



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

**EXTRAÇÃO SELETIVA E PRÉ-CONCENTRAÇÃO DE
CROMO (III) EM AMOSTRAS AQUOSAS POR EXTRAÇÃO
EM PONTO NUVEM**

Maria Soledad Moura Soares Fernández Acevedo

UBERLANDIA – MINAS GERAIS - BRASIL
Março de 2014



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

**EXTRAÇÃO SELETIVA E PRÉ-CONCENTRAÇÃO DE
CROMO (III) EM AMOSTRAS AQUOSAS POR EXTRAÇÃO
EM PONTO NUVEM**

Maria Soledad Moura Soares Fernández Acevedo

Orientadora: Profa. Dra. Nívia Maria Melo Coelho

Dissertação apresentada ao Programa de Pós-Graduação em Química do Instituto de Química - UFU, como parte das exigências para a obtenção do título de Mestre em Química.

UBERLANDIA – MINAS GERAIS - BRASIL

Março de 2014



SERVIÇO PÚBLICO FEDERAL
MINISTÉRIO DA EDUCAÇÃO
UNIVERSIDADE FEDERAL DE UBERLÂNDIA
INSTITUTO DE QUÍMICA
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM QUÍMICA



Ata da defesa de DISSERTAÇÃO DE MESTRADO junto ao Programa de Pós-Graduação em
Química, do Instituto de Química da Universidade Federal de Uberlândia
DEFESA DE DISSERTAÇÃO DE MESTRADO ACADÊMICO, NÚMERO 188/PPQUI.

DATA: 21/03/2014

DISCENTE: Maria Soledad Moura Soares Fernández Acevedo MATRÍCULA: 11212QMI012

TÍTULO DO TRABALHO: Extração seletiva e pré-concentração de cromo (III) em amostras aquosas por extração em ponto nuvem.

ÁREA DE CONCENTRAÇÃO: Química

LINHA DE PESQUISA: Espectroanalítica Aplicada

PROJETO DE PESQUISA DE VINCULAÇÃO: Métodos de preparo de amostras e determinação de micronutrientes em alimentos.

Às nove horas do dia vinte e um de março do ano dois mil e quatorze, no Auditório Prof. Manuel Gonzalo Hernández Terrones, Bloco 5I, no Campus Santa Mônica, reuniu-se a Banca Examinadora composta pelos Professores Doutores Marcos de Almeida Bezerra, da Universidade Estadual do Sudoeste da Bahia, Rodrigo Alejandro Abarza Muñoz e Nívia Maria Melo Coelho, do Instituto de Química da UFU, professor(a) orientador(a) e presidente da mesa. 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 Interna nº 03/2013/PPQUI. Em seguida, o(a) presidente da mesa concedeu a palavra ao(à) candidato(a) para a exposição do seu trabalho e, em seqüência, 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) candidato(a). Por sugestão da Banca Examinadora, o título do trabalho será

mantido

Esta defesa de Dissertação de Mestrado Acadêmico é parte dos requisitos necessários à obtenção do título de Mestre. 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 10 horas e 30 minutos e lavrada a presente ata, que após lida e aprovada, foi assinada pela Banca Examinadora.

Marcos de Almeida Bezerra

Prof. Dr. Marcos de Almeida Bezerra
UESB

Rodrigo Abarza Muñoz

Prof. Dr. Rodrigo Alejandro Abarza Muñoz
IQUFU

Nívia Maria Melo Coelho

Orientador(a): Prof. Dr. Nívia Maria Melo Coelho – IQUFU



Nada te perturbe.

Nada te espante.

Tudo passa Deus não muda.

A paciência tudo alcança.

Quem a Deus tem nada lhe falta.

Só Deus basta!

St. Tereza D'ávila



AGRADECIMENTOS



A Deus por tudo que sou e tenho, pelo sustento espiritual, pela força e fé diárias, e ao nosso Mestre e Guia Jesus, por me fazer compreender que obediência é um consentimento da razão, e resignação é um consentimento do coração. Por aceitar as circunstâncias com o coração e compreendê-las com a mente.

Aos meus pais pelo dom da vida!

À mamãe por ter ofertado sua vida a nós! Obrigada por seu amor incondicional, sua luta, sabedoria, seu colo e por ser a mulher mais maravilhosa do mundo! Seu exemplo de ser guerreira e forte sustenta-me todos os dias e me impulsiona para a vida!

Ao meu irmão, por sua seriedade e transparência, por me conduzir junto com mamãe nesta vida.

À minha sobrinha por iluminar nossas vidas com um sorriso divino!

À minha família pelo amor e carinho, especialmente vovó, por sempre, das minhas idas a Bahia, fazer dela o melhor lugar do mundo! A distância faz da saudade meu sobrenome...

Ao meu esposo Kayami, por seu apoio incondicional e, por sua eterna e santa paciência, ensinando-me a amar todos os dias, personificando o mais doce e atrativo amor! O tom da música tem outra cor ao seu lado...

Aos nossos queridos amigos Uberlandenses que nos acolheram com tanta brandura, aconchego e pão de queijo!

À ciência da natureza, chamada química, por ensinar-me a ter uma paciência incansável e uma persistência sem limite!

À prof. Nívia pela confiança, e por acreditar em mim! Obrigada por sua calma, ternura e firmeza!

À Hélen, toda minha gratidão! Não sei o que eu faria sem sua companhia, sem a sua dedicação e a me ensinar que ciência é feita de experimentos que desempenham acertos e erros! Obrigada por acreditar em mim, e sempre me impulsionar para frente, de que chegaríamos até o fim!

Aos meus grandes mestres: Sivanildo Borges, Mauro Korn, Madson Godói de Pereira, Fábio Santos e Josué Carinhonha! Tenho outra visão com relação ao mundo científico depois da convivência com todos!

Aos professores da UNEB e da UFU que contribuíram para minha formação.

A todos os meus eternos amigos da UNEB e UFBA: Guardo-os em meu coração!

Aos professores Waldomiro Borges Neto e Rodrigo Alejandro Abarza Muñoz por todas as contribuições e incentivos para o andamento deste trabalho.

A todos do LEA: Thaís, Hélen, Ione, Vanessa, Simone, Dayene, Sângela, Fernandinha, Dani, Eliézer, Thiago, Bruno e Cleisiano! Obrigada pela companhia, pela contribuição de cada um para o meu crescimento, pelos momentos de risos escandalosos, pelo café tão desejado toda quarta-feira e pelas trocas de informações cosméticas e estéticas (isso foi de extrema valia!)

À Mayta, que desde o primeiro contato sempre foi muito gentil e solícita!

À Thaís, pela oportunidade do reencontro nesta vida. Sua amizade é um presente divino, e não me vejo sem sua cumplicidade!

À Carol Pohl, por sua linda e risonha amizade!

À Carol Kirsten, por seu exemplo de amiga, mulher forte e mãe, que fazem de mim uma pessoa melhor a cada dia.

À Vanessa, por sua solicitude e carinho! Obrigada por tanto acolhimento e paciência!

Ao Udi Cello Ensemble pelo prazer e o privilégio que tive de tocar com vocês, ao me acompanhar entre química e música, compartilhando momentos maravilhosos, divertidos e musicais!

E a todos que contribuíram e me acompanharam nesta jornada!



Resumo

Extração seletiva e pré-concentração de cromo (III) em amostras aquosas por extração em ponto

O presente trabalho desenvolveu um procedimento para separação e pré-concentração de cromo (III) por extração por ponto nuvem seguida da determinação por espectrometria de absorção atômica com chama em amostras de água mineral. Este procedimento é baseado na formação do complexo de íons Cr(III) com PAN (1-(2-piridilazo) 2-naftol) na presença de solução tampão pH 11 e solução surfactante de Triton X-114 0,05 % (m/v). As variáveis que afetam a formação do complexo, extração e a separação das fases, tais como a concentração do agente complexante, concentração do agente surfactante, efeito do pH e volume de solução tampão foram avaliadas. Uma solução eletrolítica de NaCl foi usada para conduzir a formação de ponto nuvem sem a necessidade de aquecimento.

A partir das condições otimizadas para determinação de Cr(III), obteve-se limites de detecção de $0,47 \mu\text{g L}^{-1}$, limite de quantificação de $1,56 \mu\text{g L}^{-1}$ desvio padrão relativo (DPR) de 3,05% para $n=10$, e fator de enriquecimento 20,3. A exatidão foi atestada por experimentos de adição padrão e recuperação, obtendo-se recuperações quantitativas na faixa de 88 – 120%, e o método foi aplicado em amostras de água mineral.

Palavras chave: F AAS, água mineral, cromo (III), extração em ponto nuvem.

Abstract

Selective extraction and preconcentration of chromium (III) in aqueous samples by cloud point extraction

This work, a procedure for separation and preconcentration of chromium (III) by cloud point extraction and determination by flame atomic absorption spectrometry in mineral water samples was developed.

This procedure is based on the formation of the complex of Cr(III) with PAN (1-(2-pyridylazo) 2-naphthol) in the presence of buffer solution of pH 11 and 0.05 % (w/v) Triton X-114 as surfactant. The variables that affect the complex formation, extraction and separation of the phases, such as the concentration of complexing and surfactant agents, the effect of pH and volume of buffer solution were evaluated. An electrolyte solution of NaCl was used to conduce the point cloud formation without the need for heating.

From the optimized conditions for determination of Cr(III), detection limit of $0.47 \mu\text{g L}^{-1}$, limit of quantification of $1.56 \mu\text{g L}^{-1}$ relative standard deviation (RSD) of 3.05 % for $n = 10$ and enrichment factor of 20.3 were obtained. The accuracy was proved by standard addition and recovery experiments, obtaining quantitative recoveries in the range 88-120%, and the method was applied to samples of mineral water.

Keywords: F AAS, mineral water, chromium (III), cloud point extraction.

Sumário

Resumo.....	vii
Lista de Abreviaturas.....	xi
Lista de Tabelas.....	xiii
Lista de Figuras.....	xiv
1. INTRODUÇÃO.....	01
2. FUNDAMENTAÇÃO TEÓRICA.....	05
2.1 Cromo.....	06
2.2 Cromo(III).....	10
2.3 Extração em ponto nuvem.....	14
3. OBJETIVOS.....	20
3.1 Objetivo geral.....	21
3.2 Objetivos específicos.....	21
4. PROCEDIMENTO EXPERIMENTAL.....	22
4.1 Equipamentos e Acessórios.....	23
4.2 Reagentes e Soluções.....	24
4.3 Soluções estoque.....	26
5. METODOLOGIA ANALÍTICA.....	27
5.1 Extração por ponto nuvem.....	28
5.2 Faixa de pH e volume de solução tampão.....	31
5.3 Concentração do complexante PAN.....	31
5.4 Concentração de surfactante Triton X-114.....	31
5.5 Concentração do eletrólito NaCl.....	31
5.6 Fator de enriquecimento.....	32
5.7 Figuras de Mérito.....	32
5.7.1 Linearidade.....	33
5.7.2 Limite de detecção.....	34
5.7.3 Limite de quantificação.....	34
5.7.4 Precisão.....	35
5.7.5 Exatidão.....	36
5.7.6 Recuperação.....	36
5.7.7 Amostras.....	37
6. RESULTADOS E DISCUSSÃO.....	38
6.1 Efeito do pH na complexação do Cr(III) e Volume de solução tampão.....	39

6.2 Efeito da concentração de PAN.....	42
6.3 Variação da concentração de Triton X- 114.....	43
6.4 Efeito da concentração do eletrólito NaCl.....	45
6.5 Otimização do procedimento por ponto nuvem.....	47
6.6 Fator de enriquecimento.....	48
6.7 Figuras de Mérito.....	49
6.7.1 Exatidão e Aplicação do Método.....	51
7. CONCLUSÕES.....	55
8. PERSPECTIVAS.....	57
9. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS.....	58

Lista de Abreviaturas

AAS Espectrometria de Absorção Atômica (do inglês, Atomic Absorption Spectrometry)

ANVISA Agência de Vigilância Sanitária

CMC Concentração Micelar Crítica

CONAMA Conselho Nacional de Meio Ambiente

CPE Extração por Ponto Nuvem (do inglês, Cloud Point Extraction)

DPR Desvio Padrão Relativo

DPTA Ácido Dietilenotriaminopentaácetico

ET AAS Espectrometria de Absorção Atômica com Atomização Eletrotérmica (do inglês, Atomic Absorption Spectrometry with Electrothermal Atomization)

EPA Agência de Proteção Ambiental dos Estados Unidos (do inglês, United Agency Environmental Protection Agency)

F AAS Espectrometria de Absorção Atômica por Chama (do inglês, Spectrometry Flame Atomic Absorption)

GF AAS Espectrometria de Absorção Atômica por Forno de Grafite (do inglês, Atomic Absorption Spectrometry with Graphite Furnace)

ICP MS Espectrometria de Massa com Plasma Indutivamente Acoplado (do inglês, Mass Spectrometry with Inductively Coupled Plasma)

ICP OES Espectrometria de Emissão Ótica com Plasma Acoplado Indutivamente (do inglês, Optical Emission Spectrometry with Inductively Coupled Plasma)

INMETRO Instituto Nacional de Metrologia, Qualidade e Tecnologia

LD Limite de detecção

LQ Limite de Quantificação

OMS Organização Mundial de Saúde

PAN 1-(2-piridilazo)2-naftol

PET Politereftalato de etileno

rpm Rotações por Minuto

Lista de Tabelas

Tabela 1 – Recomendações de ingestão diária de Cr (III).....	12
Tabela 2 - Exemplos de alguns surfactantes de uso comum em Química Analítica.....	16
Tabela 3 - Condições operacionais recomendadas pelo equipamento para a determinação de Cr.....	24
Tabela 4 - Condições otimizadas para extração de Cr(III) por ponto nuvem.....	47
Tabela 5 - Figuras de mérito e fator de enriquecimento do método otimizado de pré-concentração de Cr(III) por ponto nuvem e detecção por F AAS.....	51
Tabela 6 - Resultados dos testes de exatidão da metodologia de determinação de Cr(III) empregando amostras fortificadas.....	52
Tabela 7 - Determinação de Cr em diversas matrizes.....	53

Listas de Figuras

Figura 1 - Representação esquemática da distribuição de cromo no meio ambiente.....	07
Figura 2 - Disposição esquemática das espécies de Cr(III) em função do pH do meio.....	08
Figura 3 - Abundância relativa das espécies de Cr(VI) de acordo com o pH do meio.....	09
Figura 4 - Representação da estrutura de uma molécula de surfactante.....	14
Figura 5 - Representação esquemática da formação das micelas.....	17
Figura 6 - Representação da formação e agregação das micelas.....	18
Figura 7 - Fluxograma do procedimento otimizado para extração em ponto nuvem de Cr(III).....	29
Figura 8 - Entendimento da formação e agregação das micelas na extração em ponto nuvem.....	30
Figura 9 - Efeito do pH de complexação na pré-concentração de Cr(III) e Cr(VI).....	40
Figura 10 - Efeito do volume de solução tampão na extração de Cr(III).....	41

Figura 11 - Efeito da concentração de PAN sobre o sinal analítico na extração de Cr(III).....	43
Figura 12 - Efeito da concentração de Triton X-114 sobre sinal analítico na extração de Cr(III).....	44
Figura 13 - Efeito da concentração de NaCl na extração de Cr(III).....	46
Figura 14 - Efeito da concentração de NaCl com/sem aquecimento (50°C – 20 min).....	47
Figura 15 - Curva de analítica com Cr(III) obtida com o procedimento de extração/pré-concentração por ponto nuvem.....	49
Figura 16 - Curva de analítica com Cr(III) obtida sem o procedimento de extração/pré-concentração por ponto nuvem.....	50

CAPÍTULO 1: INTRODUÇÃO

1. INTRODUÇÃO

O cromo é um elemento disponível na natureza, encontrado principalmente em minerais, rochas, plantas, solo, água, poeira e gases de vulcão. A análise de pequenas quantidades de cromo(III) e cromo(VI) tornou-se um tema importante nas ciências ambientais e biológicas (SHANKER *et al*, 2005; SARACOGLU *et al*, 2002). No ambiente, o cromo é encontrado em dois estados de oxidação mais estáveis do Cr(VI) e Cr(III), os quais possuem diferentes toxicidades e biodisponibilidade. Sabe-se que as propriedades toxicológicas e biológicas da maioria dos elementos dependem de suas formas químicas. Portanto, o conhecimento sobre a determinação de cromo é de particular necessidade (KIRAN *et al*, 2008).

