



UNIVERSIDADE FEDERAL DE UBERLÂNDIA
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM QUÍMICA
INSTITUTO DE QUÍMICA

**Desenvolvimento de métodos de extração em fase sólida para
especação de cromo e arsênio empregando sementes de
Moringa oleífera como bioadsorvente**

Doutoranda: Vanessa Nunes Alves

Orientadora: Prof. Dra. Nívia Maria Melo Coelho

Uberlândia

Outubro/2013



UNIVERSIDADE FEDERAL DE UBERLÂNDIA
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM QUÍMICA
INSTITUTO DE QUÍMICA

**Desenvolvimento de métodos de extração em fase sólida para
especiação de cromo e arsênio empregando sementes de
Moringa oleífera como bioadsorvente**

Tese apresentada ao Programa de Pós-Graduação em Química da Universidade Federal de Uberlândia, como requisito para a obtenção do título de Doutor em Química.

Doutoranda: Vanessa Nunes Alves

Orientadora: Prof. Dra. Nívia Maria Melo Coelho

Área de concentração: Química Analítica

Uberlândia
Outubro/2013



**Ata da defesa de TESE DE DOUTORADO junto ao Programa de Pós-Graduação em Química,
do Instituto de Química da Universidade Federal de Uberlândia
DEFESA DE TESE DE DOUTORADO EM QUÍMICA, NÚMERO 25/COPGQ.**

DATA: 10/09/2013

DISCENTE: Vanessa Nunes Alves

MATRÍCULA: 11023QMI004

TÍTULO DO TRABALHO: Desenvolvimento de métodos não cromatográficos para especiação de cromo e arsênio empregando sementes de Moringa oleifera como bioadsorvente.

ÁREA DE CONCENTRAÇÃO: Química

LINHA DE PESQUISA: Espectroanalítica Aplicada

PROJETO DE PESQUISA DE VINCULAÇÃO: Desenvolvimento de métodos não cromatográficos para especiação de íons metálicos.

Às quatorze horas do dia dez de setembro do ano dois mil e treze, no Auditório Prof. Manuel Gonzalo Hernández Terrones, Bloco 5I, Campus Santa Mônica, reuniu-se a Banca Examinadora composta pelos Professores Doutores Fábio de Souza Dias, da Universidade Federal do Recôncavo da Bahia e Wilson Tadeu Lopes da Silva, da EMBRAPA; Lucienne Lobato Romanielo da Faculdade de Engenharia Química/UFU, Rodrigo Alejandro Abarza Muñoz, do Instituto de Química da UFU e Eduardo Mathias Richter, presidente da mesa, em substituição à Professora orientadora, Nívia Maria Melo Coelho. Iniciando os trabalhos, o(a) presidente da mesa apresentou o(a) candidato(a) e a Banca Examinadora, agradeceu a presença do público e discorreu sobre as normas e critérios para a realização desta sessão, baseadas na Norma Regulamentar nº 03/2013/PPQUI. Em seguida, o(a) presidente da mesa concedeu a palavra ao(a) candidato(a) para a exposição do seu trabalho e, em sequência, aos examinadores, em ordem sucessiva, para arguir o(a) apresentador(a). A duração da apresentação e o tempo de arguição e resposta deram-se conforme as normas do Programa. Ultimada a arguição, desenvolvida dentro dos termos regimentais, a Banca, em sessão secreta, atribuiu os conceitos finais e A provou o(a) candidata(o). Por sugestão da Banca Examinadora, o título do trabalho será _____

"Desenvolvimento de métodos por extração por fase sólida para especiação de cromo e arsênio empregando de Moringa oleifera como bioadsorvente."

Esta defesa de Tese de Doutorado é parte dos requisitos necessários à obtenção do título de Doutor. O competente diploma será expedido após cumprimento do estabelecido nas normas do Programa, legislação e regulamentação internas da UFU. As correções observadas pelos examinadores deverão ser realizadas no prazo máximo de 30 dias. Nada mais havendo a tratar, deu-se por encerrada a sessão às 19 horas e 01 minutos e lavrada a presente ata, que após lida e aprovada, foi assinada pela Banca Examinadora.

Prof. Dr. Fábio de Souza Dias – UFRB

Prof. Dr. Wilson Tadeu L. da Silva – EMBRAPA

Prof. Dr. Rodrigo Alejandro A. Muñoz – IQUFU

Prof. Dr. Lucienne L. Romanielo – FEQU/UFU

Prof. Dr. Eduardo Mathias Richter – IQUFU

Mais uma vez me sento para escrever os agradecimentos por mais uma etapa concluída. E esta vitória só foi possível graças aos “anjos” que me cercam e que não me deixam fraquejar diante das dificuldades.

- ✓ A Deus e a minha Mãe Nossa Senhora por me permitirem chegar até aqui com saúde e por me acompanharem em todos os momentos.
- ✓ A meus pais Wanderley e Maria Angela, mais uma vez obrigado por acreditarem no meu sonho e sonharem comigo. Vocês me ensinaram a ser forte e correr atrás dos meus sonhos. Obrigado pela presença, amor e principalmente pela amizade e companheirismo.
- ✓ À minha irmã e amiga Danielle, por ter sido o meu suporte quando chegava em casa desanimada por mais um experimento que não deu certo. Obrigado por ser minha outra metade.
- ✓ Aos meus avós, Alcides, Lázara e Maria, pelo amor e exemplos de vida constantes. Em especial ao meu avô pela dedicação em colher as sementes de moringa usadas nesse trabalho.
- ✓ Aos meus tios, primos e padrinhos pelo apoio. Saber que posso contar sempre com vocês é o que me motiva a ir cada vez mais longe.
- ✓ Ao Tiago pelo carinho e apoio.
- ✓ À minha orientadora Prof. Dra. Nívia Maria Melo Coelho, pela dedicação e confiança depositadas em mim desde a minha graduação.
- ✓ À Thays que chegou e em pouco tempo se tornou uma grande amiga e conselheira. Obrigado por ter me levantado quando me faltava animo.
- ✓ Aos amigos e colegas do Laboratório de Espectroscopia Aplicada, Simone, Sângela, Fernanda, Dayene, Elieser, Liadiane, Ulisses, Sol, Thays, Kélen. Em especial à Thays e Simone por terem sido meu braço direito durante a execução deste trabalho.
- ✓ Aos colegas de trabalho da Universidade Federal de Goiás pelo aprendizado compartilhado.

- ✓ Aos meus alunos por terem me ensinado o amor por essa profissão que escolhi e que me enche de orgulho. Obrigado pelo incentivo, pela torcida e principalmente o aprendizado compartilhado. Vocês me ensinaram a buscar sempre o meu melhor.
- ✓ Aos professores do IQ, que me acolheram ao longo desses nove anos e me ensinaram muito, em especial à Nívia, Silvana, Malu, Sebastião, Manuel, Waldomiro, Eduardo, Rodrigo... aos técnicos e secretários em especial ao Ildo e à Mayta pela amizade e pelo apoio, aos amigos que dividiram comigo momentos inesquecíveis no Instituto de Química da Universidade Federal de Uberlândia. O profissional que me torno carrega um pouco de cada um de vocês.

“ ...Tudo é do Pai. Toda honra e toda glória, é dele a vitória alcançada em minha vida...”

Pe. Fábio de Melo

RESUMO

Nesse trabalho é descrito o desenvolvimento de métodos de extração em fase sólida para especiação de íons metálicos dando ênfase ao cromo e arsênio, utilizando as sementes de *Moringa oleífera* e suas cascas como bioadsorventes.

Inicialmente, técnicas de caracterização incluindo espectrometria de infravermelho, análise termogravimétrica, microscopia eletrônica de varredura, espectroscopia de energia dispersiva e estudo de áreas superficiais pela teoria de adsorção multielementar foram utilizadas na avaliação físico-química das cascas e sementes integrais de *Moringa oleífera*.

Posteriormente, é apresentado o desenvolvimento de um sistema de extração/pré-concentração em fluxo das espécies Cr(III) e Cr(VI) acoplado ao Espectrofotômetro de Absorção Atômica por Chama, para determinação destas espécies em amostras de interesse ambiental e alimentício. O sistema é baseado na retenção seletiva das espécies Cr(III) e Cr(VI) em mini-colunas preenchidas com cascas das sementes de *Moringa oleífera*. Variáveis químicas e de fluxo foram otimizadas utilizando o método multivariado. A retenção da espécie Cr(III) ocorre em pH 7,0 e a espécie Cr(VI) é retida em pH 1-2. Os resultados das condições otimizadas, selecionados com o compromisso entre a sensibilidade e a velocidade analítica, foram vazão da amostra $4,5 \text{ mL min}^{-1}$; vazão do eluente $4,0 \text{ mL min}^{-1}$; concentração do eluente $0,01 \text{ mol L}^{-1}$ de HCl para dessorção de Cr(III) e $0,01 \text{ mol L}^{-1}$ de NaOH para dessorção de Cr(VI). O limite de detecção foi de $1,9 \text{ } \mu\text{g L}^{-1}$ para Cr (III) e $2,45 \text{ } \mu\text{g L}^{-1}$ para Cr(VI). A faixa linear de trabalho foi 5,73 a $1000 \text{ } \mu\text{g L}^{-1}$ para Cr(III) e 7,35 a $1000 \text{ } \mu\text{g L}^{-1}$ para Cr(VI). A fim de validar o método proposto, o mesmo foi aplicado em amostras de água e bebidas alcoólicas, bem como na análise de padrão certificado. O estudo efetuado demonstrou a viabilidade do uso das cascas de sementes de *Moringa oleífera* em sistemas em fluxo para a separação e pré-concentração das espécies de cromo.

Ao final do trabalho, é apresentado o desenvolvimento de um método para extração seletiva das espécies inorgânicas de arsênio e detecção por Espectroscopia de Absorção Atômica com Forno de Grafite. O método é baseado na retenção seletiva das espécies inorgânicas de arsênio utilizando como bioadsorvente as sementes integrais de *Moringa oleífera*, sendo o pH a variável determinante para o processo de separação. Em pH 7,0 a espécie As(III) é quantitativamente retida pelas sementes enquanto a adsorção de As(V) ocorre em menor extensão. As variáveis que afetam a adsorção: massa e tempo de agitação foram estudadas,

tendo sido encontrados valores de 1,0 g e 60 minutos, respectivamente como valores otimizados. O processo de adsorção da espécie As(III) pelas sementes foi estudado à partir da construção de isothermas de adsorção. O método foi aplicado para análise de especiação de arsênio inorgânico em amostras de água e a exatidão do método avaliada à partir da análise de material de referência. Os valores encontrados apresentaram elevada concordância com os valores reais, evidenciando a eficiência do método proposto.

Palavras-chave: especiação, arsênio, cromo, Moringa oleífera.

ABSTRACT

This work describes the development of solid phase extraction methods for metal ions speciation with emphasis on chromium and arsenic, using *Moringa oleifera* seeds and their husks as bioadsorbents.

Initially, characterization techniques including infrared spectroscopy, thermal analysis, scanning electron microscopy, energy dispersive spectroscopy and study of surface areas by theory adsorption multielement were used in physic chemical evaluation of husks and *Moringa oleifera* seeds.

Subsequently, it is presented the development of flow system for extraction/preconcentration of Cr(III) and Cr(VI) species coupled to the spectrophotometry flame atomic absorption for determination of these species in food and environmental samples. The system is based on the selective retention of Cr(III) and Cr(VI) species in mini- columns filled with husks of the *Moringa oleifera* seeds. Chemical and flow variables were evaluated using the multivariate method. The retention of Cr(III) occurs in the approximately pH 7,0, and the Cr(VI) retention was approximately pH 1-2. The results of the optimized conditions, selected with the compromise between sensitivity and sample throughput were sample flow rate 4.5 mL min^{-1} , eluent flow rate of 4.0 mL min^{-1} ; eluent concentration of 0.01 mol L^{-1} the HCl for Cr (III) desorption and 0.01 mol L^{-1} NaOH to Cr(VI) desorption. The detection limit was 1.9 mg L^{-1} for Cr (III) and 2.45 g L^{-1} for Cr (VI). The linear response range was from 5.73 to 1000 mg L^{-1} for Cr (III) and 7.35 to 1000 mg L^{-1} for Cr (VI) . In order to validate the proposed method , it was applied to water and alcohol samples, as well as the analysis of standard certificate. The study carried out demonstrated the feasibility of using *Moringa oleifera* husks in flow systems for separation and pre- concentration of chromium species.

At the end of the work presents the development of a method for selective extraction of arsenic inorganic species of and detection by Atomic Absorption Spectroscopy Graphite Furnace. The method is based on the selective retention of inorganic arsenic species using as the bioadsorbent *Moringa oleifera* seeds, the pH being variable to the separation process. At pH 7.0 this As (III)species is quantitatively retained by the seed while the adsorption of As(V) occurs to a lesser extent . The variables that affect the adsorption: mass and contact time were studied, having been found values of 1.0 g and 60 minutes as optimized values . The process of As (III) adsorption of the seeds was studied by starting the construction of

adsorption isotherms. The method was applied to the speciation analysis of inorganic arsenic in water samples and evaluated the accuracy of the method based on the analysis of reference material. The values obtained showed high agreement with the actual values , demonstrating the efficiency of the proposed method.

Keywords: arsenic, chromium, speciation, Moringa oleífera

SUMÁRIO

LISTA DE ABREVIATURAS E SIGLAS.....	XV
LISTA DE TABELAS.....	XVII
LISTA DE FIGURAS.....	XIX
INTRODUÇÃO.....	01
OBJETIVOS GERAIS.....	05
ESTRUTURA GERAL DA TESE.....	05
REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS	06
 CAPÍTULO 1: Caracterização Físico-Química das sementes de Moringa oleífera par avaliação de seu uso como bioadsorvente.....	 09
REVISÃO BIBLIOGRÁFICA.....	10
Adsorventes Naturais.....	10
<i>Moringa oleífera</i>	12
Adsorção.....	17
Adsorção química ou quimissorção.....	17
Adsorção física ou fisissorção.....	18
Adsorventes.....	18
Termodinâmica da adsorção.....	19
OBJETIVOS.....	24
PARTE EXPERIMENTAL.....	24
Caracterização dos adsorventes naturais.....	25
RESULTADOS E DISCUSSÕES.....	26
Caracterização dos adsorventes naturais	26
REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS.....	34
 CAPÍTULO 2: Extração seletiva e pré-concentração de cromo utilizando cascas de Moringa oleífera como bioadsorvente e detecção por FAAS.....	 39
REVISÃO BIBLIOGRÁFICA.....	40
Cromo.....	40
Extração em fase sólida (SPE) on-line aplicada à especiação de íons metálicos.....	44

OBJETIVOS.....	48
PROCEDIMENTO EXPERIMENTAL.....	49
Padrões, reagentes e amostras.....	49
Instrumentação.....	50
Metodologia Analítica.....	50
Avaliação das condições para separação das espécies de cromo.....	50
Construção das isotermas de adsorção.....	50
Procedimento do sistema de pré-concentração em fluxo.....	51
Otimização dos parâmetros químicos e de fluxo do sistema de pré-concentração de cromo...53	
Testes de seletividade.....	55
Avaliação do desempenho analítico.....	56
Homogeneidade e Estabilidade das cascas de semente de <i>M. oleífera</i>	57
Faixa linear, cálculo dos limites de detecção (L.D.), de quantificação (L.Q.) e precisão.....	57
Parâmetros para descrição da eficiência de um sistema de pré-concentração em linha.....	57
Fator de enriquecimento (FE).....	57
Eficiência da concentração (EC).....	58
Índice de consumo (IC).....	59
Testes de exatidão.....	59
RESULTADOS E DISCUSSÕES.....	60
Otimização da separação das espécies de cromo.....	60
Isotermas de adsorção.....	62
Otimização dos parâmetros químicos e de fluxo do sistema de pré-concentração de cromo...68	
Otimização do eluente para dessorção das espécies de cromo.....	68
Planejamento Fatorial.....	70
Construção da superfície de resposta.....	71
Testes de seletividade.....	74
Avaliação do desempenho analítico.....	80
Homogeneidade e Estabilidade do bioadsorvente.....	80
Faixa linear, cálculo dos limites de detecção (LD), de quantificação (LQ) e precisão.....	82
Parâmetros para descrição da eficiência de um sistema de pré-concentração em linha	84
Testes de recuperação.....	85
Testes de exatidão.....	89

CONCLUSÕES	91
REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS.....	92
CAPÍTULO 3: Desenvolvimento de um método para extração seletiva de arsênio inorgânico utilizando sementes de Moringa oleífera como bioadsorvente.....	99
REVISÃO BIBLIOGRÁFICA.....	100
Arsênio.....	100
Especiação de Arsênio.....	103
OBJETIVOS.....	106
PROCEDIMENTO EXPERIMENTAL.....	107
Padrões, reagentes e amostras.....	107
Instrumentação.....	107
Metodologia Analítica.....	108
Determinação de arsênio.....	108
Otimização das condições de detecção para As por GF-AAS.....	109
Otimização das condições para separação das espécies de arsênio.....	111
Construção das isotermas de adsorção.....	112
Avaliação dos fatores que afetam a adsorção de As(III).....	112
Testes de seletividade.....	113
Determinação de As(V) na presença de As(III).....	113
Testes de exatidão.....	115
RESULTADOS E DISCUSSÕES.....	115
Otimização das condições de detecção para As por GF-AAS.....	121
Otimização das condições para separação das espécies inorgânicas de arsênio.....	124
Isotermas de adsorção.....	126
Otimização dos fatores que afetam a adsorção de As(III).....	126
Testes de seletividade.....	128
Determinação de As(V) na presença de As(III).....	129
Testes de Exatidão.....	131
CONCLUSÕES	134
REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS	135

LISTA DE ABREVIATURAS E SIGLAS

FAAS – Flame Atomic Absorption Spectrometry

SPE – Solid Phase Extraction

HG AAS – Hydride Generation Atomic Absorption Spectrometry

ICP OES – Inductively Coupled Plasma Optical Emission Spectrometry

AAS – Atomic Absorption Spectrometry

GF AAS – Graphite Furnace Atomic Absorption Spectrometry

PCZ – Ponto de Carga Zero

CMA – Capacidade Máxima Adsorativa

K_f - Constante da equação de Freundlich (mg g^{-1}) (L mg^{-1})^{1/n}

$Q_{\text{máx}}$ – Constante da equação de Langmuir (mg g^{-1})

b – Constante da equação de Langmuir

LD – Limite de Detecção ($\mu\text{g L}^{-1}$)

LQ - Limite de Quantificação ($\mu\text{g L}^{-1}$)

FE – Fator de enriquecimento

EC – Eficiência de concentração

IC – Índice de Consumo

IUPAC – International Union of Pure and Applied Chemistry

HPLC – High Performance Liquid Chromatography

CG – Cromatografia Gasosa

EDX – Energia Dispersiva de Raios-X

MEV – Microscopia Eletrônica de Varredura

FT-MIR – Fourier Transform – Middle Infrared

DPR – Desvio Padrão Relativo

MMA - Monometilarsênico

DMA - Dimetilarsênico

MMAA – Ácido monometilarsênico

DMAA – Ácido dimetilarsênico

MSMA – Metanoarsenato monossódico

NFC – Nanofibras de carbono

TP – Temperatura de Pirólise

TA – Temperatura de Atomização

CCD – Central Composite Design

LISTA DE TABELAS

Tabela I-1: Trabalhos desenvolvidos pelo Laboratório de Espectroscopia Aplicada – IQUFU utilizando as sementes de Moringa e seus derivados.

Tabela I-2: Limites de valores de R_L para o comportamento de processos de adsorção.

Tabela I-3: Classificação da adsorção (K_f), adaptada por IBAMA (1990, *apud* Falone, 2004).

Tabela II-1: Métodos não-cromatográficos para especiação de cromo.

Tabela II-2: Fatores e níveis usados no planejamento fatorial 2^3 aplicado ao sistema de pré-concentração.

Tabela II-3: Matriz Doehlert para otimização da vazão de pré-concentração e massa do adsorvente.

Tabela II-4: Níveis e fatores usados para avaliação dos íons concomitantes selecionados usando planejamento fatorial fracionado.

Tabela II-5: Parâmetros de linearização das isotermas de adsorção segundo os modelos de Langmuir e Freundlich.

Tabela II-6: Valores de Capacidade Máxima Adsorativa de materiais naturais para os íons Cr(III) e Cr(VI).

Tabela II-7: Matriz do planejamento fatorial completo e a resposta analítica na pré-concentração de cromo no sistema proposto.

Tabela II-8: Matriz para otimização da vazão de pré-concentração e massa do adsorvente seguindo matriz Doehlert.

Tabela II-9: Condições otimizadas para o sistema de pré-concentração.

Tabela II-10: Matriz resultante do planejamento fatorial fracionário e a resposta analítica.

Tabela II-11: Fator de interferência obtido para avaliação da influência de possíveis íons interferentes.

Tabela II-12: Fator de interferência em relação a íons complexantes na pré-concentração de Cr(III)/Cr(VI).

Tabela II-13: Avaliação da precisão (repetibilidade) entre diferentes mini-colunas usadas na concentração de cromo.

Tabela II-14: Figuras de mérito do método de pré-concentração de Cr(III) e Cr(VI).

Tabela I-15: Teste de recuperação de Cr(III) em amostras de água.

Tabela II-16: Teste de recuperação de Cr(VI) em amostras de água.

Tabela II-17: Teste de recuperação de Cr(VI) em amostras de bebidas alcoólicas.

Tabela I-18: Análise do material de referência.

Tabela II-19: Comparação de métodos de extração em fase sólida para especiação de Cr(III)/Cr(VI) em águas.

Tabela III - 01: Compostos de arsênio encontrados em águas.

Tabela III-02: Métodos utilizados para especiação de arsênio.

Tabela III-3: Parâmetros instrumentais recomendados pelo fabricante para determinação de As por GF AAS.

Tabela III – 4: Programa de temperatura utilizado para o tratamento dos tubos de grafite e da plataforma interna com os modificadores permanentes.

Tabela III-5: Matriz do planejamento fatorial 23 completo para o programa de temperatura.

Tabela II-6: Matriz do planejamento composto 2^2 com ponto central para otimização das temperaturas de pirólise e atomização.

Tabela III-7: Níveis e fatores usados para avaliação dos íons concomitantes selecionados usando planejamento fatorial fracionado.

Tabela III-8: Resultados do planejamento fatorial 2^3 completo para o programa de temperatura.

Tabela III-9: Resultados do planejamento composto central para otimização das temperaturas de pirólise e atomização.

Tabela III-10: Programa de temperatura otimizado para determinação de As por GF AAS utilizando irídio como modificador permanente.

Tabela III-11: Parâmetros de linearização das isotermas de adsorção segundo os modelos de Langmuir e Freundlich.

Tabela III-12: Teste de recuperação para As(III) em águas.

Tabela III-13: Teste de recuperação para As(V) em águas.

Tabela III-14: Análise do material de referência.

LISTA DE FIGURAS

Figura 1: Distribuição dos elementos trabalhados em publicações envolvendo métodos de especiação/extração seletiva.

Figura I-1: Diagrama esquemático do mecanismo de troca iônica

Figura I-2: Árvore de *Moringa oleífera*.

Figura I-3: Folhas de *Moringa oleífera*.

Figura I-3: Folhas de *Moringa oleífera*.

Figura I-4: Vagens de *Moringa oleífera*.

Figura I-5: Sementes de *Moringa oleífera*.

Figura I-6: Classificação das isotermas de adsorção.

Figura I-7: Espectros de Infravermelho Médio obtidos para a casca *in natura* de sementes de *Moringa oleífera* e sementes integrais de *Moringa oleífera*.

Figura I-8: Termograma das cascas das sementes de moringa e das sementes integrais de *Moringa oleífera*.

Figura I-9: Análise EDX para as sementes de *Moringa oleífera in natura*.

Figura I-10: Microscopia eletrônica de varredura para as sementes de *Moringa oleífera*.

Figura II-1: Representação esquemática da distribuição de cromo no meio ambiente .

Figura II-2: Distribuição esquemática das espécies de Cr(III) em função do pH do meio .

Figura II-3: Abundância relativa das espécies de Cr(VI) de acordo com o pH do meio .

Figura II-4: Diagrama esquemático de uma mini-coluna típica onde: T é o tubo de Tygon, S é o material sorvente e F é o filtro (lã de vidro) .

Figura II-5: Sistema de pré-concentração em linha.

Figura II-6: Fluxograma do método proposto para especiação de cromo.

Figura II-7: PCZ das cascas das sementes de *Moringa oleífera*.

Figura II- 8: Avaliação da retenção das espécies de cromo em função da variação de pH.

Figura II-9: Efeito da variação do tempo de adsorção em função da adsorção de íons Cr utilizando sementes de moringa como bioadsorvente.

Figura I-10: Isoterma de adsorção de íons Cr(III) (a) e Cr(VI) (b) utilizando cascas de *Moringa oleífera* como bioadsorvente.

Figura II-11: Linearização das isotermas de adsorção de Cr(III) aplicadas aos modelos de Langmuir (a) e Freundlich (b).

Figura II-12: Linearização das isotermas de adsorção de Cr(III) aplicadas aos modelos de Langmuir (a) e Freundlich (b).

Figura II-13: Gráfico de Pareto dos efeitos padronizados para as variáveis do sistema de extração seletiva/ pré-concentração de Cr(III) usando absorvância integrada como resposta.

Figura II-14: Superfície de resposta para Matriz Doehlert. (volume de amostra foi 15,0 mL contendo $100 \mu\text{g L}^{-1}$ Cr(III) pH da amostra 7,0 e eluente HCl $0,01 \text{ mol L}^{-1}$).

Figura II-15: Gráfico de Pareto dos efeitos para o estudo dos íons interferentes no sistema de pré-concentração de Cr(III), usando absorvância integrada como resposta.

Figura II-16: Gráfico de Pareto dos efeitos para o estudo dos íons interferentes no sistema de pré-concentração de Cr(VI), usando absorvância integrada como resposta.

Figura II-17: Curvas de calibração para pré-concentração de Cr(VI) em meio alcoólico (a) e aquoso (b).

Figura II-18: Estabilidade das cascas de sementes de *Moringa oleífera* frente a 90 ciclos de concentração/eluição utilizando solução de $100 \mu\text{g L}^{-1}$ de Cr(III).

Figura II-19: Curvas de calibração de Cr(III) com etapa de pré-concentração (a) e sem a etapa de pré-concentração (b).

Figura II-20: Curvas de calibração de Cr(VI) com etapa de pré-concentração (a) e sem a etapa de pré-concentração (b).

Figura III -01: Estrutura Química do Aditivo Danacote®.

Figura III-2: Fluxograma do método desenvolvido para especiação de arsênio inorgânico.

Figura III-3: Sinal transiente atômico (---) e de fundo (---) para o As $10 \mu\text{g.L}^{-1}$ empregando irídio como modificador permanente.

Figura III-4: Sinal transiente atômico (---) e de fundo (---) para o As(V) $10 \mu\text{g.L}^{-1}$ empregando nióbio como modificador permanente.

Figura III – 5: Gráfico de Pareto obtido a partir do planejamento fatorial 23 completo para o programa de temperatura.

Figura III-6: Superfície de resposta obtida para o CCD descrito na tabela III-9.

Figura III-7: Distribuição das espécies de As(III) (a) e As(V) (b) em função do pH.

Figura III-8: Efeito do pH na adsorção de As(III) e As(V).

Figura III-9: Isoterma para adsorção dos íons As(III) pelas sementes de moringa.

Figura III-10: Isotermas linearizadas para a adsorção de As(III) pelas sementes de moringa segundo os modelos de Langmuir (a) e Freundlich (b).

Figura III-11: Variação da porcentagem de adsorção dos íons As(III) pelas sementes de moringa em função da variação da massa do adsorvente.

Figura III-12: Variação da porcentagem de adsorção de As(III) em função da variação do tempo de adsorção.

Figura III -13: Gráfico de Pareto para avaliação da seletividade durante o processo de adsorção de íons As(III).

Figura III-14: Curva de calibração para determinação de As(V) na presença de As(III)

1.0. INTRODUÇÃO

Nos últimos anos, o conhecimento das diferentes espécies químicas tem ganhado importância crescente, visto que a determinação da concentração total de um elemento é importante, mas não é suficiente para avaliação de sua toxicidade e biodisponibilidade. A determinação da concentração total de um elemento em uma dada matriz é importante, mas não é suficiente para prever a ecotoxicologia destes no meio. Frequentemente, a falta de informação das diferentes formas químicas nas quais os elementos são encontrados na natureza é uma das principais limitações para a compreensão do ciclo biogeoquímico dos elementos e sua atuação nos sistemas biológicos (Adams, 2004).

Nas recomendações da IUPAC, o termo espécie química é definido como uma forma específica de um elemento com relação à composição isotópica, estado de oxidação ou eletrônico, e/ou estrutura molecular ou complexada. Desta forma, a especiação é definida como sendo o processo analítico de identificação e/ou quantificação de uma ou mais espécies químicas, ou seja, a especiação envolve a determinação da distribuição entre espécies químicas definidas em um sistema (IUPAC, 2000).

Estudos de especiação apresentam importância em diversas áreas como, por exemplo, na avaliação e tratamento de águas, solos e sedimentos e na investigação do transporte dos elementos no meio ambiente.

A Figura 1 mostra a distribuição dos elementos químicos de interesse em estudos de especiação.

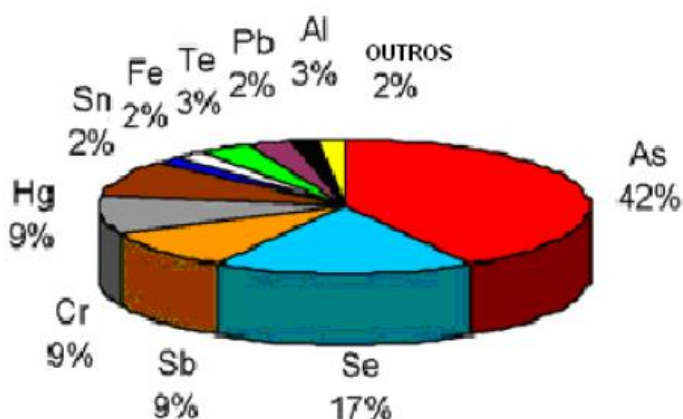


Figura 1: Distribuição dos elementos trabalhados em publicações envolvendo métodos de especiação/extração seletiva (Gonzalvez et al., 2009).

Diferentes técnicas de separação e detecção podem ser utilizadas para estudos de especiação (Gonzalvez et al., 2009). No entanto, a grande maioria destas técnicas é limitada, pois não tendem a combinar uma capacidade de separação eficiente com sistemas de detecção sensíveis e seletivos. Assim, as técnicas hifenadas, bastante difundidas na década de 90, têm sido bastante empregadas na especiação de metais. Nesse sentido, as técnicas cromatográficas, como a cromatografia gasosa (CG) e cromatografia líquida de alta eficiência (CLAE) têm sido amplamente utilizadas (Vieira et al., 2009).

Apesar das técnicas cromatográficas serem bastante utilizadas como técnicas de separação, normalmente é necessário o preparo prévio das amostras antes da injeção, o que pode comprometer a especiação química.

Assim, diferentes estratégias são definidas como métodos não cromatográficos de especiação, como: uso de sistemas de equações proporcionais, extração seletiva da espécie e os procedimentos de derivatização e volatilização seletiva.

Os métodos espectrométricos de absorção estão entre os procedimentos mais sensíveis e seletivos para determinação de íons metálicos. Entretanto, a Espectroscopia Atômica, devido à alta temperatura usada nas celas de medida, oferecem aplicações limitadas para especiação (De la Guardia, 1999). Os sinais atômicos são baseados na presença de átomos livres no estado fundamental ou excitados, sendo difícil obter diferentes sinais como função das formas químicas do elemento a ser determinado. No entanto, é possível utilizar a Espectroscopia Atômica por meio de hifenação com processos de separação.

O uso da extração em fase sólida (SPE) é uma proposta para análise de especiação sendo a escolha do adsorvente dependente de sua capacidade de adsorção frente às espécies escolhidas. Na maioria dos procedimentos de extração em fase sólida, os elementos de interesse são extraídos por adsorção e eluídos com uma pequena quantidade de eluente, podendo ser detectados diretamente no eluente (Emteborg et al., 1995), em outros procedimentos o passo da eluição pode ser suprimido, uma vez que apenas uma das espécies químicas será retida pelo adsorvente, deixando as demais livres em solução para serem determinadas. A fácil adaptação em sistemas em linha e a disponibilidade de vários sorventes são vantagens importantes desta técnica (Camel et al., 2003).

Vários tipos de adsorventes sintéticos têm sido reportados em procedimentos de extração de cátions e ânions, entretanto o uso de materiais chamados de adsorventes naturais tem se destacado. Esses materiais possuem características em potencial como pré-concentradores alternativos (Godlewska-Zylkiewicz, 2001) e têm sido recentemente empregados com sucesso em processos de adsorção de íons metálicos.

Frois e colaboradores (2011) utilizaram a montmorilonita saturada com íons potássio (MTK) para pré-concentração e análise de especiação de cromo. A sorção de Cr(III) foi de aproximadamente 100% , sugerindo que a MTK era um bom material para pré-concentração de Cr(III), enquanto o Cr(VI) praticamente não foi retido, sugerindo que o material poderia ser usado na especiação de cromo em meio aquoso.

Nesse contexto, devido à possibilidade do uso de adsorventes no desenvolvimento de métodos de especiação, aliado aos excelentes resultados apresentados pelo uso das sementes de *Moringa oleífera* em procedimentos de extração em fase sólida para determinação de diferentes metais em diversos tipos de amostras (Araújo et al., 2010; Alves, et al., 2010, Alves et al., 2011, Do Carmo et al., 2013), ela se destaca como um adsorvente natural de baixo custo e fácil obtenção, com potencial para ser aplicado a procedimentos de extração seletiva de íons metálicos.

A *Moringa oleífera* Lam. (família *Moringaceae*) é uma planta originária da Índia, que hoje se espalhou pelo mundo todo. No Brasil, a introdução da árvore inicialmente se limitou a ornamentação de parques públicos (Kerr et al., 1999). A moringa possui a capacidade de flocular e coagular material particulado em águas naturais. Gassenschmidt e colaboradores (1995) isolaram e purificaram os agentes ativos de coagulação da moringa e observaram que se trata de uma proteína. Os aminoácidos detectados majoritariamente foram o ácido glutâmico, a prolina, a metionina e a arginina, porém os mecanismos de coagulação são ainda desconhecidos. Muitos estudos (Olsen et al., 1987; Samia et al., 1988; Okuofu et al., 1995; Evison et al., 1996; Ndabigengesere et al., 1995), foram desenvolvidos utilizando a moringa no tratamento de águas residuárias devido às suas propriedades de coagulação e floculação, entretanto, seu uso como fase sólida para processos de extração seletiva/ especiação ainda não é explorado.

Desta forma, diante do crescente avanço no desenvolvimento de métodos não cromatográficos de especiação e levando-se em conta a existência de limitações na determinação das várias espécies percebe-se a necessidade do desenvolvimento de

metodologias de baixo custo que permitam a determinação das diferentes formas de um elemento químico.

Com base nas observações efetuadas, o presente trabalho está alicerçado no estudo do uso das sementes de *Moringa oleífera* como bioadsorvente em métodos de extração em fase sólida para especiação de cromo e arsênio em amostras de interesse ambiental e alimentício, contribuindo para o desenvolvimento de uma metodologia de baixo custo e fácil aplicação relacionada à química limpa.

2.0. – OBJETIVOS GERAIS

- ✓ Desenvolver um método de pré-concentração e extração seletiva Cr(III)/Cr(VI) acoplado on-line ao Espectrofotômetro de Absorção Atômica por Chama.
- ✓ Desenvolver um método de extração seletiva de As(III) para determinação de As inorgânico por Espectrometria de Absorção Atômica com Forno de Grafite.

3.0. ESTRUTURA GERAL DA TESE

Em que pese a ideia geral desta Tese com o desenvolvimento de métodos não cromatográficos para especiação de cromo e arsênio empregando sementes de *Moringa oleífera* como bioadsorvente, optou-se por dividi-la em três capítulos para melhor compreensão dos resultados obtidos. O primeiro capítulo versa sobre os estudos associados com a moringa incluindo a sua caracterização. No segundo capítulo, são apresentados os resultados para aplicação das cascas das sementes de *Moringa oleífera* como bioadsorvente no desenvolvimento de um método de extração seletiva e pré-concentração em fluxo para determinação de Cr(III) e/ou Cr(VI) em baixas concentrações utilizando Espectrometria de Absorção Atômica por Chama. Já o terceiro capítulo aborda a aplicação das sementes integrais de moringa como bioadsorvente no desenvolvimento de um método de extração seletiva de As(III) para especiação de arsênio utilizando Espectrometria de Absorção Atômica com Forno de Grafite para determinação de arsênio inorgânico em águas.

4.0. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

Adams, F.C. “*Elemental speciation: where do we come from? where do we go?*”. Journal of Analytical Atomic Spectrometry, 19, 1090–1097, **2004**.

Alves, V.N., Borges, S.S. O., Neto, W.B., Coelho, N. M. M. “*Determination of Low Levels of Lead in Beer Using Solid-Phase Extraction and Detection by Flame Atomic Absorption Spectrometry*”. Journal of Automated Methods and Management in Chemistry, **2011**.

Alves, V.N., Mosquetta, R., Coelho, N.M.M., Bianchin, J.N., Roux, K.C. P., Martendal, E., Carasek, E. “*Determination of cadmium in alcohol fuel using Moringa oleifera seeds as a biosorbent in an on-line system coupled to FAAS*”. Talanta, 80 1133–1138, **2010**.

Araújo, C.S.T., Alves, V. N., Rezendo, H.C., Coelho, N. M.M. Coelho. “*Development of a flow system for the determination of low concentrations of silver using Moringa oleifera seeds as biosorbent and flame atomic absorption spectrometry*”. Microchemical Journal, 96, 82–85, **2010**.

Camel, V. “*Solid phase extraction of trace elements – Review*”. Spectrochimica Acta Part B 58, 1177-1233, **2003**.

De la Guardia, M.; Cervera, M. L.; Morales-Rubio, A. “*Speciation studies by atomic Spectroscopy*”. Advances in Atomic Spectroscopy. JAI in Press, **1999**.

Do Carmo, S.N., Damásio, F.Q., Alves, V. N., Marques, T. L., Coelho, N. M. M. Coelho. “*Direct determination of copper in gasoline by Flame Atomic Absorption Spectrometry after sorption and preconcentration on Moringa oleifera husks*”. Microchemical Journal, Article in Press, doi: 10. 1016/j. microc. 2013.04.010.

Emteborg, H., Baxter, D.C., Sharp, M., Frech, W. “*Evaluation, mechanism and application of solid-phase extraction using a dithiocarbamate resin for the sampling and determination of mercury species in humic-rich natural waters*”. Analyst 120, 69–77, **1995**.

Evison, L. M., Muyibi, S. A. “*Moringa oleifera seeds for softening hardwater*”. Water Research. 1099-1105, **1995**.

Frois, S. R., Grassi, M. T., Fernandes, T. C., Barreto, R. A.S., Abate, G. “*Pré-concentração de Cr(III) e Análise de Especificação de Cromo empregando Montmorilonita Saturada com íons potássio*”. Quimica. Nova, 34, 462-467, **2011**.

Godlewska-Zylkiewicz, B. “*Analytical applications of living organisms for preconcentration of trace metals and their speciation*”. Critical reviews in Analytical chemistry, 175-189, **2001**.

Gonzalvez, A., Cervera, M.L., Armenta, S., De la Guardia, M. “*A review of non-chromatographic methods for speciation analysis* “. Analytica Chimica Acta, 636, 129–157, **2009**.

IUPAC Recommendations 2000. Pure Appl. Chem.,72, 1453–1470, 2000.

