



UNIVERSIDADE FEDERAL DE JUIZ DE FORA
INSTITUTO DE CIÊNCIAS EXATAS
DEPARTAMENTO DE QUÍMICA

DISSERTAÇÃO DE MESTRADO

***“Determinação Simultânea de Cobre e
Chumbo em Amostras de Azeite de Dendê
(Elaeis guineensis) por Técnicas de
Redissolução Utilizando o Método de
Extração Assistida por Ultra-Som”***

João Carlos Cypriano

Orientador: Prof. Dr. Renato Camargo Matos

Dissertação apresentada ao
departamento de Química da
Universidade Federal de Juiz de Fora
como parte dos requisitos necessários
para a obtenção do título de Mestre em
Química

Juiz de Fora – Abril de 2008

“Simplicidade é a sofisticação máxima.”

(Leonardo da Vinci)

**“Quando você tem uma meta, o que era
obstáculo passa a ser uma etapa do
plano.”**

(Gerhard Boheme)

*Dedico a minha esposa Cleiser
e meus filhos Mateus e Sofia,
pela compreensão, paciência e
incentivo incansáveis.*

AGRADECIMENTOS

Quando concluímos um projeto, percebemos que muitos nomes o compuseram. Gostaria de agradecer a todos que direta ou indiretamente fizeram parte desta história.

Em especial, ao meu orientador Prof. Dr. Renato, pelo apoio, orientação e pela confiança em minha capacidade e também pelas inúmeras “injeções de ânimo” e “puxões-de-orelha”, que me fizeram crescer no conhecimento.

Ao Sr Coronel Rogério Passos, diretor do HGeJF, por possibilitar e incentivar na realização dessa etapa.

A todos da “*Família 25-D*”, que estiveram ao meu lado nas vezes em que eu precisava de apoio.

Aos professores e funcionários do Departamento de Química pelo excelente convívio.

Às secretárias Alice e Simone, pela presteza durante a execução deste trabalho.

Aos amigos e colegas do DQ/NUPIS (Rômulo, Rogério, Rafael, Melina, Vanézia, Aline, Michele, Marcos, Luis, Pollyana e Diego), pelos momentos bons e descontraídos que passamos.

Aos colaboradores dos ensaios de laboratório, em especial a Danielle e o professor Pedro Vitoriano de Oliveira, pelas análises no aparelho de absorção atômica realizadas no IQ/USP.

Aos meus pais, por tudo o que fizeram e fazem por mim.

Aos meus familiares, por me incentivarem e acreditarem na minha capacidade.

Aos amigos de caminhada (são muitos e todos os quais de um jeito diferente), que estiveram presentes em momentos e situações em que as suas simples presenças, oferecendo um ombro, ou simplesmente seus ouvidos, me fizeram acreditar que nada é em vão e que obstáculos surgem para serem superados.

Ao meu amigo Pe. Antônio, por me mostrar que *sempre* existe uma nova possibilidade.

A FAPEMIG, CNPq e CAPES, pelo apoio financeiro.

Às madrugadas insones passadas sozinho no laboratório.

A Deus.

ÍNDICE

LISTA DE ABREVIACÕES	7
LISTA DE FIGURAS	8
LISTA DE TABELAS	10
RESUMO	11
ABSTRACT	12
Capítulo 1 – INTRODUÇÃO	13
1.1. A energia de ultra-som na preparação de amostras	15
1.2. Dendê – usos e aplicações	20
1.3. Metais pesados no dendê	24
1.4. Técnicas eletroanalíticas na determinação direta de metais em amostras com alto teor de matéria orgânica	26
1.5. Objetivos	27
CAPÍTULO 2 – PARTE EXPERIMENTAL	29
2.1. Reagentes e Soluções	30
2.2. Instrumentação e materiais	30
2.2.1. Eletrodos e células eletroquímicas.....	32
2.3. Amostras	34
2.4. Metodologia Analítica	35
2.4.1. Otimização das condições eletroquímicas.....	35
2.4.1.1. Avaliação da sensibilidade da resposta analítica do eletrodo de trabalho para as medidas eletroquímicas de Pb e Cu.....	35
2.4.1.2. Avaliação das técnicas de redissolução voltamétrica e potenciométrica para determinar cobre e chumbo usando eletrodo de carbono vítreo modificado “off-line” com mercúrio nas amostras de azeite de dendê usando o método de extração assistida por ultra-som.....	36
2.4.1.3. Imobilização do mercúrio no eletrodo de trabalho – Modificação “on-line” vs. modificação “off-line”.....	38
2.4.2. Desenvolvimento da metodologia de extração.....	39
2.4.2.1. Procedimento geral de extração.....	39
2.4.2.2. Estudo da eficiência dos reagentes na extração.....	40
2.4.3. Análise das amostras de dendê.....	41

CAPÍTULO 3 – RESULTADOS E DISCUSSÕES	43
3.1. Avaliação da sensibilidade da resposta analítica do eletrodo de trabalho para as medidas eletroquímicas de Pb e Cu	44
3.2. Avaliação das técnicas de redissolução voltamétrica e potenciométrica para determinar cobre e chumbo usando eletrodo de carbono vítreo modificado “off-line” com mercúrio nas amostras de azeite de dendê usando o método de extração assistida por ultra-som	48
3.3. Imobilização do mercúrio no eletrodo de trabalho – Modificação “on-line” vs. modificação “off-line”	51
3.4. Teste de recuperação	54
3.4.1. Estudo de tempo de extração.....	55
3.4.2. Comparação da eficiência da recuperação com e sem o emprego do US....	56
3.4.3. Estudo da eficiência dos reagentes na extração.....	58
3.5. Análise das amostras de dendê	62
3.6. Avaliação da etapa de extração de Pb e Cu do resíduo oleoso	66
CAPÍTULO 4 – CONCLUSÕES E PERSPECTIVAS FUTURAS	68
4.1. Considerações Finais	69
4.2. Perspectivas de Trabalhos Futuros	70
REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS.....	72

LISTA DE ABREVIATÖES

CCSP	Redissoluçãõ potentiométrica a corrente constante
CT	Colesterol Total
CV	Carbono vítreo
GFAAS	Espectrometria de absorçãõ atômica em forno de grafite
HDL	Colesterol de Alta Densidade
HMG-CoA redutase	3-hidroxi-3-metilglutaril coenzima A redutase
LD	Limite de detecçãõ
LDL	Colesterol de Baixa Densidade
LQ	Limite de quantificaçãõ
OMS	Organizaçãõ Mundial de Saúde
PMF	Fraçãõ intermediária de óleo de palma
PSA	Redissoluçãõ potentiométrica (por oxidante químico)
RBD	Refined, Bleached & Deodorised
SWSV	Voltametria de redissoluçãõ de onda quadrada
US	Ultra-som
UV	Ultravioleta
v	freqüência
SNR	Razãõ sinal-ruído

LISTA DE FIGURAS

FIGURA	Pg.
Figura 1. A) Potenciostato μ Autolab Type III, B) Banho ultrassônico T28110 e C) Região dos cristais piezelétricos no banho ultrassônico.	31
Figura 2. A) Eletrodo de carbono vítreo, B) Conjunto dos três eletrodos (trabalho, referência e auxiliar) e C) Célula eletroquímica realizando análise.	33
Figura 3. Esquema da célula eletrolítica: (A) Eletrodo auxiliar (fio de Platina), (B) Eletrodo de trabalho (carbono Vítreo ou Ouro) e (C) Eletrodo de referência ($\text{Ag}/\text{AgCl}_{(\text{sat})}$).	34
Figura 4. Amostras de azeite de dendê.	34
Figura 5. Procedimento geral de análise das amostras de azeite de dendê.	42
Figura 6. Voltamograma de redissolução de uma solução de HCl 50 mmol L^{-1} com concentrações de 0,03 mg g^{-1} de Pb e 0,6 mg g^{-1} de Cu. Eletrodo de trabalho de carbono vítreo modificado com mercúrio. Parâmetros eletroquímicos conforme Tabela 4.	46
Figura 7. Voltamograma de redissolução de uma solução de HCl 50 mmol L^{-1} com concentrações de 0,03 mg g^{-1} de Pb e 0,60 mg g^{-1} de Cu. Eletrodo de trabalho de ouro modificado com mercúrio. Parâmetros eletroquímicos conforme Tabela 4.	47
Figura 8. Comparação entre o voltamograma de redissolução de uma solução de HCl 50 mmol L^{-1} com concentrações de 0,03 mg g^{-1} de Pb e 0,60 mg g^{-1} de Cu. Tempo de deposição de 300 s. Parâmetros eletroquímicos conforme Tabela 4.	48
Figura 9. Potenciogramas de redissolução para amostra de azeite de dendê e 4 adições consecutivas de 5 μL de solução padrão 21 mg g^{-1} de Cu e 45 μL de solução padrão 1 mg g^{-1} de Pb. Condições: eletrodo de CV previamente modificado com Hg, volume de amostra de 250 μL e volume de eletrólito suporte (HCl 50 mmol L^{-1}) de 1000 μL . Parâmetros eletroquímicos conforme a Tabela 5.	52
Figura 10. Potenciogramas de redissolução para amostra de azeite de dendê e 4 adições consecutivas de 5 μL de solução padrão 21 mg g^{-1} de	

Cu e 45 µL de solução padrão 1 mg g ⁻¹ de Pb. Condições: eletrodo de CV modificado “on-line” com Hg, volume de amostra de 250 µL e volume de eletrólito suporte (HCl 50 mmol L ⁻¹) de 1000 µL. Parâmetros eletroquímicos conforme Tabela 5.	53
Figura 11. Potenciogramas de redissolução para amostra de dendê usando eletrodo de CV modificado com Hg previamente à análise e eletrodo de CV modificado com Hg durante a eletrodeposição do Cu e do Pb. (a) Amostra (250 µL) + Eletrólito suporte (HCl 50 mmol L ⁻¹ - 1000 µL). (b) Amostra (250 µL) + Eletrólito suporte (HCl 50 mmol L ⁻¹ - 950 µL) e HgCl ₂ (5 mmol L ⁻¹ – 50 µL). Parâmetros eletroquímicos conforme Tabela 5.	54
Figura 12. Influência do tempo de US na extração de Pb e Cu nas amostras de azeite de dendê. Foi utilizado como solução extratora uma mistura 1:1 de HCl concentrado e H ₂ O ₂ 30%.	56
Figura 13. Eficiência da utilização do US para recuperação de Pb em amostra de dendê.	57
Figura 14. Eficiência da utilização do US para recuperação de Cu em amostra de dendê.	57
Figura 15. Amostra de azeite de dendê antes e depois do processo de extração usando 2 mL 1:1 (v/v) HCl concentrado e H ₂ O ₂ .	59
Figura 16. Influência do volume de HCl concentrado empregado na % de extração de Cu e Pb em azeite de dendê. O volume de H ₂ O ₂ 30% foi de 1,0 mL e o tempo de US utilizado foi de 60 min.	61
Figura 17. Influência do volume de H ₂ O ₂ 30% empregado na % de extração de Cu e Pb em azeite de dendê. O volume de HCl conc. foi de 1,0 mL e o tempo de US utilizado foi de 60 min.	61
Figura 18. Curvas analíticas por adição de padrão em um branco de HCl (50 mmol L ⁻¹ - 1200 µL) + HgCl ₂ (5 mmol L ⁻¹ – 50 µL). Volumes de adição de padrão: 10 µL, concentrações de padrões: 0,13 mg L ⁻¹ de Pb e 2,30 mg L ⁻¹ de Cu.	62
Figura 19. Comparação dos resultados obtidos entre a redissolução potenciométrica a corrente constante (CCSP) e a absorção atômica (GFAAS) para a determinação de cobre e chumbo.	66

LISTA DE TABELAS

<i>TABELA</i>	<i>Pg.</i>
Tabela 1. Aplicações de extração assistida por US.	19
Tabela 2. Efeito da radiação ultrassônica no progresso de digestão ácida, na recuperação de As e no tempo de recuperação, em diversas matrizes de alimentos.	20
Tabela 3. Produtos alimentícios formulados com óleo de palma e afins.	23
Tabela 4. Parâmetros utilizados para estudo dos eletrodos.	36
Tabela 5. Parâmetros utilizados para estudo da técnica eletroquímica nas amostras digeridas de dendê.	37
Tabela 6. Comparação entre a voltametria de redissolução anódica de onda quadrada e a redissolução potenciométrica a corrente constante.	37
Tabela 7. Características analíticas para as técnicas de redissolução voltamétrica de onda quadrada (SWSV) e de redissolução potenciométrica a corrente constante (CCSP).	50
Tabela 8. Resultados de cobre obtidos após preparação e análise das amostras por redissolução potenciométrica a corrente constante e por espectrometria de absorção atômica.	64
Tabela 9. Resultados de chumbo obtidos após preparação e análise das amostras por redissolução potenciométrica a corrente constante e por espectrometria de absorção atômica.	65

RESUMO

A concentração de traço de metais em óleos vegetais é um critério importante para avaliar a qualidade de óleos com relação à validade, propriedades, armazenamento e influência sobre a nutrição e saúde humana. Neste trabalho, um método eficiente e simples para a determinação de cobre e chumbo em azeite de dendê usando redissolução potenciométrica é proposto. Os íons metálicos foram pré-concentrados como amálgamas na superfície de um eletrodo de carbono vítreo usado como eletrodo de trabalho. Um banho ultrassônico foi utilizado para a extração de cobre e chumbo em onze amostras de azeite de dendê usando uma mistura 1:1 (v/v) de ácido clorídrico concentrado e peróxido de hidrogênio (30 % m/v). Uma eficiência na extração de cobre e chumbo (~ 100 %) foi encontrada após 60 min de exposição à energia ultrassônica. Uma boa relação entre a quantidade de amostra e o tempo necessário para a completa liberação dos metais foi observado. Análises quantitativas foram realizadas através do método de adição de padrão, uma boa linearidade foi obtida na faixa de concentração examinada. Limites de detecção de 150 e 13 ng L⁻¹ foram encontrados para Cu e Pb, respectivamente, nas amostras originais. A faixa de valores encontrados para as amostras analisadas foi de 1,55 a 16,54 µg g⁻¹ para o cobre e 0,04 a 0,37 µg g⁻¹ para o chumbo. As amostras de azeite de dendê foram também analisadas por espectrometria de absorção atômica com forno de grafite (GFAAS), mostrando uma boa correlação entre os resultados.

ABSTRACT

The concentration of trace metals in vegetable oils is an important criterion for the assessment of oil qualities in regard of freshness, keeping properties, storage and their influence on human nutrition and health. In this work, an effective and simple method for the determination of copper and lead in palm oil by potentiometric stripping analysis is proposed. The metals ions were concentrated as their amalgams on the glassy carbon surface of a working electrode that was coated with a thin mercury film. An ultrasonic bath was used for the extraction of copper and lead from eleven oil samples in a mixture 1:1 (v/v) of concentrated hydrochloric acid and hydrogen peroxide. An efficient extraction of copper and lead (~100 %) was attained after 60 min of ultrasonic pre-treatment. A good relation between the amount of sample and the time necessary for complete liberation of the metals was observed. Quantitative analysis was carried out by the method of standard additions; a good linearity was obtained in the range of the concentrations examined. Detection limits of 150 and 13 ng L⁻¹ were found for Cu and Pb, respectively, in the original samples. The average values found for the analysed samples were in the range 1.55-16.54 µg g⁻¹ for copper and 0.04-0.37 µg g⁻¹ for lead. The palm oil samples were also analyzed by graphite furnace atomic absorption spectrometry (GFAAS), showing a very good correlation between the results.

Capítulo 1

INTRODUÇÃO

As etapas preliminares de processos analíticos são metas determinantes da química analítica atual. Nos últimos vinte anos, muitos pesquisadores vêm trabalhando no desenvolvimento de métodos de detecção mais sensíveis e no tratamento de dados, entretanto, etapas preliminares como a abertura da amostra, ainda vêm sendo pouco exploradas, as quais são baseadas em métodos ultrapassados. O atraso é parcialmente devido à variedade de matrizes das amostras, que por sua vez requerem diferentes tratamentos para cada caso [1].

Atualmente, os objetivos a serem alcançados envolvem a obtenção do melhor resultado, no menor tempo, com mínima contaminação, pouco gasto de reagentes e pequena geração de resíduos e efluentes, bem como a integridade das amostras e a interpretação dos resultados obtidos, tendo em mente a qualidade e confiança nos resultados obtidos, como requerido pela comunidade e usuários [2].

Geralmente, mesmo a mais simples matriz de amostra está inadequada para análise direta. Em muitos casos, ela está muito diluída, muito concentrada ou simplesmente é incompatível com o equipamento de trabalho. Assim, geralmente algumas etapas analíticas necessitam ser desenvolvidas para tornar a amostra apropriada ao detector, sob condições ideais. Este processo pode envolver uma ou mais etapas, tais como dissolução ou lixiviação (amostras sólidas), clareamento, pré-concentração e derivatização [3].

A completa dissolução de um sólido é desejada quando a amostra é de fácil solubilização, quando existem analitos de diferentes características químicas a serem determinados, ou quando os analitos são de difícil separação da matriz. A dissolução de amostras requer muitas vezes um processo de digestão, o qual pode ser acelerado utilizando altas temperatura e pressão [4], microondas [5] ou ultra-som [6-8]. Dentre estes meios de energia auxiliar, a energia de microondas tem sido a mais amplamente utilizada, mas possui um custo elevado quando comparada as outras técnicas [9].

O processo de extração denominado lixiviação, que permite remover apenas alguns componentes de uma amostra, é mais desejável que a dissolução, pelo fato de o lixiviado ou “extrato” possuir menos interferentes em potencial, e assim, as etapas de separação e purificação podem ser evitadas ou minimizadas. Em geral, este processo pode ser realizado pelas mesmas fontes de energia que os processos de dissolução [1].

