



UNIVERSIDADE FEDERAL DE ALFENAS
Programa de Pós-Graduação em Química (PPGQ)



FABRÍCIO ALVES BORGES

**AMOSTRAGEM DIRETA DE BIOSSORVENTE SÓLIDO MAGNÉTICO EM
ESPECTROMETRIA DE ABSORÇÃO ATÔMICA COM CHAMA PARA A
DETERMINAÇÃO DE CHUMBO EM SUCOS**

Alfenas/MG

2021

FABRÍCIO ALVES BORGES

**AMOSTRAGEM DIRETA DE BIOSSORVENTE SÓLIDO MAGNÉTICO EM
ESPECTROMETRIA DE ABSORÇÃO ATÔMICA COM CHAMA PARA A
DETERMINAÇÃO DE CHUMBO EM SUCOS**

Dissertação apresentada ao programa de Pós-Graduação em Química como parte dos requisitos para obtenção do título de Mestre em Química.
Área de Concentração: Química Analítica.
Orientador: Prof. Dr. Eduardo Costa de Figueiredo
Coorientadora: Profa. Dra. Giovana de Fátima Lima Martins
Mestrando: Fabrício Alves Borges

Alfenas/MG

2021

Sistema de Bibliotecas da Universidade Federal de Alfenas
Biblioteca Central

Borges, Fabrício Alves.

Amostragem direta de biossorvente sólido magnético em Espectrometria de Absorção Atômica com Chama para a determinação de Chumbo em sucos / Fabrício Alves Borges. - Alfenas, MG, 2022.

84 f. : il. -

Orientador(a): Eduardo Costa Figueiredo.

Dissertação (Mestrado em Química) - Universidade Federal de Alfenas, Alfenas, MG, 2022.

Bibliografia.

1. Amostragem direta com sorvente magnético. 2. DMSS-FAAS. 3. Chumbo. 4. Suco. 5. Extração em fase sólida dispersiva. I. Figueiredo, Eduardo Costa, orient. II. Título.

AMOSTRAGEM DIRETA DE BIORSORVENTE SÓLIDO MAGNÉTICO EM ESPECTROMETRIA DE ABSORÇÃO ATÔMICA
COM CHAMA PARA A DETERMINAÇÃO DE CHUMBO EM SUCOS

A Banca examinadora abaixo-assinada aprova a Dissertação apresentada como parte dos requisitos para a obtenção do título de Mestre em Química pela Universidade Federal de Alfenas. Área de concentração: Química Analítica.

Aprovada em: 30 de novembro de 2022

Prof. Dr. Eduardo Costa de Figueiredo
Instituição: Universidade Federal de Alfenas (Unifal)

Prof. Dr. Marco Aurélio Zezzi Arruda
Instituição: Universidade Estadual de Campinas (Unicamp)

Prof. Dr. Gian Paulo Giovanni Freschi
Instituição: Universidade Federal de Alfenas (Unifal)



Documento assinado eletronicamente por **Marco Aurélio Zezzi Arruda, Usuário Externo**, em 30/11/2022, às 11:44, conforme horário oficial de Brasília, com fundamento no art. 6º, § 1º, do [Decreto nº 8.539, de 8 de outubro de 2015](#).



Documento assinado eletronicamente por **Gian Paulo Giovanni Freschi, Professor do Magistério Superior**, em 30/11/2022, às 11:44, conforme horário oficial de Brasília, com fundamento no art. 6º, § 1º, do [Decreto nº 8.539, de 8 de outubro de 2015](#).



Documento assinado eletronicamente por **Eduardo Costa de Figueiredo, Professor do Magistério Superior**, em 30/11/2022, às 11:45, conforme horário oficial de Brasília, com fundamento no art. 6º, § 1º, do [Decreto nº 8.539, de 8 de outubro de 2015](#).



A autenticidade deste documento pode ser conferida no site https://sei.unifal-mg.edu.br/sei/controlador_externo.php?acao=documento_conferir&id_orgao_acesso_externo=0, informando o código verificador **0869074** e o código CRC **E054608D**.

AGRADECIMENTOS

Em primeiro lugar agradeço à Deus por todas as minhas conquistas até aqui, pois tudo que tenho é graças à Ele. Obrigado por ser meu principal refúgio nos momentos mais críticos, me amparando e me iluminando sempre.

Agradeço à minha família, minha mãe Sely, meu pai José Roberto e meu irmão Bruno, por sempre me apoiarem e me motivarem a continuar. Todo suporte que recebi de vocês foi fundamental na minha jornada.

Sou grato ao meu orientador Eduardo Costa de Figueiredo e minha coorientadora Giovana de Fátima Lima Martins por me acolherem na pesquisa em Química Analítica desde a época da graduação e por sempre estarem dispostos a me ajudar.

Aos meus amigos pela companhia constante, e por proporcionarem momentos inesquecíveis e que trouxeram um pouco de leveza durante esse período complexo.

À Lucimara, discente de Doutorado, pela parceria nas pesquisas e no desenvolvimento do método aplicado em minha pesquisa.

Meus agradecimentos aos membros do Laboratório de Análise de Toxicantes e Fármacos e do Grupo de Pesquisa em Química Analítica Instrumental dos quais faço parte.

Agradeço também ao Laboratório de Análise de Toxicantes e Fármacos e o Laboratório de Pesquisa em Química Analítica da UNIFAL-MG onde minha pesquisa foi desenvolvida. Ao Núcleo de Controle de Qualidade, ao Laboratório Interdisciplinar de Química e ao Laboratório de Pesquisa em Sistemas de Liberação de Fármacos da UNIFAL-MG e também à Central Analítica da UFPR pelas análises de caracterização.

Sou grato à Universidade Federal de Alfenas, ao Instituto de Química, ao Programa de Pós-graduação em Química.

O presente trabalho foi realizado com apoio da Coordenação de Aperfeiçoamento de Pessoal de Nível Superior – Brasil (CAPES) – Código de Financiamento 001.