Kabata-Pendias, A.; *Trace elements in soils and plants*, 3rd ed., CRC Press: Boca Raton, 2001, p. 413.

Maquieira, A.; Elmahadi, H. A. M.; Puchades, R. “*Imobilized cyanobacteria for on-line trace metal enrichment by flow injection atomic absorption spectrometry*.”Analytical Chemistry, 66, 3632-3638, **1994**.

Ndabigengesere, A.; Narasiah, K. S.; Talbot, B. G. “*Active agents and mechanism of coagulation of turbid water using Moringa oleifera*”. Water Research,703-710, **1995**.

Olsen, A. “*Low technology water purification by bentonite clay and Moringa oleifera seeds flocculation as performed in sudanese villages: effects on Schistosoma Mansoni cercariae*”. Water Research, 517-522, **1987**.

Sperling, M.; Yin, X.; Welz, B. "*Determination of (ultra)trace amounts of lead in biological materials by on-line coupling flow injection microcolumn separation and preconcentration to electrothermal atomic absorption spectrometry using a macrocycle immobilized silica gel sorbent*". Analyst 14, 1625-1629, **1992**.

Terada, K. "*Preconcentration of trace elements by sorption*." Analytical Sciences, 7, 187-197, **1991**.

Themelis, D. G.; Kika, F. S.; Economou, A. "*Flow injection direct spectrophotometric assay for the speciation of trace chromium(III) and chromium(VI) using chromotropic acid as chromogenic reagent*". Talanta, 69, 615-620, **2006**.

Vieira, M. A., Grinberg, P., Bobeda, C. R.R., Reyes, M. N.M., Campos, R. C. "*Non-chromatographic atomic spectrometric methods in speciation analysis: A review*". Spectrochimica Acta Part B 64, 459–476, **2009**.

Zhang, N.; Suleiman, J. S.; He, M.; Hu, B. "*Chromium(III)-imprinted silica gel for speciation analysis of chromium in environmental water samples with ICP-MS detection*". Talanta, 75, 536 -543, **2008**.

Capítulo 1:

**Caracterização físico-química das sementes de
Moringa oleífera para avaliação de seu uso como
bioadsorvente**

1.0 .REVISÃO BIBLIOGRÁFICA

1.1. Adsorventes Naturais

Diversos materiais sorventes são empregados em métodos de extração em fase sólida, e a escolha do sorvente apropriado depende da natureza do analito de interesse e da matriz na qual ele se encontra.

Os extratores sólidos usados em métodos de concentração/extração são comumente de origem sintética e são classificados como adsorventes polares e apolares, resinas quelantes e resinas trocadoras de íons (Terada, 1991). Entretanto, mesmo de maneira discreta, alguns trabalhos têm evidenciado que certos adsorventes de origem natural possuem características em potencial como concentradores alternativos (Godlewska-Zylkiewich, 2001; Maquieira, 1994). A aplicação nos últimos anos destes referidos adsorventes naturais tem merecido bastante atenção frente à possibilidade de seu uso em estudos de especiação (Maquieira, 1994), bem como os custos menores em relação aos materiais sintéticos como a sílica modificada e resinas quelantes.

O termo adsorvente natural é designado a qualquer material que não seja produzido sinteticamente e que apresente propriedades adsorptivas de espécies químicas de origem inorgânica ou orgânica. Além disso, são considerados materiais de fácil aquisição, e em alguns casos são tidos como subprodutos de processos industriais. Para o melhor entendimento das propriedades dos adsorventes naturais, estes são divididos entre as seguintes categorias: biossorventes, adsorventes minerais, adsorventes húmicos e lignocelulósicos.

Os bioadsorventes (algas, fungos, leveduras e bactérias dentre outros) são considerados uma importante classe dos adsorventes naturais, pois possuem diferentemente das resinas sintéticas, vários sítios de ligação incluindo grupos aminas, carboxilas, hidroxilas entre outros, o que lhes confere maior capacidade adsorptiva quando comparados à outros adsorventes naturais. (Bag et al., 1998).

Os mecanismos de interação entre as espécies metálicas e os biossorventes são divididos em duas categorias, dependendo da atividade metabólica apresentada pelo biossorvente. A primeira categoria compreende apenas uma rápida interação das espécies metálicas com a superfície do biossorvente. Esse processo denominado de

interação passiva ocorre tanto nos biosorventes sem atividade metabólica quanto nos biosorventes vivos. Na segunda categoria, as espécies metálicas inicialmente exercem uma rápida interação superficial com o biosorvente vivo, posteriormente ocorre um processo mais lento e complexo, iniciado pela ligação das espécies metálicas com a membrana celular seguido do transporte por meio desta resultando por fim em reações intracelulares como metilação, redução e oxidação (Madrid et al., 1998).

A classe dos adsorventes minerais compreende basicamente as zeólitas e argilas, além de subprodutos industriais como a lama vermelha proveniente da indústria de alumínio (Baylei et al., 1997).

O vermicomposto é o principal representante dos adsorventes húmicos, se tratando de um material produzido pela degradação biológica de matéria orgânica oriunda de resíduos agrícolas, industriais e urbanos por minhocas (*Eisenia foetida* ou *Lumbricus rubellus*) (Senesi, 1989). A literatura relata que a aplicação dos adsorventes húmicos na adsorção de metais tem sido menos pronunciada que os adsorventes lignocelulósicos, apesar dos mesmos apresentarem elevada capacidade adsortiva (Alves, et al, 2008).

Os adsorventes lignocelulósicos são, em geral, subprodutos agroindustriais tais como resíduos de maçã, sabugo de milho, cascas de soja, coco e amendoim entre outros, sendo constituídos basicamente por celulose, hemicelulose e lignina. Esses materiais naturais possuem a habilidade de adsorver íons metálicos a partir de grupos funcionais, principalmente hidroxilas e carboxilas, presentes na estrutura destas macromoléculas (Araújo. 2009)

O mecanismo responsável pela retenção dos metais pelos adsorventes lignocelulósicos não é totalmente esclarecido, entretanto pode estar baseado em mecanismos de troca iônica e complexação. Uma vez que os metais presentes em sistemas aquosos estão dissolvidos em suas diferentes formas, parte deles podem estar dissolvidos como íons hidratados simples ou íons complexos ligados à ligantes inorgânicos como hidróxidos, cloretos ou carbonatos ou ainda à ligantes orgânicos como aminas, ácidos húmicos, fúlvicos e proteínas. A captura do metal deve ocorrer através de mecanismos complexos de troca iônica e complexação que podem inclusive ocorrer simultaneamente (Araújo, 2009).

Davis e colaboradores (2003) sugerem que a troca iônica é um mecanismo importante na biosorção e as interações eletrostáticas ou forças de London- Van der

Waals podem ser consideradas um mecanismo preciso das ligações iônicas e covalentes entre os adsorventes lignocelulósicos e os íons metálicos. A Figura I-1 apresenta um diagrama esquemático para o mecanismo de troca iônica entre um metal de valência 2+ e um adsorvente lignocelulósico. Dentre os adsorventes lignocelulósicos pode-se citar as sementes de *Moringa oleífera*.

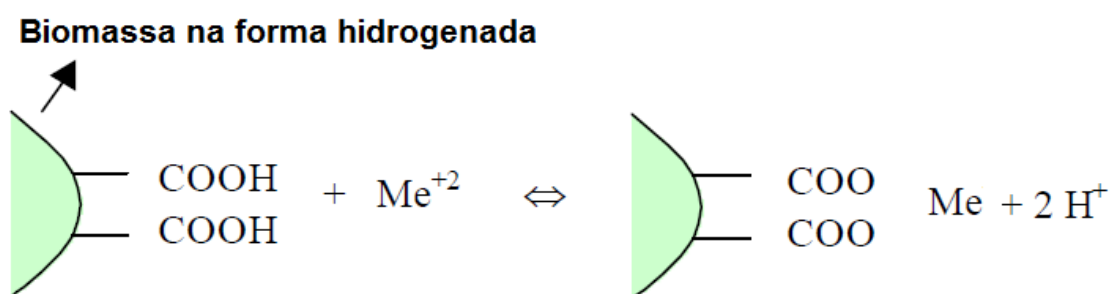


Figura I-1: Diagrama esquemático do mecanismo de troca iônica (Schneider, 2003).

1.2. *Moringa oleífera*

Moringa oleífera é um vegetal conhecido no Hemisfério Norte como *horseradish* (raiz forte), é uma árvore da família *Moringaceae*, da ordem *Papaverales*, de gênero único, com quatorze espécies, nativa das trilhas Agra e Oudh, em Uttar Pradesh, no Himalaia, noroeste da Índia (Jahn et al., 1986). A *Moringa* se adaptou muito bem à região Nordeste brasileira onde os dias são mais longos, com temperaturas médias acima de 25°C. A Figura I-2 apresenta as árvores de *Moringa oleífera*.



Figura I-2: Árvore de *Moringa oleífera*. Foto: Almeida, I. L. S., Uberlândia, 2010.

A *Moringa oleífera* tem crescimento rápido, é uma árvore decídua e tem uma altura de 5-12 m, uma copa do tipo guarda-chuva ligada diretamente ao tronco (10-30 cm) com uma cortiça branca avermelhada. A folhagem (Figura I-3) é perene (dependendo do clima), tem folhetos de 1 a 2 cm em diâmetro, as flores são brancas ou apresentam coloração creme e são muito atraentes para abelhas.



Figura I-3: Folhas de *Moringa oleífera*.

Os frutos (vagens) são inicialmente verde claro e finos e se tornam mais largos, na medida em que vão evoluindo de verde escuro até marrom, quando maturados fisiologicamente. São firmes e podem atingir até 120 cm de comprimento dependendo da variedade (Figura I-4).



Figura I-4: Vagens de *Moringa oleífera*. Foto: Almeida, I. L. S., Uberlândia, 2009.

Quando completamente maduras, as sementes secas são redondas ou triangulares e o núcleo é rodeado por um tegumento que possui três asas com aparência de papel transparente. As sementes são acondicionadas no interior das vagens em três conchas fechadas que se abrem quando maduras (Figura I-5).



Figura I-5: Sementes de *Moringa oleifera*. Foto: Alves, V. N., Uberlândia, 2010.

O extrato aquoso das sementes da moringa é conhecido por ser um coagulante natural equivalente ao sulfato de alumínio, podendo atuar também como coadjuvante de coagulação, em associação com sais de ferro ou alumínio (Frighetto, 2007; Guedes, 2004). As sementes, além de promoverem a redução da turbidez das águas por coagulação de partículas coloidais suspensas, apresentam também um efeito de tratamento biológico, eliminando os microorganismos patogênicos. Esta purificação da água se dá por arraste mecânico dos patógenos em solução pelos agregados de partículas que sedimentam, mas também, principalmente, pelo efeito bactericida de um agente ativo antimicrobiano, 4 α - L-raminosi- benzil isotiocianato (Eilert et al., 1981 *apud* Muyibi & Evison, 1995). Verificou-se também que as sementes são capazes de reduzir a dureza da água em cerca de 60-70% (Sani, 1990 *apud* Muyibi & Evison, 1995).

O agente ativo responsável pela coagulação de águas turvas presente nas sementes de *Moringa oleifera* é uma proteína catiônica com peso molecular na faixa de 6–13 kDa (Ndabigengesere *et.al.* 1995).

A introdução da *Moringa oleífera* no Brasil deu-se, em 1950, provavelmente através da Secretaria de Agricultura do Estado do Maranhão, que a importou das

Filipinas. A sua apresentação ao meio científico ocorreu em 1982, por intermédio do Dr. Warwick Estevam Kerr (Silva, 1999), o que resultou na plantação de 25000 mudas em casas de trabalhadores do Maranhão, por estudantes universitários, visando às propriedades nutritivas das suas folhas.

Apesar do uso das sementes de *Moringa* como agente de coagulação ser um dos mais difundidos, diversos trabalhos vem sendo realizados com o objetivo de explorar o potencial apresentado por esse material. A tabela I-1 apresenta alguns trabalhos desenvolvidos pelo Laboratório de Espectroscopia Aplicada do Instituto de Química da Universidade Federal de Uberlândia utilizando as sementes de *Moringa oleifera* e seus derivados.

Tabela I-1: Trabalhos desenvolvidos pelo Laboratório de Espectroscopia Aplicada – IQUFU utilizando as sementes de Moringa e seus derivados.

Aplicação	Referência
Remoção de flúor em águas	Silva et al., 2006
Remoção de Ag em solução aquosa	Araújo et al., 2010
Pré-concentração e determinação de Ag(I) em soluções aquosas.	Araújo et al., 2010
Pré-concentração e determinação de Cd(II) em etanol combustível	Alves et al, 2010
Uso da torta de <i>M.oleifera</i> para adsorção de BTEX em solução aquosa	Almeida, 2010
Caracterização e uso das sementes de <i>M.oleifera</i> como bioadsorvente para remoção de metais em efluentes aquosos	Araújo et al., 2010
Remoção de Manganês em meio aquoso	Marques et al., 2013
Pré-concentração e determinação de Pb em cerveja	Alves et al., 2011
Pré-concentração e determinação de Zn em álcool combustível	Alves et al., 2012
Pré-concentração e determinação de Cu em gasolina	Do Carmo et al., 2013
Pré-concentração e determinação de Zn em amostras de cachaça	Alves et al., 2011
Remoção de Ni em meio aquoso	Marques et al., 2012
Extração Seletiva de Cromo	Alves & Coelho, 2013

Os mecanismos associados à adsorção de íons metálicos por bioadsorventes lignocelulósicos ainda não são claros, sendo possível que a adsorção do íon metálico aconteça por processos de troca iônica e complexação, que podem inclusive acontecer simultaneamente (Araújo et al., 2013).

1.3. Adsorção

A descoberta do fenômeno de adsorção se deu a partir do conhecimento de que um sólido poroso era capaz de reter um gás condensável, na segunda metade do século XVIII por Scheele e Fontana. Eles perceberam que o carvão recém calcinado é capaz de reter volumes expressivos de vários gases e que a eficiência do processo depende da área exposta e da porosidade do material (Guerasimov et al., 1977 & Ruthven, 1984). O fenômeno de adsorção é atualmente definido como o enriquecimento de um ou mais componentes em uma região interfacial devido a um não balanceamento de forças (Gregg; Sing, 1982). Os principais elementos da adsorção são o fluido, a superfície (normalmente um sólido poroso) e os componentes retidos pela superfície. O adsorvente é o sólido no qual se dará o fenômeno de adsorção, o fluido em contato com o adsorvente é chamado de adsorvato e chama-se adsorbato o composto de interesse retido pelo adsorvente (Curbelo, 2002).

Os procedimentos que envolvem os fenômenos adsorvativos ainda se encontram em um estágio menos desenvolvido que a maioria dos outros processos de separação tais como destilação e extração. Tal evidência se justifica pela complexidade do fenômeno e pela escassez de dados experimentais completos que dificultam o desenvolvimento de novos modelos, bem como a avaliação daqueles apresentados na literatura. Esta complexidade pode ser atribuída a vários fatores, dentre eles a não uniformidade da maioria dos sólidos, os quais são frequentemente heterogêneos, possuindo não só uma distribuição diferente de tamanho de poros, mas também diferentes formas de poro, além de uma distribuição de energia dos sítios ativos. Não menos importantes são as interações intermoleculares entre as moléculas da fase sólida e da fase adsorvida, dependentes não só do sistema sólido-fluido, mas também da temperatura (Romanielo, 1999).

Os fenômenos de adsorção podem ser classificados quanto à natureza das interações adsorvente-adsorvato, em dois tipos: adsorção química e adsorção física.

1.3.1. Adsorção química ou quimissorção

Neste processo ocorre efetiva troca de elétrons entre o sólido e a molécula adsorvida, ocasionando a formação de uma única camada sobre a superfície sólida, e liberação de uma quantidade de energia considerável (da mesma ordem de grandeza da energia de uma reação química). Por este motivo este tipo de adsorção é favorecido por

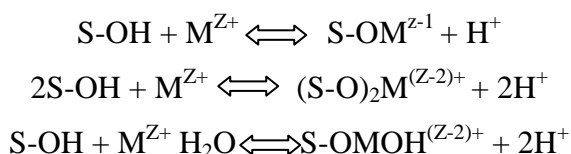
uma diminuição de temperatura e também por um aumento de pressão. A adsorção química forma ligações relativamente fortes, sendo dependente da natureza dos sólidos e, geralmente, é irreversível. A catálise heterogênea é um exemplo de processo que envolve adsorção química dos reagentes (Crow, 1994).

1.3.2. Adsorção física ou fisissorção

É causada por forças de interação molecular do tipo daquelas envolvidas em processos de condensação (Ortiz, 2000). É um fenômeno reversível no qual se observa normalmente a deposição de mais de uma camada de adsorvato sobre a superfície adsorvente. As forças atuantes na adsorção física são idênticas às forças de coesão, do tipo Van der Waals, que atuam em estados líquido, sólido e gasoso. A adsorção física é caracterizada por uma fraca atração do elemento de interesse pela superfície sólida, quando comparada com a quimissorção, tornando a interação reversível e não específica (Crow, 1994).

Processos adsorptivos tem sido considerados os mais efetivos na interação entre metais em baixas concentrações e os sítios dos adsorventes. Além da adsorção física e química, a sorção de troca iônica é comumente mencionada em estudos ambientais (Rygwelski, 1984).

As interações dos íons metálicos (M^{Z+}) com os sítios de ligação das superfícies dos sólidos minerais podem formar complexos, de acordo com as reações de equilíbrio (Sposito, 1989) descritas abaixo.



1.3.3. Adsorventes

A forma e intensidade da adsorção são fundamentalmente determinadas pelo sistema sólido-fluido, além das condições de operação, tais como temperatura e pressão. Assim, é de interesse entender um pouco sobre a estrutura do sólido, uma vez que esta é responsável pelas propriedades adsorptivas do mesmo (Araújo, 2009).

Quando se discute as propriedades superficiais de sólidos com grande superfície específica é conveniente distinguir entre superfície interna e externa de um sólido. Segundo Gregg: Sing (1982), a superfície externa pode ser tomada como aquela que

inclui todas as proeminências e todas as rachaduras que são mais largas que profundas. Já a superfície interna, compreende as paredes de todas as rachaduras, poros e cavidades as quais são mais profundas que largas. Apesar desta arbitrariedade, a distinção entre superfícies interna e externa é útil e prática. Uma ampla variedade de sólidos porosos possui uma superfície interna com várias ordens de grandeza maior que a superfície externa, portanto com superfície total predominantemente interna. Por outro lado, partículas muito pequenas possuem grande superfície externa e pequena, ou até mesmo negligenciável, superfície interna. Quando a agregação destas partículas ocorre, então parte da superfície externa é convertida em superfície interna e um sistema poroso é formado.

O tamanho dos poros determina a acessibilidade das moléculas de adsorvato ao interior do adsorvente, portanto, a distribuição de tamanho dos poros é uma importante propriedade na capacidade de adsorção do adsorvente (Ulson et al., 2003).

De maneira geral, os adsorventes podem ser classificados em função da sua estrutura porosa e também em relação à sua polaridade (Gregg, 1967).

Em relação à polaridade, os adsorventes podem ser classificados em:

- ✓ Polares ou hidrofílicos
- ✓ Apolares ou hidrofóbicos

Em geral, os adsorventes hidrofílicos ou polares são empregados para adsorver substâncias mais polares que o fluido no qual estão contidas. Já os adsorventes apolares ou hidrofóbicos são empregados para a remoção de espécies menos polares (Ulson, 2003).

1.3.4. Termodinâmica da adsorção

Isotermas de adsorção em fase líquida são curvas obtidas a partir da construção de gráficos da quantidade de soluto adsorvido por um adsorvente em função da concentração desse soluto na solução em equilíbrio.

As isotermas de líquidos não são expressas em função da pressão, uma vez que os líquidos podem ser considerados incompressíveis para fins práticos. Assim, as isotermas de adsorção de líquidos geralmente apresentam uma relação entre a quantidade da espécie adsorvida no sólido e sua concentração no fluido, a uma dada temperatura (Senthilkumaar, et al., 2000).

Gregg e Sing (1962) examinaram a forma de um grande número de dados experimentais de isothermas em fase líquida e dividiram-nas em quatro tipos principais, “S, L, H e C”, com subdivisões em cada tipo, apresentadas na Figura I-6.

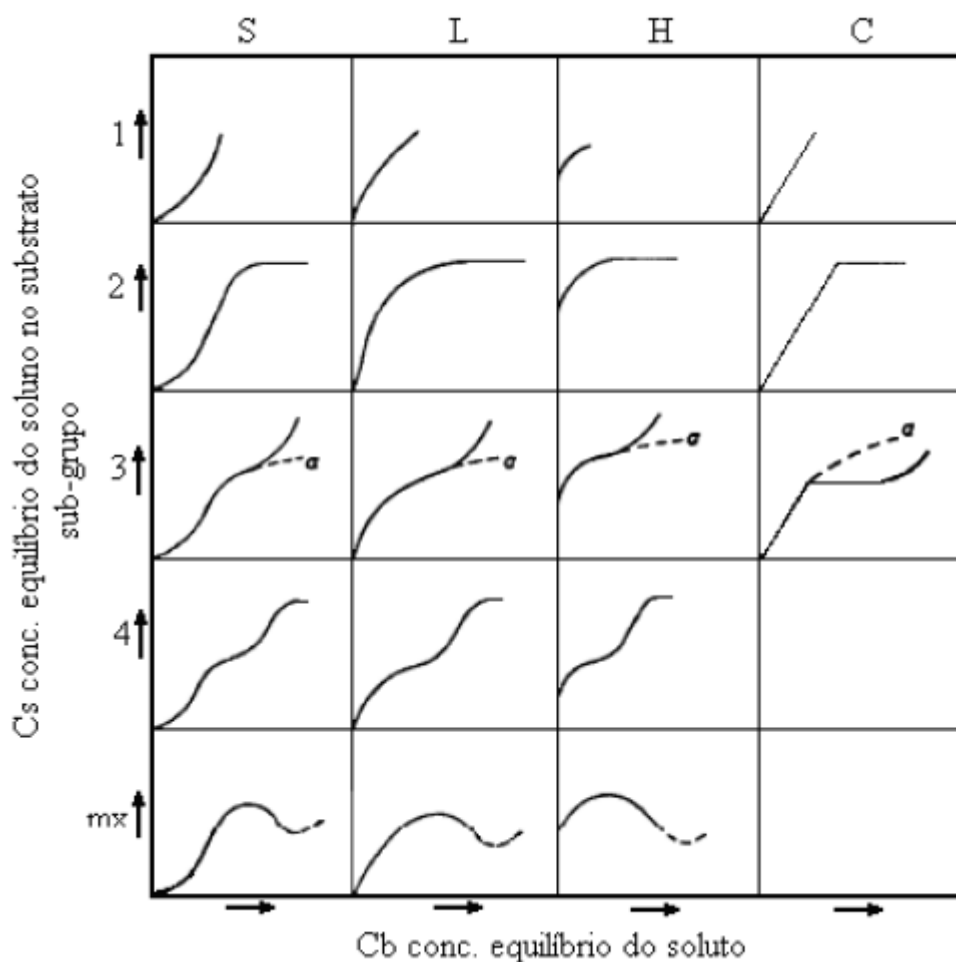


Figura I-6: Classificação das isothermas de adsorção.

Isothermas do tipo S

Este tipo de isoterma é côncava ao eixo da concentração seguida frequentemente por um ponto de inflexão aparentando a forma de um “S”. A adsorção inicial é baixa e aumenta à medida que o número de moléculas adsorvidas aumenta. Isto significa que houve uma associação entre moléculas adsorvidas chamada de adsorção cooperativa.

Isotermas do tipo L

A forma L possui inclinação não linear e côncava em relação à abscissa. Nesse caso, há uma diminuição da disponibilidade dos sítios de adsorção quando a concentração da solução aumenta.

Isotermas do tipo H

Trata-se de um caso especial de curva do tipo L e é observada quando a superfície do adsorvente possui alta afinidade pelo soluto adsorvido.

Isotermas do tipo C

Corresponde a uma partição constante do soluto entre a solução e o adsorvente, dando à curva um aspecto linear. As condições que favorecem as curvas do tipo C são substratos porosos flexíveis e regiões de diferentes graus de solubilidade para o soluto.

Assim, de acordo com os tipos de isoterma, as mesmas podem ser analisadas segundo diferentes modelos matemáticos, representadas por equações simples que relacionam diretamente o volume adsorvido em função da pressão e/ou concentração do adsorvato e as mais utilizadas no estudo da adsorção são as seguintes: Langmuir, Freundlich, Henry, Temkin, Giles e Brunauer, Emmett, Teller (BET). As isotermas de Langmuir e Freundlich serão mais bem detalhadas uma vez que são mais utilizadas na modelagem da adsorção.

Isoterma de Langmüir

A isoterma de Langmuir é um dos modelos mais simples para representação de isotermas de adsorção, e corresponde a um tipo de adsorção em monocamada altamente idealizada. As considerações básicas do modelo de Langmüir são:

- ✓ A superfície do sólido é constituída por um número finito de sítios de adsorção nos quais as moléculas se adsorvem;
- ✓ Cada sítio tem a capacidade de adsorver apenas uma molécula;
- ✓ Todos os sítios possuem a mesma energia adsortiva;
- ✓ Não existem interações entre moléculas adsorvidas em sítios vizinhos.

Utilizando o tratamento matemático da isoterma de Langmuir abaixo, podemos calcular as constantes de Langmuir, Q_{\max} e b . A constante Q_{\max} está relacionada com a

capacidade de adsorção do material em estudo, é expressa em massa (mg) de metal por massa (g) de adsorvente, tendo relação direta com a monocamada adsorvida sobre a superfície; b é uma medida da afinidade adsorvente-adsorvato que está relacionada com a energia livre de adsorção.

A equação de Langmuir é descrita abaixo, (Liu, 2006) sendo C_e a concentração no equilíbrio:

$$q = \frac{Q_{\max} * b * C_e}{1 + b * C_e} \quad (1)$$

Invertendo os termos da equação, temos uma opção de linearização:

$$\frac{1}{q} = \frac{1}{Q_{\max} * b * C_e} + \frac{1}{Q_{\max}} \quad (2)$$

Ou multiplicando a equação 2 por C_e , tem-se a forma linearizada mais freqüentemente usada para a equação de Langmuir:

$$\frac{C_e}{q} = \frac{1}{Q_{\max}} C_e + \frac{1}{Q_{\max} b} \quad (3)$$

Considerando C_e/q como variável dependente e C_e como variável independente, obtêm-se os valores de Q_{\max} e b , onde $1/b$ é o coeficiente angular e $1/Q_{\max}b$ é o coeficiente linear da reta.

A característica essencial da isoterma pode ser expressa pela constante adimensional R_L , chamada parâmetro de equilíbrio. Seu valor corresponde ao grau de adsorção (Rao *et al.*, 2006), que é definida como:

$$R_L = \frac{1}{1 + b * C_e} \quad (4)$$

onde C_e é a concentração de equilíbrio mais alta do metal (mg L^{-1}) e b é a constante de Langmuir.

A Tabela I-2 apresenta a relação entre o tipo de isoterma e o valor de R_L (Rao *et al.*, 2006).

Tabela I-2: Limites de valores de R_L para o comportamento de processos de adsorção.

Valor de R_L	Tipo de isoterma
$R_L > 1$	Desfavorável
$R_L = 1$	Linear
$0 < R_L < 1$	Favorável
$R_L = 0$	Irreversível

Isoterma de Freundlich

Este modelo proposto por Freundlich para equacionar a relação entre a quantidade de material adsorvido e a concentração do material que não foi adsorvido e permanece na solução (concentração no equilíbrio), é notadamente um modelo de características empíricas. O modelo considera que o processo de adsorção apresenta uma distribuição exponencial de calores de adsorção a partir da monocamada adsorvida e propõe a equação 5 para descrevê-lo.

É dado pela equação citado por Namasivayan et al., 2000:

$$q_e = K_f C_e^{1/n} \quad (5)$$

Onde n relaciona-se com a heterogeneidade do sólido e K_f (mg g^{-1}) uma medida da tendência de adsorção do íon na interfase do adsorvente (capacidade de adsorção).

A linearização da equação fornece a expressão:

$$\log q_e = \log K_f + \frac{1}{n} \log C_e \quad (6)$$

A isoterma de Freundlich linearizada é obtida com a construção da curva $\log q_e$ x $\log C_e$, onde o coeficiente angular da equação da reta obtida corresponderá a $1/n$ e o coeficiente linear corresponderá a $\log K_f$. O valor de K_f assim obtido é uma indicação da capacidade do material adsorvedor em estudo.

Quanto maior o valor de K_f , maior a capacidade de adsorção do adsorvente. Os valores de K_f são classificados de acordo com a Tabela I-3.

Tabela I-3: Classificação da adsorção (K_f), adaptada por IBAMA (1990, *apud* Falone, 2004).

Valor de K_f (mg g^{-1})	Adsorção
0-24	Pequena Adsorção
25-49	Média Adsorção
50-149	Grande Adsorção
150	Elevada Adsorção

Esses modelos são utilizados para avaliar o tipo de interação existente entre o adsorvente e os elementos de interesse, levando a uma melhor compreensão dos processos adsorptivos visto que esses processos são utilizados em diversas áreas, principalmente nas técnicas de extração em fase sólida.

2. OBJETIVOS

- ✓ Contribuir para a investigação e busca de materiais alternativos em potencial, para o uso em métodos analíticos, objetivando o desenvolvimento de tecnologias limpas;
- ✓ Caracterizar as sementes integrais bem como as cascas das sementes de *Moringa oleífera* por Espectroscopia no Infravermelho, Análise Termogravimétrica, Microscopia Eletrônica de Varredura, Espectroscopia de energia dispersiva de Raios-X, Teoria de Adsorção Multimolecular.

3. PARTE EXPERIMENTAL

Para caracterização das sementes integrais bem como as cascas das sementes de *Moringa oleífera*, foram empregados os seguintes equipamentos e acessórios:

- ✓ Balança Analítica - Analytical Standard - Modelo Ohaus (OHAUS, Florham Park, USA).

- ✓ Espectrômetro de Infravermelho - Modelo IR. Prestige - 21 (Shimadzu, Tóquio, Japão)
- ✓ Analisador Termogravimétrico – Metler Toledo TGA/SDTA.
- ✓ Espectrômetro de Fluorescência de Raios-X, modelo EDX-700 (Shimadzu, Tóquio, Japão)
- ✓ Liquidificador doméstico - Modelo (Black & Decker do Brasil Ltda, Uberaba, Brasil).
- ✓ Microscópio eletrônico de varredura, modelo JMT-300 (JEOL, Tóquio, Japão).
- ✓ Peneiras TYLER (Bertel - Ind. Metalalúrgica Ltda , Caieiras-SP, Brasil).

No que concerne ao adsorvente utilizado neste trabalho, as sementes de *Moringa oleífera* foram coletadas na cidade de Ituiutaba-MG. Após obtenção do material, as cascas e as sementes integrais foram lavadas duas vezes com água deionizada e secas ao ar durante 8 horas. Posteriormente, as cascas foram separadas das sementes para serem analisadas separadamente.

Nesse sentido, cascas e sementes integrais foram separadamente trituradas utilizando um liquidificador de uso doméstico e peneiradas até obtenção de partículas com tamanho $\leq 55 \mu\text{m}$. Estes foram os materiais utilizados durante todo o procedimento de caracterização.

3.1. Caracterização dos adsorventes naturais

A identificação dos grupos funcionais foi realizada por espectroscopia de infravermelho, sendo que as amostras foram preparadas em pastilhas de KBr na proporção 100:1 (KBr:amostra) foram irradiadas a uma faixa de radiação variando de 4000 a 1000 cm^{-1} , com resolução de 4 cm^{-1} e 32 varreduras por amostra.

A análise termogravimétrica foi empregada para avaliar a estabilidade térmica dos materiais estudados. A amostra foi previamente seca em estufa e massas de 5,3 g foram pesadas para análise, em faixa de temperatura de 25 a 600°C, a uma taxa de aquecimento de 20° min^{-1} sob atmosfera inerte de nitrogênio N_2 (g).

Para obtenção das micrografias, foi utilizado um microscópio eletrônico de varredura. O procedimento consistiu na incidência de um feixe de elétrons com voltagem de 20 kV sobre a amostra coberta com um filme de ouro. O uso em conjunto

do EDX (Energia dispersiva de Raios-X) com o MEV é de grande importância na caracterização de materiais. Enquanto o MEV proporciona nítidas imagens o EDX permite sua imediata identificação. Além da identificação, o equipamento ainda permite o mapeamento da distribuição de elementos químicos presentes no material, gerando mapas composicionais de elementos desejados.

Este parâmetro conhecido como pH no ponto de carga zero (PCZ) é importante quando se deseja investigar o desempenho de certo material sólido como adsorvente de cátions e ânions.

A distribuição do volume dos poros, foi determinada a partir das isotermas de adsorção e dessorção do nitrogênio, pelo método BET, as análises foram conduzidas em um aparelho Micromeritics ASAP 2010.

A metodologia empregada para avaliação do ponto de carga zero (PCZ) foi descrita por Regalbuto *et. al.* (2004). O procedimento consistiu em misturar 50 mg da biomassa com 50 mL de solução aquosa sob diferentes condições de pH inicial (1, 2, 3, 4, 5, 6, 8, 9, 10, 11 e 12) e determinar o pH após 24 horas de equilíbrio. As soluções com pH em faixa ácida foram feitas a partir de diluições de HCl 1 molL⁻¹ e as de pH básico a partir de diluições da solução de NaOH 1 molL⁻¹, já que ambos os reagentes possuem atividade próxima a sua concentração.

4. RESULTADOS E DISCUSSÕES

4.1. Caracterização dos adsorventes naturais

A capacidade de adsorção de metais por bioadsorventes depende da composição química de sua superfície, onde grupos funcionais ativos são responsáveis pela adsorção (Yang & Lua, 2003). Nesse sentido, a espectroscopia de infravermelho é uma técnica importante aplicada como uma ferramenta para elucidar os grupos funcionais que possam estar presentes nos bioadsorventes, em particular no que diz respeito à disponibilidade dos principais grupos envolvidos nos fenômenos de adsorção. Os espectros FT-MIR ilustrados na Figura I-7, apontam os principais grupos funcionais presentes nas superfícies das cascas de moringa e nas sementes integrais de *Moringa oleífera*.

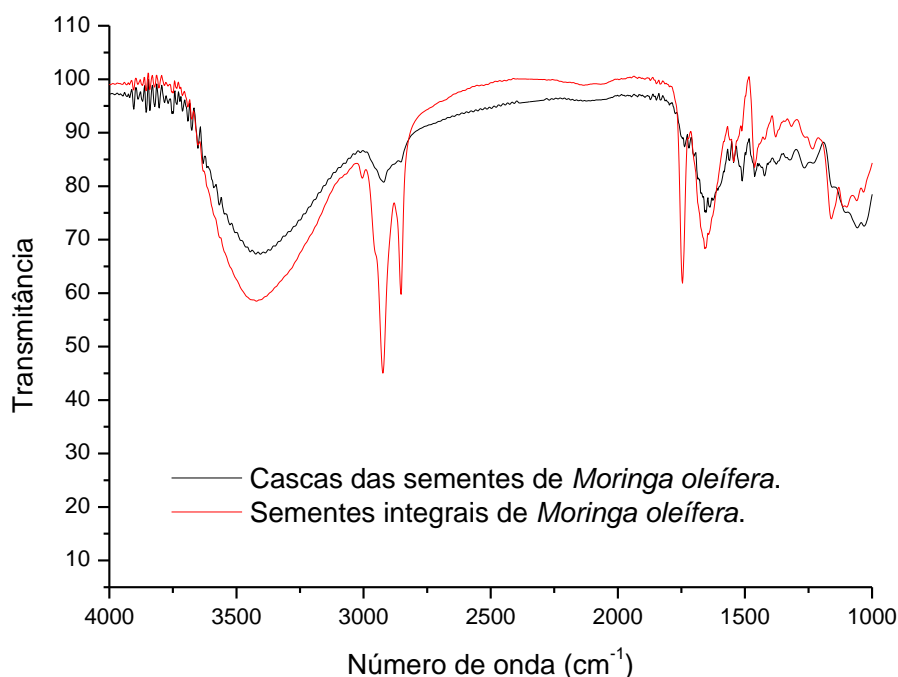


Figura I-7: Espectros de Infravermelho Médio obtidos para a casca *in natura* de sementes de *Moringa oleífera* e sementes integrais de *Moringa oleífera*.

Observa-se comportamento distinto nos espectros para as cascas de sementes de moringa e sementes integrais de moringa. Evidenciando a presença de bandas típicas de alguns grupos funcionais, tais como hidroxila, ésteres, aldeídos e Si-H.

A banda larga centrada em aproximadamente 3400 cm^{-1} , pode ser observada nos dois espectros, sendo de menor intensidade no espectro das cascas de sementes. Essa banda pode ser atribuída ao estiramento da ligação O-H e ao estiramento da ligação N-H de amidas, devido ao elevado conteúdo de proteínas, ácidos graxos, carboidratos e às unidades de lignina presentes nas sementes integrais de moringa. Para as cascas este pico pode ser atribuído às vibrações em grupos hidroxila, provenientes de água absorvida na superfície do material.

Em aproximadamente 2926 e 2854 cm^{-1} , observa-se dois picos no espectro das sementes integrais de moringa, picos estes que não são observados no espectro das cascas. Esses picos correspondem respectivamente aos estiramentos assimétricos e simétricos da ligação C-H do grupo CH_2 , atribuídos predominantemente ao conteúdo proteico das sementes integrais.

Na região de 1745 e 1652 cm^{-1} observa-se um conjunto de picos apenas no espectro das sementes integrais de *Moringa oleífera*, que pode ser atribuído ao estiramento da ligação C=O, devido à presença de grupo carbonila, fazendo parte dos ácidos graxos da porção lipídica e das amins da porção proteica.

Os sinais entre 1740 e 1720 cm^{-1} caracterizam os estiramentos de carbonilas de cetonas não conjugadas, de ésteres provenientes de carboidratos e grupos carboxílicos (Lima et al., 1996).

Bandas características de esqueleto aromático são observadas em 1513 e 1502 cm^{-1} . As bandas centradas em 1611, 1110 e 1059 cm^{-1} pertencem à vibração superior ν (C-O) de álcool primário e secundário respectivamente. A banda em 1250 cm^{-1} pode estar relacionada à presença de ésteres e epóxidos (Hjeresen et al, 2001).

Foi realizada a análise termogravimétrica (TGA) nas cascas e sementes integrais de *Moringa oleífera*, a fim de avaliar o comportamento dos materiais frente à estabilidade térmica. A análise termogravimétrica tanto das cascas quanto das sementes apontam que a degradação térmica dos materiais é marcada pela sua desidratação e a formação de moléculas de CO e CO₂, liberadas na forma de vapor.

A Figura I-8 mostra o processo de decomposição térmica dos adsorventes em função da taxa de aquecimento constante durante carbonização por meio do termograma (TGA).

