

OTIMIZAÇÃO DE METODOLOGIAS DE PRÉ-TRATAMENTO PARA A DETERMINAÇÃO DE Cd EM HORTALIÇAS POR ESPECTROMETRIA DE ABSORÇÃO ATÔMICA

Salazar, R.F.S.¹, Fonseca, A.C.V.², Peixoto, A.L.C.³, Carrocci, J.S.⁴, Capri, M. R.⁵, Izário Filho, H.J.⁶

¹EEL-USP/DEQUI, Rod. Estrada Municipal do Campinho, s/nº, Campus I, salazar@dequi.eel.usp.br

²EEL-USP/DEQUI, Estrada Municipal do Campinho, s/nº, Campus I, amandavieirafonseca@gmail.com

³EEL-USP/DEQUI, Estrada Municipal do Campinho, s/nº, Campus I, alcpaixoto@dequi.eel.usp.br

⁴EEL-USP/DEQUI, Estrada Municipal do Campinho, s/nº, Campus I, ju.bioquimica@bol.com.br

⁵EEL-USP/DEQUI Estrada Municipal do Campinho, s/nº, Campus I, mariorosa@dequi.eel.usp.br

⁶EEL-USP/DEQUI Estrada Municipal do Campinho, s/nº, Campus I, helcio@dequi.eel.usp.br

Resumo- O objetivo deste trabalho foi o de desenvolver e otimizar metodologias de preparo de amostra para a determinação de cádmio (Cd). As metodologias empregadas foram de calcinação e via úmida (ou digestão ácida) em amostras de hortaliças reais para posterior análise em espectrômetro de absorção atômica com aquecimento eletrotérmico (ETAAS). As determinações foram feitas em amostras de alface, batata, beterraba, cenoura e mandioca. Os resultados dos testes de adição e recuperação de analito demonstraram a viabilidade das metodologias, onde a metodologia de calcinação mostrou-se mais viável para a quantificação de Cd, com valores de recuperação entre 85,2 % para mandioca e 102,2 % para alface. Os resultados dos testes para a metodologia de digestão ácida foram analiticamente insatisfatórios para amostras de batata (72,3 %), beterraba (67,6 %) e mandioca (76,1 %).

Palavras-chave: Cádmio, hortaliças, espectrometria de absorção atômica, digestão ácida, calcinação.

Área do Conhecimento: Ciências Exatas e da Terra (Química)

Introdução

Conforme FRESCHI *et al.* (2001) a determinação precisa de cádmio (Cd) em amostras ambientais, de alimentos ou biológicas é de grande importância devido à toxicidade deste elemento e seus compostos. Certos alimentos como hortaliças podem servir como rota de ingestão de Cd devido ao alto consumo destes gêneros (RODRÍGUEZ-CEA *et al.*, 2005). Este elemento normalmente está presente em nível-traço nas amostras de alimentos de origem vegetal, desta maneira são necessárias técnicas analíticas para a quantificação tais como espectrometria de absorção atômica em chama, espectrometria atômica de fluorescência, eletroanálises ou análise com ativação de nêutron, entre outras técnicas. A espectrometria de absorção atômica com aquecimento eletrotérmico (ETAAS) é uma das técnicas mais viável e amplamente usada para a determinação de Cd em nível traço (FRESCHI *et al.*, 2001).

De qualquer modo, quanto mais sensível a técnica analítica maior o RISCO de interferências no resultado, devido a contaminações quanto ao procedimento de preparo das amostras e quanto à adequação do laboratório (HOENG, 2005). Antes das análises, as amostras orgânicas estão sujeitas a duas etapas distintas: dissolução e mineralização. O objetivo da fase de preparo da amostra é o de diminuir os efeitos de interferências causados pela matriz, possibilitando a análise do elemento de interesse (HOENG, 2005). Dentre os

procedimentos mais comuns para a dissolução e análise de metais pode-se destacar os métodos de calcinação e os de digestão via úmida (ou digestão ácida) (TWYMAN, 2005).