Sua forma hexavalente, Cr(VI), é conhecida por sua toxicidade em plantas e animais, bem como, potencialmente, cancerígeno, enquanto que o Cr(III) é essencial para o metabolismo humano de glicose e colesterol, e menos tóxico quando comparado ao Cr(VI) (MYERS *et al*, 2000; ZHITKOVICH *et al*, 2002). A Organização Mundial de Saúde (do inglês, WHO – World Organization Health) considerou que o valor de referência de 0,05 mg L⁻¹ de Cr(VI) é demasiado elevado, em comparação com o seu elevado risco de câncer. Por conseguinte, o desenvolvimento de métodos sensíveis, assim como o método de extração seletiva de cromo no ambiente é absolutamente necessário (KIRAN *et al*, 2008).

Apesar da disponibilidade de métodos analíticos sensíveis, para determinação direta de baixos níveis de concentração de Cr, a extração e pré-concentração é uma opção, a fim de melhorar a sua detecção e de eliminar possíveis interferentes.

Em vista disto, a extração por ponto nuvem (CPE, do inglês: Cloud Point Extraction) tem sido empregada para separação e pré-concentração de metais em várias amostras em matrizes complexas. Dessa forma, a CPE é associada a métodos de espectrometria atômica na etapa de pré-concentração, para a extração e determinação de cromo (LIANG e SANG, 2008; LI *et al*, 2006; LIANG e LI, 2005).

A extração por ponto nuvem é um método que está de acordo com os princípios da "química verde", que tende ao desenvolvimento de processos que reduzam ou eliminem o uso ou geração de substâncias nocivas à saúde humana e ao meio ambiente (BEZERRA e FERREIRA, 2006; LERNARDÃO *e t al*, 2003). É um método de extração líquido-líquido e possui algumas vantagens como baixo custo, segurança operacional, necessidade de pequena quantidade de amostra e um alto fator de pré-concentração, que depende do comportamento do surfactante. Estes podem ser iônicos e não-iônicos, pois os mesmos apresentam separação de fases após um aumento da temperatura ou por adição de um agente "salting-out" (MIUAR e WATANABE, 1976).

A determinação quantitativa de cromo pode ser realizada diretamente utilizando-se a técnica de análise instrumental como a espectrometria de absorção com chama (F AAS) ou com atomização eletrotérmica (ET AAS), espectrometria de emissão ótica com fonte de plasma indutivamente acoplado (ICP OES) e espectrometria de massas com fonte de plasma indutivamente acoplado (ICP MS) (STANDARDS METHODS, 1998).

No entanto, devido à ocorrência de níveis de concentração de Cr variáveis nas amostras de águas, muitas técnicas espectroscópicas e eletroquímicas são empregadas. Recomenda-se a determinação por F AAS e ICP OES para concentrações maiores do que 0,1 mg L⁻¹, enquanto que os métodos por GF AAS e

ICP MS são recomendados para quantificação de teores abaixo de $0,1 \text{ mg L}^{-1}$ (STANDARDS METHODS, 1998).

A espectrometria de absorção atômica com chama (F AAS) tem sido uma das técnicas mais empregadas para quantificação de metais, por apresentar boa seletividade, alta frequência analítica, relativa simplicidade e baixo custo de operação em relação a outras técnicas espectroscópicas (GF AAS, ICP MS e ICP OES) (REZENDE *et al*, 2011). Entretanto, a concentração de Cr em amostras de águas apresenta-se em valores inferiores a $0,7 \text{ } \mu\text{g L}^{-1}$ (MATOS *et al*, 2009), e fazendo com que inclua-se na seqüência analítica etapas de separação e pré-concentração para que seja possível a determinação por F AAS ou ICP OES (BEZERRA e FERREIRA, 2006).

Considerando a suma importância de Cr(III) para manutenção de processos orgânicos nos seres humanos, averiguou-se a concentração de Cr(III) em amostras de água mineral com novo procedimento, obedecendo aos limites de concentração determinados pela organização mundial de saúde (OMS).

CAPÍTULO 2: FUNDAMENTAÇÃO TEÓRICA

2.1 Cromo

Algumas espécies metálicas podem apresentar efeitos extremamente tóxicos quando presentes em suas formas iônicas livres ou combinadas. Podem surgir a partir de fontes geogênicas ou antropogênicas, sendo essa última responsável pela contaminação de diversos meios ambientais, afetando consequentemente animais, peixes, plantas e o próprio homem (KABATA-PENDIA, 2001). Entre os metais amplamente utilizados para fins industriais, o cromo se destaca, pois encontra-se em alguns em efluentes aquosos ou sólidos nas formas iônicas como Cr(III) ou Cr(VI).

O cromo é um elemento bastante usado em atividades industriais como 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*, 1992). A Figura 1 apresenta a disposição das espécies de cromo no meio ambiente.

O cromo no estado de oxidação +3, disposto no organismo humano, está envolvido na manutenção dos níveis de glicose, colesterol e triglicerídeos, desempenhando, um papel essencial como nutriente aos organismos vivos.

Já a espécie de cromo no estado de oxidação +6 apresenta elevada toxicidade, estando relacionada a casos clínicos como irritação e ulceração nasal, reações de hipersensibilidade e dermatite por contato. Sua dose letal (DL) está entre 50 e 100 mg kg⁻¹, e quando comparado com o Cr(III), possui valor muito inferior, cujos valores situam-se para Cr(III) entre 1900 e 3300 mg kg⁻¹, em ambos os casos considerando ingestão oral em ratos. Ademais, o Cr(VI) é uma espécie carcinogênica, pois transpassa membranas celulares dos organismos vivos (EZODDIN *et al*, 2010).

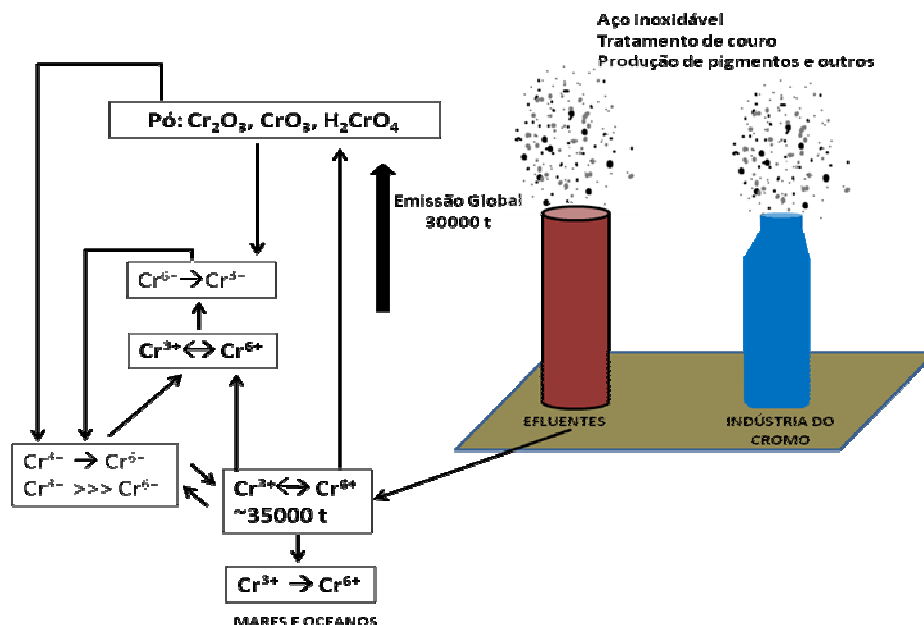


Figura 1: Esquema representativo da distribuição de cromo no meio ambiente (Golonka, 1995).

De acordo com o CONAMA perante a Lei nº 9.433, de 8 de janeiro de 1997, que instituiu a Política Nacional dos Recursos Hídricos, para águas da seção I e II, 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. Para Classe 3 - águas doces (águas destinadas ao abastecimento para consumo humano), a concentração total de Cr é de $0,05 \text{ mg L}^{-1}$ (RESOLUÇÃO CONAMA Nº 357, DE 17 DE MARÇO DE 2005). Segundo a OMS, o nível de concentração máximo aceitável de Cr total em água potável é de $0,05 \text{ mg L}^{-1}$.

As principais espécies de cromo trivalente em água são o Cr^{3+} , $\text{Cr}(\text{OH})^{2+}$, $\text{Cr}(\text{OH})_2^+$, $\text{Cr}(\text{OH})_4^-$ (Equações 1, 2 e 3). Assumindo que estas espécies encontram-se em equilíbrio com a espécie $\text{Cr}(\text{OH})_3(\text{s})$, a distribuição das mesmas é dependente do pH e conduzida pelas seguintes equações (MALTEZ, 2003):



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

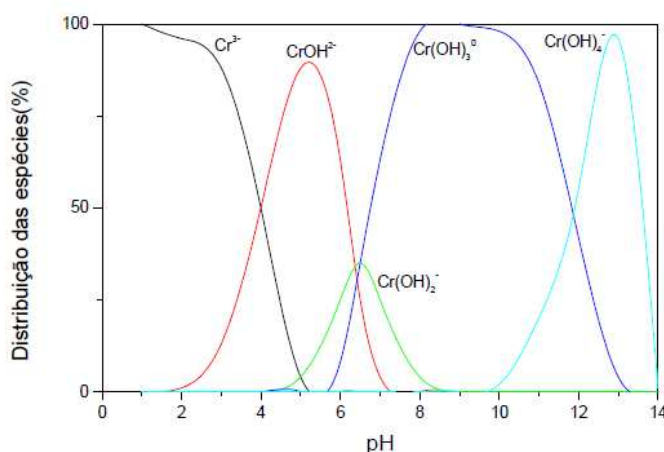


Figura 2: Disposição das espécies de Cr(III) em função do pH do meio. (Adaptado da referência MALTEZ, 2003)

A espécie hexavalente pode ser encontrada 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 observados de acordo com as reações abaixo (MALTEZ, 2003):



A Figura 3 mostra a abundância relativa de espécies de Cr (VI) em função do pH da solução.

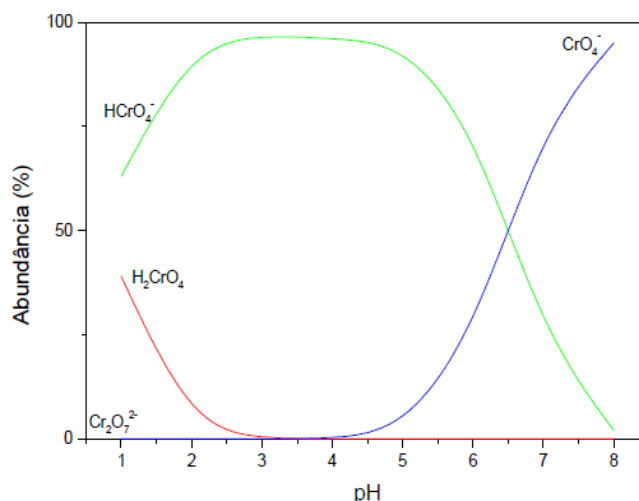


Figura 3: Abundância relativa das espécies de Cr (VI) de acordo com o pH do meio. (Adaptado da referência MALTEZ, 2003)

As equações de 1 à 8 demonstram a distribuição das espécies de cromo no meio equilíbrio regidas por suas constantes de equilíbrio.

Cr(VI) é amplamente usado em várias indústrias, tais como chapeamento, pintura, produção de pigmento e metalurgia, que possivelmente, contaminam o meio ambiente (KIRAN et al, 2008), e também é altamente tóxico frente a plantas e animais, assim como potencialmente carcinogênico o que ocasiona a problemas graves e riscos perigosos para a saúde humana (HASHEMI et al, 2012). Análise de traços de Cr(III) e Cr(VI) tornou-se um tópico importante em ciências ambientais e biológicas, onde as propriedades toxicológicas e biológicas da maioria dos elementos dependem das suas formas químicas.

Sendo o cromo muito utilizado na indústria e da diferença de toxicidade entre suas espécies, faz-se indispensável o desenvolvimento de métodos analíticos para a

quantificação de Cr(III) e Cr(VI). Normalmente 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 redução do seu estado de oxidação (SPERLING *et al*, 1992; LAZARIN *et al*, 2002).

Em vista disso, é essencial o desenvolvimento de métodos envolvendo a separação e pré-concentração dessas espécies, uma vez que estas vêm sendo largamente estudadas, empregando as mais diversas abordagens, dentre as quais, citam-se: extração empregando o fenômeno de ponto de nuvem (MATOS *et al*, 2009); pré-concentração de Cr empregando bioadsorvente (ALVES e COELHO, 2013); utilização de processos de co-precipitação (AYDIN e SOYLAK, 2010; ULUOZLU *et al*, 2010), pré-concentração em resinas (ELCI *et al*, 1997; RAJESH *et al*, 2008); procedimento catalítico por voltametria catódica baseada na determinação de Cr com adsorção de complexos de Cr(III)-DTPA (BENTO, 2004) e, em fase C-18 (PEREIRA *et al*, 2003).

A Espectrometria de Absorção Atômica com Chama (F AAS) é uma técnica analítica frequentemente utilizada já que alguns elementos metálicos podem ser determinados, a concentrações inferiores à 0,06 mg L⁻¹(HAYGARTH *et al*, 1993; BEZERRA e FERREIRA, 2006).