1.1. A energia de ultra-som na preparação de amostras

Ultra-sons são ondas mecânicas que se propagam através de qualquer meio material com frequência maior que 20 kHz, que respondem por uma região do espectro acústico, o qual é subdividido em três regiões principais – a faixa de infra-sons ($\nu < 20$ Hz); a faixa sons ($20 \text{ Hz} < \nu < 20 \text{ kHz}$), perceptíveis aos humanos; e a faixa dos ultra-sons ($\nu > 20 \text{ kHz}$). Para esta frequência ultrassônica, pode ser assumida ainda, uma divisão de faixas: a dos ultra-sons de baixa frequência ($20 \text{ kHz} < \nu < 1 \text{ MHz}$) e de alta frequência ($\nu > 1 \text{ MHz}$). As ondas ultrassônicas de baixas frequências são aquelas que podem apresentar alta potência, enquanto que as ultrassônicas de alta frequência têm baixa potência, podendo ser aplicadas, principalmente, para fins de diagnóstico seja na medicina ou na engenharia. As ondas ultrassônicas de baixa frequência levam a alterações químicas e físicas no meio líquido onde estas são aplicadas [10].

A base dos atuais geradores de ultra-som (US) foi estabelecida há tempos atrás, em 1880, com a descoberta do efeito piezelétrico pelos Curies [11]. A maioria dos dispositivos modernos de US conta com transdutores (conversores de energia), os quais são compostos por materiais piezelétricos. Estes materiais respondem à aplicação de um potencial elétrico nas faces opostas com uma pequena mudança nas dimensões.

Geradores de ondas ultrassônicas de baixa frequência são comumente empregados em laboratórios de química e de biologia, seja para a limpeza de materiais,

seja para o rompimento de paredes celulares. Os equipamentos usualmente empregados são o banho e a sonda ultrassônica [10].

Os banhos de US são fabricados pelo acoplamento de um ou mais cristais piezelétricos na parte inferior de um vaso metálico, preferencialmente construído em aço. Aplicando uma diferença de potencial nas faces laterais de um transdutor piezelétrico, são provocadas vibrações nas faces perpendiculares do dispositivo, e este vibrará a uma frequência pré-determinada. Banhos ultrassônicos com frequência de 20 e 40 kHz são os mais comumente empregados [10].

Quando líquidos são submetidos às ondas ultrassônicas de alta potência, estas produzem intensas e sucessivas ondas de compressão e rarefação no meio, no qual, dependendo da viscosidade, pode ocorrer o surgimento de cavidades de dimensões microscópicas durante uma fase de rarefação. A ocorrência de gases e vapores no meio irradiado faz com que moléculas de gases e vapores migrem para o interior das cavidades. Nos sucessivos ciclos de compressão e rarefação, as dimensões da cavidade vão aumentando até que seja atingido um diâmetro crítico, quando esta finalmente sofre colapso [10].

A irradiação de US em soluções aquosas induz o fenômeno de cavitação acústica no meio líquido, que se trata da formação, crescimento e implosão de bolhas de gás. No centro de implosão destas bolhas, temperaturas ao redor de 5000 K e pressões de várias centenas de atmosferas são produzidas, ocasionando inclusive a formação de radicais hidroxila e peróxido (a partir da hidrólise da água). Este fenômeno de cavitação gerado pelo US vem sendo empregado na extração de elementos de diversas matrizes sólidas para o meio aquoso [12].

O estudo dos efeitos químicos do US é uma área de rápido crescimento, e é denominada sonoquímica. Alfred L. Loomis relatou os primeiros efeitos químicos do US em 1927, mas o campo da sonoquímica foi esquecido por cerca de 60 anos. O renascimento deste campo ocorreu nos anos 80, logo após o advento de geradores de US laboratoriais de alta intensidade, seguros e baratos. Alguns aspectos mais

importantes da sonoquímica têm sido aplicados na síntese e modificação de materiais tanto orgânicos quanto inorgânicos [11]. Ultra-som de alta intensidade pode induzir conseqüências químicas e físicas. Os efeitos químicos englobam três áreas: sonoquímica homogênea de líquidos, sonoquímica heterogênea de líquido-líquido ou sólido-líquido e sonocatálise (a qual pode englobar os outros dois). Os efeitos físicos do US de alta intensidade, que podem às vezes apresentar conseqüências químicas, incluem aumento do transporte de massa, emulsificação, aquecimento localizado (*bulk thermal heating*) e uma variedade de efeitos em sólidos.

As conseqüências químicas do ultra-som de alta intensidade não surgem pela interação de ondas acústicas a nível molecular ou atômico. Ao contrário, em líquidos irradiados com ultra-sons de alta intensidade, a cavitação acústica (formação, crescimento e colapso de bolhas) fornece o mecanismo primário dos efeitos sonoquímicos. Durante a cavitação, o colapso das bolhas produz energia local e altas pressões em um curto tempo de vida. Estes pontos de energia local com temperaturas na ordem de 5000 K, pressões de cerca de 1000 atm e taxas de aquecimento e resfriamento de cerca de 10^{10} K/s orientam reações químicas de alta energia [11].

Com este enfoque, a energia ultrassônica pode ser empregada para a preparação da amostra se a mesma, após aplicação do US estiver pronta para detecção (ex: a energia de US ser capaz de gerar componentes coloridos para monitoração fotométrica) ou no pré-tratamento da amostra, quando o US acelera uma etapa de extração, após a qual o extrato é submetido a clareamento, pré-concentração e/ou separação cromatográfica, previamente a detecção. Em geral, amostras sólidas requerem tratamentos complexos e mais demorados que as amostras líquidas, assim, são as que mais freqüentemente usam o US [13].

A energia liberada durante a cavitação acústica fornece excelentes perspectivas para o preparo e/ou tratamento de amostras e para descontaminação de efluentes, devido às modificações físicas e químicas resultantes deste processo, o que tem impulsionado novas estratégias de preparo de amostras. Em sistemas heterogêneos, o

tratamento é favorecido devido a fenômenos de emulsão nas interfaces de sistemas líquido-líquido, lixiviação na superfície em sistemas sólido-líquido, erosão, fragmentação e aumento da área superficial de partículas sólidas em decorrência das ondas de choque originadas da implosão das micro-bolhas, e a diminuição do gradiente de concentração pelo aumento do transporte de massas ocasionado pela turbulência e micro-jatos [14-16].

Adicionalmente, a energia ultrassônica vem recebendo grande atenção e sua aplicação para o preparo de amostras vem sendo extensivamente explorada, principalmente no desenvolvimento de procedimentos de extração. O crescente interesse refletido pelas recentes revisões [3,8,15] sobre o assunto deve-se à simplicidade de operação, condições mais seguras para o analista, uma vez que os métodos possibilitam a operação à pressão e temperatura ambientes, além da redução do uso de ácidos e oxidantes, o que também minimiza as perdas de elementos voláteis e gera menos resíduos a serem descartados. Apesar da baixa potência de irradiação do US e falta de reprodutibilidade de extrações verificada na literatura [3,8], há um grande número de estudos aplicando o banho ultrassônico no tratamento de amostras de solos e sedimentos [17-21], biológicas [22-24], alimentícias [25-26], e de óleos derivados de petróleo [27-28]. Por outro lado, a utilização da sonda também tem sido amplamente aplicada em extrações de diversos elementos de amostras biológicas [29-34], plantas [35-36], sedimentos [33,37-38] e derivados de petróleo [39]. Uma desvantagem da utilização de sondas é a introdução de contaminantes da sonda metálica (normalmente titânio) para a solução a ser analisada [30, 39]. A Tabela 1 mostra algumas das aplicações da extração assistida por US que foram desenvolvidas em sistemas simples utilizando o banho ou a sonda ultrassônica.

Tabela 1. Aplicações de extração assistida por US.

Analito	Matriz da Amostra	Tipo de US	Eficiência da extração %	Tempo de US	Ref.
Metais traço	Solo	Banho	~100	9 min	[7]
Metais traço	Cebola	Banho	-	30 min	[40]
Cu, Pb, Zn	Solo	Banho	67-148	4 h	[18]
Inseticidas carbamatos	Solos	Banho	82-99	15 min	[41]
Cobalaminas	Amostras biológicas	Sonda	94,8-101,1	1 min	[42]
Saponinas	Ginseng (raiz)	Sonda/banho	99,6-104	120 min	[43]
Fármacos	Sedimentos de rio	Banho	55-108	60 min	[44]
Selênio	Frutos do mar	Sonda	99,5-103	3 min	[45]
Arsênio	Alimentos	Banho	78-108	30 min	[46]

A grande maioria dos artigos que descrevem a utilização da energia ultrassônica para o preparo de amostras, principalmente para promover extrações, foi aplicada para determinações espectrofotométricas. A provável razão de poucas metodologias de extrações voltadas para eletroanálise [21-25] está na interferência de compostos orgânicos residuais dos processos de extração, sendo necessárias etapas adicionais de preparo de amostra para reter os interferentes através de filtrações [47-49] ou mesmo a decomposição destes, sendo o sistema por irradiação UV o mais utilizado [50].

Vários são os trabalhos que utilizam US para acelerar o processo de tratamento de diversos tipos de amostra, principalmente para análise de metais. Zakharova e colaboradores analisaram o teor de arsênio de diversas matrizes de alimentos, por técnicas eletroanalíticas, otimizando o processo de extração com o uso de US. A Tabela 2 mostra uma comparação do tempo despendido com a técnica de extração por US com a metodologia tradicional desenvolvida para análise de arsênio em diferentes amostras [51].

Tabela 2. Efeito da radiação ultrassônica no progresso de digestão ácida, na recuperação de As e no tempo de recuperação, em diversas matrizes de alimentos.

Amostra	Massa (g) ou volume (mL)	Concentração de As, mg kg ⁻¹		Tempo US, s	Duração total (h)	
		Adicionado	Encontrado		Com US	Sem US
Leite	2,000	0,050	0,048	30	2,75	3,0
Amido	1,000	0,100	0,087	60	3,25	4,6
Farinha	0,500	0,200	0,178	60	3,80	5,0
Açúcar	0,200	0,500	0,484	60	4,30	5,5
Óleo vegetal	Alíquota 1 mL	0,100	0,064	60	10,30	10,5
Manteiga	Alíquota 1 mL	0,100	0,072	60	8,20	8,5
Cebola	0,500	0,200	0,199	10	0,70	1,3
Tomate	0,500	0,200	0,189	30	2,00	2,6
Cenoura	0,500	0,200	0,201	30	2,25	2,7
Repolho	0,500	0,200	0,178	30	2,00	2,5
Salsa	0,500	0,200	0,178	10	1,20	2,3
Proteína de soja	0,100	1,000	Não encontrado	60	1,50	2,0
Farelo de fígado	1,000	0,100	0,093	60	4,00	4,3
Carneiro	1,000	0,100	0,083	60	3,80	4,0

1.2. Dendê – usos e aplicações

O dendê (*Elaeis guineensis*) é uma palmeira de origem africana que chegou ao Brasil no século XVI e se adaptou ao litoral sul da Bahia. Os frutos desta palmeira possuem uma característica única entre as oleaginosas. De seus frutos são extraídos dois tipos de óleo: o de palma, retirado da polpa ou mesocarpo, que é usado principalmente por suas propriedades comestíveis e o de palmiste, obtido da amêndoa ou endosperma, que tem ampla utilização na indústria oleoquímica. É uma palmeira perene e grande produtora de óleo, com rendimento aproximado de 3,7 ton de óleo por hectare por ano. O óleo de palma tem ocupado nos últimos anos, lugar de destaque na produção mundial de óleos e gorduras. Prova disso foi o expressivo crescimento da participação deste tipo de óleo no mercado mundial. Comparado à situação de outros óleos, a do óleo

de palma o coloca como produto industrial oleaginoso de maior potencial mercadológico no futuro próximo. Os principais países produtores são a Malásia, com produção média anual no período 2001/2005 estimada em 11 milhões de toneladas, e a Indonésia, com produção média anual nesse mesmo período, estimada em 8,3 milhões de toneladas. O Brasil, apesar de possuir áreas geográficas com amplas condições favoráveis ao cultivo do dendê e produção dos óleos de palma e palmiste, ainda participa de forma incipiente deste mercado, com uma produção anual girando em torno de 115 mil toneladas, não chegando a atingir 1% do total produzido na Malásia, ocupando o 13º lugar entre os países produtores [52].

Durante as últimas décadas, o óleo de palma tem emergido como importante óleo comestível. De uma produção de 3,7 milhões de toneladas em 1976-1980, uma pequena porcentagem de 7,1% da produção mundial de óleos e gorduras, no período de 1996-2000 sua participação alcançou 18,2 milhões de toneladas (17,5% da produção total de óleos e gorduras), tornando-o o segundo óleo mais abundante após o óleo de soja. [53]

Estima-se que no período de 2008/2012, a produção mundial do óleo de palma deverá superar a produção individual de todos os demais óleos e gorduras, atingindo uma média anual de 30 milhões de toneladas, contra 29,1 milhões de toneladas do óleo de soja, 15,5 milhões de toneladas do óleo de canola e 12,1 milhões de toneladas do óleo de girassol [52].

Segundo Moretti (1998), o elevado consumo de óleo de palma se deve ao seu relativo baixo custo devido à elevada produtividade das áreas cultivadas e a sua grande funcionalidade como matéria-prima para alimentos [53].

Sendo semi-sólido, o óleo de palma apresenta propriedades físicas necessárias para múltiplos usos em alimentos. Sua consistência favorece o seu emprego na formulação de produtos gordurosos sólidos. O óleo de palma, a oleína e a estearina são amplamente utilizados na fabricação de margarinas, manteigas e vanaspati (produto gorduroso alternativo à manteiga animal usado em países asiáticos), e também na indústria de frituras em todo mundo, uma vez que não requer um custoso processo de

hidrogenação, este óleo torna-se mais econômico sob o ponto de vista industrial, além de evitar a formação de ácidos graxos trans, formados durante a hidrogenação parcial. Como outros óleos vegetais, é facilmente digerível, assimilável e utilizável como fonte energética. Seu conteúdo em antioxidantes naturais e sua estabilidade a temperaturas elevadas o convertem em um meio adequado para frituras, conferindo aos produtos uma vida de prateleira mais longa, além de ressaltar o sabor natural dos alimentos. Os produtos mais recentes são o óleo vermelho de palma e a oleína vermelha de palma, que retêm mais de 80% dos carotenos, e seu alto nível natural de vitamina E, originalmente presentes no óleo de palma cru e que normalmente são perdidos durante o processo tradicional de refino [55].

Cerca de 90% do óleo de palma bruto produzido mundialmente é utilizado na fabricação de produtos gordurosos. Os produtos alimentícios gordurosos onde ele e/ou seus derivados são utilizados estão sumarizados na Tabela 3 [56].

Tabela 3. Produtos alimentícios formulados com óleo de palma e afins.

Produto	Derivado utilizado	Processamento	Utilização
Óleo líquido limpo	Oleína de palma RBD*	Refino e fracionamento	Óleo de mesa e cozinha
Gorduras (shortenings)	Óleo de palma RBD Estearina de palma Oleína de palma	Refino Fracionamento Hidrogenação Interesterificação	Gorduras industriais para panificação, recheios, sorvetes
Margarinas e cremes vegetais	Óleo de palma RBD Estearina de palma Oleína de palma	Refino Fracionamento Hidrogenação Interesterificação	Domiciliar em mesa e cozinha e indústria de alimentos
Óleos para fritura	Óleo de palma RBD Oleína de palma Estearina de palma	Refino Fracionamento Hidrogenação	Compostos para fritura industrial leve e profunda
Manteigas duras	PMF (fração intermediária de palma)	Refino Fracionamento Refracionamento	Confeitarias, coberturas e substitutos da manteiga de cacau
Super-oleína	Oleína de palma	Fracionamento em solvente	Óleos dietéticos de assimilação rápida
Estearina dura	Óleo de palma Estearina de palma	Fracionamento Refracionamento	Iniciadores de cristalização, shortenings, margarinas mono e diglicerídeos
Mono e diglicerídeos, ésteres	Óleo de palma RBD Oleína de palma Esterarina de palma	Refino Glicerínólise	Emulsificantes para cremes vegetais e produtos alimentícios

*RBD – Refined, Bleached & Deodorised

O azeite de dendê continua sendo um ingrediente importante em aplicações alimentares que requerem gorduras sólidas não hidrogenadas. Parece ser nutricionalmente superior a gorduras hidrogenadas por não aumentar os níveis de colesterol total (CT), bem como o colesterol de baixa densidade (LDL), ao mesmo tempo em que auxilia no aumento benéfico dos níveis do colesterol de alta densidade (HDL). A respeito de seus ácidos graxos, os componentes menores presentes no dendê, especialmente os

tocotrienóis, têm sido relacionados com a redução dos níveis de CT e LDL, por sua capacidade de suprimir a atividade enzimática da HMG-CoA redutase (3-hidroxi-3-metilglutaril coenzima A redutase). Estas descobertas dão mérito à reavaliação do efeito nutricional do azeite de dendê e palmítico nos níveis séricos de lipídios bem como os lipoprotéicos, especialmente devido ao fato de que tais óleos continuam sendo até hoje um dos mais importantes óleos comestíveis para consumo humano. [57]

A composição química e bioquímica do dendê é bastante complexa, sendo os maiores constituintes os triacilgliceróis formados a partir da combinação dos ácidos graxos mirístico, palmítico, esteárico, oléico e linoléico. Como menores constituintes, pode se dividir em dois grupos: os derivados de ácidos graxos, tais como ésteres, esteróis, fosfatídeos e glicerídeos. O segundo grupo exclui classes de compostos não relacionados quimicamente aos ácidos graxos, tais como: hidrocarbonetos, álcoois alifáticos, esteróides livres, tocoferóis, pigmentos e metais traço [58].

1.3. Metais no dendê

Metais traço podem estar presentes como complexos associados a proteínas, fosfolipídios e lipídios ou não-lipídios carreadores. No óleo de palma bruto, estes metais podem ser originários por contaminação pelo solo e fertilizantes. Metais traço no azeite de dendê também podem surgir durante o processo de beneficiamento do fruto, nos tanques de armazenamento e de transporte [59].