O presente trabalho foi realizado com apoio financeiro da Fundação de Amparo à Pesquisa do Estado de Minas Gerais (FAPEMIG) e a da Pró-reitoria de Pesquisa e Pós-graduação da UNIFAL-MG.

O presente trabalho foi realizado com apoio da Fundação de Desenvolvimento da Pesquisa (FUNDEP) e do Conselho Nacional de Desenvolvimento Científico e Tecnológico (CNPq).

RESUMO

O consumo de sucos industrializados tem crescido nos últimos anos por se tratar de uma bebida que oferece muitos benefícios para quem busca uma alimentação mais saudável. Todavia, na composição dos sucos podem haver diversas substâncias contaminantes que oferecem riscos para a saúde dos consumidores, sendo os metais tóxicos uma classe de contaminantes que requer bastante atenção. As principais fontes de metais estão no cultivo das frutas, pois estes podem estar presentes naturalmente no solo ou serem inseridos por meio de fertilizantes ou pela água de irrigação das lavouras. Desta forma, os órgãos regulatórios, como a ANVISA, cumprem um papel fundamental em estabelecer os limites máximos tolerados para diferentes metais tóxicos em alimentos, incluindo os sucos e néctares industrializados. Assim, o desenvolvimento de novas metodologias analíticas mais simples, sensíveis e eficientes é de grande importância, principalmente por se tratar de amostras complexas. Nesse contexto, o presente trabalho avaliou a aplicação de um biossorvente magnético para a adsorção de chumbo em amostras de sucos industrializados a base de soja, por extração em fase sólida dispersiva, seguida da quantificação por meio da técnica de amostragem direta de sorvente sólido magnético em espectrometria de absorção atômica com chama (DMSS-FAAS, do inglês “Direct Magnetic Sorbent Sampling in Flame Atomic Absorption Spectrometry”). Esta técnica foi recentemente proposta por nosso grupo de pesquisa, e promove ganho expressivo de sensibilidade quando em comparação com metodologias convencionais. O biossorvente magnético foi sintetizado a partir de casca de laranja seca e triturada, por incorporação de nanopartículas de magnetita. A caracterização foi feita por análise termogravimétrica, espectroscopia no infravermelho, análise de carga superficial e microscopia eletrônica de transmissão. Uma otimização multivariada dos parâmetros de extração (tempo de extração, pH da amostra e volume de amostra) foi realizada, seguida da construção de curvas analíticas em água e nos sucos. Foram obtidas faixas analíticas de 5 a 140 $\mu\text{g L}^{-1}$ em água, de 10 a 300 $\mu\text{g L}^{-1}$ em suco a base de soja e de 10 a 150 $\mu\text{g L}^{-1}$ em suco de uva integral, suco de uva reconstituído e néctar de laranja com coeficientes de correlação maiores que 0,99 em todos os casos. Os limites de detecção foram na faixa de 0,97 à 4,58 $\mu\text{g L}^{-1}$ e os limites de quantificação de 2,94 e 13,89 $\mu\text{g L}^{-1}$. As precisões intradia e interdia (expressas como DPR%) variaram de 2,2 e 25,0% para os sucos analisados. As exatidões intradia e interdia (expressas como ER%) foram entre 0,3% e 24,5% para os sucos.

Palavras chave: amostragem direta com sorvente magnético; DMSS-FAAS; biossorvente magnético; chumbo; suco; extração em fase sólida; extração em fase sólida dispersiva; amostragem direta.

ABSTRACT

The consumption of industrialized juices has grown in recent years, due their benefits for those seeking a healthier diet. However, juices can be contaminated with several toxic compounds that pose risks to the health of consumers, as for example toxic metals. The main sources of metals are in the cultivation of fruits, as they can be naturally present in the soil or be inserted through fertilizers or by the irrigation water. In this way, regulatory agencies, such as ANVISA, play a fundamental role in the establishing the limits for different toxic metals in foods, including industrialized juices and nectars. In addition, the development of new analytical methodologies is important to the contaminant monitoring, main in complex samples. In this context, the present work evaluate the use of a magnetic biosorbent in dispersive solid phase extraction of lead from industrialized soy-based juices, followed by quantification through the direct magnetic sorbent sampling flame atomic absorption spectrometry (DMSS-FAAS). This technique was recently proposed by our research group, and it promotes a significant gain in sensitivity when compared to conventional methodology. The magnetic biosorbent was synthesized with orange peel powder by incorporation of magnetite nanoparticles. Characterizations were performed by thermogravimetric analyses, infrared spectroscopy, surface charge analysis and transmission electron microscopy. A multivariate optimization of the extraction parameters (extraction time, sample pH and sample volume) was performed, followed by the construction of analytical curves in water and juices. The analytical curves ranged from 5 to 140 $\mu\text{g L}^{-1}$ in water, 10 to 300 $\mu\text{g L}^{-1}$ in soy-based juice and 10 to 150 $\mu\text{g L}^{-1}$ for whole grape juice, reconstituted grape juice and orange nectar, with correlation coefficients were greater than 0.99 for all cases. The detection limits were between 0.97 and 4.58 $\mu\text{g L}^{-1}$ and the quantification limits were 2.94 and 13.89 $\mu\text{g L}^{-1}$. The intraday and interday precisions (expressed as RSD%) were between 2.2 and 25.0%. Intraday accuracies (expressed as RE%) were between 0.3 and 24.5%.

Keywords: direct magnetic sorbent sampling; DMSS-FAAS; magnetic biosorbent; lead; juice; solid phase extraction; dispersive solid phase extraction; direct sampling.