2.2 Cromo (III)

Cromo trivalente é uma forma estável e biologicamente ativa de Cr e é encontrado em vários tipos de alimentos, incluindo gema de ovo, grãos integrais, cereais, café, nozes, feijão verde, brócolis, carne, levedura de cerveja e bebidas

derivadas da uva. O cromo está também presente em muitos suplementos dietéticos e é responsável pelo bom funcionamento do metabolismo de carboidratos e lipídios (COZZOLINO, 2012).

O cromo é essencial para a saúde humana visto que desempenha um papel importante na tolerância à glicose, mantendo sua normalidade, pois sua deficiência implica no desequilíbrio dos níveis de insulina (MERTZ *et al*, 1969). O cromo também inibe a enzima-chave da síntese do colesterol LDL, melhorando o perfil lipídico de indivíduos com dislipidemias. A suplementação com cromo pode, em alguns casos relatados, melhorar o perfil lipídico e o quadro de diabetes tipo 2 em indivíduos que sofrem destes desequilíbrios metabólicos (GOMES *et al*, 2005).

A absorção de cromo e seu metabolismo dependem do estado de oxidação do mineral, de sua forma complexada ou não. Apenas 0,4 a 2,5% de Cr(III) inorgânico é absorvido, diferentemente de compostos orgânicos derivados do cromo, como nicotinato e picolinato (STANIEK, 2010), os quais são bem absorvidos pelo corpo humano.

A necessidade de cromo na nutrição humana foi documentada primeiramente em 1977 (JEEJEEBHOY *et al*, 1977), quando um paciente que recebia nutrição parenteral total desenvolveu sintomas parecidos ao diabetes resistente à insulina. Anteriormente ao início da suplementação com cromo, a paciente apresentava perda de peso e resistência à insulina. Após a adição de soluções de cromo à solução parenteral, os sintomas de diabetes foram aliviados.

As soluções parenterais são medicamentos destinados às reposições de perdas hídricas, eletrolíticas ou energéticas e utilizados como condutores na

administração de medicamentos auxiliares (PERGORARO, 2010). Estas soluções são empregadas em terapia de manutenção nos períodos pré e pós-cirúrgicos, para pacientes inconscientes ou impossibilitados de absorver líquidos, eletrólitos e nutrientes por via oral e também podem ser utilizadas na terapia de reposição em pacientes que sofrem grande perda de líquidos e eletrólitos (BASSI, 2012).

Muitos estudos demonstraram efeitos positivos da ingestão de cromo alterando os níveis de glicose, insulina e lipídios, tanto em humanos quanto animais (MERTZ, 1993), porém esta implementação é questionável quanto aos seus benefícios (MANORE, 2012). Na Tabela 1 são mostradas as recomendações diárias de ingestão de cromo (III), e suas respectivas faixas etárias.

Tabela 1: Recomendações de ingestão diária de Cr(III) ($\mu\text{g}/\text{dia}$). (Adaptada da referência COZZOLINO, 2012).

Idade	Homens ($\mu\text{g}/\text{dia}$)	Crianças ($\mu\text{g}/\text{dia}$)	Mulheres ($\mu\text{g}/\text{dia}$)
Recém-nascidos			
0 - 6 meses	-	0,2	-
7 - 12 meses	-	5,5	-
Crianças			
1 - 3 anos	-	11	-
4 - 8 anos	-	15	-
9 - 13 anos	25		21
14 - 18 anos	35		24
Adultos			
19 - 30 anos	35	-	25
21 - 50 anos	35	-	25
51 - 70 anos	30	-	20
> 71 anos	30	-	20
Gravidez			
≤ 18 anos	-	-	29
19 - 50 anos	-	-	30
Lactação			
≤ 18 anos	-	-	44
19 - 50	-	-	45

Ultimamente, suplementos de cromo são procurados como inibidores de apetite e por praticantes de atividade física como elemento ergogênico (COZZOLINO, 2012), pois durante o exercício físico o Cr(III) aumenta a captação da

glicose pela célula muscular, e com o aumento da concentração de glicose no sangue secreção de insulina é estimulada, que conseqüentemente, aumenta a concentração de cromo sanguíneo (GOMES *et al*, 2005).

A suplementação de cromo (III) para atletas advém da concepção deste micronutriente favorecer a via anabólica por meio do aumento da sensibilidade à insulina, que, por sua vez, estimula a captação de aminoácidos, aumentando o índice de massa muscular e o rendimento em treinos físicos (GOMES *et al*, 2005).

Uma contra-indicação da ingestão de altas doses de cromo (III) refere-se a uma possível interação entre Cr(III) e Fe(II) (CAMPBELL *et al*, 1997) na ligação com a transferrina (glicoproteína responsável pelo transporte do íon ferro no plasma sanguíneo), pois observou-se que indivíduos com hemocromatose tinham distribuição de cromo alterada, sugerindo que o Cr(III) compete com o Fe(II), ocorrendo uma saturação dessa proteína, comprometendo o transporte de cromo, diminuindo a retenção de Cr(III) em pacientes com hemocromatose.

2.3 Extração em Ponto Nuvem

Extração por Ponto Nuvem, CPE, é uma proposta para a substituição de solventes tóxicos para separação e pré-concentração utilizando agentes surfactantes, também conhecidos como tensoativos ou detergentes (SILVA *et al*, 2010). A extração por ponto nuvem baseia-se também na propriedade que alguns surfactantes possuem de formar micelas, em soluções aquosas ou orgânicas, a partir de uma determinada concentração, a CMC, e uma determinada temperatura (BEZERRA *et al*, 2005). A CPE surgiu como uma alternativa à extração líquido-líquido convencional, por apresentar altos fatores de pré-concentração, requerer quantidades menores de amostras, ser um procedimento relativamente simples quando comparado à extração convencional, utilizar reagentes com menor toxicidade eliminando o uso de grandes quantidades de solventes orgânicos e por tornar o procedimento mais seguro e econômico (ARANDA *et al*, 2008)

Os surfactantes ou tensoativos são moléculas orgânicas que possuem em sua cadeia carbônica uma extremidade polar (hidrofílica) e uma parte não polar (hidrofóbica), constituída por uma longa cadeia alquílica, normalmente com 8 a 18 átomos de carbonos de acordo com a Figura 4, e são classificados em relação à natureza do grupo hidrofílico, como aniônicos, catiônicos, não iônicos e anfóteros.

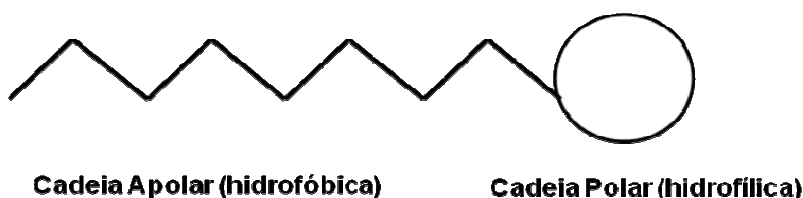


Figura 4: Representação da estrutura de uma molécula de surfactante

Surfactantes são importantes em química analítica, pois possuem a capacidade de modificar algumas propriedades reacionais, com conseqüente melhoria em sensibilidade e/ou seletividade, pela formação de ambientes organizados, também conhecidos como ambientes micelares. Na Tabela 1 são indicados alguns dos principais agentes tensoativos empregados visando melhoria do desempenho de métodos analíticos.

A presença de grupos hidrofílicos e hidrofóbicos nos surfactantes proporciona a capacidade de dissolução tanto em água como em outros solventes. Além disso, possuem capacidade de se associarem para formação de agregados, como micelas, vesículas, microemulsões, monocamadas e bicamadas (MANIASSO, 2001). A formação desses agregados depende da natureza e geometria do surfactante e da estrutura do solvente. A termodinâmica da formação desses agregados é orientada por forças eletrostáticas entre as moléculas, forças de solvatação, forças hidrofóbicas e tensão superficial, que depende também da geometria da molécula e da estrutura do solvente (OPATOWSKI et al, 1997).

Tabela 2: Exemplos de alguns surfactantes de uso comum em Química Analítica (adaptada da referência MANIASSO, 2001).

CLASSIFICAÇÃO	EXEMPLOS DE SURFACTANTES
Aniônicos	Dodecil sulfato de sódio (SDS)
	Bis(2-etilhexil) sulfosuccinato de sódio (aerosol OT)
	Fosfato de dihexadecil(DHF)
Catiônicos	Brometo de cetiltrimetil amônio (CTAB)
	Brometo de dodeciltrimetil amônio (DTAB)
	Cloreto de cetilpiridínio
Não aniônicos	Polioxietileno (9 - 10) p-tercotil fenol (Triton X-100)
	Polioxietileno (23) dodecacol (Brij 35)
	Octilfenoxipoliétoxietanol (Triton X-114)
Anfóteros	3-(dodecildimetil amônio) propano 1-sulfato (SB-12)
	4-(dodecildimetil amônio) butirato (DAB)

As micelas são formadas quando moléculas anfipáticas se associam a partir de uma determinada concentração, conhecida com concentração micelar crítica, CMC. A CMC refere-se como uma concentração única, pois é uma faixa estreita de concentrações acima da qual algumas propriedades da solução são alteradas (HINZE e PRAMAURO, 1993). Abaixo da CMC, o surfactante apresenta-se na forma de monômeros. Quando a concentração está elevada, próxima à CMC, há um equilíbrio dinâmico entre os monômeros e as micelas, como observado na Figura 5.

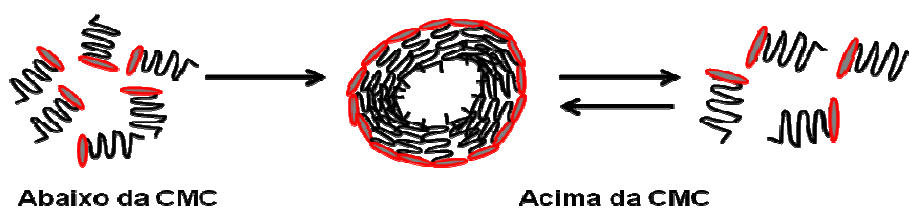


Figura 5: Representação esquemática da formação das micelas

A separação por formação de micelas é uma das aplicações mais importantes de surfactantes, podendo também ser explorada para pré-concentração de espécies químicas de interesse. Soluções aquosas de surfactantes não iônicos, em uma determinada concentração, quando submetidas ao aquecimento, tornam-se turvas em uma estreita faixa de temperatura, conhecida como ponto nuvem. Acima do ponto nuvem, o sistema separa-se em duas fases isotrópicas, sendo uma constituída pela solução do surfactante em concentração próxima à CMC e a outra pela fase rica em surfactante. Espécies hidrofóbicas presentes em solução podem ser extraídas e concentradas na fase rica em surfactante (FRANKEWICH e HINZE, 1994).

As micelas têm sido amplamente empregadas, pois são capazes de dissolver e solubilizar espécies químicas, que podem estar presentes em diferentes polaridades e tamanhos. Essa solubilização depende do surfactante empregado e da espécie de interesse, que ocorre por interações eletrostáticas e/ou hidrofóbicas. Em razão desta propriedade, as micelas têm sido aplicadas para o desenvolvimento de métodos de extração e pré-concentração de espécies orgânicas e inorgânicas para extração e pré-concentração por ponto nuvem.

A separação no ponto nuvem ocorre quando soluções aquosas de muitas micelas de surfactantes não-iônicos tornam-se turvas quando aquecidas a uma determinada temperatura. Acima desta temperatura, a solução é separada em duas fases distintas: uma fase de pequeno volume, denominada fase rica em surfactante, com alta concentração de surfactante, e a outra fase, a fase aquosa, denominada fase pobre em surfactante, contendo a concentração do surfactante próxima à CMC, como observado na Figura 6. A temperatura na qual ocorre a separação de fases depende da estrutura e da concentração do surfactante, podendo ser alterada por variações de pressão e pela presença de eletrólitos (COELHO e ARRUDA, 2005).

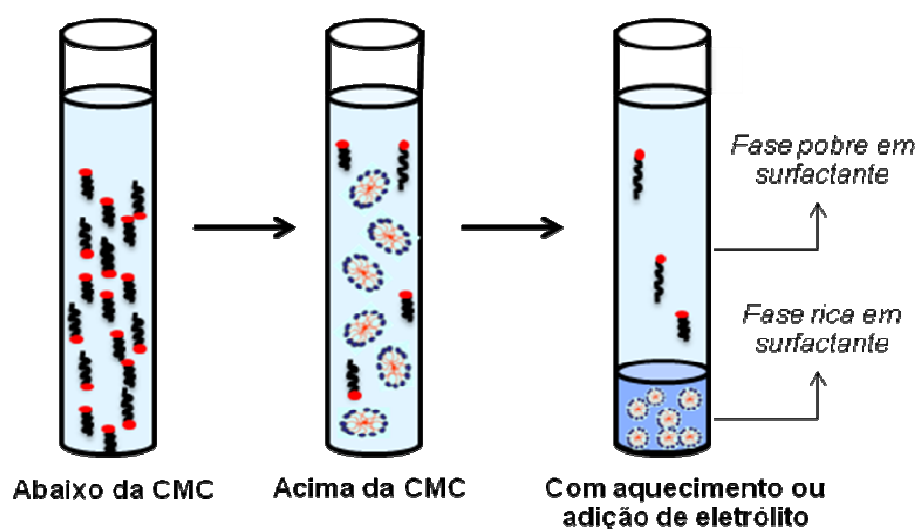


Figura 6: Representação da formação e agregação das micelas.

Esse fenômeno é observado normalmente em surfactantes que possuem grupos polioxietilenos, e pode ser atribuído aos segmentos óxido etil da micela que se repelem a baixas temperaturas quando estão hidratados, e se atraem a altas temperaturas devido à desidratação das micelas (OJEDA, 2009).

Em 1978, foi realizada a primeira aplicação da extração por ponto nuvem. Foi feita uma pré-concentração para Zn(II) usando PAN como complexante e PONPE

7,5 (pilo-oxietilenononil- fenil-éter) como surfactante (WATANABE e TANAKA, 1978). Desde então, a metodologia de extração e pré-concentração por ponto nuvem tem sido utilizada para diversas aplicações, por ser versátil e compatível com diversos sistemas de detecção. Com isso, o emprego do ponto nuvem tem sido utilizado para desenvolvimento de métodos para separação e pré-concentração ou purificação de diversas espécies químicas. Uma das principais aplicações da CPE tem sido para extração e pré-concentração de íons metálicos, uma vez que possibilita uma melhoria da sensibilidade, pois altos fatores de pré-concentração são obtidos, permitindo a determinação destes, em níveis de concentrações muito baixas.