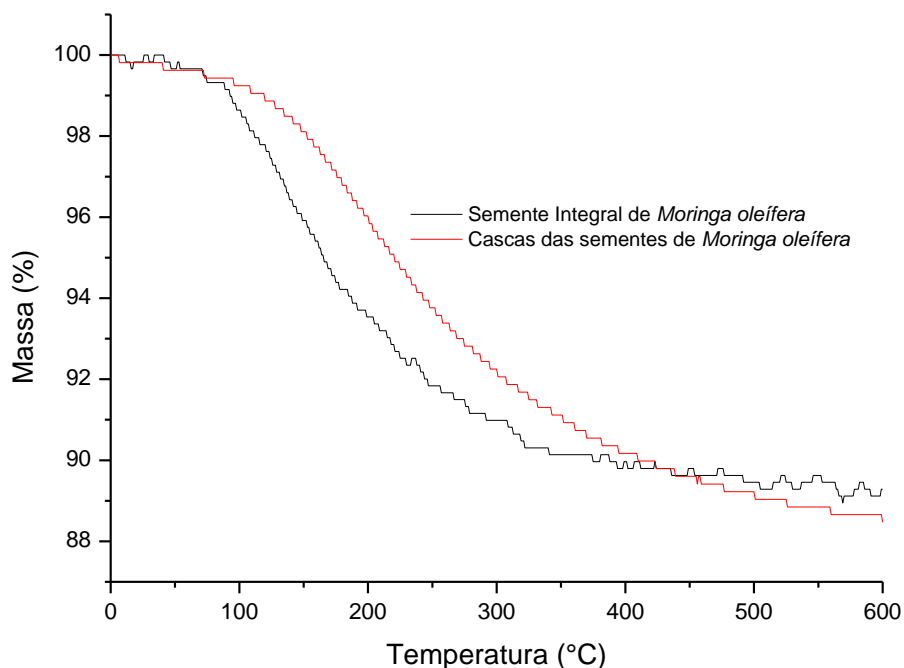


Figura I-8: Termograma das cascas das sementes de moringa e das sementes integrais de *Moringa oleífera*.

O estudo termogravimétrico indica que a perda de massa global durante a queima dos materiais pode ser dividida em quatro etapas relativas aos principais componentes: umidade, celulose, hemicelulose e lignina, sendo que as perdas de massa observadas são mais acentuadas para as sementes integrais.

Os resultados indicam que ocorre uma perda de massa total da ordem de 97%, considerando todo o processo. A perda de massa de 20 a 115°C, ocorre em virtude da desidratação do material, na faixa de 120 a 285°C ocorre a decomposição de hemicelulose e principalmente nas sementes integrais, entre as temperaturas 128°C e 268°C a perda de massa da ordem de aproximadamente 20% se deve provavelmente à decomposição de matéria orgânica que constituem a fração proteica e os carboidratos presentes (Anwar et al., 2007), por esse motivo essa perda de massa é mais acentuada nas sementes integrais. Entre 255 e 377°C se verifica a decomposição do material em unidades celulósicas (celulose amorfa); na faixa de 420-485°C ocorre despolimerização térmica da lignina (Versiani, 2008). Para as sementes integrais de moringa, acima de 400°C praticamente todo o material orgânico constituinte é decomposto, no entanto, o mesmo não é observado para as cascas, onde massas residuais ainda são obtidas devido aos óxidos termicamente estáveis à base de silício e alumínio presentes (Li et al., 2002).

Os resultados obtidos pela espectroscopia de energia dispersiva de raios-X, permitiram identificar e aferir os elementos químicos presentes na amostra assim como determinar a porcentagem de cada espécie dentro dela (Martinelli et al., 2006). A Figura I-9 apresenta a porcentagem em peso dos principais elementos constituintes das sementes de moringa *in natura*.

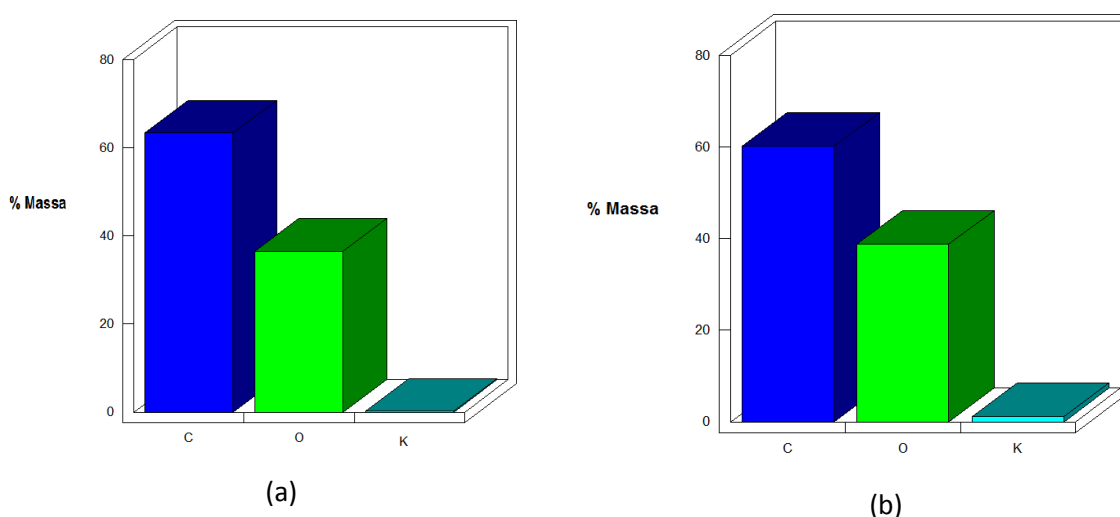


Figura I-9: Porcentagem em massa dos principais constituintes das cascas de sementes de moringa (a) e as sementes integrais de *Moringa oleífera in natura* (b).

A análise EDX apresentada nas Figuras I-9 I (a) e (b) põe em evidência os principais elementos químicos encontrados na superfície das sementes de moringa, sendo estes, C, O e K, confirmando a presença do constituinte proteico nas sementes.

Com relação às micrografias eletrônicas de varredura (Figura I-10), a morfologia das sementes de moringa mostra uma matriz heterogênea e relativamente porosa. Esta estrutura facilita os processos de adsorção de íons metálicos, devido aos interstícios presentes. Assim, com base nestas características, pode concluir-se que este material possui um perfil morfológico adequado para reter íons metálicos.

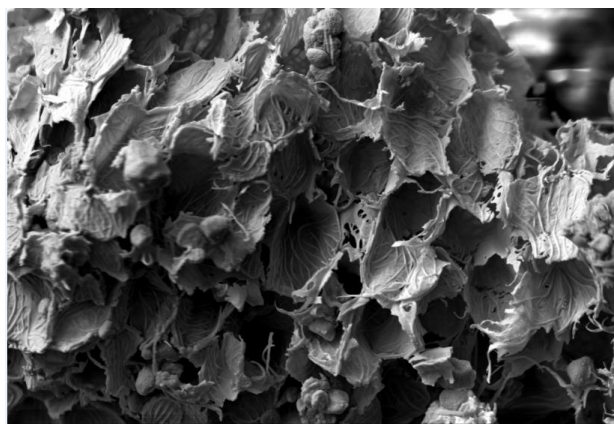


Figura I-10: Microscopia eletrônica de varredura para as sementes de *Moringa oleífera*.

Essa facilidade para adsorver íons metálicos pode ser confirmada nos estudos de BET que fornecem como resultado a área superficial específica. As sementes de *Moringa oleífera* apresentaram área superficial $0,5437 \text{ m}^2 \text{ g}^{-1}$, o que demonstra uma área significativa para a adsorção de íons metálicos, uma vez que a grande maioria dos íons apresentam tamanho relativamente muito menor que os poros apresentados pelo bioadsorvente em estudo.

Objetivando o melhor entendimento do comportamento elétrico superficial das partículas da biomassa, foram realizadas medições do PCZ para determinar o pH onde as cargas superficiais se anulam.

A superfície da biomassa é composta principalmente de proteínas, lipídios e carboidratos que são responsáveis pela carga superficial das partículas devido à dissociação dos grupos funcionais presentes. A dissociação dos grupos funcionais é dependente do pH; se o pH da solução estiver acima do PCZ da biomassa, a superfície desta apresentará cargas predominantemente negativas em carboxilas e hidroxilas dissociadas. Assim, exibirá uma habilidade para trocar cátions, enquanto que se a solução estiver num pH abaixo de seu PCZ, os grupos funcionais mencionados não estarão dissociados, e os grupos amino dos aminoácidos estarão protonados. Nessas condições a biomassa atrairá principalmente ânions (Versiani, 2008).

A figura I-10 apresenta o gráfico obtido para determinação do PCZ e observa-se uma faixa praticamente constante entre pH 5 e 6. Nesta região, a carga total superficial é nula, e é denominado de ponto de carga zero (pH_{PCZ}). Assim, é possível observar que em pH maior que 6 a casca das sementes de moringa apresenta-se negativamente carregada, possuindo a habilidade de adsorver espécies positivamente carregadas,

enquanto em pH menor do 5, o material encontra-se positivamente carregado e irá adsorver espécies negativas. Alves, et al., (2010) determinaram o ponto de carga zero das sementes integrais de moringa, e o mesmo foi encontrado na faixa de pH 6-7.

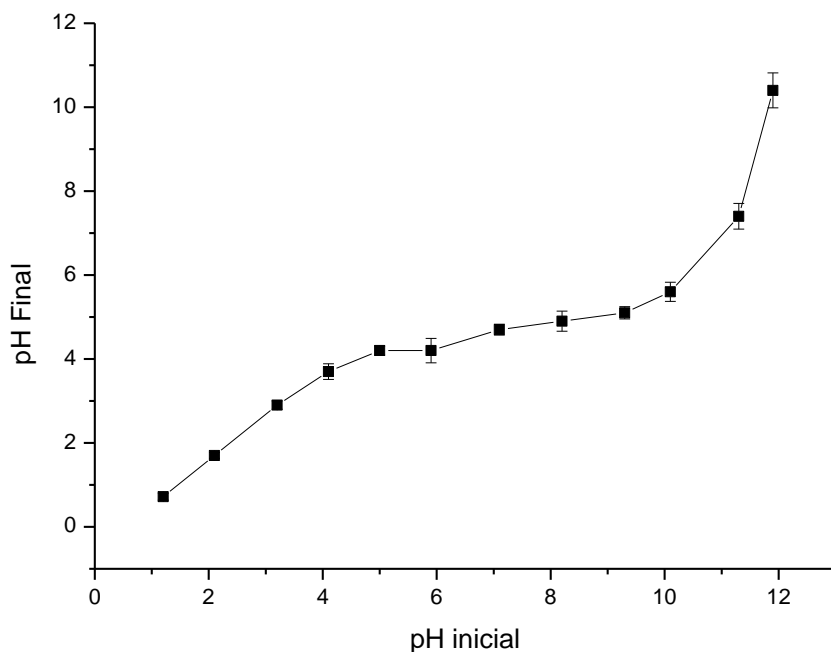


Figura I-10: PCZ das cascas das sementes de *Moringa oleífera*.

Nesse sentido, todas as características apresentadas pelas sementes de *Moringa oleífera* evidenciam seu potencial em processos de adsorção de íons metálicos, além das características relativas ao baixo custo e fácil obtenção do material.

5.0. CONCLUSÕES

Os resultados dos estudos de caracterização apontaram que tanto as cascas quanto as sementes integrais de *Moringa oleífera* apresentam-se como um adsorvente alternativo para adsorção de íons metálicos.

Os resultados mostraram que mesmo com a elevada heterogeneidade do material confirmada através das técnicas de caracterização, o material pode ser usado como pré-concentrador/extrator de íons metálicos sem que exista a necessidade de funcionalização do material com compostos orgânicos.

A técnica FT-IR sinalizou para a presença do componente proteico em quantidade considerável nas sementes de moringa e, conseqüentemente inferir que os mecanismos de interação com íons metálicos possivelmente ocorrem por meio de troca iônica e complexação. No que tange à microscopia eletrônica de varredura e à análise BET, estas revelam uma matriz complexa e heterogênea, mostrando uma estrutura superficial porosa que facilita a acomodação dos íons.

6.0. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

Almeida, I. L. S. “*Avaliação Da Capacidade De Adsorção Da Torta De Moringa Oleífera Para Btex Em Amostras Aquosas*”. Dissertação de Mestrado. Programa de Pós-Graduação em Química. Universidade Federal de Uberlândia, **2010**.

Alves, V. N., Coelho, N.M.M. “*Selective extraction and preconcentration of chromium using Moringa oleífera husks as biosorbent and flame atomic absorption spectrometry.*” Microchemical Journal, 109, 16-22, **2013**.

Alves, V. N.; Araújo, C.S.T.; Coelho, N.M.M. “*Potencialidades do vermicomposto na adsorção de íons prata*”. Horizonte Científico, v. 1, nº 9, **2008**.

Alves, V. N.; Mosquetta, R.; Coelho, N. M. M.; Bianchin, J. N.; Roux, K. C. P.; Martendal, E.; Carasek, E. “*Determination of cadmium in alcohol fuel using Moringa oleífera seeds as a biosorbent in an on-line system coupled to FAAS*”. Talanta, 1133–1138, **2010**.

Alves, V.N., Borges, S.S.O., Coelho, N.M.M. “*Direct Zinc Determination in Brazilian Sugar Cane Spirit by Solid-Phase Extraction Using Moringa oleífera Husks in a Flow System with Detection by FAAS*”. International Journal of Analytical Chemistry, 1-8, **2011**.

Alves, V.N., Borges, S.S.O., Neto, W.B., Coelho, N. M. M. “*Determination of Low Levels of Lead in Beer Using Solid-Phase Extraction and Detection by Flame Atomic Absorption Spectrometry.*” Journal of Automated Methods and Management in Chemistry, 1-6, **2011**.

Alves, V.N., Mosquetta, R., Carasek, E., Coelho, N.M. M. “*Determination of Zn(II) in Alcohol Fuel by Flame Atomic Absorption Spectrometry After on-line Preconcentration Using a Solid Phase Extraction System.* Journal of Analytical Chemistry, 67, 5, **2012**.

Alves, V.N., Mosquetta, R., Coelho, N.M. M., Bianchin, J.N., Roux, K.C.P., Martendal, E., Carasek, E. “*Determination of cadmium in alcohol fuel using Moringa oleífera seeds as a biosorbent in an on-line system coupled to FAAS*”. Talanta, 80, 1133–1138, **2010**.

Anwar, F.; Rashid, U. “*Physico-chemical characteristics of Moringa oleifera seeds and seeds oil from a wild provenance of Pakistan*”. J. Bot., 39, 1443-1453, **2007**.

Araújo, C. S. T.; Alves, V. N.; Coelho, N. M. M.; Rezende, H. C.; Almeida, I. L. S.; Tarley, C. R. T.; Segatelli, M. G.; Assunção, R. “Characterization and use of Moringa oleifera seeds as biosorbent for removing metal ions from aqueous effluents”. Water Science and Technology, 63, 2198-2203, **2010**.

Araújo, C. S. T.; Melo, E. I.; Alves, V. N.; Coelho, N. M. M. “*Moringa oleifera Lam. Seeds as a Natural Adsorbent for removal of Ag in Aqueous solution*”. Journal of the Brazilian Chemistry Society, 21, 1727-1732, **2010**.

Bag, H.; Lale, M.; Turkey, A.R. “*Determination of iron and nickel by flame atomic absorption spectrophotometry after preconcentration on saccharomyces cerevisiae immobilized sepiolite*”. Talanta, 689-696, **1998**.

Bailey, s. E.; Olin, T. J.; Bricka, R.M.; Adrian, D. D. “*A review of potentially low-cost sorbents for heavy metals*”. Water Research, 2469-2479, **1997**.

Brito, E. S.; Damasceno, L. F.; Gallão, M. I. “*Avaliação química e estrutural da semente de moringa*”. Revista Ciência Agronômica, 37, 106-109, **2006**.

Crow, D. R. Principles and applications of electrochemistry. Blackie Academic & Professional. London, **1994**.

Curbelo, F. D. S. “*Estudo da remoção de óleo em águas produzidas na indústria de petróleo, por adsorção em coluna utilizando a vermiculita expandida e hidrofobizada*”. Dissertação de Mestrado. Centro de Tecnologia. Departamento de Engenharia Química. Universidade Federal do Rio Grande do Norte, Natal - RN, **2002**.

Davis, T. A, Mucci, A, & Volesky, B. A review of the biochemistry of heavy metal biosorption by brown algae. Water Research, 37, 4311-4330, **2003**.

Do Carmo, S.N., Damásio, F.Q., Alves, V. N., Marques, T.L., Coelho, N.M.M. “*Direct determination of cooper in gasoline by Flame Atomic Absorption Spectrometry after sorption and preconcentration on Moringa oleifera husks*”. Microchemical Journal, Article in Press, doi: 10. 1016/j. microc. 2013.04. 010.

Falone, S. Z.; Sanches, S. M.; Campos, S. X.; Vieira, E. M. “*Estudo da adsorção/dessorção do explosivo Tetril com turfa na presença e na ausência de matéria orgânica*”. In: 27ª Reunião Anual da Sociedade Brasileira de Química, Salvador- Ba. Sociedade Brasileira de Química, **2004**.

Frighetto, R. S.; Frighetto, N.; Schneider, R. P.; Fernandes Lima, P. C. “*O potencial da espécie Moringa oleifera (Moringaceae) I.A planta como fonte de coagulante natural no saneamento de águas e como suplemento alimentar*”. Revista Fitos, **2007**.

Gregg, S. J.; Sing, K. S. W. “*Adsorption, Surface Area and Porosity*”. 1.ed. London and New York: Academic Press, **1962**.

Guedes, C. D. “*Coagulação/floculação de águas superficiais de minerações de ferro de turbidez elevada*”. Tese de Doutorado em Geoquímica Ambiental. Universidade Federal de Ouro Preto. Ouro Preto, **2004**.

Jahn, S. A. A. “*Proper use of African Natural Coagulants for Rural Water Supplies: Research in the Sudan and a Guide for New Projects*”. Eschborn, GTZ, Germany, **1986**.

Li, Y., Jiang, Y., Yan, X., Peng, W., Wu, Y. “*A flow injection on-line multiplexed sorption preconcentration procedure coupled with flame atomic absorption spectrometry for determination of trace lead in water, tea and herb medicines.*” Analytical Chemistry, 74, 1075-1080, **2002**.

Lima, R., Leandro, K.C., Santeli, R. E. “*Lead Preconcentration onto C-18 minicolumn in continuous flow and its determination in biological and vegetable samples by flame atomic absorption spectrometry*”. Talanta, 43, 977-983, **1996**.

Liu, Y., “*Some consideration on the Langmuir isotherm equation*”. Colloids and Surfaces A, Physicochemical, Eng. Aspects, 274, 34-36, **2006**.

Madrid, Y.; Barrio-Cordoba, M. E.; Cámara, C. “*Biosorption of antimony and chromium species by Spirulina platensis and Phaseolus. Application to bioextract antimony and chromium from natural and industrial waters*”. The Analyst, 1593-1598, **1998**.

Marques, T.L., Alves, V.N., Coelho, L.M., Coelho, N.M.M. “Assesment of the use of *Moringa oleifera* Seeds for Removal of Manganese Ions from Aqueous Systems”. BioResources, 8, 2738-2751, **2013**.

Marques, T.L., Alves, V.N., Coelho, L.M., Coelho, N.M.M. “Removal of Ni(II) from aqueous solution using *Moringa oleifera* seeds as a bioadsorbent”. Water Science and Technology, 65, 1435-1440, **2012**.

Martinelli, F.L.; Holanda, R.A.; Andrade, L.R.; Tirre-Araujo, M.S. “Alterações histológicas e de conteúdo mineral na area de correção de fenda alveolar por distração Osteogênica – in vivo”. Revista Odontologia Ciência, 21,52, **2006**.

Moriyama, E.H.; Zangaro, R.A.; Villaverde, A.B.; Lobo, P.D.C.; Munin, E.; Watanabe, I.S.; Júnior, D.R.; Pacheco, M.T.T. “Dentin Evaluation after Nd:YAG Laser Irradiation Using Short and Long Pulses”. Journal of Clinical Laser Medicine & Sugery. .22, 43-50, **2004**.

Muyibi, S. A.; Evison, L. M. “*Moringa oleifera* seeds for softening hardwater”. Water. Research. 1099-1105, **1995**.

Namasivayam, C.; Kumar, M. D.; Selvi, K.; Begum, R. A.; Vanathi, T.; Yamuna, R. T. “Waste Coir Pith – a potential biomass for the treatment of dyeing wastewaters”. Biomass & Bioenergy, 21, 477-483, **2001**.

Ndabigengesere, A.; Narasiah, K. S.; Talbot, B. G. “Active agents and mechanism of coagulation of turbid water using *Moringa oleifera*”. Water Research,703-710, **1995**.

Ortiz, N. “Estudo da utilização de magnetita como material adsorvedor dos metais Cu^{2+} , Pb^{2+} , Ni^{2+} e Cd^{2+} , em solução”. Tese de Doutorado. Instituto de Pesquisa Energética e Nucleares. Universidade de São Paulo, **2000**.

Rao, M. M.; Rameshb, A.; Rao, G. P. C.; Sessaiah, K. “Removal of copper and cadmium from the aqueous solutions by activated carbon derived from *Ceiba pentandra* hulls”. Journal of Hazardous Materials, 123–129, **2006**.

Romanielo, L. L. “*Modelagem matemática e Termodinâmica da Adsorção de Gases Multicomponente*”. Tese de Doutorado. Universidade Estadual de Campinas, Campinas - SP, **1999**.

Rygwelski, K. R. “*Partitioning of toxic trace metals between solid and liquid phases in the great lakes*”. Series in Advances in Environmental Science and Technology, New York, **1984**.

Senesi, N. “*Composted materials as organic fertilizers*”. Science of the Total Environment, 521-542, **1989**.

Senthilkumaar, S.; Bharathi, S.; Nityanandhi, D.; Subburam, V. “*Biosorption of toxic heavy metals from aqueous solution*”. BioresourceTechnology, 75, 163-165, **2000**.

Silva, A.R.; Kerr, W. E. “*Moringa: uma nova hortaliça para o Brasil*”. UFU/DIRIU, Uberlândia, **1999**.

Silva, C. A.; Miranda, F. M.; Paula, L. O.; Coelho, N. M. M. “*Uso da Moringa oleifera Para Remoção De Flúor Em Águas*”. Revista Analytica, **2006**.

Sposito, G. “*The Chemistry of soils*”. Oxford University Press. New York. **1989**.

Ulson, S. A. A.; Schwanke, R. O.; Maliska, C. R. “*Medidas de Difusividade em Fase Líquida de Hidrocarbonetos Aromáticos em Zeólitas do Tipo Y*”. In: Anais do IV Encontro Brasileiro de Adsorção – EBA, Rio de Janeiro-RJ, p.1-8, **2003**.


Versiani, L. C. F. “*Caracterização das propriedades coagulantes e adsorventes de íons Cd(II) em soluções aquosas apresentadas por biomateriais derivados das sementes Moringa oleifera*”. Programa de Pós-Graduação em Engenharia Ambiental. Universidade Federal de Ouro Preto, **2008**.

Yang, T.; Lua, A. C. “*Characteristics of activated carbons prepared from pistachionut shells by physical activation*”. Journal of Colloid and Interface Science, .408- 417, **2003**.



Capítulo 2:

**Extração seletiva e Pré-concentração de Cromo
utilizando cascas de *Moringa oleífera* como
bioadsorvente e detecção por FAAS**



1.0. REVISÃO BIBLIOGRÁFICA

1.1 Cromo

Algumas espécies metálicas podem apresentar efeitos altamente tóxicos quando presentes em suas formas iônicas livres ou combinadas. Geralmente, elas surgem a partir de fontes geogênicas ou antropogênicas, sendo essa última responsável pela contaminação de diversos compartimentos ambientais, afetando em consequência animais, peixes, plantas e o próprio homem (Kabata-Pendias, 2001; Zhang et al., 2008). Entre os metais largamente utilizados para fins industriais, especial destaque pode ser dado ao cromo, o qual está presente em efluentes aquosos ou sólidos nas formas iônicas como Cr(III) ou Cr(VI).

Dentre as atividades industriais potenciais geradoras de efluentes contendo tais espécies, pode-se citar: eletrodeposição, curtimento do couro, preservação de madeira, tintas, têxteis e metalúrgicas. O cromo também pode estar presente em águas de torres de resfriamento e em fases lixiviadas de aterros sanitários (Sperling et al., 2001; Themelis et al., 2006). A Figura II-1 apresenta a distribuição das espécies de cromo no meio ambiente.

No organismo humano, o Cr(III) está envolvido na manutenção dos níveis de glicose, colesterol e triglicerídeos, desempenhando, um papel essencial como nutriente aos organismos vivos. Ao contrário, a forma hexavalente apresenta elevada toxicidade, estando relacionada a casos clínicos como irritação e ulceração nasal, reações de hipersensibilidade e dermatite por contato, sendo a dose letal (DL_{50}) entre 50 e 100 mg kg⁻¹, valor esse muito inferior quando comparado com a forma trivalente, cujos valores se situam entre 1900 e 3300 mg kg⁻¹, em ambos os casos considerando ingestão oral em ratos (Zayed & Terry, 2003). Além disso, o Cr(VI) é uma espécie carcinogênica, em decorrência da fácil permeação na membrana celular e do elevado potencial oxidante (Aydin & Soylak, 2003).

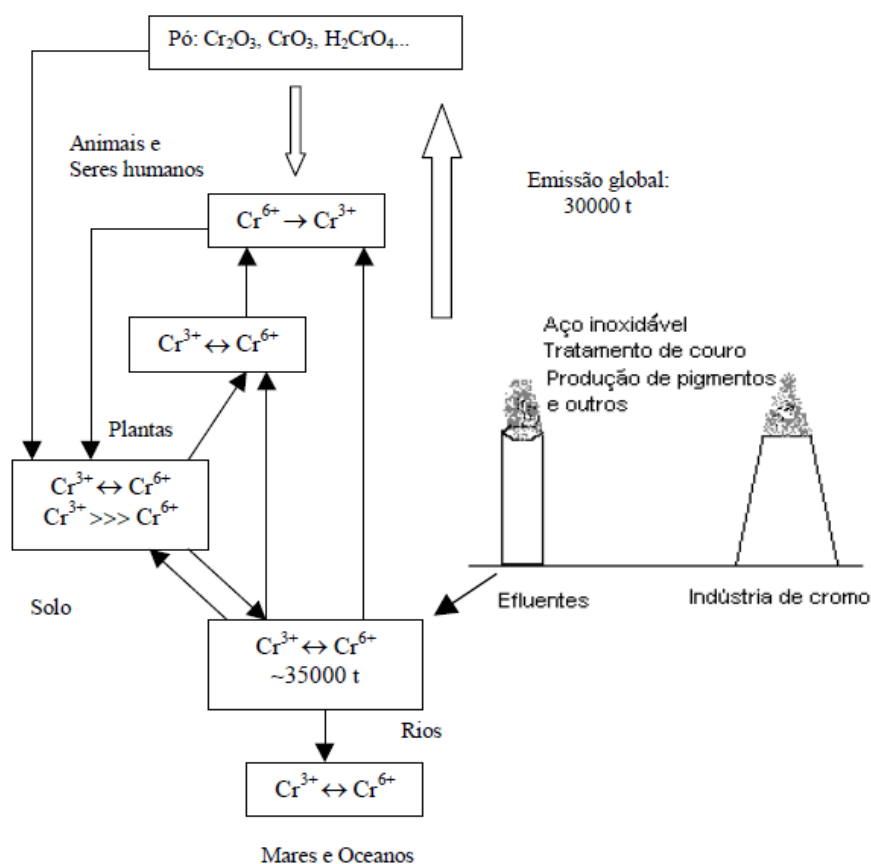
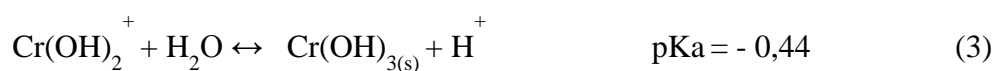
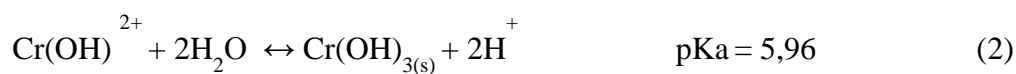
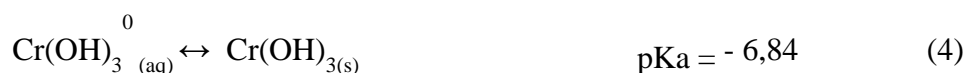


Figura II-1: Representação esquemática da distribuição de cromo no meio ambiente (Golonka, 1995).

Segundo a resolução CONAMA 357, de 18/03/2005, para as águas de classe I e III o teor máximo de Cr é de $0,05 \text{ mg L}^{-1}$. Na emissão de efluentes os teores máximos de Cr (VI) e Cr total são de $0,1 \text{ mg L}^{-1}$ e de $5,0 \text{ mg L}^{-1}$, respectivamente. (LEI Nº 5.793 de 15 de outubro de 1980, DECRETO Nº 14.250, CAPÍTULO II, Seção I, Subseção III e IV, Art.12 e Art. 19).

Em águas naturais as principais espécies do cromo trivalente são o Cr^{3+} , $\text{Cr}(\text{OH})^{2+}$, $\text{Cr}(\text{OH})_2^+$, $\text{Cr}(\text{OH})_4^-$. Assumindo que estas espécies se encontram em equilíbrio com $\text{Cr}(\text{OH})_3(\text{s})$, a distribuição das espécies em equilíbrio é dependente do pH e governada pelas seguintes equações (Maltez, 2003):





A Figura II-2 apresenta um diagrama esquemático da distribuição das espécies de Cr(III) em função do pH.

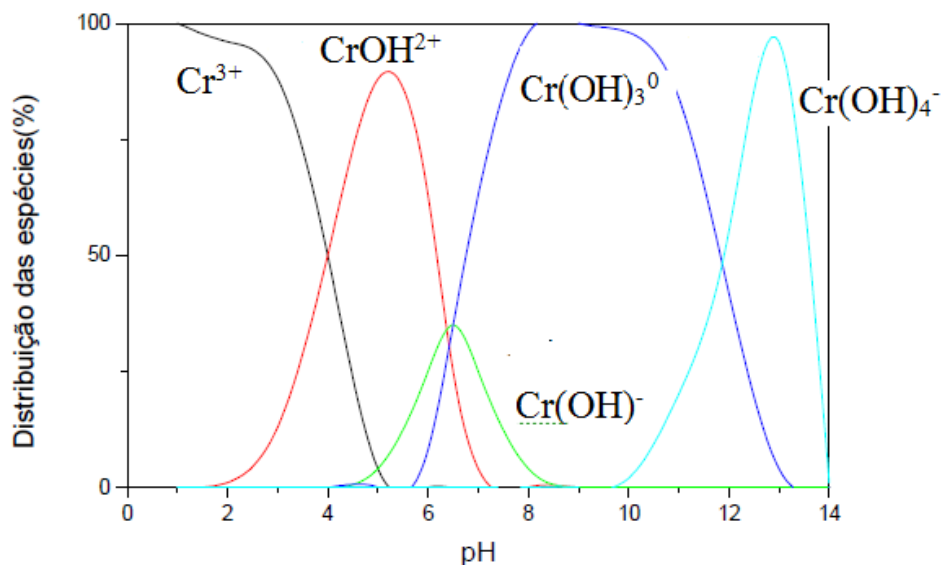


Figura II-2: Distribuição esquemática das espécies de Cr(III) em função do pH do meio (Maltez, 2003).

O cromo hexavalente pode estar presente nas formas de cromato (CrO_4^{2-}), dicromato ($\text{Cr}_2\text{O}_7^{2-}$), hidrogeno cromato (HCrO_4^-), além de ácido crômico. Os equilíbrios químicos das espécies de Cr (VI) podem ser descritos conforme as reações abaixo (Maltez, 2003):



As concentrações relativas das espécies de cromo dependem da concentração total de Cr e da acidez em solução. A Figura II-3 mostra a abundância relativa de espécies de Cr (VI) em função do pH da solução.

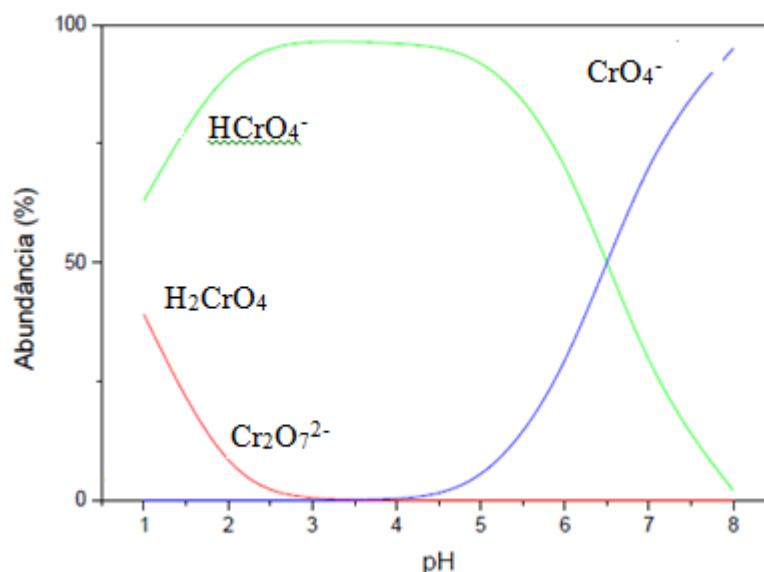


Figura II-3: Abundância relativa das espécies de Cr(VI) de acordo com o pH do meio (Maltez, 2003).

Em virtude da grande utilização na indústria e da diferença de toxicidade de ambas as espécies, torna-se imprescindível o estabelecimento de métodos analíticos direcionados para a quantificação das duas formas ou principalmente do Cr(VI) em efluentes aquosos ou sólidos. Geralmente são empregadas técnicas analíticas como espectrometria de absorção molecular na região do visível e espectrometria de absorção ou de emissão atômica (Frois et al., 2011). Métodos como o colorimétrico, são baseados na determinação de Cr (VI) e cromo total, devido ao Cr (III) ser cineticamente inerte, necessitando de uma etapa de conversão (Sperling et al., 1992; Lazarin et al., 2002). A conversão de uma espécie metálica de uma forma para outra pode apresentar vários inconvenientes, tais como a incompleta conversão, particularmente em baixas concentrações, introdução de contaminantes pelos agentes oxidante/redutor, interferência de outros metais presentes, e geralmente, complexos e exaustivos procedimentos de pré-tratamento da amostra.

Dessa forma, a implementação de métodos envolvendo a separação e pré-concentração dessas espécies vem sendo largamente estudada, empregando as mais diversas abordagens, dentre as quais, pode-se citar: extração empregando ponto nuvem (Sussulini & Arruda, 2006); utilização de processos de co-precipitação (Aydin & Soyak, 2009; Uluzlu et al., 2009), pré-concentração em resinas (Elci et al, 2008;

Rajesh et al., 2008); sílica-gel modificada (Zhang et al., 2008, Chang et al., 2008); e, fase C-18 (Pereira et al., 2009).

Materiais lignocelulósicos apresentam propriedades como elevada área superficial e alta capacidade de troca iônica, constituindo, portanto, atrativos materiais a serem investigados com propósitos analíticos (Araújo et al., 2013). Todavia, os mesmos vêm sendo estudados com enfoque direcionado principalmente a tratamento de efluentes contendo íons de metais tóxicos (Marques et al., 2013). Em decorrência destas propriedades, aliadas ao baixo custo e grande disponibilidade, esses materiais podem atuar como especiadores e pré-concentradores analíticos de metais tóxicos.

Recentemente o Laboratório de Espectroscopia Aplicada – LEA/UFU propôs a utilização das sementes de *Moringa oleífera* como material adsorvente em sistemas de extração em fase sólida em fluxo para determinação de metais pesados em diversas amostras (Araújo et al., 2010; Alves, et al., 2010, Alves et al., 2011, Do Carmo et al., 2013). Desta forma, diante das características favoráveis apresentadas pelas sementes de *M. oleífera* no desenvolvimento de métodos de extração em fase sólida acoplado on-line ao FAAS, seu uso em procedimentos de extração seletiva/especação se torna uma proposta atraente.

1.2. Extração em fase sólida (SPE) on-line aplicada à especiação de íons metálicos

Os métodos analíticos com propósito de separação e/ou pré-concentração podem ser baseados em processos eletroquímicos, envolvendo eletrólise, precipitação ou co-precipitação (Elçi et al., 1997), extração líquido-líquido convencional (Ferreira et al., 2007), ou por ponto nuvem (Kulichenko, et al., 2007) e extração sólido-líquido (Pereira et al., 2003).

A extração líquido-líquido convencional é baseada na solubilidade relativa da espécie em duas fases imiscíveis, sendo empregada para isolamento ou pré-concentração de espécies. Apresenta inconvenientes como o alto custo de reagentes tóxicos, separação ineficiente de interferentes, baixa frequência analítica e alta geração de resíduos (Anaia, 2008).

Outra modalidade é a extração em fase sólida (SPE), que é baseada na transferência de massa de uma fase líquida (amostra) para uma fase sólida (adsorvente).

Em relação a outros tipos de extração, a SPE proporciona simplicidade, baixo risco de contaminação de amostras por geralmente evitar a introdução de reagentes, elevados fatores de enriquecimento e diversidade na combinação de fases sólida e agentes complexantes, características atraentes para o desenvolvimento de procedimentos analíticos (Camel, 2003).

A maioria das técnicas de separação em batelada vem sendo adaptada aos sistemas de análise por injeção em fluxo, e a maior parte dos trabalhos publicados utiliza minicolunas empacotadas com uma fase estacionária sólida.

Sendo assim, a SPE emprega sorventes recheados em cartuchos, seringas ou discos e os mecanismos de retenção são idênticos àqueles envolvidos em cromatografia líquida em coluna (Lanças, 2004).

A solução amostra contendo o composto de interesse passa através do cartucho, preenchido com o sorvente apropriado, sendo este composto retido pelos sítios ativos do sorvente. Em uma segunda etapa, o composto de interesse é eluído usando-se pequenos volumes de um eluente adequado.

O uso de minicolunas em SPE apresenta vantagens, dentre as quais pode-se citar: a fácil adaptação em sistemas de pré-concentração em linha, o uso de pequenas quantidades de eluente e a disponibilidade de vários sorventes (Camel, 2003). Uma mini-coluna típica usada em SPE pode ser vista na Figura II-4. Normalmente apresenta comprimento $\leq 10,0$ cm e 0,4 mm de diâmetro interno.

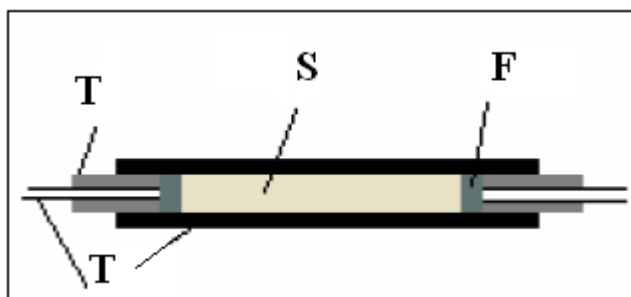


Figura II-4: Diagrama esquemático de uma mini-coluna típica onde: T é o tubo de Tygon, S é o material sorvente e F é o filtro (lã de vidro) (Maltez, 2007).

O uso dos processos adsortivos em técnicas de extração em fase sólida se torna ainda mais atrativo, quando são empregados em sistemas em fluxo acoplados

diretamente a um sistema de detecção. A determinação das espécies de cromo pode ser realizada utilizando FAAS, GF AAS, ICP OES e ICP MS.

Os métodos espectrométricos estão entre os procedimentos mais sensíveis e seletivos para determinação de íons metálicos e são particularmente atraentes para estes estudos, uma vez que os equipamentos empregados são comuns na maioria dos laboratórios. Entretanto, essas técnicas não permitem uma análise de especiação direta, sendo necessária a utilização prévia de processos de separação e/ou pré-concentração das espécies.

Nesse sentido, uma alternativa desenvolvida por Gopi Krishna e colaboradores (2005) para especiação de Cr (VI) e Cr (III), foi baseada na coprecipitação de Cr(VI) através da formação de um complexo com etil xantato sob naftaleno. A mistura sólida constituída pelo complexo de Cr(VI) foi posteriormente dissolvida em dimetil formamida (DMF) e determinado por FAAS.