LISTA DE FIGURAS

Figura 1 -	Representação dos componentes de um espectrofotômetro de absorção atômica com chama.	18
Figura 2 -	Etapas do processo de extração por d-SPE.....	21
Figura 3 -	Representação da incorporação das nanopartículas magnéticas com a biomassa pelo método de co-precipitação.	23
Figura 4 -	Esquema da extração em fase sólida dispersiva.	25
Figura 5 -	Esquema do processo de análise, por espectrometria de absorção atômica com chama, de metais retidos nas partículas magnéticas, magneticamente ancoradas na ponta da haste de aço inoxidável.	26
Figura 6 -	Etapas do procedimento de síntese do biossorvente magnético.	36

LISTA DE FOTOGRAFIAS

Fotografia 1 -	Étapas de coleta do biossorvente e injeção.....	40
Fotografia 2 -	Microscopias Eletrônicas de Transmissão das nanopartículas magnéticas, casca de laranja em pó e biossorvente magnético.	52
Fotografia 3 -	Comparação das gotas com diferentes massas de biossorvente.	63

LISTA DE GRÁFICOS

Gráfico 1 - Espectros FTIR das nanopartículas magnéticas, casca de laranja em pó e biossorvente magnético.	49
Gráfico 2 - Curvas de perda de massas para as nanopartículas magnéticas, casca de laranja em pó e biossorvente magnético.	50
Gráfico 3 - Variação da carga superficial de acordo com o pH para as nanopartículas magnéticas, casca de laranja em pó e biossorvente magnético.	51
Gráfico 4 - Exemplos dos sinais analíticos para diferentes métodos.	59
Gráfico 5 - Gráfico de Pareto dos efeitos para os fatores investigados.	64
Gráfico 6 - Resultados da Matriz de Doehlert para otimização dos fatores VA e pH. ...	66
Gráfico 7 - Curvas de calibração em diferentes amostras.	69
Gráfico 8 - Réplicas das leituras de um padrão de chumbo na concentração de $150 \mu\text{g L}^{-1}$, utilizado para construção da curva em suco à base de soja.	71
Gráfico 9 - Curvas analíticas para as metodologias de inserção direta na chama, d-SPE convencional e análise direta.	72
Gráfico 10 - Modelos cinéticos de adsorção ajustados aos dados experimentais.	53
Gráfico 11 - Modelos isotérmicos de adsorção ajustados aos dados experimentais.	55

LISTA DE TABELAS

Tabela 1 -	Matriz de coeficientes de contraste para um planejamento fatorial 2^3	29
Tabela 2 -	Níveis dos fatores e matriz de planejamento fatorial 2^3	42
Tabela 3 -	Matriz de Doehlert com 2 fatores.....	43
Tabela 4 -	Parâmetros de ajuste para as cinéticas de adsorção de Pb^{2+} no bioissorvente magnético.	56
Tabela 5 -	Parâmetros de ajuste para as isotermas de adsorção de Pb^{2+} no bioissorvente magnético.	57
Tabela 6 -	Sinais analíticos para a triagem de pH.	61
Tabela 7 -	Sinais analíticos para diferentes massas de bioissorvente.	62
Tabela 8 -	Sinais obtidos para extrações em água e suco.	67
Tabela 9 -	Figuras de mérito para os experimentos em diferentes amostras.	70
Tabela 10 -	Exemplos de trabalhos em que foi feita a detecção de chumbo por diferentes técnicas.	73

LISTA DE ABREVIACOES E SIGLAS

AAS	Espectrometria de Absorção Atômica (<i>Atomic Absorption Spectrometry</i>)
ANVISA	Agência Nacional de Vigilância Sanitária
ATR	Refletância Total Atenuada (<i>Attenuated Total Reflectance</i>)
CNM	Nanomateriais de Carbono (<i>Carbon Nanomaterials</i>)
DMSS-FAAS	Amostragem Direta de Sorvente Sólido Magnético em Espectrometria de Absorção Atômica com Chama (<i>Direct Magnetic Sorbent Sampling in Flame Atomic Absorption Spectrometry</i>)
DPR%	Desvio Padrão Relativo
d-SPE	Extração em Fase Sólida Dispersiva (<i>Dispersive Solid Phase Extraction</i>)
ER%	Erro Relativo
FAAS	Espectrometria de Absorção Atômica com Chama (<i>Flame Atomic Absorption Spectrometry</i>)
FTIR	Espectrometria no Infravermelho por Transformada de Fourier (<i>Fourier Transform Infrared Spectrometry</i>)
GFAAS	Espectrometria de Absorção Atômica com Forno de Grafite (<i>Graphite Furnace Atomic Absorption Spectrometry</i>)
ICP OES	Espectrometria de Emissão tica com Plasma Indutivamente Acoplado (<i>Inductively Coupled Plasma Optical Emission Spectrometry</i>)
ICP-MS	Espectrometria de Massa com Plasma Indutivamente Acoplado (<i>Inductively Coupled Plasma Mass Spectrometry</i>)
LD	Limite de Detecção
LMT	Limites Máximos Tolerados
LQ	Limite de Quantificação
m-AGO	Aerogel de óxido de Grafeno Magnético
MAPA	Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento
MNP	Nanoprculas Magnéticas (<i>Magnetic Nanoparticles</i>)
MOF	Estruturas Metal-orgânicas (<i>Metal-organic Frameworks</i>)
MSPE	Extração em Fase Sólida Magnética (<i>Magnetic Solid Phase Extraction</i>)
NAA	Análise por Ativação com Nêutrons (<i>Neutron Activation Analysis</i>)
NiP	Polímeros Nano-impressos (<i>Nanoimprinted Polymers</i>)
OMS	Organização Mundial da Saúde
SCP	Cronopotenciometria de Redissolução Anódica (<i>Stripping Chronopotentiometry</i>)
SiNP	Nanoprculas de Sílica (<i>Silica Nanoparticles</i>)
SPE	Extração em Fase Sólida (<i>Solid Phase Extraction</i>)
TE	Tempo de Extração

TEM	Microscopia Eletrônica de Transmissão (Transmission Electronic Microscopy)
TGA	Análise Termogravimétrica (<i>Thermogravimetric Analysis</i>)
VA	Volume de Amostra