No presente trabalho, empregou-se o surfactante não iônico Octilfenoxipolietoxietanol, também conhecido como Triton X-114 possuindo CMC em aproximadamente $0,35 \text{ mmol L}^{-1}$, à temperatura de ponto nuvem em 23°C . O Triton X-114 possui baixa temperatura de ponto nuvem quando comparado ao surfactante Polioxietileno (9 - 10) p-tercetil fenol (Triton X-100), também muito empregado em química analítica, onde o mesmo possui CMC em aproximadamente $0,2 \text{ mmol L}^{-1}$, à temperatura de ponto nuvem em 65°C (G-BIOSCIENCES, 2013).

CAPÍTULO 3: OBJETIVOS

3. OBJETIVOS

3.1 Objetivo Geral

Nesta pesquisa, tem-se como objetivo desenvolver uma metodologia simples de separação e pré-concentração de Cr(III) e Cr(VI) em amostras de água, empregando procedimentos por Ponto Nuvem com quantificação por Espectrometria de Absorção Atômica por Chama (F AAS).

3.2 Objetivos específicos

- ✓ Desenvolver um método para extração seletiva e pré-concentração de Cr(III) por ponto nuvem, utilizando 1-(2-piridilazo)2-naftol (PAN) para formação do complexo hidrofóbico de Cr(III), faixa de pH, Octilfenoxipolietoxietanol (Triton X-114) como agente surfactante, e o eletrólito NaCl, para induzir a formação do ponto nuvem sem a necessidade de prévio aquecimento, promovendo a separação das fases;
- ✓ Otimizar as variáveis para extração de Cr (III) e Cr(VI);
- ✓ Estudos de agentes redutores frente ao Cr(VI);
- ✓ Estudos de agentes complexantes para Cr(VI);
- ✓ Obtenção das figuras de mérito;
- ✓ Validação do método proposto;
- ✓ Aplicar o método desenvolvido para determinação de Cr(III) e Cr (VI) em amostras aquosas.

CAPÍTULO 4: PROCEDIMIENTO EXPERIMENTAL

4. PROCEDIMENTO EXPERIMENTAL

4.1 Equipamentos e Acessórios

Todos os experimentos realizados para otimização e emprego da metodologia de extração e pré-concentração de Cr(III) por ponto nuvem, foram realizados em um Espectrômetro de Absorção Atômica com Chama Modelo SpectrAA-220 (Varian®, Victoria, Austrália), equipado com lâmpada de deutério para correção do sinal de fundo. Como fonte de radiação utilizou-se lâmpada de cátodo oco de Cr. O Espectrômetro de Absorção Atômica foi acoplado a um microcomputador equipado com o software “Spectra AA Worksheet AA Software Version 5.2”, para visualização das absorvâncias. Os parâmetros instrumentais utilizados para determinação de Cr(III) estão apresentados na Tabela 3.

As vazões do gás acetileno e do ar, bem como a altura do queimador, foram ajustadas para obter um máximo de sinal de absorvância.

Tabela 3: Condições operacionais recomendadas pelo equipamento para a determinação de Cr.

Parâmetros	Cr
Comprimento de onda (nm)	357,9
Resolução espectral (nm)	0,1
Vazão de ar (mL min ⁻¹)	13,5
Vazão de acetileno (mL min ⁻¹)	2,9
Altura do queimador (mm)	13,5
Corrente da lâmpada (mA)	7
Abertura da fenda (nm)	0,2
Fluxo de aspiração (mL min ⁻¹)	6

Utilizou-se um banho ultratermostático Marconi modelo - MA 184, para aquecimento das soluções; uma centrífuga Kindly modelo KC5, para melhorar o processo de separação das fases. Os valores de pH foram medidos empregando um pHmetro Hanna, modelo pH-21.

Utilizou-se uma balança analítica OHAUS modelo AS200, micropipetas LABMATE Soft, balões volumétricos, pipetas e outras vidrarias rotineiramente empregadas em laboratórios de química analítica.

4.2 Reagentes e Soluções

Todas as soluções foram preparadas utilizando-se água desionizada (18,2 MΩcm) obtida do sistema de purificação Milli-Q (Millipore, Bedford, EUA) e reagentes de pureza analítica.

Todo o material, frascos plásticos e vidrarias foram descontaminados por meio de imersão em solução de ácido nítrico 10% (v/v) por 24h e posteriormente, lavado sucessivas vezes com água desionizada e, seco a temperatura ambiente.

As soluções tampão designadas a faixa de pH 2,0 - 8,0 foram preparadas com a mistura de ácido cítrico (Proquimios) e Na_2HPO_4 (Synth), com concentrações 0,1 mol L⁻¹ e 0,2 mol L⁻¹, respectivamente. As soluções tampão foram preparados em balões volumétricos com volumes distintos de cada solução (ácido cítrico/ Na_2HPO_4) para alcançar a faixa de pH desejada.

A faixa de pH 9,0 - 12,0 refere-se ao tampão borato de sódio (Synth). Especificamente a solução de pH 11 foi preparada em um balão volumétrico de 100 mL, a partir de 50 mL de uma solução de borato de sódio a 0,025 mol L⁻¹, acrescida de 24,25 mL de uma solução de hidróxido de sódio (Synth) a 0,1 mol L⁻¹. Todas as soluções tampão foram ajustadas em pHmetro, completando o volume com água desionizada. (PERRIN e DEMPSEY, 1974).

A solução do complexante PAN (Vetec) 2 mmol L⁻¹ foi preparada a cada análise, seguindo as etapas: pesou-se 0,0125 g de PAN diretamente em um tubo de centrífuga de 50 mL, adicionou-se 5 mL de álcool etílico absoluto (Vetec), seguido do acréscimo de Triton X-114 0,25% (m/v), e completou-se o volume com água desionizada.

Para diluição da fase rica em surfactante (micelas) foi empregada uma solução de etanol 5,4% (v/v) aferida em um balão volumétrico de 100 mL com ácido nítrico (Merck) 0,1 mol L⁻¹.

4.3 Soluções estoque

Soluções padrões de Cr(III) e Cr(VI) foram preparadas por sucessivas diluições em HCl 0,1 mol L⁻¹ de uma solução estoque de 1000 mg L⁻¹ de cada espécie química. Estas soluções estoque foram preparadas por pesagem e dissolução de quantidades apropriadas dos sais, devidamente secos, de cada metal, em HCl 0,1 mol L⁻¹: K₂Cr₂O₇ (Vetec) para Cr(VI) e CrCl₃6H₂O (Sigma-Aldrich) para Cr(III).

A solução eletrolítica de NaCl 20% (m/v), foi preparada a partir do seu respectivo sal, dissolvendo-se 20 g em 100 mL de água desionizada, realizando sucessivas diluições nas concentrações desejadas.

O surfactante Triton X-114 5% (m/v) encontra-se na forma líquida, porém é um reagente que apresenta alta viscosidade, o que impede o seu preparo por meio da medida de volumes. Em decorrência disto, pesou-se 5 g deste reagente, fazendo-se a diluição com água desionizada em balão volumétrico de 100 mL. As soluções de trabalho de Triton X-114 (0,05 - 0,15 % m/v) foram preparadas por diluições apropriadas da solução estoque.

CAPÍTULO 5: METODOLOGIA ANALÍTICA

5. Metodologia Analítica

5.1 Extração por ponto nuvem

As variáveis que influenciam na pré-concentração de Cr(III) pelo ponto nuvem e que foram otimizadas nesta pesquisa são citadas abaixo:

- I. Faixa de pH para complexação ;
- II. Relação de volume de solução tampão;
- III. Concentração do complexante PAN;
- IV. Concentração do surfactante Triton X-114;
- V. Concentração do eletrólito NaCl;
- VI. Efeito da concentração do eletrólito NaCl com e sem aquecimento.

Os experimentos de extração por ponto nuvem foram realizados em tubos de centrífuga de 15 mL, onde o volume final após adição de todos os reagentes foi de 10 mL. O fluxograma do procedimento empregado para extração em ponto nuvem é apresentado na Figura 7. O procedimento é dividido em três etapas (GARCIA *et al*, 2012).

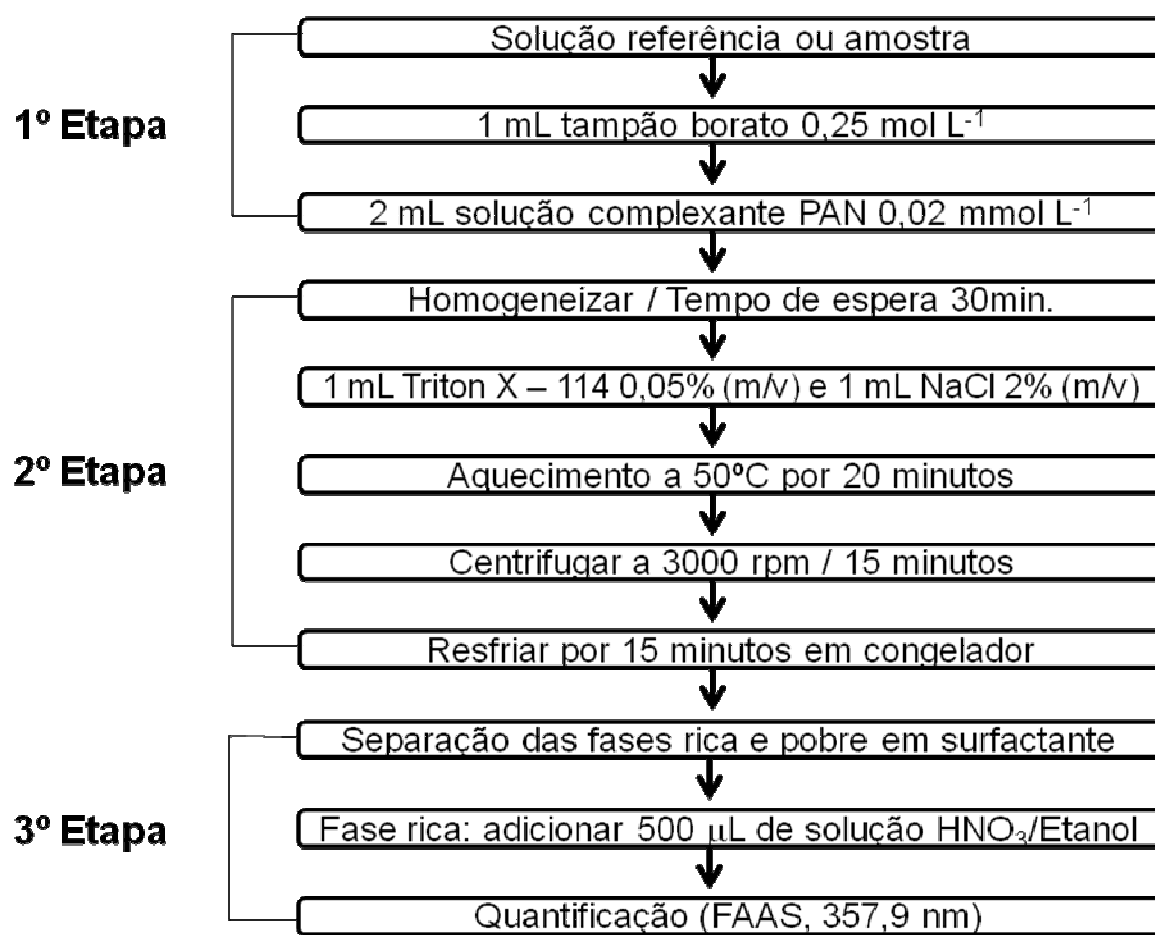


Figura 7: Fluxograma do procedimento otimizado para extração em ponto nuvem de Cr(III).

Na primeira etapa ocorre homogeneização da amostra e/ou solução padrão de Cr(III) com a solução tampão para ajuste do pH, seguida da adição da solução do complexante. Na segunda etapa, os tubos foram agitados e após o tempo de complexação, 30 minutos, foram adicionadas soluções do surfactante e da solução do eletrólito. Fez-se nova agitação, e os tubos foram submetidos a um banho termostatzado a 50°C por 20 minutos (SUN; WU, 2012) e posteriormente centrifugados por 15 minutos a 3000 rpm (rotações por minuto), para ocorrer a separação das fases. Em seguida, os tubos foram levados a um congelador por 15 minutos, pois com diminuição da temperatura, a fase rica em surfactante torna-se viscosa como um gel. A terceira etapa consiste na separação da fase rica em

surfactante da fase aquosa (fase pobre em surfactante), onde a mesma foi realizada pela inversão dos tubos (REZENDE *et al*, 2011). Nesta etapa, observa-se um volume muito pequeno da fase rica e altamente viscoso, onde faz-se necessário adicionar 500 μL de solução etanol/ácido nítrico, para diminuir a viscosidade, manter a elevada capacidade de pré-concentração do método e possibilitar a leitura (PAPEOLOGOS *et al*, 2001).

O procedimento de extração de Cr em ponto nuvem mostrado na Figura 8 foi otimizado pelo método univariado, utilizando medidas por Espectrometria de Absorção Atômica, F AAS, por meio de aspiração convencional. Os parâmetros experimentais utilizados no procedimento proposto para determinação de Cr foram recomendados pelo fabricante e estão apresentadas na Tabela 3.