O uso de eletrostacking bidirecional para a separação simultânea e pré-concentração de Cr(III) e Cr(VI), seguido de detecção por FAAS (He et al., 2000) ou por GF AAS (Gaebler et al., 1993) também foi desenvolvido. O método foi aplicado para analisar um material de referência certificado de água, tendo sido o valor encontrado coincidente com o valor certificado.

A Tabela II-1 apresenta alguns dos métodos não cromatográficos utilizados para especiação de cromo.

Tabela II-1: Métodos não-cromatográficos para especiação de cromo.

Matriz	Espécie	Pré- Tratamento	Metodologia	Técnica de detecção	Referência
Água	Cr(III)/Cr(VI)	Nenhum	Retenção seletiva em TiO ₂	GFAAS	Vassileva et al., 2000
Água	Cr(III)/Cr(VI)	Complexação com APDC	Retenção seletiva em resina Diaion HP-2MG	GFAAS	Chwastowaska et al., 2005
Amostras sólidas	C(VI) biodisponível	Nenhum	Retenção na resina Q-Sepharose	GFAAS	Long et al., 2005
Material de Referência	Cr(III)/Cr(VI)	Dissolução	Precipitação de Cr(OH) ₃	ICP-AES	Zhang et al., 1999
Água	Cr(III)/Cr(VI)	Nenhum	Electrostacking Bidirecional	FAAS	He et al., 2000
Água	Cr(III)/Cr(VI)	Nenhum	Electrostacking Bidirecional	GFAAS	He et al., 2001

As espécies de cromo, (III) e (VI), podem ser separados por retenção seletiva em um suporte sólido adequado com base na sua natureza aniônica ou catiônica. Diferentes métodos têm sido desenvolvidos com esse propósito. Vassileva e colaboradores (2000) utilizaram a retenção seletiva sobre TiO₂ para especiar cromo, outras possibilidades são o uso de A₂O₃ (Cox et al., 1992), adsorventes à base de celulose (Naghmush et al., 1994), resinas aniônicas (Pankow and Janauer, 1974), montimorilonita saturada com íons potássio (Frois et al., 2011).

Recentemente, o Laboratório de Espectroscopia Aplicada – LEA/UFU propôs novos materiais adsorventes para SPE a fim de determinar metais pesados em amostras aquosas e alcoólicas, usando adsorventes naturais, como sementes de *Moringa oleifera* (Alves et al., 2010; Araújo et al., 2010). Como continuação destes estudos, foi

desenvolvido um procedimento em fluxo acoplado on-line ao FAAS para pré-concentração e separação das espécies de cromo utilizando as cascas de sementes de *Moringa oleífera* como bioadsorvente. O procedimento é, baseado na retenção seletiva de Cr (III) ou Cr(VI) pelas cascas das sementes de moringa a partir da variação do pH inicial da solução.

O método desenvolvido contribui imensamente para o desenvolvimento de métodos de extração em fase sólida aplicados à especiação uma vez que é capaz de diferenciar diretamente as espécies de cromo, o que é de extrema importância principalmente pela diferença de toxicidade entre as espécies, através da utilização de um material de baixo custo e fácil aquisição.

Apesar da grande utilização de métodos de extração em fase sólida, acoplados on-line ao sistema de detecção, não existe na literatura relatos do uso das cascas das sementes de *Moringa oleífera* na diferenciação das espécies de cromo.

2.0. OBJETIVOS

- ✓ Avaliar as condições para separação das espécies de cromo pelas cascas das sementes de *Moringa oleífera*.
- ✓ Avaliar a capacidade adsorptiva das cascas de sementes de moringa pelas espécies Cr(III) e Cr(VI).
- ✓ Avaliar os parâmetros químicos e de fluxo que influenciam o sistema de extração seletiva/pré-concentração, bem como as características do método desenvolvido.

3.0. PROCEDIMENTO EXPERIMENTAL

3.1. Padrões, reagentes e amostras

Todas as soluções utilizadas no desenvolvimento desse trabalho foram preparadas com reagentes químicos de grau analítico, utilizando água deionizada, proveniente de um sistema de purificação de água Milli-Q® da Gehaka, (São Paulo, Brasil). Para os estudos de extração seletiva e pré-concentração de cromo, os quais compreendem a avaliação do pH em que ocorre a extração seletiva e otimizações das variáveis químicas e de fluxo do sistema (massa do adsorvente, vazão de pré-concentração e concentração do eluente), as soluções de trabalho foram preparadas diariamente a partir da diluição de soluções estoque 1000 mg L^{-1} (Carlo Erba, Val de Reuil, França) de Cr(III) e Cr(VI). Para a construção das isotermas de adsorção, as soluções de trabalho foram preparadas a partir da diluição em água de soluções estoque 1000 mg L^{-1} (Carlo Erba, Val de Reuil, França). Quando necessário, o pH das soluções foi ajustado com soluções de NaOH (Vetec, Rio de Janeiro, Brasil) e HNO_3 (Nuclear, São Paulo, SP), ambas $0,5 \text{ mol L}^{-1}$.

3.2. Instrumentação

- ✓ Mesa Agitadora – Mesa Agitadora Orbital TG-141 - Tecnal
- ✓ Balança Analítica - Analytical Standard - Modelo Ohaus (OHAUS, Florham Park, USA).
- ✓ Espectrômetro de Absorção Atômica com Chama - Modelo SpectrAA-220 (Varian®, Victoria, Austrália).
- ✓ pHmetro digital – Modelo PG1800 - AS-200 (GEHAKA, São Paulo, Brasil).
- ✓ Liquidificador doméstico - Modelo (Black & Decker do Brasil Ltda, Uberaba, Brasil).
- ✓ Peneiras TYLER (Bertel - Ind. Metalalúrgica Ltda , Caieiras-SP, Brasil).
- ✓ Bomba peristáltica Gilson® Minipuls 3 (Villiers Le Bel, França) equipada com 8 canais e tubos Tygon® de polietileno.
- ✓ Válvulas solenóides de três vias – NResearch – USA.

3.3. Metodologia Analítica

3.3.1. Avaliação das condições para separação das espécies de cromo

O pH da solução é uma condição crítica que afeta diretamente a adsorção do íon, desta forma o efeito do pH da solução sob a adsorção dos íons Cr(VI) e Cr(III) nas cascas de sementes de moringa foi investigado variando o pH da solução de 2 a 9. 0,5 g das cascas foram colocadas sob agitação durante 20 minutos com soluções de Cr(III) e Cr(VI) (10 mgL^{-1}) separadamente. Posteriormente, a mistura foi filtrada e o sobrenadante analisado por FAAS. O comprimento de onda utilizado foi 357,9 nm, com comprimento da fenda de 0,2 nm, corrente da lâmpada de 7,0 mA e chama ar/acetileno. A porcentagem de adsorção foi calculada com base nas diferenças das concentrações iniciais e finais, sendo a quantidade do íon adsorvido avaliada em função do pH.

3.3.2. Construção das isotermas de adsorção

Com o intuito de se obter a capacidade máxima adsorptiva (CMA) do bioadsorvente em questão pelos íons Cr(III) e Cr(VI) foram construídas isotermas de adsorção aplicadas aos modelos de Langmuir e Freudlich.

Inicialmente foi realizado um experimento em batelada a fim de avaliar o tempo de agitação necessário para que o equilíbrio fosse atingido. Neste experimento, 50,0 mg das cascas das sementes de moringa foram colocadas sob agitação com 50,0 mL de uma solução de Cr(III) 25 mg L^{-1} ou Cr(VI) 25 mg L^{-1} .

De posse do melhor resultado para o tempo de agitação, 50,0 mg do material adsorvente dispostos em frascos de polietileno abertos à temperatura ambiente, foram agitados com 50 mL de soluções dos íons Cr(III) ou Cr(VI) em concentrações crescentes de 2 a 100 mgL^{-1} . Posteriormente, o sobrenadante foi analisado por FAAS e quando necessário volumes adequados de sobrenadante foram diluídos com água deionizada na proporção de 1:50.

As isotermas foram obtidas lançando-se no eixo da abscissa a concentração do sobrenadante, ou seja, a concentração de equilíbrio do adsorvato e no eixo da ordenada a quantidade do metal adsorvido (mg) pela massa (g) do adsorvente. A massa do metal

adsorvido foi calculada subtraindo-se a concentração da solução de trabalho inicial (C_o) da solução de equilíbrio (C_e) após a agitação e multiplicando-se o valor obtido pelo volume de solução (0,05L).

$$Q_e = \frac{([C_i] - [C_f])}{m} \times V_s \quad (9)$$

3.3.3. Procedimento do sistema de pré-concentração em fluxo

O material bioadsorvente foi utilizado em um sistema de pré-concentração automatizado, similar ao sistema de pré-concentração desenvolvido por Ferreira *et al.*, 2001. O módulo de análise é composto de uma bomba peristáltica, quatro válvulas solenóides de três vias e uma minicoluna de Teflon®, preenchida com o material adsorvente, que foi acoplada ao espectrômetro de absorção atômica com chama, conforme mostra a Figura II-5. A minicoluna, com 60 mm de comprimento e 3 mm de diâmetro interno, foi preenchida em ambas extremidades com pequena quantidade de lã de vidro, para evitar perda do material. A eficiência da minicoluna foi estável durante todos os experimentos. As quatro válvulas solenóides de três vias foram acionadas por um programa de computador escrito em Quick BASIC 4.5. As etapas de pré-concentração e eluição foram controladas por tempo. O sistema de pré-concentração em linha foi otimizado pelo método multivariado, com a finalidade de determinar as condições químicas e de fluxo ótimas para a determinação do íon de interesse.

Na etapa de pré-concentração (Figura II-5A), a válvula V1 foi acionada, e as demais permaneceram desligadas. Um volume de 15 mL da solução contendo o íon de interesse foi continuamente injetado no sistema de pré-concentração em uma vazão de 4,5 mL min⁻¹. Esta solução fluiu através da válvula V1, minicoluna e válvula V2, respectivamente, sendo o efluente descartado. Neste estágio, ocorre a retenção do analito na minicoluna e o eluente, uma solução de HCl, é bombeada para o seu próprio frasco através da linha de retorno. O volume da solução pré-concentrada foi proporcional à vazão de bombeamento e ao tempo de acionamento da válvula V1.

Na etapa de eluição (Figura I-5B), a válvula V1 foi desligada e as válvulas V2, V3 e V4 foram acionadas pelo programa do computador. O eluente (HCl ou NaOH 0,01

molL^{-1}), percolou pelas válvulas V2, V3 e minicoluna, respectivamente, em uma vazão de $4,0 \text{ mL min}^{-1}$.

O eluato, que é o eluente mais o analito, ao passar pela válvula V4, foi introduzido diretamente no sistema nebulizador-queimador do espectrômetro. O fluxo do eluente passou pela minicoluna no sentido inverso ao fluxo da solução amostra. As leituras dos sinais analíticos foram realizadas como área de pico. Todas as análises foram feitas em triplicata.

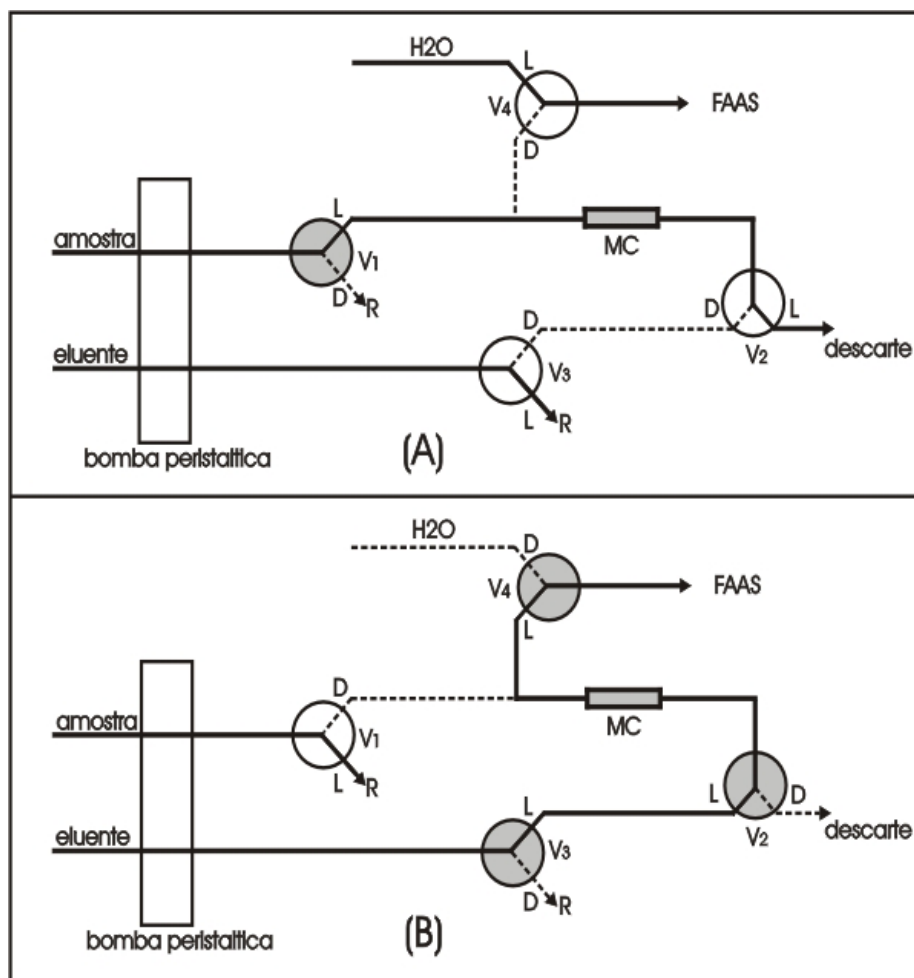


Figura II-5: Sistema de pré-concentração em linha. (A): etapa de pré- concentração e (B): etapa de eluição. V: válvula, L: via aberta, D: via fechada, MC: minicoluna contendo o adsorvente, R: retorno do fluxo da amostra ou eluente. Círculo hachurado: válvula ligada, círculo em branco: válvula desligada.

3.3.4. Otimização dos parâmetros químicos e de fluxo do sistema de pré-concentração de cromo

De posse do pH no qual a separação das espécies de cromo ocorre, as cascas das sementes de moringa foram utilizadas na construção de colunas de separação/pré-concentração para especiação e determinação das espécies de cromo em um sistema de análise por injeção em fluxo acoplado online ao FAAS.

Inicialmente, o efeito do eluente sobre a dessorção do cromo foi analisado, sendo avaliados como eluente: HCl, HNO₃, NaOH e Tris na concentração de 0,5 mol L⁻¹. Para este ensaio, 15 mL de solução de Cr(III) 200 µg L⁻¹ ou Cr(VI) 200 µg L⁻¹ foram percolados por uma coluna de pré-concentração contendo 30,0 mg das cascas de moringa à vazão de 6,0 mL min⁻¹, durante 2,5 minutos. Após a etapa de pré-concentração, 3,0 mL do eluente percolaram pela coluna à vazão de 4,0 mL min⁻¹, sendo o eluato levado on-line ao sistema de detecção.

Com base nesses resultados, o método de otimização multivariado foi escolhido para avaliação das variáveis que influenciam o sistema.

Muitas vezes em um sistema, diversos fatores ou variáveis podem influenciar na resposta desejada, dessa forma, um experimento para triagem é executado a fim de se determinar as variáveis experimentais e as interações que têm influência significativa sobre a resposta (Barros-Neto et al., 2002) .

Para avaliar a influência dos fatores (vazão de pré-concentração, concentração do eluente e massa do adsorvente) e suas interações no sistema de pré-concentração, um planejamento fatorial 2³ foi usado. Os níveis selecionados para os fatores estão definidos na Tabela II-2, onde os valores codificados (-1) e (+1) correspondem aos níveis baixo e alto do planejamento respectivamente.

Tabela II-2: Fatores e níveis usados no planejamento fatorial 2^3 aplicado ao sistema de pré-concentração.

Concentração do eluente (mol L^{-1})	Vazão de pré- concentração (mL min^{-1})	Massa do adsorvente (mg)
0,01 (-1)	3,0 (-1)	10,0 (-1)
0,01(-1)	3,0 (-1)	60,0 (+1)
2,0 (+1)	3,0 (-1)	10,0 (-1)
2,0 (+1)	3,0 (-1)	60,0 (+1)
0,01(-1)	6,0 (+1)	10,0 (-1)
0,01(-1)	6,0 (+1)	60,0 (+1)
2,0 (+1)	6,0 (+1)	10,0 (-1)
2,0 (+1)	6,0 (+1)	60,0 (+1)

Após verificação das variáveis mais significativas (vazão de pré-concentração e massa do adsorvente) para o sistema de pré-concentração, estas foram otimizadas através da construção de uma superfície de resposta utilizando Matriz Doehlert.

Uma importante propriedade do planejamento Doehlert diz respeito ao número de níveis que cada variável possui o que permite avaliar as variáveis consideradas mais importantes, ou seja, que apresentam efeitos mais pronunciados em um número maior de pontos no espaço estudado. Os sete experimentos requeridos pela matriz são apresentados na Tabela II-3.

Tabela II-3: Matriz Doehlert para otimização da vazão de pré-concentração e massa do adsorvente.

Experimento	Massa do adsorvente (mg)	Vazão de Pré-concentração (mL min ⁻¹)
1	45,0	6,0
2	60,0	6,0
3	52,7	8,0
4	30,0	6,0
5	37,5	4,0
6	52,5	4,0
7	37,5	8,0

3.3.5. Testes de seletividade

O efeito dos íons Ca(II), Cr(VI), Na(I), Cd(II), Mg(II), Fe(III) e Cu(II) foi avaliado a fim de checar se esses íons interferem na determinação de uma solução contendo 100 µg L⁻¹ de Cr(III) sob as condições otimizadas. Para o Cr(VI) foram testados os mesmos íons sob as mesmas condições, incluindo-se apenas o Cr(III) como interferente.

O estudo de interferentes foi realizado usando um planejamento fatorial fracionado 2⁷⁻³, resultando em 16 experimentos. A composição do planejamento, bem como, os níveis selecionados (concentração em µg L⁻¹) para os fatores estão definidos na tabela II-4.

Tabela II-4: Níveis e fatores usados para avaliação dos íons concomitantes selecionados usando planejamento fatorial fracionado.

Fator	(-)	(+)
Ca(II)	0 ug L ⁻¹	500 ug L ⁻¹
Cr(III)/Cr(VI)	0 ug L ⁻¹	500 ug L ⁻¹
Na(I)	0 ug L ⁻¹	500 ug L ⁻¹
Cd(II)	0 ug L ⁻¹	500 ug L ⁻¹
Mg(II)	0 ug L ⁻¹	500 ug L ⁻¹
Fe(III)	0 ug L ⁻¹	500 ug L ⁻¹
Cu(II)	0 ug L ⁻¹	500 ug L ⁻¹

Uma vez que em amostras de água a concentração dos íons Ca(II), Na(I) e K(I) é elevada, estudos adicionais foram realizados a fim de avaliar a possível interferência desses íons em elevadas concentrações. O efeito desses íons foi avaliado em soluções contendo o analito e o possível íon interferente em concentrações 100 vezes maiores, através da comparação do sinal analítico da solução contendo apenas Cr(III) ou Cr(VI) e o sinal analítico da solução contendo o analito e os íons interferentes.

O efeito dos complexantes EDTA, ácido cítrico e difenilcarbazida na retenção de Cr(III)/Cr(VI) também foi avaliado. Foram preparadas soluções contendo apenas o analito e soluções contendo o analito e os possíveis interferentes na proporção 1:10, sendo a interferência avaliada através da comparação do sinal analítico das soluções.

3.3.6. Avaliação do desempenho analítico

Neste item são descritos os testes de homogeneidade e estabilidade do adsorvente usado na metodologia proposta, assim como a avaliação da faixa linear, seletividade, precisão, exatidão, fatores de pré-concentração, limites de detecção e de quantificação.

3.3.6.1. Homogeneidade e Estabilidade das cascas de semente de *M. oleifera*

Nos testes de homogeneidade quatro diferentes colunas foram montadas com o adsorvente utilizando tamanho de partículas com faixa granulometria $\geq 500 \mu\text{m}$, e massa de casca triturada, 30,0 mg. Em cada coluna foram efetuados três ciclos de pré-concentração/eluição. O desvio padrão relativo (%DPR) entre as medidas de cada coluna foi empregado como indicativo da homogeneidade.

Em relação à estabilidade, uma mesma coluna recheada com 30,0 mg das cascas com a granulometria supracitada, foi submetida a aproximadamente 100 sucessivos ciclos de pré-concentração/eluição, respectivamente.

3.3.6.2. Faixa linear, cálculo dos limites de detecção (L.D.), de quantificação (L.Q.) e precisão

A faixa linear do método desenvolvido foi avaliada no intervalo de $0 \mu\text{g L}^{-1}$ a $1000 \mu\text{g L}^{-1}$ para Cr(III)/Cr(VI) separadamente. A precisão foi avaliada em termos da repetibilidade após 15 sucessivas análises de soluções de cromo $50 \mu\text{g L}^{-1}$, enquanto que os L.D. e L.Q. foram estimados através das medidas de branco ($n = 10$), conforme descrito na literatura (Analytical Methods Committee, 1987).

3.3.7. Parâmetros para descrição da eficiência de um sistema de pré-concentração em linha

3.3.7.1. Fator de enriquecimento (FE)

O fator de enriquecimento é o critério mais utilizado para avaliação dos sistemas de pré-concentração. Matematicamente o termo é a razão entre a concentração do elemento de interesse na solução obtido após concentração, C_c , e a concentração original, C_o :

$$FE = \frac{C_c}{C_o} \quad (10)$$

Na prática, a estimativa do FE, não é tão simples e direta como é mostrado acima, devido à concentração verdadeira do elemento de interesse na solução concentrada C_c , ser desconhecida. No entanto, uma aproximação de FE, baseada no

aumento da resposta do detector e não no aumento da concentração, é aceita pela sua definição como a razão dos coeficientes angulares das curvas de calibração com e sem a etapa de pré-concentração:

$$FE = \frac{b_p}{b_s} \quad (11)$$

Sendo b_p o coeficiente angular da curva de calibração com a etapa de pré-concentração e b_s o coeficiente angular da curva de calibração sem a etapa de pré-concentração.

Desta forma, o fator de enriquecimento foi estimado pela razão entre os coeficientes angulares das curvas com e sem a etapa de pré-concentração (Ferreira et al., 2003). A curva de calibração sem a etapa de pré-concentração foi construída pela aspiração direta da solução do elemento de interesse, contida em um pequeno frasco de vidro, para o sistema nebulizador-queimador do espectrômetro de absorção atômica com chama.

3.3.7.2. Eficiência da concentração (EC)

Embora o FE seja indispensável para a avaliação de um sistema de pré-concentração, quando utilizado sozinho, ele não fornece informações adequadas sobre sua eficiência. Um alto fator de enriquecimento, não está necessariamente associado com uma alta eficiência.

A eficiência de concentração é definida como o produto do fator de enriquecimento (FE) pela frequência f do número de amostras analisadas por minuto, expressa em min^{-1} . Deste modo, se a frequência de amostragem for expressa em amostras analisadas por hora, tem-se:

$$EC = FE \times \frac{f}{60} \quad (12)$$

3.3.7.3. Índice de consumo (IC)

Este conceito é definido como o volume da amostra, em mililitros, consumido para achar um FE unitário e pode ser expresso pela equação:

$$IC = \frac{V_s}{FE} \quad (13)$$

onde V_s é o volume da amostra consumida para encontrar uma unidade de FE.

3.3.8. Testes de exatidão

A exatidão do método proposto para extração seletiva/pré-concentração de cromo foi verificada a partir da análise de amostras de água e bebidas alcoólicas (vinho, cachaça e whisky), fortificadas com solução padrão contendo Cr(III) e/ou Cr(VI).

O método desenvolvido tem como objetivo utilizar a diferença observada na adsorção dos íons cromo em função do pH para separar as espécies (III) e (VI), bem como pré-concentrar essas espécies e determina-las por FAAS. A Figura II-6, mostra um diagrama esquemático do procedimento de análise.

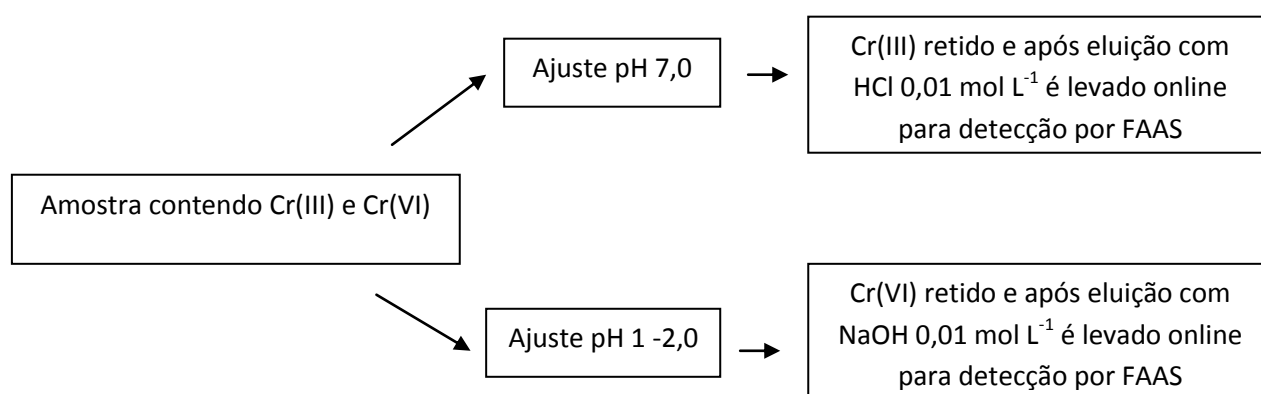


Figura II-6: Fluxograma do método proposto para especiação de cromo.

Os testes de recuperação foram realizados pelo método da adição padrão. Na adição padrão, quantidades conhecidas do elemento de interesse são adicionadas à amostra desconhecida. A partir do aumento do sinal, deduzimos quanto deste elemento estava presente na amostra original, desta forma, sendo o sinal diretamente proporcional à concentração do elemento de interesse (Harris, 2008), tem-se que:

$$\frac{\text{Concentração do analito na solução inicial}}{\text{Concentração do analito mais o padrão na solução final}} = \frac{\text{Sinal da solução inicial}}{\text{Sinal da solução final}} \quad (13)$$

Foi realizada também para avaliar a exatidão do método, análise do padrão certificado de água APS-1071 (Alpha Resources 3090 Johnson RD, Stevensville, USA). Este material foi diluído à concentração de $200 \mu\text{g L}^{-1}$ tendo o pH ajustado para 7,0 para análise de Cr(III) e pH 1-2 para análise de Cr(VI), com solução de NaOH ou HNO_3 $0,5 \text{ mol L}^{-1}$, atendendo as condições ótimas de pH, e submetidos a ciclos de pré-concentração/eluição para posterior determinação da concentração do analito de interesse a fim de realizar a comparação direta com o valor e desvios sugeridos pelo fabricante. Em todas as etapas do procedimento utilizaram-se vidrarias devidamente calibradas.

4.0. RESULTADOS E DISCUSSÕES

4.0. Otimização da separação das espécies de cromo

O efeito do pH da solução sobre a sorção dos íons Cr (VI) e Cr (III) nas cascas de sementes de moringa foi investigado variando o pH da solução de 1 a 9. O efeito da presença de várias soluções tampão no sinal analítico foi investigado, tendo sido observado que a presença de solução tampão afeta significativamente a eficiência de retenção dos íons cromo, provavelmente devido à competição entre estes íons e os cátions e ânions presentes no tampão pelos sítios de adsorção, bem como pode acontecer de ânions do tampão reagirem com o íon metálico para formação de complexos. Desta forma, o pH foi ajustado adicionando-se gotas de HNO_3 ou NaOH $0,1 \text{ mol L}^{-1}$. A figura II-7 ilustra os resultados obtidos.

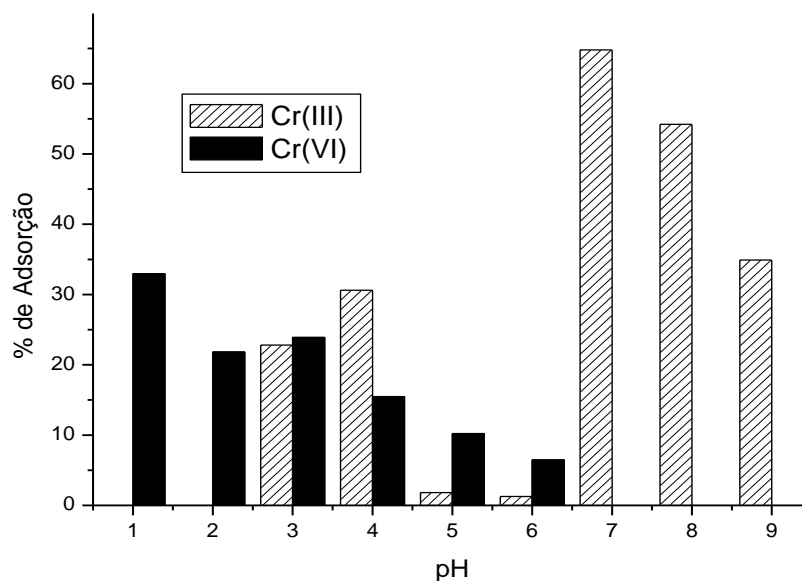


Figura II- 7: Avaliação da retenção das espécies de cromo em função da variação de pH.

A Figura II-7 ilustra que o pH da solução influencia fortemente a adsorção dos íons cromo na superfície das cascas de moringa. Para os íons Cr(VI), a adsorção máxima ocorre em pH 1. Este comportamento pode ser devido ao fato da superfície do bioadsorvente estar positivamente carregada sob estas condições aliado à distribuição das diferentes espécies de Cr(VI), em solução aquosa neste pH, onde a espécie predominante é HCrO_4^- . Em valores de pH maiores que 2, uma diminuição substancial na quantidade de íons adsorvidos é observada, o que pode ser explicado pelo fato de que o ponto de carga zero, determinado para as cascas de sementes de *Moringa oleifera* está na faixa entre 6-7. Desta forma, em valores de pH acima destes, a superfície do adsorvente está desprotonada, passando a repelir íons com cargas negativas.

Como citado anteriormente, as cascas de moringa possuem caráter anfótero, e o aparecimento de carga elétrica é o resultado de um complexo balanço de processos de ionização da superfície, com adsorção e dissolução de íons. Tendo em vista este fato e admitindo que em valores de pH abaixo de 12 a espécie trivalente de cromo se encontra

na forma positiva ou neutra, uma possível explicação para a adsorção de Cr (III), em pH abaixo do ponto isoelétrico (6-7), pode ser devido à formação de uma dupla camada elétrica entre a superfície carregada e o meio polar, o qual contém contra-íons e co-íons, onde os ânions são adsorvidos especificamente e os cátions solvatados são adsorvidos não especificamente (Fritzen, 2002). Em pH entre 6-7, observa-se um aumento no sinal analítico concomitante com o aparecimento da espécie Cr(OH)_2^+ .

O decréscimo da adsorção em pH maior que 8, pode ser devido ao equilíbrio das espécies de Cr(III) estar deslocado no sentido da formação da espécie não-carregada Cr(OH)_3^0 .

Na faixa de pH entre 7-9, não foi observada adsorção para a espécie hexavalente. Isto porque, nesta faixa de pH o bioadsorvente possui capacidade de troca catiônica e o Cr(VI) encontra-se como espécies aniônicas, tais como CrO_4^{2-} , $\text{Cr}_2\text{O}_7^{2-}$ e HCrO_4 . Desta forma, Cr(VI) pode ser separado por adsorção quando o pH inicial da solução é ajustado para a faixa ácida (1-2), enquanto o Cr(III) pode ser separado ao manter o pH inicial da solução em pH entre 7-9.

4.1. Isotermas de adsorção

O efeito do tempo de contato na adsorção de íons cromo foi estudado na faixa de 5 a 50 minutos, como mostra a Figura II-8.

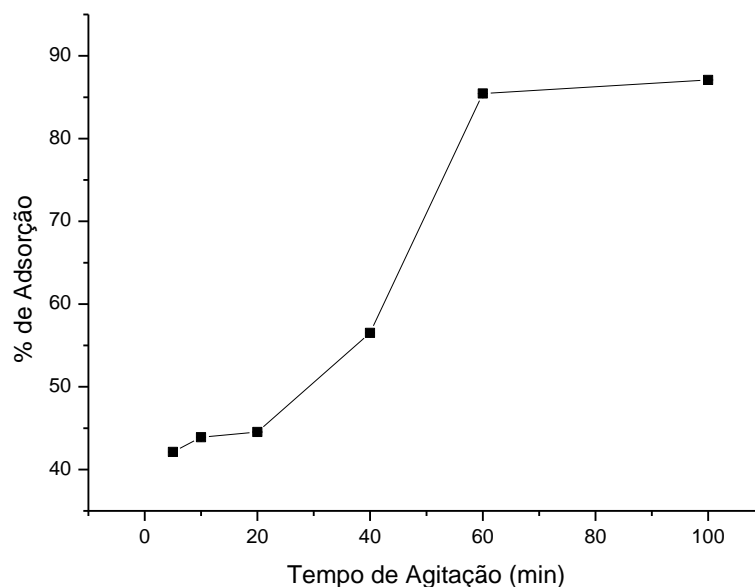


Figura II-8: Efeito da variação do tempo de adsorção em função da adsorção de íons Cr utilizando sementes de moringa como bioadsorvente. Condições: $m = 50,0$ mg, volume = $50,0$ mL; $[\text{Cr(III)}] = 25 \text{ mg L}^{-1}$; $\text{pH} = 7,0$.

A quantidade de íons Cr(III) retida pelo material adsorvente aumentou consideravelmente até 60 minutos, após esse período a quantidade de cromo adsorvida pelo material é praticamente constante. Desta forma, a fim de garantir a eficiência do processo, o tempo de 60 minutos foi adotado para a construção das isotermas de adsorção.

A capacidade máxima adsorptiva (CMA) das cascas de moringa pelos íons Cr(III)/Cr(VI) foi estimada através da construção das isotermas de adsorção. Este procedimento permitiu verificar graficamente a quantidade máxima (mg) do adsorvato que pode ser adsorvida numa dada massa (g) de adsorvente.

Para este experimento, $50,0$ mg do material adsorvente foram postas em agitação durante 60 minutos com $50,0$ mL de uma solução contendo íons Cr(III) em concentrações crescentes em pH igual a $7,0$ ou Cr(VI) em pH igual a $3,0$. Após filtração o sobrenadante foi analisado por FAAS.

A isoterma foi obtida lançando-se no eixo da abscissa a concentração do sobrenadante, ou seja, a concentração de equilíbrio do adsorvato - C_e (mg L^{-1}), e no eixo

da ordenada a quantidade do metal adsorvido (mg) pela massa do adsorvente - Q_e (mg g^{-1}), de acordo com a equação 10.

A figura II-9 apresenta a representação gráfica da isoterma obtida para adsorção de Cr(III) (a) e Cr(VI) (b).

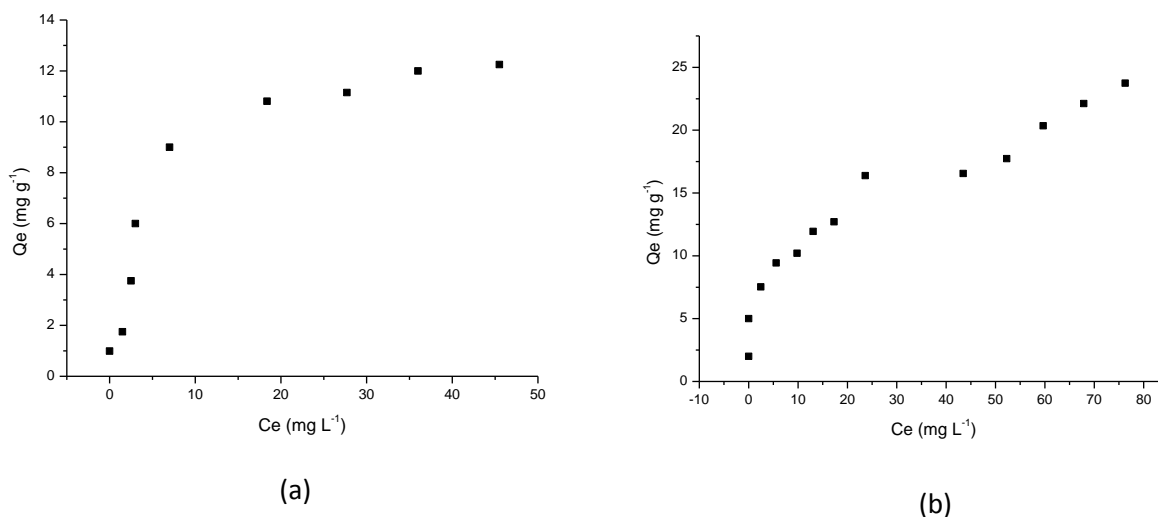


Figura II-9: Isotherma de adsorção de íons Cr(III) (a) e Cr(VI) (b) utilizando cascas de *Moringa oleifera* como bioadsorvente.

De acordo com o gráfico acima e observando a classificação proposta por Giles *et al.* (1960), citado por Falone (2004), a isoterma de adsorção de íons Cr(III) pelas cascas de moringa pode ser identificada como uma isoterma do tipo L. Este tipo de isoterma apresenta concavidade para baixo e representa a adsorção em monocamadas (Versiani, 2008).

Posteriormente, foram testados modelos que descrevem o equilíbrio estabelecido entre os íons do metal adsorvido na biomassa (q) e os íons que permanecem na solução (C_e), a uma temperatura constante.

As figuras II-10 (a) e 11(b) apresentam as isothermas linearizadas segundo os modelos de Langmuir e Freundlich, respectivamente.

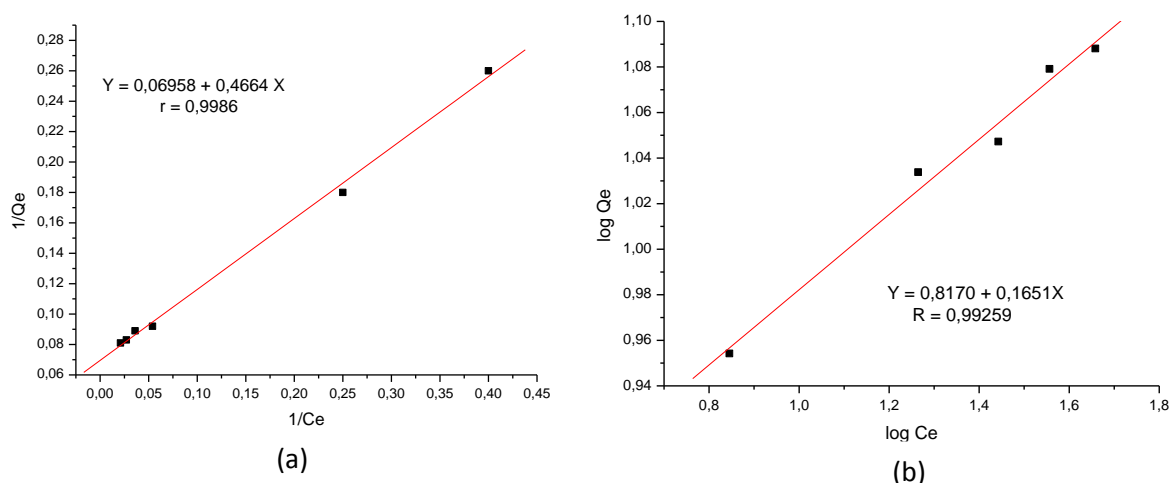


Figura II-10: Linearização das isotermas de adsorção de Cr(III) aplicadas aos modelos de Langmuir (a) e Freundlich (b).