O uso de aço inoxidável para certas máquinas moedoras que tem grande contato com o fruto pode ajudar na redução da contaminação por metais [59].

Estes metais também podem estar presentes como impurezas sólidas no óleo. Ferro pode estar presente em misturas coloidais com proteínas e material celulósico, ou como outro material micro-particulado como os compostos de cálcio, magnésio e fosfato.

O ferro e o cobre são agentes pró-oxidantes e seus níveis no óleo de palma devem ser evitados. Tais metais catalisam a decomposição de hidroperóxidos em

radicais livres. Dentre estes dois, o cobre é o mais potente, sendo dez vezes mais ativo que o ferro. O cobre acelera a taxa de degradação de hidroperóxido, por conseguinte aumenta a produção de produtos de oxidação secundários, enquanto o ferro aumenta a taxa de formação de peróxido [58, 60-62]. Os níveis de cobre e ferro encontrados nos frutos brutos e processados do dendezeiro são de 2,7 a 1,7 mg/100 g de matéria seca para o Cu, e 22 a 11 mg/100 g de matéria seca para o Fe [63].

Outros metais encontrados no óleo de palma são o manganês, cádmio e chumbo. A atividade pró-oxidante do Mn equipara-se ao do Cu e Fé, e está presente em uma concentração de 1 ppm no óleo de palma bruto. Cádmio e chumbo são encontrados em concentrações muito baixas e seus efeitos oxidantes aparentemente são negligenciáveis [58].

O “Codex Alimentarius Commission” da Organização Mundial de Saúde (OMS), padroniza como concentração máxima de 0,1 mg/kg de Pb e de Cu, permitido em óleos vegetais refinados para fins alimentícios. Em óleos virgens, a concentração máxima permitida para o Cu é de 0,4 mg/kg [64].

EKPA, ALKPAN e UDOH (1993) realizou a análise mineral do óleo de palma por espectrometria de absorção atômica, após digestão da amostra [65]. Para os íons Na e K faz-se uso da fotometria de chama, e a espectrometria de absorção de chama para determinação de Ca, Mg, Fe, Zn, Cu e Pb.

1.4. Técnicas eletroanalíticas na determinação direta de metais em amostras com alto teor de matéria orgânica

Após a descoberta de Baker e Jenkins sobre a possibilidade de pré-concentrar espécies eletroativas na gota de um eletrodo de mercúrio conferindo grande aumento de sensibilidade, a polarografia ganhou novo impulso como técnica analítica tornando-se mais popular [66]. O processo de pré-concentração pôde ser estendido para outros eletrodos permitindo ganhos em sensibilidade na ordem de 100 a 1000 vezes e

diminuição dos limites de detecção por 2 a 3 ordens de magnitude, alcançando concentrações abaixo de 10^{-10} mol L⁻¹ [67]. Estas técnicas eletroanalíticas são denominadas na literatura de análise por redissolução (*Stripping Analysis*) e vêm sendo aplicadas para análises de amostras ambientais, biológicas, alimentícias e de interesse industrial. O desenvolvimento de instrumentação portátil, simples e de baixo custo aliado à característica de sensibilidade e seletividade das técnicas de análise por redissolução tornaram-na popular dentro da química analítica [68]. O desafio atual das técnicas eletroanalíticas encontra-se na miniaturização dos sistemas analíticos e análises em tempo real [69]. No uso de técnicas eletroanalíticas, a etapa de pré-tratamento da amostra torna-se um processo de extrema importância, principalmente com relação à eliminação de compostos orgânicos presentes em solução, uma vez que estes provocam a “passivação” do eletrodo através do processo de adsorção destas espécies a sua superfície, interferindo nas medidas eletroquímicas.

JAGNER e GRANELLI demonstraram a possibilidade da análise de amostras biológicas, mais precisamente fluidos biológicos, diretamente sem qualquer pré-tratamento usando a técnica de redissolução potenciométrica (*Potentiometric Stripping Analysis*, PSA) [70]. Eles demonstraram a potencialidade da técnica, frente às técnicas de redissolução voltamétrica anódica, no que se refere à eliminação de processos de passivação do eletrodo, devido à matriz orgânica das amostras. A etapa de pré-concentração das espécies metálicas na superfície do eletrodo ocorre da mesma forma que no processo amperométrico, enquanto que na etapa de redissolução um agente químico é responsável pela oxidação das espécies no eletrodo. Dessa forma como não há corrente aplicada ao eletrodo de trabalho, espécies eletroativas orgânicas da matriz da amostra não interferem nos picos de redissolução, ocorrendo o mesmo com o oxigênio dissolvido. Através da simples diluição da amostra no eletrólito adequado, cádmio e chumbo foram determinados em sangue, soro e urina [71-73], além de bebidas como vinho e cerveja [74,75] e em mel [76].

Entretanto, amostras com alto teor de matéria orgânica em sua composição, como alimentos, petróleo e produtos derivados, e mesmo amostras de sedimentos são exemplos de matrizes que não permitem a determinação direta de metais por PSA ou qualquer outra técnica eletroanalítica através da simples diluição das amostras em eletrólito. Nestes casos, a matriz deve ser eliminada, ou melhor, os analitos devem apresentar-se em uma solução que possibilite a medida eletroquímica e a conseqüente determinação dos elementos.

1.5. Objetivos

OBJETIVO GERAL

Dentro deste contexto, figurou como principal objetivo deste projeto a determinação de cobre e chumbo em amostras de azeite de dendê usando técnicas eletroanalíticas, mais precisamente técnicas de redissolução, e avaliação da técnica de extração assistida por ultra-som para abertura das amostras.

OBJETIVOS ESPECÍFICOS

- Desenvolvimento de uma metodologia para extração de cobre e chumbo de amostras de azeite de dendê, por decomposição da matriz oleosa utilizando uma mistura reacional/extratora de peróxido de hidrogênio e ácido clorídrico e/ou nítrico concentrados;
- Otimização das condições de extração, volumes de reagentes e tempo de exposição à radiação ultrassônica;
- Estudo para escolha do eletrodo de trabalho mais adequado para a determinação simultânea de cobre e chumbo usando as técnicas eletroanalíticas de redissolução;

- Otimização de uma metodologia eletroanalítica para determinação simultânea de cobre e chumbo nas amostras de azeite de dendê;
- Avaliação do potencial e do tempo de pré-concentração dos analitos de interesse;
- Avaliação dos níveis de cobre e chumbo em amostras de azeite de dendê artesanais e industrializadas;
- Comparação dos níveis de cobre e chumbo nas amostras de azeite de dendê obtidas pelas técnicas eletroanalíticas de redissolução com as obtidas usando a espectrometria de absorção atômica.

Capítulo 2

PARTE EXPERIMENTAL

2.1. Reagentes e Soluções

Todas as soluções foram preparadas com água deionizada (Milli-Q – Quantum Ex), com resistividade maior ou igual a 18 MΩ cm.

HCl (37% m/v) P.A. (Vetec) foi utilizado para o preparo do eletrólito suporte para as análises de redissolução (potenciométrica e voltamétrica). Para os procedimentos de digestão e extração das amostras foram utilizados: HNO₃ (65 % m/v - Vetec), HCl (37 % m/v - Vetec), H₃PO₄ (85 % m/v – Vetec) e H₂O₂ (30 % m/v - Vetec) de alto grau analítico.

As soluções analíticas dos metais foram preparadas a partir de diluições das soluções padrões da Titrisol 1000 mg g⁻¹ (Merck) dos respectivos metais (Cu, Pb, e Hg) em meio de ácido nítrico 0,30 mol L⁻¹. Soluções cuja concentração do metal estava na faixa de µg L⁻¹ foram preparadas a partir de soluções estoque, por sua vez preparadas a partir das soluções 1000 mg g⁻¹.

Uma solução de HgCl₂ 5 mmol L⁻¹ preparada a partir do sal, o qual foi adquirido da Merck, foi usada para a modificação eletroquímica do eletrodo de trabalho a ser aplicado nas análises eletroquímicas.

2.2. Instrumentação e materiais

Para a realização de todas as medidas eletroquímicas, um potenciostato µAutolab Type III (EcoChemie, Utrecht, Holanda) interfaceado a um microcomputador foi usado.

Um espectrômetro de absorção atômica com atomização eletrotérmica ZEE nit 60 (AnalytikjenaAG, Jena, Alemanha) foi aplicado às determinações de cobre e chumbo nas amostras de azeite de dendê extraídas por ultra-som.

Para a extração das amostras de azeite de dendê, foi utilizado um banho ultrassônico T28110 (Unique – Brasil), operando a frequência de 25 kHz e potência de 120 W. Frascos de vidro de 10 mL (capacidade total) com tampas de látex perfuradas foram utilizados no processo de extração em banho ultrassônico. Os frascos foram

lavados com água deionizada e condicionados em solução ácida (HNO_3 10% v/v) previamente às extrações.

Na Figura 1 são apresentados os instrumentos descritos acima: A) potenciostato, B) banho ultrassônico e C) região dos cristais piezelétricos no banho ultrassônico.

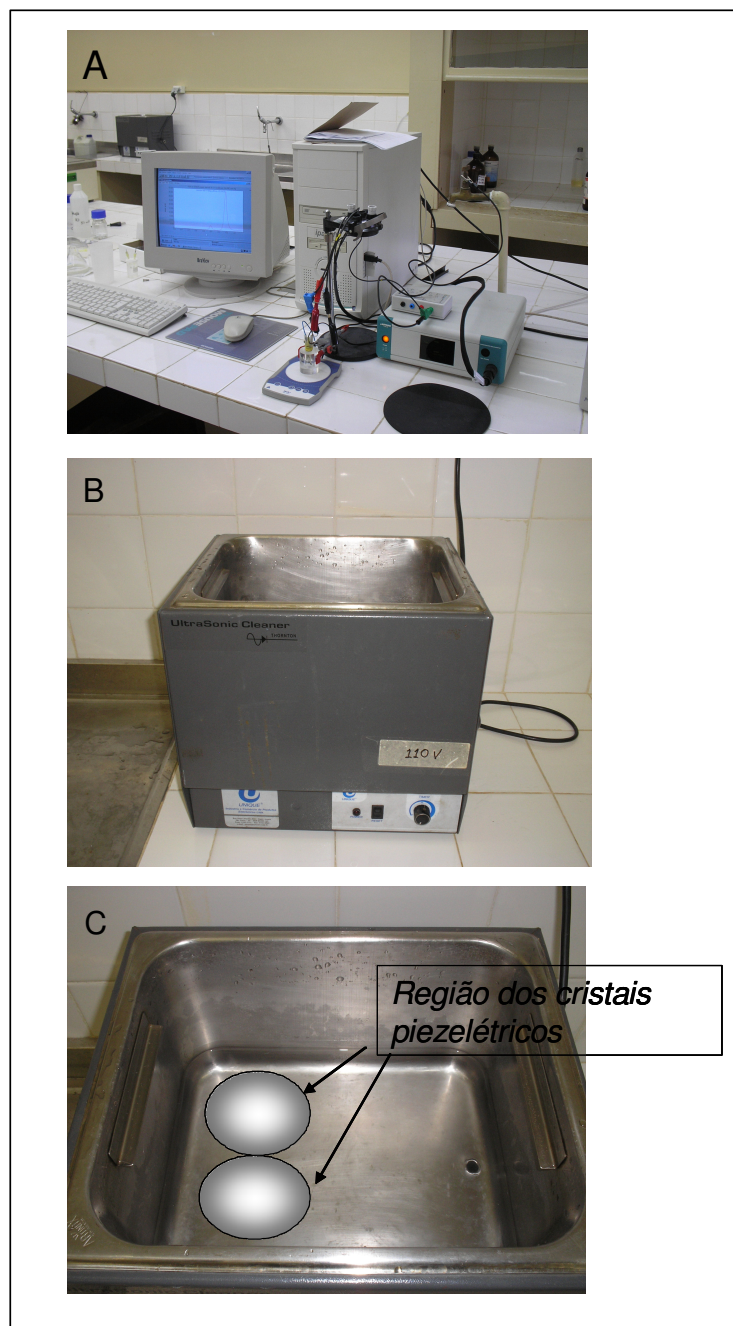


Figura 1. A) Potenciostato μ Autolab Type III, B) Banho ultrassônico T28110 e C) Região dos cristais piezelétricos no banho ultrassônico.

2.2.1. Eletrodos e células eletroquímicas

Um eletrodo de ouro comercial (Metrohm – Suíça) com 3 mm de diâmetro e um eletrodo de carbono vítreo (CV) com 2 mm de diâmetro modificados com mercúrio foram utilizados, alternadamente, como eletrodos de trabalho na montagem da célula eletroquímica na determinação de cobre e chumbo. A modificação do eletrodo de trabalho foi feita usando uma solução de HgCl_2 5 mmol L^{-1} com um potencial de $-0,90 \text{ V}$, durante 300 segundos. Entretanto, estudos posteriores mostraram melhores resultados quando o mercúrio era adicionado à amostra a ser analisada, sendo portanto eletrodepositado em conjunto com os metais de interesse.

O eletrodo de referência miniaturizado $\text{Ag/AgCl}_{(\text{sat})}$ foi construído no próprio laboratório. Constituía de um fio de prata recoberto por AgCl , posicionado no interior de uma ponteira de micropipeta de 10 a $100 \mu\text{L}$, preenchida com solução de KCl saturada [77]. A ponta porosa deste eletrodo (extremidade inferior) foi obtida com a fixação de material microporoso (utilizado originalmente como separador de baterias), sob pressão, no interior da ponteira. Todos os potenciais apresentados neste trabalho são referidos em relação a este eletrodo. Um fio de platina foi utilizado como eletrodo auxiliar.

Células eletroquímicas de acrílico com volume final de 3 mL foram confeccionadas no LAIA (Laboratório de Automação e Instrumentação Analítica) na USP/São Paulo e utilizados como recipientes para as soluções de análise.

Na Figura 2 são apresentados os eletrodos de trabalho, referência e auxiliar, bem como a célula eletroquímica utilizada na análise quantitativa.

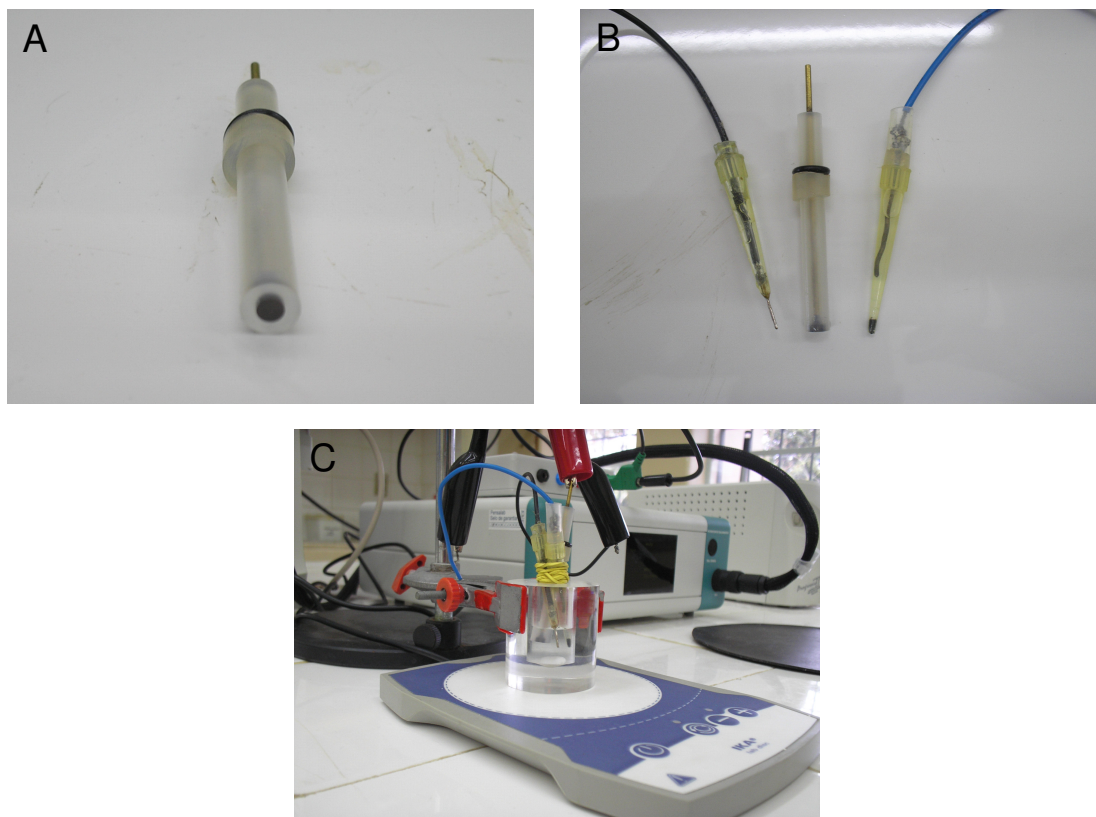


Figura 2. A) Eletrodo de carbono vítreo, B) Conjunto dos três eletrodos (auxiliar, trabalho e referência) e C) Célula eletroquímica realizando análise.

Na Figura 3 é mostrado um esquema da célula eletroquímica com o sistema de três eletrodos, onde A, B e C correspondem aos eletrodos auxiliar, trabalho e referência, respectivamente (os eletrodos foram dispostos de forma triangular entre si). As células eletroquímicas foram lavadas com água deionizada. A agitação do sistema foi realizada por barras magnéticas proporcionais ao tamanho da célula, e fixada para todas as análises em ~ 1500 rpm (IKA-lab disc – Alemanha).

