.; KIEMLE, D. J. **Spectrometric identification of organic compounds**. Seventh ed. New York: John Wiley & Sons, inc, 2005. p. 72–126
- SOARES, V. A. et al. Determination of nutritional and toxic elements in pasteurized bovine milk from Vale do Paraíba region (Brazil). **Food Control**, v. 21, n. 1, p. 45–49, jan. 2010.

TARLEY, C. R. T. et al. Silica-Alumina-Niobia ($\text{SiO}_2/\text{Al}_2\text{O}_3/\text{Nb}_2\text{O}_5$) Matrix Obtained by the Sol-gel Processing Method: New Material for Online for Online Extraction of Zinc Ions. **Brazilian Chemical Society**, v. 21, n. 6, p. 1106–1116, 2010.

TEIXEIRA, V. G.; COUTINHO, F. M. B.; GOMES, A. S. Resina poliméricas para separação e pré-concentração de chumbo. **Química Nova**, v. 27, n. 5, p. 754–762, 2004.

VILAR, R. B. C.; JESUS, A. DE; BENVENUTTI, E. V. Artigo. **Química Nova**, v. 31, n. 2, p. 285–289, 2008.

WANG, Z. et al. Modified mesoporous silica materials for on-line separation and preconcentration of hexavalent chromium using a microcolumn coupled with flame atomic absorption spectrometry. **Analytica chimica acta**, v. 725, p. 81–6, 6 maio 2012.

WHO, W. EALTH O. **The World Health Report 1995**. Geneva.

XUE, Y.; HOU, H.; ZHU, S. Competitive adsorption of copper(II), cadmium(II), lead(II) and zinc(II) onto basic oxygen furnace slag. **Journal of hazardous materials**, v. 162, n. 1, p. 391–401, 15 fev. 2009.

ZAIJUN, L. et al. Spectrophotometric determination of trace lead in water after preconcentration using mercaptosephadex. **Talanta**, v. 60, n. 1, p. 123–30, 28 maio 2003.

ZHANG, N.; HU, B. Cadmium (II) imprinted 3-mercaptopropyltrimethoxysilane coated stir bar for selective extraction of trace cadmium from environmental water samples followed by inductively coupled plasma mass spectrometry detection. **Analytica chimica acta**, v. 723, p. 54–60, 20 abr. 2012.

ANEXO A

PORTARIA N° 16, DE 13 DE MARÇO DE 1990
DOU DE 15/03/90

Dispõe sobre os limites de tolerância de chumbo (Pb) em alimentos.

O DIRETOR DA DIVISÃO NACIONAL DE VIGILÂNCIA SANITÁRIA DE ALIMENTOS-DINAL da Secretaria Nacional de Vigilância Sanitária - SNVS, do Ministério da Saúde, no uso das atribuições que lhe confere o Art. 39 item III do Regimento Intento, aprovado pela Portaria Ministerial nº 270-BSB, de 19 de jnho de 1978, e à vista do disposto no Art. 14, item I do Decreto nº 96.763, de 26 de setembro de 1968,

CONSIDERANDO, o estudo realizado pela Comissão Nacional de Assessoramento em Toxicologia (CONAT), do Ministério da Saúde,

RESOLVE:

1. Autorizar a inclusão na Tabela II, como preceitua o Art. 26, do decreto nº 55.871 de 26 de março de 1965, dos limites máximos de tolerância de chumbo (Pb) em alimentos, conforme relação anexada a esta portaria.
2. Estabelecer que os limites máximos de tolerância, ora incluídos na Tabela II, referem-se aos alimentos nas condições em que são consumidos, incluindo-se nessa situação o leite "in natura" e o leite industrializado.
3. Esta portaria entrará em vigor na data de sua publicação, revogadas as disposições em contrário, especialmente os limites anteriormente estabelecidos pelo Decreto nº 55.871/65.

ANEXO

LIMITES MAXIMOS DE TOLERANCIA DE CHUMBO (Pb) EM ALIMENTOS

ALIMENTO	"IN NATURA"	INDUSTRIALIZADO
	(mg/kg)	(mg/kg)
1. ORIGEM ANIMAL		
Carnes	0,50	1,00
Aves	0,20	1,00
Pescado	2,00	2,00
Leite	0,05	0,05
Derivados do Leite		
Queijo	-	1,00
Manteiga	-	0,10
Outros	-	0,20
Ovos	0,10	0,20
2. ORIGEM VEGETAL		
Bulbos	0,50	0,50
Raízes e Tubérculos	0,50	0,50
Cereais	0,50	0,50
Hortaliças	0,50	0,50
Leguminosas	0,50	0,50
Frutas (exceto sucos, néctares, cristalizados ou glaceados)	0,50	0,50
Sucos e néctares de frutas	-	0,40
Frutas cristalizadas ou glaceadas	-	1,00
Oleaginosas	0,20	0,20
3. ESPECÍFICOS		
Óleos e gorduras	-	0,10
Margarina	-	0,10
Refrescos e Refrigerantes	-	0,20

ANEXO B

Pb

ANEXO B

varian®

Lead

A.W. 207.19

▼ Preparation of standard solutions

Recommended standard materials

Lead metal strip or wire 99.9%

Solution technique

Dissolve 1.000 g of lead in 1:1 nitric acid. Dilute to 1 litre to give 1000 µg/mL Pb.

absorbance significantly at concentrations ten times greater than lead. These interferences can be largely overcome by addition of EDTA solution so that the sample solutions are 0.1 molar with respect to EDTA. At the 217.0 nm wavelength, non-atomic species in the flame absorb strongly. Where the sample has a high concentration of dissolved solids it is necessary to correct for non-atomic absorption.

▼ Recommended instrument parameters

Atomic absorption

WORKING CONDITIONS (FIXED)

Lamp current	5 mA
Fuel	acetylene
Support	air
Flame stoichiometry	oxidizing

WORKING CONDITIONS (VARIABLE)

Wavelength nm	Slit width nm	Optimum working range µg/mL
217.0	1.0	0.1-30
283.3	0.5	0.5-50
261.4	0.5	5-800
202.2	0.5	7-1000
205.3	0.5	50-8000

Flame emission

Wavelength	405.8 nm
Slit width	0.1 nm
Fuel	acetylene
Support	nitrous oxide

▼ Interferences

No cationic interferences have been reported for the air-acetylene flame, however a number of anionic interferences have been reported. Phosphate, carbonate, iodide, fluoride and acetate suppress lead