SUMÁRIO

1	INTRODUÇÃO	12
2	REVISÃO BIBLIOGRÁFICA	14
2.1	METAIS EM SUCOS INDUSTRIALIZADOS.....	14
2.2	TOXICOLOGIA DO CHUMBO	15
2.3	TÉCNICAS INSTRUMENTAIS PARA DETERMINAÇÃO DE METAIS.....	16
2.4	PREPARO DE AMOSTRA	19
2.4.1	Extração em fase sólida (SPE).....	19
2.4.2	Sorventes para SPE	21
2.5	AMOSTRAGEM DIRETA DE SORVENTE SÓLIDO MAGNÉTICO EM ESPECTROMETRIA DE ABSORÇÃO ATÔMICA COM CHAMA (DMSS-FAAS).....	24
2.6	OTIMIZAÇÃO MULTIVARIADA DOS FATORES	27
2.6.1	Planejamentos fatoriais de dois níveis	28
2.6.2	Metodologia de Superfícies de Resposta e Matriz de Doehlert	30
3	OBJETIVOS	32
3.1	OBJETIVOS GERAIS	32
3.2	OBJETIVOS ESPECÍFICOS	32
4	METODOLOGIA.....	33
4.1	REAGENTES E SOLUÇÕES.....	33
4.2	EQUIPAMENTOS E ACESSÓRIOS	33
4.3	AQUISIÇÃO DE AMOSTRAS	34
4.4	SÍNTESE	34
4.5	CARACTERIZAÇÃO.....	36
4.5.1	Análise por Espectroscopia no Infravermelho por Transformada de Fourier (FTIR)	36
4.5.2	Análise Termogravimétrica (TGA).....	36
4.5.3	Potencial Zeta.....	37
4.5.4	Microscopia Eletrônica de Transmissão (TEM).....	37
4.6	ESTUDOS DE ADSORÇÃO.....	37
4.6.1	Cinética de Adsorção.....	37
4.6.2	Isoterma de Adsorção.....	39
4.7	SISTEMA DE ANÁLISE DE METAIS POR INSERÇÃO DIRETA NA CHAMA.....	39
4.8	TESTES INICIAIS	40
4.8.1	Influência do pH na eficiência de extração	40
4.8.2	Teste de massas	41

4.9	OTIMIZAÇÃO	41
4.9.1	Planejamento Fatorial 2³	41
4.9.2	Matriz de Doehlert	42
4.10	TESTE INICIAL EM SUCO.....	43
4.11	VALIDAÇÃO DO MÉTODO ANALÍTICO	43
4.11.1	Figuras de mérito	43
4.11.2	Comparação analítica	45
5	RESULTADOS	47
5.1	SÍNTESE	47
5.2	CARACTERIZAÇÃO.....	48
5.2.1	Análise por Espectroscopia no Infravermelho por Transformada de Fourier	48
5.2.2	Análise Termogravimétrica	49
5.2.3	Potencial Zeta	51
5.2.4	Microscopia Eletrônica de Transmissão	52
5.3	ESTUDOS DE ADSORÇÃO	53
5.3.1	Cinética de Adsorção	53
5.3.2	Isoterma de Adsorção	54
5.4	AMOSTRAGEM DIRETA DE SORVENTE SÓLIDO MAGNÉTICO EM ESPECTROMETRIA DE ABSORÇÃO ATÔMICA COM CHAMA	59
5.5	TESTES INICIAIS	60
5.5.1	Avaliação da extração e triagem de pH	60
5.5.2	Teste de massas	61
5.6	OTIMIZAÇÃO	63
5.6.1	Planejamento fatorial de dois níveis 2³	63
5.6.2	Otimização utilizando Matriz de Doehlert	65
5.7	TESTE INICIAL EM SUCO.....	67
5.8	VALIDAÇÃO DO MÉTODO ANALÍTICO	68
5.8.1	Figuras de mérito	68
5.8.2	Comparação analítica	71
6	CONCLUSÃO	74
	REFERÊNCIAS	75

1 INTRODUÇÃO

O interesse por dietas mais saudáveis vem aumentando atualmente, principalmente com a disponibilidade de novos produtos industriais de fácil acesso e que prometem mais benefícios nutricionais. No âmbito das bebidas, há um crescimento significativo no comércio e consumo de sucos prontos, principalmente os sucos naturais que já representa 30% do faturamento no setor de bebidas não alcoólicas (CARMO; DANTAS; RIBEIRO, 2014; NEWTRADE, 2021). Nesse setor, o consumo de bebidas de base vegetal aumenta a cada ano, tendo como destaque os sucos à base de soja, pois são uma alternativa favorável para quem possui algum tipo de alergia às bebidas lácteas ou para evitar o consumo de gordura, sem abrir mão dos aspectos nutritivos.

Os benefícios nutricionais dos sucos se dão pela presença de diversos componentes essenciais para o organismo, como vitaminas, minerais e açúcares por exemplo. Todavia, a segurança no consumo dessas bebidas pode ser comprometida quando há a presença de contaminantes que têm potencial de causar danos à saúde dos consumidores. A contaminação é possível por diferentes meios, desde o cultivo até a distribuição das bebidas e, desta forma, os tipos de contaminantes também são variados. As principais substâncias monitoradas são aquelas provenientes de fungos e bactérias que geralmente se proliferam em bebidas (LEE *et al.*, 2021; SILVA *et al.*, 2022). Os contaminantes podem se originar também da própria embalagem dos sucos, como alguns compostos benzênicos, ftalatos e interferentes endócrinos, como o bisfenol A, bastante relatados na literatura (AL-SALEH; ELKHATIB, 2014; KHAN *et al.*, 2021; LACHENMEIER *et al.*, 2008).

Outra classe de contaminantes de importância toxicológica são os metais não essenciais. Historicamente, muitos desses metais são usados em herbicidas, fungicidas e inseticidas aplicados na agricultura, e também podem ser encontrados no solo de forma natural (TVERMOES *et al.*, 2014). A presença desses metais nestas fontes causa a contaminação dos sucos cuja matéria prima foi exposta a esses elementos. Considerando essa possibilidade, o consumo de bebidas e alimentos com altas concentrações de metais tóxicos pode levar a doenças por conta dos danos que estes agentes oferecem (MOHAMED *et al.*, 2020). No caso do chumbo, já se tem relatos de sua presença em níveis acima do recomendado em diversas bebidas e há um crescente interesse em estudos a respeito da determinação deste metal (HERALDY *et al.*, 2018; TVERMOES *et al.*, 2014).

