



UFSM

Dissertação de Mestrado

**DETERMINAÇÃO DE CÁDMIO E MANGANÊS COM PRÉ-
CONCENTRAÇÃO POR FI-FAAS E APLICAÇÃO EM
ADITIVO ALIMENTAR À BASE DE FOSFATOS**

Alberto Xavier de Lima Júnior

PPGQ

Santa Maria, RS, Brasil

2005

**DETERMINAÇÃO DE CÁDMIO E MANGANÊS COM PRÉ-
CONCENTRAÇÃO POR FI-FAAS E APLICAÇÃO EM
ADITIVO ALIMENTAR À BASE DE FOSFATOS**

por

Alberto Xavier de Lima Júnior

Dissertação apresentada ao programa de Pós-
Graduação em Química da Universidade Federal de
Santa Maria (RS), como requisito parcial para obtenção
do grau de **MESTRE EM QUÍMICA**

Santa Maria, RS, Brasil

2005

Universidade Federal de Santa Maria
Centro de Ciências Naturais e Exatas
Departamento de Química
Programa de Pós-Graduação em Química

A comissão Examinadora abaixo assinada, aprova a dissertação de
Mestrado

**DETERMINAÇÃO DE CÁDMIO E MANGANÊS COM PRÉ-CONCENTRAÇÃO
POR FI-FAAS E APLICAÇÃO EM ADITIVO ALIMENTAR À BASE DE
FOSFATOS**

Elaborada por

Alberto Xavier de Lima Júnior

como requisito parcial para a obtenção do grau de
Mestre em Química

COMISSÃO EXAMINADORA:

Valderi Luiz Dressler - UFSM

Martha Bohrer Adaime - UFSM

Érico Marlon de Moraes Flores – UFSM

Santa Maria, 02 de setembro 2005

Dedico o presente trabalho aos meus pais, Terezinha (*in memoriam*) e Alberto, aos meus irmãos, Fabiane, Fábio, Leandro e Juliana, e à minha esposa, Edinete, pelo carinho, incentivo, confiança e compreensão.

“O Senhor é o meu pastor e nada me faltará... Ainda que eu ande pelo vale da sombra e da morte não temerei mal nenhum porque tu estás comigo; o teu bordão e o teu cajado me consolam.”

Salmos 23:1 e 4.

"O coração do homem traça seu caminho, mas o senhor lhe dirige os passos"

Provérbio de Salomão 16:9.

AGRADECIMENTOS

Ao Programa de Pós Graduação em Química da Universidade Federal de Santa Maria pela possibilidade de execução do presente trabalho.

Ao Prof. Dr. **Valderi L. Dressler**, pela confiança e oportunidade de realização deste trabalho, pelo apoio e orientação durante a execução do mesmo. Pelo companheirismo e amizade em todos os momentos, em especial num momento de extrema dificuldade para mim, meus sinceros agradecimentos.

Ao Prof. Dr. **Érico M. M. Flores**, pelo apoio e contribuição durante a execução deste trabalho, pelas valiosas sugestões feitas para o aprimoramento deste trabalho. Pelo companheirismo e amizade num momento de extrema dificuldade para mim, meus sinceros agradecimentos.

A Prof^a. Dra. **Martha B. Adaime**, pelo aceite e participação como banca examinadora e pelas valiosas sugestões feitas para o aprimoramento deste trabalho.

Ao Prof. Dr. **José N. G. Paniz**, por suas sugestões e contribuições como banca de qualificação e pelo companheirismo e amizade.

Aos professores e colegas do Setor de Química Industrial e Ambiental, o meu muito obrigado pelo companheirismo e amizade em todos os momentos. Agradeço especialmente à Eliane P. Santos e Márcia F. Mesko por sua colaboração direta no desenvolvimento deste trabalho e a todos que indiretamente contribuíram para o mesmo.

SUMÁRIO

LISTA DE TABELAS	<i>ix</i>
LISTA DE FIGURAS	<i>x</i>
LISTA DE ABREVIATURAS	<i>xii</i>
RESUMO	<i>xiii</i>
ABSTRACT	<i>xv</i>
1. INTRODUÇÃO	<i>1</i>
2. REVISÃO DA LITERATURA	<i>4</i>
2.1. Cádmio.....	<i>5</i>
2.2. Manganês.....	<i>6</i>
2.3. Aditivos Alimentares à base de fosfato.....	<i>6</i>
2.4. Espectrometria de absorção atômica com chama.....	<i>8</i>
2.5. Pré-concentração (extração em fase sólida).....	<i>9</i>
2.6. Resinas quelantes.....	<i>13</i>
2.7. 8-Hidroxiquinolina.....	<i>16</i>
2.8. Análise por injeção em fluxo.....	<i>18</i>

3. PROPOSTA DO TRABALHO	20
4. MATERIAIS E MÉTODOS	21
4.1. INSTRUMENTAÇÃO	21
4.2. SISTEMA FI-SPE.....	22
4.3. REAGENTES.....	24
4.4. ADEQUAÇÃO DOS PARÂMETROS DE PRÉ-CONCENTRAÇÃO.....	24
4.4.1. Influência do pH da solução da amostra na retenção de Cd e Mn na coluna.....	25
4.4.2. Vazão da solução da amostra.....	25
4.4.3. Volume da amostra.....	25
4.4.4. Escolha do ácido e da concentração do ácido usado como eluente.....	25
4.4.5. Vazão do eluente.....	26
4.5. CÁLCULO DO FATOR DE AUMENTO DO SISTEMA FI-SPE.....	26
4.6. DETERMINAÇÃO DE Cd E Mn EM ADITIVOS ALIMENTARES À BASE DE FOSFATO.....	26
5. APRESENTAÇÃO E DISCUSSÃO DOS RESULTADOS	28
5.1. ADEQUAÇÃO DO SISTEMA FI-SPE-FAAS.....	29
5.1.1. Influência do pH da solução da amostra na retenção de Cd e Mn na coluna.....	29
5.1.2. Vazão da solução da amostra.....	30
5.1.3. Volume da amostra.....	31

5.1.4. Escolha do ácido e da concentração do ácido usado como eluente.....	32
5.1.5. Vazão do eluente.....	35
5.2. CARACTERÍSTICAS DO SISTEMA FI-SPE-FAAS	36
5.2.1. Resultados da determinação de Cd e Mn em aditivo alimentar à base de fosfato.....	38
6. CONCLUSÃO.....	41
7. SUGESTÕES PARA TRABALHOS FUTUROS.....	42
8. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS	43

LISTA DE TABELAS

Tabela 1.	Seqüência de operação do sistema de FI-SPE-FAAS empregado para determinação de Cd e Mn em aditivos alimentares à base de fosfato.....	36
Tabela 2.	Características do sistema FI-SPE-FAAS proposto para a determinação de Cd e Mn em aditivos alimentares à base de fosfato.....	37
Tabela 3.	Testes de recuperação de Cd e Mn em aditivo alimentar à base de fosfato.....	39
Tabela 4.	Resultados da determinação de Cd e Mn em aditivos alimentares à base de fosfato empregando o sistema FI-SPE-FAAS e por ICP OES (após serem processadas pelo sistema FI-SPE). Os valores são a média e o desvio padrão de 5 medidas consecutivas da amostra.....	40

LISTA DE FIGURAS

Figura 1.	Estrutura do ácido tripolifosfórico.....	7
Figura 2.	Esquema mostrando as etapas envolvidas na SPE. (1) lavagem/condicionamento do sorvente; (2) percolação da solução amostra através do sorvente; (3) lavagem do sorvente ; (4) eluição do analito.....	12
Figura 3.	Formação do complexo entre a 8-hidroxiquinolina.....	16
Figura 4.	Estrutura da 8- hidroxiquinolina em meio ácido.....	17
Figura 5.	Estrutura da 8-hidroxiquinolina imobilizada em vidro com porosidade controlada.....	17
Figura 6.	Sistema FI-SPE empregado para determinação de Cd e Mn por FAAS. P= bomba peristáltica; V ₁ ,...,V ₆ = válvulas solenóides; R= retorno; W= descarte; MC= micro-coluna com CPG-8HQ; (X)= ponto de confluência da solução tampão e amostra.....	23
Figura 7.	Influência do pH da solução da amostra na retenção de Cd e Mn. Vazão da solução tampão = 2,2 mL min ⁻¹ ; vazão da solução de Cd a 2 µg L ⁻¹ e Mn a 6 µg L ⁻¹ = 4,4 mL min ⁻¹ ; vazão de HNO ₃ 1 mol L ⁻¹ = 4,7 mL min ⁻¹	30
Figura 8.	Influência da vazão da solução da amostra sobre a intensidade dos sinais do Cd e Mn. Soluções analíticas de 2 µg L ⁻¹ de Cd e 6 µg L ⁻¹ de Mn; vazão da solução tampão = 2,2 mL min ⁻¹ ; vazão de HNO ₃ 1 mol L ⁻¹ = 4,7 mL min ⁻¹	31

- Figura 9.** Capacidade de troca da coluna para Cd e Mn. Vazão da solução de Cd a $2 \mu\text{g L}^{-1}$ e Mn a $6 \mu\text{g L}^{-1}$ = $4,4 \text{ mL min}^{-1}$; vazão da solução tampão = $2,2 \text{ mL min}^{-1}$; vazão de HNO_3 1 mol L^{-1} = $4,7 \text{ mL min}^{-1}$ 32
- Figura 10.** Influência do ácido e da concentração do ácido usado como eluente da Vazão da solução de Cd a $2 \mu\text{g L}^{-1}$ e Mn $6 \mu\text{g L}^{-1}$ = $4,4 \text{ mL min}^{-1}$; vazão da solução tampão = $2,2 \text{ mL min}^{-1}$; vazão dos ácidos = $4,7 \text{ mL min}^{-1}$ 34
- Figura 11.** Influência da vazão do eluente sobre a eluição dos analitos. Vazão da solução Cd a $2 \mu\text{g L}^{-1}$ e Mn $6 \mu\text{g L}^{-1}$ = $4,4 \text{ mL min}^{-1}$; vazão da solução tampão = $2,2 \text{ mL min}^{-1}$; vazão do ácido = $4,7 \text{ mL min}^{-1}$ 35
- Figura 12.** Sistema FI-SPE empregado para a determinação de Cd e Mn por FAAS em aditivos alimentares à base de fosfato. N^{os.} entre parênteses correspondem as vazão das soluções estabelecidas (em mL min^{-1}). O significado dos outros parâmetros estão descritos na Fig. 6. 36

LISTA DE ABREVIATURAS E SÍMBOLOS

- CE, eficiência de concentração, do inglês *Concentration Efficiency*
- CPG, vidro com porosidade controlada, do inglês *Controlled Pore Glass*
- EF, fator de enriquecimento, do inglês *Enrichment Factor*
- ETAAS, espectrometria de absorção atômica com atomização eletrotérmica, do inglês *Electrothermal Atomization Atomic Absorption Spectrometry*
- FAAS, espectrometria de absorção atômica com chama, do inglês *Flame Atomic Absorption Spectrometry*
- FCC, código químico para alimentos, do inglês *Food Chemical Codex*
- FI, injeção em fluxo, do inglês *Flow Injection*
- FI-SPE-FAAS, sistema de extração em fase sólida com injeção em fluxo acoplado à espectrometria de absorção atômica com chama, do inglês *Flow Injection with Solid Phase Extraction Flame Atomic Absorption Spectrometry*
- HG AAS, espectrometria de absorção atômica com geração de hidretos, do inglês *Hydride Generation Atomic Absorption Spectrometry*
- HQ, hidroxiquinolina
- 8-HQ-CPG, 8-hidroxiquinolina imobilizada sobre vidro com porosidade controlada, do inglês *8-Hydroxyquinoline Imobized on Controlled Pore Glass*
- ICP OES, espectrometria de emissão ótica com plasma indutivamente acoplado, do inglês, *Inductively Coupled Plasma Optical Emission Spectrometry*
- ICP-MS, espectrometria de massa com plasma indutivamente acoplado, do inglês, *Inductively Coupled Plasma Mass Spectrometry*
- LD, limite de detecção
- LLE, extração líquido-líquido, do inglês, *Liquid-Liquid Extraction*
- LQ, limite de quantificação
- PTFE, politetrafluoretileno
- RSD, desvio padrão relativo, do inglês, *Relative Standard Deviation*
- SPE, extração em fase sólida, do inglês *Solid Phase Extraction*
- U.S. EPA, Agência de Proteção Ambiental dos Estados Unidos, do inglês *United States Environmental Protection Agency*

RESUMO

O Cd é um elemento não essencial ao metabolismo humano sendo tóxico mesmo em baixas concentrações, enquanto que o Mn é um elemento essencial em determinada faixa de concentração. Sendo assim, é de grande importância o desenvolvimento de métodos confiáveis para a determinação destes elementos em alimentos e aditivos para alimentos destinados à nutrição humana. A presença destes elementos químicos como contaminantes em aditivos alimentares à base de fosfato (em especial os tripolifosfatos) é comum, sendo dependente da origem do fosfato. Entretanto, fortes interferências são observadas na determinação de Cd e Mn na presença do fosfato por diversas técnicas baseadas na espectrometria atômica.

Dentre as técnicas analíticas disponíveis para a determinação de Cd e Mn, a espectrometria de absorção atômica com chama (FAAS) é amplamente usada, principalmente devido a características como disponibilidade, custo relativamente baixo, simplicidade, processamento rápido da amostra, robustez, precisão e exatidão. Porém, a baixa sensibilidade e alguns problemas de interferência são os principais fatores que limitam o uso da FAAS para a determinação destes elementos em baixas concentrações, sendo necessárias etapas de pré-concentração do analito. Assim sendo, neste trabalho foi desenvolvido um sistema de injeção em fluxo (FI) para pré-concentração, baseado na extração em fase sólida (SPE), de Cd e Mn em aditivos alimentares à base de fosfatos destinados para o consumo humano, uma vez que a concentração destes elementos é relativamente baixa e, principalmente, devido a forte interferência de matriz na determinação direta destes elementos. A detecção foi realizada por FAAS. Para a pré-concentração e determinação de Cd e Mn com o sistema FI-SPE-FAAS foi empregada uma pequena coluna preenchida com cerca de 30 mg

de 8-hidroxiquinolina imobilizada sobre vidro com porosidade controlada (CPG-8-HQ).

Para o estabelecimento do método proposto, parâmetros como pH da solução da amostra, vazão da solução da amostra, tempo de pré-concentração e vazão, volume e concentração do eluente, foram avaliados. Nas condições estabelecidas para o sistema FI-SPE-FAAS foi possível obter limites de detecção e de quantificação de $7,6 \text{ ng g}^{-1}$ e de 25 ng g^{-1} para o Cd e 76 ng g^{-1} e de 255 ng g^{-1} para o Mn. O fator de aumento foi de 17 e 21 para Cd e Mn, respectivamente, quando são processados 5 mL de solução. A frequência de processamento foi de 24 medições por hora. Mesmo empregando um processo de separação da matriz, para a determinação de ambos os elementos, foi necessário fazer a calibração do instrumento por adição de analito. Desta forma os resultados obtidos evidenciam que o método proposto é eficaz para a determinação de Cd e Mn em aditivos de alimentos à base de fosfatos, os quais são fortes interferentes em FAAS.