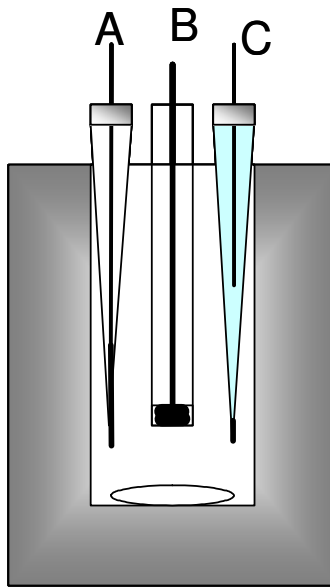


Figura 3. Esquema da célula eletrolítica: (A) Eletrodo auxiliar (fio de Platina), (B) Eletrodo de trabalho (carbono vítreo ou ouro) e (C) Eletrodo de referência (Ag/AgCl_(sat)).

2.3. Amostras

Onze amostras de azeite de dendê foram adquiridas em redes de supermercados e feiras livres de diversas regiões do país. Foram classificadas de acordo com o seu processo de fabricação como artesanais e industriais. As amostras foram catalogadas e identificadas. A Figura 4 mostra a disposição e o aspecto das amostras analisadas.



Figura 4. Amostras de azeite de dendê.

2.4. Metodologia analítica

2.4.1. Otimização das condições eletroquímicas

2.4.1.1. Avaliação da sensibilidade da resposta analítica do eletrodo de trabalho para as medidas eletroquímicas de Pb e Cu

Foram feitos estudos de sensibilidade da resposta analítica de Cu e Pb empregando-se dois tipos de eletrodos de trabalho na célula eletroquímica: um eletrodo comercial de ouro, modificado com mercúrio e um eletrodo de carbono vítreo (CV), também modificado com mercúrio.

Nestes estudos, definiu-se por usar a técnica de redissolução voltamétrica de onda quadrada (SWSV), os parâmetros eletroquímicos foram fixados conforme mostrado na Tabela 4. Variou-se somente o tempo de pré-concentração, a fim de se determinar em qual dos eletrodos de trabalho seria obtida a melhor resposta analítica, no menor tempo de pré-concentração. Uma solução contendo concentrações conhecidas de padrões de Cu 0,60 mg L⁻¹ e Pb 0,03 mg L⁻¹ foi utilizada. Variando-se o tempo de pré-concentração de 30 a 400 s foram traçados voltamogramas de onda quadrada para cada eletrodo de trabalho modificado com mercúrio, a fim de se determinar o limite de tempo ideal para a determinação das espécies metálicas em estudo.

Tabela 4. Parâmetros utilizados para estudo dos eletrodos.

Parâmetros eletroquímicos	
E limpeza	0 mV
T limpeza	10 s
E deposição	-1,4 mV
t equilíbrio	15 s
E degrau	0,051 mV
Amplitude	0,02505 mV
E limite	0,1 mV

2.4.1.2. Avaliação das técnicas de redissolução voltamétrica e potenciométrica para determinar cobre e chumbo usando eletrodo de carbono vítreo modificado “off-line” com mercúrio nas amostras de azeite de dendê usando o método de extração assistida por ultra-som

As amostras digeridas foram analisadas pelas técnicas de voltametria de redissolução anódica de onda quadrada e de redissolução potenciométrica a corrente constante (CCSP). Foram comparadas as técnicas em termos de sensibilidade e interferência de matéria orgânica residual. A partir destes resultados, o método mais adequado foi escolhido. Os parâmetros eletroquímicos foram fixados conforme mostrado na Tabela 5. Para este estudo foi utilizado o carbono vítreo modificado com mercúrio como eletrodo de trabalho. A Tabela 6 mostra as principais diferenças entre as duas técnicas estudadas nesta etapa do trabalho.

Tabela 5. Parâmetros utilizados para estudo da técnica eletroquímica nas amostras digeridas de dendê.

Parâmetros eletroquímicos		
	SWSV	CCSP
E limpeza	0 V	0 V
t limpeza	10 s	20 s
E deposição	-0,90 V	-0,90 V
t deposição	300 s	120 s
t equilíbrio	15 s	12 s
E degrau	0,051 mV	-
Amplitude	0,02505 mV	-
E limite	0,1 mV	0 V

Tabela 6. Comparação entre a voltametria de redissolução anódica de onda quadrada (SWSV) e a redissolução potenciométrica a corrente constante (CCSP).

SWSV	CCSP
Varredura de potencial na direção anódica.	Varredura de potencial na direção anódica.
Registrou-se um voltamograma, gerando uma curva Gaussiana de $I \times E$.	Potenciostato converteu os valores de $E \times t$ em dE/dt , traçando uma curva Gaussiana de dE/dt versus E .
Corrente de pico proporcional à concentração do analito.	Área do pico proporcional à concentração do analito.
Grande interferência da matéria orgânica residual, pois removia rapidamente o Hg imobilizado na superfície do eletrodo.	Pouca interferência da matéria orgânica residual.

2.4.1.3. Imobilização do mercúrio no eletrodo de trabalho – Modificação “on-line” vs. Modificação “off-line”

A fim de proceder a determinação de Pb e Cu na faixa de potencial aplicada, houve necessidade de, anteriormente à análise da amostra, proceder a modificação da superfície do eletrodo de trabalho com mercúrio, de modo a melhorar a resposta analítica dos metais em estudo, bem como evitar a interferência do hidrogênio molecular gerado na redução da água ao se trabalhar com potenciais negativos. O eletrodo de Carbono Vítreo foi definido como o mais adequado às análises. Nesta etapa do trabalho, foi utilizada a técnica da redissolução potenciométrica à corrente constante, uma vez que naquele momento já se havia concluído que esta técnica apresentava uma menor interferência da matéria orgânica presente na amostra.

A imobilização consistiu em aplicar um potencial negativo (no nosso estudo -0,90 V) num intervalo de tempo pré-estabelecido, no conjunto de eletrodos imerso em uma solução 5 mmol L⁻¹ de HgCl₂. O potencial aplicado foi responsável pela redução dos íons Hg, formando um filme de Hg⁰ na superfície do eletrodo de trabalho.

A técnica de modificação “off-line” consistiu em imergir o conjunto de eletrodos numa célula eletrolítica contendo solução 5 mmol L⁻¹ de HgCl₂ e aplicar um potencial fixo de -0,90 V por 300 s. Em seguida, o conjunto de eletrodos (trabalho, referência e auxiliar) era retirado, lavado e secado cuidadosamente para não danificar o filme de Hg⁰ formado. Utilizava-se então este conjunto de eletrodos para proceder às análises eletroquímicas das amostras. Após análise de cada amostra, desmontava-se a célula eletroquímica, lavava-se o conjunto de eletrodos com água deionizada, polia-se o eletrodo de carbono vítreo numa flanela macia, embebida com uma suspensão de alumina, que então era levado ao ultra-som para limpeza/remoção de material residual. Em seguida montava-se novamente o conjunto de eletrodos para então proceder a uma nova eletrodeposição antes de iniciar a análise da próxima amostra.

O procedimento da técnica de imobilização “on-line” consistiu em se adicionar à célula eletroquímica, contendo a solução da amostra e o eletrólito suporte (HCl 50 mmol L⁻¹), um volume conhecido (20 µL) de solução 5 mmol L⁻¹ de HgCl₂, de modo que ao ser aplicado o potencial de eletrodeposição da etapa de pré-concentração (-0,90 V), este metal fosse reduzido na superfície do eletrodo de trabalho simultaneamente aos metais de interesse, criando um amálgama de Hg⁰ durante o tempo de eletrodeposição. O filme permaneceu aderido durante toda a análise, tendo em vista a solução na célula conter excesso de Hg⁺². Ao ser concluída uma etapa da análise, o eletrodo de trabalho era polido friccionando-o levemente em uma superfície macia (flanela), embebida com uma suspensão de alumina, de modo a retirar todo o mercúrio eletrodepositado, uma vez que na etapa de oxidação dos metais o potencial final utilizado era sempre inferior ao potencial de oxidação do mercúrio. Novo procedimento de eletrodeposição “on-line” era efetuado para cada nova amostra, antes e depois da adição dos padrões de cobre e chumbo.

A fim de avaliar a resposta analítica dos íons Cu e Pb frente ao mesmo eletrodo de trabalho modificado de acordo com as técnicas acima descritas, foram feitas curvas de calibração de uma amostra de dendê e comparados os sinais potenciométricos, bem como a concentração de cobre e chumbo encontradas para cada procedimento.

2.4.2. Desenvolvimento da metodologia de extração

2.4.2.1. Procedimento geral para extração

A fase de extração dos metais do azeite de dendê consistiu em pesar um volume conhecido (100 µL) da amostra em um frasco-ampola de vidro de capacidade de 10 mL e adicionar volumes conhecidos de ácido concentrado (HCl e/ou HNO₃) e/ou peróxido de hidrogênio (mistura reacional). Entretanto, estudos foram realizados, a fim de ser encontrada a composição ideal desta mistura. Uma tampa de látex perfurada com uma ponteira de micropipeta foi utilizada para tampar o frasco com a mistura reacional e a

amostra. Em seguida foi colocado num banho de US contendo água suficiente para cobrir 1/3 do frasco, cerca de 1 litro, numa posição logo acima dos cristais piezelétricos, pois a irradiação de energia ultrassônica ao longo do banho ocorre de maneira irregular. Em estudo anterior, foi verificado que as regiões sobre os cristais piezelétricos do banho (promotora do US) são as de maior irradiação de energia ultrassônica [78]. Dessa forma, os estudos foram conduzidos sobre esta região, que é mostrada na Figura 1. O US foi acionado para funcionar num período de tempo pré-estabelecido, parâmetro também estudado neste trabalho, ao fim do qual o frasco era retirado do US e a solução extratora (mistura do ácido e/ou peróxido de hidrogênio com as espécies extraídas) era então transferida com auxílio de uma pipeta de *Pasteur*, para um novo frasco limpo e descontaminado para proceder a análise.

A temperatura interna nos frascos durante um processo de extração foi monitorada. Um termômetro foi adaptado em uma das tampas dos frascos utilizados para as extrações. Algumas soluções apresentavam o inconveniente da presença de bolhas de gás, o que dificultava uma pipetagem precisa. Para eliminar este problema, as soluções foram transferidas para outros frascos limpos, que foram submetidos a aquecimento por banho-maria por mais 15 minutos, eliminando assim os gases.

Nesta etapa do trabalho, foi estudado o tempo de exposição ao US, variando-o de 0 a 60 minutos. Todas as extrações tiveram sua eficiência avaliada de acordo com o valor de concentração total de cobre e chumbo obtidos na análise eletroquímica, tendo por sua vez seus resultados comparados com os obtidos pelas análises por GFAAS.

2.4.2.2. Estudo da eficiência dos reagentes na extração

Foram utilizadas diferentes proporções da mistura reacional, bem como diferentes tipos de ácidos, a fim de otimizar o processo de extração. Os ácidos utilizados foram o HCl e HNO₃ concentrados. Também foram feitos estudos de extração empregando-se os ácidos isoladamente, uma mistura de HCl e HNO₃ e o peróxido de hidrogênio isoladamente, para um tempo de US de 60 minutos. Foram feitos estudos comparativos

de eficiência da recuperação com e sem o emprego de US. A eficiência de uma única etapa de extração assistida por US também foi avaliada.

2.4.3. Análise das amostras de dendê

Tendo-se encontrado os parâmetros ideais de extração, tempo de extração e proporção dos reagentes da mistura reacional, bem como os parâmetros ideais da análise eletroanalítica, partiu-se para a quantificação simultânea de cobre e chumbo presentes em diversas amostras de azeite de dendê adquiridas em mercados e feiras. As amostras foram subdivididas em artesanais e industriais, seguindo-se para todas elas os mesmos parâmetros de extração e análise.

Os ensaios potenciométricos foram realizados na célula eletroquímica de 3 mL usando como eletrodo de trabalho o eletrodo de carbono vítreo modificado “on-line” com mercúrio. O único eletrólito utilizado neste caso foi o HCl 50 mmol L⁻¹. A técnica de redissolução potenciométrica a corrente constante foi a escolhida para a determinação simultânea de cobre e chumbo, e os parâmetros otimizados estão agrupados na tabela 5. Todas as quantificações foram feitas em triplicata, sendo os resultados comparados com os obtidos pelas análises por GFAAS.

A Figura 5 mostra o procedimento geral da análise das amostras de azeite de dendê, desde a etapa de pesagem da amostra até a análise eletroquímica.

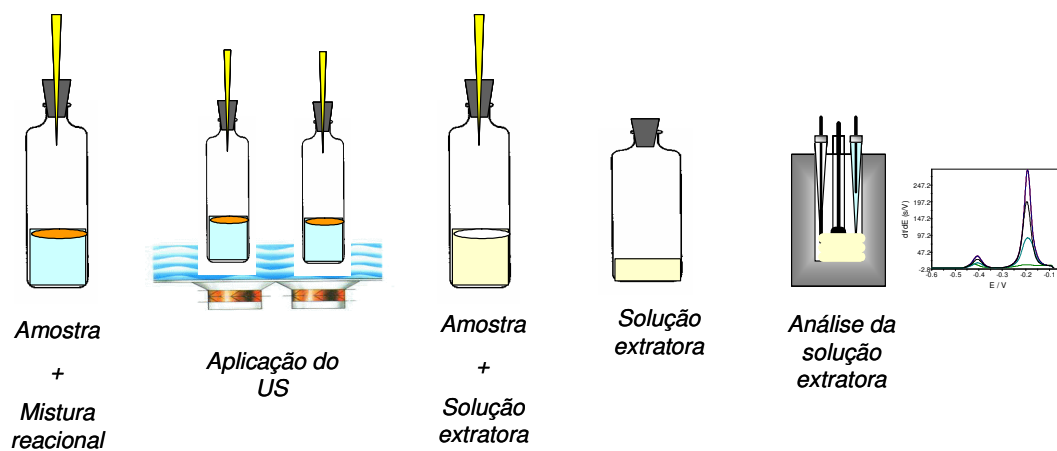


Figura 5. Procedimento geral de análise das amostras de azeite de dendê. (Mistura reacional: ácido e/ou peróxido. Solução extratora: ácido e/ou peróxido contendo as espécies extraídas da fase oleosa).

Capítulo 3

RESULTADOS E DISCUSSÕES

3.1. Avaliação da sensibilidade da resposta analítica do eletrodo de trabalho para as medidas eletroquímicas de Pb e Cu

Eletrodos de filme de mercúrio têm sido largamente utilizados para a determinação de vários elementos em diferentes amostras [47,48,71-96]. Devido ao insucesso nas determinações de chumbo usando eletrodos de ouro e carbono vítreo limpos, avaliamos o eletrodo de filme de mercúrio, eletrodepositado sobre carbono vítreo (condições de formação do filme foram apresentadas na parte experimental) e sobre ouro. A técnica de voltametria de redissolução anódica de onda quadrada foi escolhida para avaliar a sensibilidade dos eletrodos de carbono vítreo e ouro modificados “off-line” com mercúrio, frente a padrões de cobre e chumbo. As primeiras medidas para soluções de padrões de cobre e chumbo mostraram a potencialidade da técnica não só para cobre, mas também para chumbo na mesma janela de potencial. A adição de cloreto do eletrólito suporte também conferiu aumento de sensibilidade para chumbo e especialmente para cobre em eletrodo de filme de mercúrio, devido a formação de complexos dos íons metálicos com o cloreto, que facilita a re-oxidação de ambos os metais [97]. O potencial de eletrodeposição otimizado foi de -0,90 V, pois aplicando potenciais mais negativos não houve ganho ou perda de sinal relativo.

As Figuras 6, 7 e 8 mostram os voltamogramas de redissolução obtidos para uma solução de HCl 50 mmol L⁻¹ com concentrações de chumbo 0,03 mg g⁻¹ e de cobre 0,60 mg g⁻¹ para diferentes tempo de eletrodeposição, os quais variaram de 30 a 400 segundos.

Os parâmetros eletroanalíticos fixados foram: E de limpeza (0,00 V), t de limpeza (10 s), E de pré-concentração (-1,40 V), E de equilíbrio (0,00 V), t de equilíbrio (15 s), faixa varredura de potencial (-0,90 a 0,10 V), degrau de potencial da onda quadrada (0,051 V) e amplitude do potencial (0,02505 V).

Observou-se que o eletrodo de carbono vítreo modificado com mercúrio mostrou uma maior sensibilidade frente ao eletrodo de ouro para o tempo de 300 s. O eletrodo de

carbono vítreo modificado com mercúrio gerou picos Gaussianos proporcionais ao tempo de eletrodeposição para ambas as espécies até o tempo de 300 s, como mostra a figura 6, sendo que de 300 a 400 segundos não foram percebidos incrementos acentuados na corrente de oxidação registrada nos voltamogramas. Para o cobre foi observado uma diminuição do sinal analítico, provavelmente resultante da perda do mercúrio depositado na superfície do eletrodo, afetando a sensibilidade do método.

Os picos Gaussianos apresentados pelo eletrodo de ouro modificado com mercúrio também foram proporcionais entre as correntes de oxidação dos metais e o tempo de eletrodeposição do mercúrio, porém gerando picos menores e menos resolvidos para o cobre, como pode ser observado na Figura 7. Ao se comparar os voltamogramas na Figura 8, percebe-se nitidamente uma maior sensibilidade do eletrodo de carbono vítreo modificado com mercúrio para concentrações iguais de cobre e chumbo, o qual gerou picos maiores e bem resolvidos. A escolha do eletrodo de carbono vítreo modificado com mercúrio se deve ao fato de que nas análises das amostras de dendê as concentrações de cobre e chumbo estão ao nível de traço, necessitando assim de uma resposta analítica mais sensível.