Pode-se observar que, no estudo das isotermas de adsorção, os dados experimentais para a adsorção de íons Cr(III) pelas cascas das sementes de *Moringa oleifera*, proporcionaram bons ajustes para os dois modelos de isoterma, apesar do fato de que o coeficiente de correlação para o modelo de Langmuir foi ligeiramente superior que o modelo de Freundlich. É razoável supor que o comportamento da adsorção Cr(III) no bioadsorvente é limitado a uma monocamada, onde a adsorção máxima indica a saturação da monocamada (Sari et al., 2007). Embora os dados de adsorção foram ajustados pelos modelos de Langmuir e Freundlich, não é possível dizer exatamente qual dos modelos explica com clareza o processo de adsorção. Este resultado é tanto esperado, tendo em conta a complexidade da estrutura e composição da bioadsorvente.

Observando a Figura II-9 (b), a isoterma obtida para a adsorção de Cr(VI) pelas cascas de moringa, a mesma pode se encaixar no tipo H, segundo a classificação de Gilles. Esse tipo de isoterma representam adsorções extremamente fortes em faixas de baixas concentrações; é de grande inclinação nestas regiões, implicando forte adsorção preferencial do soluto (Versiani, 2008).

Para a adsorção de Cr(VI), as Figuras II-11 (a) e (b) apresentam as isotermas linearizadas segundo os modelos de Freundlich e Langmuir.

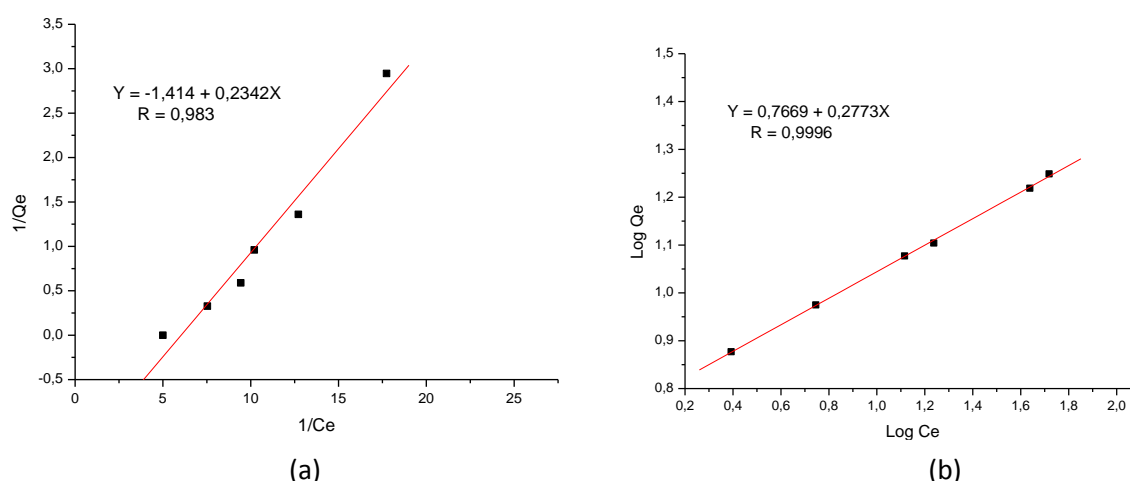


Figura II-12: Linearização das isotermas de adsorção de Cr(VI) aplicadas aos modelos de Langmuir (a) e Freundlich (b).

Nesse caso, de acordo com o coeficiente de correlação encontrado após a linearização, o processo de adsorção dos íons Cr(VI) pelas cascas de moringa, pode ser melhor explicado segundo o modelo de Freundlich, que considera a existência de uma estrutura em multicamadas, e não prevê a saturação da superfície. O modelo considera o sólido heterogêneo, ao passo que aplica uma distribuição exponencial para caracterizar os vários sítios de adsorção, os quais possuem diferentes energias adsorptivas. Além disso, esse modelo não se torna linear em baixas concentrações, mais permanece côncavo ao eixo da concentração (Tavares et al., 2003).

A Tabela II-5 apresenta as constantes encontradas após a linearização segundo os dois modelos.

Tabela II-5: Parâmetros de linearização das isotermas de adsorção segundo os modelos de Langmuir e Freundlich.

Analito	Parâmetros de Langmuir		Parâmetros de Freundlich	
	$Q_{\text{Máx}}$ (mg g ⁻¹)	B	K_f	N
Cr(III)	14,37	1,5	6,561	6,056
Cr(VI)	0,70	6,10	1,193	4,214

As constantes da isoterma de Langmuir Q_{MAX} e b são constantes relacionadas com a capacidade de adsorção máxima e energia de adsorção, respectivamente. O parâmetro R_L é uma constante adimensional chamada parâmetro de equilíbrio (Chaves et al., 2009). Assim para a adsorção de Cr(III) foi encontrada uma capacidade máxima de adsorção igual a $14,37 \text{ mg g}^{-1}$ e para Cr(VI) $0,70 \text{ mg g}^{-1}$, enquanto que o parâmetro R_L indica adsorção favorável para as duas espécies.

Para as s variáveis da isoterma de Freundlich, K_f = constante de Freundlich; $1/n$ = fator de linearidade da isoterma, temos que o valor de n na isoterma de Freundlich apresenta a mesma função do parâmetro R_L na isoterma de Langmuir. Valores de n entre 2 e 10 representam uma adsorção favorável (Soares et al., 1998). Assim, foram encontrados valores de K_f iguais a 6,56 e 1,19 para a adsorção de Cr(III) e Cr(VI), respectivamente, sendo que para ambos os casos o valor da constante n indica uma adsorção favorável.

A tabela II-6 apresenta as capacidades máximas adsorptivas obtidas para diversos adsorventes naturais para Cr(III) e Cr(VI). Os resultados mostram que as cascas de moringa apresentam elevada capacidade adsorptiva pelas espécies de cromo, quando comparadas à outros adsorventes naturais.

Tabela II-6: Valores de Capacidade Máxima Adsorptiva de materiais naturais para os íons Cr(III) e Cr(VI).

Adsorvente	Espécie Adsorvida	Q (mg g ⁻¹)	Referência
Farelo de Arroz	Cr(III)	0,13	Oliveira et al., 2005
Nanotubo de	Cr(III)	0,50	Muatez et al., 2010
Carbono Modificado			
Palha de Sorgo	Cr(III)	9,35	Garcia-Reyes e Rangel Mendes, 2010
Resíduos de Vinha	Cr(III)	12,45	Karaoglu et al., 2010
Carvão ativado granular	Cr(VI)	1,96	Souza et al., 2009
<i>Pinus Elliotti</i>	Cr(VI)	16,24	Oliveira et al., 2010

4.2. Otimização dos parâmetros químicos e de fluxo do sistema de pré-concentração de cromo

4.2.1. Otimização do eluente para dessorção das espécies de cromo

Inicialmente as condições para eluição de cromo foi investigada. Nesse passo alguns parâmetros foram fixados: 15 mL de uma solução de Cr(III) com concentração $100 \mu\text{g L}^{-1}$ em pH 7,0 foram percolados à vazão de $6,0 \text{ mL min}^{-1}$, por uma coluna de separação/pré-concentração contendo 30,0 mg de cascas trituradas de sementes de moringa. Após a pré-concentração, 6,0 mL do eluente na concentração de $0,5 \text{ mol L}^{-1}$ percolaram pela coluna.

Um eluente adequado para a dessorção de íons metálicos a partir de um adsorvente deve ser barato, eficaz, não poluente e não prejudicial ao adsorvente. Assim soluções diluídas de ácidos clorídrico e nítrico, solução diluída de tris-hidróximetilaminometano e hidróxido de sódio $0,5 \text{ mol L}^{-1}$ foram testadas, os resultados são apresentados na Figura II-12.

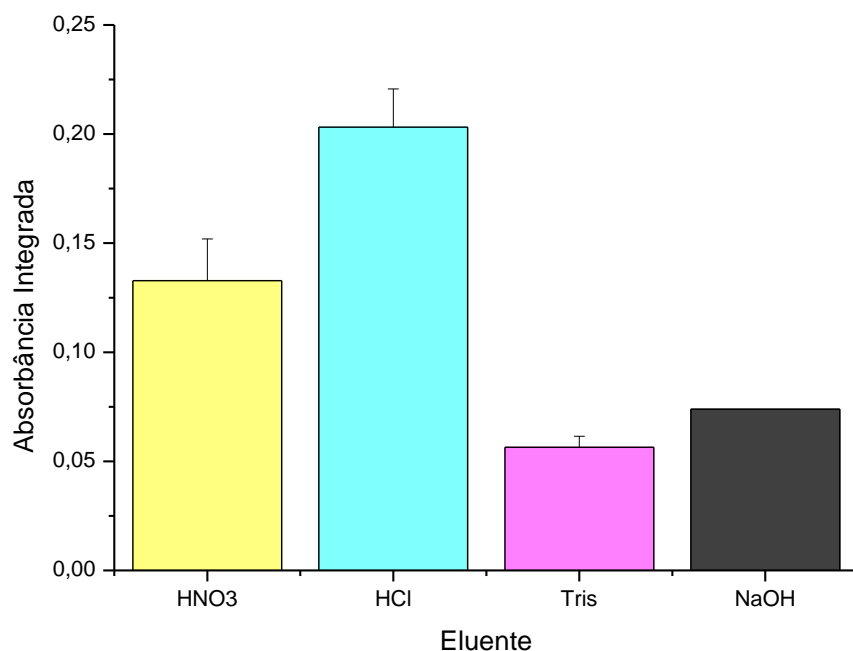


Figura II-12: Avaliação do tipo de eluente para dessorção de Cr(III).

No pH próximo a 7,0, como dito anteriormente foi observado um aumento na porcentagem de adsorção de Cr(III) devido ao aparecimento da espécie $\text{Cr}(\text{OH})_2^+$. Assim, sob condições ácidas, a superfície do adsorvente é protonada por íons H_3O^+ , permitindo a dessorção dos íons metálicos carregados positivamente a partir da superfície do adsorvente (Massart et al., 2003). Assim, é evidente que os ácidos nítrico e clorídrico levam a uma maior dessorção dos íons Cr(III), o que pode ser verificado pelo aumento do sinal analítico, sendo que o HCl proporcionou uma maior eficiência de recuperação dos íons quando comparada ao uso do HNO_3 como eluente. Essa maior eficiência pode estar relacionada ao fato de íons cloreto formarem complexos com os íons cromo, o que facilita sua interação com estes íons.

Para dessorção de Cr(VI), o processo contrário ao descrito anteriormente para dessorção de Cr(III) é observado. Uma vez que a adsorção de Cr(VI) ocorre em pH ácido, quando a superfície das cascas de moringa estão carregadas positivamente, o material atua como um trocador aniônico, assim fica também evidente que soluções de base serão melhores eluentes, o que pode ser observado pelo aumento do sinal analítico na figura II-13.

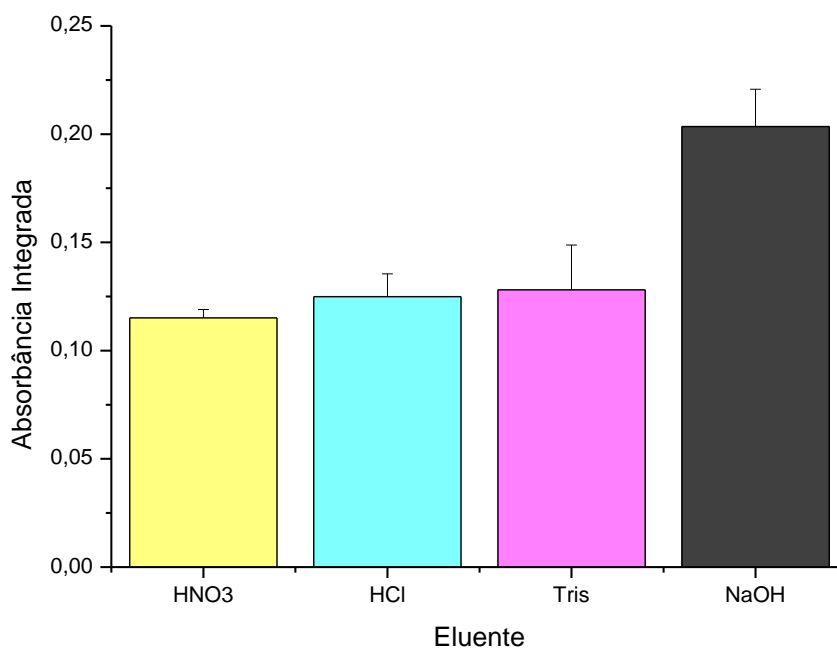


Figura II-13: Avaliação do eluente para dessorção de Cr(VI).

Vale ressaltar que a eficiência de sorção está diretamente ligada a ativação da coluna. Após cada ciclo a passagem de 1,0 mL de HCl 0, 01 mol L⁻¹ demonstrou-se suficiente para a regeneração da mini-coluna.

4.2.2. Planejamento Fatorial

Para avaliar a influência dos fatores (vazão de pré-concentração, massa do adsorvente e concentração do eluente), bem como suas interações no sistema de pré-concentração, um planejamento fatorial 2³ foi usado. A matriz requerida para os 8 experimentos do planejamento fatorial e o resultado, obtido em triplicata, está descrito na Tabela II-7 sendo a resposta analítica obtida em área de pico.

Tabela II-7: Matriz do planejamento fatorial completo e a resposta analítica na pré-concentração de Cr(III) no sistema proposto.

Experimento	Massa do Adsorvente (mg)	Concentração Eluente (mol L ⁻¹)	Vazão de pré- concentração (mL min ⁻¹)	Absorbância integrada
1	10	0,01	2,0	0,1968
2	60	0,01	2,0	0,3560
3	10	2,0	2,0	0,0991
4	60	2,0	2,0	0,4470
5	10	0,01	6,0	0,1895
6	60	0,01	6,0	0,3279
7	10	2,0	6,0	0,1376
8	60	2,0	6,0	0,4828

A importância dos efeitos foi checada pela análise de variância (ANOVA) e pelo nível de significância p-valores. Na figura II-13, o gráfico de Pareto ilustra as variáveis com os principais efeitos.

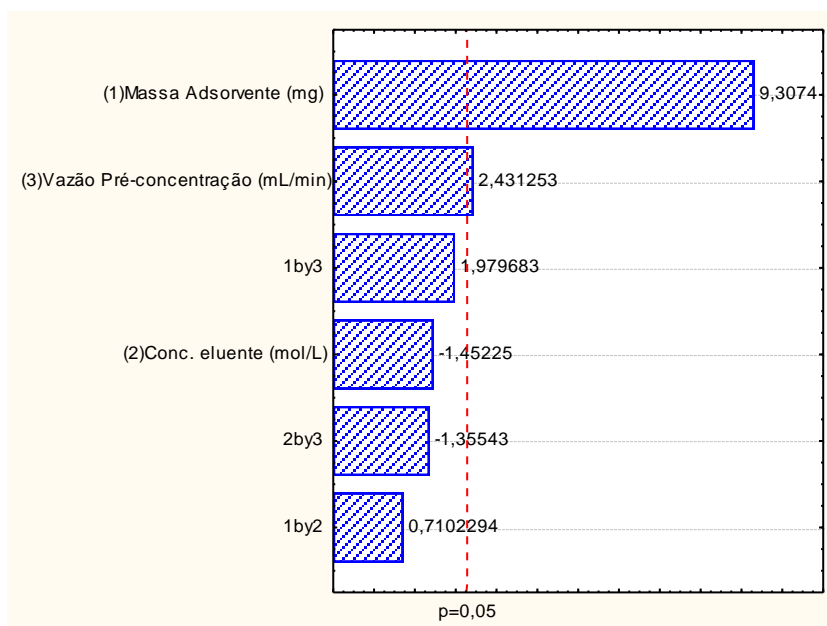


Figura II-13: Gráfico de Pareto dos efeitos padronizados para as variáveis do sistema de extração seletiva/ pré-concentração de Cr(III) usando absorbância integrada como resposta.

Pode-se observar que as variáveis que apresentam significância ($p > 0,05$) dentro da faixa estudada, foram a massa do adsorvente (9,30) e a vazão de pré-concentração (2,43). Os valores positivos indicam que o aumento destes fatores irá resultar em um aumento do sinal analítico. Embora a interação entre estes dois parâmetros não têm um efeito significativo, os resultados indicam que estas variáveis têm um efeito sinérgico sobre a resposta analítica. Além disso, foi demonstrado que a concentração do eluente não foi significativa (ao nível de 95% de confiança), tendo sido fixada em $0,01 \text{ mol L}^{-1}$.

Os resultados obtidos para o estudo fatorial completo indicaram que as variáveis massa do adsorvente e vazão de pré-concentração necessitam de uma otimização mais completa.

4.2.3. Construção da superfície de resposta

A vazão de pré-concentração e a massa do adsorvente foram otimizados através da construção de uma superfície de resposta utilizando matriz Doehlert.. De acordo com as indicações apresentadas pelo planejamento fatorial, os 7 experimentos requeridos são mostrados na tabela II-8, bem como os resultados obtidos para cada experimento.

Tabela II-8: Matriz para otimização da vazão de pré-concentração e massa do adsorvente seguindo matriz Doehlert para Cr(III).

Experimento	Vazão de pré-concentração (mL min ⁻¹)	Massa do adsorvente (mg)	Absorbância integrada
1	6,0	45,0	0,6162
2	6,5	60,0	0,6167
3	8,5	52,5	0,4564
4	6,0	30,0	0,3786
5	4,0	37,5	0,3954
6	4,0	52,5	0,6671
7	8,0	37,5	0,4167

A partir dos resultados dos experimentos foi gerada a superfície de resposta que pode ser vista na Figura II-145. Esta superfície pode ser descrita pela equação quadrática (15):

$$\begin{aligned}
 \text{ABS} = & 2,67 + 0,079*(\text{vazão pré-concentração}) - 0,00053*(\text{vazão pré-concentração})^2 + 0,46*(\text{massa do adsorvente}) - 0,26*(\text{massa do adsorvente})^2 - \\
 & 0,0037*(\text{concentração do eluente})*(\text{vazão de pré-concentração}) \quad (15)
 \end{aligned}$$

O critério de Lagrange (Araújo, et al., 1996), foi aplicado na equação (15), com objetivo de localizar o ponto crítico da equação de segunda ordem, e o resultado demonstrou que um ponto de máximo.

Assim, os máximos foram calculados como sendo a massa do adsorvente igual a 58,0 mg e a vazão de pré-concentração de 4,5 mL min⁻¹.

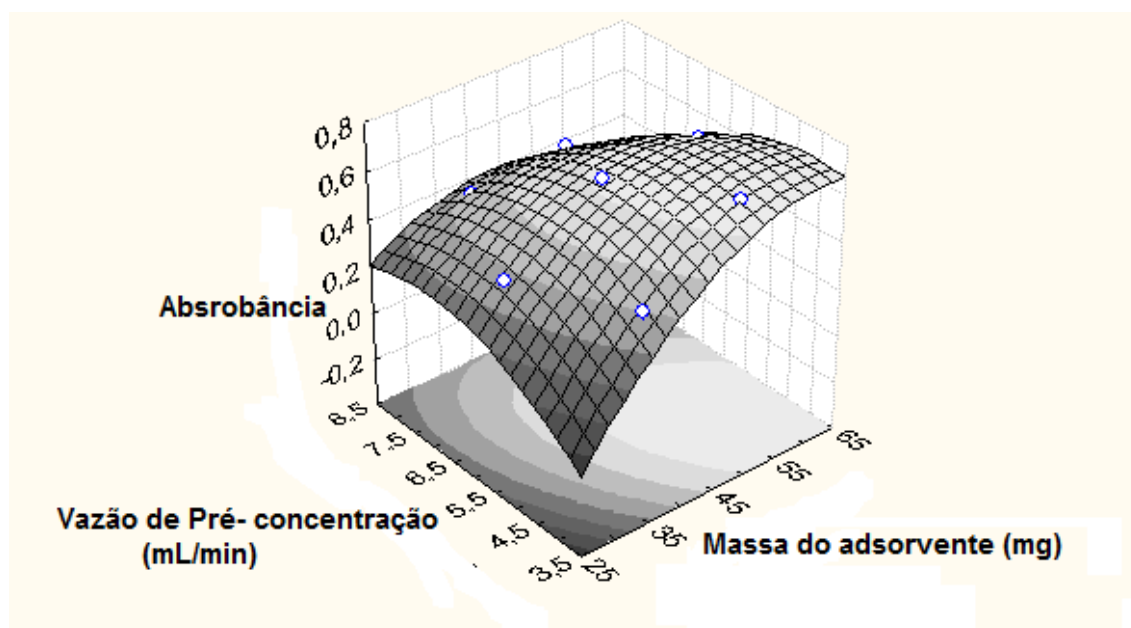


Figura II-15: Superfície de resposta para Matriz Doehlert. (volume de amostra foi 15,0 mL contendo $100 \mu\text{g L}^{-1}$ Cr(III) pH da amostra 7,0 e eluente HCl $0,01 \text{ mol L}^{-1}$).

A tabela II-9 apresenta as condições otimizadas para a adsorção de cromo no bioadsorvente usando o planejamento fatorial e Matriz Doehlert.

Tabela II-9: Condições otimizadas para o sistema para pré-concentração de Cr(III).

Concentração do eluente (mol L^{-1})	0,01
Vazão de pré-concentração (mL min^{-1})	4,5
pH da amostra	7,0 para Cr(III) 1,0 para Cr(VI)
Massa do adsorvente (mg)	58,0

4.3. Testes de seletividade

O efeito dos íons Ca(II) , Cr(VI) , Na(I) , Cd(II) , Mg(II) , Cu(II) e Fe(III) foi avaliado para verificar o potencial de interferências dos íons na adsorção de $100 \mu\text{g L}^{-1}$ de Cr(III)/Cr(VI) , com as condições de pré-concentração previamente otimizadas.

As cascas das sementes de *Moringa oleifera* apresentam características de trocador iônico e a competição entre os íons concomitantes e o analito depende da concentração do cátion concomitante e do analito bem como da sua afinidade relativa pela superfície do sorvente e do número de sítios ativos disponíveis.

Neste trabalho, o estudo de interferente para cátions foi realizado utilizando um planejamento fatorial fracionário 2^{7-3} resultando em 16 experimentos. A Tabela II-10 mostra a matriz do planejamento experimental com a resposta analítica em absorbância integrada.

Tabela II-10: Matriz resultante do planejamento fatorial fracionário e a resposta analítica.

Experimento	Ca ²⁺	Cr ⁶⁺ /Cr ³⁺	Na ⁺	Cd ²⁺	Mg ²⁺	Fe ³⁺	Cu ²⁺	Absorbância integrada Cr(III)	Absorbância Integrada Cr(VI)
1	-1	-1	-1	-1	-1	-1	-1	0,1892	0,1792
2	1	-1	-1	-1	1	-1	1	0,1794	0,1675
3	-1	1	-1	-1	1	1	-1	0,1846	0,1788
4	1	1	-1	-1	1	1	1	0,1801	0,1591
5	-1	-1	1	-1	-1	1	1	0,2017	0,1817
6	1	-1	1	-1	-1	1	-1	0,1560	0,1404
7	-1	1	1	-1	1	-1	1	0,1601	0,1856
8	1	1	1	-1	-1	-1	-1	0,1705	0,1695
9	-1	-1	-1	1	1	1	1	0,1404	0,1346
10	1	-1	-1	1	1	1	-1	0,1128	0,1929
11	-1	1	-1	1	-1	-1	1	0,1851	0,1638
12	1	1	-1	1	-1	-1	-1	0,1367	0,1341
13	-1	-1	1	1	-1	-1	-1	0,1417	0,1367
14	1	-1	1	1	-1	-1	1	0,1580	0,1435
15	-1	1	1	1	1	1	-1	0,1794	0,2282
16	1	1	1	1	1	1	1	0,1929	0,1749

A significância dos efeitos foi checada pela análise de variância (ANOVA) e pelo nível de significância p-valores. Na figura II-16, o gráfico de Pareto mostra os íons e seus principais efeitos. Pode ser observado nenhum dos íons concomitantes apresentaram significância ($p > 0,05$).

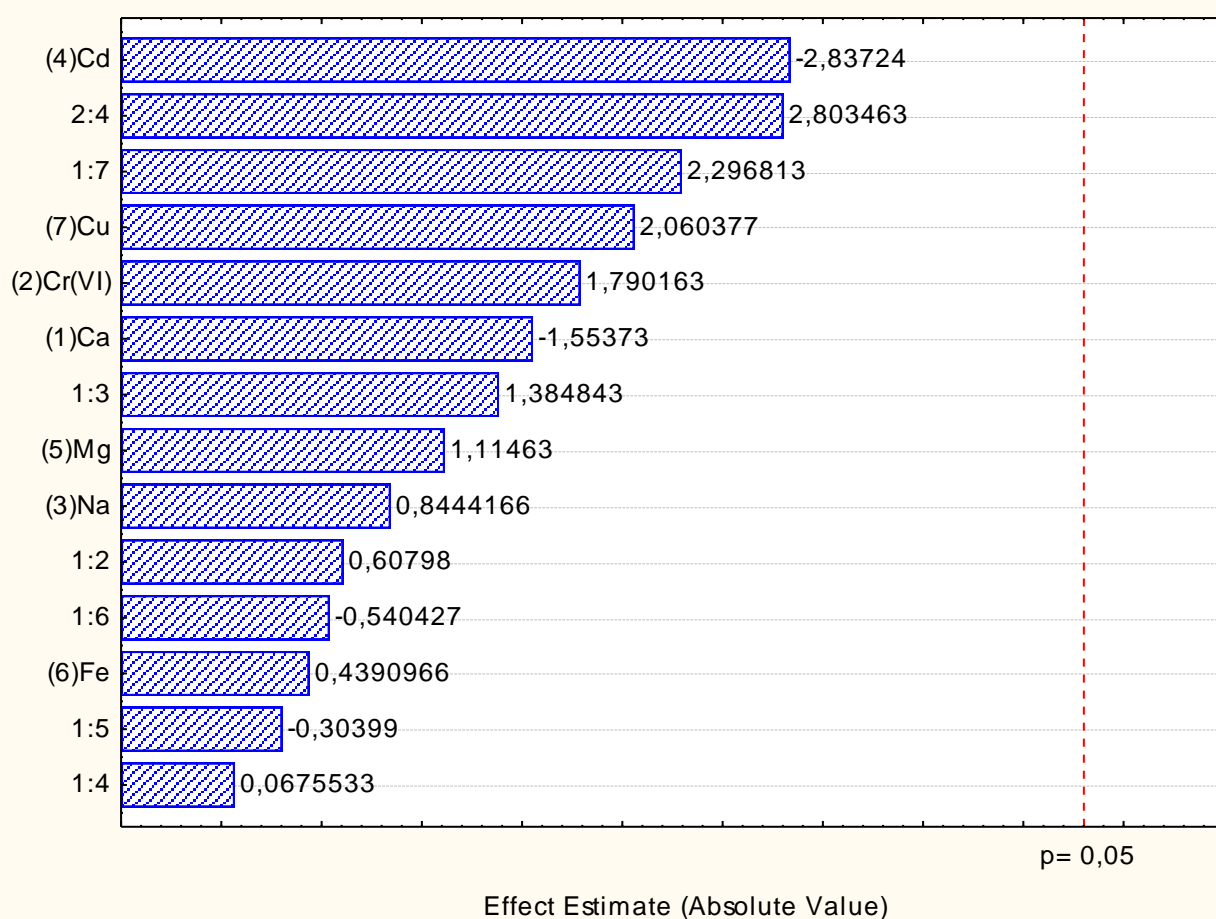


Figura II-16: Gráfico de Pareto dos efeitos para o estudo dos íons interferentes no sistema de pré-concentração de Cr(III), usando absorvância integrada como resposta. (Condições: pH da amostra 7,0, volume de amostra 10 mL; concentração de Cr(III) de $100 \mu\text{g L}^{-1}$; $0,01 \text{ mol L}^{-1}$ de HCl como eluente; vazão da amostra de $4,5 \text{ mL min}^{-1}$ e vazão do eluente de $4,0 \text{ mL min}^{-1}$).

Os mesmos cátions foram avaliados agora na pré-concentração de Cr(VI), a figura II-17 apresenta o gráfico de pareto obtido para tal estudo.

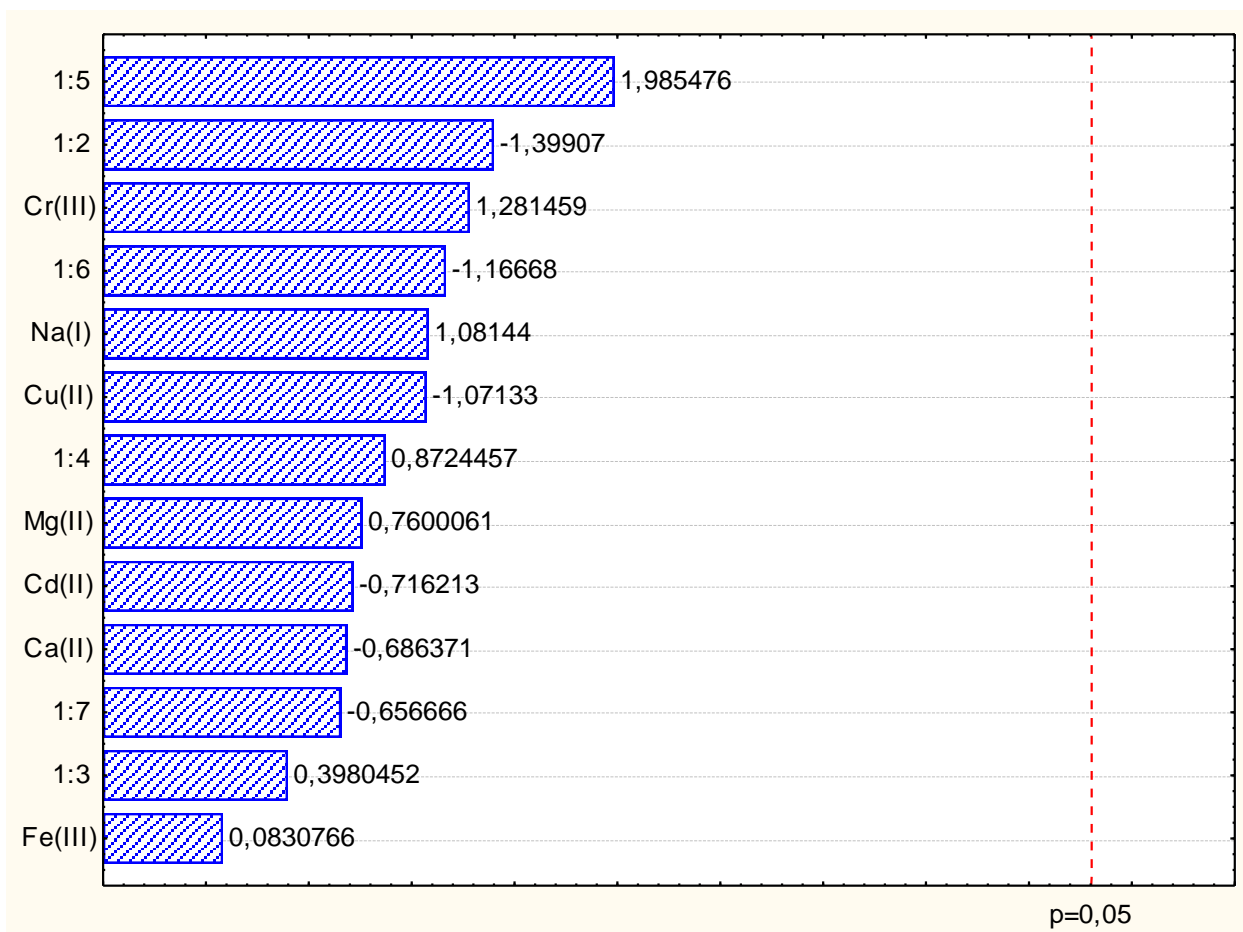


Figura II-17: Gráfico de Pareto dos efeitos para o estudo dos íons interferentes no sistema de pré-concentração de Cr(VI), usando absorvância integrada como resposta. (Condições: pH da amostra 1,0, volume de amostra 10 mL; concentração de Cr(VI) de $100 \mu\text{g L}^{-1}$; $0,01 \text{ mol L}^{-1}$ de NaOH como eluente; vazão da amostra de $4,5 \text{ mL min}^{-1}$ e vazão do eluente de $4,0 \text{ mL min}^{-1}$).

Apesar de nas Figuras II-16 e 17 nenhum dos íons concomitantes terem apresentado influência significativa na extração seletiva/pré-concentração de Cr(III) e Cr(VI), uma análise mais detalhada do cálculo do fator de interferência aponta que em alguns experimentos é observada interferência.

Tabela II-11: Fator de interferência obtido para avaliação da influência de possíveis íons interferentes.

Experimento	Fator de Interferência para Cr(III)	Fator de Interferência para Cr(VI)
2	0,94	0,93
3	0,97	0,99
4	0,95	0,88
5	1,07	1,01
6	0,82	0,78
7	0,84	1,03
8	0,90	0,94
9	0,74	0,75
10	0,59	1,07
11	0,98	0,91
12	0,72	0,75
13	0,74	0,76
14	0,83	0,80
15	0,94	1,27
16	1,01	0,97

Considerando a elevada proporção da concentração analito:interferente nos ensaios realizados, os resultados obtidos são considerados satisfatórios no método proposto para os tipos de amostras a que se propõe, onde estas espécies apresentam-se em níveis muito baixos de concentrações, principalmente no caso dos metais tóxicos. Entretanto, casos de depreciação dos sinais podem ainda ser atribuídos tanto à natureza do adsorvente quanto a fenômenos específicos da técnica FAAS (Perreira & Arruda, 2003). A redução do sinal das espécies de cromo pode ser atribuída à competição de outros cátions pelos sítios adsorptivos, uma vez que a interação das espécies metálicas na superfície do adsorvente se dá basicamente por troca iônica ou complexação. A segunda possibilidade para a diminuição das respostas fundamenta-se na complexidade das etapas existentes em uma via de atomização, uma vez que o íon metálico adsorvido na coluna é conduzida ao sistema nebulizador/queimador juntamente com os demais íons em estudo, havendo a possibilidade de formação de novos compostos termicamente

estáveis que acarretam a diminuição da resposta analítica. Por outro lado, é importante notificar embora pouco comum, que a presença de íons interferentes pode também provocar interferências positivas no sinal analítico, provocando acréscimos nos valores de sinais devido a numerosas reações de dissociação e associação responsáveis pela atomização do analito (Skoog et al., 2002).

Entretanto, o resultado obtido no experimento 2, aponta a eficiência do método, uma vez que Cr(III) pode ser determinado sem interferência na presença de elevadas concentrações de Cr(VI) ou o contrário.

O efeito do Ca^{2+} , Na^+ e Mg^{2+} em concentrações elevadas no sistema de pré-concentração de Cr (III) e Cr (VI) também foram estudadas, uma vez que nas amostras de interesse normalmente esses íons se encontram em concentrações elevadas. A influência destes interferentes foi verificada por comparação do sinal analítico de uma solução contendo apenas o Cr (III) ou Cr(VI) e uma solução contendo o analito e os possíveis íons interferentes. Uma espécie é considerada interferente para a determinação do analito no método proposto, quando a diferença entre os valores do sinal analítico da solução contendo apenas o analito (Cr(III) e Cr(VI)) e o sinal analítico da solução contendo o analito e o possível íon interferente é maior que 10%. Os íons interferentes foram adicionados em concentrações 100 vezes maior que o analito e em todo o estudo, nenhum dos íons apresentou fator de interferência maior que 10%, indicando que, mesmo em concentrações elevadas estes íons não apresentam interferência no método proposto.

EDTA, ácido cítrico e difenilcarbazida foram avaliadas como possíveis interferentes para pré-concentração do Cr (III) ou Cr (VI), uma vez que essas substâncias são normalmente utilizadas como agentes complexantes. A Tabela II-12 mostra os resultados obtidos em termos do fator de interferência. Sendo que o fator de interferência é calculado como sendo:

$$\text{FI} = A'/A$$

onde A' é o valor do sinal analítico relativo à solução de Cr(III)/Cr(VI) na presença do possível interferente, e A é o sinal analítico relativo à solução do analito na ausência do possível interferente.

Tabela II-12: Fator de interferência em relação a íons complexantes na pré-concentração de Cr(III)/Cr(VI).

Interferente (Porporção)	Fator de Interferência Cr(III)	Fator de Interferência Cr(VI)
EDTA (5:1)	1,59	1,17
EDTA (10:1)	3,00	0,83
Ácido cítrico (5:1)	0,85	1,27
Ácido cítrico (10:1)	2,13	1,35
Difenilcarbazida (5:1)	1,28	1,14
Difenilcarbazida (10:1)	0,88	0,95

Apenas a difenilcarbazida não apresentou interferência na pré-concentração e determinação de Cr (III) ou Cr (VI). Entretanto, embora o EDTA e o ácido cítrico se apresentaram como possíveis interferentes, estas substâncias não são encontradas em amostras de água ou bebidas alcoólicas em concentrações elevadas.

4.4. Avaliação do desempenho analítico

4.4.1. Homogeneidade e Estabilidade do bioadsorvente

O teste de homogeneidade da coluna pré-concentradora foi realizado com o objetivo de avaliar a precisão em termos da repetibilidade entre as diferentes alíquotas das cascas de *Moringa oleífera*, extraídas de um mesmo lote. Este estudo torna-se relevante uma vez que as cascas trituradas apresentavam uma ampla faixa granulométrica $\geq 500\mu\text{m}$.

Os valores de absorbância obtidos para coluna foram agrupados 2 a 2 e submetidos ao teste t. Os resultados apresentados na Tabela II-13 mostram que os sinais analíticos médios obtidos entre as diferentes colunas não apresentam diferenças significativas com intervalo de confiança de 95% (teste *t*).

Tabela II-13: Avaliação da precisão (repetibilidade) entre diferentes mini-colunas usadas na concentração de cromo.

Coluna	Absorbância integrada			Média	D.P.R (%)
1	0,1698	0,1924	0,1695	0,1772'	1,3
2	0,1430	0,1642	0,1448	0,1506	1,17
3	0,1335	0,1454	0,1500	0,1429	0,85
4	0,1785	0,1829	0,1924	0,1735	0,71

Os resultados apontados na tabela acima, evidenciam que a heterogeneidade das cascas de sementes de *Moringa oleífera*, não influenciam na pré-concentração de cromo.

O teste de estabilidade está representado na Figura II-18. Estes resultados indicam que o biadsorvente utilizado para construção da mini-coluna exibe boa estabilidade frente a sucessivos ciclos pré-concentração/eluição.

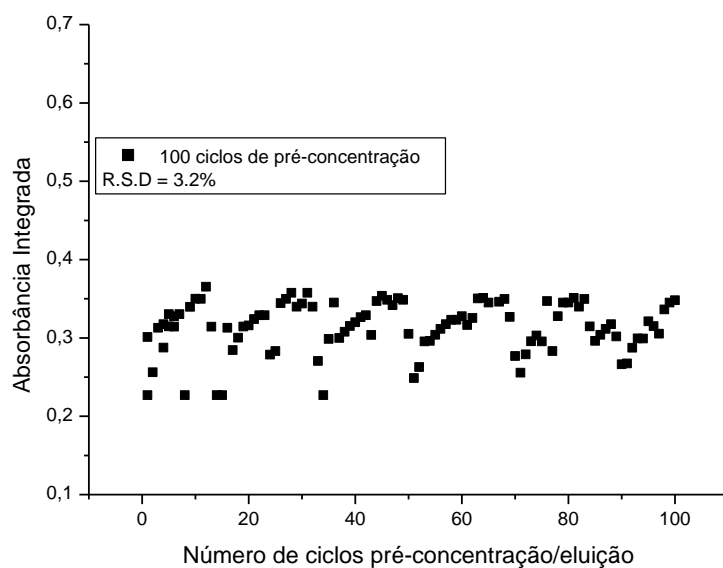


Figura II-18: Estabilidade das cascas de sementes de *Moringa oleífera* frente a 100 ciclos de concentração/eluição utilizando solução de $100 \mu\text{g L}^{-1}$ de Cr(III).