ABSTRACT

Cadmium is a toxic element even at low concentration and is not essential for human metabolism, while Mn is essential and not toxic at low concentration. For that reason, it is important to have sensitive and accurate methods for determining these elements, mainly in feeds and foodstuffs used in human nutrition. These elements may usually be found as contaminants in phosphate-base-chemicals (mainly in Tripoli phosphates), whose Cd and Mn concentrations depend on the source where the chemical is from. However, serious matrix interference is found in the determination of Cd and Mn by means of atomic spectrometry techniques.

Several techniques are nowadays available for the determination of Mn and Cd, including flame atomic absorption spectrometry (FAAS), which is widespread used and usually available in laboratories, due to its relative low cost, simplicity, good sample throughput, robustness, precision and accuracy. Nevertheless, in some cases sensitivity and matrix interference may hinder FAAS employment for the determination of trace elements like Mn and Cd, being matrix separation/analyte pre concentration mandatory. Due to these facts, in this work a flow injection system (FI) coupled with solid phase extraction (SPE) was developed for Cd and Mn pre concentration/phosphate-base- matrix separation and analyte detection by means of FAAS. In order to carry out Mn and Cd pre concentration and detection with the developed FI-SPE-FAAS system a small column filled with *circa* 30 mg of 8-hydroxyquinoline immobilized on controlled pore glass (CPG-8-HQ) was used.

Parameters like sample solution pH, solution flow rate, time of analyte pre concentration, sample volume and eluate concentration were evaluated for method development. Using the selected conditions for the FI-SPE-FAAS system operation it was possible to achieve detection limits of 7,6 ng g⁻¹ Cd and 76 ng g⁻¹ Mn, respectively, while the quantification limits were 25 ng g⁻¹ Cd and 255 ng g⁻¹ Mn.

Mn, respectively. The enhancing factor was 17 for Cd and 21 for Mn when 5 mL of sample solution was processed, while the sample throughput was 24 h⁻¹. Even doing matrix separation, the use of standard addition calibration was necessary for accurate determination of both elements. It was concluded that the proposed method could be used for the determination of Cd and Mn in phosphate-base-foodstuff used in human nutrition, which matrix interference is severe in FAAS.

1. INTRODUÇÃO

Ao longo do desenvolvimento da ciência e tecnologia, houve um crescente aumento do uso dos elementos químicos, principalmente metais, para diferentes propósitos científicos e industriais, além do que, elementos de uso pouco comum há alguns anos, atualmente estão sendo cada vez mais empregados. Conseqüentemente, a tendência é o aumento da concentração destes elementos nos mais variados meios estando, inevitavelmente, presentes no cotidiano.¹ É conhecido que alguns metais não são essenciais ao metabolismo humano, sendo que muitos podem ser tóxicos mesmo em baixas concentrações, enquanto que outros são considerados essenciais em determinadas faixas de concentração. Desta maneira, é cada vez maior a preocupação em conhecer a concentração exata de muitos elementos em diferentes materiais, principalmente aqueles que afetam diretamente a saúde dos seres vivos, tais como alimentos e água. Assim, a determinação de metais reconhecidamente tóxicos ao metabolismo biológico tem recebido atenção particular,¹ de forma que órgãos regulamentadores nacionais e internacionais que tratam da qualidade dos alimentos estão diminuindo cada vez mais os níveis de concentração máximos permitidos de metais tóxicos em alimentos humanos.

Para quantificar e avaliar os efeitos destes metais em diversos tipos de amostras são necessários métodos e técnicas sensíveis, precisos e exatos pois, geralmente, a concentração deles é muito baixa nas amostras a serem analisadas.² Várias técnicas, incluindo a espectrometria de absorção atômica com chama (FAAS)³, a espectrometria de absorção atômica com atomização eletrotérmica (ETAAS)⁴, a espectrometria de emissão ótica com plasma indutivamente acoplado (ICP OES)⁵, a espectrometria de massa com plasma indutivamente acoplado (ICP-MS)² e a análise por ativação neutrônica (NAA)⁶,

possuem estas características e tem sido extensivamente usadas nos últimos anos para a determinação de elementos traços (concentrações na ordem de $\mu\text{g g}^{-1}$ a ng g^{-1}) em diferentes amostras. Entretanto, o uso de algumas destas técnicas, principalmente as mais sensíveis (como a ICP OES, ICP-MS e ETAAS), devido ao custo relativamente elevado, são muitas vezes inviáveis para muitos laboratórios. Além do que, dependendo da complexidade da matriz da amostra, estas técnicas são susceptíveis a problemas de interferências químicas, físicas e mesmo espectrais.⁷ Por outro lado, a FAAS, apesar da robustez em relação a problemas de interferências e ser de custo relativamente mais baixo, possui baixa sensibilidade, tornando-a limitada para determinar baixas concentrações.³ Porém, parte desta limitação pode ser contornada pré-concentrando o analito antes da sua medição, podendo-se desta forma melhorar o limite de detecção (LD) em uma ou mais ordens de grandeza. Além disso, quando a amostra é submetida a um processo de pré-concentração do analito, geralmente grande parte da matriz é eliminada, a qual pode causar interferências.⁷ Por isto vários métodos têm sido propostos e usados para pré-concentração de elementos traço de acordo com a natureza da amostra, a concentração do analito e a técnica empregada para a quantificação.⁸ Entre os vários procedimentos de pré-concentração, a extração em fase sólida (SPE) é um dos mais efetivos por causa da sua simplicidade, rapidez de processamento da amostra, eficiência de separação do analito além da possibilidade de se obter altos fatores de enriquecimento do analito.⁸

Tendo-se em vista o que foi exposto, neste trabalho foi desenvolvido um método para a determinação de Cd e Mn em aditivos alimentares à base de fosfatos por FAAS, após a pré-concentração dos elementos, isto porque a determinação direta destes elementos nestes casos (em especial dos tripolifosfatos) é dificultada devido a problemas de interferência resultantes de interações entre eles e os íons fosfatos.^{9,10} Para tal, foi desenvolvido um sistema de injeção em fluxo (FI), sendo que a pré-concentração de Cd e Mn foi implementada empregando uma coluna contendo 8-hidroxiquinolina imobilizada sobre vidro com porosidade controlada (CPG-8-HQ). Estes elementos foram escolhidos em função do Cd ser um elemento tóxico aos seres humanos, enquanto que o Mn é considerado um elemento essencial ao metabolismo humano, mas que acima de determinada concentração torna-se prejudicial. Isto

torna necessário o controle destes elementos em materiais destinados ao consumo humano, como é o caso de aditivos alimentares à base de fosfato.

2. REVISÃO DA LITERATURA

Este capítulo trata de três assuntos pertinentes ao trabalho. Na primeira parte são descritas algumas características toxicológicas do cádmio e manganês, bem como sua presença em aditivos alimentares à base de fosfatos. A segunda parte trata dos procedimentos de pré-concentração e determinação dos elementos em estudo, dando ênfase à extração em fase sólida e espectrometria de absorção atômica com chama. Na terceira parte desta revisão são abordadas as características de sistemas de análise em fluxo.

2.1. Cádmio

O cádmio é considerado um elemento tóxico para o ser humano.¹¹ Embora presente naturalmente a níveis muito baixos em matrizes biológicas e ambientais relacionadas com a vida humana, sua forte tendência em acumular no organismo faz dele um dos metais mais perigosos para os seres humanos.¹² As principais vias de entrada do cádmio no organismo humano ocorrem através da ingestão de alimentos (via gastrointestinal) e pela respiração (via respiratória), sendo que os alimentos, a água e o ar contaminados são as principais fontes de exposição a este metal.¹³ Ele é conhecido por causar danos a órgãos tais como os rins, fígado e pulmões e pode interferir com o sistema que regula o equilíbrio de cálcio e fosfato no organismo.¹ Quando danos renais começam a ocorrer, a excreção de Cd pode subir notadamente, onde a sua presença em níveis superiores aos considerados normais na urina reflete uma exposição por um longo período.¹

A *Environmental Protection Agency of United States* (U.S. EPA) recomenda tolerância máxima diária de Cd que entra no organismo humano via gastrointestinal de $10 \mu\text{g kg}^{-1}$ de massa corpórea.¹⁴

Devido à baixa concentração do Cd na maioria dos materiais biológicos e ambientais, cujas matrizes geralmente são complexas, uma etapa de pré-concentração do elemento previamente à sua medição é frequentemente necessária.¹⁵

2.2. Manganês

O manganês é um elemento essencial à nutrição tanto de animais quanto do ser humano. Ele serve como uma parte funcional para muitas enzimas. A deficiência em Mn em muitos animais, apesar de rara, pode levar a doenças, tais como, dificuldade de crescimento, anomalias esqueléticas e problemas na função reprodutiva.¹ Ao contrário, a exposição excessiva ao manganês produz disfunções neurológicas, principalmente no sistema nervoso central.^{1,16} Sintomas decorrentes do acúmulo excessivo de Mn no organismo são similares aos observados em pacientes com a doença de Parkinson, ou seja, apresentam desequilíbrio no andar, tremores, inflexibilidade e movimento lento.^{1,17}

De forma semelhante ao Cd, o Mn entra no organismo humano, principalmente, pela via gastrointestinal e respiratória. Para o manganês, a U.S. EPA recomenda que a dose apropriada diária ingerida via alimentação seja de 10 mg kg⁻¹ de massa corpórea.¹⁸

2.3. Aditivos alimentares à base de fosfato

Os aditivos alimentares à base de fosfato atuam, quando adicionados a determinados alimentos, como agentes dispersantes. São muito empregados na indústria de produtos processados (conservas em geral), defumados, congelados de carne, frango, peixes, frutos do mar, em vegetais enlatados e produtos de ovos. Sua função é prevenir a perda de líquido da proteína durante o processamento desses produtos, através do aumento do pH e da força iônica em torno das proteínas, permitindo que a proteína se “desenrole” expondo-a mais, o que aumenta sua capacidade de absorção de água.^{19,20}

Na grande maioria dos aditivos alimentares à base de fosfato, os fosfatos mais comumente empregados são os tripolifosfatos, sendo que em alguns casos podem também estar presentes os pirofosfatos. Os tripolifosfatos são sais aniônicos contendo fósforo pentavalente de cadeia normal, que se formam pela condensação de grupamentos PO₄³⁻, com perda de duas moléculas de água.^{19,21} A Fig. 1 apresenta a estrutura do ácido tripolifosfórico .

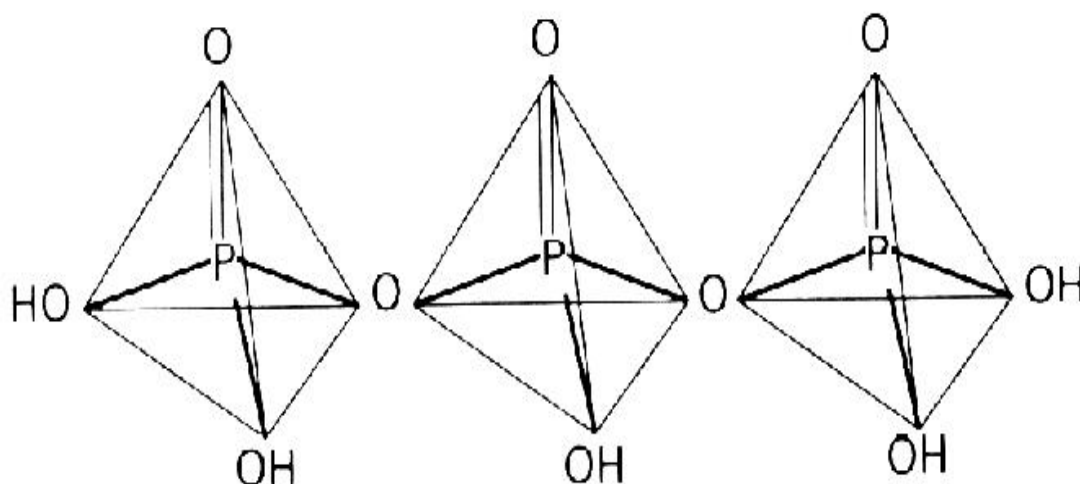


Figura 1. Estrutura do ácido tripolifosfórico.²¹

Para ser considerado próprio para o uso na indústria de alimentos, os tripolifosfatos devem atender aos padrões especificados no código químico para alimento (FCC, 4ª edição), universalmente aceito e exigido pelos órgãos e agências controladoras de saúde pública, servindo como referência para produtos químicos utilizados no processamento de produtos destinados ao consumo humano. Dentre os parâmetros exigidos pela FCC, a quantidade máxima de metais pesados não deve exceder a $10 \mu\text{g g}^{-1}$.¹⁹

A presença de metais em fosfatos tem sido mostrada em alguns estudos.^{19,22-24} Os íons metálicos interagem com os oxigênios dos grupos hidroxila da estrutura dos tripolifosfatos, uma interação que é favorecida para íons de tamanho e carga menor.¹⁹ Devido a esta interação, que é bastante efetiva para Cd e Mn, alguns trabalhos tem usado os fosfatos para estabilizarem estes metais.^{22,23,24,25} Porém, para a determinação destes metais à concentrações muito baixas (na ordem de $\mu\text{g g}^{-1}$), conforme exigido pela FCC, além do próprio fosfato, esta interação entre eles tem sido uma interferência em muitas técnicas de análise.^{22,23}

2.4. Espectrometria de absorção atômica com chama

A FAAS é amplamente usada para determinações de diversos metais em nível de traços, sendo que a disponibilidade e o custo do instrumento, a simplicidade e a rapidez no processamento da análise, a precisão e a exatidão da técnica são os principais aspectos que a tornaram tão atrativa. Entretanto, um dos principais pontos negativos da técnica está relacionado à sua relativa baixa sensibilidade, tornando a sua aplicação um pouco restrita quando se trata da determinação de elementos traço (em nível de $\mu\text{g g}^{-1}$ ou menos). Neste sentido, quando da necessidade da determinação de elementos em concentrações abaixo do limite de detecção da FAAS, é necessária uma etapa de pré-concentração do analito através do emprego de uma técnica adequada. Além disso, no caso da análise de amostras com matrizes muito complexas, principalmente àquelas com elevado teor de sais, podem vir a ocorrer problemas de interferência na determinação do analito. Neste caso, além da pré-concentração, é necessária uma etapa para a separação do analito da matriz interferente. Conforme relatado anteriormente, o Cd e o Mn, apesar de serem muito sensíveis na FAAS, as suas concentrações são geralmente muito baixas em aditivos alimentares, bem como há a possibilidade de haver interferências na determinação, o que faz com que seja necessário que seja feita uma pré-concentração prévia à medição.²⁶