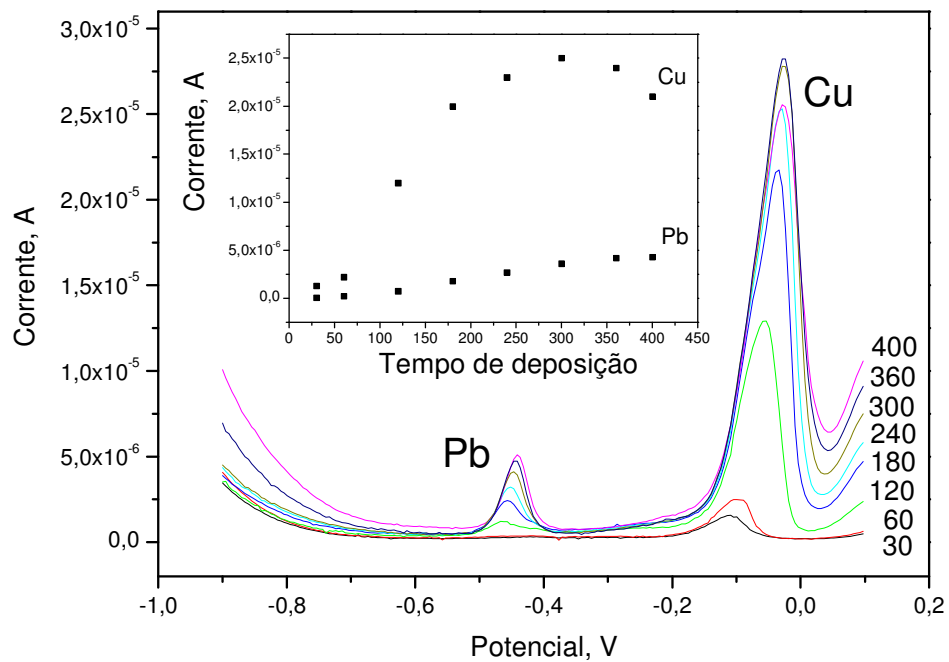


Figura 6. Voltamograma de redissolução de uma solução de HCl 50 mmol L^{-1} com concentrações de $0,03 \text{ mg g}^{-1}$ de Pb e $0,60 \text{ mg g}^{-1}$ de Cu. Eletrodo de trabalho de carbono vítreo modificado com mercúrio. Parâmetros eletroquímicos conforme Tabela 4.

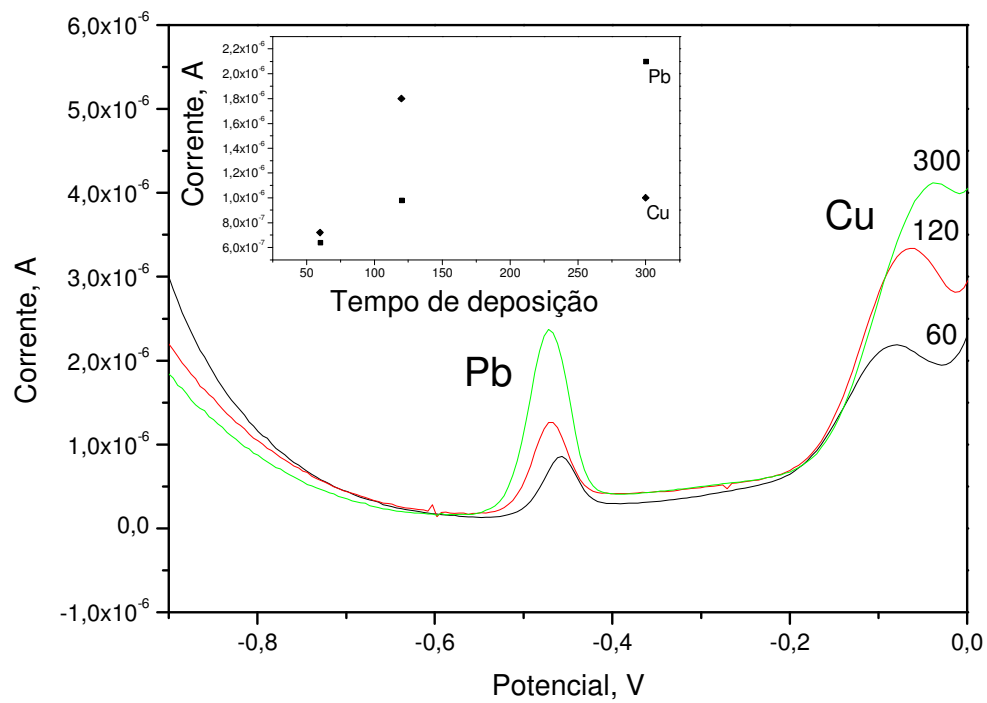


Figura 7. Voltamograma de redissolução de uma solução de HCl 50 mmol L^{-1} com concentrações de $0,03 \text{ mg g}^{-1}$ de Pb e $0,60 \text{ mg g}^{-1}$ de Cu. Eletrodo de trabalho de ouro modificado com mercúrio. Parâmetros eletroquímicos conforme Tabela 4.

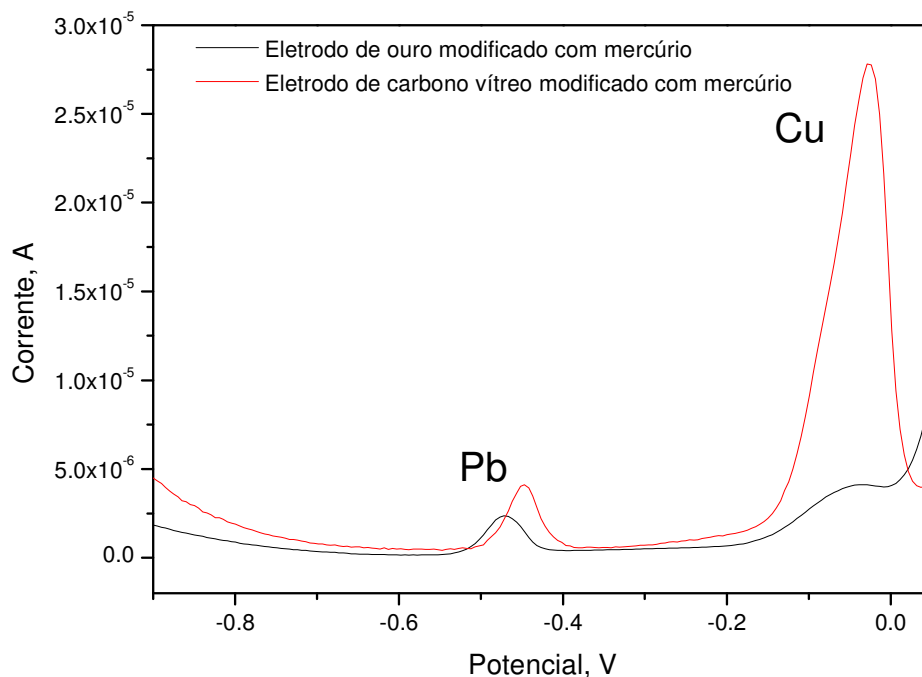


Figura 8. Comparação entre o voltamograma de redissolução de uma solução de HCl 50 mmol L⁻¹ com concentrações de 0,03 mg g⁻¹ de Pb e 0,60 mg g⁻¹ de Cu. Tempo de deposição de 300 s. Parâmetros eletroquímicos conforme Tabela 4.

3.2. Avaliação das técnicas de redissolução voltamétrica e potenciométrica para determinar cobre e chumbo usando eletrodo de carbono vítreo modificado “off-line” com mercúrio nas amostras de azeite de dendê usando o método de extração assistida por ultra-som

As técnicas eletroanalíticas permitem que sejam determinadas concentrações das espécies da amostra na ordem de 10⁻⁹ g g⁻¹ amostra. Nas técnicas em estudo, o metal é concentrado por eletrólise num eletrodo de trabalho. A deposição acontece num potencial fixo pré-estabelecido, onde as espécies metálicas susceptíveis àquele potencial são reduzidas e concentradas na superfície do eletrodo de trabalho, num intervalo de tempo

estipulado, após o qual se varia o potencial numa faixa onde os metais eletrodepositados são re-oxidados em seus potenciais padrões (E), num intervalo de tempo (t).

Na etapa de redissolução da técnica potenciométrica, o potenciostato converte os valores de E vs. t em dE/dt e graficamente traça uma curva Gaussiana de dE/dt versus E, no qual o pico possui uma área proporcional a concentração do analito.

Já na voltametria de redissolução anódica de onda quadrada, na etapa de redissolução, faz-se a varredura de potencial na direção anódica. Ao promover a redissolução da espécie, registra-se um voltamograma gerando uma curva Gaussiana de I versus E, cuja corrente de pico (I_p) é proporcional à concentração da espécie previamente depositada na superfície do eletrodo.

A técnica de redissolução anódica de onda quadrada em *CDtrodos* de ouro (que são eletrodos montados a partir de CDs regraváveis contendo uma fina película de ouro em sua composição) foi utilizada para a determinação simultânea de cobre, chumbo e mercúrio em água naturais, apresentando boa sensibilidade especialmente para o chumbo na presença de íons cloreto [98]. Nesse estudo o potencial de deposição de -0,40 V foi utilizado [98]. No estudo proposto, o eletrodo de ouro e carbono vítreo limpo não pode ser utilizado devido à grande concentração de matéria orgânica presente na amostra e pelo fato de que em potenciais mais negativos acarretaram em irreprodutibilidade e perda de sinal, devido à formação de bolhas de gás sobre a superfície do eletrodo (geração de hidrogênio). Portanto, foi utilizado o eletrodo de carbono vítreo modificado com mercúrio, o qual apresenta uma maior sobrevoltagem ao hidrogênio.

No nosso estudo, a técnica de voltametria de redissolução anódica sofria grande interferência da matéria orgânica residual, que era observada pela rápida deterioração da superfície modificada com Hg^0 do eletrodo de trabalho, dificultando a obtenção de curvas de calibração adequadas. A técnica potenciométrica apresentou pouca interferência da matéria orgânica residual das amostras de dendê, sendo então a técnica eleita para as determinações eletroanalíticas. Considerando-se também a melhor sensibilidade, a

redissolução potenciométrica a corrente constante foi a técnica mais indicada para a determinação de cobre e chumbo.

A Tabela 7 apresenta os valores de limite de detecção, quantificação e sensibilidade para cobre e chumbo obtidos para as técnicas de redissolução voltamétrica de onda quadrada e de redissolução potenciométrica a corrente constante. As condições de análise utilizadas para estimar estes valores são as mesmas indicadas na tabela 5. Neste estudo, a etapa de pré-concentração foi a mesma para ambas as técnicas, sendo aplicados -0,90 V por 300 segundos, com o intuito de compará-las diretamente entre si. A faixa de concentração explorada neste experimento foi de 1,0 a 6,0 $\mu\text{g L}^{-1}$ para o chumbo e 20,0 a 110,0 $\mu\text{g L}^{-1}$ para o cobre. Às soluções foram adicionadas 50 mmol L^{-1} de HCl como eletrólito suporte. O mesmo eletrodo de carbono vítreo modificado com mercúrio (mesma área) foi utilizado para todas as medidas eletroquímicas de redissolução (voltamétrica e potenciométrica).

Tabela 7. Características analíticas para as técnicas de redissolução voltamétrica de onda quadrada (SWSV) e de redissolução potenciométrica a corrente constante (CCSP).

Metal	SWSV			CCSP		
	LD ($\mu\text{g L}^{-1}$)	LQ ($\mu\text{g L}^{-1}$)	Sensibilidade ($\mu\text{A V } \mu\text{g}^{-1} \text{ L}$)	LD ($\mu\text{g L}^{-1}$)	LQ ($\mu\text{g L}^{-1}$)	Sensibilidade ($\text{s } \mu\text{g}^{-1} \text{ L}$)
Cu	1,56	5,20	0,075	0,15	0,50	0,0302
Pb	0,125	0,417	0,843	0,013	0,050	0,0295

LD – Limite de detecção (SNR = 3); LQ – Limite de quantificação (SNR = 10); SNR – razão sinal/ruído.

De acordo com a Tabela 7, a redissolução potenciométrica a corrente constante foi a técnica que se apresentou mais adequada para a determinação simultânea dos dois metais, pois apresentou melhores parâmetros analíticos.

3.3. Imobilização do mercúrio no eletrodo de trabalho – Modificação “on-line” vs. Modificação “off-line”

Durante as análises executadas até o momento trabalhou-se com eletrodo de carbono vítreo previamente modificado com mercúrio, como descrito na parte experimental. Entretanto ao iniciar as análises usando as amostras de azeite de dendê verificou-se uma rápida diminuição da sensibilidade do eletrodo frente à quantificação dos íons metálicos. Assim, buscou-se avaliar a possibilidade da imobilização simultânea dos íons metálicos a serem analisados e o mercúrio, a qual denominamos de imobilização “on-line”.

A verificação da resposta analítica entre as metodologias de imobilização foi avaliada ao se comparar os potenciogramas obtidos pelas técnicas de modificação “on-line” e “off-line”, respectivamente. Para uma mesma amostra de azeite de dendê foram feitas adições de 5 μL de solução padrão 21 mg g^{-1} de Cu e 45 μL de solução padrão 1 mg g^{-1} de Pb em um volume de 1,95 mL de HCl 50 mmol L^{-1} . As Figuras 9, 10 e 11 mostram os potenciogramas e as curvas de adição de padrão para cobre e chumbo obtidos com as duas formas de imobilização. Os parâmetros analíticos utilizados estão na Tabela 5.

Coeficientes de correlação de 0,9975 e 0,9991 para as curvas de cobre e chumbo, respectivamente, para a análise “off-line” indicaram boa linearidade das análises, o que também foi observado para a imobilização “on-line” com coeficientes de correlação de 0,9994 e 0,9991 para as curvas de cobre e chumbo, respectivamente. Vale ressaltar que não houve perda dos metais durante o processo de extração por ultra-som, pois estudos de recuperação foram aplicados e outras técnicas de análise utilizadas para esta avaliação, cujos resultados serão apresentados nas próximas seções.

Os picos de chumbo e cobre nos potenciogramas onde foi empregada a modificação “on-line” de Hg no eletrodo de trabalho de carbono vítreo, apesar de

apresentar uma área menor em relação às áreas obtidas nas mesmas condições empregando-se o eletrodo modificado previamente com Hg, conforme se observa na Figura 11, ainda assim possui uma boa resposta analítica quando realizada a curva de adição de padrão (Figuras 9 e 10). A vantagem de se utilizar o método de modificação “on-line” do eletrodo de trabalho gira em torno da agilidade que este procedimento oferece para análise de muitas amostras num curto período de tempo, não havendo a necessidade de se desmontar o esquema experimental para fazer uma nova modificação. Os valores de concentração de Cu e Pb (em $\mu\text{g g}^{-1}$ amostra) obtidos a partir das curvas de adição de padrão para as duas metodologias foram equivalentes, mostrando ser a modificação “on-line”, uma metodologia confiável para o cálculo das concentrações destes metais. A mobilização “on-line” se torna vantajosa pelo fato de permitir realizar um número maior de análises sem interrupções, mantendo-se a mesma resposta analítica.

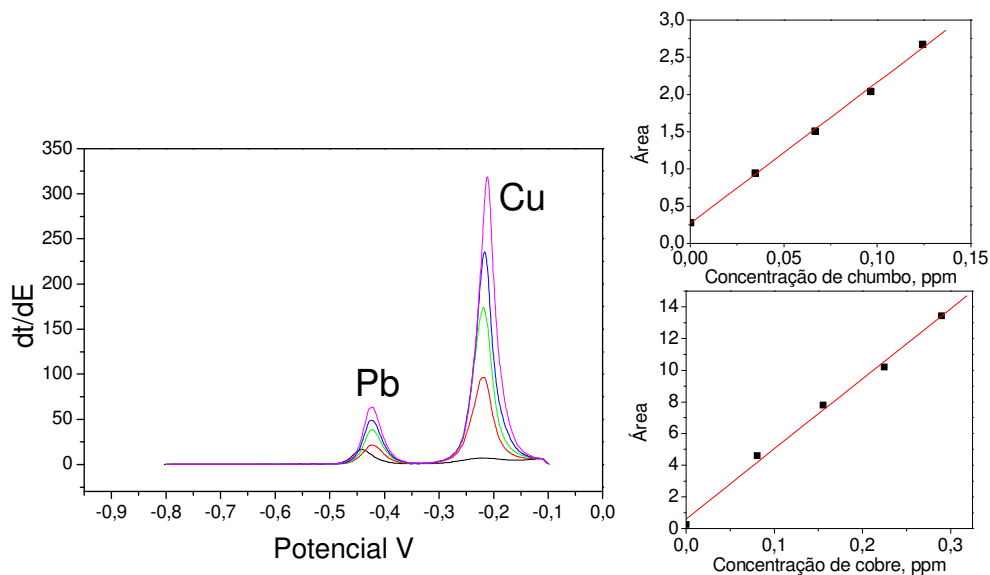


Figura 9. Potenciogramas de redissolução para amostra de azeite de dendê e 4 adições consecutivas de 5 μL de solução padrão 21 mg g^{-1} de Cu e 45 μL de solução padrão 1 mg g^{-1} de Pb. Condições: eletrodo de CV previamente modificado com Hg, volume de amostra de 250 μL e volume de eletrólito suporte (HCl 50 mmol L^{-1}) de 1000 μL . Parâmetros eletroquímicos conforme a Tabela 5.