Estes resultados são um indicativo de que os sítios adsorptivos permanecem inalterados nas condições especificadas de acidez. A estabilidade do bioadsorvente pode ser considerada excelente quando comparada com outros adsorventes. Alves e

colaboradores (2010) utilizaram o carvão obtido das cascas de moringa na construção de uma coluna de pré-concentração para determinação de íons metálicos em matrizes alcoólicas, tendo sido observada estabilidade semelhante. Baytak, et al., (2005) imobilizaram a bactéria *Agrobacterium tumefaciens* em Amberlite XAD-4 para pré-concentração de Fe(II), Co(II), Mn(II) e Cr(III), sendo que a estabilidade da coluna não foi superior a 10 ciclos de concentração/eluição utilizando HCl 1,0 mol L⁻¹ como eluente. Dogru et al., (2007) imobilizaram também em Amberlite XAD-4 a bactéria *Bacillus subtilis* para a determinação de diferentes metais em baixas concentrações, e a estabilidade da coluna foi mantida para até 10 ciclos de pré-concentração/eluição.

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

O desempenho analítico do método de pré-concentração de cromo nas cascas de sementes de *M. oleifera* foi avaliado sob as condições otimizadas. Foram determinados os parâmetros: faixa linear, limites de detecção e quantificação e exatidão.

As Figuras II-19a e 19b mostram as curvas analíticas obtidas com e sem a etapa de pré-concentração, respectivamente para Cr(III).

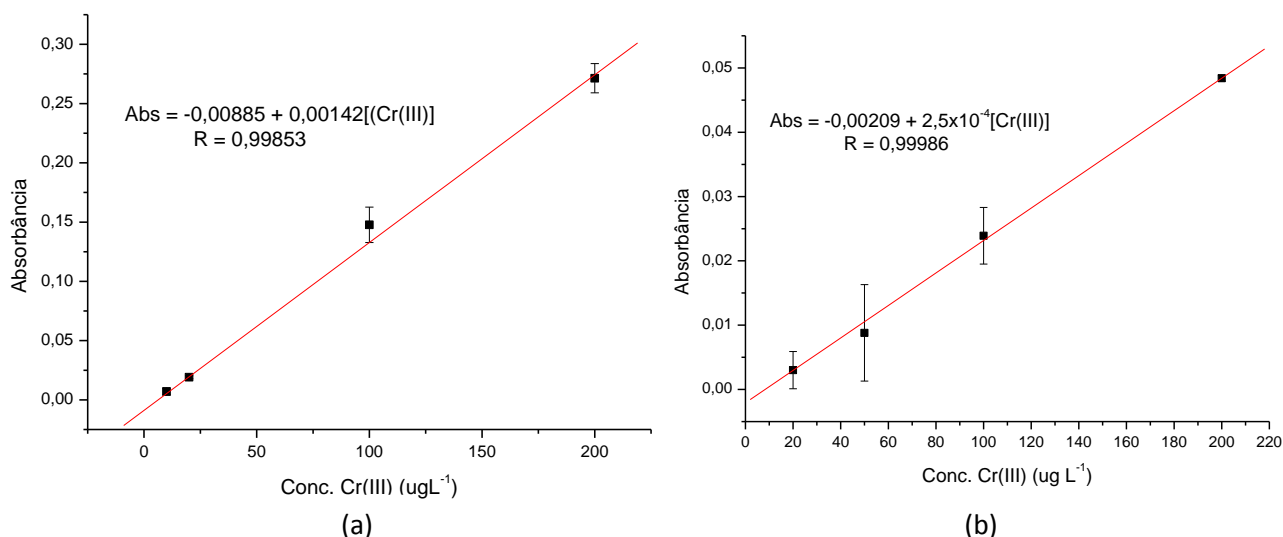


Figura II-19: Curvas de calibração de Cr(III) com etapa de pré-concentração (a) e sem a etapa de pré-concentração (b).

As Figuras II-20 (a) e 20 (b) apresentam as curvas analíticas obtidas com e sem a etapa de pré-concentração, respectivamente para o Cr(VI).

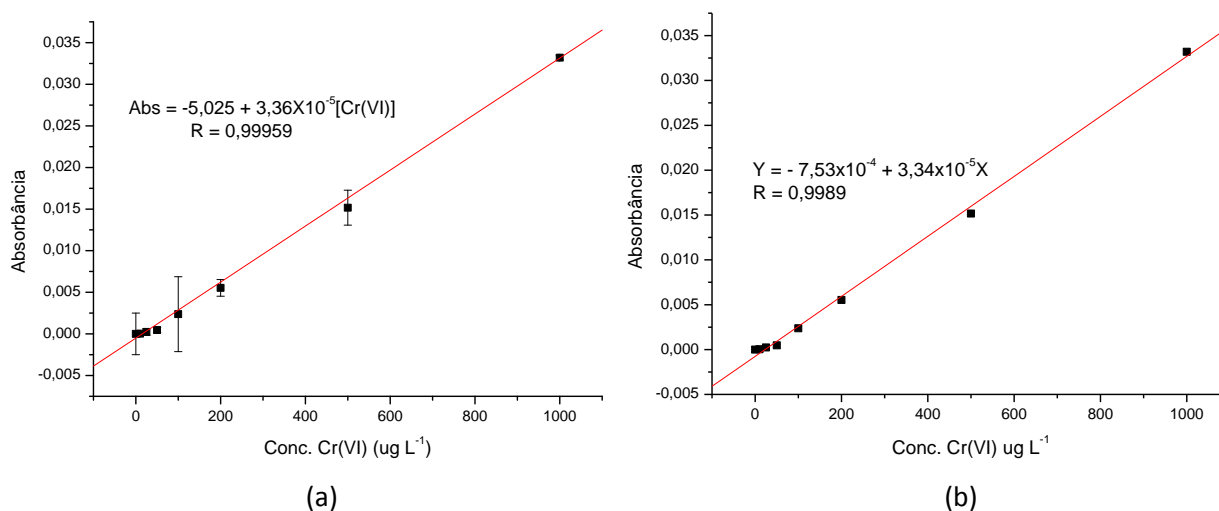


Figura II-20: Curvas de calibração de Cr(VI) com etapa de pré-concentração (a) e sem a etapa de pré-concentração (b).

As equações das retas mostradas nas figuras II-19 e II-20 permitem, mediante leituras sucessivas do branco, calcular os limites de detecção (LD) e quantificação (LQ) do método proposto. Estes parâmetros são relevantes para avaliar o desempenho de um método analítico para a determinação de espécies químicas a baixas concentrações. O limite de detecção definido como a menor quantidade do analito que um método pode detectar, foi calculado como 3 vezes o desvio padrão obtido em 10 determinações do branco dividido pela inclinação da curva de calibração. O limite de quantificação foi determinado como 10 vezes o desvio padrão obtido em 10 determinações do branco dividido pela inclinação da curva de calibração, de acordo com a IUPAC e expressa a real quantidade do analito na amostra com precisão e exatidão consideráveis. (Analytical Methods Committee, 1987).

A precisão do método foi avaliada após 10 determinações consecutivas para a solução de Cr(III) ou Cr(VI) 100 $\mu\text{g L}^{-1}$, expressando o resultado em termos de desvio padrão relativo (DPR). Os valores encontrados de DPR, 1,63% para Cr(III) e 0,08% para Cr(VI), são menores que 7% e indicam precisão adequada para o método desenvolvido (Silva, 2004). A tabela II-14 apresenta as figuras de mérito obtidas para o método proposto.

Tabela II-14: Figuras de mérito do método de pré-concentração de Cr(III) e Cr(VI).

	Cr(III)	Cr(VI)
Faixa linear ($\mu\text{g L}^{-1}$)	5,73 – 1000	7,35-1000
Coeficiente de correlação	0,9985	0,9995
Sensibilidade	0,00142	0,00034
D.P.R. (%)	1,63	0,08
Limite de detecção ($\mu\text{g L}^{-1}$)	1,91	2,45
Limite de quantificação ($\mu\text{g L}^{-1}$)	5,73	7,35

4.4.3. Parâmetros para descrição da eficiência de um sistema de pré-concentração em linha

Sabe-se que um elevado fator de enriquecimento não pode ser utilizado isoladamente para inferir que os sistemas em fluxo são mais vantajosos que os sistemas em batelada, visto que um sistema pode exibir um alto fator de concentração, mas exigir um longo tempo de concentração. Desta forma, diversos parâmetros podem ser utilizados a fim de avaliar a eficiência de um sistema de pré-concentração em fluxo, tais como:

- (a) Fator de enriquecimento (FE): As equações das curvas analíticas obtidas com a etapa de pré-concentração das soluções padrão de cromo permitiram o cálculo do fator de pré-concentração para o sistema em linha, de acordo com a equação (11) como sendo aproximadamente 5,68 para Cr(III) e 1,02 para Cr(VI).
- (b) Frequência de amostragem (FA): o tempo gasto para uma análise ser realizada no sistema em linha é de 4,3 minutos (3,3 minutos para a pré-concentração e 1 minuto para a eluição e leitura do instrumento). Em uma hora de análise ter-se-á corrido pelo sistema cerca de 14 amostras, sendo desta forma a frequência de amostragem do método de 14 amostras h^{-1} .

- (c) Eficiência de concentração (EC): este parâmetro pode ser facilmente calculado pela equação 12 , sendo o seu valor igual a $0,022 \text{ min}^{-1}$ para Cr(III) e $0,0039$ para Cr(VI).
- (d) Índice de consumo (IC): o índice de consumo do sistema foi calculado tendo-se por base o volume de amostra que passa pela coluna em um determinado tempo de pré-concentração. Aplicando-se a equação 13 encontra-se um valor para IC de 2,64 mL para Cr(III) e 14,7 para Cr(VI).

4.5. Testes de recuperação

Os testes de exatidão do método desenvolvido para a concentração de Cr(III) em um sistema de fluxo foram executados em amostras de água mineral. As amostras continham íons bicarbonato, cálcio, cloreto, sódio, nitrato, sulfato, potássio, brometo e bário, sendo que a concentração do analito estava próxima ao limite de detecção do método, pois o elemento de interesse não foi detectado pelo sistema de pré-concentração. Foram utilizados os parâmetros otimizados do sistema em fluxo, e a faixa da curva de calibração empregada foi de $10 - 200 \mu\text{g L}^{-1}$ de Cr(III) na presença de $200 \mu\text{g L}^{-1}$ de Cr(VI). Os resultados de recuperação são mostrados na Tabela II-15.

Tabela I-15: Teste de recuperação de Cr(III) em amostras de água.

Amostra	Cr(III) ($\mu\text{g L}^{-1}$)		Recuperação (%)
	Adicionada	Encontrado	
Água 1	50,0	44,6	89,2
	100,0	92,12	92,1
Água 2	50,0	47,7	95,4
	100,0	90,01	90,01
Água 3	50,0	45,0	90,0
	100,0	112,3	112,3

Água 4	50,0	51,56	103,12
	100,0	90,02	90,02

A tabela II-16 apresenta os resultados de recuperação para os íons Cr(VI) em amostras de água, as soluções foram fortificadas com Cr(VI) na faixa de concentração de 0 a 200 $\mu\text{g L}^{-1}$, na presença de 200 $\mu\text{g L}^{-1}$ de Cr(III).

Tabela II-16: Teste de recuperação de Cr(VI) em amostras de água.

Amostra	Cr(VI) ($\mu\text{g L}^{-1}$)		Recuperação (%)
	Adicionada	Encontrado	
Água 1	50,0	40,3	80,6
	100,0	85,7	85,7
Água 2	50,0	49,1	98,2
	100,0	90,60	90,60
Água 3	50,0	52,15	104,3
	100,0	96,40	96,4
Água 4	50,0	50,60	101,20
	100,0	99,90	99,90

Os resultados apresentados acima evidenciam que a metodologia não apresentou problemas relacionados ao efeito de matriz, visto que a recuperação dos íons cromo, no sistema de pré-concentração em fluxo, apresentou valores dentro da faixa aceitável de 80 a 120% (Association of Official Analytical Chemists).

O método proposto foi aplicado para análise de Cr(VI) em bebidas alcoólicas dando ênfase à amostras de: cachaça, vinho e whisky. A presença desse íon metálico em bebidas pode trazer graves danos à saúde, uma vez que o Cr(VI) é tóxico por ser um agente carcinogênico, e sua presença em bebidas pode ser justificada devido ao cultivo da matéria prima em solos ácidos ou contaminação durante o transporte e estocagem.

As amostras de bebidas foram obtidas em supermercados da cidade de Uberlândia-MG, sendo que em todas as amostras o íon de interesse foi encontrado em concentrações abaixo do limite de detecção do método. A fim de garantir a recuperação do analito, as amostras foram fortificadas com concentrações de Cr(VI) na faixa de 0 a 500 $\mu\text{g L}^{-1}$ na presença de 200 $\mu\text{g L}^{-1}$ de Cr(III) e o pH das amostras foi ajustado para 1-2. A tabela II-17 apresenta os resultados de recuperação observados.

Tabela II-17: Teste de recuperação de Cr(VI) em amostras de bebidas alcoólicas.

Amostra	Cr(VI) (μgL^{-1})		Recuperação (%)
	Adicionada	Encontrado	
Cachaça 1	100,0	102,2	102,2
	500,0	429,0	85,8
Cachaça 2	100,0	100,02	100,02
	500,0	500,3	100,07
Whisky 1	100,0	93,8	93,8
	500,0	480,0	96,0
Whisky 2	100,0	99,70	99,70
	100,0	492,0	98,40
Vinho 1	100,0	82,46	82,46
	500,0	450,6	90,12
Vinho 2	100,0	104,21	104,20
	500,0	437,5	87,50

4.6. Testes de exatidão

A exatidão do método proposto para a determinação de cromo foi verificada a partir da análise do padrão certificado de água APS 1071.

Os resultados da análise do padrão certificado APS 1071 são apresentados na tabela II-18.

Tabela II-18: Análise do material de referência.

Amostra	Método Proposto			Valor
	Cr(III)	Cr(VI)	Cr(III) + Cr(VI)	Certificado
APS-1071	102,2 ± 0,1	N.D	102,3 ± 0,1	100,0 ± 0,5

Valores: mg L⁻¹ N.D: não detectado

O resultado observado para a análise da amostra certificada APS-1071, mostra que os valores obtidos são consistentes com o valor de referência, confirmando a confiabilidade do método desenvolvido.

No presente estudo, o método proposto foi descrito e comparado de acordo com a técnica de detecção utilizada. Os parâmetros mais importantes para a descrição de métodos de especiação de cromo são descritos na Tabela II-19. Como pode ser observado, o método desenvolvido nesse trabalho apresenta características analíticas melhores ou semelhantes àqueles apresentados por outros métodos anteriormente publicados.

Tabela II-19: Comparação de métodos de extração em fase sólida para especiação de Cr(III)/Cr(VI) em águas.

Amostra de água	Espécie Separada	Característica do método	Deteção	L. D Cr(III) ($\mu\text{g L}^{-1}$)	Referência
Natural	Cr(III)	Nanopartículas de sílica funcionalizada com APTES	GF AAS	0.06	Huang et al., 2010
Água de torneira	Cr(III)	Poli N-(4-bromofenil)-2-metacrilamida-co-2-acrilamino-2-metil-1-ácido propanosulfônico divinilbenzeno	FAAS	1.58	Huang et al., 2010
Água de Lago	Cr(III)	Micro-coluna como nanopartículas de dióxido de titânio.	ICP OES	0.32	Bag et al., 2000
Água de Rio	Cr(III)	Saccharomyces cerevisiae imobilizadas em sepiolita.	FAAS	94	Bag et al., 2000
Águas	Cr(VI)	Resina quelante Dowex M 4195	FAAS	1.94	Saygi et al., 2008
Água de torneira	Cr(III)	Cascas de <i>Moringa oleifera</i> husks	FAAS	1.92	Este trabalho

Tendo em vista o reduzido número de trabalhos encontrados na literatura em relação ao desenvolvimento de metodologias de pré-concentração e extração seletiva em fluxo para a determinação de íons metálicos e considerando que o método permitiu a separação direta de Cr(III) e Cr(VI) em amostras de água e bebidas alcoólicas, fica evidente a possibilidade da utilização do método proposto para outros tipos de matrizes de interesse ambiental e alimentício (águas, sucos, chás, etc) e íons metálicos (Se, Sb, Mn), além daqueles citados nesse trabalho.

5.0. CONCLUSÕES

O sistema de extração/pré-concentração desenvolvido nesse trabalho, proporcionou boa sensibilidade, precisão, exatidão e velocidade analítica. Além disso, o uso desse adsorvente natural ainda não havia sido reportado em estudo de extração em fase sólida aplicados à especiação de íons metálicos.

O controle do pH inicial da solução contendo os íons de interesse mostrou-se suficiente para a separação das espécies inorgânicas de cromo. A mudança de pH causa alteração na carga elétrica da superfície do bioadsorvente e consequentemente faz com que o material possa atuar tanto como trocador aniônico quanto catiônico. Quando o pH da amostra é mantido em torno de 7,0 a espécie Cr(III) é retida e pré-concentrada, em pH em torno de 1,0 a espécie hexavalente é retida e pré-concentrada. Desta forma, o material apresentou elevado potencial para extração seletiva destas espécies.

De acordo com o estudo das isotermas de adsorção, em princípio propõe-se que o processo de adsorção se desenvolva por meio de interações entre o adsorbato e a superfície do material através de fisissorção, tendo sido encontrado um valores de capacidade máxima adsortiva iguais a 14,37 e 0,70.

A otimização multivariada foi utilizada com sucesso para obtenção das melhores condições químicas e de fluxo no sistema de pré-concentração, permitindo avaliar as interações principais e secundárias entre os fatores, fazendo-se uso de um menor número de experimentos.

Em relação à aplicabilidade, os testes de exatidão mostraram que o método pode ser aplicado com sucesso a diferentes tipos de amostras sem a necessidade de um pré-tratamento da amostra.

Com isso, esta estratégia se insere dentro do conceito de “Química Limpa”, uma vez que o sistema de concentração não requer o uso de complexantes, como é comumente observado com adsorventes sintéticos, além de não empregar solventes orgânicos na etapa de eluição.

O trabalho apresentado, além de mostrar o potencial de aplicação de um resíduo agroindustrial em sistemas de pré-concentração, expande a aplicabilidade do material, ao utilizá-lo no desenvolvimento de um método analítico de baixo custo, sem o comprometimento na sensibilidade e seletividade.

6.0. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

Alves, V. N.; Mosquetta, R.; Coelho, N. M. M.; Bianchin, J. N.; Roux, K. C. P.; Martendal, E.; Carasek, E. “*Determination of cadmium in alcohol fuel using Moringa oleifera seeds as a biosorbent in an on-line system coupled to FAAS*”. *Talanta*, 1133–1138, **2010**.

Alves, V.N., Borges, S.S.O., Coelho, N.M.M. “*Direct Zinc Determination in Brazilian Sugar Cane Spirit by Solid-Phase Extraction Using Moringa oleifera Husks in a Flow System with Detection by FAAS*”. *International Journal of Analytical Chemistry*, **2011**.

Anaia, G. C. “*Determinação de íons metálicos por FI-FAAS após separação e concentração em fase sólida: avaliação crítica de adsorventes*”. Dissertação de Mestrado. Programa de Pós-Graduação em Química. Universidade de São Paulo, **2008**.

Analytical Methods Committee. “*Recommendations for definition, estimation and use of the detection limit*”. *Analyst*, 199-204, **1987**.

Araújo, A. L. P., Silva, M. C. C., Gimenes, M. L., Barros, M. A. S. D. ” *Estudo Termodinâmico da Adsorção de Zinco em Argila Bentonita Bofe Calcinada*”. *Scientia Plena*, 9, 1-6, **2009**.

Araújo, C. S. T.; Alves, V. N. ; Rezende, H. C.; Coelho, N. M. M. “*Development of a flow system for the determination of low concentrations of silver using Moringa oleifera seeds as biosorbent and flame atomic absorption spectrometry*”. *Microchemical Journal*. Artigo no prelo, **2010**

Araújo, C. S. T.; Melo, E. I.; Alves, V. N.; Coelho, N. M. M. “*Use of Moringa Oleifera Lam. Seeds As a Natural Solid Adsorbent For Removal of Ag(I) In Aqueous Solutions*”. *Journal of the Brazilian Chemistry Society*. Artigo no prelo, **2010** (a).

Araújo, P. W.; Brereton, R. G. “*Experimental design I. Screening*”. *Trends in Analytical Chemistry*, 26-31, **1996**.

Bag, H., Turker, A.R., Lale, M., Tunçeli, A. “*Separation and speciation of Cr(III) and Cr(VI) with Saccharomyces cerevisiae immobilized on sepiolite and determination of both species in water by FAAS*.” *Talanta*, 51, 895–902, **2000**.

Barros Neto, B.; Scarminio, I. S.; Bruns, R. E.; “*Como fazer experimentos: pesquisa e desenvolvimento na ciência e na indústria*”. 2a ed., Ed. Unicamp: Campinas, **2002**.

Camel , V. “*Solid phase extraction of trace elements – Review*”. Spectrochimica Acta Part B 58, 1177-1233, **2003**.

Chang, X.; Li, Z.; Cui, Y. Zhu, X.; Zang, Z. “*Silica gel-immobilized-vanillin derivatives as selective solid-phase extractants for determination of chromium (III) in environmental samples by ICP-OES.*” *Micrichemical Journl*, 90, 71-76, **2008**.

Chaves, T.F., Queiroz, Z.F., Souza, D.N. R., Girão, J. H. S., Rodrigues, E. A. “*Uso da cinza da casca do arroz (cca) obtida da geração de energia térmica como adsorvente de zn(ii) em soluções aquosas.*” *Quim. Nova*, 32, 1378-1383, **2009**.

Chwastowska, J., Skwara, W., Sterlinska, E., Pszonicki, L. “*Speciation of chromium in mineral waters and salinas by solid-phase extraction and graphite furnace atomic absorption spectrometry*”. *Talanta* 66, 1345-1349, **2005**.

Cox, A.G., Cook, I.G., McLeod. “*Rapid sequential determination of chromium(III)-chromium(VI) by flow injection analysis-inductively coupled plasma atomic-emission spectrometry*” *Analyst*, 110, 331-333, **1985**.

Do Carmo, S.N., Damásio, F.Q., Alves, V. N., Marques, T.L., Coelho, N.M.M. “*Direct determination of cooper in gasoline by Flame Atomic Absorption Spectrometry after sorption and preconcentration on Moringa oleifera husks*”. *Microchemical Journal*, Article in Press, doi: 10. 1016/j. microc. 2013.04. 010.

Dogru, M.; Gul-Guven, R.; Erdogan, S. “*The use of Bacillus subtilis immobilized on Amberlite XAD-4 as a new biosorbent in trace metal determination*”. *Journal of Hazardous Materials*, 166-173, **2007**.

Vassileva, E., Stoychev, T., Daiev, C., Hadjiivanov, K. “*Chromium Speciation analysis by solid phase extraction on a high surface area TiO₂*.” *Analyst*, 693-698, **2000**.

Elçi, L.; Sahin, U.; Oztas, S. “*Determination of trace amounts of some metals in samples with high salt content by atomic spectrometry after cobalt-diethyldithiocarbamate coprecipitation*”. *Talanta*, 1017-1023, **1997**.

Falone, S. Z.; Sanches, S. M.; Campos, S. X.; Vieira, E. M. “*Estudo da adsorção/dessorção do explosivo Tetril com turfa na presença e na ausência de matéria orgânica*”. In: 27ª Reunião Anual da Sociedade Brasileira de Química, Salvador- Ba. Sociedade Brasileira de Química, **2004**.

Ferreira, G. C. M.; Gois, L. M. N.; Lobo, W. “*The removal of dinitrochlorobenzene from industrial residues by liquid-liquid extraction with chemical reaction*”. *Brazilian Journal of Chemical Engineering*, 453-459, **2007**.

Ferreira, S. L. C.; Lemos, V. A.; Moreira, B. C.; Costa, A. C. S.; Santelli, R. E. “*An on-line continuous flow system for copper enrichment and determination by flame atomic absorption spectrometry*”. *Anal. Chim. Acta*, 259-264, **2003**.

Ferreira, S. L. C.; Lemos, V. A.; Santelli, R. E.; Ganzarolli, E.; Curtius, A. J. “*An automated on-line flow system for the pre-concentration and determination of lead by flame atomic absorption spectrometry*”. *Microchem. J.*, . 41-46, **2001**.

Fritzen, M.B. “*Adsorção de Cr (VI) na interface água-minerais sedimentários. Efeito das condições de reação e modelo de adsorção*”. Dissertação de Mestrado em Química Analítica, UFSC, 2002.

Frois, S. R., Grassi, M. T., Fernandes, T. C., Barreto, R. A.S., Abate, G. “*Pré-concentração de Cr(III) e Análise de Especificação de Cromo empregando Montmorilonita Saturada com íons potássio*”. *Quimica. Nova*, Vol. 34, No. 3, 462-467, **2011**.

Gaebler, H.E., Heumann, K.G. *J. Anal. Chem.* 345 (1993) 53.

Golonka, M.C. “*Toxic and mutagenic effects of chromium (VI). A Review*”. *Polyhedron*, 21, 3667-3689, **1995**.

Gopi-Krishna, P., Gladis, J.M., Rambabu, U., Rao, T.P., Naidu, G.R.K. “*Preconcentrative separation of chromium(VI) species from chromium(III) by*

coprecipitation of its ethyl xanthate complex onto naphthalene". Talanta 63, 541-546, **2004**.

He, Y., Cervera, M.L., Garrido-Ecija, M.I., Guardia, M. "*On-line birecional electrostacking of chromium(III) and chromium(VI) for flame atomic absorption spectrometry determination*". Analytica Chimica Acta, 421, 57-65, .

He, Y., Cervera, M.L., Pastor, A., Guardia, M. "*Determination of chromium(III) and chromium(VI) in mineral water by bidirectional electrostacking electrothermal atomic absorption spectrometry*". Analytica Chimica Acta, 135-142, **2001**..

Huang, Y.F., Li, Y., Jiang, Y., Yan, X.P. "*Magnetic immobilization of amine-functionalized magnetite microspheres in a knotted reactor for on-line solid-phase extraction coupled with ICP-MS for speciation analysis of trace chromium*". Journal Analytical Atomic Spectrometry, 25, 1467–1474, **2010**.

Kabata-Pendias, A.; *Trace elements in soils and plants*, 3rd ed., CRC Press: Boca Raton, 2001, p. 413.

Karaoğlu, M. H.; ZoR, S.; Ugurlu, M. "*Biosorption of Cr (III) from solutions using vineyard pruning waste*". Chemical Engineering Journal, Laussane, v. 159, p. 98–106, 2010.

Lanças, F. M. "*Extração em fase sólida*". Editora Rima, São Carlos, Brasil, **2004**.

Lazarin, A.M.; Borgo, C.A.; Gushikem, Y. "*Filme fino de ZrO_2 enxertado sobre a superfície de sílica gel: preparação e propriedade de adsorção de Cr (VI)*". Química Nova, 25, 499-501, **2002**.

Long, X., Miro, X., Hansen, E.H. J. Anal. Atom. Spectrom. 20 (2005) 1203.

Maltez, H. "Desenvolvimento de metodologia em sistema em fluxo para especiação e determinação de cromo em água usando sílica gel modificada e espectrometria de absorção atômica em chama. Tese de Doutorado. Universidade Federal de Santa Catarina, 2003.

Marques, T.L., Alves, V.N., Coelho, L.M., Coelho, N.M.M. “*Assesment of the use of Moringa oleífera Seeds for Removal of Manganese Ions from Aqueous Systems*”. BioResources, 8, 2738-2751, **2013**.

Massart, D.L., Vandeginste, B.G.M., Buydens, L.M.C., Jong, S., Lewi, P.J., Smeyers-Verbeke, J. “*Handbook of Chemometrics and Qualimetrics.*” Part A, Elsevier, Amsterdam, **2003**.

Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento. “*Guia de Validação e Controle de Qualidade Analítica. Fármacos em Produtos para alimentação animal e Medicamentos Veterinários*”, **2011**.

Naghmush, A.M., Pyrzynska, K., Trojanowicz, M. Anal. Chim. Acta 288 (1994) 247.

Oliveira, S.C., Rocha, R. D.C., Ferreira, E.S., Massarotti, F., Andolfatto, S. “ Utilização da pinha de *Pinus elliottina* na adsorção de íons Cr(VI) e Zn(II)”. Trabalho apresentado: Seminário de Iniciação Científica e Tecnológica. UTFRP, **2010**.

Pankow, J.F., Janauer, G.E. “*Analysis for chromium traces in natural waters: Preconcentration of chromate from ppb levels in aqueous solutions by ion exchange.*” Analytica Chimica Acta, 69, 97-104, **1974**.

Pereira, C. D.; Techy, J. G.; Quináia, S. P.; Ganzarolli, E. M.; Can. J. Anal. Sci. Spectrosc., 53, 275, **2009**.

Pereira, G. M.; Arruda, M. A.Z. “*Trends in preconcentration procedures for metal determination using atomic spectrometry techniques*”. Microchimica Acta, 115-131, **2003**.

Rajesh, N.; Jalan, R. K.; Hotwany, P. J. “*Solid phase extraction of chromium(VI) from aqueous solutions by adsorption of its diphenylcarbazide complex on an Amberlite XAD-4 resin column*”. Journal of Hazardous Materials, 150, 723-727, **2008**.

Saraçoğlu, S.; Elçi, L. “*Column solid-phase extraction chromosorb-102 resin and determination of trace elements in water and sediment samples by atomic absorption spectrometry*”. Analytica Chimica Acta, 452, 77-83, **2002**.

Sari, A., Tuzen, Soylak, M. “*Adsorption of Pb(II) and Cr(III) from aqueous solution on Celtek clay.*” Journal of Hazardous Materials, 144, 41-46, **2007**.

Silva, E. L. “*Desenvolvimento de metodologias analíticas para a determinação de metais traço em água e em álcool combustível por FI-FAAS, com SPE usando sílica modificada com óxido de nióbio ou 3(1-imidazolil)propil*”. Tese de Doutorado..Instituto de Química. Universidade Federal de Santa Catarina, Santa Catarina, **2004**.

Soares, J. L.; Dissertação de Mestrado, Universidade Federal de Santa Catarina, Brasil, 1998.

Souza, R. S., Carvalho, S.M.L., Garcia Júnior, M.R.L., Sena, R.S. “*Adsorção de cromo (VI) por carvão ativado granular de soluções diluídas utilizando um sistema batelada sob pH controlado*”. Acta Amazonica, 39, 661-668, 2009.

Sperling, M.; Yin, X.; Welz, B. “*Determination of (ultra)trace amounts of lead in biological materials by on-line coupling flow injection microcolumn separation and preconcentration to electrothermal atomic absorption spectrometry using a macrocycle immobilized silica gel sorbent*”. Analyst 14, 1625-1629, **1992**.

Tavares, C.R.G., Veit, M.T., Cossich, E.S., Gomes-da-Costa, S.M., Gonzales, A. M. “*Isotermas de adsorção de cobre (II) sobre Biomassa fúngica morta. Anais do IV Encontro Brasileiro sobre Adsorção – EBA*”, Rio de Janeiro – RJ, p.24-31, **2003**.

Turkey, A. R.; Baytak, S. “*Use of Escherichia coli immobilized on Amberlite XAD-4 as a solid-phase extractor for metal preconcentration and determination by atomic absorption spectrometry*”. Analytical Sciences, 329-334, **2004**.

Versiani, L. C. F. “*Caracterização das propriedades coagulantes e adsorventes de íons Cd(II) em soluções aquosas apresentadas por biomateriais derivados das sementes Moringa oleifera*”. Programa de Pós-Graduação em Engenharia Ambiental. Universidade Federal de Ouro Preto, **2008**.

Welz, B.; Sperling, M. “*Atomic Absorption Spectrometry*”. 3rd ed., Wiley- VCH, Alemanha, **1999**.

Zhang, S.; Pu, Q.; Liu, P.; Sun, Q.; Su, Z. *“Synthesis of amidinothioureido-silica gel and its application to flame atomic absorption spectrometry determination of silver, gold and palladium with on-line preconcentration and separation”*. Anal. Chim. Acta, . 223-230, **2002**.

Capítulo 3:

Desenvolvimento de um método para extração seletiva de Arsênio Inorgânico utilizando sementes de *Moringa oleífera* como bioadsorvente

1.0. REVISÃO BIBLIOGRÁFICA

1.1. Arsênio

Arsênio existe na natureza em variedade de formas químicas, incluindo espécies orgânicas e inorgânicas, como resultado de sua participação em complexos biológicos, processos químicos e algumas aplicações industriais, como a manufatura de certos vidros, materiais semicondutores e fotocondutores, entre outros (Howard and Hunt, 1993; Stummeyer et al., 1994). Compostos contendo arsênio são utilizados no tratamento de determinadas doenças e, na agricultura em herbicidas, inseticidas e desfolhantes. Também a flora e a fauna marinha contêm compostos de arsênio, pois nas vias metabólicas o nitrogênio e o fósforo podem ser facilmente trocados por ele. É possível encontrar também espécies metiladas de arsênio, que são produzidas como metabólitos em vários organismos devido à presença de bactérias (como *E. coli*, *Flavobacterium sp*, *Methanobacterium sp*) e fungos (como *Aspergillus glaucus*) que apresentam a capacidade de biometilar arsênio (Mandal and Suzuki, 2002).

A elevada toxicidade de arsênio é muito bem conhecida, uma vez que compostos de arsênio são facilmente absorvidos, tanto oralmente quanto por inalação, sendo a extensão da absorção dependente da solubilidade do composto (Barra et al., 1999).

Em águas naturais, o arsênio pode ocorrer como As(III) (arsenito), As(V) (arseniato), íon monometilarsônico (MMA) e o íon dimetilarsínico (DMA). Porém, a mais importante forma química de arsênio em águas naturais são as espécies inorgânicas As(III) e As(V). Estas são mais prováveis de serem encontradas, devido à liberação destes compostos de minerais. Águas subterrâneas contêm arsênio como As(III) e As(V). Em águas de mar, lagoas, lagos e onde houver possibilidade de biometilação, arsenito e arseniato ocorrem junto com MMA e DMA (Silva, 2000). A tabela III -01 apresenta algumas das espécies de arsênio encontradas em águas:

Tabela III - 01: Compostos de arsênio encontrados em águas.

Composto	Fórmula
Arsina	AsH_3
Ácido arsenioso – As(III) (HAsO_2)	$\text{As} = \text{As} - \text{OH}$
Ácido arsênico – As(V) (H_3AsO_4)	$\begin{array}{c} \text{OH} \\ \\ \text{O} = \text{As} - \text{OH} \\ \\ \text{OH} \end{array}$
Ácido Monometilarsônico - MMAA(V)	$\begin{array}{c} \text{OH} \\ \\ \text{O} = \text{As} - \text{OH} \\ \\ \text{CH}_3 \end{array}$
Ácido dimetilarsínico – DMAA(V)	$\begin{array}{c} \text{CH}_3 \\ \\ \text{O} = \text{As} - \text{OH} \\ \\ \text{CH}_3 \end{array}$
Arsenobetaína – AsB	$\begin{array}{c} \text{CH}_3 \quad \text{O} \\ \quad \\ \text{H}_3\text{C} - \text{As}^+ - \text{CH}_2 - \text{C} \\ \quad \\ \text{CH}_3 \quad \text{OH} \end{array}$
Arsenocolina – AsC	$\begin{array}{c} \text{CH}_3 \\ \\ \text{H}_3\text{C} - \text{As}^+ - \text{CH}_2 - \text{CH}_2 - \text{OH} \\ \\ \text{CH}_3 \end{array}$

A ordem decrescente de toxicidade dos compostos de arsênio, segundo Anderson et al.,(1986) e Burquera et al. (1991), é a seguinte: arsina > arsenito > arseniato > ácidos alquil-arsênicos > sais de arsênio > arsênio elementar. O As(III) é 60 vezes mais tóxico do que a forma oxidada As(V). Os compostos inorgânicos são 100 vezes mais tóxicos do que as formas parcialmente metiladas (MMA) e DMA).

As espécies inorgânicas de arsênio são prontamente solúveis em água e altamente tóxicas, sendo uma das poucas substâncias apontadas como causador de câncer em humanos por consumo de água e alimentos contaminados, além de serem bioacumulativas. A longa exposição a compostos inorgânicos de arsênio pode provocar envenenamento crônico, levando ao desenvolvimento de uma doença conhecida como arsenicose. Os efeitos da doença, que podem ser manifestados ao longo dos anos dependem do nível de exposição e são caracterizados por apresentar lesões na pele (hiperqueratose e hiperpigmentação) afetando a atividade celular por inibição enzimática, levando ao surgimento de câncer, bem como doenças cardiovasculares e gangrena nos membros (Barra et al., 2000) . Compostos orgânicos de arsênio, os quais são abundantes em alimentos de origem marinha são bem menos prejudiciais a saúde e são rapidamente eliminados pelo organismo (Costa, 2013). Por exemplo, a arsenobetaina (Asb), cuja a presença em alimentos de origem marinha constitui a maior fonte de arsênio na dieta, é essencialmente não tóxica (Petropolu et al., 1997; Burguera et al., 1993) e é excretada na urina sem modificação, com tempo de residência muito curto (de 6 a 24 horas, no máximo)

A exposição humana a elevados níveis de arsênio inorgânico ocorre principalmente por meio do consumo de água contaminada e alimentos preparados com essas águas. A irrigação na cultura de alimentos também é um fator que pode se tornar vulnerável a incorporação desses compostos, sendo ainda mais crítico quando se utilizam pesticidas, contendo esse elemento (WHO, 2010).

Segundo a Organização Mundial da Saúde (WHO), em um estudo conduzido juntamente com o “Joint Food and Agriculture Organization of the United Nations (FAO) / WHO Expert Committee on Food Additives (JECFA)” em 2010, foi determinado o valor de 3,0 µg de arsênio inorgânico absorvido por dia para cada quilo em peso corporal ($2 - 7 \mu\text{g kg}^{-1}$ por dia baseado na variedade de exposição total através da dieta). Este valor foi definido como limite inferior da dosagem para constatar

aumento de 0,5% da incidência de câncer de pulmão (BMDL_{0,5}), através de dados epidemiológicos (WHO, 2010).

A química ambiental do arsênio é complexa, em virtude das grandes diferenças entre as propriedades dos seus compostos de origem natural ou antropogênica. O aspecto bioquímico mais observado no meio ambiente é a metilação. Mesmo que compostos metilados de arsênio não sejam usados na agricultura, o arsênio inorgânico pode ser convertido em formas metiladas no meio ambiente, que são liberadas no meio aquoso, tornando-se disponível para aumentar os níveis de arsênio na cadeia alimentar (Quináia et al., 1997). No Brasil, o herbicida organoarsenical metanoarsenato monossódico (MSMA), conhecido comercialmente como Daconate® (figura II - 01), de curta persistência é autorizado para aplicação nas culturas de ervas daninhas de café, algodão, cana-de-açúcar e cítricos (Hanna et al., 1993).

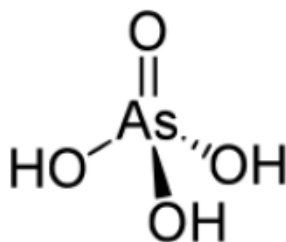


Figura III -01: Estrutura Química do Aditivo Danacote®.