A FAAS é uma técnica relativamente livre de interferências espectrais, porém é sujeita à problemas de interferências físicas e químicas. Estas interferências afetam diretamente a resposta do instrumento e, portanto, levam à obtenção de resultados inexatos. A interferência química é decorrente da formação de compostos que alteram a taxa de atomização do elemento a ser medido. Ou seja, há uma alteração do número de átomos livres formados por unidade de volume ou tempo quando a solução da amostra e solução de calibração do instrumento são comparados sob as mesmas condições (tipo de chama, vazão de aspiração da solução, zona de observação dos átomos na chama etc.). Este tipo de interferência é devido às combinações químicas ocorridas entre o analito e algum componente da amostra, o que pode levar ao aumento ou diminuição do sinal do analito. As duas causas principais da interferência química são resultantes da conversão não quantitativa dos átomos da solução amostra (por exemplo, sob determinadas condições, pode formar um

composto pouco solúvel ou pouco volátil ou ocorrer à formação de moléculas não dissociadas), ou os átomos livres reagem espontaneamente com outros átomos ou radicais no ambiente da chama para formar novas moléculas ou radicais e, assim, não ficando disponíveis para absorver a energia da fonte de radiação. Para contornar este tipo de interferência a calibração do instrumento deveria de ser feita com soluções com a mesma característica da solução da amostra. Como esta situação raramente é possível de ser realizada na prática, quando notadamente mudanças na composição da amostra ou efeitos de uma matriz são evidentes, a técnica de adição de analito é recomendada, visto que, a calibração do instrumento é feita na presença da matriz da amostra.²⁷ A minimização de problemas de interferências químicas pode, também ser alcançada através da adição de determinadas substâncias as quais podem inibir reações indesejadas na chama e permitir que o analito permaneça na forma livre.²⁸

Com o intuito de melhorar a sensibilidade e minimizar problemas de interferência decorrentes da amostra, garantindo assim uma boa precisão e exatidão nos resultados obtidos por FAAS, atualmente a melhor opção é pré-concentrar e separar o analito da matriz da amostra antes de ser introduzida no espectrômetro (ou instrumento) para ser medido. Desta forma, consegue-se, ao mesmo tempo, aumentar a concentração do analito na solução que vai ser introduzida no instrumento e eliminar os interferentes presentes na solução amostra.²⁹

2.5. Pré-concentração do analito

A pré-concentração (que geralmente é acompanhada da separação do analito da matriz) do analito pode auxiliar a contornar uma série de problemas de interferências na FAAS, bem como em outras técnicas analíticas. Assim, empregando-se um procedimento de pré-concentração pode-se melhorar o limite de detecção (LD) da técnica de medição, remover constituintes interferentes da solução da amostra e melhorar a precisão e, principalmente, a exatidão. Neste sentido, nos últimos anos, tem-se observado um aumento do número de trabalhos desenvolvidos empregando algum método de pré-concentração e/ou separação, envolvendo precipitação, co-precipitação, extração líquido-líquido (LLE) e extração em fase sólida (SPE).³⁰ Entre estes, os métodos clássicos de extração

líquido-líquido, precipitação e co-precipitação são caracterizados por serem morosos, relativamente difíceis de serem executados e requerer volumes relativamente grandes de solventes de alta pureza (o que é uma preocupação adicional, uma vez que o custo destes, geralmente, é alto e mesmo o seu descarte requer cuidado).³¹ Em decorrência disto, a extração em fase sólida tem-se tornado muito atrativa em comparação com os métodos tradicionais de extração líquido-líquido, precipitação e co-precipitação, por causa de vantagens, tais como: i) simples para operar; ii) alto fator de enriquecimento do analito; iii) rápida separação de fase; e iv) facilidade de combinação com várias técnicas de detecção.²

O princípio da SPE é similar ao da LLE, ou seja, envolve a partição do soluto entre duas fases, entretanto, em vez de duas fases líquidas imiscíveis como na LLE, a SPE envolve a partição entre a amostra (que pode ser líquida ou gasosa) e uma fase sólida (sorvente).³¹ A concentração e separação do analito da solução são conseguidas pela sorção do mesmo no sorvente sólido. Posteriormente, o analito é removido do sorvente, o que normalmente é feito através de eluição com um solvente apropriado.

Um método SPE normalmente envolve três ou quatro etapas sucessivas, as quais são apresentadas pela Fig. 2. As etapas e as funções que envolvem a SPE são as seguintes:

- *Condicionamento do sorvente.* O sorvente sólido pode ser condicionado usando um solvente apropriado, seguido por um solvente igual ao solvente da amostra. Este passo é de fundamental importância, pois possibilita molhar o material empacotado, o que provoca a solvatação dos grupos funcionais e ainda remove as possíveis impurezas inicialmente contidas no sorvente na coluna. A natureza do solvente condicionante depende da natureza do sorvente sólido (por exemplo, para sorvente de fase reversa, tal como a sílica recoberta com grupos C₁₈, o metanol é freqüentemente usado). O condicionamento do sorvente sólido deve ser feito um pouco antes do pré-tratamento da amostra, evitando que ele esteja seco no momento da aplicação da solução da amostra, caso contrário a interação do analito com o sólido não será eficiente, prejudicando a sua recuperação.³¹

- *Percolação/carregamento da amostra.* É a passagem da amostra pelo sorvente sólido. A amostra pode ser aplicada na coluna por gravidade, bombeamento forçado ou aspirada por vácuo. Dependendo do sistema usado, o volume de amostra processado na coluna pode ser de 1 a 1000 mL. O fluxo da solução amostra pelo sorvente deve ser apropriado, de forma a permitir uma interação suficiente do analito com o sorvente (o que resulta numa melhor eficiência de extração) e de não tornar o procedimento muito lento.³¹
- *Lavagem do sorvente após a percolação da amostra.* Este passo é opcional e depende da matriz da amostra. Tem por objetivo remover a solução residual da amostra que ficou nos interstícios da coluna. O solvente a ser usado para esta função deve remover somente a matriz da amostra, deixando somente o analito retido no sorvente, eliminando assim ao máximo os interferentes.³¹
- *Eluição.* Esta etapa consiste na remoção (eluição) do analito de interesse do material sorvente por um solvente apropriado. O volume do solvente deve ser ajustado para que a recuperação do analito seja quantitativa e de forma a diluir o mínimo possível o analito. Para isto, a vazão do eluente deve ser ajustada para garantir uma eluição eficiente (a interação do solvente com o analito deve ser a mais efetiva possível).³¹

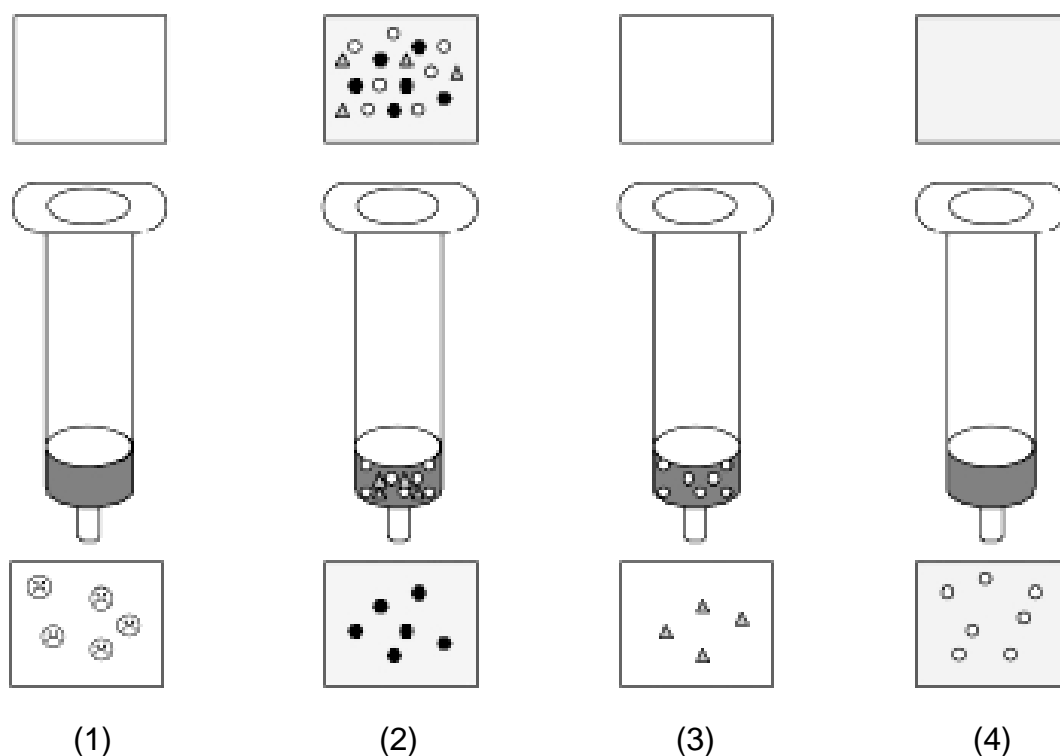


Figura 2. Esquema mostrando as etapas envolvidas na SPE. (1) lavagem/condicionamento do sorvente; (2) percolação da solução amostra através do sorvente; (3) lavagem do sorvente (opcional); (4) eluição do analito.³¹

O procedimento de pré-concentração por SPE é relativamente simples e consiste em fazer passar a amostra através do sorvente, o qual pode estar na forma de uma pequena coluna, cartucho, tubo ou um disco.³¹

De maneira geral, um processo de pré-concentração de elementos traço pode ser implementado de forma em batelada ou em linha (*on-line*). No caso da SPE envolvendo a determinação de elementos traço, grande parte dos métodos encontrados na literatura é baseada no uso de micro-colunas, sendo estas de diversos tamanhos e formatos diferentes (dependendo do material sorvente, as colunas podem variar de alguns milímetros a cerca de 10 cm de comprimento e com diâmetro interno normalmente inferior a 5 mm; o formato geralmente é cilíndrico ou cônico). Com o uso micro-colunas em sistemas em fluxo (FI) e acopladas *on-line* a FAAS e ICP OES é possível obter fatores de aumento do analito da ordem de 10 a 100 vezes e com uma frequência de amostragem de 10 a 60 medições por hora.³² Assim, amostras com baixas concentrações do analito

podem ser pré-concentradas numa coluna de maneira simples e efetiva, desde que a capacidade total da coluna não seja excedida.³³ Também, com o uso da SPE é possível executar vários ciclos de pré-concentração, sendo necessário o cuidado de remover todo o analito após o processamento da amostra, para evitar contaminação cruzada, e avaliar freqüentemente o desempenho da coluna, uma vez que com o uso podem ocorrer alterações na capacidade de troca do material sorvente.³¹

Muitos materiais foram desenvolvidos para o uso de SPE, principalmente para pré-concentrar elementos traço, sendo que entre os materiais mais comuns podem-se ser citadas as resinas quelantes,³⁴ Chelex-100,³⁵ Muromac A-1,³⁶ Chelite-C,³⁷ Toypear AF-Chelate,³⁸ CPG-8-HQ,³⁹ sílica gel e superfícies poliméricas,⁴⁰ resinas de troca iônica (por exemplo, a Amberlite[®]) modificadas com agentes complexantes, alumina ativada, entre outros.⁴¹ Métodos alternativos têm envolvido pré-concentração dos analitos na forma de complexo e então concentrado em Amberlite⁴² ou em um disco de resina quelante.⁴³

O mecanismo de retenção dos elementos no sorvente sólido para pré-concentração depende da natureza do sorvente, e incluem adsorção simples, quelação, troca iônica e par iônico.³¹ Neste trabalho foi usado um sorvente sólido modificado quimicamente com um agente quelante (a CPG-8-HQ). Por isso, serão apresentadas algumas das principais características deste grupo de sorventes.

2.6. Resinas quelantes

Resinas quelantes são comumente usadas para pré-concentração de íons metálicos em soluções aquosas.⁴⁴ É importante que estas resinas sejam seletivas frente aos outros constituintes da amostra, uma vez que íons como o cloreto, nitrato e fosfato também têm a capacidade de complexar com quase todos os íons metálicos. Conseqüentemente, eles podem competir pelos íons metálicos com o ligante imobilizado prejudicando o seu desempenho. Além da seletividade, as resinas complexantes devem ter uma boa capacidade de troca, de forma a permitir elevados fatores de aumento e facilitar a complexação e a eluição do analito.⁴⁵

As resinas quelantes têm recebido considerável atenção devido a grande seletividade frente a íons metálicos, o que permite seu emprego no monitoramento e determinação de metais traço em diversos tipos de amostras.⁴⁶ As propriedades de seletividade e sorção das resinas quelantes podem ser afetadas por diferentes fatores, tais como a atividade química do grupo complexante, a natureza e tipo de íon metálico, o pH da solução, a força iônica, a natureza da matriz polimérica (como a natureza hidrofílica) e a estabilidade química.⁴⁷

O uso de resinas quelantes para pré-concentração de elementos traço é bem conhecido e desenvolvido hoje em dia, principalmente no que se refere ao aumento da especificidade da resina e a técnica de aplicação. Grande parte dos grupos funcionais das resinas quelantes possuem em sua estrutura átomos, tais como o oxigênio, nitrogênio e enxofre, que são capazes de formar um complexo com o analito. Estes grupos podem ser introduzidos na resina pela transformação química da matriz polimérica ou pela síntese de sorventes com ligantes monoméricos.⁴⁸

A natureza do grupo funcional é um bom indicativo da seletividade do ligante da resina com o elemento, uma vez que a interação entre eles depende disto. Na prática, os cátions inorgânicos podem ser divididos em três grupos:

- *Grupo I - cátions duros:* reagem preferencialmente via interação eletrostática. Este grupo inclui os metais alcalinos e alcalinos terrosos.³¹
- *Grupo II - cátions intermediários:* são aqueles que têm um caráter intermediário, ou seja, a interação eletrostática é bem mais fraca do que em relação aos cátions duros. Este grupo compreende íons como o Fe^{2+} , Co^{2+} , Ni^{2+} , Cu^{2+} , Zn^{2+} , Pb^{2+} , Mn^{2+} , entre outros. Eles possuem afinidade tanto por ligantes duros quanto ligantes moles.³¹
- *Grupo III - cátions moles:* são aqueles que tendem a formar ligações covalentes com o grupo quelante. Entre estes incluem-se o Hg^{2+} , Bi^{3+} , Sb^{3+} , entre outros.³¹

Dentro desta classificação o Cd^{2+} é um cátion mais mole do que o Mn^{2+} , uma vez que seu raio iônico é maior que o do Mn^{2+} , o que evidencia uma melhor interação do Mn^{2+} com complexantes duros do que o Cd^{2+} .²¹

Em relação aos ligantes que contém O, N ou S na estrutura, o oxigênio é tido como ligante duro, o nitrogênio é um ligante intermediário e o enxofre é um ligante mole. Assim, para cátions moles, por exemplo, a ordem de afinidade de doador de elétrons é $O < N < S$, para metais alcalinos a ordem é inversa.³¹ Os elementos do grupo II são os que normalmente competem com os elementos do grupo I e do grupo III pelos seus respectivos sítios de complexação. A competição pelo sítio quelante entre os elementos do grupo I e do grupo III é desprezível.