Para que os consumidores não fiquem expostos aos contaminantes possivelmente presentes nos sucos industrializados, as regulamentações a respeito dessas bebidas e o monitoramento de sua composição são fundamentais para evitar os riscos à saúde. No Brasil, a Agência Nacional de Vigilância Sanitária (ANVISA) e o Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento (MAPA) são os principais órgãos regulatórios de alimentos e bebidas, cumprindo um papel de grande importância no estabelecimento de parâmetros de qualidade, que incluem os limites máximos tolerados (LMT) de diversos agentes contaminantes (TACTA FOOD SCHOOL, 2021).

As técnicas analíticas são indispensáveis no monitoramento de metais em amostras variadas. No caso dos sucos, trata-se de matrizes complexas em que a quantificação de metais em nível traço é um desafio.

Amostragem direta de sorvente sólido magnético em espectrometria de absorção atômica com chama (DMSS-FAAS, do inglês “direct magnetic sorbent sampling in flame atomic absorption spectrometry”) foi recentemente desenvolvida pelo nosso grupo, e consiste na aplicação de materiais adsorventes magnéticos para a extração de metais em amostras líquidas, seguido da inserção direta do adsorvente na chama do FAAS por meio de uma haste magnética. Essa técnica promove a atomização de uma proporção maior do analito e com maior detectabilidade quando comparada à injeção convencional no nebulizador, em que somente uma pequena fração do metal chega até a chama. Além disso, as análises envolvendo amostras complexas se tornam mais simples, pois não requerem uma etapa de eluição com meio ácido e também não há problemas de entupimento dos capilares do equipamento já que a amostra não é aspirada (FIGUEIREDO *et al.*, 2021).

Desta forma, considerando a baixa concentração de chumbo em diferentes amostras de sucos de soja industrializados e a complexidade dessas matrizes, a principal hipótese desse trabalho é que um biossorvente magnético a base de casca de laranja pode pré-concentrar este metal com eficiência, seguido de análise por DMSS-FAAS. com alta detectabilidade analítica.

2 REVISÃO BIBLIOGRÁFICA

2.1 METAIS EM SUCOS INDUSTRIALIZADOS

A qualidade dos sucos industriais depende de muitos fatores que vão desde o cultivo das frutas e até o consumidor final. Essa qualidade não se refere apenas aos aspectos sensoriais deste produto, mas também na sua constituição química, tendo em vista que substâncias nocivas podem estar presentes e devem ser eliminadas para que os consumidores não sejam afetados. Os metais tóxicos estão incluídos nos tipos de contaminantes que podem comprometer a qualidade dessa bebida por diferentes vias de contaminação.

As condições industriais de fabricação e o armazenamento são possíveis vias de contaminação por metais (CAMPOS *et al.*, 2010). Entretanto, muitas vezes o controle de qualidade industrial monitora todas as etapas de processamentos das bebidas e as contaminações durante esses processos são minimizadas e geralmente as frutas já estão contaminadas antes mesmo dos processos industriais (MOHAMED *et al.*, 2020). A presença de metais nas frutas pode se originar a partir do solo e dos insumos utilizados, como os fertilizantes e própria água por exemplo. Além disso, as atividades antropogênicas favorecem a propagação de inúmeras substâncias para áreas ambientais e agrícolas, principalmente se essas estiverem próximas de zonas urbanas e industriais, elevando a possibilidade de contaminação durante o cultivo.

Especificamente sobre a contaminação de soja por chumbo, esta tem sido atribuída à translocação dos metais presentes no solo até os grãos e também pela utilização de fertilizantes (NAVA *et al.*, 2011; SILVA; VITTI; TREVIZAM, 2007). Vale ainda ressaltar que o Brasil é o maior produtor mundial de soja e sua capacidade de produção aumenta a cada ano, chegando a ser responsável por 80% da produção mundial (UOL, 2021). Essa alta produção de soja requer áreas de plantio bastante extensas em diferentes regiões do país e isso aumenta as possibilidades de disseminação de contaminantes.

Tendo em vista as diferentes vias de contaminação e propagação de metais em sucos industrializados e considerando também os riscos que os contaminantes oferecem à saúde, a presença de chumbo nessas bebidas é uma problemática emergente que deve ser investigada para que os consumidores não sejam comprometidos.

2. 2 TOXICOLOGIA DO CHUMBO

São considerados metais tóxicos aqueles que não são essenciais para o organismo humano e que apresentam certa toxicidade até mesmo em baixas concentrações (ZHAO *et al.*, 2021). O chumbo é um exemplo de metal tóxico capaz de causar danos severos aos humanos, sendo considerado pela Organização Mundial da Saúde (OMS) como um dos dez principais produtos químicos de grande preocupação para a saúde pública (ORGANIZAÇÃO MUNDIAL DA SAÚDE, 2019).

As fontes de exposição ao chumbo podem ser ocupacionais e ambientais. A contaminação atmosférica proveniente da queima de combustíveis aditivados e o uso de determinados cosméticos são exemplos de exposições a esse metal (JIANG *et al.*, 2021; ORGANIZAÇÃO MUNDIAL DA SAÚDE, 2019). Dentre as diversas vias de exposição, a principal se dá pelo consumo de água e alimentos contaminados. A situação pode ser mais problemática para as crianças, pois estas são capazes de absorver proporções de chumbo cinco vezes maiores do que os adultos (KLAASSEN; WATKINS, 2012; ORGANIZAÇÃO MUNDIAL DA SAÚDE, 2019).