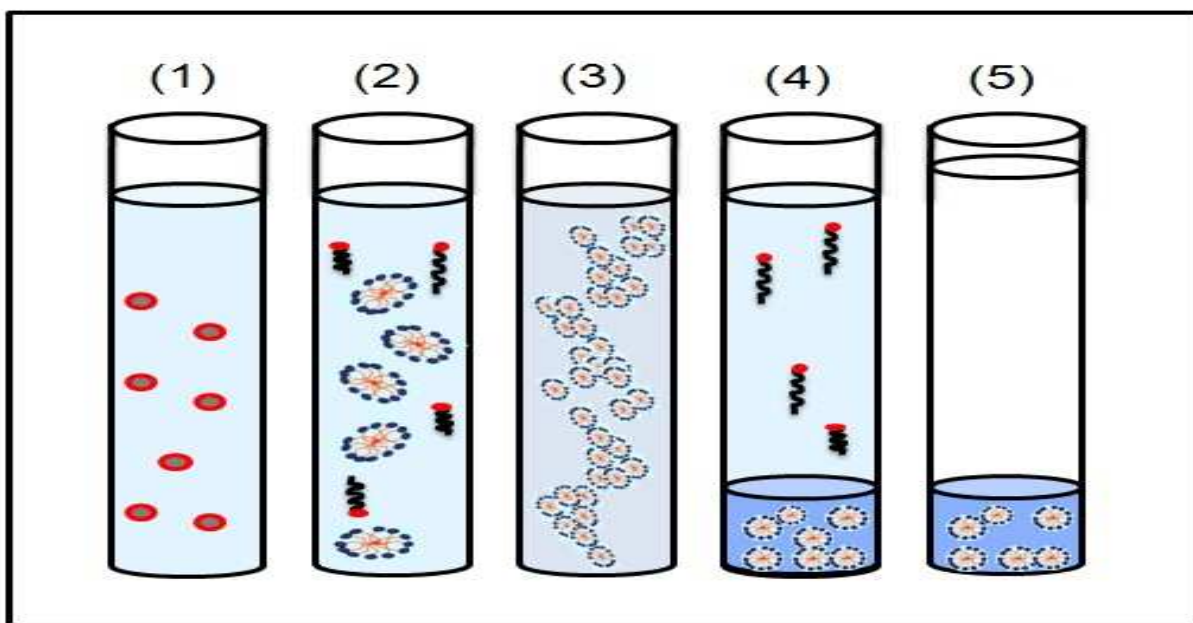


Figura 8: Entendimento da formação e agregação das micelas na extração em ponto nuvem. (1) Solução original contendo íons Cr(III) complexados ao PAN; (2) Adição do surfactante para formação do meio micelar e agregação do analito ao núcleo hidrofóbico; (3) Formação do ponto nuvem após o aquecimento e/ou adição do eletrólito (turvação); (4) Disposição das micelas após centrifugação; (5) Remoção da fase aquosa. (Adaptado da referência BEZERRA e FERREIRA, 2006)

5.2 Faixa de pH e volume de solução tampão

Para a avaliação da influência do pH, estudou-se a faixa de pH 2,0 - 12,0; citado no item 3.2, empregando-se soluções contendo Cr(III) ou Cr(VI) $50 \mu\text{g L}^{-1}$, 500 μL de solução tampão, PAN $0,15 \text{ mmol L}^{-1}$, Triton X-114 0,04% (m/v); NaCl 2,5% (m/v), submetidos a banho termostatizado a 50°C mantidos por 20 minutos. De posse do melhor pH para formação do complexo, foi avaliado o volume de solução tampão na faixa de 0,1 – 2,0 mL.

5.3 Concentração do complexante PAN

Foram mantidas as mesmas condições experimentais descritas no item 3.2, exceto pela concentração de Cr(III) $100 \mu\text{g L}^{-1}$, e estudo da faixa de concentração de PAN 0,001 – $0,3 \text{ mmol L}^{-1}$.

5.4 Concentração do surfactante Triton X-114

Para definir a concentração de Triton X-114, após o procedimento de complexação do analito com PAN, estudou-se concentrações do surfactante variando de 0,005 - 0,2 % (m/v), seguindo os parâmetros de Cr(III) $100 \mu\text{g L}^{-1}$, 500 μL de solução tampão pH 11, PAN $0,15 \text{ mmol L}^{-1}$, NaCl 2,5% (m/v) e submetidos a banho termostatizado a 50°C mantidos por 20 minutos.

5.5 Concentração do eletrólito NaCl

No experimento realizado para estudo da concentração de NaCl na extração de Cr(III) por ponto nuvem, foram analisadas as concentrações de 0 - 5% (m/v) de

NaCl, seguindo os parâmetros já descritos: Cr(III) 100 $\mu\text{g L}^{-1}$; 1 mL de solução tampão pH 11; PAN 0,2 mmol L^{-1} ; 0,05% (m/v) Triton X-114 e mantidos em banho termostatizados a 50°C por 20 minutos.

Foi escolhida uma faixa de concentração de NaCl 0,5 – 2,5% (m/v), para avaliar a necessidade da etapa de aquecimento.

5.6 Fator de Enriquecimento

O fator de enriquecimento foi obtido pela razão dos coeficientes angulares das curvas analíticas obtidas com e sem o sistema de extração/pré-concentração por ponto nuvem, com o propósito de avaliar a eficiência da pré-concentração, sendo essa última obtida pela análise direta da solução de Cr(III) no F AAS sem etapa de extração / pré-concentração (IUPAC, 1979).

5.7 Figuras de Mérito

No desenvolvimento de um método analítico é essencial para a aplicação desta, a definição de alguns critérios que garantam a aquisição de dados confiáveis que garantam a aplicabilidade do método, bem como do tratamento analítico adequado, da avaliação estatística dos resultados e da definição dos critérios de aceitação. Logo, a validação analítica de um método é um procedimento pelo qual é estabelecido, por meio de experimentos laboratoriais, que as características do método satisfazem os atributos de qualidade necessários para as aplicações analíticas, tendo como objetivo demonstrar que o método é apropriado para a finalidade pretendida (ANVISA, 1998; VALENTINI *et al*, 2007).

A validação deve assegurar, por meio de estudos experimentais, que o método atenda às exigências das aplicações analíticas, assegurando a confiabilidade dos resultados.

Estabelecendo as melhores condições para as variáveis que interferem na extração e pré-concentração de Cr(III) por ponto nuvem, foram definidos alguns parâmetros com o intuito de avaliar o desempenho analítico do método proposto, como: Linearidade, limites de detecção e quantificação, precisão, exatidão e recuperação.

5.7.1 Linearidade

A linearidade é a capacidade que um método analítico possui de produzir resultados obtidos que são diretamente proporcionais à concentração do analito na amostra, dentro de uma faixa específica, tendo a necessidade da análise de soluções de diferentes concentrações, abrangendo a faixa de concentração de trabalho, sendo necessários padrões de medida de pelo menos cinco níveis diferentes de concentração. A construção de uma curva analítica consiste na combinação de respostas obtidas por uma técnica para diversas quantidades ou concentrações de um analito.

Obtendo uma relação linear, os resultados da análise devem ser avaliados de acordo com métodos estatísticos adequados para determinação do coeficiente de correlação, interseção com o eixo y, coeficiente angular, métodos dos mínimos quadrados e desvio padrão relativo. O critério mínimo aceitável para o coeficiente de correlação, R, deve ser de 0,99 (ANVISA, 1998).

5.7.2 Limite de detecção

Na execução de medidas analíticas em amostras com baixos níveis de concentração ou análise de traços, é de suma importância saber qual o menor valor de concentração do analito ou da propriedade que pode ser detectada pelo método (INMETRO, 2010). O limite de detecção (LD) é definido como a menor quantidade do analito presente em uma amostra que pode ser detectado, porém não necessariamente quantificado, sob as condições experimentais estabelecidas (ANVISA, 1998).

Para a validação de um método analítico, é normalmente suficiente fornecer uma indicação do nível em que a detecção do analito pode ser distinguida do sinal do branco/ruído.

O LD é calculado pela equação:

$$LD = \frac{DPa \times 3}{IC} \quad (\text{Equação 9})$$

Sendo:

DPa = Desvio padrão a partir de 10 medidas do primeiro ponto da curva

IC = Inclinação da curva analítica

5.7.3 Limite de quantificação

O limite de quantificação (LQ) é a menor quantidade do analito em uma amostra que pode ser determinada com precisão e exatidão aceitáveis sob as condições experimentais estabelecidas, correspondendo normalmente a solução padrão de menor concentração, excluindo o branco (ANVISA, 1998; INMETRO, 2010).

O LQ é calculado pela equação:

$$LQ = \frac{DPa \times 10}{IC} \quad (\text{Equação 10})$$

Sendo:

DPa = Desvio padrão a partir de 10 medidas do primeiro ponto da curva

IC = Inclinação da curva analítica

5.7.4 Precisão

A precisão representa o grau de repetibilidade entre os resultados de análises individuais, quando o procedimento é aplicado diversas vezes numa mesma amostra homogênea, em idênticas condições de ensaio (ANVISA, 1998).

A precisão pode ser expressa pelo desvio padrão relativa (DPR), também conhecida como coeficiente de variância (CV), não se admitindo valores superiores a 15% e é calculado da seguinte forma:

$$CV \% = DPR = \frac{DP}{CMD} \times 100 \quad (\text{Equação 11})$$

Sendo:

DP = Desvio padrão de uma série de replicatas de medidas da mesma amostra

CMD = Concentração média determinada

No presente trabalho, a precisão foi representada na forma de desvio padrão relativo (DPR, %), sendo realizados 10 ensaios sucessivos de uma solução de Cr (III) 30 µg L⁻¹ após o procedimento de extração/pré-concentração por ponto nuvem.

5.7.5 Exatidão

A exatidão do método desenvolvido para concentração de Cr(III) foi determinada em amostras de água mineral comercial.

A exatidão do método proposto foi verificada a partir da análise de amostras de água mineral fortificadas com solução padrão de Cr(III) nas concentrações de 10; 50 e 100 $\mu\text{g L}^{-1}$, após adição e recuperação. Foram empregados os parâmetros otimizados do método desenvolvido, e a faixa da curva analítica empregada foi de 2,5 – 200 $\mu\text{g L}^{-1}$. Os resultados de recuperação encontram-se na Tabela 6.

5.7.6 Recuperação

A recuperação do analito pode ser estimada pela análise de amostras fortificadas com quantidades conhecidas do mesmo e submetidas à análise (INMETRO, 2010). As amostras podem ser fortificadas com o analito em pelo menos três diferentes concentrações: baixa, média e alta, da faixa linear do método. A recuperação é calculada pela equação:

$$\text{Recuperação (\%)} = \left[\frac{C_1 - C_2}{C_3} \right] \times 100 \quad (\text{Equação 12})$$

Sendo:

C_1 = Concentração do analito na amostra fortificada;
 C_2 = Concentração do analito na amostra não fortificada
 C_3 = Concentração do analito adicionada à amostra fortificada

Para a maioria dos métodos analíticos, os valores determinados nos ensaios de recuperação devem abranger a faixa de 80 – 120% (EPA, 1992).

5.7.7 Amostras

As amostras de água mineral foram adquiridas no comércio da cidade de Uberlândia – MG.

Foram escolhidas quatro amostras de água mineral, sendo elas: Amostras 1, 3 e 4 oriundas de garrafa PET transparentes com rótulos colados ao redor da garrafa, com volume de 500 mL; e amostra 2 oriunda de copo PET transparente com rótulo impresso no recipiente, com volume de 310 mL.

Para as análises, as quatro amostras foram fortificadas com concentrações de Cr(III) na faixa de 10 – 100 $\mu\text{g L}^{-1}$ determinando-se suas recuperações.

CAPÍTULO 6: RESULTADOS E DISCUSSÕES

6. RESULTADOS E DISCUSSÕES

6.1 Efeito do pH na complexação do Cr(III) e Volume de solução tampão

O pH da solução é um fator importante na extração em ponto nuvem de alguns analitos, possuindo assim caráter ácido ou caráter básico, como é o caso do Cr(III) e Cr(VI), frente a alguns agentes complexantes. O metal na forma iônica não possui a capacidade de se ligar ao surfactante, sendo que as interações que ocorrem entre o analito e a micela são hidrofóbicas. Para que ocorra a formação do complexo de interesse, o pH é um fator decisivo na complexação (BEZERRA E FERREIRA, 2006).

Para realização deste estudo foi utilizada solução tampão borato $0,025 \text{ mol L}^{-1}$ e NaOH $0,1 \text{ mol L}^{-1}$, e foram mantidos os parâmetros Cr(III) ou Cr(VI) $50 \mu\text{g L}^{-1}$, $500 \mu\text{L}$ de solução tampão, PAN $0,15 \text{ mmol L}^{-1}$, Triton X-114 0,04% (m/v) e NaCl 2,5% (m/v), submetidos a banho termostatizado a 50°C mantidos por 20 minutos.

Um valor de pH maior aumenta a desprotonação do PAN, aumentando assim, sua capacidade de complexação. Os resultados obtidos no estudo de pH de complexação são mostrados na Figura 9.

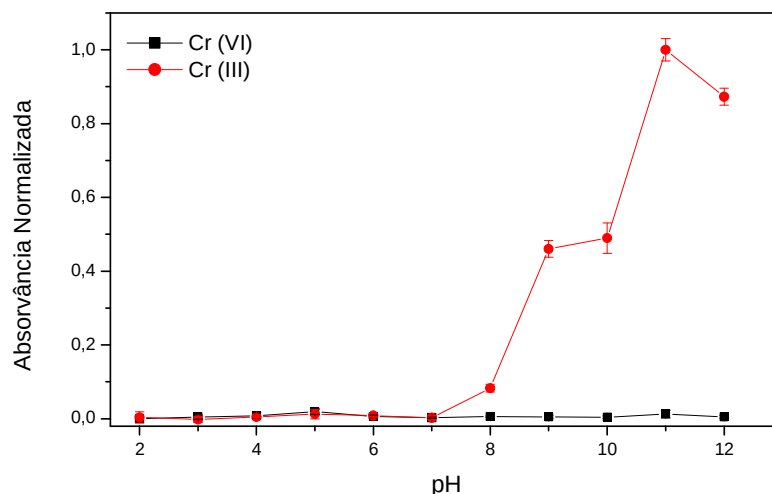


Figura 9: Efeito do pH de complexação na pré-concentração de Cr(III) e Cr(VI) $50 \mu\text{g L}^{-1}$ empregando ponto nuvem.; 500 μL de solução tampão; PAN $0,15 \text{ mmol L}^{-1}$; 0,04% (m/v) Triton X-114; NaCl 2,5% (m/v); 50°C / 20 min.

A partir do valor pH 8, observa-se um aumento no sinal analítico, atingindo máximo valor de absorvância em pH 11 para Cr(III). A dependência de valores altos de pH para a complexação de Cr(III) está relacionada com a presença de aquacomplexos cineticamente inertes $\text{Cr}(\text{H}_2\text{O})_3^{+3}$. Esta forma é transformada para uma forma mais lábil quando a água coordenada é trocada por OH^- mais reativos. Com o aumento do pH, a solução adquire valores mais básicos, desta forma as moléculas de água que circundam a estrutura são substituídas por OH^- , o que aumenta a reatividade com agentes quelantes apropriados (PALEOLOGOS et al 2000; STARY, 1964).

Observa-se que não há interferência do Cr(VI) na extração do Cr(III), uma vez que o Cr(VI) não se complexa com o PAN, demonstrando a seletividade do agente complexante para Cr(III).

Para assegurar a complexação do Cr(III) com o agente complexante PAN, foi avaliado também o volume de solução tampão adicionado à solução de referência, como demonstrado pela Figura 10.

Foi observado que há um aumento pronunciado do sinal analítico até a adição de 2,0 mL de solução tampão, entretanto, visando o menor gasto de reagente, optou-se por escolher 1,0 mL de volume de solução tampão, pois não houve aumento significativo do sinal analítico.