A interação dos íons metálicos com o quelante depende de vários fatores, tais como:

- Natureza, carga e tamanho do íon metálico;
- Natureza do átomo doador presente no ligante;
- Condições de pH da solução, sendo responsável, em muitos casos, pela preferência na extração de certos metais. De qualquer forma, o ajuste do pH da solução é obrigatório, pois deixa livre o átomo doador de elétrons do quelante; e,
- Natureza do suporte sólido (matriz polimérica).³¹

Considerando a matriz da amostra, a seleção de um material para SPE para pré-concentrar e/ou separar metais é relativamente difícil. Assim, a maioria das resinas de troca iônica são pouco seletivas, sendo que a sua afinidade por metais alcalinos e alcalinos terrosos é alta, não permitindo uma efetiva separação destes elementos dos analitos de interesse, que na maioria dos casos são os elementos traço.⁸ Desta forma, materiais mais seletivos devem ser empregados nestes casos, sendo que aquelas resinas que possuem a 8-hidroxiquinolina (8-HQ) tem estas características, ou seja, a sua afinidade pelos metais alcalinos e alcalinos terrosos é baixa, enquanto que a maioria dos metais de transição e outros são retidos permitindo a pré-concentração e separação adequada.⁴⁹

2.7. 8-Hidroxiquinolina

A 8-hidroxiquinolina é um dos mais versáteis agentes complexantes orgânicos usados na análise química, sendo que vem sendo empregada em várias técnicas analíticas tais como gravimetria, titulações amperométricas, espectrofotometria e, principalmente, separações seletivas.⁵⁰ A 8-HQ possui em sua estrutura sítios responsáveis pela complexação dos íons metálicos, formando um anel quelado com o nitrogênio e o grupo fenólico (oxigênio).⁵⁰

Uma reação típica, onde “M” representa um metal reagindo com 8-HQ, é representada na Fig. 3.⁵¹

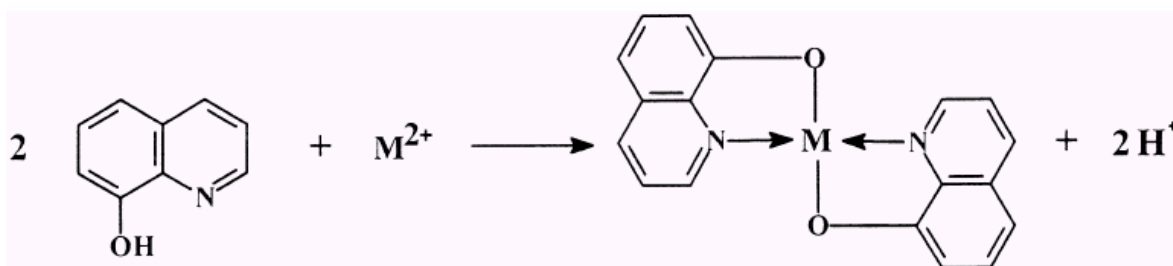


Figura 3. Formação do complexo entre a 8-Hidroxiquinolina e um metal.

A 8-hidroxiquinolina é conhecida por reagir com mais de 60 íons metálicos, formando complexos cujas constantes de formação variam de 10^4 (Ba²⁺) a 10^{38} (Fe³⁺),⁵² sendo atribuída à sua estrutura rígida em relação aos outros agentes quelantes, às altas constantes de estabilidade com os metais.⁵³ Estas constantes de estabilidade indicam também que há uma melhor capacidade de complexação do Mn²⁺ do que Cd²⁺.^{54,55}

A reação da 8-HQ com diversos metais é favorecida em meio alcalino, o que favorece a eliminação do próton do grupo fenólico, deixando o par de elétrons livres do oxigênio para formar o complexo. Em meio ácido, a 8-HQ pode estar como um íon carregado positivamente (Fig. 4), o que dificulta a formação do complexo.⁵¹

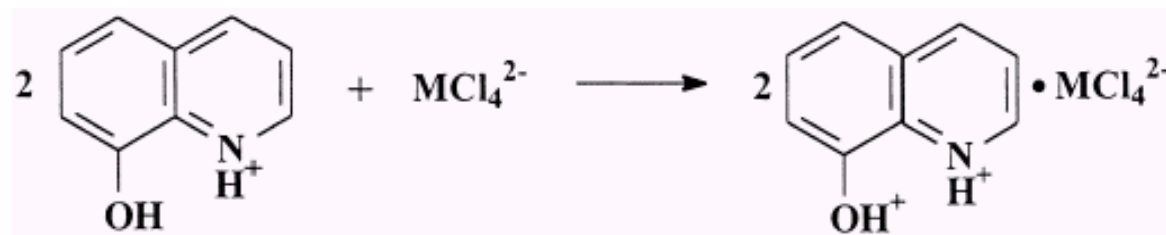


Figura 4. Estrutura da 8-Hidroxiquinolina em meio ácido. MCl_4^{2-} representa um clorocomplexo metálico.

Diversos materiais sólidos têm sido pesquisados para suportar a 8-HQ, mas, atualmente, os mais promissores são a sílica gel,⁵⁶ celulose,^{57,58} resinas e vidro com porosidade controlada.⁵⁹ O uso de sílica como suporte de agentes complexantes na pré-concentração de íons de metais traço têm sido de interesse particular, devido às vantagens da sílica em relação aos polímeros orgânicos, tais como a sua boa estabilidade térmica, mecânica e ser menos suscetível à expansão e contração de volume.⁶⁰

O vidro com porosidade controlada tem se mostrado um suporte muito eficiente para imobilização de vários ligantes. Ele apresenta as vantagens da sílica citados anteriormente, mais o fato de ter uma área superficial muito acessível para a imobilização do complexante.⁶¹ A CPG-8-HQ usada neste trabalho foi preparada segundo Sturgeon⁶², os procedimentos seqüenciais de imobilização da 8-HQ consistem na silição da sílica com um grupo aminosilano alifático (etapa mais demorada 3 a 4 horas), introdução de um grupo nitro aromático, redução do grupo ArNO_2 imobilizado para ArNH_3 imobilizado (realizada com HNO_3), formação de sal de diazônio e finalmente o acoplamento da 8-HQ. A estrutura da CPG-8-HQ está apresentada na Fig. 5.

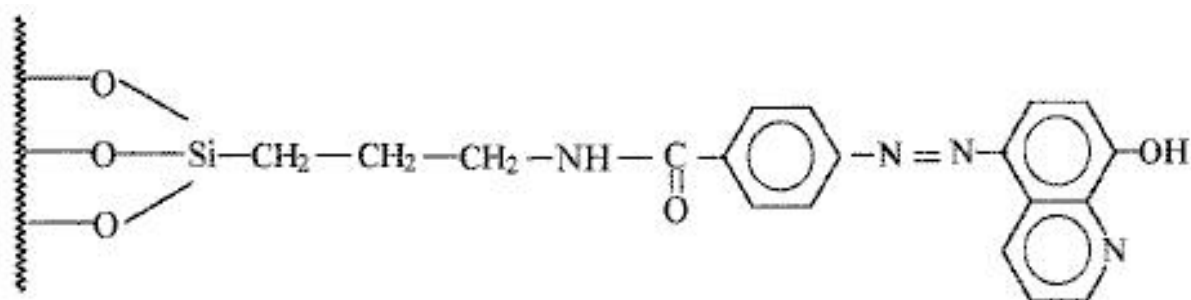


Figura 5. Estrutura da 8-hidroxiquinolina imobilizada em vidro com porosidade controlada.⁶³

2.8. Análise por injeção em fluxo

A análise por injeção em fluxo (FIA ou FI), concebida na década de 1970, consiste da introdução exata e repetitiva de volumes bem definidos da solução amostra em um sistema constituído basicamente por uma unidade de propulsão, uma unidade de transporte e/ou reação e um detector. Os sistemas FI permitem executar uma série de etapas analíticas com a amostra, tais como o transporte da solução amostra até o detector, reação, separação, pré-concentração, diluição, titulação, decomposição de amostra, entre outras.³⁴

Os sistemas FI empregados em processos de pré-concentração/separação possuem várias vantagens em comparação aos sistemas *off-line* (em batelada), tais como o rápido processamento da amostra, baixo consumo de amostra e reagentes e menor risco de contaminação ou perdas dos analitos durante a manipulação da solução da amostra.³⁴ Além disso, os sistemas FI podem ser facilmente acoplados às técnicas analíticas convencionais, tais como a FAAS, HG AAS, ICP-MS, ICP OES, entre outras,⁶⁵ sendo de fácil adaptação em relação à operação e não limitados pelo volume de amostra processada.¹²

Quando um sistema FI é empregado em processos de pré-concentração, para avaliar o seu desempenho, além dos critérios normalmente usados em outros métodos (limite de detecção, precisão e exatidão), são usados também critérios que influenciam na habilidade do sistema em pré-concentrar os elementos em estudo. Entre esses fatores estão o fator de enriquecimento (EF) e eficiência de concentração (CE).

Teoricamente, o EF é a razão entre a concentração do analito no concentrado (C_e) e a concentração do analito na amostra original (C_s).³⁴

$$EF = C_e C_s^{-1}$$

A dificuldade, neste caso, é determinar a concentração exata do analito no concentrado.³⁴ Portanto, uma aproximação do EF é usualmente aceita pela definição de EF como a razão dos coeficientes angulares das curvas de calibração antes e depois da pré-concentração, todas baseadas no mesmo tipo de resposta do detector.³⁴ A resposta é baseada no ganho ou aumento da resposta, e não no aumento real da concentração. As condições analíticas, incluindo características da resposta do detector devem permanecer inalteradas para as duas calibrações.³⁴ Algumas vezes o EF é deduzido simplesmente pela

comparação da intensidade do sinal (altura) antes e depois da pré-concentração. A desvantagem de tal comparação direta é que usualmente o sinal do analito antes da pré-concentração é muito baixo, muitas vezes impossível de ser mensurado.³⁴ Bem como, é muito difícil estabelecer as mesmas condições de medição do analito sem e com pré-concentração em linha. Assim, o aumento de sinal obtido empregando-se um processo de pré-concentração é denominado de “fator de aumento”.

Embora o EF seja indispensável para avaliação de sistemas de pré-concentração, quando usado isoladamente não provê uma informação adequada sobre sua eficiência.³⁴ Alta eficiência não está necessariamente associada a altos fatores de enriquecimento. Estes podem ser obtidos por longos períodos de pré-concentração, consumindo grandes volumes de amostra.³⁴ Por isso, o uso do parâmetro “eficiência de concentração” (CE) é mais representativo. O CE é definido como sendo o produto do EF e da frequência de medição.³⁴ Sendo, então:

$$CE = EF (f 60^{-1})$$

Onde f é a frequência de amostragem.

Determinações usando sistemas FI tiveram importante papel para automação, aceleração e miniaturização no manuseio e pré-tratamento da amostra. Tais determinações podem ser realizadas, como já apresentado anteriormente, com praticamente todos os métodos de detecção que são usados em análise química contemporânea. Esta possibilidade de automação destes sistemas tem aumentado ainda mais o seu emprego, tendo-se em vista que esta combinação tem levado a obtenção de resultados mais reprodutivos, diminuindo a intervenção humana (o que é importante quando são usados reagentes mais tóxicos) e minimizando a produção de resíduos no laboratório.⁶⁶

3. PROPOSTA DO TRABALHO

O trabalho teve como objetivo desenvolver um sistema FI-SPE acoplado a FAAS para determinar Cd e Mn em aditivos alimentares à base de fosfato. O método é baseado na complexação destes elementos com a 8-hidroxiquinolina, a qual está imobilizada sobre sílica com porosidade controlada (CPG-8-HQ). Para a pré-concentração dos analitos foi empregada uma pequena coluna, contendo aproximadamente 30 mg de CPG-8-HQ. Para implementar o método, os seguintes parâmetros foram avaliados: tempo de pré-concentração, influência do pH e vazão da solução da amostra na retenção dos íons, tipo de eluente e sua concentração e vazão na eluição. Após a adequação do sistema FI-SPE-FAAS e dos parâmetros que influenciam no seu desempenho, o método foi aplicado à determinação de Cd e Mn em aditivo alimentar e os resultados comparados com aqueles obtidos por ICP OES.

4. MATERIAIS E MÉTODOS

4.1. INSTRUMENTAÇÃO

As determinações de cádmio e manganês foram feitas em um espectrômetro de absorção atômica com chama Analytik Jena (mod. AAS Vario 6, Jena, Alemanha). Como fonte de radiação específica para Cd e Mn foram utilizadas lâmpadas de cátodo oco. O Cd foi medido a 228,8 nm, com intensidade de corrente da lâmpada de 3 mA e fenda espectral de 0,5 nm, enquanto o Mn foi medido a 279,5 nm, corrente da lâmpada de 5 mA e fenda espectral de 0,2 nm. Para ambos os elementos, a correção de fundo foi feita baseada em uma fonte de radiação contínua (lâmpada de deutério). Antes de conectar o sistema FI-SPE (descrito no item 4.2) ao nebulizador pneumático do equipamento, as condições de operação do instrumento foram otimizadas de forma a obter a melhor sensibilidade. As medições foram realizadas pela integração do sinal em área, exceto para o descrito no item 4.5.

As medições de Cd e Mn por espectrometria de emissão ótica com plasma indutivamente acoplado foram feitas em espectrômetro da PerkinElmer (mod. 4300 DV), equipado com nebulizador concêntrico (Meinhard C-3) e câmara de nebulização ciclônica. Foi empregada potência da radiofrequência de 1400 W, vazão do gás de nebulização a 0,5 L min⁻¹, vazão do gás auxiliar a 0,40 L min⁻¹, vazão do gás principal do plasma a 15 L min⁻¹, vazão da solução a 0,95 L min⁻¹ e tempo de integração por elemento na faixa de 1 a 5 s. Todas as medições foram feitas operando o instrumento na vista axial em 228,802 nm e 279,610 nm para Cd e Mn, respectivamente, sendo que as medições de Cd foram realizadas em

altura de pico e de Mn em área de pico. Para a integração do sinal de Mn foi feito usando 3 pontos por pico.

4.2. SISTEMA FI-SPE

O acoplamento entre o sistema FI-SPE e o espectrômetro de absorção atômica (apresentado na Fig. 6) é feito por meio de uma válvula solenóide (V_6) cujo capilar de saída está conectado ao capilar de aspiração do nebulizador do espectrômetro. Durante o processo de pré-concentração esta válvula fica desativada e, nesta condição um capilar ligado à válvula encontra-se inserido em um frasco com água, sendo aspirada continuamente pelo nebulizador. Isto permite que a chama seja constantemente “alimentada” com água, lavando o sistema nebulizador/câmara de nebulização durante todo o tempo e minimizando efeitos de alterações da temperatura da chama entre cada ciclo de introdução da amostra na chama. Após o ciclo de pré-concentração a válvula V_6 é acionada, permitindo assim a passagem do eluato (proveniente da coluna, onde o HNO_3 é conduzido através do acionamento das válvulas V_4 e V_5) para o espectrômetro. O sistema FI-SPE foi otimizado de maneira a se obter máxima intensidade de sinais para os analitos. Todos os parâmetros foram estudados de forma univariada, empregando-se soluções analíticas contendo $2 \mu\text{g L}^{-1}$ de Cd em HNO_3 0,2% e $6 \mu\text{g L}^{-1}$ de Mn em HNO_3 0,2%.