Metais podem estar presentes em áreas agrícolas de forma natural, como por exemplo a sedimentação de rochas e por deposição atmosférica e também por origem antropogênica, devido às interferências humanas, tais como: mineração, resíduos industriais e urbanos não tratados e a utilização de agentes agroquímicos contaminados (ASSOCIAÇÃO BRASILEIRA DE SAÚDE COLETIVA, 2012; FATHABAD *et al.*, 2018; MNG'ONG'O *et al.*, 2021; SALEM *et al.*, 2020)

A principal via de absorção de chumbo no organismo é por meio do trato gastrointestinal, em que a maior parte da quantidade de metal absorvida provém dos alimentos e bebidas. A capacidade de absorção também está relacionada com a ausência de alguns nutrientes na dieta, como o cálcio, ferro, fósforo e zinco. Com baixos níveis de cálcio, ferro e fósforo, a absorção e retenção de chumbo é favorecida (OGA; CAMARGO; BATISTUZZO, 2014).

No organismo humano, há uma tendência de acúmulo de chumbo nos ossos, em que a fração da carga corpórea desse metal nos ossos é de 94 e 73% para adultos e crianças, respectivamente. A concentração também aumenta com a idade, em que o tempo de meia-vida de eliminação é de cerca de 27 anos. No caso das gestantes, a presença de chumbo nos ossos é fonte de transferência para o feto, por conta da reabsorção dos ossos da mãe para a

formação do esqueleto do feto. Esse acúmulo é suficiente para causar interferências na formação dos ossos, além de possibilitar a disseminação de chumbo para outras partes por meio da corrente sanguínea (OGA; CAMARGO; BATISTUZZO, 2014).

A distribuição de chumbo no organismo é bem ampla, o que potencializa os efeitos tóxicos mesmo em baixas concentrações. Os danos causados por esse metal incluem problemas hematológicos, renais, musculares, no sistema reprodutor, e problemas neurológicos, prejudicando funções cognitivas e a memória. Além desses efeitos, o chumbo pode causar efeitos genotóxicos, interferências no desenvolvimento dos bebês e está atribuído ao aparecimento de câncer (KLAASSEN; WATKINS, 2012; OGA; CAMARGO; BATISTUZZO, 2014).

O chumbo atua como inibidor da enzima ALA-D (necessária na biossíntese do grupamento Heme) e o zinco é capaz de reativar esta enzima, desta forma, a ausência de zinco no organismo pode elevar a toxicidade apresentada pelo chumbo (OGA; CAMARGO; BATISTUZZO, 2014).

2.3 TÉCNICAS INSTRUMENTAIS PARA DETERMINAÇÃO DE METAIS

Atualmente, a quantificação de metais pode ser realizada por diversas técnicas que trazem muitas vantagens, ainda mais quando o desafio é realizar determinações em baixas concentrações. Nesses casos, as técnicas espectrométricas se destacam por apresentarem baixos limites de detecção para muitos metais. A Espectrometria de Absorção Atômica (AAS - *Atomic Absorption Spectrometry*), a Espectrometria de Emissão Ótica com Plasma Indutivamente Acoplado (ICP OES - *Inductively Coupled Plasma Optical Emission Spectrometry*) e a Espectrometria de Massa com Plasma Indutivamente Acoplado (ICP-MS - *Inductively Coupled Plasma Mass Spectrometry*) são as técnicas mais utilizadas para determinação de elementos a nível traço, com limites de detecção na ordem de mg/L até sub-pg/L. Além dessas, as análises com raios-X, a Análise por Ativação com Nêutrons (NAA - *Neutron Activation Analysis*), bem como as técnicas eletroanalíticas também possibilitam a determinação desses analitos (BULSKA; RUSZCZYŃSKA, 2017).

Ainda que essas técnicas analíticas apresentem alta eficiência, algumas limitações podem surgir quando são necessárias aplicações em amostras complexas, impossibilitando a injeção direta dessas amostras nos sistemas de detecção. Para essas aplicações, é requerido um preparo das amostras para que o funcionamento dos equipamentos não seja

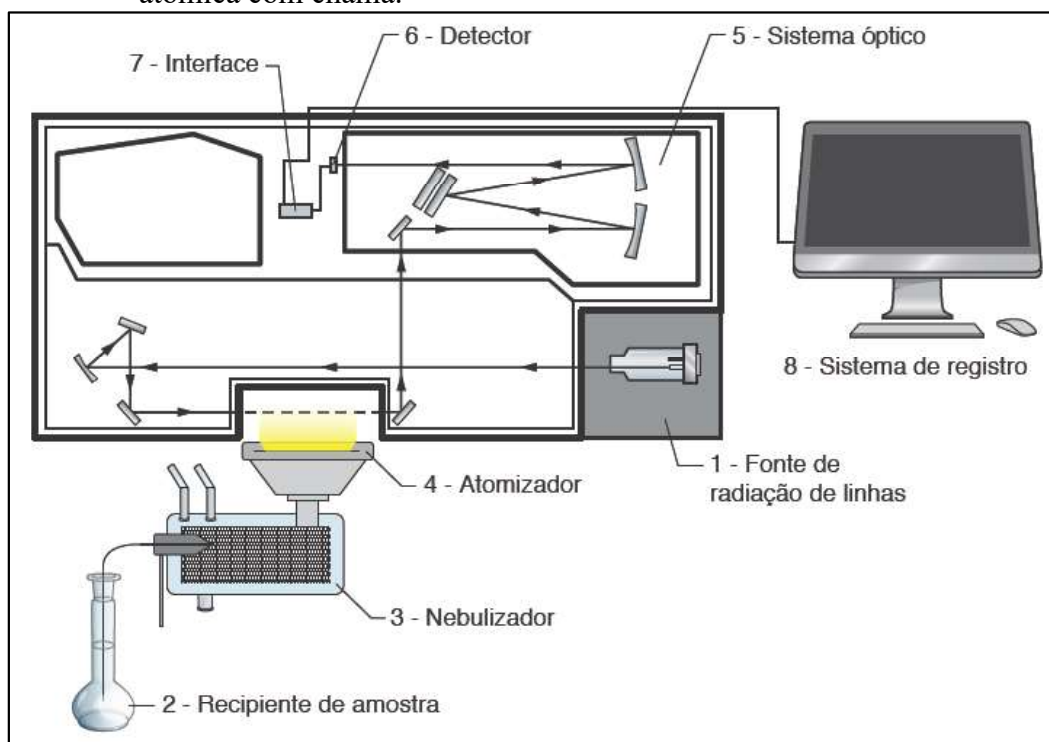
comprometido. Por outro lado, com um preparo adequado e com o auxílio de etapas de pré-concentração dos analitos, os metais em baixas concentrações podem ser detectados com precisão até mesmo nas técnicas em que os limites não são tão baixos, como a AAS, por exemplo.