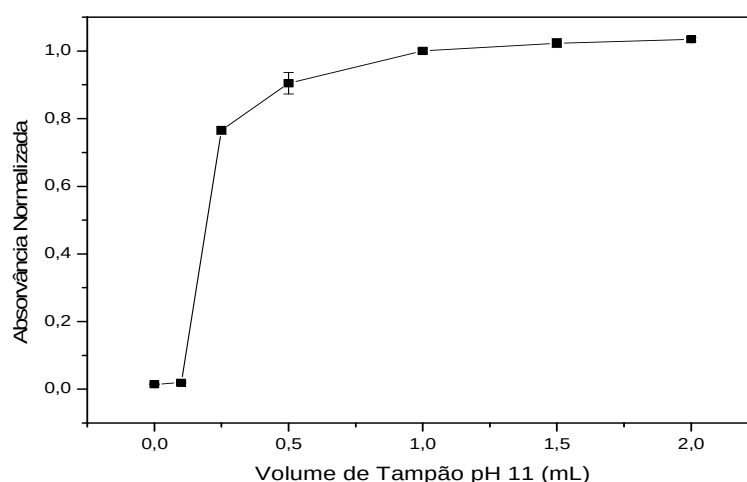


Figura 10: Efeito do volume de solução tampão na extração de Cr(III) $100 \mu\text{g mL}^{-1}$; PAN $0,02 \text{ mmol L}^{-1}$; $0,05\%$ (m/v) Triton X-114; NaCl $2,0\%$ (m/v).

Foram estudadas algumas alternativas para redução do Cr(VI), reduzindo-o a Cr(III) e aplicando a metodologia proposta para Cr(III). Seguiu-se um estudo com ácido ascórbico (MATOS *et al*, 2009), iodeto de potássio (HASHEMI *et al*, 2012) e glicose (MUKHERJEEA *et al*, 2014), mas os resultados não foram relevantes.

Outras metodologias como o emprego de distintos agentes complexantes para determinação de Cr(VI) também foram estudados, como ácido pirrolidina ditiocarbamato de amônio (ADPC) (PALEOLOGOS *et al*, 2001) e difenilcarbazida (SUSSULINI e ARRUDA, 2006), porém não obtiveram resultados significativos.

Em vista disso, foi dado prosseguimento com os estudos e experimentos do analito Cr(III), devido a sua importância biológica, como oligoelemento essencial.

6.2 Efeito da concentração de PAN

Diversos agentes complexantes são usados para separação seletiva de íons metálicos por CPE a partir de uma solução aquosa tamponada (BEZERRA e FERREIRA, 2006).

O complexante utilizado na otimização foi o PAN (PYTLAKOWSKA, 2013), e sem o uso de complexantes não ocorrem a extração e a pré-concentração do Cr(III). O metal não possui a capacidade de ligar-se ao surfactante, sendo que a ligação é feita por meio do complexante (ligante hidrofóbico). O metal se liga ao complexante e o complexo formado, liga-se por sua vez, ao surfactante, por meio de interações hidrofóbicas e eletrostáticas (NASCENTES e ARRUDA, 2003). Desta forma, a pré-concentração depende de vários fatores, tais como: constantes de formação do complexo, concentração do surfactante, estabilidade do complexo formado, hidrofobicidade do complexante e afinidade do complexo com o agente surfactante (ATTWOOD e FLORENCE, 1983).

Observa-se que a medida que a concentração de PAN eleva-se, há um aumento no sinal analítico, onde a concentração ideal de PAN, demonstrada pelo gráfico na Figura 11, é de $0,02 \text{ mmol L}^{-1}$.

Para concentrações de PAN maiores que $0,02 \text{ mmol L}^{-1}$, há um decaimento no sinal analítico. Isto ocorre devido ao efeito “salting in” onde ocorre a dissolução do complexo no meio pelo etanol, visto que o agente complexante é preparado em meio alcoólico.

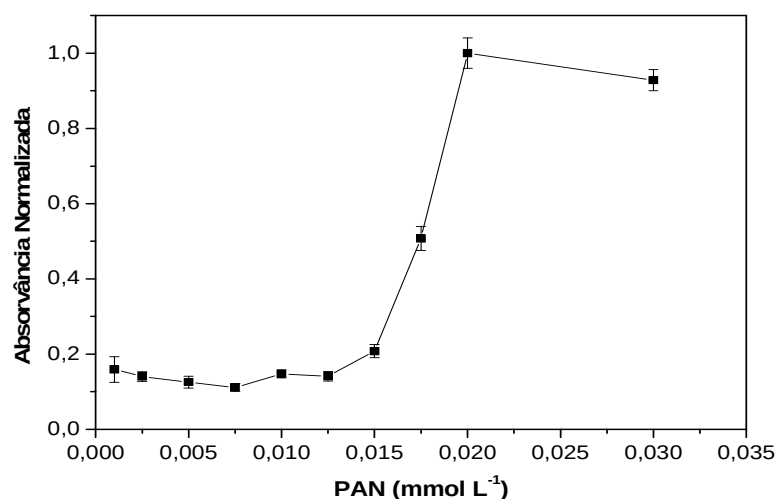


Figura 11: Efeito da concentração de PAN sobre o sinal analítico na extração de Cr(III) 100 $\mu\text{g L}^{-1}$; 500 μL de solução tampão pH 11; 0,04% (m/v) Triton X-114; NaCl 2,5% (m/v), 50°C / 20 min.

6.3 Variação da concentração de Triton X-114

A extração no ponto nuvem ideal é aquela que maximiza a separação com eficiência através da minimização da relação de volume de fase, maximizando assim a sua capacidade de concentração. Assim, o agente surfactante Triton X - 114 foi escolhido para a formação da fase rica, devido às suas características físico-químicas reconhecidas: baixa temperatura de ponto nuvem, alta densidade do surfactante na fase rica , o que facilita a separação de fases por centrifugação, disponibilidade comercial e baixo preço, e a falta de grupos eletroativos na sua molécula (ROSEN,1987). A Figura 12 destaca as diferenças observadas nas distintas concentrações de Triton X-114 utilizadas para extração por ponto nuvem de Cr(III).

A eficiência da extração é mostrada na Figura 12, onde observa-se que Triton X-114 0,05% (m/v) é suficiente para extração do complexo formado, garantindo uma

quantidade de micelas suficientes sem que ocorra dissolução da fase rica em surfactante. (PALEOLOGOS *et al*, 2000).

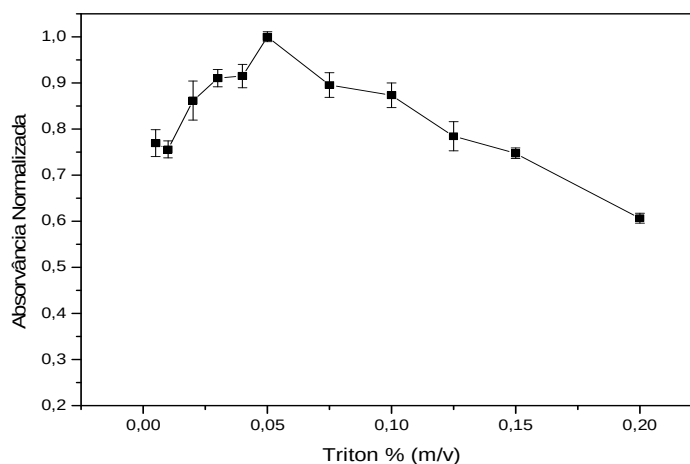


Figura 12: Efeito da concentração de Triton X-114 sobre sinal analítico na extração de Cr(III) 100 $\mu\text{g L}^{-1}$; 500 μL de solução tampão pH 11; PAN 0,15 mmol L^{-1} ; NaCl 2,5% (m/v); 50°C / 20 min.

Para concentrações de surfactante acima de 0,05% (m/v), há um decaimento no sinal analítico, pois com o aumento da quantidade de surfactante ocasiona uma diminuição no sinal analítico, levando a um aumento do volume da fase rica em surfactante, fazendo com que o Cr(III) complexado seja distribuído em um volume maior. Entretanto, para baixas concentrações de surfactante, a quantidade de micelas formadas pode ser insuficiente para uma extração quantitativa do complexo formado, ocasionando em uma baixa eficiência de pré-concentração.

6.4 Efeito da concentração do eletrólito NaCl

Inicialmente toda a otimização com o eletrólito NaCl foi realizada com aquecimento em banho termostatizado a 50°C mantidos por 20 minutos (SUN e WU, 2012).

Estudos sobre os efeitos de alguns aditivos na extração em ponto nuvem, tais como soluções eletrolíticas, como NaCl e KNO₃, interferem no comportamento do ponto de turbidez do agente surfactante não – iônico, têm sido relatados (REZENDE, *et al*, 2011; COELHO e ARRUDA, 2005; NASCENTES e ARRUDA, 2003; GU e GALERA-GOMÉZ, 1995; KOMAROMY-HILLER, 1996) .

Eletrólitos que promovem o efeito "salting out" diminuem o ponto de turbidez da extração por ponto nuvem de surfactantes não-iônicos por desidratação das micelas, conduzindo à precipitação das mesmas (ARMSTRONG, 1985). Isto está diretamente relacionado com a dessorção de íons da parte hidrofílica das micelas, aumentando a interação entre as micelas e, conseqüentemente, levando à precipitação das moléculas de complexo-surfactante (GOEL, 1999).

Muitos autores estudaram a influência de várias soluções eletrolíticas, entre elas o NaCl, sobre a formação do ponto nuvem com Triton X-114 (COELHO e ARRUDA, 2005), e em um trabalho foi observado que a temperatura do ponto de turbidez caiu de 25°C para 22°C quando a concentração de NaCl aumentou de 0,02% para 6% m/v (GU e GALERA-GOMÉZ, 1995).

Com base nesta discussão, foi investigada a concentração de NaCl no intervalo de concentração de 0 a 5 % (m/v) com o objetivo de se obter uma comparação na extração de Cr(III) por ponto nuvem com e sem a necessidade de aquecimento, na presença de NaCl.

Como mostrado na Figura 13, o maior valor de absorvância foi obtido a 2% (m/v) da concentração de NaCl . O sinal manteve-se constante para o aumento das concentrações de NaCl (2,5 - 5,0% m/v). Este efeito pode ser explicado pela carga de superfície adicional, quando a concentração de NaCl é muito elevada, alterando, assim, a estrutura molecular do complexo-surfactante e, conseqüentemente, o processo de formação de micelas (COELHO e ARRUDA, 2005).

De acordo com a Figura 14, não houve diferença significativa de sinais de absorvância na concentração otimizada da solução de NaCl 2,0% (m/v) com e sem aquecimento. Em vista disso, é possível realizar a pré-concentração de Cr(III) por ponto nuvem sem a necessidade de aquecimento, o que representa uma grande vantagem, eliminando uma etapa na sequência analítica.

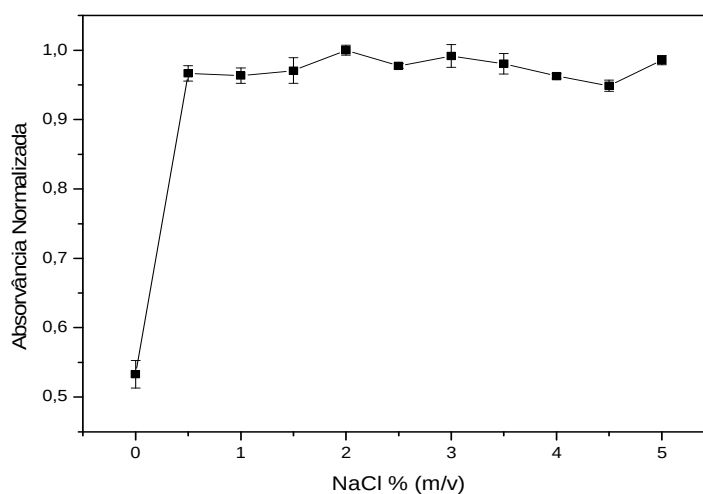


Figura 13: Efeito da concentração de NaCl na extração de Cr(III) 100 $\mu\text{g L}^{-1}$; 1 mL de solução tampão pH 11; PAN 0,02 mmol L^{-1} ; 0,05% (m/v) Triton X-114.; 50°C / 20 min.

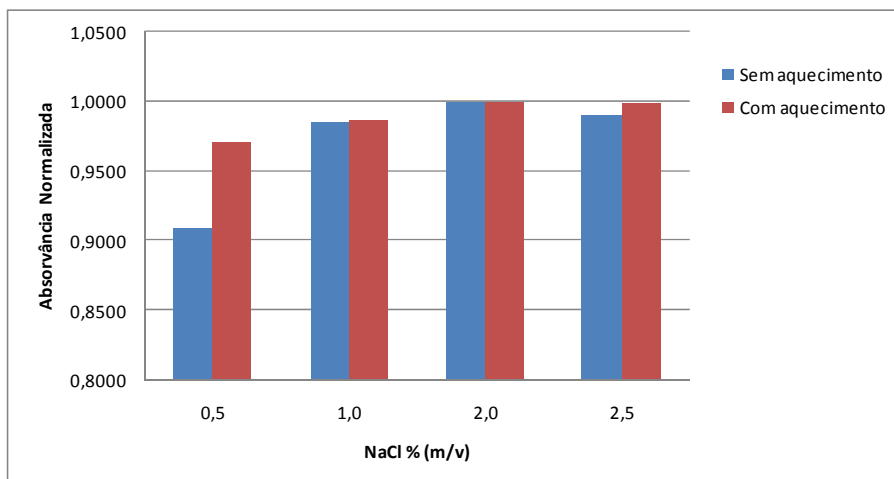


Figura 14: Efeito da concentração de NaCl com/sem aquecimento (50°C – 20 min)

6.5 Otimização do procedimento por ponto nuvem

Todos os parâmetros estudados para extração e pré-concentração por ponto nuvem, com os valores otimizados, são mostrados na Tabela 4. A temperatura/tempo de incubação foi de 50°/20 min, e 500 μ L de solução eluente, mantidas em todo desenvolvimento da otimização, como demonstrado na Figura 7.

Tabela 4: Condições otimizadas para extração de Cr(III) por ponto nuvem.

Parâmetros	Faixa estudada	Otimização
Faixa de pH	2,0 – 12,0	11
Volume de Tampão	0,1 – 2,0 mL	1,0 mL
Concentração PAN	0,001 – 0,3	0,02 mmol L ⁻¹
Concentração Triton	0,005 - 0,2 %	0,05% m/v
Concentração NaCl	0 - 5% m/v	2% m/v

Os valores da Tabela 4 referem-se às melhores condições de trabalho para extração e pré-concentração de Cr(III).

O valor de pH 11 agregado ao volume de solução tampão ideal, faz concordância com a substituição de moléculas de água por moléculas mais reativas, OH⁻, como citado no item 5.1, facilitando a protonação do agente complexante aumentando a sua reatividade, complexando o Cr(III).

A concentração ideal de PAN foi de 0,02 mmol L⁻¹, visto que as ligações entre o complexo formado e a micela dão-se por meio de ligações hidrofóbicas, onde neste trabalho, a concentração ideal de Triton X-114, agente surfactante, foi de 0,05% (m/v). E para condução da precipitação das moléculas complexo-surfactante formadas no ponto nuvem foi empregada solução de NaCl 2% (m/v), sem a necessidade de aquecimento.