A seleção de um tratamento apropriado para a dissolução da amostra depende de dois fatores: 1) a natureza da amostra e 2) de sua matriz, podendo esta ser predominantemente orgânica ou inorgânica (TWYMAN, 2005). Conseqüentemente o objetivo deste trabalho foi de determinar o melhor procedimento de preparo de amostras de origem vegetal (via calcinação ou via digestão úmida), bem como os melhores parâmetros operacionais para a determinação analítica de Cd por ETAAS.

Materiais e Métodos

Equipamento: Todas as determinações analíticas foram feitas por espectrometria de absorção atômica com aquecimento eletrotérmico (ETAAS), em espectrômetro de absorção atômica PerkinElmer modelo AAnalyst 800 nas amostras de alface (*Lactuca sativa* L.), batata (*Solanum tuberosum* L.), beterraba (*Beta vulgaris* L.), cenoura (*Daucus carota* L.) e mandioca (*Manihot utilissima* L.). As condições experimentais para as determinações foram: comprimento de onda de 228,8 nm; abertura de fenda de 0,70 nm e corrente de lâmpada de 4 mA. Para estas determinações empregaram-se as condições SPTF, além do emprego da técnica de adição de analito.

Reagentes: ÁCIDOS: HNO₃ (65% m/m) Carlo Erba Reagenti P.A.-A.C.S., HClO₄ (70 % m/m) Nuclear P.A.-A.C.S., HCl (36% m/m) Vetec P.A.-A.C.S. ÁGUA: resistividade de 18,2 mΩ cm obtida por um sistema Millipore, modelo Simplicity. **SOLUÇÃO PADRÃO:** Padrão de Cd 1,000 mg/g SpecSol, preparado em 1% (v/v) HCl. **MODIFICADOR DE MATRIZ:** 50 µg de NH₄H₂PO₄ e 3 µg de Mg(NO₃)₂.

Preparo das amostras: Lavou-se cada amostra de hortaliça, primeiramente, com água destilada para a retirada de terra e outros detritos pertinentes e, posteriormente, foram escovadas com cerdas de polipropileno e lavadas com água deionizada. As amostras das partes aéreas de alface foram cuidadosamente cortadas junto com os talos de cada folha, com exceção do talo central que foi descartado com as raízes. As amostras das partes subterrâneas de batata, beterraba, cenoura e mandioca foram raladas com ralador de polipropileno em cápsulas de porcelanas. Em seguida, pesou-se 1,0 ± 0,1 g de cada amostra para a determinação da umidade. A partir da equação 1 pode-se obter as percentagens de umidade nas amostras:

$$\%Umid = ((M_1 - M_2)/M_1) \cdot 100 \quad (1)$$

Onde: M_1 é a massa fresca (g); M_2 é a massa seca (g); %Umid: porcentagem de umidade.

O restante das amostras foi mantido nas cápsulas e levado à estufa para a obtenção de massa desidratada a 120 ± 5 °C por 24 h. Após a desidratação, armazenaram-se as amostras em béqueres de polipropileno tampados com filme de PVC e armazenados em dessecador. Para cada amostra desidratada analisada fez-se os cálculos, conforme a equação 2, para se saber quanto desta amostra representava, em peso, a amostra fresca correspondente:

$$M_f = (100 \cdot M_s)/(100 - \%Umid) \quad (2)$$

Onde: M_f : massa de amostra fresca (g); M_s : massa pesada de amostra seca (g); %Umid: porcentagem de umidade média da amostra.

Com os valores das análises ETAAS para Cd e a M_f calculou-se a massa de metal presente por massa fresca de amostra através da Equação 3:

$$m = (C/M_f) \cdot f \quad (3)$$

Onde: m : concentração do metal por massa fresca de amostra (µg Kg⁻¹); C : concentração do metal na solução (µg L⁻¹); M_f : massa de amostra fresca (g); f : fator de conversão de unidade, (no caso $f = 1000$).

As determinações de Cd foram feitas utilizando adaptações dos procedimentos desenvolvidos por WIETESKA *et al* (1996) para a

preparação de amostras vegetais via digestão ácida e calcinação, para posterior determinação por ETAAS.

Calcinação: Primeiramente, realizou-se a calcinação das amostras desidratadas, pesando-se aproximadamente 0,5 g de cada hortaliça em cadinhos de porcelana e, em seguida, tampava-os. Transferiram-se os cadinhos para uma mufla e realizou-se a rampa de aquecimento de 100 a 500 °C, com intervalos de temperatura de 100 °C, onde permanecia por 20 min. Por fim, ao atingir a temperatura de 500 °C, permanecia por 2 h.