Como a biodisponibilidade e os efeitos fisiológicos/ toxicológicos do arsênio dependem de sua forma química, o conhecimento da especiação e transformação no meio ambiente torna-se muito importante, necessitando de métodos adequados para a separação e determinação das espécies de arsênio (Quináia et al., 1997).

1.2. Especiação de Arsênio

Devido à elevada toxicidade do arsênio, uma variedade de técnicas tem sido propostas para a especiação e determinação das diferentes formas deste elemento. Processos de especiação de arsênio inorgânico têm sido realizados sob diferentes

condições de oxidação. O método de equações proporcionais tem sido extensivamente utilizado para especiação de As em diferentes matrizes, como peixes, cerveja, cereais e vinhos (Gonzalvez, 2009). A tabela III-02 apresenta alguns dos métodos descritos na literatura especiação de As, sendo que os métodos de espectrometria como absorção atômica e forno de grafite, bem como a geração de hidreto são amplamente utilizadas nesses procedimentos de especiação.

Tabela III-02: Métodos utilizados para especiação de arsênio.

Matriz	Espécie	Pré-tratamento da amostra	Metodologia	Técnica Analítica	Referência
Peixe	As(III), As(V), DMA e MMA	Extração por ultrassom	Equações Proporcionais	GH AAS	P-Cava-Montesinos et al., 2005
Cerveja	As(III), As(V), DMA e MMA	Extração por ultrassom	Equações Proporcionais	GH AAS	Martinez et al., 2001
Sedimentos	As(III) e As(V)	Extração com água e tampão fosfato	Redução sequencial	GH AAS	González et al., 2003
Água	As(III) e As(V)	Extração com Citrato e ácido clorídrico	Redução sequencial	-	Driehaus et al., 1992
Vinho	As(III), As(V), DMA e MMA	Extração por ultrassom	Equações Proporcionais	GH AAS	Karadjovaa et al., 2005
Água do Mar	As(III) e As(V)	Complexação com Ag-DDCT após redução	Redução Sequencial	Espectrometria UV	Howard and Arbab-Zavar et al., 1980.
Água	As(III) e As(V)	Tratamento com KMnO_4	Eletrocstakin g bidirecional	GF AAS	Coelho et al., 2007

Além dos métodos descritos na tabela acima, para determinação das diferentes formas de arsênio em extratos de interesse ambiental como águas e solos, a técnica mais comumente utilizada é a cromatografia iônica, visto que o acoplamento da técnica de ICP-MS com cromatografia líquida de alta eficiência (HPLC), permite a combinação de um eficiente sistema cromatográfico com um sistema de detecção altamente sensível (Pongratz, 1998). Entretanto, técnicas cromatográficas normalmente exigem o preparo prévio da amostra antes da injeção, o que pode comprometer a análise de especiação, devido principalmente aos riscos de interconversão das espécies.

Desta forma, tem crescido o interesse pelo desenvolvimento de métodos que exijam menor manipulação da amostra, diminuindo consequentemente os riscos de inter-conversão das espécies, bem como contaminação. Dentre os vários métodos desenvolvidos pode-se citar a utilização da extração seletiva das espécies de As em diferentes fases sólidas, tais como colunas de troca aniônica ou catiônica, C18 ou sílica gel impregnada com agentes complexantes, por exemplo dietilcarbamato (Terada et al., 1984), pirrolidinaditiocarbamato (Anezaki et al., 1999), bem como a extração líquido-líquido usando solventes orgânicos como clorofórmio, tetracloreto de carbono, após complexação das espécies de arsênio com diferentes compostos orgânicos (Chung et al., 1984).

O uso da extração em fase sólida destaca-se como uma proposta para análise de especiação, uma vez que exige menor manipulação da amostra. Entre os materiais utilizados para a adsorção de arsênio na fase sólida podem ser citados, por exemplo, lama, zeólitas e alumina ativada (Genç-Fuhrman et al., 2005; Machado et al., 2007). Materiais utilizados na adsorção de arsênio em águas incluem quitina e quitosana impregnadas com molibdato, alumínio e ferro ions (Kartal and Imamura, 2005; Santos et al., 2011).

No trabalho desenvolvido por Chen et al. (2009), nanofibras de carbono (NFC) foram usadas como adsorvente para pré-concentração e especiação das espécies inorgânicas de As(III) e As(V) com determinação por ICP-MS. O As(III) foi adsorvido seletivamente na minicoluna de NFC na faixa de pH de 1,0 a 3,0, na presença de pirrolidina ditiocarbamato de amônio (APDC), enquanto que o As(V) não é retido. Vários parâmetros que afetam a separação e determinação do elemento de interesse foram investigados e, sob as condições otimizadas, o limite de detecção do método para As(III) foi $0,0045 \text{ ng mL}^{-1}$ com um fator de enriquecimento igual a 33.

Em trabalho semelhante, Marques Neto et al., (2013) desenvolveram o adsorvente quitosana-Fe(III) reticulado (Ch-FeCL), imobilizando Fe(III) em esferas de quitosana. O comportamento de adsorção do As(III) e As(V) na ChFeCL foi avaliado em pH 7 por estudos em batelada e em coluna, tendo sido estimadas capacidades de adsorção pelo modelo de Langmuir de 21,24 e 27,59 mg g⁻¹ para As(III) e As(V), respectivamente (Marques Neto et al., 2013).

Desta forma, diante do crescente avanço no desenvolvimento de métodos não-cromatográficos de especiação e levando-se em conta que a maior parte dos métodos de extração em fase sólida utilizam como adsorventes materiais disponíveis comercialmente, percebe-se a necessidade do desenvolvimento de metodologias de baixo custo que permitam a determinação das formas inorgânicas de As presentes concomitantemente em amostras de interesse ambiental.

Nesse sentido, diante dos resultados satisfatórios apresentados no capítulo anterior, propõe-se a utilização das sementes integrais de *Moringa oleífera* na extração seletiva das espécies inorgânicas de arsênio para posterior determinação utilizando Espectrometria Atômica em Forno de Grafite.

2.0. OBJETIVOS

O objetivo principal deste trabalho é o desenvolvimento de um método analítico aplicada à extração seletiva de arsênio através de técnicas de extração em fase sólida e detecção por Espectrometria de Absorção Atômica com Atomização por Forno de Grafite.

Os objetivos secundários são:

- ✓ Avaliar o uso de adsorventes naturais no caso privilegiando a *Moringa oleífera* e emprega-la como material adsorvente no desenvolvimento de extração em fase sólida para extração seletiva de arsênio;
- ✓ Estudar a capacidade máxima adsortiva das sementes na adsorção de arsênio;
- ✓ Aplicar o método desenvolvido na determinação de arsênio em amostras de águas.

3.0. PROCEDIMENTO EXPERIMENTAL

3.1. Padrões, reagentes e amostras

Todas as soluções utilizadas no desenvolvimento desse trabalho foram preparadas com reagentes químicos de grau analítico, utilizando água deionizada, proveniente de um sistema de purificação de água Milli-Q® da Gehaka, (São Paulo, Brasil). As soluções de trabalho utilizadas, nos estudos de extração seletiva de arsênio, os quais compreendem a avaliação do pH em que ocorre a extração seletiva e otimizações das variáveis do processo de adsorção, foram preparadas da seguinte forma: A solução estoque padrão de 1000 mg L⁻¹ de As (III) foi preparada dissolvendo 1,3203 g de As₂O₃ (Vetec, Rio de Janeiro) em 25 mL de hidróxido de potássio a 20% (m / v) seguido por neutralização com ácido sulfúrico a 20% (v / v) e ainda mais diluição até 1000 mL com H₂SO₄ a 1% (v / v). A solução padrão de As(V) 1000 mg L⁻¹ foi preparada por dissolução de 4,1645 g de Na₂HAsO₄.7H₂O (Vetec) e diluídas para 1,0 L com água desionizada. Quando necessário, o pH das soluções foi ajustado com soluções de NaOH (Vetec, Rio de Janeiro, Brasil) e HCl (Nuclear, São Paulo, SP), ambas 0,5 molL⁻¹.

Em relação ao material adsorvente utilizado nesse trabalho, as sementes de *Moringa oleífera* foram coletadas na cidade de Ituiutaba-MG. Após serem trituradas as sementes foram lavadas duas vezes com água deionizada e secas ao ar durante 8 horas.

3.2. Instrumentação

- ✓ Mesa Agitadora – Mesa Agitadora Orbital TG-141 - Tecnal
- ✓ Balança Analítica - Analytical Standard - Modelo Ohaus (OHAUS, Florham Park, USA).
- ✓ Espectrômetro de absorção atômica Varian AA 240Z (Varian, Austrália)
- ✓ Tubos de grafite com revestimento pirolítico e com plataforma de L'vov inserida (Varian).
- ✓ pHmetro digital – Modelo PG1800 - AS-200 (GEHAKA, São Paulo, Brasil).
- ✓ Liquidificador doméstico - Modelo (Black & Decker do Brasil Ltda, Uberaba, Brasil).
- ✓ Peneiras TYLER (Bertel - Ind. Metalalúrgica Ltda , Caieiras-SP, Brasil).

3.3. Metodologia Analítica

3.3.1. Determinação de arsênio

Todos os experimentos foram realizados em um espectrômetro de absorção atômica Varian AA 240Z, equipado com atomizador eletrotérmico em forno de grafite GTA 120, auto-amostrador acoplado PSD 120, e corretor de radiação de fundo não específica (background) por efeito Zeeman. Todas as medidas de leitura, foram obtidas por meio de absorbância integrada da área do sinal transiente.

Como fonte de radiação, utilizou-se lâmpada de catodo oco de arsênio Varian (Part No.: 5610122200; Serial/Lot No.: 12HO796), operando de acordo com as condições recomendadas. Tubos de grafite com revestimento pirolítico e com plataforma de L'vov inserida (Part No.: 63-100037-00; Batch No.: 101816924) foram utilizados como atomizadores eletrotérmicos. O volume total de amostra injetada foi de 20 µL em todos os experimentos. Os parâmetros instrumentais seguiram as recomendações do fabricante e são apresentadas na tabela III - 3. O programa de temperatura, também seguiu o recomendado com excessão das temperaturas de pirólise e atomização que foram otimizadas. Como gás inerte, utilizou-se argônio de alta pureza (White Martins, Rio de Janeiro, Brasil).

Tabela II-3: Parâmetros instrumentais recomendados pelo fabricante para determinação de As por GF AAS.

Parâmetro	As
Linha de Absorção (λ/nm)	193,7
Largura da fenda espectral (nm)	0,5
Corrente da lâmpada (mA)	10,0
Vazão de argônio (mL min^{-1})	300,00
Tempo de integração do sinal (s)	5,0

3.3.2. Otimização das condições de detecção para As por GF-AAS

O emprego de modificadores, tem demonstrado importância significativa na performance de métodos que envolvem atomização eletrotérmica, sobretudo em relação as vantagens que os modificadores permanentes podem apresentar sobre os modificadores químicos convencionais. Para tanto, foi feito um estudo inicial, utilizando tubos modificados permanentemente sobre a sensibilidade do arsênio.

Para modificação dos tubos de grafite, foram utilizados padrões para essa finalidade na concentração de 1000 mg.L^{-1} dos seguintes modificadores: Paládio (Fluka), Irídio (Fluka), Ródio (Fluka), Nióbio (Fluka), Titânio (Fluka), Tântalo (Sigma Aldrich) e Zircônio (Fluka).

Os tubos de grafite foram tratados de acordo com um programa de temperatura específico para recobrimento com os modificadores permanentes, sendo tal procedimento indicado por Giacomelli e colaboradores (2002). Este programa de aquecimento está retratado na tabela III - 4. Com esse programa, houve o revestimento da parede interna e da plataforma do tubo de grafite com cada um desses modificadores. Os resultados obtidos com o estudo destes modificadores foram comparados com o que foi obtido com o tubo sem nenhuma modificação.

Tabela III – 4: Programa de temperatura utilizado para o tratamento dos tubos de grafite e da plataforma interna com os modificadores permanentes.

Etapas	Temperatura (°C)	Tempo (s)	Fluxo de Ar (mL.min⁻¹)
1	95,0	5,0	300,0
2	120,0	20,0	300,0
3	1000,0	15,0	300,0
4	1000,0	3,5	300,0
5	1000,0	3,0	0,0
6*	2000,0	1,5	0,0
7*	2000,0	3,0	0,0
8	2000,0	3,0	300,0
9	40,0	20,0	300,0

*Etapas que constituem aquisição do sinal.

Após escolha dos dois melhores modificadores, foi feita uma avaliação das condições de pirólise e atomização, a fim de compor um programa de temperatura ideal para as amostras. Inicialmente foi realizado um planejamento fatorial 2^3 completo, onde os fatores investigados foram: temperatura de pirólise (TP), temperatura de atomização (TA) e modificador (MOD). Para cada uma dessas variáveis foram determinados dois níveis distintos (inferior e superior), sendo que para o modificador, foram selecionados os dois tubos modificados que apresentaram maior sinal analítico durante o estudo de modificadores. A Tabela III-5 apresenta a matriz do planejamento fatorial com níveis experimentais estudados para cada fator. As leituras foram realizadas aleatoriamente e em triplicata. As respostas obtidas foram tratadas pelo software Statistica 6.0 (STATSOFT, 2001).

Tabela III-5: Matriz do planejamento fatorial 2^3 completo para o programa de temperatura.

Experimento	TP / °C	TA / °C	MOD
1	800 (-1)	2100 (-1)	Tubo 1 (-1)
2	1400 (1)	2100 (-1)	Tubo 1 (-1)
3	800 (-1)	2400 (1)	Tubo 1 (-1)
4	1400 (1)	2400 (1)	Tubo 1 (-1)
5	800 (-1)	2100 (-1)	Tubo 2 (1)
6	1400 (1)	2100 (-1)	Tubo 2 (1)
7	800 (-1)	2400 (1)	Tubo 2 (1)
8	1400 (1)	2400 (1)	Tubo 2 (1)

Após a realização dos experimentos do planejamento fatorial, foram avaliados os efeitos dos fatores, bem como os efeitos de interação entre os mesmos sobre o sinal analítico. Diante dos resultados, construiu-se um planejamento composto central (CCD) para modelar uma superfície de resposta de onde se pode obter as condições ótimas das variáveis estudadas. Uma vez que o modificador é variável qualitativa, um ajuste mais refinado não é possível, desta forma, o tubo modificado que apresentou o melhor resultado de acordo com o planejamento fatorial foi selecionado para os experimentos seguintes.

Foi realizado um planejamento composto 2^2 com cinco réplicas no ponto central, da qual foram exploradas as temperaturas de pirólise e atomização. A Tabela III-6 apresenta a matriz do planejamento composto central, com os níveis estudados cada fator.

Tabela II-6: Matriz do planejamento composto 2^2 com ponto central para otimização das temperaturas de pirólise e atomização.

Experimento	TP (°C)	TA (°C)
1	741 (-1)	1850 (-1)
2	741 (-1)	2450 (+1)
3	1341 (1)	1850 (-1)
4	1341 (1)	2450 (+1)
5	617 (- 2)	2150 (0)
6	1465 (2)	2150 (0)
7	1041 (0)	1726 (- 2)
8	1041 (0)	2574 (2)
9 (P.C.)	1041 (0)	2150 (0)
10 (P.C.)	1041 (0)	2150 (0)
12 (P.C.)	1041 (0)	2150 (0)
12 (P.C.)	1041 (0)	2150 (0)
13 (PC)	1041 (0)	2150

3.4. Otimização das condições para separação das espécies de arsênio.

A fim de avaliar se o ajuste do pH inicial da solução contendo o analito é suficiente para separação das espécies, o efeito do pH inicial da solução na separação das espécies inorgânicas de arsênio foi avaliado. Inicialmente, 100,0 mL de solução contendo separadamente os íons As(III) e As(V) na concentração de 100,0 mg L⁻¹, com pH na faixa de 1 a 9, ajustado com HCl ou NaOH 0,1 mol L⁻¹, foram colocados em agitação com 1,0 g das sementes integrais trituradas de *Moringa oleífera*. Após

filtração, o sobrenadante foi diluído com quantidades adequadas de água deionizada e a concentração final medida por GFAAS. A porcentagem de adsorção foi calculada com base nas diferenças das concentrações iniciais e finais.

3.5. Construção das isotermas de adsorção

Da mesma forma que no capítulo 2, a fim de investigar as características do processo de adsorção e consequentemente obter a capacidade máxima adsorptiva (CMA) do bioadsorvente em questão pelos As(III) foram construídas isotermas de adsorção aplicadas aos modelos de Langmuir e Freudlich. Nestes experimentos 50 mg das sementes integrais trituradas de moringa foram colocadas em agitação durante 1 hora com soluções de As(III) pH 3,0 com concentrações variando de 0,2 a 100 mg L⁻¹. Após agitação, as misturas foram filtradas, o sobrenadante diluído com água deionizada e as concentrações restantes de As(III) determinadas por GF AAS.

As isotermas foram obtidas lançando-se no eixo da abscissa a concentração do sobrenadante, ou seja, a concentração de equilíbrio do adsorvato e no eixo da ordenada a quantidade de metal adsorvido (mg) pela massa do adsorvente (g).

3.6. Avaliação dos fatores que afetam a adsorção de As(III)

De posse do pH onde a separação das espécies ocorre, as variáveis que podem afetar a adsorção do íon foram avaliadas pelo método univariado, sendo elas: tempo de agitação e massa do adsorvente.

Para avaliação da massa de moringa utilizada, variou-se a massa do adsorvente entre 0,1 a 2,0 g, enquanto que para avaliação do tempo de agitação, variou-se o tempo entre 5 e 120 minutos. As condições experimentais utilizadas em ambos os experimentos foram: granulometria 500 µm; volume de solução 10,0 mL; tempo de agitação 60 minutos; pH 7,0 e concentração da solução de íons As(III) igual a 100 mg L⁻¹.

3.7. Testes de seletividade

O efeito dos íons Ca(II), Cr(VI), Na(I), Cd(II), Mg(II), Fe(III) e Cu(II) foi avaliado a fim de checar se esses íons interferem na adsorção de As(III). Como descrito no capítulo 1, o estudo de interferentes, foi realizado usando um planejamento fatorial fracionado 2^{7-3} , resultando em 16 experimentos. A composição do planejamento, bem como, os níveis selecionados (concentração em mg L^{-1}) para os fatores estão definidos na tabela III-7.

Tabela III-7: Níveis e fatores usados para avaliação dos possíveis interferentes na adsorção de As(III), selecionados usando planejamento fatorial fracionado.

Fator	(-)	(+)
Se(VI)	0 ug L^{-1}	500 ug L^{-1}
As(V)	0 ug L^{-1}	500 ug L^{-1}
Cr(VI)	0 ug L^{-1}	500 ug L^{-1}
Ca(I)	0 ug L^{-1}	500 ug L^{-1}
Na(II)	0 ug L^{-1}	500 ug L^{-1}
Pb(II)	0 ug L^{-1}	500 ug L^{-1}
Fe(III)	0 ug L^{-1}	500 ug L^{-1}

3.8. Determinação de As(V) na presença de As(III)

Objetivo do método proposto é, a partir da extração seletiva de As(III) presente em soluções com pH 7,0, pela adsorção nas sementes trituradas integrais de *Moringa oleífera*, determinar as espécies inorgânicas de arsênio presentes em uma determinada amostra. A Figura III-2 mostra um fluxograma das etapas envolvidas no método proposto.

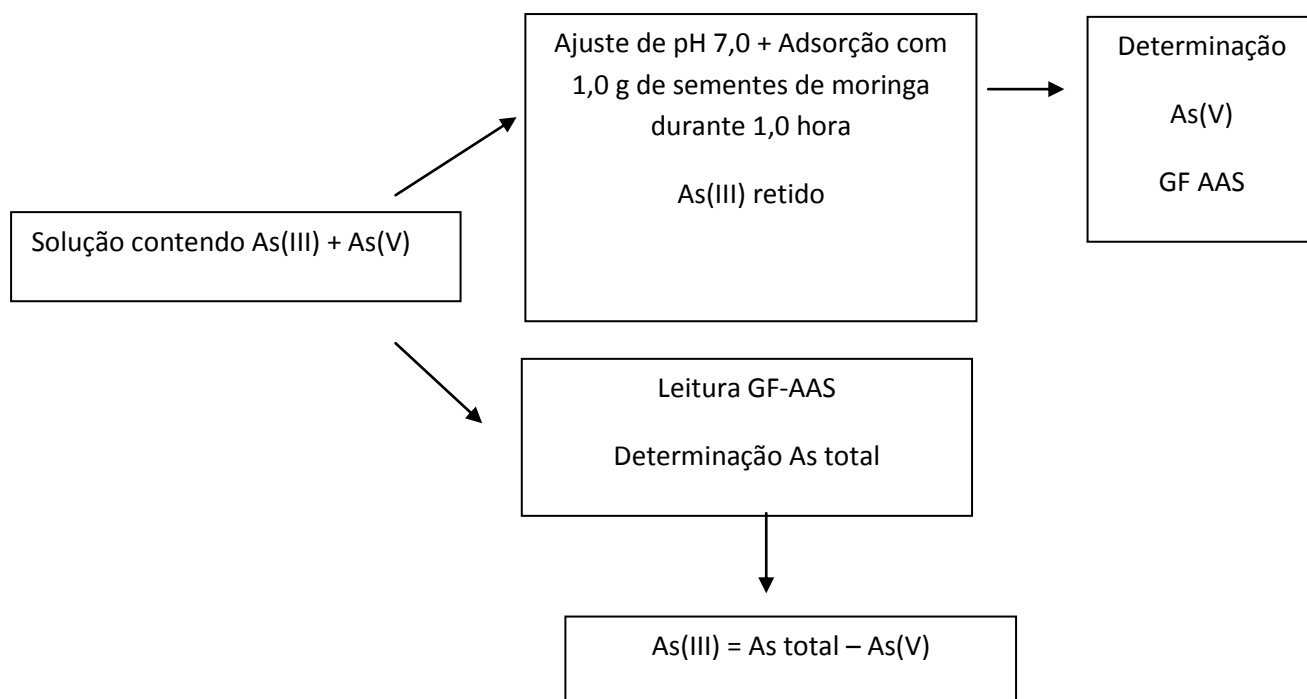


Figura III-2: Fluxograma do método desenvolvido para especiação de arsênio inorgânico.

Desta forma, a fim de avaliar se o método proposto é eficiente para separação das espécies inorgânicas de arsênio, foi feita uma avaliação da determinação de As(V) na presença de As(III). Para isso, duas curvas de calibração com concentrações na faixa de 0 a 100 mg L⁻¹ foram construídas, uma contendo apenas As(V) e outra contendo As(III) e As(V) nas mesmas concentrações, sendo que a curva contendo as duas espécies foi submetida ao procedimento de extração seletiva, para que o As(III) fosse retido e a espécie pentavalente deixada livre em meio aquoso para ser determinada por GF AAS. A eficiência da separação das espécies foi avaliada com base na comparação do sinal analítico entre as duas curvas.

3.9. Testes de exatidão

A exatidão do método proposto para extração seletiva/pré-concentração das espécies inorgânicas de arsênio foi verificada a partir de testes de recuperação em amostras de água (mineral, rio e torneira) pelo método da adição padrão.

Foi realizada também para avaliar a exatidão do método, análise do padrão certificado de água APS-1071. Este material foi diluído à concentração de $0,05 \text{ mg L}^{-1}$ tendo o pH ajustado para 7,0, 100 mL desta solução foi colocado em agitação com 1,0 g de sementes trituradas de moringa. Após agitação, a mistura foi filtrada e a concentração de As(V) medida no sobrenadante. A mesma solução foi levada à leitura no GF-AAS sem passar pelo procedimento de extração para determinação arsênio total desta forma, a concentração de As(III) pôde ser calculada por diferença entre as duas leituras. Os resultados obtidos foram com o valor e desvios sugeridos pelo fabricante. Em todas as etapas do procedimento utilizaram-se vidrarias devidamente calibradas.

4.0. RESULTADOS E DISCUSSÕES

4.1. Otimização das condições de detecção para As por GF-AAS

A fim de determinar as condições ótimas na detecção de As por GF AAS em meio aquoso e assim desenvolver um programa de temperatura eficiente, foi realizado um estudo preliminar de cada modificador disponível. Os dois melhores resultados em função de melhor sinal analítica e menor sinal de fundo, foram obtidos com os tubos tratados permanentemente com os modificadores irídio e nióbio, sendo estes então selecionados para os estudos de triagem no planejamento fatorial para determinação das temperaturas ótimas de pirólise e atomização.

Para uma avaliação qualitativa da performance desses modificadores sobre a sensibilidade de detecção, tem-se apresentado nas Figuras III-3 e III-4, os sinais transientes de As obtidos respectivamente para os modificadores irídio e nióbio:

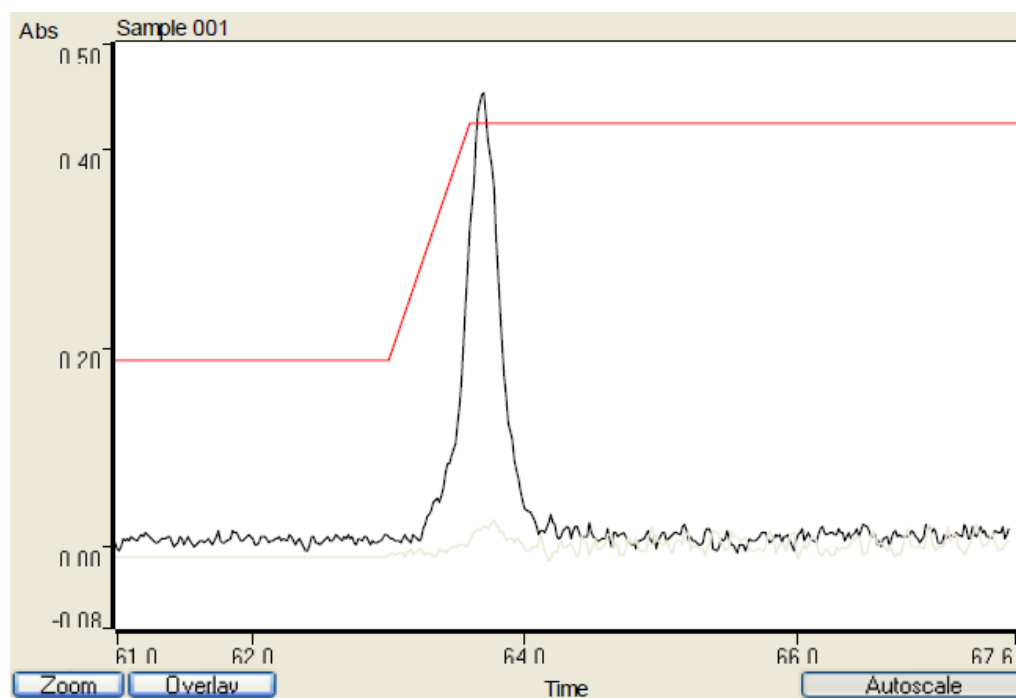


Figura III-3: Sinal transiente atômico (---) e de fundo (---) para o As $10 \mu\text{g.L}^{-1}$ empregando irídio como modificador permanente.

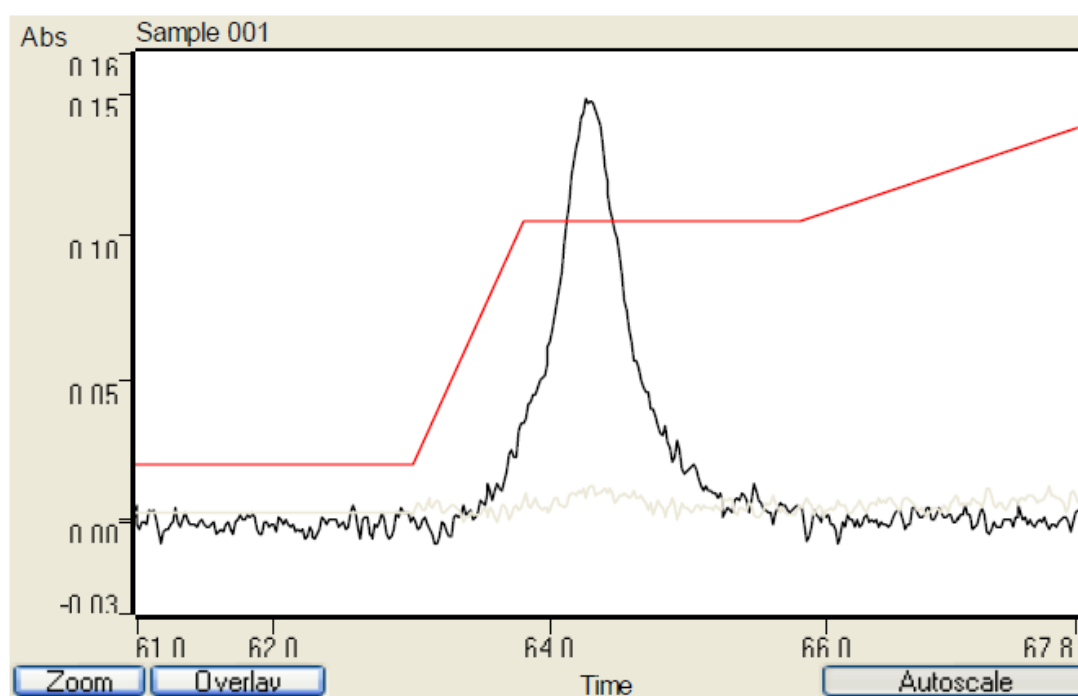


Figura III-4: Sinal transiente atômico (---) e de fundo (---) para o As(V) $10 \mu\text{g.L}^{-1}$ empregando nióbio como modificador permanente.

Os sinais transientes apontam para um melhor desempenho do modificador de irídio em relação ao nióbio, conseguindo aprimorar consideravelmente o sinal analítico. Entretanto, o sinal de fundo observado foi ligeiramente maior quando comparada com a ação do nióbio no pico de leitura. Vale ressaltar que a ação de ambos os modificadores, conseguiu reduzir drasticamente o efeito da radiação de fundo em comparação com um experimento realizado utilizando um tubo atomizador sem nenhuma modificação.

Tendo já selecionados os tubos modificados com irídio e nióbio para a próxima etapa, que consiste na otimização multivariada do programa de temperatura, procedeu-se a execução do planejamento fatorial 2^3 completo, nas variações das temperaturas de pirólise e atomização, e assim, conseguir estimar as melhores condições experimentais que encaminham para a melhoria da sensibilidade. Os resultados obtidos estão apresentados na Tabela III-8.

Tabela III-8: Resultados do planejamento fatorial 2^3 completo para o programa de temperatura.

Experimento	Temperatura de Pirólise (°C)	Temperatura de Atomização (°C)	Modificador
1	800 (-1)	2100 (-1)	Ir (-1)
2	1400 (1)	2100 (-1)	Ir (-1)
3	800 (-1)	2400 (1)	Ir (-1)
4	1400 (1)	2400 (1)	Ir (-1)
5	800 (-1)	2100 (-1)	Nb (1)
6	1400 (1)	2100 (-1)	Nb (1)
7	800 (-1)	2400 (1)	Nb (1)
8	1400 (1)	2400 (1)	Nb (1)

A partir desses resultados, o efeito das variáveis e das suas interações foram representadas por meio do gráfico de Pareto (Figura III – 5).

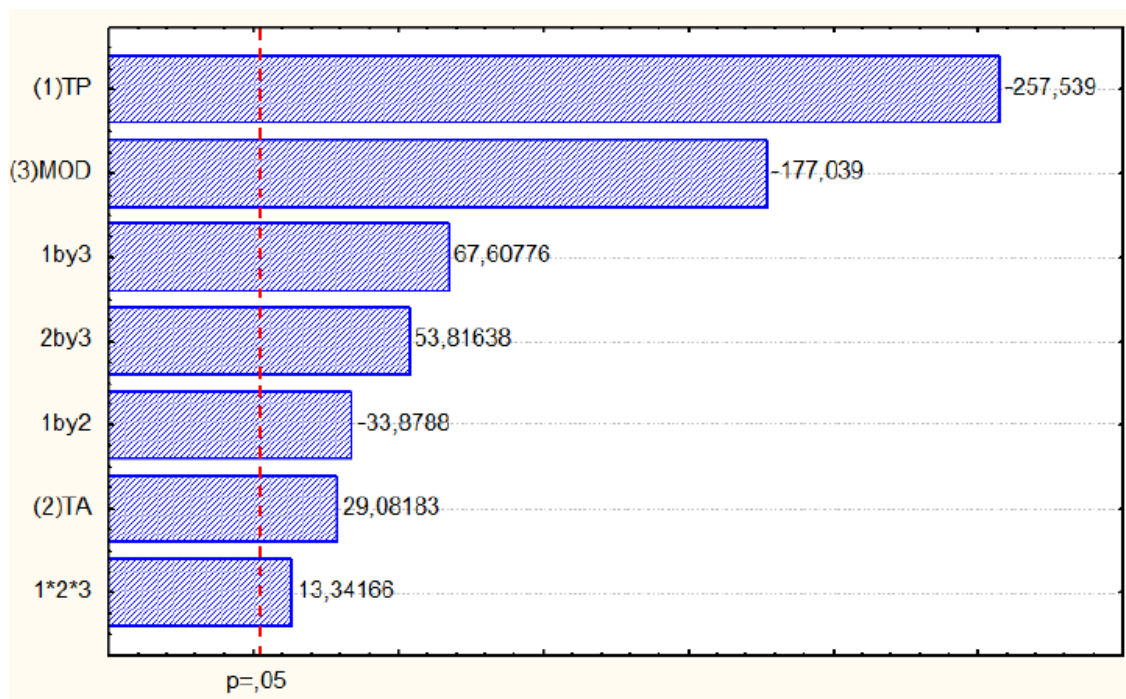


Figura III – 5: Gráfico de Pareto obtido a partir do planejamento fatorial 2^3 completo para o programa de temperatura.

De acordo com o gráfico de Pareto, pode-se observar que todos os efeitos principais foram significativos ao nível de confiança de 95%, exercendo grande influência na sensibilidade de detecção. Além disso, o gráfico de Pareto indica que todos os efeitos de interação, inclusive a interação de 3ª ordem também foram significativas, mostrando que um processo de otimização univariada não seria adequado no desenvolvimento dessa metodologia.

A temperatura de pirólise apresentou maior efeito significativo, indicando por meio do sinal negativo do efeito que o sinal analítico é favorecido no nível de menor temperatura. O modificador também apresentou grande efeito significativo, mostrando que a contribuição para o aumento de sinal ocorre também no nível inferior. Como o irídio foi representado pelo nível inferior, este foi o modificador que apresentou melhor resposta e foi fixado nas próximas etapas de otimização.

Temperaturas de atomização mais altas indicaram um aumento de sinal, entretanto o efeito da interação entre as temperaturas de pirólise (TP) e atomização (TA) foi mais significativa do que o seu efeito principal. Sendo que, a interação TPxTA apresentou efeito negativo, mostrando que quando TP e TA passam do nível inferior para o nível superior, deverá haver uma diminuição do sinal analítico. Como o efeito

principal da TP foi predominantemente significativa sobre TA, esta deve ser mantida no nível indicado pelo gráfico de Pareto (800° C), uma vez que a maior TA provavelmente foi responsável pela diminuição da intensidade do sinal. Logo menores temperaturas de atomização, no caso mais próximas de 2100°C, são indicadas.

Tendo selecionado o tubo modificado permanentemente com irídio, a próxima etapa consistiu na otimização das temperaturas de pirólise e atomização. Tendo já estabelecido o encaminhamento de quais condições devem ser exploradas para essas variáveis com base no gráfico de Pareto, foi executado um planejamento composto central (CCD) a fim de alcançar as condições ótimas por meio da construção da superfície de resposta. Os resultados obtidos do CCD para otimização de TP e TA, são apresentadas na Tabela III-9.

Tabela III-9: Resultados do planejamento composto central para otimização das temperaturas de pirólise e atomização.

Experimento	TP (°C)	TA (°C)	Absorbância Integrada
1	741 (-1)	1850 (-1)	0,6284
2	741 (-1)	2450 (+1)	0,8006
3	1341 (1)	1850 (-1)	1,0155
4	1341 (1)	2450 (+1)	0,8371
5	617 (- 2)	2150 (0)	1,0862
6	1465 (2)	2150 (0)	1,0402
7	1041 (0)	1726 (- 2)	0,5252
8	1041 (0)	2574 (2)	0,7625
9 (P.C.)	1041 (0)	2150 (0)	1,1626
10 (P.C.)	1041 (0)	2150 (0)	1,1914
12 (P.C.)	1041 (0)	2150 (0)	1,1634
12 (P.C.)	1041 (0)	2150 (0)	1,1742
13(PC)	1041 (0)	2150 (0)	1,1466

A superfície de resposta obtida é apresentada na figura III-6.

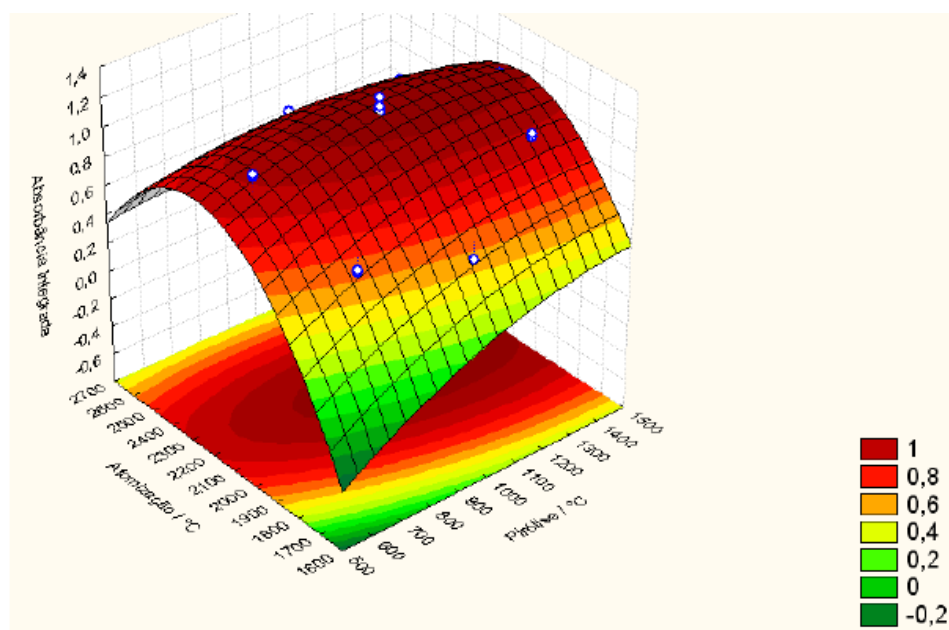


Figura III-6: Superfície de resposta obtida para o CCD descrito na tabela III-9.

A função polinomial que rege este modelo, está mostrada na equação 1 abaixo:

$$\text{Abs} = -16,0674 + 0,0036 (\text{TP}) - 0,00000067 (\text{TP})^2 + 0,0141 (\text{TA}) - 0,000003 (\text{TA})^2 - 0,000001(\text{TP})(\text{TA}) \quad (1)$$

Aplicando-se o critério de Lagrange à equação acima, o ponto crítico pode ser encontrado informando consequentemente as temperaturas ótimas de pirólise e atomização. Desta forma, um programa de temperatura eficiente para detecção de As é apresentado na tabela III-10:

Tabela III-10: Programa de temperatura otimizado para determinação de As por GF AAS utilizando irídio como modificador permanente.