Das principais técnicas espectrométricas utilizadas, a ICP-MS e a ICP OES se destacam também pela possibilidade de determinação de multianalitos de forma simultânea ou sequencial com boa precisão. Contudo, quando se busca a quantificação de um único metal, a AAS se mostra vantajosa por conta de apresentar um custo menor que os demais métodos. Na AAS, além da atomização em chama, a detectabilidade dos instrumentos pode ser aprimorada com a incorporação de alguns dispositivos, como por exemplo, a atomização em fornos de grafite e por *thermospray* (BULSKA; RUSZCZYŃSKA, 2017).

Os procedimentos de determinação de metais por AAS se baseiam no fenômeno de absorção de energia, na forma de radiação eletromagnética, que os átomos possuem quando estão livres no estado gasoso. Para isso, os íons metálicos devem ser aquecidos à uma temperatura para que sejam formados vapores desses metais que sofrerão o processo de absorção atômica. Nesse processo, quando um elemento recebe uma radiação eletromagnética em um comprimento de onda específico, parte dessa radiação é absorvida pelos átomos que ficarão em um estado excitado. Como nem toda radiação que foi incidida sobre os átomos livres é absorvida, a radiação remanescente pode ser detectada em um sistema de detecção, gerando um sinal analítico que possibilita a quantificação dos elementos que foram atomizados (ARAÚJO; IRIS, 2021; SKOOG; HOLLER; NIEMAN, 2002).

A modalidade mais utilizada é a Espectrometria de Absorção Atômica com Chama (FAAS - *Flame Atomic Absorption Spectrometry*) em que as amostras são aquecidas por uma chama para que os analitos sejam atomizados no estado gasoso. Além da chama, para a detecção dos elementos de interesse, os instrumentos devem possuir outros dispositivos específicos que são fundamentais para essa metodologia. Na Figura 1 está representado os principais componentes que constituem um espectrofotômetro de absorção atômica.

Figura 1 - Representação dos componentes de um espectrofotômetro de absorção atômica com chama.



Fonte: ARAÚJO; IRIS, 2021.

As fontes de radiação são lâmpadas que têm a função de emitir uma radiação específica para cada elemento. Os nebulizadores cumprem o papel de converter as amostras líquidas em um aerossol para favorecer a atomização. Nos atomizadores é onde ocorre a atomização dos analitos no estado gasoso por meio da energia fornecida pela chama. É fundamental a presença de um sistema óptico com monocromadores capazes de isolar a radiação remanescente do processo de absorção atômica da radiação proveniente da própria chama. É utilizado um dispositivo detector que faz a medição da intensidade da radiação, convertendo em um sinal elétrico. Por fim, um sistema de interface faz a comunicação do espectrofotômetro com um computador para realizar o processamento dos sinais analíticos obtidos (ARAÚJO; IRIS, 2021; SKOOG; HOLLER; NIEMAN, 2002).

A ampla utilização da FAAS é justificada pelas vantagens que essa modalidade apresenta, tais como: alta frequência analítica, baixo custo operacional, possibilidade de automação, pequeno número de interferentes, capacidade de detecção de metais em nível de mg/L e µg/L (se associado a uma técnica de pré-concentração) e simplicidade na operação (ARAÚJO; IRIS, 2021; BULSKA; RUSZCZYŃSKA, 2017). São esses benefícios que consolidam a técnica, fazendo com que seja propícia para o desenvolvimento de novas

metodologias analíticas para determinação de metais, quando aliada à um preparo de amostras adequado.

2.4 PREPARO DE AMOSTRA

Atualmente já existem equipamentos bastante sofisticados que são capazes de detectar e quantificar múltiplos analitos ainda que os mesmos se encontrem em níveis traço. Todavia, ainda há obstáculos quando se trabalha com matrizes complexas em na sua composição estão presentes interferentes que comprometem a identificação dos analitos e também o próprio funcionamento dos equipamentos. Para que as substâncias de interesse presentes nessas matrizes sejam analisadas, as etapas do preparo de amostras devem ser capazes de extrair e isolar os analitos de suas matrizes para que se encontrem nas condições adequadas para sua injeção nos equipamentos, e assim, serem analisados (FIGUEIREDO; BORGES; QUEIROZ, 2015).

Considerando a complexidade da matriz, as etapas do preparo de amostra influenciam diretamente na qualidade de uma análise, pois são nessas etapas em que se encontram as principais fontes de erro. Além das etapas de preparo, existem outras etapas que são importantes e que também podem afetar em um procedimento analítico, como por exemplo: a amostragem, armazenamento, pré-tratamento, a otimização e validação dos métodos adotados ((FIGUEIREDO; BORGES; QUEIROZ, 2015; VIANA; MENEGÁRIO; FOSTIER, 2021).

A extração dos analitos em sua matriz é uma etapa crucial que, além de separar os interferentes, busca pré-concentrar as substâncias desejadas para que a sua quantificação seja possível, mesmo em baixas concentrações. Com esse objetivo, foram desenvolvidas diferentes tecnologias de extração, como extração líquido-líquido, extração em fase sólida, extração assistida por micro-ondas ou por ultrassom e extração por fluido supercrítico, por exemplo (LIN *et al.*, 2014; MELLO *et al.*, 2012; VIANA; MENEGÁRIO; FOSTIER, 2021).