Os resíduos da calcinação foram digeridos com 2,0 mL de H₂O deionizada, 0,5 mL de HCl e 1,0 mL de HNO₃, ambos concentrados. Os cadinhos foram tampados com vidro de relógio, e submetidos a aquecimento em uma chapa de aquecimento por 30 min em banho de areia, deste modo, garantindo um melhor controle no aquecimento e refluxo, evitando perda por arraste e evaporação por completo, também uma possível formação de óxidos metálicos dos elementos de interesse e garantindo uma digestão completa. Após digestão e resfriamento, enxaguou-se adequadamente com água deionizada todo o sistema de digestão, transferiu-se quantitativamente as soluções dos cadinhos para balões de 50,0 mL e completou-os com H₂O deionizada.

Digestão Ácida: pesou-se 0,5 g de cada amostra em béqueres de vidro de 50,0 mL. Em seguida, pipetou-se em cada béquer 5,0 mL de uma mistura ácida composta por HNO₃ e HClO₄ (4:1 v/v) e 2,0 mL de H₂O deionizada. Em seguida, cada béquer foi tampado com vidro de relógio e transferido para banho de areia de maneira que a digestão fosse branda, inerente quando se trabalha com este tipo de mistura ácida. O tempo de digestão variou de 1 a 2 h, com a solução do sistema em contínuo refluxo, até o produto da digestão se tornasse o mais límpido possível (WIETESKA *et al* 1996). Após digestão e resfriamento, transferiu-se quantitativamente as soluções dos cadinhos para balões de 50,0 mL e completou-os com H₂O deionizada.

Para as determinações por ETAAS para Cd utilizando-se a metodologia de calcinação e digestão ácida fez-se a otimização dos parâmetros analíticos necessários para a determinação destes em amostras reais e nos testes de adição e recuperação. Para isso montaram-se as curvas de pirólise e atomização. Através destas curvas, específica para cada elemento e tipo de matriz, foi possível otimizar as temperaturas das etapas de pirólise e atomização, garantindo um sinal de atomização simétrico e representativo à massa do analito. Os testes de adição e recuperação de analito foram feitos adicionando-se, sobre 0,5 g das amostras desidratadas, 2,0 µg L⁻¹ de padrão de Cd, em

virtude da não existência de padrões certificados das hortaliças estudadas (segundo NIST, 110.4 Agricultural Materials (powder form), 2006). Buscando uma validação entre técnicas analíticas diferentes, amostras de alface foram determinadas por espectrometria de emissão ótica com plasma acoplado indutivamente (ICP-OES), realizadas no Laboratório de Espectrometria de Emissão e Absorção Atômica (LEEA).

Resultados

A seguir são mostrados duas figuras de curvas de pirólise (piról.) e atomização (atom.) em função da matriz (alface) e do pré-tratamento aplicado (Figs. 1 e 2):

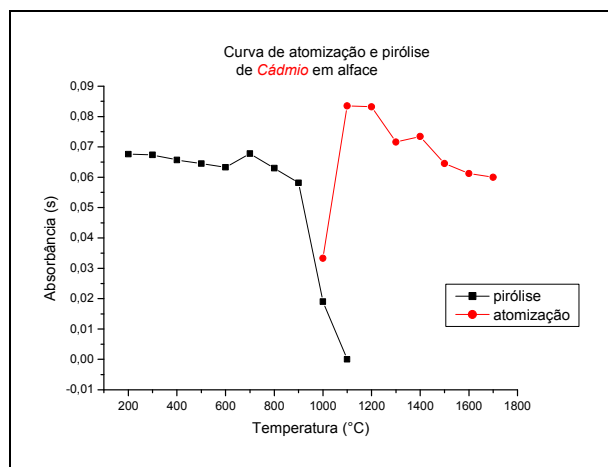


Figura 1: Curva de atomização e pirólise com adição de 10 µg Cd (Digestão Ácida).