6.6 Fator de Enriquecimento

A eficiência da pré-concentração foi avaliada por meio do fator de enriquecimento, sendo determinado pela construção de curvas analíticas de calibração, uma curva submetida ao procedimento otimizado de extração por ponto nuvem na faixa de 0,0025 - 0,1 mg L⁻¹, e outra sem pré-concentração (aquosa) preparada a partir de soluções de Cr(III) na faixa de 0,1 - 5 mg L⁻¹, ambas obtidas com a leitura direta no F AAS.

Nas Figuras 15 e 16, podem-se observar as curvas analíticas obtidas com e sem pré-concentração, respectivamente.

As inclinações das curvas analíticas de calibração com e sem o procedimento de extração e pré-concentração foram respectivamente 1,4609 e 0,0719, dos quais, através do quociente obteve-se o fator de pré-concentração de 20,3.

6.7 Figuras de Mérito

São apresentadas duas curvas analíticas obtidas com e sem pré-concentração, Figuras 15 e 16, respectivamente.

Na Tabela 5 são apresentadas as demais figuras de mérito determinadas para o sistema de pré-concentração de Cr(III) empregando a metodologia proposta.

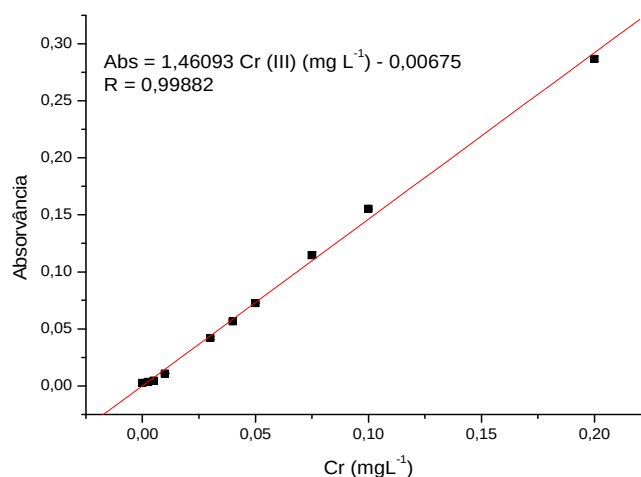


Figura 15: Curva de analítica com Cr(III) obtida com o procedimento de extração/pré-concentração por ponto nuvem.

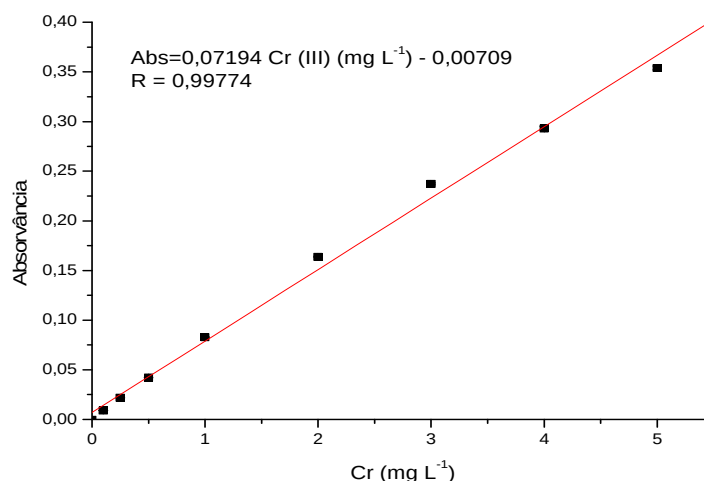


Figura 16: Curva de analítica com Cr(III) obtida sem o procedimento de extração/pré-concentração por ponto nuvem.

A linearidade é a capacidade que uma metodologia possui de produzir resultados obtidos que são diretamente proporcionais à concentração do analito na amostra, dentro de uma faixa específica, como citado no item 4.7.1.

Na grande maioria, a relação matemática entre o sinal e a concentração ou massa do analito de interesse deve ser determinada empiricamente, com base em sinais medidos para massas ou concentrações conhecidas deste analito (MENEZES, 2008). Essa relação pode ser descrita como uma equação de reta chamada de curva analítica. Para o método desenvolvido foram obtidas duas curvas analíticas como demonstradas nas Figuras 15 e 16.

A faixa de trabalho do método proposto para curva analítica obtida com o procedimento de extração/pré-concentração por ponto nuvem foi avaliada no intervalo de 2,5 – 200,0 $\mu\text{g L}^{-1}$ para Cr(III).

Parâmetros como limite de detecção e limite de quantificação foram estimados através das medidas de branco ($n = 15$), demonstrados na Tabela 5.

A precisão foi avaliada em termos da repetibilidade após sucessivas análises ($n = 10$) de soluções de $0,075 \text{ mg L}^{-1}$ submetidas ao procedimento de extração e pré-concentração por ponto nuvem.

Tabela 5: Figuras de mérito e fator de enriquecimento do método otimizado de pré-concentração de Cr(III) por ponto nuvem e detecção por F AAS.

Parâmetros	Valor Obtido
Equação da curva	$\text{Abs} = 1,4609 [\text{Cr(III)}] - 0,0067$
Coefficiente de Determinação (R^2)	0,9978
Faixa linear de Estudo ($\mu\text{g L}^{-1}$)	2,5 – 200,0
Limite de Detecção ($\mu\text{g L}^{-1}$)	0,47
Limite de Quantificação ($\mu\text{g L}^{-1}$)	1,56
DPR (%) de $30 \mu\text{g L}^{-1}$ ($n = 10$)	3,05
Fator de Enriquecimento	20,3

6.7.1 Exatidão e Aplicação do Método

Os testes para aplicação do método desenvolvido para determinar a concentração de Cr(III) foram realizados em amostras de água mineral comercializadas na cidade de Uberlândia – MG, onde as mesmas não sofreram prévio tratamento.

Para avaliação da exatidão do método foram realizados ensaios de adição e recuperação para todas as amostras analisadas. Os resultados são apresentados na Tabela 6.

Tabela 6: Resultados dos testes de exatidão da metodologia de determinação de Cr(III) empregando amostras fortificadas.

Amostras	Cr (III) adicionado ($\mu\text{g L}^{-1}$)	Cr (III) encontrado ($\mu\text{g L}^{-1}$)	Recuperação (%)
Amostra 1	-	<LQ	-
	10	$10,71 \pm 3,24$	107
	50	$46,91 \pm 2,83$	94
	100	$104,89 \pm 3,64$	105
Amostra 2	-	<LQ	-
	10	$8,75 \pm 0,81$	88
	50	$46,75 \pm 0,81$	93
	100	$97,02 \pm 1,24$	97
Amostra 3	-	<LQ	-
	10	$11,40 \pm 1,21$	114
	50	$46,75 \pm 2,69$	93
	100	$100,82 \pm 1,51$	101
Amostra 4	-	<LQ	-
	10	$12,19 \pm 0,81$	120
	50	$56,09 \pm 1,20$	112
	100	$111,03 \pm 0,81$	111

A metodologia desenvolvida apresentou limite de quantificação inferior do valor máximo tolerado, observando que o nível de concentração máximo aceitável de Cr total em água potável é de $0,05 \text{ mg L}^{-1}$, demonstrando que as amostras seguiam a legislação vigente frente ao Cr(III).

Os valores de recuperação obtidos variaram na faixa de 88 – 120% o que demonstra que a metodologia não apresenta problemas relacionados ao efeito de matriz, visto que a recuperação dos íons Cr(III), no método proposto, apresentou valores dentro da faixa aceitável de 80 a 120% (EPA, 1992).

Os resultados apresentados acima evidenciam que a aplicabilidade da metodologia para determinação de Cr(III) em classes de água, bem como sua possível aplicação em outras matrizes.

Na Tabela 7 é demonstrada a determinação de Cr por extração em ponto nuvem em diversas matrizes, com agentes complexantes e a técnica de detecção empregada.

Tabela 7: Determinação de Cr em diversas matrizes.

Reagente	Deteção	LD	Matriz	Autores
5-Br-PADAP	GF AAS	23 ng L ⁻¹	Folhas de vegetais	(BEZERRA <i>et al</i> , 2008)
PAN	ICP OES	2,1 µg L ⁻¹	Cinzas de ossos	(BORKOWSKA e SZYMZYCHA-MADEJA, 2010)
PAN	GF AAS	0,02 µg L ⁻¹	Soro sanguíneo	(SUN e WU, 2010)
TAN	HPLC	7,5 µg L ⁻¹	Sedimentos de rio	(WANG <i>et al</i> , 2010)
PAN	F AAS	0,7 µg L ⁻¹	Águas de rio	(MATOS <i>et al</i> , 2009)
PAN	F AAS	0,47 µg L⁻¹	Água Mineral	PRESENTE TRABALHO

Os limites de detecção demonstrados na Tabela 6 abaixo de 0,47µg L⁻¹ (abaixo do limite de detecção da metodologia apresentada), foram obtidos por técnicas mais sensíveis como GF AAS e ICP OES, quando comparadas a técnica F AAS. Mas observa-se que a extração e pré-concentração por ponto nuvem favorece a limites de detecção baixos com detecção por espectrometria de absorção atômica com chama.

Tendo em vista os trabalhos encontrados na literatura em relação ao desenvolvimento de metodologias para Cr(III) empregando extração e pré-concentração por ponto nuvem e considerando as vantagens do método que incluem diminuição do uso de reagentes utilizados, extração seletiva para Cr(III), com baixo limite de detecção fica evidente a possibilidade da utilização do método

proposto para outros tipos de matrizes (águas, soluções parenterais e fisiológicas, chás), com ou sem prévio tratamento da amostra.

CAPÍTULO 7: CONCLUSÕES E PERSPECTIVAS

7. CONCLUSÕES

- ✓ A metodologia desenvolvida propõe um procedimento eficiente para determinação de Cr(III) usando F AAS após extração e pré-concentração desse metal por ponto nuvem. Desta maneira, os valores ótimos encontrados para os fatores estudados foram os seguintes: pH 11 para complexação; relação de volume de solução tampão, 1 mL; concentração do complexante PAN, 0,02 mol/L; concentração do surfactante Triton X-114, 0,05% m/v e concentração do eletrólito NaCl, 2% (m/v).
- ✓ O método é simples, barato, quando comparado a técnicas espectroanalíticas, como GF AAS e ICP OES, e foi possível observar que a metodologia empregada permitiu a redução no consumo de reagentes.
- ✓ O procedimento proposto possui limites de detecção e quantificação suficientemente baixos (0,47 e 1,56 $\mu\text{g L}^{-1}$, respectivamente) para possibilitar a determinação de Cr(III) em amostras aquosas. Além disso, outras características analíticas foram satisfatórias, como o desvio padrão relativo para soluções contendo Cr(III) em concentrações de 30 $\mu\text{g L}^{-1}$, o qual foi de 3,05%.
- ✓ A eficiência e exatidão do método foram comprovadas pelas análises de ensaios de adição e recuperação em amostras de água mineral obtidas no comércio local, apresentando recuperações entre 88 e 120%.
- ✓ Os estudos realizados com agentes redutores e agentes complexantes frente ao contaminante Cr(VI) não apresentaram resultados satisfatórios.

8. PERSPECTIVAS

Emprego da metodologia de extração por ponto nuvem em análises de alguns suplementos alimentares, como os repositores eletrolíticos direcionados a atletas, análise de soluções parenterais e soros fisiológicos, visto que Cr(III) é um micronutriente essencial para manutenção de processos orgânicos.

Em vista desta metodologia, agregar a este procedimento o preparo de amostras, e estudos de agentes redutores para emprego da metodologia frente ao contaminante Cr(VI).

9. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

ALVES, V. N.; COELHO, N. M. M. **Selective extraction and preconcentration of chromium using Moringa oleifera husks as biosorbent and flame atomic absorption spectrometry.** *Microchemical Journal*, v. 109, p. 16, 2013.

ANVISA (Agência de vigilância Sanitária). **Guia para validação de métodos analíticos e bioanalíticos.** Portaria nº 685, de 27 de agosto de 1998.

APHA. **Standard methods for the examination of water and wastewater.** 20.ed. Washington, DC, 1998. 1 v.

ARANDA, P. R.; GIL, R. A.; MOYANO, S.; VITO, I. E. DE; MARTINEZ, L. D. **Cloud point extraction of mercury with PONPE 7.5 prior to its determination in biological samples by ETAAS.** *Talanta*, v. 75, p. 307 – 311, 2008.

ARMSTRONG, D. W. **Micelles in Separations: Practical and Theoretical Review.** *Separation and Purification Technology*, v. 14, p. 213 – 304, 1985.

ATTWOOD, D., FLORENCE, A. T. **Surfactant Systems: Their Chemistry, Pharmacy and Biology.** Chapman and Hall, New York, 1983.

AYDIN, F.A.; SOYLAK, M. **Separation, preconcentration and inductively coupled plasma-mass spectrometric (ICP-MS) determination of thorium(IV), titanium(IV), iron(III), lead(II) and chromium(III) on 2-nitroso-1-naphthol impregnated MCI GEL CHP20P resin.** *Journal of Hazardous Materials*, v. 173, p. 669 - 674, 2010.

BASSI, A. P. Z. **Soluções Parenterais de Grande Volume: avaliação da estabilidade da solução e qualidade física e química da embalagem primária.**

Dissertação de mestrado. Universidade de São Paulo, 2012.

BENTO, F. R. **Utilização de técnicas eletroquímicas para a determinação de Cu, Cr e As em madeira de eucalipto preservada com produtos hidrossolúveis.**

Dissertação de Mestrado. Universidade Federal do Paraná, 2004.

BEZERRA, M. A.; ARRUDA, M. A. Z.; FERREIRA, S. L. C. **Cloud Point Extraction as a Procedure of Separation and Pre-Concentration for Metal Determination Using Spectroanalytical Techniques: A Review.** *Applied Spectroscopy Reviews*. v. 40, p. 269 – 299, 2005.

BEZERRA, M. A.; FERREIRA, S.L.C. **Extração em ponto nuvem: Princípios e aplicações em química analítica.** 1. ed. Vitória da Conquista: Edições UESB, 2006. v. 1. 168p.

BEZERRA, M.A.; NOGUEIRA, A. R. A.; LEMOS, S. G.; FERREIRA, S. L. C. **Multivariate optimization of a procedure for Cr and Co ultratrace determination in vegetal samples using GF AAS after cloud point extraction.** *Internacional Journal of Environmental Analytical Chemistry*, v. 88, p. 131 - 140, 2008.

BORKOWSKA-BURNECKA, J.; SZYMZYCHA-MADEJA, A.; ZYRNICKI, W. **Determination of toxic and other trace elements in calcium-rich materials using cloud point extraction and inductively coupled plasma emission spectrometry.** *Journal of Hazardous Materials*, v. 182, p. 477 - 483, 2010.