O sistema FI foi construído no próprio laboratório e é constituído, basicamente, por 6 válvulas solenóides de três vias (Cole Parmer – PTFE (politetrafluoretileno) - Cat. nº 01367-72) e uma bomba peristáltica de oito canais, com velocidade variável (Gilson Minipuls, França), munida com tubos de Tygon[®]. Todas as conexões foram feitas com conectores de PTFE (rosqueáveis) em forma de “T”. Para a pré-concentração foi usada uma coluna de formato cônico com cerca de 10 mm de comprimento e 3 mm e 1,5 mm de diâmetro interno nas extremidades. A coluna é preenchida com cerca de 30 mg de CPG-8-HQ. O sistema FI é gerenciado por um microcomputador com o programa escrito em Visual Basic. O “drive de potência” contendo o circuito integrado ULN10004A, é empregado para o acionamento das válvulas solenóides em tempos pré-definidos.

A sincronização entre a etapa de eluição dos analitos e o início da leitura do espectrômetro de absorção atômica é feita manualmente em tempo pré-definido.

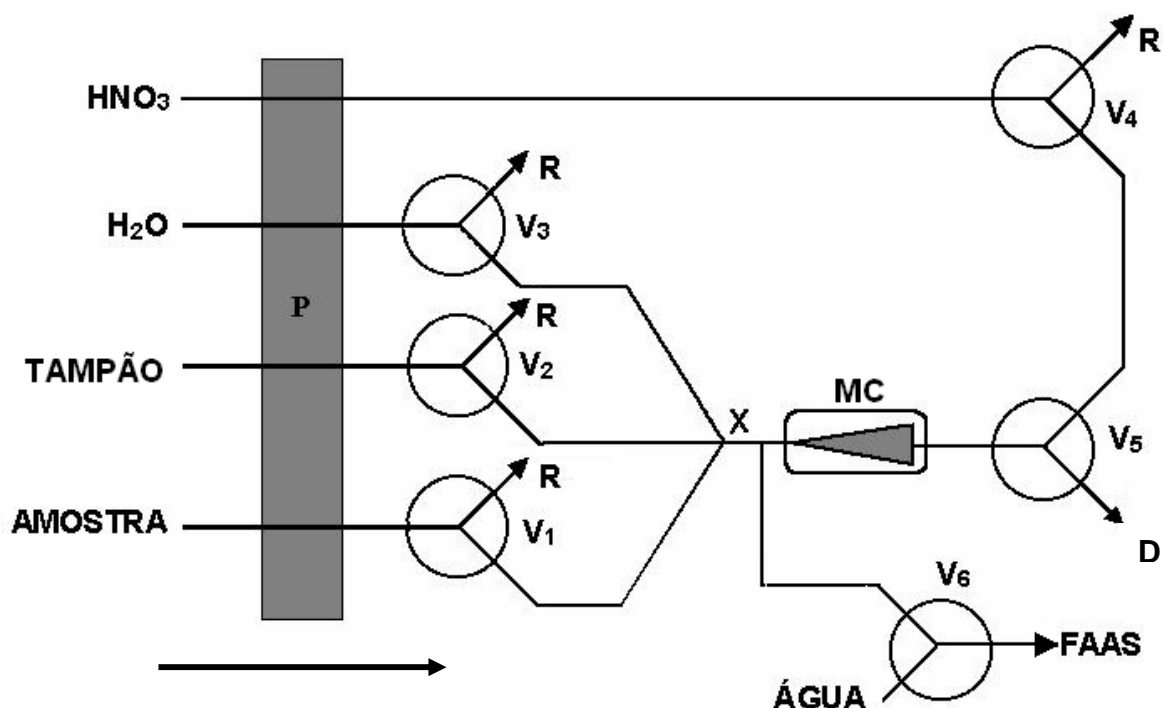


Figura 6. Sistema FI-SPE empregado para a determinação de Cd e Mn por FAAS. P = bomba peristáltica; V_1, \dots, V_6 = válvulas solenóides; R = retorno de solução; D = descarte; MC = micro-coluna com CPG-8-HQ; X = ponto de confluência da solução tampão e amostra. A seta indica o sentido do fluxo das soluções.

Um ciclo completo de pré-concentração compreende as seguintes etapas:

1. Pré-condicionamento do sistema: é feito com uma solução tampão, através do acionamento da válvula V_2 . Assim é removido o eluente que ficou do ciclo de pré-concentração anterior e condiciona a coluna.
2. Pré-concentração: além da válvula V_2 (acionada na etapa 1) a válvula V_1 é acionada, fazendo com que a amostra seja misturada com a solução tampão no ponto de confluência X e conduzida para a coluna. O efluente da coluna é descartado após a válvula V_5 , que esta desligada. No final desta etapa as válvulas V_1 e V_2 são desligadas.

3. Lavagem do sistema: para remoção da matriz da amostra que ficou no sistema após a etapa 2, a coluna e a linha do sistema são lavadas com água deionizada. Isto é feito através do acionamento da válvula V_3 .
4. Eluição: é feita com ácido nítrico através do acionamento da válvula V_4 . Nesta etapa também são acionadas as válvulas V_5 e V_6 de forma a conduzir o eluato para o nebulizador pneumático do equipamento.

4.3. REAGENTES

A água utilizada foi previamente destilada, deionizada em uma coluna trocadora de íons e purificada em um sistema Milli Q[®] (Millipore, Estados Unidos). O ácido nítrico (65%, 1,4 kg L⁻¹, Merck, Alemanha) e clorídrico (37%, 1,19 kg L⁻¹, Merck, Alemanha) foram bidestilados em sistema de sub-ebulição da Millestone (mod. duoPUR 2.01E, Itália).

A solução estoque de Cd²⁺ (1000 mg L⁻¹) foi preparada a partir de solução Titrisol[®] (CdCl₂ em HNO₃ 2% v/v, Merck, Alemanha). A solução estoque de Mn²⁺ (1000 mg L⁻¹) foi preparada a partir de solução Titrisol[®] (MnCl₂ em HNO₃ 2% v/v, Merck, Alemanha). Para preparar as soluções de calibração do espectrômetro, foram feitas diluições adequadas destas soluções estoque em HNO₃ 0,2% v/v.

As soluções tampão com pH entre 6 e 10 foram preparadas a partir de soluções de dihidrogênio fosfato de potássio (P.A., Reagen, Brasil), soluções de hidróxido de sódio (P.A., Merck), cloreto de amônio (P.A., Merck) e hidróxido de amônio (P.A., Merck).

4.4. ADEQUAÇÃO DOS PARÂMETROS DE PRÉ-CONCENTRAÇÃO

Todos os testes de otimização do sistema foram feitos de forma univariada, ou seja, quando um parâmetro foi avaliado, os outros foram mantidos fixos. Portanto, neste item só será feita menção à determinada condição, caso for alterado mais de um parâmetro no sistema.

4.4.1. Influência do pH da solução amostra na retenção de Cd e Mn na coluna

Os testes para a avaliação da influência do pH sobre a retenção dos analitos na coluna de CPG-8-HQ foram feitos empregando-se soluções tampão feitas a partir de KH_2PO_4 ($0,1 \text{ mol L}^{-1}$) e NaOH ($0,1 \text{ mol L}^{-1}$) e de NH_4Cl ($0,1 \text{ mol L}^{-1}$) e NH_4OH ($0,1 \text{ mol L}^{-1}$). Com estas soluções foi possível avaliar o pH de 6 a 10. Em todos os experimentos, o pH da solução foi medido logo após a saída da coluna, de forma a conhecer exatamente o pH da solução que foi percolada através da coluna.

4.4.2. Vazão da solução amostra

Para avaliar o efeito da vazão da solução da amostra sobre a pré-concentração de Cd e Mn o volume da amostra foi fixado em 5 mL e a vazão variada em intervalos entre 3,8 a 5,2 mL min^{-1} .

4.4.3. Volume da amostra (capacidade de troca da coluna)

A vazão da solução amostra foi mantida fixa em 4,4 mL min^{-1} e o volume processado no sistema foi aumentado de 5,0 mL até 50 mL, observando se ocorreria a saturação da coluna com o analito para soluções contendo individualmente 2 $\mu\text{g L}^{-1}$ de Cd e 6 $\mu\text{g L}^{-1}$ de Mn.

4.4.4. Escolha do ácido e da concentração do ácido usado como eluente

Para avaliar a eluição dos analitos da coluna foram usados o ácido clorídrico e o ácido nítrico e a influência da concentração destes ácidos foi avaliada variando suas concentrações de 1 mol L^{-1} a 5 mol L^{-1} .

4.4.5. Vazão do eluente

Para avaliar a influência da vazão do eluente sobre a eluição dos analitos, foi usada solução de HNO_3 a 1 mol L^{-1} , partindo-se de resultados obtidos nos testes para escolha do ácido e da concentração do ácido usado como eluente (item 4.4.4). Para isto, o volume do eluente foi fixado em 3 mL e a vazão variada de $4,0$ a $7,8 \text{ mL min}^{-1}$.

4.5. CÁLCULO DO FATOR DE AUMENTO DO SISTEMA FI-SPE

Para calcular o fator de aumento obtido com o sistema de pré-concentração proposto, foi feita a comparação entre as declividades das curvas de calibração para Cd e Mn obtidas pela medição direta por FAAS e pela medição usando o sistema FI-SPE-FAAS. Para este caso, se utilizou somente a intensidade do sinal em altura para ambas as medições.

4.6. DETERMINAÇÃO DE Cd e Mn EM ADITIVOS ALIMENTARES À BASE DE FOSFATO

Após definir o arranjo do sistema FI-SPE e adequar todos os parâmetros (item 4.4.1 a 4.4.5) que podem influenciar no seu desempenho, foi feita a avaliação de sua aplicabilidade para determinar Cd e Mn em aditivos alimentares à base de fosfato. Para tal, foram pesadas exatamente cerca de 5 g de amostra e transferidas para tubo de vidro ($l = 40 \text{ cm}$ e $i.d. = 2 \text{ cm}$). Posteriormente, foram adicionados 6 mL de HNO_3 2 mol L^{-1} e a solução aquecida a $120 \text{ }^\circ\text{C}$ durante 120 min. Após o arrefecimento da solução, esta foi filtrada diretamente para balão de 100 mL, sendo o volume aferido com água deionizada. Tendo-se em vista que com este procedimento não ocorre decomposição (ou dissolução) de toda a amostra, neste trabalho este processo será denominado somente de “extração” dos analitos da amostra.

Uma vez que não há material de referência certificado de mesma natureza da amostra, a metodologia foi validada através de testes de recuperação e

comparação dos resultados com aqueles obtidos por ICPOES. Para os testes de recuperação, às amostras preparadas da mesma forma como descrito anteriormente, foram adicionadas soluções de Cd e Mn de forma a obter concentrações de $2 \mu\text{g L}^{-1}$, $4 \mu\text{g L}^{-1}$ e $6 \mu\text{g L}^{-1}$ de cada elemento na solução a ser processada no sistema FI-SPE. As adições das soluções de Cd e Mn foram feitas antes do procedimento de extração dos analitos da amostra.

5. APRESENTAÇÃO E DISCUSSÃO DOS RESULTADOS

Este capítulo está subdividido em duas partes. Na primeira parte são descritos os resultados referentes à adequação dos principais parâmetros que influenciam no desempenho do sistema FI-SPE desenvolvido para a determinação de Cd e Mn em materiais à base de fosfato usado em nutrição humana. Na segunda parte são apresentados os resultados da determinação de Cd e Mn em aditivos para alimentos à base de fosfato.

5.1. ADEQUAÇÃO DO SISTEMA FI-SPE

Antes de estabelecer o sistema FI-SPE-FAAS mostrado na Fig. 6, foram testados diversas configurações de sistemas FI-SPE. Entretanto o sistema mostrado na Fig. 6 foi o mais adequado, pois foi observado que com a eluição no sentido inverso ao da pré-concentração é possível trabalhar durante vários ciclos sem aumentar a pressão de retorno no sistema (fato comum quando a eluição é feita no mesmo sentido da pré-concentração, pois, a tendência é de ocorrer a compactação do material contido na microcoluna). Posteriormente, foram feitos testes de forma a obter a melhor sensibilidade para Cd e Mn e com o menor tempo de processamento da amostra. Todos os parâmetros foram estudados de forma univariada, empregando soluções contendo $2 \mu\text{g L}^{-1}$ de Cd e $6 \mu\text{g L}^{-1}$ de Mn diluídos em HNO_3 0,2%.

5.1.1. Influência do pH da amostra na retenção de Cd e Mn

Foi observado que o pH influencia fortemente na retenção tanto de Cd como de Mn, o que está em acordo com dados da literatura referentes a 8-hidroxiquinolina e CPG-8-HQ.⁶² Isto se deve ao fato do equilíbrio da dissociação da 8-hidroxiquinolina deslocado no sentido da espécie desprotonada ocorrer em pH superior a 7, o que garante uma efetiva complexação nestas condições.⁶⁷ Assim, o pH determinará os valores das constantes de estabilidade condicional dos complexos e a escolha de um pH adequado pode garantir uma retenção quantitativa e seletiva dos analitos de interesse.³¹ Neste trabalho foi verificado que a melhor retenção, avaliada através da intensidade do sinal dos analitos, ocorre em pH em torno de 8, o que esta em acordo com os dados reportados na literatura.^{49,58} O comportamento do Cd e Mn em função do pH pode ser observado na Fig. 7.

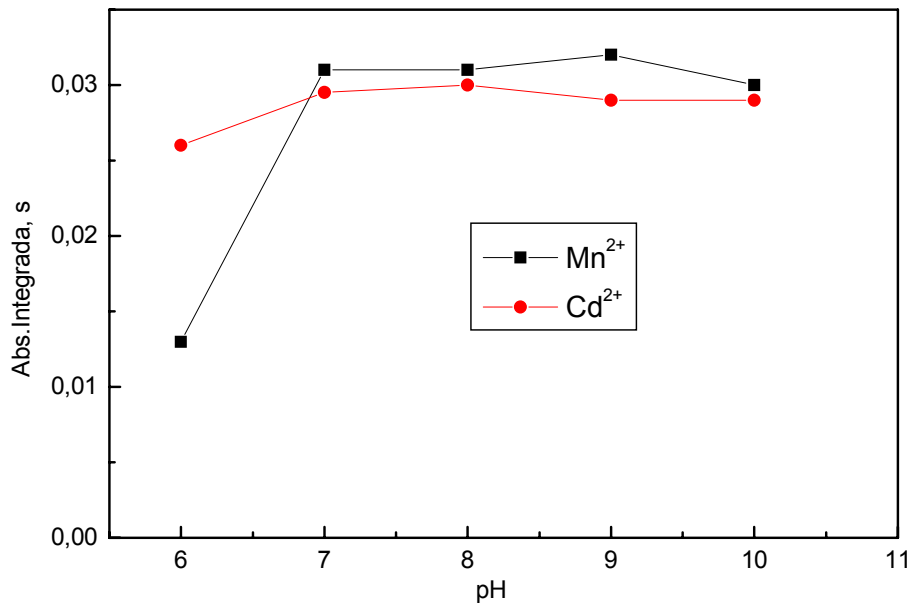


Figura 7. Influência do pH da solução da amostra na retenção de Cd e Mn. Vazão da solução tampão = $2,2 \text{ mL min}^{-1}$; vazão da solução de Cd a $2 \mu\text{g L}^{-1}$ e Mn a $6 \mu\text{g L}^{-1}$ = $4,4 \text{ mL min}^{-1}$; vazão de HNO_3 1 mol L^{-1} = $4,7 \text{ mL min}^{-1}$.