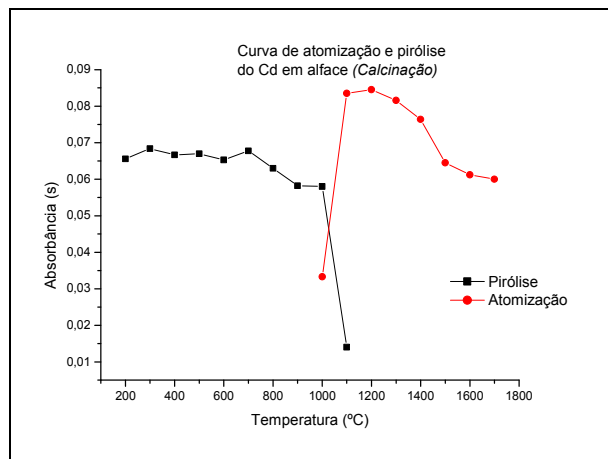


Figura 2: Curva de atomização e pirólise com adição de 10 µg Cd (Calcinação).

A partir das análises dos gráficos acima se podem otimizar os parâmetros de aquecimento eletrotérmico, determinando-se a melhor temperatura de pirólise e atomização em função do tipo de amostra e da metodologia empregada. Os resultados são mostrados a seguir (Tab. 1):

Tabela 1: Otimização das temperaturas de atomização e pirólise para a determinação de Cd.

Vegetais	Calcinação		Digestão Ácida	
	Piról.(°C)	Atom.(°C)	Piról.(°C)	Atom.(°C)
Alface	800	1300	900	1200
Batata	700	1500	800	1400
Beterraba	800	1200	800	1300
Cenoura	900	1300	700	1200
Mandioca	700	1400	600	1400

Um estudo característico de um perfil analítico foi feito em função da sensibilidade de intensidade do sinal (massa característica), e da quantidade mínima do analito que se pode atomizar (limite de detecção instrumental). Estes parâmetros que avaliam um sinal analítico característico de uma atomização eletrotérmica, também são importantes na decisão da escolha da técnica analítica [14].

Um dos parâmetros que expressam a sensibilidade de uma determinação analítica pode ser dado pela massa característica, cujo valor é dado pela Equação 4 (Izário Filho 1999):

$$m_0 = \frac{\text{quantidade injetada } (\mu\text{L}) \cdot \text{concentração do analito } (\mu\text{g L}^{-1}) \cdot 0,0044}{\text{sinal medido (Área) (analito - branco)}} \quad (4)$$

Outro parâmetro, que também expressa a sensibilidade de uma determinação analítica, é o valor do limite de detecção instrumental (LDI) dos elementos nos diversos sistemas eletrotérmicos. O LDI é definido pelo ruído da linha de base e a sensibilidade da medida, segundo a equação abaixo (Izário Filho 1999):

$$LDI = (3 \cdot \sigma_{br} \cdot m_0) / 0,0044 \quad (5)$$

Onde σ_{br} é o desvio padrão do sinal do branco.

Com relação à calcinação os valores de massa característica oscilaram entre 0,9 µg s⁻¹ em amostras de cenoura e 6,2 µg s⁻¹ em mandioca; e para a metodologia de digestão ácida variou entre 0,6 µg s⁻¹ em alface e 3,9 µg s⁻¹ em beterraba. Independente da metodologia empregada verificou-se que o limite instrumental variou entre 0,06 µg e 0,5 µg.

Após otimização dos parâmetros fez-se teste de adição e recuperação de analitos, os resultados são mostrados a seguir (Tabela 2):

Tabela 2: Porcentagem de recuperação de Cd dos teste de adição e recuperação de analito.

	Calcinação	Digestão Ác.
Alface	102,2 %	104,5 %
Batata	101,0 %	72,3 %
Beterraba	93,9 %	67,6 %
Cenoura	100,9 %	97,1 %
Mandioca	85,2 %	76,1 %

Nas análises interlaboratoriais, via ICP-OES, para a mesma amostra de alface não foi possível fazer uma comparação de técnicas pois o analito presente esteve abaixo do limite de quantificação da técnica (0,001 mg L⁻¹).