Etapa	Temperatura (°C)	Tempo (s)	Fluxo Argônio (L.min⁻¹)
Secagem 1	85	5,0	0,3
Secagem 2	95	40,0	0,3
Secagem 3	120	10,0	0,3
Pirólise	1148	8,0	0,3
Atomização	2155	2,6	0,0
Limpeza	2600	2,0	0,3

4.2. Otimização das condições para separação das espécies inorgânicas de arsênio.

Uma vez que a semente de moringa pode atuar adsorvendo cátions e ânions dependendo da carga elétrica de sua superfície, o pH inicial da solução é o fator determinante no processo de separação das espécies inorgânicas de arsênio. Nesse sentido, o controle do pH inicial da solução pode ser suficiente para garantir diferentes porcentagens de adsorção para as espécies de As(III) e As(V), promovendo desta forma a extração seletiva de uma delas. A Figura III-7 mostra a distribuição das espécies inorgânicas de arsênio em condições variáveis de pH.

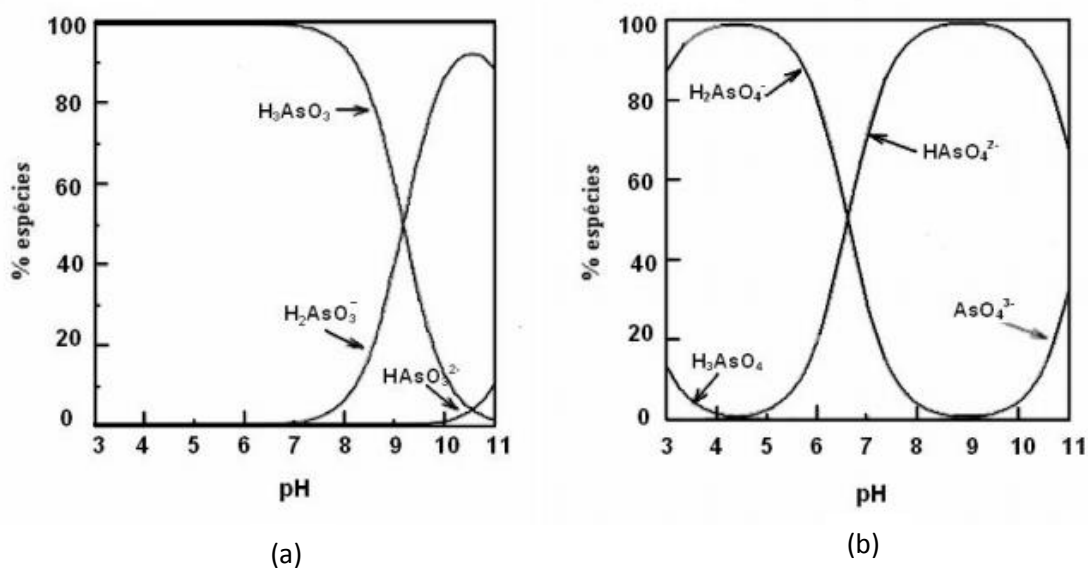


Figura III-7: Distribuição das espécies de As(III) (a) e As(V) (b) em função do pH. (Extraído de Silva, 2008).

A influência do pH na adsorção das espécies de arsênio inorgânico é apresentada na figura III-8. Observa-se uma adsorção máxima de As(III) em pH 7,0 e para o As(V) em pH 1,0.

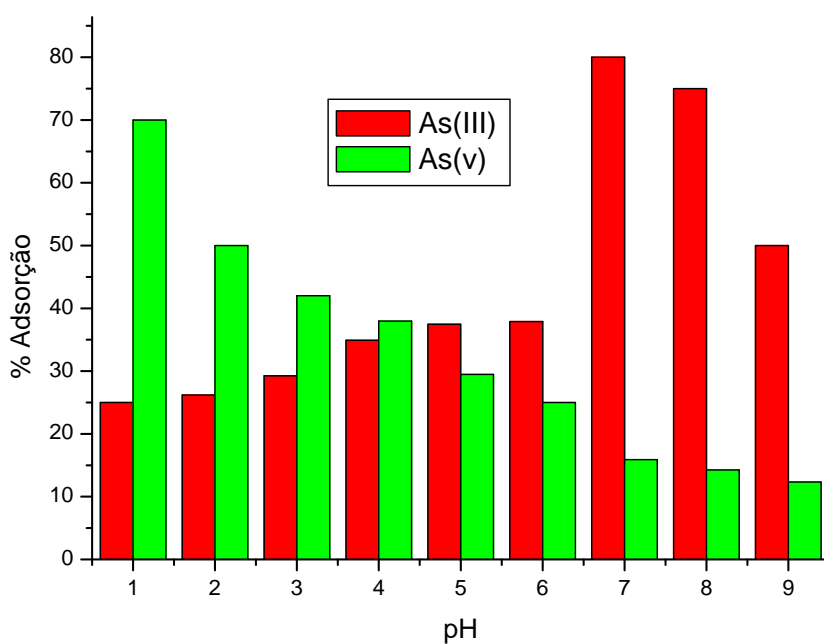


Figura III-8: Efeito do pH na adsorção de As(III) e As(V).

A solução aquosa das sementes de moringa é uma mistura complexa, constituída por polipeptídios catiônicos com vários grupos funcionais, particularmente aminoácidos que apresentam estruturas altamente dependente do pH do meio (José et al., 1999), podendo gerar sítios de adsorção positiva ou negativamente carregados.

A explicação para o comportamento observado na Figura III-8 está relacionado com a distribuição das espécies de arsênio no meio e a distribuição de cargas na superfície das sementes de moringa. Conforme demonstrado na figura III-7, em meio ácido a espécie As(III) encontra-se quase predominantemente na forma não carregada H_3AsO_3 , não podendo ser submetida a interação eletrostática com o adsorvente. Entretanto, sua adsorção, menor que 30% na faixa ácida, pode ser justificada por interações do tipo ácido-base de Lewis, além de mecanismos de complexação (Marques Neto et al., 2003). Em meio básico a espécie de As(III) predominante é H_2AsO_3^- , desta forma a elevada adsorção desta espécie em meio básico pode ser justificada por sua interação com extremidades positivamente carregadas dos aminoácidos que constituem as sementes de moringa que por sua vez apresentam ponto isoelétrico entre 4-8 (Delvin et al., 2002). Para o As(V), observa-se em pH ácido a presença da espécie H_2AsO_4^- , nesta faixa observa-se a maior porcentagem de adsorção para espécie pentavalente, em torno de 70%, sendo que a maior parte da superfície das sementes encontra-se positivamente carregada ($\text{pH} < \text{pH}_{\text{PCZ}}$), atraindo espécies aniônicas. Em pH básico, As(V) encontra-se na forma HAsO_4^{2-} , assim, a medida que o valor do pH do meio aumenta a superfície do adsorvente se torna menos positivamente carregada, repelindo espécies aniônicas. Entretanto, uma baixa adsorção desta espécie em meio básico é observada, podendo ser devida à repulsão destas espécies com os sítios negativamente carregados dos aminoácidos presentes.

Portanto, em pH em torno de 7,0, As(III) pode ser adsorvido, com uma baixa adsorção de As(V), permitindo desta forma a separação seletiva das espécies inorgânicas de As apenas com controle de pH.

4.3. Isotermas de adsorção

O procedimento de construção das isotermas de adsorção permite verificar graficamente a quantidade máxima (em gramas) do adsorvato que pode ser adsorvida numa dada massa de adsorvente.

Neste ensaio, 50 mg de sementes trituradas de *Moringa oleifera* foi agitada durante 1 hora com 50 mL de soluções de íons As(III) em concentrações crescentes de 0,2 a 100 mg L⁻¹. Os valores de pH e tempo de agitação utilizados para a construção das isotermas foram 7,0 e 60 minutos respectivamente. Durante a realização de todo o procedimento, após a agitação, a mistura foi filtrada, o sobrenadante diluído com água deionizada e analisado por GF AAS.

A isoterma foi obtida lançando-se no eixo da abscissa a concentração do sobrenadante, ou seja, a concentração de equilíbrio do adsorvato - C_e (mg L⁻¹), e no eixo da ordenada a quantidade do metal adsorvido (mg) pela massa do adsorvente - Q_e (mg g⁻¹). A Figura III-09 apresenta a isoterma obtida para adsorção dos íons As(III) pelas sementes de moringa.

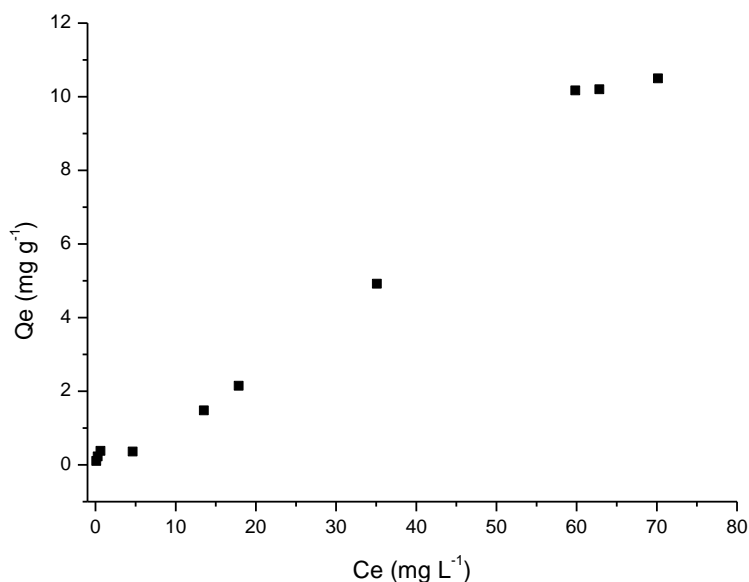


Figura III-9: Isoterma para adsorção dos íons As(III) pelas sementes de moringa.

Segundo os modelos de isoterma, propostos por Gilles e colaboradores, a isoterma apresentada na figura III-9 se enquadra no tipo S. Esse tipo de isoterma é côncava ao eixo da concentração seguida frequentemente por um ponto de inflexão aparentando a forma de um S.

Os dados experimentais foram ajustados aos modelos de Langmuir e Freundlich, as isotermas linearizadas segundo estes modelos são apresentados na figura III-10 (a) e (b), respectivamente.

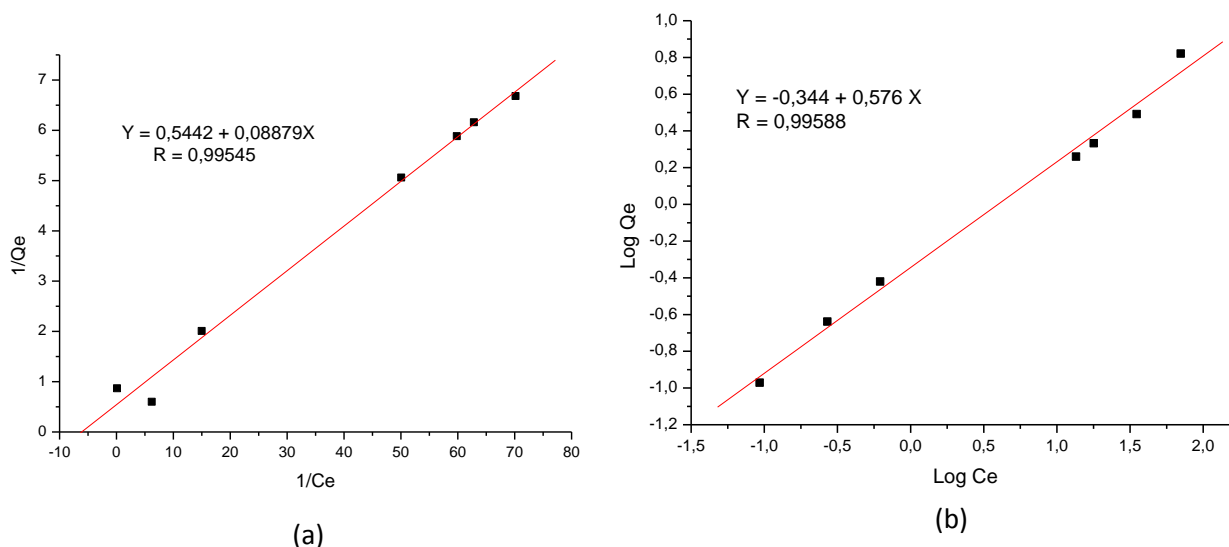


Figura III-10: Isotermas linearizadas para a adsorção de As(III) pelas sementes de moringa segundo os modelos de Langmuir (a) e Freundlich (b).

De acordo com o coeficiente de correlação encontrado após a linearização, o processo de adsorção dos íons As(III) pelas sementes trituradas de moringa, pode ser explicado pelos dois modelos abordados. A curva de adsorção indica a formação de uma segunda camada de íons sendo retida pela superfície em alta concentração na solução. Dessa forma, pode-se sugerir que o processo de adsorção ocorreu em dois estágios, com a saturação de diferentes sítios de adsorção. Com o aumento na concentração do metal mais sítios são preenchidos e a retenção do íon torna-se mais difícil.

A fase inicial da curva de adsorção corresponde a alta energia de ligação apesar do material apresentar baixa capacidade de adsorção. Em uma segunda fase, altas quantidades de arsênio foram retidas, apesar da energia de retenção ser menor (Jordão et al., 2000).

A tabela III-11 apresenta as constantes encontradas após a linearização segundo os dois modelos.

Tabela III-11: Parâmetros de linearização das isotermas de adsorção segundo os modelos de Langmuir e Freundlich.

Parâmetros de Langmuir		Parâmetros de Freundlich	
$Q_{\text{Máx}}$ (mg g ⁻¹)	R_L	K_f	n
1,84	6,25	0,45	1,74

Considerando as constantes calculadas segundo o modelo de Langmuir, foi encontrada uma capacidade máxima de adsorção igual a 1,84 mg g⁻¹ com o parâmetro R_L indicam adsorção favorável. As constantes retiradas da linearização segundo Freundlich, também indicam adsorção favorável.

4.4. Otimização dos fatores que afetam a adsorção de As(III)

De posse do pH onde a separação ocorre, visando aumentar ao máximo a quantidade de As(III) adsorvida a fim de garantir a eficiência do processo de separação, os fatores que possivelmente influenciam o processo de adsorção, massa do adsorvente e tempo de agitação foram otimizados. Devido ao menor número de fatores em estudo optou-se pelo método univariado. Foi fixado um fator por vez, e os demais fatores estudados foram mantidos constantes até que fosse obtido o melhor resultado. Em seguida, outro fator foi submetido a variações sucessivas até que todos os fatores em questão estivessem ajustados para obter a melhor condição de separação.

Para avaliação da massa do adsorvente, variou-se a massa de moringa entre 0,1g e 2,0 g. As condições experimentais utilizadas para o estudo foram: granulometria 500 µm; pH 3,0, tempo de agitação 60 minutos e concentração da solução de As(III) 100 mg L⁻¹. A figura III-11 apresenta os resultados observados.

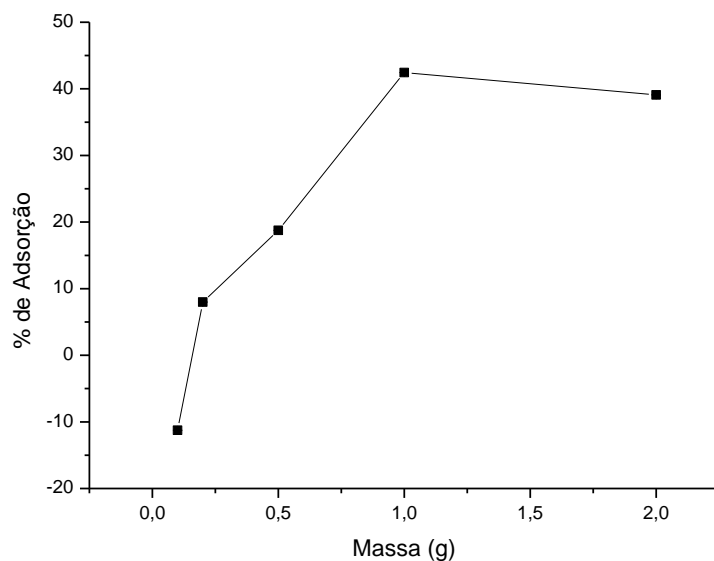


Figura III-11: Variação da porcentagem de adsorção dos íons As(III) pelas sementes de moringa em função da variação da massa do adsorvente.

Os resultados apontam para um aumento na adsorção dos íons As(III), à medida que aumenta a massa de moringa, ou seja, observa-se que a relação massa de adsorvato (mg) pela massa de adsorvente (g) também aumenta bastante até 1,0 g. Para quantidades superiores de adsorvente a porcentagem de adsorção tem uma leve diminuição provavelmente devido ao fato de o sistema atingir o equilíbrio. Assim, a massa de 1,0 g é suficiente para garantir a adsorção dos íons As(III).

O efeito do tempo de contato na adsorção de As(III) de foi estudado na faixa de 2 a 120 minutos como mostra a Figura III-12.

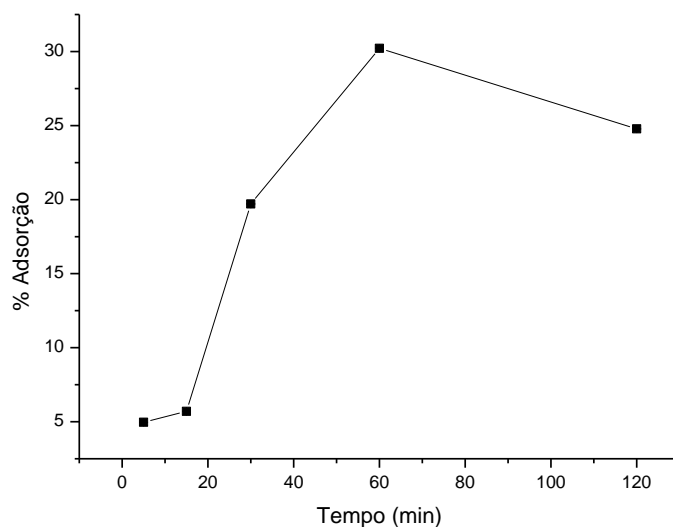


Figura III-12: Variação da porcentagem de adsorção de As(III) em função da variação do tempo de adsorção.

A quantidade de íons As(III) retida pelo material adsorvente aumentou consideravelmente até 60 minutos, assim esse tempo foi escolhido para ser usado nos procedimentos de adsorção a fim de garantir que o sistema atinja o equilíbrio.

4.5. Testes de seletividade

A seletividade do processo de extração seletiva de íons As(III) (100 mg L^{-1}) foi avaliada por meio de um planejamento fatorial fracionado 2^{7-3} . O efeito dos íons Ca(II), Cr(VI), Na(I), Cd(II), Mg(II), Fe(III) e Cu(II) foi investigado, conforme descrito na Tabela III-7.

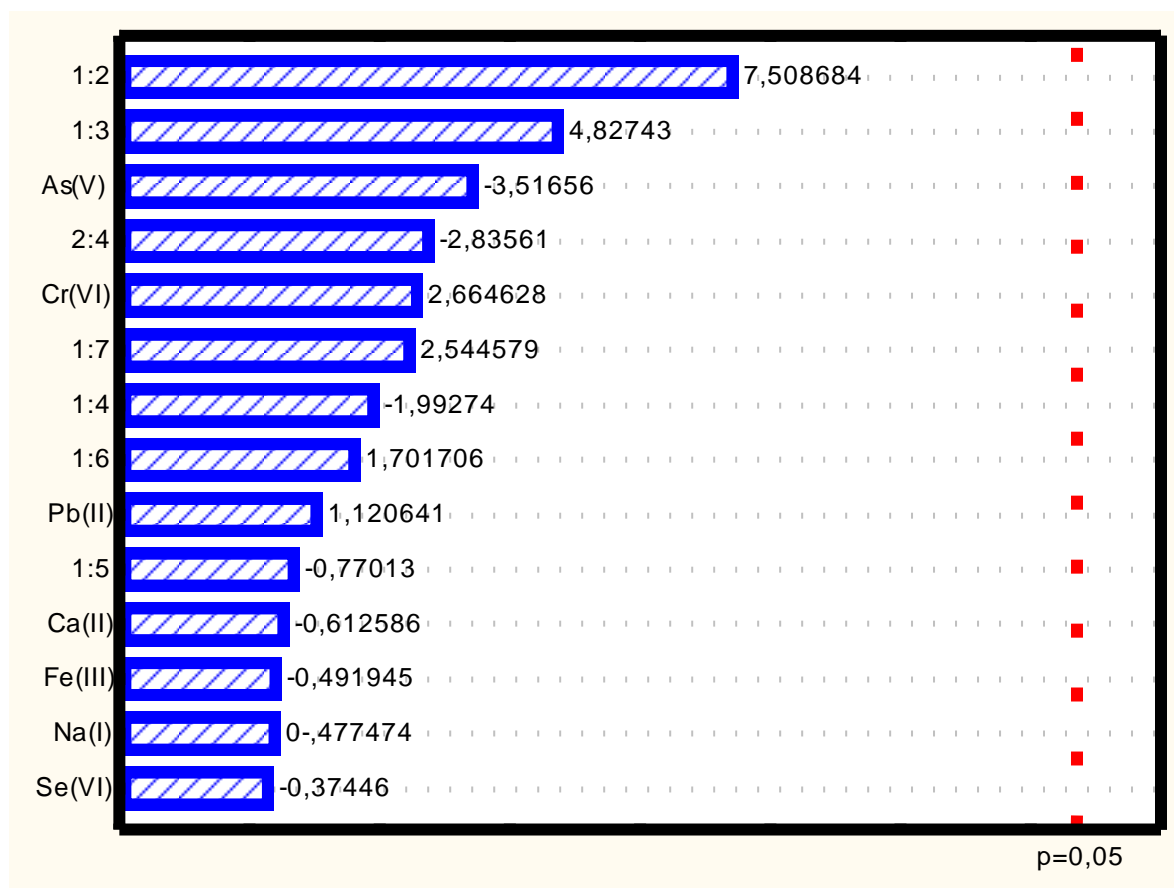


Figura III -13: Gráfico de Pareto para avaliação da seletividade durante o processo de adsorção de íons As(III).

Segundo o gráfico de Pareto nenhum dos cátions estudados em concentrações cinco vezes maiores que o analito apresentou interferência significativa ao nível de confiança de 95%. Esse fato comprova a eficiência do método de separação de As(III), uma vez que mesmo na presença de As(V) em elevadas concentrações, é possível adsorver quantitativamente íons As(III).

4.6. Determinação de As(V) na presença de As(III)

Os resultados apresentados anteriormente, demonstram elevada seletividade para extração de As(III) em pH 7,0, utilizando as cascas de sementes de *Moringa oleífera*. Desta forma, uma curva de calibração contendo apenas As(V) foi construída e levada à

leitura direta no GFAAS. Posteriormente uma segunda curva de calibração contendo As(V) e As(III) em concentrações de 1,0 a 100,0 mg L⁻¹ foi construída e após ajuste de pH, as soluções da mesma foram colocadas em agitação com sementes de moringa. Após filtração o sobrenadante foi diluído quando necessário e levado à leitura no GF AAS. A Figura III-14 apresenta os resultados obtidos.

Fica evidente que conforme o esperado, a análise direta em GF AAS não torna possível a discriminação das espécies inorgânicas de arsênio quanto ao seu estado de oxidação, o que já é um fato consolidado quando se emprega essa técnica de detecção. Logo, para finalidades de especiação, torna-se necessário uma etapa de extração seletiva para uma das espécies antes da etapa de detecção por GF AAS, o que foi conseguido por meio da metodologia proposta, baseada na adsorção da espécie As(III) pelas sementes de moringa.

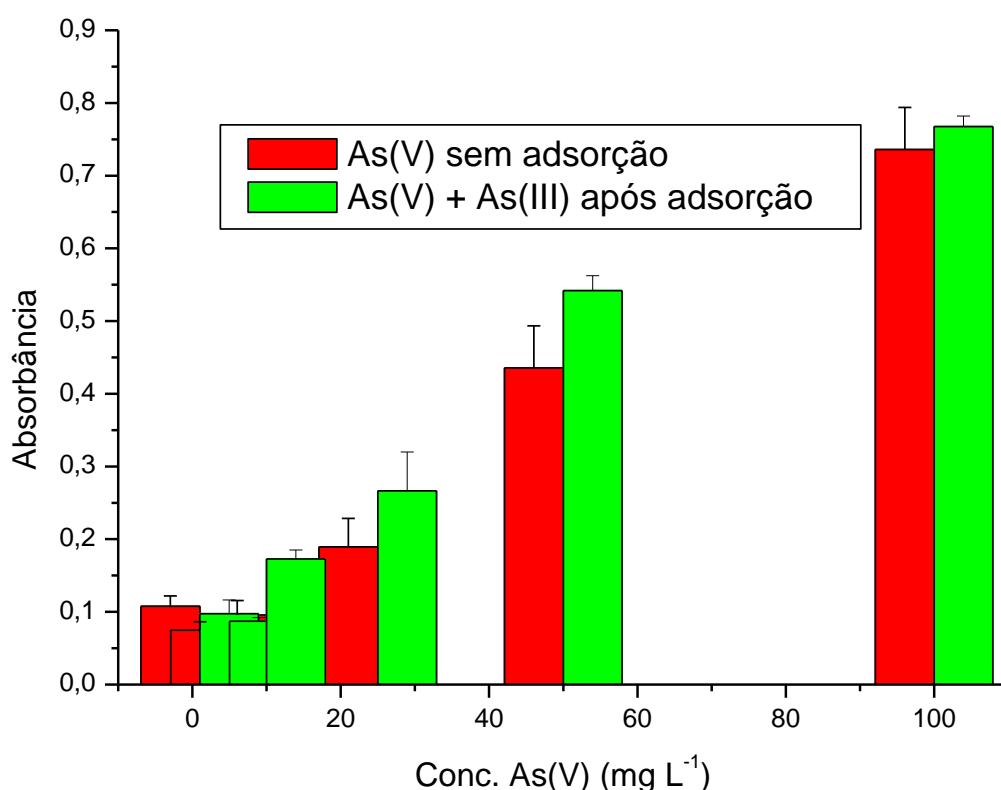


Figura III-14: Curva de calibração para determinação de As(V) na presença de As(III).

Como pode ser observado na figura III-14, a retenção de As(III) ocorre efetivamente, deixando apenas o As(V) livre na solução para ser determinado por GF-

AAS. Fica provada então a seletividade na adsorção, fazendo com que essa metodologia seja promissora na análise de especiação de arsênio inorgânico.

Desta forma, em um solução contendo simultaneamente As(III) e As(V), pode-se determinar As(V) após extração seletiva da espécie trivalente através das sementes de moringa. A concentração de As total pode ser medida a partir da leitura direta da solução no GF-AAS, sem que a mesma seja submetida ao processo de adsorção, assim a concentração de As(III) pode ser obtida pela diferença entre as duas soluções.

5.0. Testes de Exatidão

A exatidão do método proposto, foi avaliado por teste de recuperação, por meio do método de adição de padrão em amostras de água (água mineral, de torneira e água de rio). As amostras de água mineral foram adquiridas na cidade de Uberlândia-MG, uma vez que a concentração do analito nas amostras estava abaixo do limite de detecção da técnica de detecção (GF AAS), as mesmas foram fortificadas com concentrações de As(III) e As(V) na faixa de 0,2 a 100 mg L⁻¹. As amostras continham íons cálcio, bicarbonato, fluoreto, sódio em concentrações inferiores à concentração de As(III). Os resultados para recuperação de As(III) e As(V) são apresentados na tabela III-12 e 13 respectivamente.

Tabela III-12: Teste de recuperação para As(III) em águas.

Amostra	As(III) (mg L ⁻¹)		Recuperação (%)
	Adicionada	Encontrado	
Água 1	5,0	5,06	101,2
	50,0	46,2	95,4
Água 2	5,0	5,42	108,50
	50,0	46,59	93,18
Água 3	5,0	4,66	93,02
	50,0	40,53	84,06
Água 4	5,0	4,68	93,48
	50,0	41,84	83,68

Tabela III-13: Teste de recuperação para As(V) em águas.

Amostra	As(V) (mg L ⁻¹)		Recuperação (%)
	Adicionada	Encontrado	
Água 1	5,0	5,85	116,82
	50,0	59,08	118,17
Água 2	5,0	5,15	102,84
	50,0	57,82	115,65
Água 3	5,0	4,90	98,13
	50,0	48,58	97,17
Água 4	5,0	4,82	96,82
	50,0	49,42	98,84

Os resultados apresentados acima evidenciam que a metodologia não apresentou problemas relacionados ao efeito de matriz, visto que a recuperação dos íons As(III) e As(V), apresentou valores dentro da faixa aceitável de 80 a 120% (Association of Official Analytical Chemists).

A exatidão do método foi avaliada ainda por meio da análise do material certificado APS – 1071. A Tabela III-15 apresenta os resultados obtidos.

Tabela III-14: Análise do material de referência.

Amostra	Método Proposto			Valor Certificado
	As(III)	As(V)	As(III) + As(V)	
APS-1071	99,7 ± 0,1	N.D	99,7 ± 0,1	100,0 ± 0,5

Valores: mg L⁻¹ N.D: não detectado

O resultado observado para a análise da amostra certificada APS-1071, mostra que os valores obtidos são consistentes com o valor de referência, confirmando a confiabilidade do método desenvolvido.

6.0. CONCLUSÕES

O método desenvolvido para extração seletiva de As(III), apresentou-se como uma alternativa interessante e eficiente para determinação das espécies inorgânicas de As, presentes em amostras de água. O método é simples, de baixo custo, elimina totalmente o uso de solventes orgânicos utilizados na maior parte dos procedimentos de extração líquido-líquido.

A utilização de planejamentos experimentais multivariados, como planejamento fatorial e a metodologia de superfície de resposta mostram-se uma ferramenta muito importante para otimização do método de determinação de As por GF AAS, uma vez que forneceu informações essenciais sobre os efeitos que cada variável exerce sobre a detecção. O emprego de modificação permanente do tubo atomizador de grafite com irídio resultou na construção de um programa de temperatura eficaz.

As isotermas de adsorção indicaram que o processo de retenção dos íons arsênio, ocorre por meio de um processo físico, melhor descrito pelo modelo de Freundlich.

O ponto central do método desenvolvido está na variação da porcentagem de adsorção das espécies inorgânicas de arsênio de acordo com o pH do meio, uma vez que o pH altera a carga superficial do adsorvente alterando sua capacidade em adsorver cátions e ânions. Desta forma, foi possível observar que em valores de pH próximos a 3,0, apenas a espécie trivalente é retida, confirmando a possibilidade de um método de extração com elevada seletividade.

Assim, a exatidão do método pôde ser comprovada por meio de testes de recuperação e análise de material certificado, comprovando que o método pode ser aplicada para análise de especiação de arsênio em amostras de água.

Diante dos resultados obtidos, fica clara a possibilidade de utilização do método desenvolvido para determinação de arsênio inorgânico em outras amostras de interesse ambiental e alimentício.

7.0. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- Anderson, R. K.; Thompson, M.; Culbard, E. “*Selective reduction of arsenic species by continuous hydride generation. Part I. Reactio media.*” *Analyst*, 111, 1143-1152, **1986**.
- Araújo, A. L. P., Silva, M. C. C., Gimenes, M. L., Barros, M. A. S. D. ” *Estudo Termodinâmico da Adsorção de Zinco em Argila Bentonita Bofe Calcinada*”. *Scientia Plena*, 9, 1-6, **2009**.
- Barra, C.M., Santelli, R. E., Abrão, J.J., Guardia, M.G. “*Especiação de Arsênio – uma revisão*”. *Química Nova*, 23, 58-70, **2000**.
- Burguera, M.; Burguera, J. L. Flow injection-electrothermal atomic absorption spectrometry for arsenic speciation using the Fleitmann reaction. *Journal of Analytical Atomic Spectrometry* 8 (**1993**) 229-233.
- Burquera, M.; Burquera, J. L.; Brunetto, M.R.; De la Guardia, M.; Salvador, A. “*Flow-injection atomic spectrometry determination of inorganic arsenic(III) and arsenic (V) species by use of an aluminium-column arsine generator and cold-trapping arsine collection*”. *Analytica Chimica Acta*, 261, 105-113, **1991**.
- C. Gonzalez, I. Lavilla, C. Bendicho. “*Evaluation of non-chromatographic approaches for speciation of extractable As(III) and As(V) in environmental solid samples by FI-HGAAS.*” *Talanta*, 59, 525-534, **2003**.
- Chung, C.H., Iwamoto, E., Yamamoto, M., Yamamoto, Y. “*Selective determination of arsenic (III, V), antimony (III,V), selenium (IV,VI) and tellurium(IV, VI) by extraction*

and graphite furnace atomic absorption spectrometry.” *Spectrochimica Acta B*, 39, 459-466, **1984**.

Chaves, T.F., Queiroz, Z.F., Souza, D.N. R., Girão, J. H. S., Rodrigues, E. A. “*Uso da cinza da casca do arroz (cca) obtida da geração de energia térmica como adsorvente de zn(ii) em soluções aquosas.*” *Quim. Nova*, 32, 1378-1383, **2009**.

Chen, D.H., He, M., Huang, C.Z., Hu, B. *At. Spectr.* 29, 165–171, 2008.

Costa, B. E. “*Extração Seletiva por Ponto Nuvem para Pré-concentração e especiação de Arsênio Inorgânico em matrizes alimentícias empregando Espectroscopia de Absorção Atômica Eletrotérmica por Forno de Grafite.*” Dissertação de Mestrado, Universidade Federal de Goiás, **2013**.

Delvin, S., 2002. *Amino Acids and Proteins*, first ed. IVY, New Delhi.

Emteborg, H., Baxter, D.C., Sharp, M., Frech, W. “*Evaluation, mechanism and application of solid phase extraction using a dithiocarbamate resin for the sampling and determination of mercury species in humic-rich natural waters.*” *Analyst*, 120, 69–77, **1995**.

Falone, S. Z.; Sanches, S. M.; Campos, S. X.; Vieira, E. M. “*Estudo da adsorção/dessorção do explosivo Tetril com turfa na presença e na ausência de matéria orgânica*”. In: 27ª Reunião Anual da Sociedade Brasileira de Química, Salvador- Ba. Sociedade Brasileira de Química, **2004**.

Genç-Fuhrman, H.; Bregnhøj, H. D.; McConchie, D. “*Arsenate removal from water using sand-red mud columns*”. *Water Research*, 39, 2944-2954, **2005**.

Giacomelli, M. B. O.; Lima, M. C.; Stupp, V.; Junior, R. M. C.; Silva, J. B. B.; Barrera, P. B. “*Determination of As, Cd, Pb and Se in DORM-1 dogfish muscle reference material using alkaline solubilization and electrothermal atomic absorption spectrometry with Ir+Rh as permanent modifiers or Pd+Mg in solution.*” *Spectrochimica Acta Part B*, 57 2151-2157, **2002**.

Gonzalvez, A., Cervera, M.L., Armenta, S., De la Guardia, M. “*A review of non-chromatographic methods for speciation analysis.*” *Analytica Chimica Acta* 636, 129–157, **2009**.

Hanna, C. P.; Tyson, J. F.; McIntosh, S. Determination of inorganic arsenic and its organic metabolites in urine by flow-injection hydride generation atomic absorption spectrometry”. *Clinical Chemistry*, 39, 1662 – 1667, **1993**.

Howard, A. G.; Hunt, L. E.; *Anal. Chem.* **1993**, 65, 2995.

I.B. Karadjovaa, L. Lampugnanib, M. Onorb, A. D’Ulivob, D.L. Tsaleva. “*Continuous flow hydride generation-atomic fluorescence spectrometric determination and speciation of arsenic in wines.*” *Spectrochimica. Acta B*, 60 816-823, **2005**.

Jose, T.A., Oliveira, Silveria, B.S., Vasconcelos, L.M., Cavada, B.S., Moriera, R.A., 1999. Compositional and nutritional attributes of seeds from the multipurpose tree *Moringa oleifera* Lam. *J. Sci. Food Agric.* 79, 815– 820, **2009**.

K. Anezaki, I. Nukatsuka, K. Ohzeki. “*Determination of Arsenic(III) and Total Arsenic(III,V) in Water Samples by Resin Suspension Graphite Furnace Atomic Absorption Spectrometry*”. *Analytical Science*, 15, 829, **1999**.

K. Terada, K. Matsumoto, T. Inaba. “ *Preconcentration of copper, lead, cadmium and zinc ions from water with 2-mercaptobenzothiazole loaded on glass beads with the aid of collodion.*” *Analytica Chimica Acta*, 158,225-235, **1984**.

Kartal, S. N.; Imamura, Y. “*Removal of copper, chromium, and arsenic from CCA-treated wood onto chitin and chitosan.*” *Bioresource Technology*, 96, 389-392,. 2005.

L.M. Coelho, N.M.M. Coelho, M.A.Z. Arruda, M. de la Guardia “*On-line bi-directional electrostacking for As speciation/preconcentration using electrothermal atomic absorption spectrometry.*” *Talanta*, 71, 353-358, **2007**.

M.N. Matos-Reyes, M.L. Cervera, R.C. Campos, M. de la Guardia. “ *Development of a non-chromatographic method for the speciation analysis of inorganic antimony in mushroom samples by hydride generation atomic fluorescence spectrometry.*” *Spectrochimica Acta B Atomic Spectroscopy*, 66, 596-600, **2007**.

Machado, N. R. C. F.; Bigatão, D. M. M. M. “*Utilização de zeólitas sintetizadas a partir de xisto retornado na remoção de arsênio em águas contaminadas*”. *Química Nova*, 30, 1108-1112, **2007**.

Marques Neto, J.O., Bellato, C.R., Milagres, J.R., Pessoa, K.D., Alvarenga, E.S. “*Preparation and Evaluation of Chitosan Beads Immobilized with Iron(III) for the removal of As(III) and As(V) from water.*” *Journal Brazilian Chemical Society*, 24, 121-132, **2013**.

P. Cava-Montesinos, K. Nilles, M.L. Cervera, M. de la Guardia. “*Determination of arsenic and antimony in milk by hydride generation atomic fluorescence spectrometry.*” *Talanta*, 66, 787-799, **2005**.

Petropolu, M. O.; Varsamis, J.; Parissakis, G. “*Speciation of arsenobetaine in marine organisms using a selective leaching / digestion procedure and hydride generation atomic spectrometry*”. *Analytica Chimica Acta*, 337, 323-327, **1997**.

Pongratz, R. “Arsenic speciation in environmental samples of contaminated soil .” *The Science of the Total Environment* 224, 133-141, **1998**.

Quináia, S. P.; Rollemberg, M. do C. E. “*Selective Reduction of Arsenic Species by Hydride Generation - Atomic Absorption Spectrometry Part 1 - Reduction Media*” *Journal of Brazilian Chemical Society*, 8, 349-356, **1997**.

Santos, H. H.; Demarchi, C. A.; Rodrigues, C. A.; Nedelko, J. M. G. N.; Waniewska, A. S. “*Adsorption of As(III) on chitosan-Fe crosslinked complex (Ch-Fe)*.” *Chemosphere* **2011**, 82, 278.

Silva, A. C. “*Desenvolvimento de uma metodologia em fluxo para especiação redox de As em águas utilizando Espectrometria de Absorção Atômica com Geração de Hidretos*”. Dissertação de Mestrado. Programa de Pós-Graduação em Química. Universidade Federal de Uberlândia, **2000**.

Silva, G.C. “*Mecanismo de acumulação de ferro e arsênio em biomassa vegetal fibrosa*.” Dissertação de Mestrado. Universidade Federal de Minas Gerais, **2008**.

Stummeyer, J.; Harazin, B.; Wippermann, T.; *Fresenius J. Anal. Chem.* **1996**, 354, 344.

W. Driehaus, M. Jekel, *Fresen. J. Anal. Chem.* 343 (1992) 352.

WHO (2010) Exposure to arsenic: A major public health concern.
<http://www.who.int/mediacentre/factsheets/fs210/en/print.html>. Acesso em julho de 2013.

Yang, L.; Shahrivari, Z.; Liu, P. K. T.; Sahimi, M.; Tsotsis, T. T.; *Ind. Eng. Chem. Res.* **2005**, *44*, 6804.