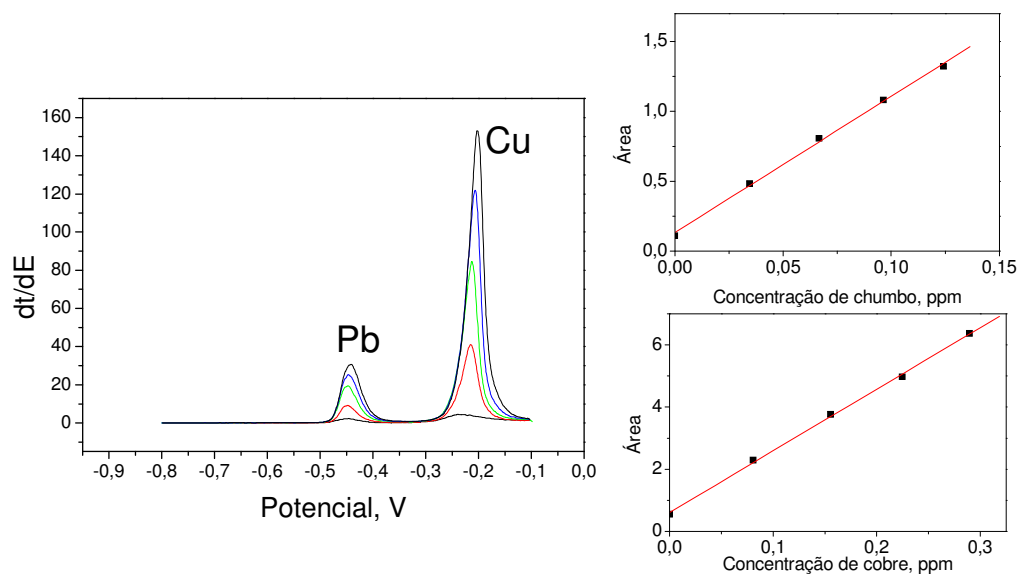


Figura 10. Potenciogramas de redissolução para amostra de azeite de dendê e 4 adições consecutivas de 5 μL de solução padrão 21 mg g^{-1} de Cu e 45 μL de solução padrão 1 mg g^{-1} de Pb. Condições: eletrodo de CV modificado “on-line” com Hg, volume de amostra de 250 μL , volume de eletrólito suporte (HCl 50 mmol L^{-1}) de 950 μL e 50 μL de HgCl_2 (5 mmol L^{-1}). Parâmetros eletroquímicos conforme Tabela 5.

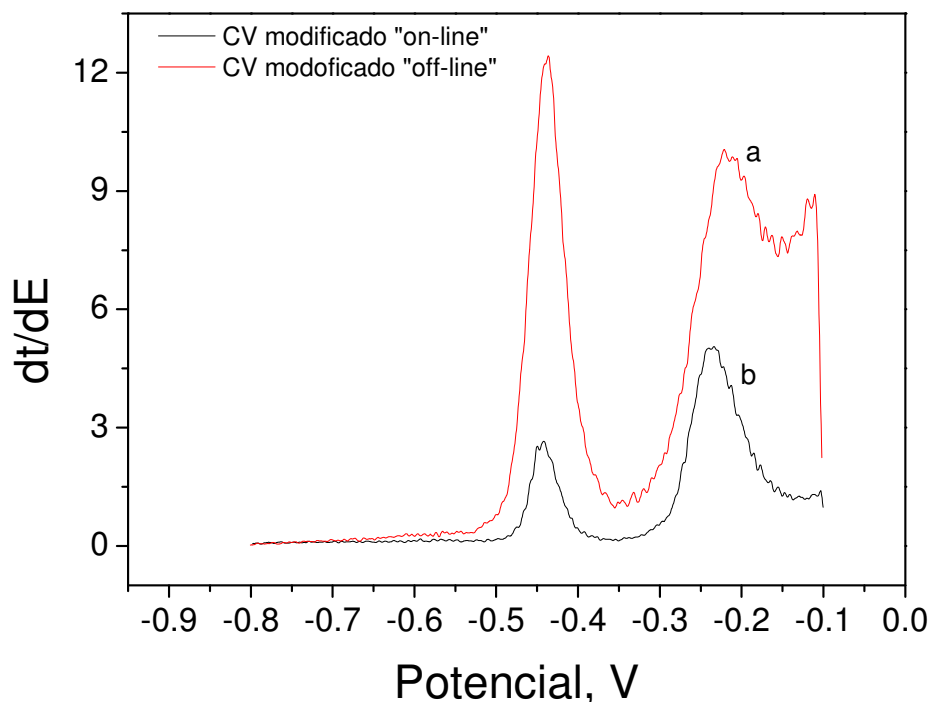


Figura 11. Potenciogramas de redissolução para amostra de dente usando eletrodo de CV modificado com Hg previamente à análise e eletrodo de CV modificado com Hg durante a eletrodeposição do Cu e do Pb. (a) Amostra (250 μL) + Eletrólito suporte (HCl 50 mmol L^{-1} - 1000 μL). (b) Amostra (250 μL) + Eletrólito suporte (HCl 50 mmol L^{-1} - 950 μL) e HgCl_2 (5 mmol L^{-1} - 50 μL). Parâmetros eletroquímicos conforme Tabela 5.

3.4. Teste de recuperação

Como foi discutido no capítulo 1, a utilização da energia ultrassônica vem sendo largamente utilizada para o preparo de amostras. Banhos ultrassônicos, comumente encontrados em laboratórios não apenas de química, são fontes de energia de baixo custo. Não sendo diferente em nosso laboratório, um banho ultrassônico de bancada foi avaliado no estudo da extração de cobre e chumbo nas amostras de azeite de dente. Previamente a estes estudos, a eficiência de diferentes banhos foi avaliada por meio de um simples teste: uma folha de alumínio foi posta no fundo do banho (em contato com o

metal), adicionou-se água e acionou-se o ultra-som. Em poucos segundos foi observada a perfuração da folha de alumínio, sendo mais intenso este processo sobre a região dos cristais piezelétricos [99]. Este simples teste permitiu a escolha de um banho que estivesse dentro das condições normais de uso, ou seja, dentro de sua vida útil de trabalho, uma vez que a utilização inadequada diminui o seu tempo de uso nas condições ideais.

3.4.1. Estudo do tempo de extração

Foram avaliados os efeitos do tempo de extração sobre a porcentagem de recuperação de padrões de cobre e chumbo adicionados nas amostras fortificadas. A Figura 12 mostra a influência do tempo de US variando de 0 a 60 minutos na extração de Cu e Pb. A técnica utilizada para a determinação de cobre e chumbo nestes estudos foi a redissolução potenciométrica a corrente constante. Nestes testes usou-se como solução extratora uma mistura 1:1 de HCl concentrado e H₂O₂ 30%.

O tempo em que o sistema reacional foi submetido ao US influenciou positivamente na decomposição da matriz oleosa e também na extração das espécies metálicas para a solução aquosa. Perfis de extração similares foram observados, com eficiência levemente maior para a extração do cobre. O cobre apresentou uma recuperação maior que o chumbo em tempos de extração menores. Com 20 minutos de extração todo o cobre adicionado na fortificação das amostras foi recuperado, ao contrário do chumbo, que necessitou de um tempo maior, cerca de 60 minutos. A escolha do tempo de extração para as análises posteriores ficou em função do chumbo, já que o máximo de recuperação deste metal foi atingido no tempo de 60 minutos.

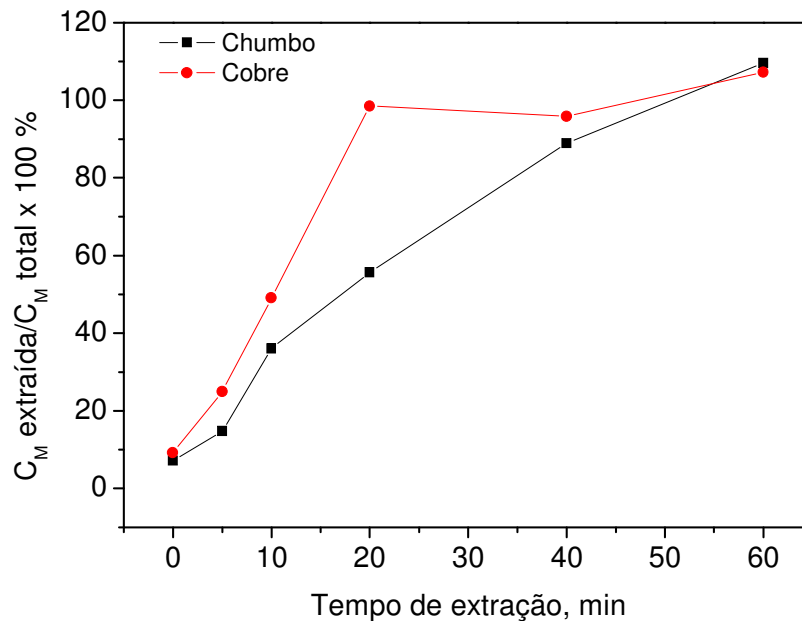


Figura 12. Influência do tempo de US na extração de Pb e Cu nas amostras de azeite de dendê. Foi utilizado como solução extratora uma mistura 1:1 de HCl concentrado e H₂O₂ 30%.

3.4.2. Comparação da eficiência da recuperação com e sem o emprego do US

A fim de se avaliar a eficiência da energia ultrassônica na recuperação de Pb e Cu na amostra de dendê, foram feitos testes de recuperação seguindo o procedimento geral de extração, porém sem utilizar o US. Foram avaliados o percentual de recuperação nos tempos de 20 e 60 minutos. As amostras de azeite de dendê com a mistura reacional de HCl concentrado e H₂O₂ foi colocada em um recipiente com água suficiente para cobrir 1/3 do frasco de modo a que a temperatura do frasco permanecesse a temperatura ambiente, tal modo como ocorria nos frascos submetidos ao US. As Figuras 13 e 14 mostram a eficiência de recuperação com e sem o uso de US para as espécies Pb e Cu numa amostra de azeite de dendê nos tempos de 20 e 60 minutos.

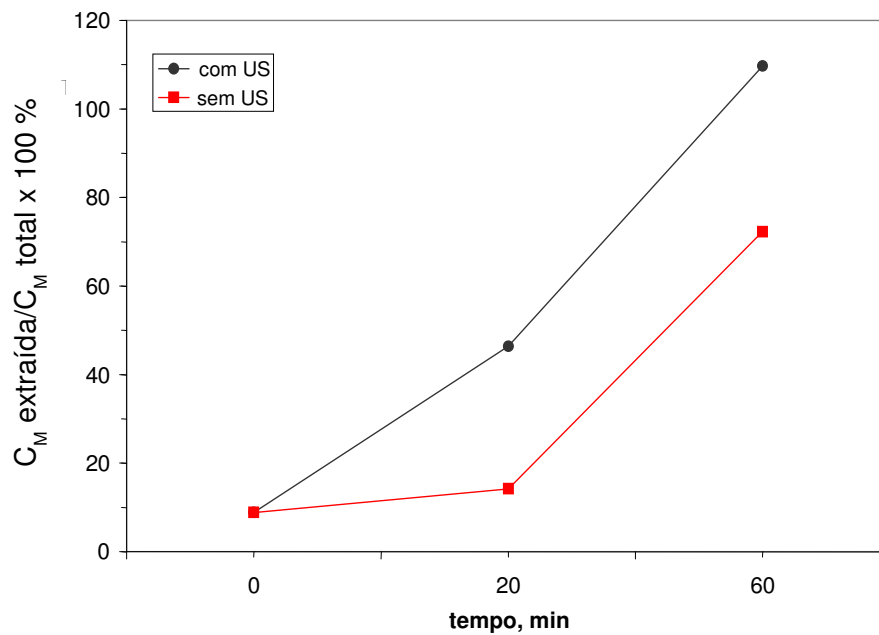


Figura 13. Eficiência da utilização do US para recuperação de Pb em amostra de azeite de dendê. Foi utilizado como solução extratora uma mistura 1:1 de HCl concentrado e H₂O₂ 30%.

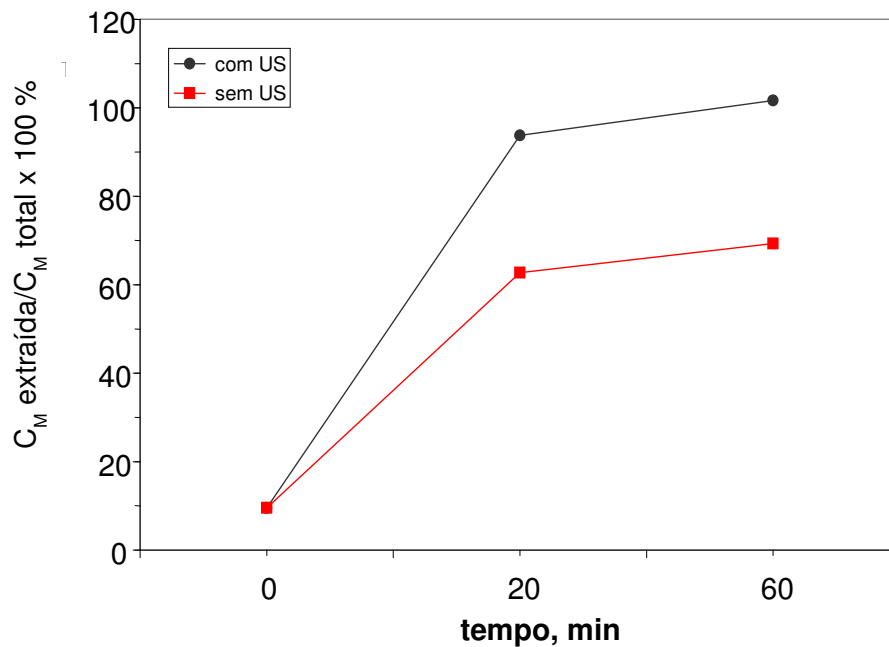


Figura 14. Eficiência da utilização do US para recuperação de Cu em amostra de azeite de dendê. Foi utilizado como solução extratora uma mistura 1:1 de HCl concentrado e H₂O₂ 30%.

Comparando-se o perfil de recuperação para as espécies Pb e Cu, observa-se que a energia ultrassônica acelera a taxa de recuperação destas espécies para o meio aquoso, já que nas amostras onde não se aplicou o US seriam necessários tempos de extração superiores a 60 minutos para ocorrer a total extração destes metais.

3.4.2. Estudo da eficiência dos reagentes na extração

Diversas condições foram utilizadas para a extração dos metais nas amostras de azeite de dendê. Avaliaram-se os seguintes meios: HCl concentrado, HNO₃ concentrado, H₂O₂ (30 %) e as mistura dos reagentes concentrados 1:1 (v/v) HCl e H₂O₂ e 1:1 (v/v) HNO₃ e H₂O₂. As soluções foram analisadas pela redissolução potenciométrica a corrente constante, uma vez que esta técnica é menos sujeita à interferência de compostos orgânicos que se adsorvem à superfície do eletrodo provocando a falta de repetibilidade de sinal ou mesmo o bloqueio do eletrodo.

Falta de repetibilidade de sinal foi observada quando as amostras foram tratadas com HNO₃ concentrado foram analisadas. A formação de compostos nitrogenados deve ser a principal causa deste resultado [85-86], indicadas pela coloração amarelada da solução. Dessa maneira, procederam-se os estudos de extração de cobre e chumbo nas amostras de azeite de dendê utilizando a) HCl concentrado, b) H₂O₂ (30 %, m/v) e c) a mistura de HCl concentrado e H₂O₂ (30 %, m/v).

A Figura 15 ilustra as etapas do procedimento de extração, sendo possível observar o aspecto do azeite de dendê após o tratamento com 2 mL 1:1 (v/v) HCl concentrado e peróxido de hidrogênio.

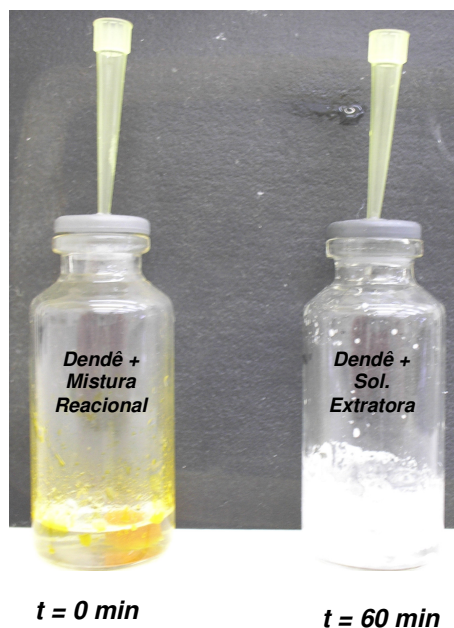


Figura 15. Amostra de azeite de dendê antes e depois do processo de extração usando 2 mL 1:1 (v/v) HCl concentrado e H₂O₂.

A composição desta solução extratora foi então investigada, partindo-se de duas frações, uma com 1 mL de HCl concentrado e outra com 1 mL de H₂O₂, sendo feitas adições no primeiro frasco de H₂O₂ e no segundo de HCl concentrado e até o volume total de 3 mL. Neste experimento fixou-se o tempo de 60 minutos de exposição ao ultrassom. As respectivas porcentagens de extração são mostradas nas Figuras 16 e 17.

Analisando a Figura 16 é possível verificar a eficiência da extração ultrassônica de cobre e chumbo com a mistura de ácido clorídrico e peróxido de hidrogênio em diferentes composições. Verifica-se que ao se trabalhar com uma mistura de 1:1 (v/v) HCl e H₂O₂ obteve-se uma eficiência de 100 % na extração do cobre e > 95 % na extração do chumbo. O mesmo pode ser observado na Figura 17. Comparando as Figuras 16 e 17, percebe-se o maior rendimento de extração para o peróxido de hidrogênio, sugerindo que o processo oxidativo atua mais intensamente na liberação do cobre da matriz.

Esta mistura favorece a formação de Cl₂ ($2\text{HCl} + \text{H}_2\text{O}_2 \longrightarrow \text{Cl}_2 + 2\text{H}_2\text{O}$) [99], forte oxidante que digere parcialmente a matriz orgânica. Esta digestão foi observada pela clarificação da amostra de azeite de dendê (Figura 15) inicialmente amarela, sendo

que este mesmo fenômeno não foi verificado quando apenas ácido clorídrico concentrado ou peróxido de hidrogênio foi usado como extrator. Adicionalmente, a adsorção do azeite à parede do frasco durante a extração deve ser fortemente considerada no aumento da eficiência do processo, pois a área de contato entre o extrator e o azeite é aumentada. Além disso, a transferência da solução extratora contendo os metais extraídos através de uma pipeta de *Pasteur* foi favorecida devido à adsorção do azeite à parede do frasco. Dessa maneira, não houve necessidade de filtração ou separação das fases orgânica e aquosa. O elevado grau de reprodutibilidade das análises por redissolução potenciométrica das soluções extradoras, além da boa repetibilidade de sinal, indicou a ausência dos efeitos deletérios causados pela presença de eventuais substâncias orgânicas provenientes do azeite sobre a superfície do eletrodo.