BRASIL, SÃO PAULO. RESOLUÇÃO CONAMA Nº 357, DE 17 DE MARÇO DE 2005.

Disponível

em:

<http://www.cetesb.sp.gov.br/agua/praias/res_conama_357_05.pdf>. Acesso em: 15 de dezembro de 2013.

CAMPBEEL, W. W.; BEAR, J. L.; JOSEPH, L. J.; DAVEY, S. L.; EVANS, W. J. **Chromium picolinate supplementation and resistive training by older men: effects on iron-status and hematologic indexes.** *American Journal of Clinical Nutrition*, v. 66 (4), p. 944 - 949, 1997.

COELHO, L. M., ARRUDA, M. A. Z. **Cloud point extraction and preconcentration for the determination of Cd by flame atomic absorption spectrometry.** *Spectrochim. Acta B*, 60 (2005), pp. 743–748.

COZZOLINO, S. M. F. **Biodisponibilidade de nutrientes.** 4. ed. atual. e ampl. – Barueri, SP: Manole, 2012.

ELCI, 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*, v. 44, p. 1017 - 1023, 1997.

EPA (Environmental Protection Agency), **Guidance for Methods development and Methods Validation for the RCRA Program SW-846 Methods**, 1992.

EZODDIN, M.; SHEMIRANI, F.; KHANI, R. **Aplication of mixed-micelle cloud point extraction for speciation analysis of chromium in water samples by electrothermal atomic absorption spectrometry.** *Desalination*, v. 262, p. 183 – 187, 2010.

FRANKEWICH, R.P.; HINZE, W.L. **Evaluation and optimization of the factors affecting nonionic surfactant-mediated phase separations.** *Analytical Chemistry*, v. 66, p.944 - 954, 1994.

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.** *Química Nova*, v. 34 (3), p. 462 – 467, 2011.

GARCIA, S. ; NOMURA, C. S. ; ROCHA, F. R. P. ; NOMURA, C. S. ; GALBEIRO, R. ; ROCHA, F. R. P. ; GAUBEUR, I. ; SILVA, S. G. **An environmentally friendly analytical procedure for nickel determination by atomic and molecular spectrometry after cloud point extraction in different samples.** *Analytical Methods*, v. 4, p. 2429 - 2434, 2012.

G-BIOSCIENCES. Geno Technology Inc. USA. Detergents – **Handbook & Selection Guide to Detergents & Detergent Removal.** - < <http://www.gbiosciences.com/ResearchProducts/Triton-X-114.aspx> > Acessado em 23 de janeiro de 2014.

GOEL, S. K. **Critical phenomena in the clouding behavior of nonionic surfactants induced by additives.** *J. Colloid Interface Sci.*, v. 212, p. 604 - 606, 1999.

GOMES, M. R.; ROGERO, M. M.; TIRAPEGUI, J. **Considerações sobre cromo, insulina e exercício físico.** *Revista Brasileira de Medicina do Esporte*, v. 11 (5), p. 262 - 266, 2005.

GU, T.; GALERA-GOMÉZ, P. A. **Clouding point of Triton X-114: the effect of added electrolytes on the cloud point of Triton X-114 in the presence of ionic surfactants.** *A. Physicochem. Eng.*, v. 104, p. 307 – 312, 1995.

HASHEMI, M.; DARYANAVARD, S. M. **Ultrasound-assisted cloud point extraction for speciation and indirect spectrophotometric determination of chromium(III) and (VI) in water samples.** *Spectrochimica Acta Part A*, v. 92, p. 189 – 193, 2012.

HAYGARTH, R. M.; ROWLAND, A. D.; STURUP, S.; JONES, K. C. **Compararison of instrumental methods for the determination of total selenium in environmental samples.** *Analyst*. v. 118, p. 1303-1308, 1993.

HINZE, W. L.; PRAMAURO, E. **A critical review of surfactant-mediated phase separations (Cloud-Point Extractions): Theory and applications.** *Critical Reviews in Analytical Chemistry*, v. 24, p. 133 - 177, 1993.

INMETRO – **Orientações Sobre Validação de Métodos Analíticos** – DOQ-CGCRE-008 – Revisão 03 – Fevereiro/2010.

IUPAC. **Separation and preconcentration of trace substances. I — preconcentration for inorganic trace analysis.** *Pure & Appl. Chem.* Vol. 51, p. 1195 - 1211, 1979.

JEEJEEBHOY, K. N.; CHU, R. C.; MARLIIS, E. B.; GREENBERG, G. R.; BRUCE-ROBERTSON, A. **Chromium deficiency, glucose intolerance, and neuropathy reversed by chromium supplementation, in a patient receiving long-term total parenteral nutrition.** *American Journal of Clinical Nutrition*, v. 30 (4), p. 531 - 538, 1977.

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

KIRAN, K.; SURESH KUMAR, K.; PRASAD, B.; SUVARDHAN, K.; LEKKALA RAMESH BABU, JANARDHANAM. **Speciation determination of chromium (III) and (VI) using preconcentration cloud point extraction with flame atomic absorption spectrometry (FAAS)**. *Journal Hazardous Materials*, v. 150, p. 582 – 586, 2008

KOMAROMY-HILLER, G.; CALKINS, N.; WANDRUSZKA, R. **Changes in polarity and aggregation number upon clouding of a nonionic detergent: effect of ionic surfactants and sodium chloride**. *Langmuir*, v. 12, p. 916 – 920, 1996.

LAZARIN, A. M.; BORGIO, C.A.; GUSHIKEM, Y. **Filme fino de ZrO₂ enxertado sobre a superfície de sílica gel: preparação e propriedade de adsorção de Cr (VI)**. *Química Nova*, v. 25, p. 499 - 501, 2002.

LENARDÃO, E. J., FREITAG, R. A.; DABDOUB, M. J.; BATISTA, A. C. F.; SILVEIRA, C. C. **“Green chemistry” – os doze princípios da química verde e sua inserção nas atividades de ensino e pesquisa**. *Química Nova*, São Paulo, v. 26, p. 625 – 632 2003.

LI, Y.; HU, B.; JIANG, Z.; WU, Y. **Speciation of chromium in water samples by cloud point extraction combined with low temperature electrothermal vaporization ICP-OES**. *Analytical Letters*, v. 39, p. 809 - 822, 2006.

LIANG, P.; LI, P.; **Speciation of chromium with cloud point extraction separation and determination by ICP-OES**. *Atomic Spectroscopy*, v.26 (3), p. 89 - 93, 2005.

LIANG, P.; SANG, H.; **Speciation of chromium in water samples with cloud point extraction separation and preconcentration and determination by graphite furnace atomic absorption spectrometry.** *Journal of Hazardous Materials*, v. 154, p. 1115 - 1119, 2008.

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.

MANIASSO, N. **Ambientes micelares em química analítica.** *Química Nova*, v. 24, p. 83 - 93, 2001.

MANORE, M. M. **Dietary Supplements for Improving Body Composition and Reducing Body Weight: Where is the Evidence?** *International Journal of Sport Nutrition and Exercise Metabolism*, v. 22, p. 139 - 154, 2012.

MATOS, G. D.; REIS, E. B.; COSTA, A. C. S.; FERREIRA, S. L. C. **Speciation of chromium in river water samples contaminated with leather effluents by flame atomic absorption spectrometry after separation/preconcentration by cloudpoint extraction.** *Microchemical Journal*, v 92, p. 135 – 139, 2009.

MENEZES, D. C. **Síntese de caracterização de complexos ditiocarbamatos de Sn(IV), In(III), Ga(III) e metais de transição: decomposição térmica e perfil farmacológico in vitro.** Tese de Doutorado, Universidade Federal de Minas Gerais, 2008.

MERTZ, W. **Chromium in human nutrition: a review.** *Journal of Nutrition*, v. 123, p. 626 - 633, 1993.

MERTZ, W. **Chromium occurrence and function in biological systems.** *Physiological Reviews*, v. 49, p. 163 - 239, 1969.

MIUAR, J. I.; WATANABE, H.; **Extraction and separation of nickel chelate of 1-(2-thiazolylazo)-2-naphthol in nonionic surfactant solution.** *Society Analytical Chemistry*, v. 25, p. 808 – 809, 1976.

MUKHERJEE K.; NANDIA R.; SAHAA D.; SAHAA B. **Surfactant-assisted enhancement of bioremediation rate for hexavalent chromium by water extract of Sajina (Moringa oleifera) flower.** *Desalination and Water Treatment*, <www.tandfonline.com/doi/abs/10.1080/19443994.2014.884477#.Uxm2ZPldUuw>.

Acesso em 03 de fevereiro de 2014.

MYERS, C. R.; MYERS, J. M.; CARSTEN, B. P.; ANTHOLINE, W. E. **Reduction of chromium (VI) to chromium (V) by human microsomal enzymes: effects of iron and quinines.** *Toxic Subst. Mech.*, v. 19, p. 25 – 51, 2000.

NASCENTES, C. C.; ARRUDA, M. A. Z. **Cloud point extraction formation based on mixed micelles in the presence of electrolytes for cobalt extraction and preconcentration.** *Talanta*, v. 61, p. 759 – 768, 2003.

OJEDA, C. B.; ROJAS, F. S. **Separation and preconcentration by a cloud point extraction procedure for determination of metals: an overview.** *Analytical Bioanalytical Chemistry*, v. 394, p. 759–782, 2009.

OPATOWSKI, E.; LICHTENBERG, D.; KOZLOV, M. M. **The heat of transfer of lipids and surfactant from vesicles into micelles in mixtures of phospholipid and surfactante.** *Biophysical Journal*, v. 73, p. 1458 - 1467, 1997.

PALEOLOGOS, E. K., CONSTANTINE, D. S., TZOUWARA-KARAYANNI, G. A. P., KARAYANNIS, M. I. **Micelle-mediated for speciation of chromium by flame atomic absorption spectrometry.** *J. Anal. At. Spectrom.*, v. 15(3), p. 287 – 291, 2000.

PAPEOLOGOS, E. K., STALIKAS C. D., KARAYANNIS, M.I. **An optimized single-reagent method for the speciation of chromium by flame atomic absorption spectrometry based on surfactant micelle-mediated methodology.** *Analyst*, v.126, p. 389 – 393, 2001.

PEREIRA, G. M.; ARRUDA, M. A. Z. **Trends in preconcentration procedures for metal determination using atomic spectrometry techniques.** *Microchimica Acta*, v. 141, p. 115 - 131, 2003.

PERGORARO, C. A. S. **Estabilidade dos fármacos ceftazidima e aminofilina em soluções parenterais de grande volume (SPGV) carregados pelo copolímero Pluronic F68. Emprego da proteína verde fluorescente (GFP) como biossensor da estabilidade de fármacos em SPGV.** Tese de doutorado. Universidade de São Paulo, 2010.

PERRIN, D. D.; DEMPSEY, B. **Buffers for pH and metal ion control.** London: Chapman and Hall, 1974, 176p.

PYTLAKOWSKA, K.; KOZIK, V.; DABIOCH, M. **Complex-forming organic ligands in cloud-point extraction of metal ions: A review.** *Talanta*, v. 110, p. 202 – 228, 2013.

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*, v. 150, p. 723 - 727, 2008.

REZENDE, H. C., NASCENTES, C. C., COELHO, N. M. M., **Cloud point extraction for determination of cadmium in soft drinks by thermospray flamefurnace atomic absorption spectrometry.** *Microchemical Journal*, v.97, p. 118 – 121, 2011.

ROSEN, M. J., **Surfactants and Interfacial Phenomena.** 4th Edition. New York: Wiley Interscience, 1987. 616p.

SARACOGLU, S.; SOYLAK, M.; ELCI, L. **On-line solid phase extraction system for chromium determination in water samples by flow injection-flame atomic absorption spectrometry.** *Analytical Letters*, v. 35, p. 1519 – 1530, 2002.

SHANKER, A. K.; CERVANTES C.; LOZA-TEVERA, H.; AVUDAINAYAGAM, S. **Chromium toxicity in plants.** *Environmental International*, v. 31, p. 739 – 746, 2005.

SPERLING, M.; XU, S.; WELZ, B. **Determination of Chromium(III) and Chromium(VI) in Water Using Flow Injection On-Line Preconcentration with Selective Adsorption on Activated Alumina and Flame Atomic Absorption Spectrometric Detection.** *Analytical Chemistry*, v. 64 (24), p.3101 – 3108, 1992.

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*, v. 14, p. 1625 - 1629, 1992.

STANIEK, S.; KREJPCIO, Z.; IWANIK, K. **Evaluation of the acute oral toxicity class of tricentric chromium(III) propionate complex in rat.** *Food and Chemical Toxicology*, v. 48 (3), p. 859 - 864, 2010.

STARY, J. **Solvent Extraction of Metal Chelates.** Pergamon Press, Oxford, 1964.

SUN, M., WU, Q. **Cloud point extraction combined with graphite furnace atomic absorption spectrometry for speciation of Cr(III) in human serum samples.** *Journal of pharmaceutical and Biomedical Analysis*, v. 60, p. 14 – 18, 2012.

SUSSULINI, A.; ARRUDA, M. A. Z. **Determinação de cromo (VI) por espectrometria de absorção atômica com chama após a extração e pré-concentração no ponto nuvem.** *Eclética*, v. 31, n.1, p. 73 – 80, 2006.

ULUOZLU, O. D.; TUZEN, M.; MENDIL, D.; SOYLAK, M. **Coprecipitation of trace elements with Ni^{2+} /2-Nitroso-1-naphthol-4-sulfonic acid and their determination by flame atomic absorption spectrometry.** *Journal of Hazardous Materials*, v. 176, p. 1 - 3, 2010.

VALENTINI, S. R.; SOMMER, W.A.; MATIOLI, G. **Validação de métodos analíticos.** *Arq Mudi*, v. 11 (2), p. 26 – 31, 2007.

WANG, L. L.; WANG, J.Q.; ZHENG, Z.X.; XIAO, P. **Cloud point combined with high-performance liquid chromatography for speciation of chromium(III) and chromium (VI) in environmental sediment samples.** *Journal Hazardous of Materials*, v. 177, p. 114 - 119, 2010.

WATANABE, H.; TANAKA, H. **Nonionic surfactant as a new solvent for liquid liquid– extraction of zinc (II) with 1-(2-pyridylazo)-2-naftol.** *Talanta*, v. 25, p. 585 - 589, 1978.

WHO (World Organization Health). **Guidelines for drinking-water quality (Chromium in Drinking-water)**, 2nd ed. Vol. 2. *Health criteria and other supporting information*. World Health Organization, Geneva, 1996.

ZHITKOVICH, A.; QUIEVRYN, G.; MESSER, J.; MOTYLEVICH, Z. **Reductive activation with cysteine represents a chromium (III)-dependent pathway in the induction of genotoxicity by carcinogenic chromium (VI)**. *Environmental Health Perspectives*, v. 110, p. 729 – 731, 2002.