5.1.2. Vazão da solução amostra

A vazão da solução da amostra determina o tempo de interação dos analitos com o sorvente, por isso tem grande influência na retenção quantitativa de Cd e Mn, uma vez que estão envolvidos fatores cinéticos no processo de complexação. Assim, a vazão é um parâmetro importante a ser considerado, pois o sistema deve ser adequado de forma a reter quantitativamente os analitos.³¹ Na maioria dos casos trabalha-se de forma a poder usar a máxima vazão da solução da amostra possível, sem perdas da intensidade do sinal analítico, de forma a minimizar o tempo de pré-concentração,³¹ o que minimiza o gasto de amostra e reagentes, que neste trabalho seria a solução tampão que é misturada com a amostra para controle do pH.

Os resultados apresentados na Fig. 8 mostram que vazões em torno de $4,4 \text{ mL min}^{-1}$ foram as mais adequadas para a solução da amostra para o sistema FI-SPE-FAAS proposto. Acima desta vazão, a intensidade do sinal analítico diminui, o que pode ser explicado pelo pouco tempo de interação dos analitos com o

material sorvente contendo o complexante. Abaixo deste valor, o sinal analítico também diminui, provavelmente devido a interação dos analitos com a água durante o processo de lavagem da coluna após a etapa de pré-concentração, uma vez que a vazão da água está variando semelhantemente à da solução da amostra (ou seja, o tempo de contato da água com o complexo na coluna é maior).

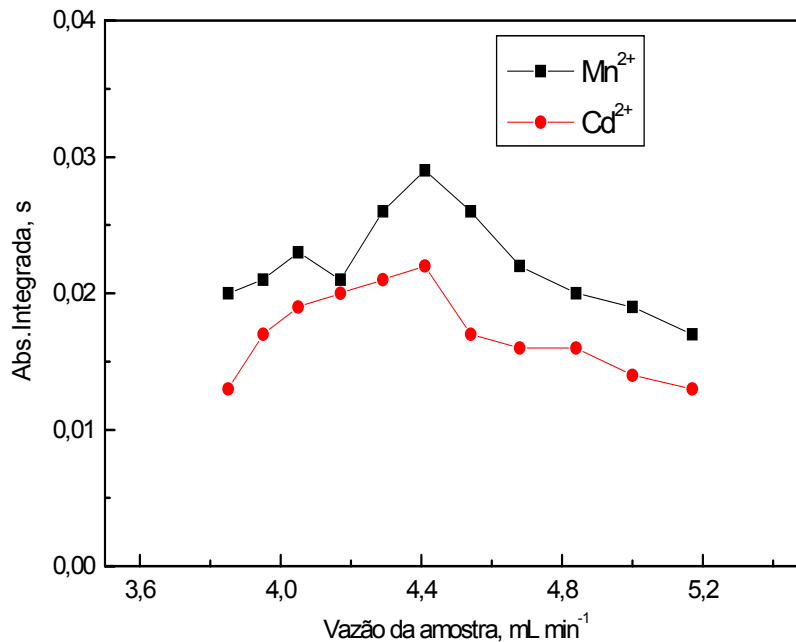


Figura 8. Influência da vazão da solução da amostra sobre a intensidade dos sinais do Cd e Mn. Soluções analíticas de $2 \mu\text{g L}^{-1}$ de Cd e $6 \mu\text{g L}^{-1}$ de Mn; vazão da solução tampão = $2,2 \text{ mL min}^{-1}$; vazão de HNO_3 1 mol L^{-1} = $4,7 \text{ mL min}^{-1}$.

5.1.3. Volume da amostra (capacidade de troca da coluna)

A avaliação deste parâmetro é muito importante uma vez que determina a massa de analito que pode ser processada por massa de material sorvente utilizado na coluna, em condições pré-estabelecidas, tais como a vazão da solução amostra e o pH. A capacidade de troca da coluna não deve ser excedida, uma vez que isto afetaria a relação linear entre a intensidade do sinal analítico e o volume (ou quantidade do analito) da amostra processada.³³ Como pode ser observado na Fig. 9, há uma relação linear entre a intensidade do sinal dos

analitos e o volume de amostra processado no sistema. Os 50 mL de solução processados correspondem a 100 e 300 ng de Cd e de Mn, respectivamente.

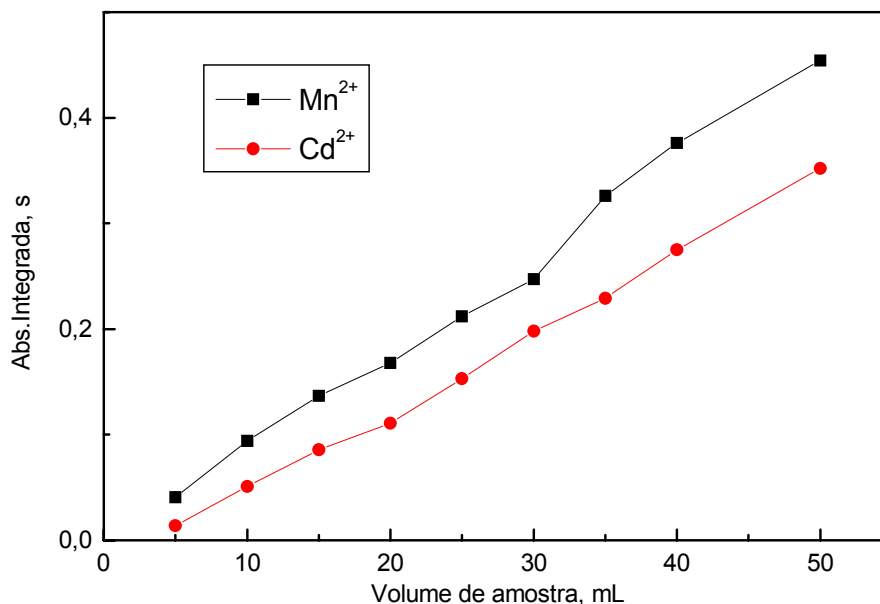


Figura 9. Capacidade de troca da coluna para Cd e Mn. Vazão da solução de Cd a $2 \mu\text{g L}^{-1}$ e Mn a $6 \mu\text{g L}^{-1}$ = $4,4 \text{ mL min}^{-1}$; vazão da solução tampão = $2,2 \text{ mL min}^{-1}$; vazão de HNO_3 1 mol L^{-1} = $4,7 \text{ mL min}^{-1}$.

5.1.4. Escolha do ácido e da concentração do ácido usado como eluente

A eluição dos analitos retidos na coluna é caracterizada pelo tipo da interação do solvente com o elemento de interesse. Neste caso, como a retenção dos analitos é baseada em processo de complexação da 8-hidroxiquinolina com estes, a eluição depende da troca dos analitos pelo próton do eluente. Além disso, a eluição depende do tipo de ácido, que para este tipo de material, o HNO_3 , HCl ou mistura destes, é de uso mais freqüente.³¹

O solvente ideal para eluição deve reunir três características: eficiência, seletividade e compatibilidade com o analito e o instrumento usado para medição. Isto possibilita que ele recupere o analito em um menor volume possível, o que minimizaria o custo e problemas com descarte destes solventes. A escolha do eluente deve levar em consideração a natureza do sorvente sólido, por exemplo,

o eluente pode ser um solvente orgânico (quando sorventes de fase reversa são usados) ou um ácido (normalmente com trocadores de íons quelantes).³¹ A eficiência do solvente está relacionada com a sua capacidade de garantir uma recuperação quantitativa das espécies de interesse. A seletividade do solvente pode ser obtida a partir da análise da força de eluição do solvente. Analitos que interagem mais fracamente com o material sorvente podem ser eluídos com solventes com força de eluição baixa ou moderada, por exemplo. E, finalmente, outro fator que é muito importante, é a compatibilidade do solvente de eluição com a técnica de análise.

Foi usado neste trabalho um agente quelante imobilizado sobre vidro com porosidade controlada para reter os analitos, como mencionado anteriormente, sendo para tal os ácidos os mais adequados como eluente. Portanto, foi realizado um estudo com os ácidos nítrico e clorídrico para verificar qual é o mais apropriado para a eluição dos analitos. Uma vez que a retenção dos analitos tem grande dependência do pH, como já foi discutido no item 5.1.1, a escolha correta do pH do eluente pode garantir uma eluição quantitativa e seletiva do analito de interesse. Para este fim os referidos ácidos foram estudados em diferentes concentrações. Os resultados estão apresentados na Fig. 10 e, como pode ser observado, há um ponto comum em relação às concentrações dos ácidos, em que se consegue uma melhor intensidade do sinal analítico, para ambos os analitos estudados. Assim, o uso de HNO_3 1 mol L^{-1} foi considerado o mais adequado para a eluição, tanto do Cd, como do Mn, não havendo neste caso o risco da formação de cloretos insolúveis o que poderia causar, entre outros problemas, o entupimento da microcoluna usada para a pré-concentração. Isto, de certa forma é importante, pois o HNO_3 é um ácido compatível com a FAAS, bem como é um dos ácidos de maior pureza (ou facilmente purificável).⁶⁸

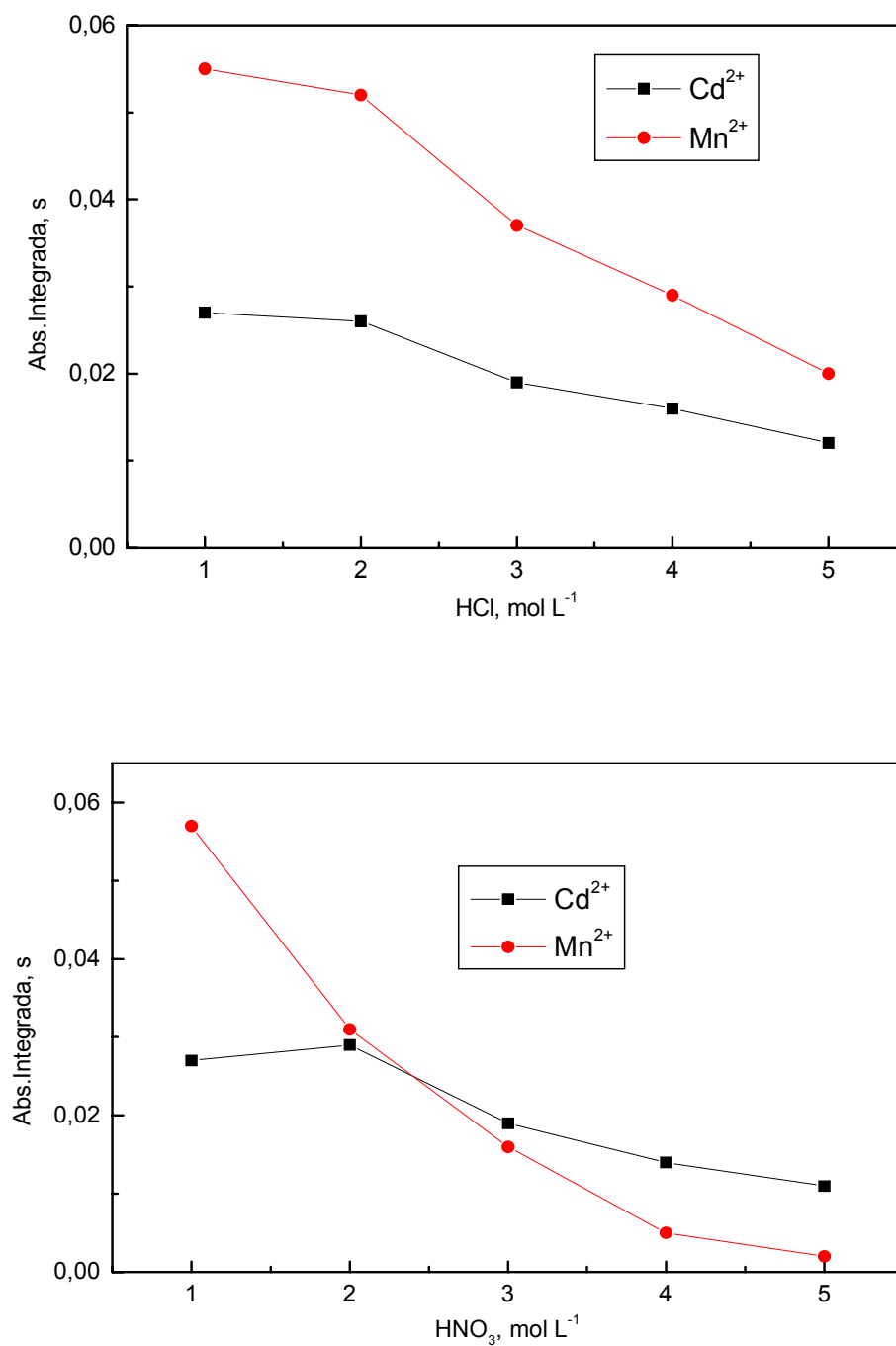


Figura 10. Influência do ácido e da concentração do ácido usado como eluente da Vazão da solução de Cd a $2 \mu\text{g L}^{-1}$ e Mn $6 \mu\text{g L}^{-1}$ = $4,4 \text{ mL min}^{-1}$; vazão da solução tampão = $2,2 \text{ mL min}^{-1}$; vazão dos ácidos = $4,7 \text{ mL min}^{-1}$.

5.1.5. Vazão do eluente

A vazão do eluente usado para a eluição de Cd e Mn, a princípio, deve ser compatível com a vazão de aspiração do nebulizador pneumático do equipamento. Além disso, a vazão do eluente deve ser suficientemente alta para evitar que a eluição seja lenta demais, o que acarretaria em um gasto desnecessário de tempo, bem como, possivelmente os sinais teriam o formato mais alongado quando a vazão fosse mais baixa. Porém, como mencionado anteriormente, esta vazão deve ser tal que permita uma interação efetiva e, conseqüentemente, uma eluição quantitativa dos analitos, Este é um fator importante a ser levado em conta, pois é necessária uma recuperação quantitativa dos analitos, com boa reprodutividade.

Neste trabalho, a vazão usada para a eluição de ambos os analitos em estudo foi de 4,7 mL min⁻¹, o que pode ser verificado na Fig. 11.