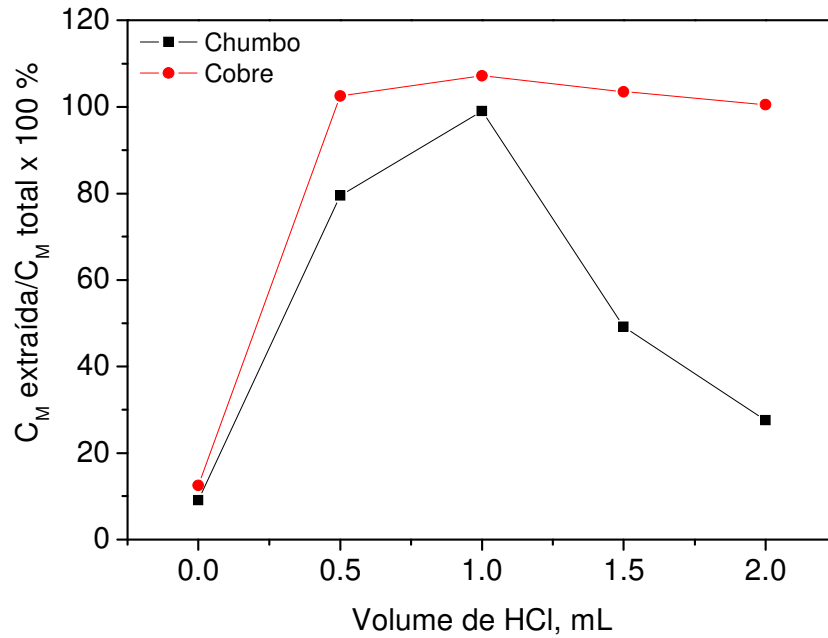


Figura 16. Influência do volume de HCl concentrado empregado na % de extração de Cu e Pb em azeite de dendê. O volume de H₂O₂ 30% foi de 1,0 mL e o tempo de US utilizado foi de 60 minutos.

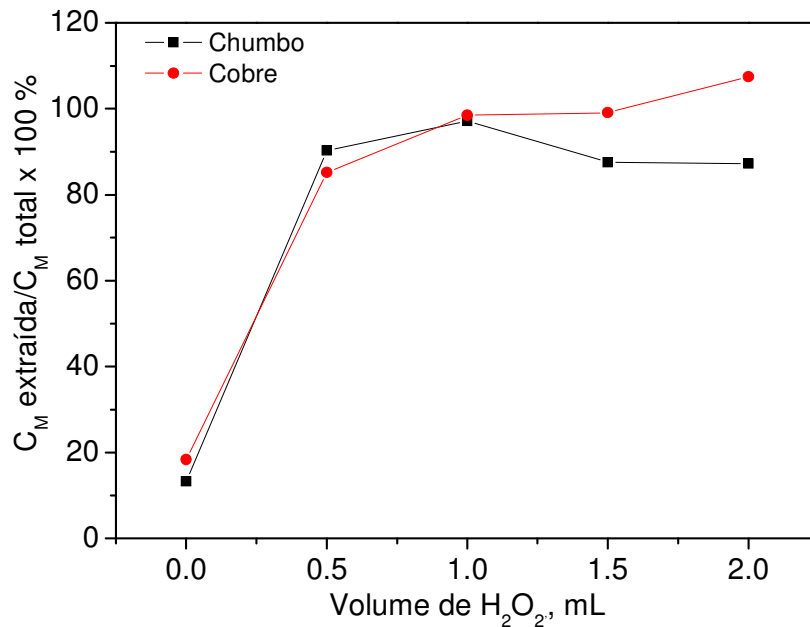


Figura 17. Influência do volume de H₂O₂ 30% empregado na % de extração de Cu e Pb em azeite de dendê. O volume de HCl concentrado foi de 1,0 mL e o tempo de US utilizado foi de 60 minutos.

3.5. Análise das amostras de dendê

Antes de proceder a análise das amostras de azeite dendê, foi feita uma curva de calibração para cobre e chumbo nas mesmas condições para análise das amostras. Foram utilizados padrões de concentração $0,13 \text{ mg L}^{-1}$ de Pb e $2,30 \text{ mg L}^{-1}$ de Cu, e um branco ($\text{HCl } 50 \text{ mmol L}^{-1}$), sendo adicionados volumes de $10 \text{ }\mu\text{L}$ de cada solução a célula eletroquímica. As curvas mostraram um comportamento linear para cobre e chumbo nas condições otimizadas. Os coeficientes angular (sensibilidade) e de correlação (R) para as respectivas curvas de cobre e chumbo foram $0,0302 \text{ s }\mu\text{g}^{-1} \text{ L}$ ($R = 0,99891$) e $0,0295 \text{ s }\mu\text{g}^{-1} \text{ L}$ ($R = 0,99672$), respectivamente. A faixa de trabalho do cobre foi de $0,50$ a $400 \text{ }\mu\text{g L}^{-1}$ e para o chumbo foi de $0,05$ a $295 \text{ }\mu\text{g L}^{-1}$, o que indica a possibilidade de analisar amostras de azeite de dendê com rapidez e boa sensibilidade. A Figura 18 mostra as curvas analíticas referentes ao cobre e o chumbo.

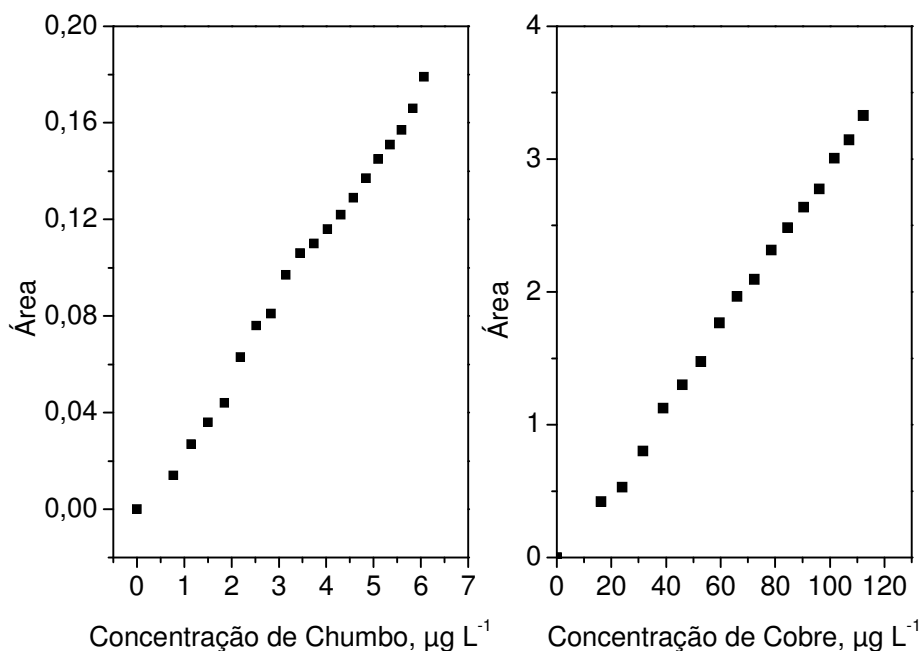


Figura 18. Curvas analíticas por adição de padrão em um branco de HCl (50 mmol L^{-1} - $1200 \text{ }\mu\text{L}$) + HgCl_2 (5 mmol L^{-1} - $50 \text{ }\mu\text{L}$). Volumes de adição de padrões: $10 \text{ }\mu\text{L}$, concentrações de padrões: $0,13 \text{ mg L}^{-1}$ de Pb e $2,30 \text{ mg L}^{-1}$ de Cu.

Estudos de repetibilidade e reprodutibilidade para uma amostra contendo 2,86 $\mu\text{g g}^{-1}$ de cobre e 0,09 $\mu\text{g g}^{-1}$ de chumbo apresentaram resultados de desvio padrão relativo $\leq 7\%$ e $\leq 5\%$, respectivamente.

As amostras foram divididas de acordo com sua procedência e subdivididas em artesanais e industriais e seguiram-se, para todas elas, os mesmos parâmetros de extração e análise otimizados anteriormente. As análises foram feitas em triplicata e calculado o seu desvio padrão com um intervalo de confiança de 95%.

As amostras de azeite de dendê foram pesadas, aproximadamente 0,090 gramas de cada e transferidas para os frascos de extração. Em seguida, foi adicionada a mistura reacional. O frasco de extração foi fechado e colocado no banho de ultra-som (na posição dos cristais piezelétricos) durante o tempo de 60 minutos. Após a etapa de extração, as amostras foram analisadas tanto por redissolução potenciométrica a corrente constante quanto por GFAAS. Os resultados das análises por CCSP e por GFAAS estão descritos nas Tabelas 8 e 9.

Tabela 8. Resultados de cobre obtidos após preparação e análise das amostras por redissolução potenciométrica a corrente constante e por espectrometria de absorção atômica.

Amostra	Tipo	Cu ($\mu\text{g g}^{-1}$) por CCSP	Cu ($\mu\text{g g}^{-1}$) por GFAAS	Teste t
C	Industrial	2,92 \pm 0,26	5,16 \pm 0,08	14,27
D	Artesanal	1,80 \pm 0,17	1,41 \pm 0,04	3,85
F	Industrial	2,86 \pm 0,14	3,27 \pm 0,07	4,52
K	Industrial	1,55 \pm 0,01	1,57 \pm 0,01	2,44
L	Artesanal	16,54 \pm 0,04	18,33 \pm 0,21	14,47
M	Industrial	2,24 \pm 0,17	1,87 \pm 0,08	3,40
N	Artesanal	8,98 \pm 1,10	7,25 \pm 0,90	2,10
P	Industrial	2,38 \pm 0,28	3,03 \pm 0,02	3,99
T	Industrial	2,22 \pm 0,16	2,78 \pm 0,05	3,77
V	Artesanal	2,06 \pm 0,03	1,93 \pm 0,02	4,22
Y	Industrial	1,58 \pm 0,08	1,62 \pm 0,03	0,81

Tabela 9. Resultados de chumbo obtidos após preparação e análise das amostras por redissolução potenciométrica a corrente constante e por espectrometria de absorção atômica.

Amostra	Tipo	Pb ($\mu\text{g g}^{-1}$) por CCSP	Pb ($\mu\text{g g}^{-1}$) por GFAAS	Teste t
C	Industrial	0,21 \pm 0,02	0,20 \pm 0,01	0,77
D	Artesanal	0,19 \pm 0,03	0,29 \pm 0,01	5,46
F	Industrial	0,09 \pm 0,01	0,08 \pm 0,02	0,77
K	Industrial	0,05 \pm 0,01	0,05 \pm 0,00	0
L	Artesanal	0,11 \pm 0,01	0,18 \pm 0,01	8,54
M	Industrial	0,04 \pm 0,00	0,09 \pm 0,02	4,33
N	Artesanal	0,19 \pm 0,03	0,16 \pm 0,02	1,44
P	Industrial	0,14 \pm 0,01	0,16 \pm 0,01	2,44
T	Industrial	0,23 \pm 0,00	0,21 \pm 0,01	3,45
V	Artesanal	0,23 \pm 0,00	0,25 \pm 0,01	3,45
Y	Industrial	0,37 \pm 0,00	0,39 \pm 0,02	1,73

Comparando-se os resultados obtidos para a redissolução potenciométrica a corrente constante e para absorção atômica e fazendo uma regressão linear dos dois métodos, foram encontrados coeficientes angular e linear muito próximos de 1 e zero, respectivamente (Figura 19). Os intervalos de confiança para tais coeficientes são (0,93 \pm 0,13) e (0,03 \pm 0,03) $\mu\text{g g}^{-1}$, respectivamente para o chumbo e (1,05 \pm 0,07) e (0,09 \pm 0,44) $\mu\text{g g}^{-1}$, respectivamente para o cobre para um nível de confiança de 99 %, sendo encontrado um coeficiente de correlação de 0,920 e 0,978 para o chumbo e o cobre, respectivamente. O teste *t-student* para comparação de medidas repetitivas também foi aplicado nestas análises. Para o cobre, com exceção das amostras C e L, todas as amostras apresentaram um valor de t menor que o valor tabelado (4,60) para um nível de confiança de 99 %. Para o chumbo com exceção das amostras D e L, todas as amostras

apresentaram um valor de t menor que o valor tabelado (4,60) para um nível de confiança de 99 %. Com base nesses resultados podemos afirmar que nenhuma diferença significativa entre os métodos foi observada.

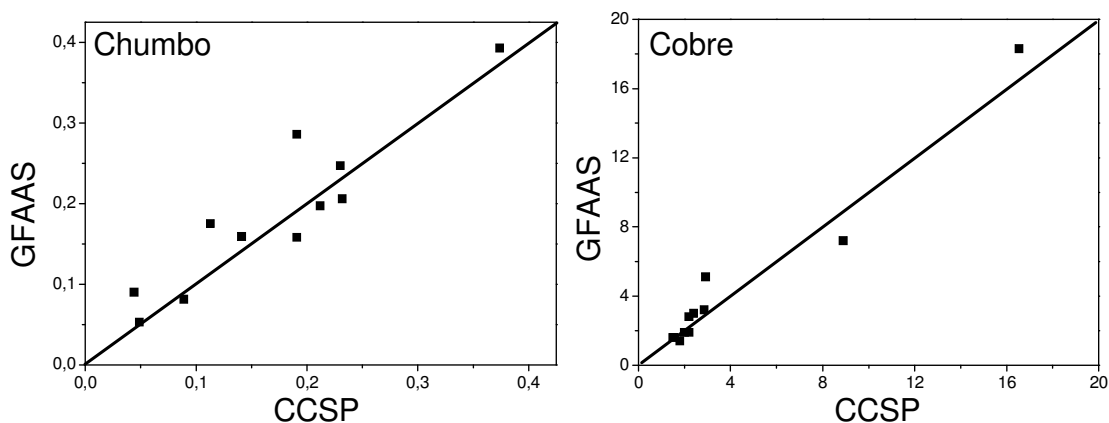


Figura 19. Comparação dos resultados obtidos entre a redissolução potenciométrica a corrente constante (CCSP) e a absorção atômica (GFAAS) para a determinação de cobre e chumbo.

Apenas a amostra L apresentou teor de cobre acima do permitido para o dendê processado na forma de azeite que é de $17 \mu\text{g g}^{-1}$ [63]. Todas as outras amostras apresentaram valores muito abaixo para este metal. Para o chumbo, com exceção das amostras industriais F, K e M, as amostras de azeite de dendê apresentaram concentrações acima do permitido para óleo vegetal processado (o valor máximo preconizado é de $0,10 \mu\text{g g}^{-1}$).

3.6. Avaliação da etapa de extração de Pb e Cu do resíduo oleoso

Como a amostra de dendê é uma fase oleosa, o emprego da mistura reacional não destrói totalmente a matéria orgânica. Este fato é observado pela permanência de um resíduo oleoso incolor no frasco onde foi aplicado o US (Figura 15), após a transferência da solução extratora. Para verificar se esta mistura reacional, numa única

etapa, seria capaz de extrair para a fase aquosa todo o Pb e Cu presentes no dendê, uma segunda etapa de extração no resíduo oleoso foi realizada, empregando-se os mesmos volumes de reagentes, certificando-se de que toda a solução extratora da primeira etapa havia sido previamente retirado do resíduo oleoso. O tempo de US foi fixado em 60 minutos. Todas as amostras analisadas apresentaram resultados abaixo de limite de detecção da técnica para ambas as espécies, mostrando desse modo que uma única etapa de extração, no tempo pré-estabelecido, foi capaz de extrair para a fase aquosa todo o Cu e Pb presentes no azeite de dendê.

Capítulo 4

CONCLUSÕES E PERSPECTIVAS FUTURAS

4.1. Considerações finais

Com este trabalho foi possível desenvolver uma metodologia eletroanalítica para determinação simultânea de cobre e chumbo em amostras de azeite de dendê, mostrando que métodos de redissolução são vantajosos, quando a análise de elementos ao nível de traço é necessária. A interferência da matéria orgânica residual fez com que para a análise destas espécies fosse empregado o método da redissolução potenciométrica a corrente constante, por este sofrer menor interferência durante a análise de resíduos de óleo do processo de extração.

A técnica de redissolução potenciométrica empregando o eletrodo de carbono vítreo modificado “on-line” com Hg, permitiu que tanto o Pb quanto Cu fossem analisados nas mesmas condições empregadas. A imobilização “on-line” permitiu que todo o processo analítico fosse acelerado em razão de não ter sido necessário efetuar modificações do eletrodo de trabalho antes de cada análise.

A implementação do método de extração auxiliado por US trouxe vantagens, devido ao processo ser efetuado em condições ambientais de temperatura e pressão, utilizando pequenos volumes de reagentes.

O uso da energia de US para auxiliar a etapa de digestão da amostra se mostrou eficaz, visto que maiores percentuais de extração eram obtidos com maiores tempos de US empregados.

Comparando-se a porcentagem de recuperação de cobre e chumbo em amostras de dendê, com e sem o emprego da energia de US, observa-se que a energia ultrassônica foi capaz de acelerar a taxa de recuperação das espécies em estudo para a solução extratora e também aumentar o seu rendimento.

Uma única etapa de extração foi eficaz para extrair o cobre e o chumbo presentes no azeite de dendê, mostrando que o emprego combinado de HCl concentrado e H₂O₂ foi capaz de remover os metais da matriz em estudo que porventura estavam presentes na fase oleosa, com o uso da energia ultrassônica.

A redução de custos e de tempo nas etapas preliminares da análise com a implementação desta técnica de extração é considerável, visto que para uma extração multifases, volumes consideráveis de solventes, mais de uma etapa de extração e procedimentos de pré-concentração da amostra seriam necessários. Na metodologia proposta, uma simples etapa de extração foi realizada, com redução de volumes de reagentes e amostras com conseqüente redução de rejeitos químicos.