Discussão

Com exceção das amostras de batata, beterraba e mandioca que apresentaram porcentagem de recuperação igual a 72,3 %, 67,6 % e 76,1 % para digestão ácida; o restante dos testes de recuperação apresentaram valores superiores a 85 %, deste modo, os resultados podem ser considerados satisfatórios analiticamente para as duas metodologias, o que viabiliza a aplicação da metodologia nas determinações analíticas do Cd nas amostras de interesse.

Pode-se observar que as condições de atomização e pirólise são mais brandas aplicando-se a metodologia de calcinação que a de digestão ácida. Coincidentemente a metodologia de calcinação foi a que apresentou melhores valores de recuperação.

O fato de não ter sido detectado Cd por ICP-OES pode ser explicado em função das técnicas. Comparando ETAAS e ICP-OES, as técnicas de absorção requerem instrumentação menos cara e normalmente alcançam maior sensibilidade, o que foi necessário para a quantificação de Cd nestas amostras (GONZÁLES; GONZÁLES, 2005).

Conclusão

As metodologias empregadas para determinações por FAAS e ETAAS puderam ser viabilizadas por teste de adição e recuperação, onde a metodologia de calcinação mostrou-se como a mais viável para quantificação de Cd com maior percentual de recuperação. As condições otimizadas de atomização e pirólise para a metodologia de calcinação foram menores que às otimizadas para metodologia de digestão ácida, o que leva a um menor desgaste do tubo de grafite e, aparentemente, uma melhor decomposição da matriz.

Agradecimentos



Processo nº 05/57382-6

- Profª. Dra. Elizabeth de Oliveira do Instituto de Química da USP pelas análises em ICP-OES.

Referências

- A. RODRÍGUEZ – CEA, M.R. FERNÁNDEZ DE LA CAMPA, A. SANZ – MEDEL. Cadmium. In: P. WORSFOLD, A. TOWNSHEND & C. POOLE (eds). **Encyclopedia of Analytical Science**, vol.

1, 2. ed. New York: Ed. Elsevier Academic Press, 2005.

- FRESCHI, G. P. G., DAKUZAKU, C. S., MORAES, M., NÓBREGA, J. A., NETO, J. A. G. **Simultaneous determination of cadmium and lead in wine by electrothermal atomic absorption spectrometry**. *Spectrochimica Acta Part B* 2001; p 1987 – 1993.

- GONZÁLES, M., GONZÁLES, V. Food and Nutritional Analysis/ Water and Minerals. In: P. WORSFOLD, A. TOWNSHEND & C. POOLE (eds). **Encyclopedia of Analytical Science**, vol. 3, 2. ed. New York: Ed. Elsevier Academic Press, 2005.

- GUILHERME, L. R. G.; MARCHI, G. Os metais pesados no solo. *DBO Agrotecnologia*, v.1, n.1, 2004. Disponível em: <http://www.anda.org.br/artigos/MetaisPesados.pdf>. Acesso em: 6 dez. 2006.

- HOENIG, M. Dry Ashing / Sample Dissolution for Elemental Analysis. In: P. WORSFOLD, A. TOWNSHEND & C. POOLE (eds). **Encyclopedia of Analytical Science**, vol. 8, 2. ed. New York: Ed. Elsevier Academic Press, 2005

- IZÁRIO FILHO, H. Determinação de Co, Cu, Fe, Mn e Mo em tântalo com alta pureza usando espectrometria por absorção atômica em forno de grafite. 1999. 171f. Tese (Doutorado em Ciências) – Instituto de Química, Universidade Estadual de Campinas, 1999.

- NIST (National Institute of Standards and Technology). Technology Services: Standard Reference Materials. Disponível em: https://srms.nist.gov/tables/view_table.cfm?table=110-4.htm. Acesso em 1 de agosto de 2006.

- TWYMAN, R. M. Wet Digestion / Sample Dissolution for Elemental Analysis. In: P. WORSFOLD, A. TOWNSHEND & C. POOLE (eds). **Encyclopedia of Analytical Science**, vol. 8, 2. ed. New York: Ed. Elsevier Academic Press, 2005.

- WIETESKA, E., ZIÓEK, A., DRZEWINSKA, A.; **Extraction as a method for preparation of vegetables samples for determination of trace metals by atomic absorption spectrometry**. *Analytica Chimica ACTA* 1996; p. 251-257.