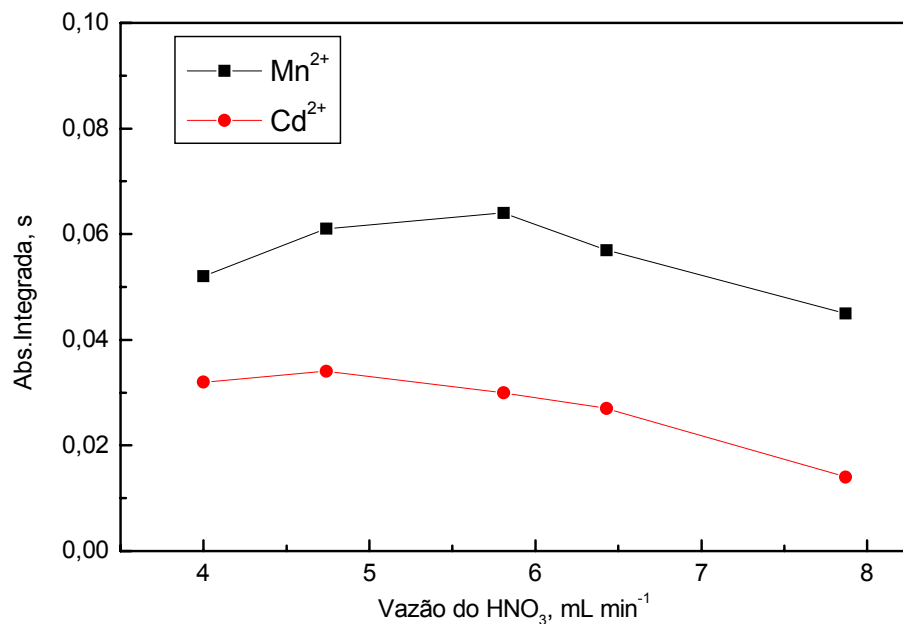


Figura 11. Influência da vazão do eluente sobre a eluição dos analitos. Vazão da solução Cd a 2 µg L⁻¹ e Mn 6 µg L⁻¹ = 4,4 mL min⁻¹; vazão da solução tampão = 2,2 mL min⁻¹; vazão do ácido = 4,7 mL min⁻¹.

5.2. CARACTERÍSTICAS DO SISTEMA FI-SPE-FAAS

Após a adequação do sistema FI-SPE-FAAS as vazões para os reagentes foram estabelecidas conforme apresentado na Fig. 12.

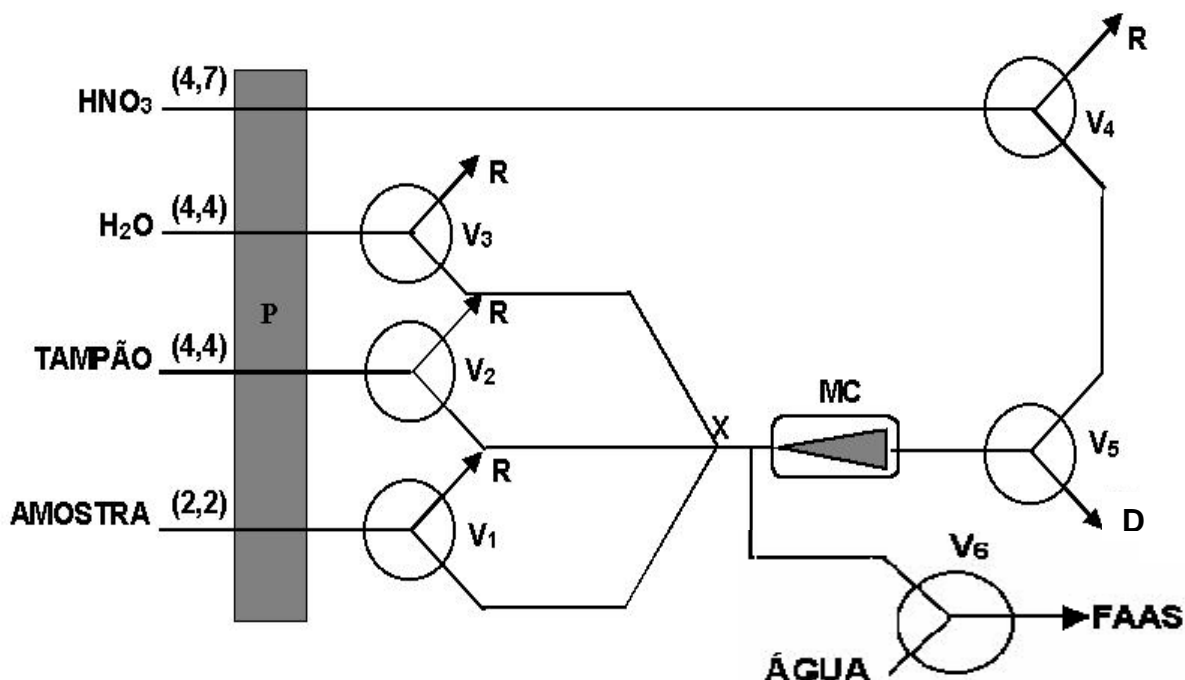


Figura 12. Sistema FI-SPE empregado para a determinação de Cd e Mn por FAAS em aditivos alimentares à base de fosfato. N^{os} . entre parênteses correspondem as vazão das soluções estabelecidas (em $mL\ min^{-1}$). O significado dos outros parâmetros estão descritos na Fig. 6.

A seqüência de operação do sistema FI-SPE-FAAS, depois da sua adequação, está apresentada na Tabela 1.

Tabela 1. Seqüência de operação do sistema de FI-SPE-FAAS empregado para a determinação de Cd e Mn em aditivos alimentares à base de fosfato.

Etapa	Intervalo (s)	Tempo (s)	Válvula acionada	Solução
Condicionamento	0 - 78	10	V ₁	Tampão
Carregamento	10 - 78	68	V ₁ e V ₂	Amostra
Lavagem	80 - 130	50	V ₃	Água
Eluição	133 - 150	17	V ₅ e V ₆	HNO ₃
Eluição	138 - 150	12	V ₄	HNO ₃

Na Tabela 2 estão relacionadas as principais características do sistema FI-SPE-FAAS, após a otimização dos diversos parâmetros que influenciam no desempenho do método.

Tabela 2. Características do sistema FI-SPE-FAAS proposto para a determinação de Cd e Mn em aditivos alimentares à base de fosfato.

pH da solução da amostra no sistema	8,0
Vazão da solução amostra (mL min ⁻¹)	4,4
Vazão do HNO ₃ (mL min ⁻¹)	4,7
Vazão da solução tampão (mL min ⁻¹)	2,2
Tempo de pré-concentração (s)	68
Volume de amostra processada (mL)	5,0
Volume de HNO ₃ (mL)	1,0
Fator de aumento: Cd	17
Mn	21
Equação da curva de calibração: Cd	Y = 0,01602.X + 0,02153*
Mn	Y = 0,0046.X + 0,0675*
Coeficiente de correlação linear(r): Cd	0,99301
Mn	0,99984
Limite de detecção (ng g ⁻¹): Cd	7,6
Mn	76
Limite de quantificação (ng g ⁻¹): Cd	25
Mn	255
Faixa linear (µg L ⁻¹): Cd	0,38 a 100
Mn	3,8 a 300
Desvio padrão relativo (%): Cd	3,7
Mn	0,34
Freqüência de medições (h ⁻¹)	24

*Y = absorvância integrada (s), X = s.(µg L⁻¹)⁻¹

O fator de aumento para cada elemento foi calculado dividindo-se o coeficiente angular da curva de calibração obtida empregando FI-SPE-FAAS e o coeficiente angular da curva de calibração obtida diretamente por FAAS (sem pré-concentração e empregando as condições de melhor resposta do equipamento,

conforme recomendações do fabricante). Neste caso, as duas curvas foram obtidas considerando-se a altura da intensidade do sinal de cada elemento. Os coeficientes angulares para Cd foram $5,5184 \text{ Abs.}(\mu\text{g L}^{-1})^{-1}$ e $0,31332 \text{ Abs.}(\mu\text{g L}^{-1})^{-1}$, respectivamente, e para Mn $2,9548 \text{ Abs.}(\mu\text{g L}^{-1})^{-1}$ e $0,14013 \text{ Abs.}(\mu\text{g L}^{-1})^{-1}$, respectivamente.

A partir do valor encontrado para o fator de aumento para cada elemento pode-se inferir que supostamente há uma melhor complexação da 8-hidroxiquinolina com o Mn do que com o Cd, o que é concordante com o que se espera em relação a dados da literatura, onde o Mn^{2+} tem características mais adequadas (íon mais duro ou ácido mais duro) para complexar com a 8-hidroxiquinolina do que o Cd^{2+} .^{21,54,55}

O LD (3σ) e o LQ (10σ) foram calculados considerando o desvio padrão de 10 leituras consecutivas do branco, conforme recomendado pela IUPAC. Para o cálculo do LD e LQ foi considerada uma massa de 5 g de amostra e um volume final de 100 mL.

5.2.1. Resultados da determinação de Cd e Mn em aditivo alimentar à base de fosfato

O procedimento de extração foi realizado usando HNO_3 concentrado e HNO_3 2 mol L^{-1} , sob mesmas condições de temperatura e tempo de extração. Como os resultados obtidos para Cd e Mn empregando as duas condições foram semelhantes, optou-se por empregar HNO_3 2 mol L^{-1} para a extração dos dois elementos.

Tendo-se em vista que não ocorre decomposição completa da amostra, para avaliar se a extração foi quantitativa, foram realizados testes de recuperação, com a adição dos analitos antes e após o processo de extração. Os resultados obtidos foram concordantes entre si, demonstrando a eficiência do processo de extração, uma vez que, esta depende da interação entre os íons metálicos e os fosfatos.

Após a adequação do processo de extração e dos parâmetros do sistema FI-SPE-FAAS que influenciam na determinação de Cd e Mn, o método proposto foi empregado para a determinação destes elementos em aditivos alimentares à

base de fosfato. Conforme discutido anteriormente nos itens 2.3 e 2.4, devido a problemas de interferências (supressão de sinal) não foi possível determinar Cd e Mn empregando calibração “convencional” (os testes de recuperação para o Cd e Mn na amostra em estudo, foram de 84 e 74%, respectivamente, o que evidencia que o sistema para separação da matriz da amostra não foi muito eficiente - Tabela 3), sendo necessário, portanto, fazer as determinações por adição de analito. Possivelmente a interferência observada é decorrente da interação do fosfato com o Cd e o Mn, dificultando a complexação com a 8-hidroxiquinolina imobilizada sobre o suporte de vidro. Na Tabela 3 estão apresentados os resultados obtidos.

Tabela 3. Testes de recuperação de Cd e Mn em aditivo alimentar à base de fosfato.

Analito ($\mu\text{g L}^{-1}$)	Analito* adicionado	amostra	amostra + analito adicionado	Recuperação, %
Cd	2,0	2,3	3,6	83,7
Mn	6,0	8,3	10,6	74,1

* Adição de $2 \mu\text{g L}^{-1}$ para Cd e de $6 \mu\text{g L}^{-1}$ para Mn.

Como os resultados para os testes de recuperação para ambos os elementos em estudo não foram satisfatórios, evidenciando ainda interferências provocadas pela matriz na determinação por FI-SPE-FAAS, foi realizada a determinação por calibração com adição de analito. Para efeitos de comparação, foram feitas determinações destes elementos por ICP OES, entretanto, devido à concentração muito baixa dos elementos na maioria das amostras estudadas ou devido a problemas de interferência, também foi necessário processar as amostras no sistema FI proposto. Os resultados estão apresentados na Tabela 4.

Tabela 4. Resultados da determinação de Cd e Mn em aditivos alimentares à base de fosfato empregando o sistema FI-SPE-FAAS e por ICP OES (após processamento pelo sistema FI-SPE). Os valores são a média e o desvio padrão de 5 medidas consecutivas da amostra.

Analito (ng g ⁻¹)	FI-SPE-FAAS	ICP OES
Cd	27 ± 1	26 ± 1
Mn	293 ± 1	293 ± 1

Os resultados obtidos por FI-SPE-FAAS demonstram a eficiência do processo de pré-concentração na determinação dos elementos em estudo, uma vez que, a determinação direta destes elementos por FAAS nestas amostras não seria possível. A concordância entre os resultados obtidos por FI-SPE-FAAS e ICP OES evidenciam a exatidão e precisão do método.

6. CONCLUSÃO

O método desenvolvido neste trabalho para a pré-concentração *on-line* (FI-SPE) de Cd e Mn em aditivos alimentares à base de fosfato para posterior determinação por FAAS, demonstrou ser eficiente para pré-concentrar os analitos em estudo, conseguindo-se um bom fator de ganho (17 e 21 para Cd e Mn, respectivamente) e boa frequência analítica (24 medições h⁻¹). Portanto, pode-se concluir que a CPG-8-HQ é eficiente para pré-concentrar estes elementos e minimizar problemas de interferência devido a matriz da amostra.

Foi verificado que os LD e LQ do método proposto são adequados para as determinações de Cd e Mn em aditivo alimentar à base de fosfato, uma vez que, estão abaixo da concentração encontrada nas amostras investigadas. Os valores de LD e LQ obtidos evidenciam que foi possível melhorar a aplicabilidade da FAAS usada para a determinação dos elementos em estudo em materiais à base de fosfato, minimizando problemas de interferência da matriz.

De modo geral, o método proposto é relativamente simples, apresentando vantagens como: baixo consumo de reagentes e amostra, bom fator de aumento, ser relativamente rápido de ser executado e minimizar problemas de interferência de matriz.

7. SUGESTÕES PARA TRABALHOS FUTUROS

A partir deste trabalho, as seguintes sugestões podem ser elencadas para futuros trabalhos empregando-se metodologias semelhantes:

- Estudar a aplicação do sistema FI-SPE para Cd e Mn em outros tipos de matrizes;
- Estudar a aplicação do sistema FI-SPE para outros metais;

8. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

1. Organização Mundial da Saúde, *Elementos Traço na Nutrição e Saúde Humana*. Traduzido por Favano, A., 1ª ed., Roca, São Paulo, 1998, p. 143-146; 180-182.
2. Yim, J., Jiang, Z., Chang, G., Hu, B., Simultaneous on-line preconcentration of trace metals in environmental samples by flow injection combined with inductively coupled plasma mass spectrometry using a nanometer-size alumina packed micro-column, *Anal. Chim. Acta* 540 (2005) 333-339.
3. Anthimidis, A. N., Zachariadis, G.A., Stratis, J.A., On-line preconcentration and determination of copper, lead and chromium(VI) using unloaded polyurethane foam packed column by flame atomic absorption spectrometry in natural water and biological sample, *Talanta* 58 (2002) 831-840.
4. Zih-Perényi, K., Lásztity, A., Horváth, Z., Use of type of 8-ydroxyquinoline-5-sulphonic acid cellulose for the preconcentration of trace metals from highly mineralized water prior GFAAS determination, *Talanta* (1998) 673-679.
5. Zougagh, M., Torres, A. G., Pavón, J. M. C., Determination of cadmium in water by ICP-AES with on-line adsorption preconcentration using DPTH-gel and TS-gel microcolumns, *Talanta* 56 (2002) 753-761.