O emprego da técnica eletroanalítica também é um outro fator de redução de custos, visto que o equipamento pode ser considerado de baixo investimento para um laboratório.

4.2. Perspectivas Futuras

A técnica de extração assistida por ultra-som mostrou-se capaz de extrair para a fase aquosa os metais de interesse neste estudo, sem a necessidade da decomposição total da fase orgânica, mostrando ser um método simples e eficiente para abertura de amostras, podendo assim ser estendida para outros tipos de matrizes e para extração de outros analitos.

O azeite de dendê possui em sua composição outros compostos de interesse, tais como os esteróis, tocoferóis, pigmentos e, além de ser rico em vitamina E [100]. Estudos poderão ser realizados para a identificação e quantificação de componentes lipossolúveis por técnicas de separação disponíveis no DQ/NUPIS, a fim de se avaliar os efeitos do refinamento sobre esses componentes.

As técnicas eletroanalíticas, apesar de se mostrarem capazes de analisar as espécies metálicas da solução extratora, sofriam interferência da matéria orgânica residual que eram arrastados na transferência da solução extratora para um frasco descontaminado. Desse modo, alternativas tiveram de ser elaboradas de modo a evitar a

interferência da matéria orgânica nas análises dos metais. A energia de microondas é capaz de decompor totalmente a matéria orgânica, diminuindo consideravelmente o resíduo de carbono na amostra. Desse modo, o processo de quantificação de metais, após a abertura da amostra por microondas seria capaz de fornecer amostras mais “limpas” tornando possível a diminuição do limite de detecção e também, a possibilidade de se obterem resultados mais precisos.

Devido à toxicidade do Hg, estudos têm sido realizados para encontrar alternativas de substituir o emprego deste metal em determinações eletroanalíticas onde é necessária a modificação do eletrodo de trabalho por Hg, de modo a obter respostas analíticas adequadas e sensíveis [101-103]. Enquanto uma gama de eletrodos não-mercuriais, incluindo o eletrodo de ouro, carbono, ou irídio, tem sido investigada, nenhum deles é capaz de alcançar a potencialidade do mercúrio. Recentemente, foi demonstrado que eletrodos de filme de bismuto oferecem desempenho de redissolução de alta qualidade, comparando-se aqueles do mercúrio. Várias alternativas apropriadas do eletrodo de filme de bismuto incluem a simples preparação “on-line” do mesmo, alta sensibilidade e sinais analíticos bem definidos, com boa resolução, além de ser um metal que não agride sobremaneira o meio ambiente, apresentando uma baixa toxicidade comparada ao mercúrio. O emprego de eletrodos de filme de bismuto permite a análise simultânea de metais tais como Cd, Zn, Pb e Cu, numa mesma varredura de potencial [104]. Desse modo, o desenvolvimento de um eletrodo de filme de bismuto para uma metodologia eletroanalítica para determinação simultânea destes metais no azeite de dendê seria interessante, a fim de se comparar os resultados obtidos com o uso deste eletrodo frente ao eletrodo de filme de mercúrio.

REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

1. Luque de Castro, M.D.; *Pure Appl. Chem.* **2002**, *74*, 2293.
2. Oliveira, E.; *J. Braz. Chem. Soc.* **2003**, *14*(2), 174.
3. Priego-Capote, F.; Luque de Castro, M.D.; *Trends in Anal. Chem.* **2004**, *23*(9), 644.
4. May, K.; Stoepler, M.; *Fresenius J. Anal. Chem.* **1984**, *317*(3-4), 248.
5. Lambie, K.J.; Hill, S.J.; *Analyst* **1998**, *123*, 103.
6. Daled, D.; Brooks, G.; Monagle, M.; *J. Radional. Nucl. Chem.* **1998**, *236*(1-2), 199.
7. Väisänen, A.; Suontamo, R.; *J. Anal. At. Spectrom.* **2002**, *17*, 739.
8. Capelo, J.L.; Maduro, C.; Vilhena, C.; *Ultrasound Sonochemistry* **2005**, *12*(3), 225.
9. Sanchez, J.; Garcia, R.; Millan, E.; *Analisis* **1999**, *22*, 222.
10. Korn, M.; Pereira, M. G.; Borges, S. S.; *Bol. Soc. Port. Quim.* **2005**, *96*, 51.
11. Suslick, SK; Price, GJ; *Annu. Ver. Mater. Sci.* **1999**, *29*, 295.
12. Munoz, R.A.A.; Oliveira, P.V., Angnes, L.; *Talanta* **2006**, *68*(3), 850.
13. Luque de Castro, M.D., Luque-Garcia, J.L. *Acceleration and Automation of Solid Sample Treatment*. 1ª Ed. Elsevier, Amsterdam. The Netherlands, 2002.
14. Ashley, K.; *Trends Anal. Chem.* **1998**, *17*(6), 366.
15. Luque-Garcia, J.L.; Luque de Castro, M.D.; *Trends Anal. Chem.* **2003**, *22*(1), 41.
16. Babic, S.; Petrovic, M.; Kastelan-Macan, M.; *J. Chromatogr. A* **1998**, *823*(1), 3.
17. Marin, A.; Lopez-Gonzales, C.; Barbas, C.; *Anal. Chim. Acta* **2001**, *442*, 305.
18. Al-Merey, R.; Al-Masri, M.S.; Bozou, R.; *Anal. Quim. Acta* **2002**, *452*(1), 143.
19. Ashley, K.; Andrews, R.N.; Cavazos, L.; Demange, M.; *J. Anal. Atom. Spectrom.* **2001**, *16*, 1147.
20. Elik, A.; *Talanta* **2005**, *66*, 882.
21. Ashley, K.; *Electroanalysis* **1995**, *7*, 1189.
22. Arruda, S.C.C.; Rodriguez, A.P.M.; Arruda, M.A.Z.; *J. Bras. Chem. Soc.* **2003**, *14*, 470.
23. Nascentes, C.C.; Korn, M.; Arruda, M.A.Z.; *Microchem. J.* **2001**, *69*, 37.
24. Liva, M.; Muñoz-Olivas, R.; Camara, C.; *Talanta* **2000**, *51*, 381.
25. Zakharova, E.A.; Deryabina, V.I.; Slepchenko, G.B.; *J. Anal. Chem.* **2005**, *60*, 503.
26. El Azouzi, A.; Cervera, M.L.; de la Guardiã, M.; *J. Anal. Atom. Spectrom.* **1998**, *13*, 533.
27. Bangroo, P.N.; Jagga, C.R.; Arora, H.C.; Rao, G.N.; *Atom Spectrosc.* **1995**, *16*, 118.
28. Fontana, A.; Braekman-danheux, C.; *Jung Fuel Process. Technol.* **1996**, *502*, 107.
29. Amoedo, L; Capelo, J.L.; Lavilla, I.; Bendicho, C.; *J. Anal. Atom. Spectrom.* **1999**, *14*, 1221.

30. Mamba, S.; Kratochvil, B.; Intern. *J. Anal. Chem.* **1995**, *60*, 295.
31. Gracia-rey, R.M.; Quiles-Zafra, R.; Luque de Castro, M.D.; *Anal. Bioanal. Chem.* **2003**, *377*, 316.
32. Mendez, H.; Alava, F.; Lavilla, I.; Bendicho, C.; *Anal. Chim. Acta* **2002**, *452*, 217.
33. Lima, E.C.; Barbosa, F.; Krug, F.J.; Silva, M.M.; Vale, M.G.R.; *J. Anal. Atom. Spectrom.* **2000**, *15*, 995.
34. Capelo, J.L.; Filgueiras, A.V.; Lavilla, I.; Bendicho, C.; *Talanta* **1999**, *50*, 905.
35. Ruiz-Jimenez, J.; Luque-Garcia, J.L.; Luque de Castro, M.D.; *Anal. Chim. Acta* **2003**, *480*, 231.
36. Lavilla, I.; Perez-Cid, B.; Bendicho, C.; *Talanta* **2000**, *53*, 433.
37. Luque-Garcia, J.L.; Luque de Castro, M.D.; *Analyst* **2002**, *127*, 1115.
38. Marin, A.; Lopez-Gonzalez, A.; Barbas, C.; *Anal. Chim. Acta* **2001**, *442*, 305.
39. Wibetoe, G.; Takuwa, D.T.; Lund, W.; Saluwa, G.; *Fresenius J. Anal. Chem.* **1999**, *363*, 46.
40. Alvarez, J.; Marcó, L.M.; Arroyo, J.; Greaves, E.D.; Rivas, R.; *Spectrochimica Acta Part B: Atomic Spectroscopy* **2003**, *58(12)*, 2183.
41. Sanchez-Brunete, C.; Rodriguez, A.; Tadeo, J.L.; *J. Chromatogr. A*, **2003**, *1007(1-2)*, 137.
42. Nieva-Cano, M.J.; Rubio-Barroso, S.; Santos-Delgado, M.J.; *Analyst* **2001**, *126(8)*, 1326.
43. Wu, J.; Lin, L.; Chau, F.; *Ultrason. Sonochem.* **2001**, *8(4)*, 347.
44. Loeffler, D.; Ternes, T.A.; *J. Chromatogr. A*. **2003**, *1021(1-2)*, 133.
45. Méndez, H.; Alava, F.; Lavilla, I.; Bendicho, C.; *Anal. Chim. Acta* **2002**, *452(2)*, 217.
46. Milstein, L.S.; Essader, A.; Murrel, C.; Pellizzari, E.D.; Fernando, R.A.; Rayner, J.H.; Akinbo, O.; *J. Agric. Food. Chem.* **2003**, *51(15)*, 4180.
47. Lo Coco, F.; Monotti, P.; Rizzotti, S.; Ceccon, L.; *Anal. Chim. Acta* **1999**, *386*, 41.
48. Dugo, G.; La Pêra, L.; Giuffrida, D.; Salvo, F.; Io Turco, V.; *Food Chem.* **2003**, *5*, 5598.
49. Colombo, C.; van den Berg, C.M.G.; Intern. *J. Anal. Chem.* **1998**, *71*, 1.
50. Olsen, K.B.; Wang, J.; Setlagjl, R.; Lu, J.; *Environ Sci. Technol.* **1994**, *28*, 2074.
51. Zakharova, E.A.; Deryabina, V.I.; Slepchenko, G.B.; *J. Anal. Chem.* **2005**, *60(6)*, 503.
52. BRASIL. Ministério do Desenvolvimento, Indústria e Comércio Exterior. Superintendência da Zona Franca de Manaus SUFRAMA. Potencialidades – Estudo de Viabilidade Econômica – Vol 5 – Dendê.
53. http://econ.mpob.gov.my/economy/annual/stat2006/ei_world06.htm - acessado em fevereiro/2008.

54. Moretti, R.B.; *Matérias primas; óleos. In: Seminário de emulsões alimentícias de baixas calorias: Inovações e tendências mercadológicas.* São Paulo, Sociedade Brasileira de Óleos e Gorduras (SBOG), **1998**.
55. Consejo Del promocion Del Aceite de Palma de Malásia. *Usos Alimentícios Del Aceite de Palma.* Kuala Lumpur. **1996**. 29p (Série de Información sobre El Aceite de Palma).
56. Rittner, H.; *Óleo de Palma: Processamento e Utilização.* São Paulo. 1.ed. 1996, 320p.
57. Qureshi, A.A.; Qureshi, N.; Hasler-Rapacz, J.O.; *J. Am. Clin. Nutr.* **1991**, *53*, 1042.
58. Sambanthamurthi, R.; Sundram, R.; Tan, Y.A.; *Progress In Lipid Research* **2000**, *39(6)*, 507.
59. Cottrell, R.C.; *Am. J. Clin. Nutr.* **1991**, *53*, 989.
60. Paz, I.; Molero, M.; *J. Am. Oil Chem. Soc.* **2000**, *77(2)*, 127.
61. Rusnani, A.M.; Badlishah, S.B.; Fakhru'l-Razi, A.; Yaakob, B.C.M.; *J. Food Lipids* **2000**, *7(2)*, 113.
62. Rakmi, A.R.; Kalm, M.; Wan Nor, W.M.; *Porim. Bulletin*, **1984**, *9*, 16.
63. Akpanabiatu, M.I.; Ekpa, O.D.; Mauro, A.; Rizzo, R.; *Food Chemistry*, **2001**, *72(2)*, 177.
64. <http://www.codexalimentarius.net> – acessado em fevereiro/2008.
65. Ekpa, O.D.; Akpan, A.A.; Udoh, A.E.; *J. Sci. Food Agric.* **1993**, *61(1)*, 47.
66. Baker, G.C.; Jenkins, I.L.; *Analyst* **1952**, *77*, 685.
67. Wang, J.; *Analytical Electrochemistry*, 1994, VCH.
68. Wang, J.; Tian, B.; Lu, J.; Olsen, C.; Yarnitzky, C.; Olsen, K.; Hammerstrom, D.; Bennet, W.; *Anal. Chim. Acta* **1999**, *385*, 429.
69. Brett, C.M.A.; *Electroanalysis*, **1999**, *11*, 1013.
70. Jagner, D.; Granelli, A.; *Anal. Chim. Acta*, **1976**, *83*, 19.
71. Jagner, D.; Josefson, M. Westeerlund, S.; Aren, K; *Anal. Chem.* **1981**, *53*, 1406.
72. Ostapczuk, P.; *Clin. Chem.* **1992**, *38*, 1995.
73. Jagner, D.; Josefson, M. Westeerlund, S.; *Anal. Chem. Acta* **1981**, *128*, 155.
74. Jagner, D.; M. Westeerlund, S.; *Anal. Chem. Acta* **1980**, *117*, 159.
75. Marin, C.; Ostapczuk, P.; *Fresenius J. Anal. Chem.* **1992**, *343*, 881.
76. Li, Y.; Wahdat, F.; Neeb, R.; *Fresenius J. Anal. Chem.* **1995**, *251*, 678.
77. Pedrotti, J.J.; Angnes, L.; Gutz, I.G.R.; *Electroanalysis* **2003**, *15*, 1871.
78. Nascentes, C.C.; Korn, M.; Souza, C.S.; Arruda, M.A.Z.; *J. Braz. Chem. Soc.* **2001**, *12*, 57.
79. Wahdat, F.; Hinkel, S.; Neeb, R.; *Fresenius J. Anal. Chem.* **1993**, *352*, 393.
80. Lo Coco, F.; Ceccon, L.; Ciarolo, L.; Novelli, V.; *Food control*, **2003**, *14*, 55.

81. Dugo, G.; La Pêra, L.; Bruzzese, A.; Pellicano, T.M.; Lo Turco, V.; *Food Control*, **2006**, *17*, 146.
82. Szlyk, E.; Szydłowska-Czerniak, A.; *Aj. Agric. Food. Chem.* **2004**, *52*, 4064.
83. Dugo, G.; La Pêra, L.; Bruzzese, A.; Lo Turco, V.; Mavrogeni, E.; Alfa, M.; *J. Agric. Food. Chem.* **2003**, *51*, 3722.
84. Karadjova, I.; Girousi, S.; Iliadou, E.; Stratis, I.; *Mikrochim. Acta* **2000**, *134*, 185.
85. Kopanica, M. Stara, V.; *Electroanalysis* **1991**, *3*, 925.
86. Danielsson, L.; Jagner, D.; Josefson, M.; Weterlund, S.; *Anal. Chim. Acta* **1981**, *127*, 147.
87. Tamrakar, P.K.; Pitre, K.S.; *Bull. Electrochem.* **2000**, *16*, 537.
88. La Pêra, L.; Lo Curto, S.; Visco, A.; Dugo, G.; *J. Agric. Food. Chem.* **2002**, *51*, 3090.
89. La Pêra, L.; Saitta, M.; Di Bella, G.; Dugo, G.; *J. Agric. Food. Chem.* **2003**, *50*, 1125.
90. La Pêra, L.; Lo Curto, S.; Di Bella, G.; Dugo, G.; *J. Agric. Food. Chem.* **2005**, *53*, 5084.
91. Diaz, T.G.; Guiberteau, A.; Soto, M.D.L.; Ortiz, J.M.; *Food. Chem.* **2006**, *96*, 156.
92. Dugo, G.; La Pêra, L.; La Torre, G.L.; Giuffrida, D.; *Food. Chem.* **2004**, *87*, 639.
93. Dugo, G.; La Pêra, L.; Pollicino, D.; Saitta, M.; *J. Agric. Food. Chem.* **2003**, *51*, 5598.
94. Dugo, G.; La Pêra, L.; Lo Turco, V.; Palmieri, R.M.; Saitta, M.; *Food Chem.* **2005**, *93*, 703.
95. Dugo, G.; La Pêra, L.; Lo Turco, V.; Giuffrida, D.; Restuccia, S.; *Food. Addit. Contamin.* **2004**, *21*, 649.
96. Laukkanen, P.; *Fresenius J. Anal. Chem.* **1994**, *349*, 693.
97. Riso, R.D.; Waeles, M.; Monbet, P.; Chaumery, C.J.; *Anal Chim. Acta* **2000**, *410*, 97.
98. Richter, E.M.; Pedrotti, J.J.; Angnes, L.; *Electroanalysis* **2003**, *15*, 1871.
99. Mason, T.J.; Lorimer, J.P.; *Applied Sonochemistry – The uses of power ultrasound in chemistry and processing*, Wiley-VCH, Weinheim 2002.
100. Sundram, K.; Sambanthamurthi, R.; Tan, Y.; *Asia Pacific J. Clin. Nutr.* **2003**, *12(3)*, 355.
101. Achterberg, E.P.; Braungradt, C.; *Anal. Chim. Acta* **1999**, *400*, 381.
102. Wang, J.; Tian, B.; *Anal. Chem.* **1993**, *65*, 1529.
103. Nolan, M.A.; Kounaves, S.P.; *Anal. Chem.* **1999**, *71*, 3567.
104. Wang, J.; Lu, J.; Kirgoz, U.A.; Hocevar, S.B.; Ogorevc, B.; *Anal. Chim. Acta* **2001**, *434*, 29.