6. Lavi, N., Alfassi Z.B., Determination of trace amounts of cadmium, cobalt, chromium, iron, molybdenum, nickel, selenium, titanium, vanadium and zinc in blood and milk by neutron activation analysis, *Analyst* 115 (1990) 817-822.
7. Cerutti, S., Silva, M.F., Gásquez, J.A., Olsina, R.A., Martinez, L.D., On-line preconcentration/determination of cadmium in drinking water on activated carbon using 8-hydroxyquinoline in flow injection system coupled to an inductively coupled plasma optical emission spectrometer, *Spectrochim. Acta Part B* 58 (2003) 43-50.
8. Ferreira, A.C., Costa, A.C.S., Kom, M. G.A., Preliminary evaluation of the cadmium concentration in seawater of the Salvador City, Brazil, *Microchem. J.* 78 (2004) 77-83.
9. Abas, M.R.B., Takruni, I.A., Abdullah, Z., Tahir, N.M., On-line preconcentration and determination of trace metals using a flow injection system coupled to ion chromatography, *Talanta* 58 (2002) 883 – 890.
10. Albolino, O., Aceto, M., Sarzanini, C., Mentasti, E., The retention of metal species by different solid sorbents mechanisms for heavy metal speciation by sequential three column uptake, *Anal. Chim. Acta* 411 (2000) 223-237.
11. International Agency for Research on Cancer, *IARC Monographs on the Evaluation of the Carcinogenic Risk of Chemicals to Humans*. IARC, Lyon, 27 (1979) p. 1-20.
12. Duan, T., Song, X., Jin, D., Li, H., Xu, J., Chen, H., “Preliminary results on the determination of ultratrace amounts of cadmium in tea samples using a flow injection on-line solid phase extraction separation and preconcentration technique to couple with a sequential injection hydride generation atomic fluorescence spectrometry”, *Talanta* 67 (2005) 968-974.

13. Seiler, H.G., Sigel, A., Sigel, H., *Handbook on Toxicity of Inorganic Compounds*. Marcel Dekker, New York (1998) p. 283 .
14. Environmental Protection Agency of United States www.epa.gov/iris/subst/0141.htm, acessado em 09/07/2005.
15. Anthemidis, A.N., Zachariadis, G.A., Farastelis, C.G., Stratis, J.A., On-line liquid-liquid extraction system using a new phase separator for flame atomic absorption spectrometric determination of ultra-trace cadmium in natural waters, *Talanta* 62 (2004) 437- 443.
16. Wedler F.C., Biological significance of manganese in mammalian systems, *Prog. Med. Chem.* 30 (1993) 89 -133.
17. Barbeau, A., Inoue, X., Cloutier, T., Role of manganese in dystonia, *Adv. Neurol.* 14 (1976) 339 - 52.
18. Environmental Protection Agency of United States www.epa.gov/iris/subst/0373.htm acessado em 09/07/2005.
19. Ministério do Desenvolvimento, Indústria e Comercio Exterior, Resolução nº 22, de 28 de julho 2003.
20. Nelson, D.L., Cox, M.M., "*Lehninger Principles of Biochemistry*", 3th. ed., Worth Publishers, New York, 2000, 159 – 196, p. 203-237.
21. Lee, J.D., "*Química Inorgânica não tão Concisa*". Traduzido por Henrique, E.T., Araki, K., Rocha, R. C., 5^a ed., Edgard Blücher LTDA, São Paulo (1999) p. 257-260, 373, 427.
22. Parida, K.M., Mallick, S., Dash, S.S., Studies on manganese nodule leached residues 2. Adsorption of aqueous phosphate on manganese nodule leached residues, *J. Coll. Interf. Sci.* 290 (2005) 22-27.

-
23. Delgadillo-Hinojosa, F., Marcías-Zamora, J.V., Segovia-Zavalo, J.A., Torres-Valdés, S., Cadmium enrichment in the Gulf of California, *Mar. Chem.* 75 (2001) 109-122.
24. Campos, M.L., Silva, F.N., Neto, A.E.F., Guilherme, L.R.G., Marques, J.J., Antunes, A.S., Determinação de cádmio, cobre, cromo, níquel, chumbo e zinco em fosfatos de rocha, *Pesq. Agropec. Brasileira* 40 (2005) 361-367.
25. Tsalv, D.L., Lampugnani, L., Georgieva, R., Chakarova, K.K., Petov, I.I. Jr., Electrothermal atomic absorption spectrometric determination of cadmium and lead with stabilized phosphate deposited on permanently modified platforms, *Talanta* 58 (2002) 331-340.
26. Manzoori, J.L., Karim-Nezhad, G., Development of a cloud point extraction and preconcentration method for Cd and Ni prior to flame atomic absorption spectrometric determination, *Anal. Chim. Acta* 521 (2004) 173-177.
27. Welz, B. *Atomic Absorption Spectrometry* - Engl. Transl. by Christopher Skegg. – 2., comp. rev. ed. – Weinheim; Deerfield Beach, FL.: VCV (1985) p. 159-160.
28. Harris, D.C., *Análise Química Quantitativa*. Traduzido por Riehl, C.A.S. e Guarino, A.W.S. 5ª ed., LTC, Rio de Janeiro (2001) p. 545.
29. Hill, S.J., Arowolo, T.A., Butler, O.T., Cook, J.M., Cresser, M.S., Harrington, C., Miles, D.L., Atomic spectrometry update. Environmental analysis, *J. Anal. At. Spectrom.* 18 (2003) 170-202.
30. Sung, Y.-H., Huang, S.-D., On-line preconcentration coupled to electrothermal atomic absorption spectrometry for the simultaneous determination of bismuth, cadmium, and lead in urine, *Anal. Chim. Acta* 495 (2003) 165-176.

-
31. Camel, V., Solid phase extraction of trace elements, *Spectrochim. Acta Part B* 58 (2003) 1177-1233.
32. Fang, Z., Xu, S., Zhang, S., Fundamental and practical considerations in the design of on-line column preconcentration for flow-injection atomic spectrometric systems, *Anal. Chim. Acta* 200 (1987) 35-49.
33. Lu, H.T., Mou, S.F., Yan, Y., Tong, S.Y., Riviello, J.M., On-line pretreatment and determination of Pb, Cu and Cd at the $\mu\text{g L}^{-1}$ level in drinking water by chelation ion chromatography, *J. Chromatogr. A* 800 (1998) 247-255.
34. Fang, Z.-L., *Flow Injection Separation and Preconcentration*. VCH, Weinheim (1993), p. 1-19, 98-100.
35. Harteinstein, S.D., Ruzicka, J., Christian, G.D., Sensitivity enhancements for flow injection analysis-inductively coupled plasma atomic emission spectrometry using an on-line preconcentration ion-exchange column, *Anal. Chem.* 57 (1985) 21-25.
36. Hirata, S., Kajiya, T., Aibara, M., Honda, K., Shikino, O., Determination of rare earth elements in seawater by on-line column preconcentration inductively coupled plasma mass spectrometry, *Talanta* 58 (2002) 1185-1194.
37. Taylor, D.V., Kingston, H.M., Nogay, D.J., On-line solid-phase chelation for the determination of eight metals in environmental waters by inductively coupled plasma mass spectrometry, *J. Anal. At. Spectrom.* 11 (1996) 187-191.
38. Willie, S.N., Iida, Y., McLaren, J.W., Determination of Cu, Ni, Zn, Mn, Co, Pb, Cd, and V in seawater using flow injection ICP-MS, *At. Spectrosc.* 19 (1998) 67-72.

-
39. Haliez, L., Gavrieli, I., Dorfman, F., On-line method for inductively coupled plasma mass spectrometric determination of rare earth elements in highly brines, *J. Anal. At. Spectrom.* 11 (1996) 811-814.
40. Seubert, A., Petzold, G., McLaren, J.W., Synthesis and application of 8-hydroxyquinoline-based chelating ion exchanger for sea-water analysis using on-line inductively coupled plasma mass spectrometry detection, *J. Anal. At. Spectrom.* 10 (1995) 371-379.
41. Sperling, M., Xu, S., Welz, B., Determination of chromium(III) and chromium(VI) in water using flow injection on-line preconcentration with selective adsorption on activated alumina and flame atomic absorption spectrometric detection, *Anal. Chem.* 64 (1992) 3101-3108.
42. Porta, V., Sarzanini, C., Mentasti, F., Abolino, O., On-line preconcentration system for inductively coupled plasma atomic emission spectrometry with quinolin-8-ol and Amberlite XAD-2 resin, *Anal. Chim. Acta* (1992) 237-244.
43. Lee, H.K., Oshima, M., Motomizu, S., Inductively coupled plasma mass spectrometric determination of heavy metals in sea-water samples after pre-treatment with a chelating resin disk an on-line flow injection method, *Analyst* 127 (2002) 769-774.
44. Liu, C.-Y., Lee, N.-M., Chen, J.L., γ -Aminobutyrohydroxamate resins as stationary phases of chelation ion chromatography, *Anal. Chim. Acta* 369 (1998) 225-233.
45. Gurnani, V., Singh, A.K., Venkataramani, B., Cellulose functionalized with 8-hydroxyquinoline: new method of synthesis and applications as a solid phase extractant in the determination of metal ions by flame atomic absorption spectrometry, *Anal. Chim. Acta* 485 (2003) 221-232.

-
46. Pereira, M.G., Arruda, M.A.Z., Trends in preconcentration procedures for metal determination using atomic spectrometry techniques, *Microchim. Acta* 141 (2003) 115-131.
47. Marhol, M. *Ion Exchangers in Analytical Chemistry. Their Properties and Use In Inorganic Chemistry*. Vol. XIV, New York (1982), p. 378.
48. Bag, H., Türker, R., Coskun, R., Saçak, M., Yigitoglu, M., Determination of zinc, cadmium, cobalt and nickel by flame atomic absorption after preconcentration by poly(ethylene terephthalate) fibers grafted with methacrylic acid, *Spectrochim. Acta Part B* 55 (2000) 1101-1108.
49. Hirata, S., Kajiya, T., Takano, N., Aihara, M., Honda, K., Shikino, O., Nakayama, E., Determination of trace metals in seawater by on-line column preconcentration inductively coupled plasma mass spectrometry using metal alkoxide glass immobilized 8-quinolinol, *Anal. Chim. Acta* 499 (2003) 157-165.
50. Martins, A.O., Silva, E.L., Carasek, E. Gonçalves, N.S., Laranjeira, M.C.M., Fávere, V. T., Chelating resin from functionalization of chitosan with complexing agent 8-hydroxyquinoline: application for metal ions on-line preconcentration system, *Anal. Chim. Acta* 521 (2004) 157-162.
51. Deng, T.-L., Chen, Y.-W., Belzile, N., Antimony speciation at ultra trace levels using hydride generation atomic fluorescence spectrometry and 8-hydroxyquinoline as an efficient masking agent, *Anal. Chim. Acta* 432 (2001) 293-302.
52. Goswami, A., Singh, A.K., Venkataramani, B., 8-Hydroxyquinoline anchored to sílica gel via new moderate size linker: synthesis and applications as a metal ion collector for their flame atomic absorption spectrometric determination, *Talanta* 60 (2003) 1141-1154.

53. Zachariou, M., Hearn, M. T. W., High-performance liquid chromatography of amino acids, peptides and proteins CXXI. 8-hydroxyquinoline-metal chelate chromatographic support: an additional mode of selectivity in immobilized-metal affinity chromatography, *J. Chromatogr.* 599 (1992) 171-177.
54. Dean, J.A, Lange's *Handbook of Chemistry*. 11th. Ed., McGraw-Hill Book Company, New York (1973), p. 5-63.
55. Meites, L. *Handbook of Analytical Chemistry*. 1st. ed., McGraw-Hill Book Company, London (1975), p. 1-45.
56. Zaporozhets, O., Petruniok, N., Bessarabova, O., Sukban, V., Determination of Cu(II) and Zn(II) using sílica gel loaded with 1-(2-thiasolyazo)-2-naphthol, *Talanta* 49 (1999) 899-906.
57. Perényi, K.Z., Lásztity, A., Horváth, Z.S., Levai, Á., Use of new type of 8-hydroxyquinoline-5-sulphonic acid cellulose (sulphonxine cellulose) for the preconcentration of trace metals from highly mineralised water prior their GFAAS determination, *Talanta* 47 (1998) 673-679.
58. Gurnani, V., Singh, A.K., Venkataramani, B., Cellulose functionalized with 8-hydroxyquinoline: new method of synthesis and applications as a solid phase extractant in the determination of metal ions by flame atomic absorption spectrometry, *Anal. Chim. Acta* 485 (2003) 221-232.
59. Persuad, G., Cantwell, F.F., Determination of free magnesium ion concentration in aqueous solution using 8-hydroxyquinoline immobilized on a nonpolar adsorbent, *Anal. Chem.* 64 (1992) 89-94.
60. Leyden, D.E., Luttrell, G.H., Preconcentration of trace metals using chelating groups immobilized via silylation, *Anal. Chem.* 47 (1975) 1612-1617.

-
61. Miller, T.C., Holcombe, J.A., Characterization of metal ion-exchange on modified surfaces of porous carbon, *Anal. Chim. Acta* 455 (2002) 233-244.
62. Sturgeon, R.E., Berman, S.S., Willie, S.N., Desaulniers, J.A.H., Preconcentration of trace elements from seawater with silica immobilized 8-hydroxyquinoline, *Anal. Chem.* 53 (1981) 2337-2340.
63. Rao, T.P., Gladis, M., Quinoline-8-ol and its derivatives as preconcentration agents in flow injection analysis coupled to atomic and molecular spectrometric techniques, *Anal. Sci.* 18 (2002) 517-524.
64. Pozebon, D., Dressler, V.L., Curtius, A.J., Determination of copper, cadmium, lead, bismuth and selenium (IV) in sea-water by electrothermal vaporization inductively coupled plasma mass spectrometry after on-line separation, *J. Anal. At. Spectrom.* 13 (1998) 363-369.
65. Dressler, V. L. *Emprego do dietilditiofosfato de amônio para a separação da matriz e pré-concentração do analito em sistema FI-ICP-MS*. Programa de Pós-Graduação em Química, Universidade Federal de Santa Catarina, Florianópolis/SC, 1999.
66. Benkhedda, K., Infante, H.G., Adams, F., Inductively coupled plasma mass spectrometry for trace analysis using flow injection on-line preconcentration and time-of-flight mass analyser, *Trends Anal. Chem.* 21 (2002) 332-342.
67. Koch, O.G., Koch-Dedic, G.A. *Handbuch der Spurenanalyse*. Springer-Verlag, Berlin (1974), p. 327-337.
68. Yamini, Y., Hassan, J., Mohandesi, R., Bahramifar, N., Preconcentration of trace amounts of beryllium in water samples on octadecyl silica cartridges modified by quinalizarine and its determination with atomic absorption spectrometry, *Talanta* 56 (2002) 375-381.