2.4.1 Extração em fase sólida (SPE)

Dentre as diversas técnicas de extração existentes, a extração em fase sólida (SPE – *Solid Phase Extraction*) é amplamente utilizada quando se trata de análises ambientais, farmacêuticas e de alimentos. É uma técnica muito favorável pelo fato de ter um menor

consumo de solventes, boa recuperação dos analitos, possibilidade de automação, recuperação da fase extratora, e também, de acordo com a fase sólida utilizada, apresenta seletividade nas extrações (FIGUEIREDO; BORGES; QUEIROZ, 2015).

Nessa modalidade, uma fase sólida tem a função de isolar um determinado analito presente em um meio líquido que pode ser a própria matriz. Esse processo pode ocorrer por meio da adsorção do analito na superfície da fase sólida, por partição entre as fases líquido-sólido, por troca iônica e também por mecanismos de exclusão. Após a extração, os analitos são eluídos por um solvente com a possibilidade de injeção direta em um sistema de detecção. Sendo assim, a SPE possibilita a pré-concentração, o isolamento de substâncias e a limpeza da amostra (FIGUEIREDO; BORGES; QUEIROZ, 2015).

Quando se pretende fazer extrações de metais, os nanomateriais são muito utilizados como fase sólida em SPE. Esses materiais possuem elevada área superficial que garante uma boa capacidade adsorptiva para íons metálicos e além dessa vantagem, de acordo com os grupos funcionais presentes na superfície da fase sólida, podem oferecer boa seletividade mesmo em matrizes complexas. Nanomateriais de Carbono (CNM – Carbon Nanomaterials), Nanopartículas Magnéticas (MNP – Magnetic Nanoparticles), Polímeros Nanoimpressos (NiP – Nanoimprinted Polymers) e Nanopartículas de Sílica (SiNP – Silica Nanoparticles) (KHAN; ARAIN; SOYLAK, 2020) são os mais utilizados.

Na maioria dos casos, a SPE é operada acondicionando a fase sólida em cartuchos, mantendo o material extrator de forma estática e a fase líquida é percolada e atravessa o material para que a extração seja feita, seguida da remoção dos analitos utilizando um solvente. Este método apresenta algumas desvantagens como o entupimento do cartucho e a formação de caminhos preferenciais na fase sólida que comprometem a extração. Para evitar estes problemas, novas modalidades de SPE foram desenvolvidas e que proporcionam uma extração mais eficiente.

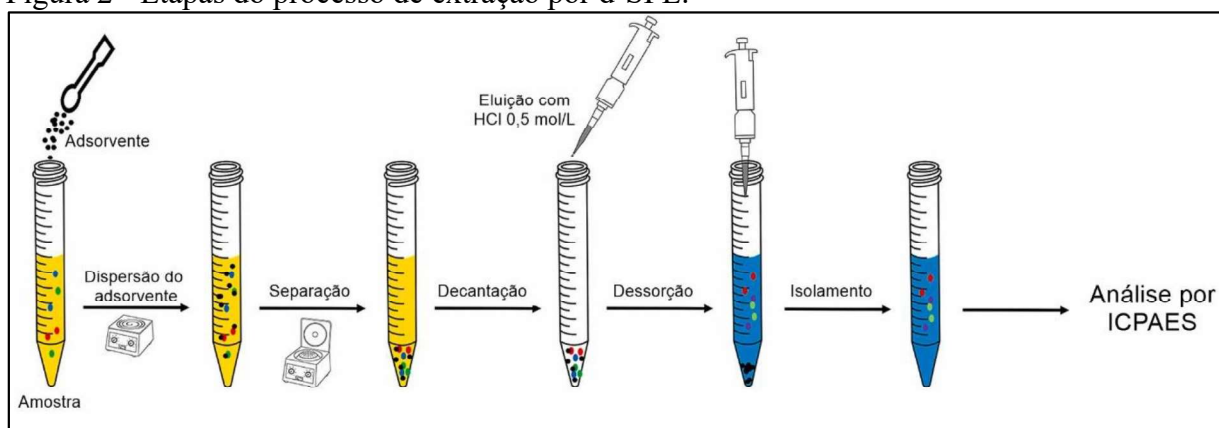
Uma variante da SPE convencional é a extração em fase sólida dispersiva (d-SPE – Dispersive Solid Phase Extraction) que é capaz de resolver algumas limitações da SPE. Nessa variação, a fase sólida ao invés de ficar aprisionada em um cartucho, é dispersa na amostra por meio de agitação ou por ultrassom. Desta forma, a interação entre as fases é favorecida e com maior superfície de contato, contribuindo para a extração (ŚCIGALSKI; KOSOBUCKI, 2020).

Além das vantagens já existentes na SPE, a d-SPE incorpora novos benefícios na etapa de extração. A dispersão das fases melhora a cinética de extração e, conseqüentemente,

torna o processo mais rápido. Com maior superfície de contato, a quantidade de adsorvente utilizada e também o volume de amostra são menores. O processo de dispersão simplifica as etapas de limpeza e reaproveitamento do adsorvente, tudo isso com um menor custo (BÜYÜKTIRYAKI; KEÇILI; HUSSAIN, 2020; HANSEN; PEDERSEN-BJERGAARD, 2020; ISLAS *et al.*, 2017; TOKAY; GÜNAYDIN; BAĞDAT, 2021).

Na d-SPE, após a eluição dos analitos, geralmente as fases são separadas por centrifugação ou filtração. Essa etapa de separação pode ser vista com uma desvantagem sendo que a separação pode não ser satisfatória. Para evitar esse problema, novos materiais adsorventes magnéticos, muitas vezes na forma de compósitos, vêm sendo implementados por conta de simplificar o processo de separação e de modo eficiente, utilizando apenas um ímã (Figura 2). Essa incorporação de novos materiais magnéticos também já é considerada uma variação da SPE, conhecida como extração em fase sólida magnética (MSPE – Magnetic Solid Phase Extraction) (YIN; ZHAO; YANG, 2021).

Figura 2 - Etapas do processo de extração por d-SPE.



Fonte: Adaptado de ISLAS *et al.*, 2017.

2.4.2 Sorventes para SPE

SPE é a técnica mais empregada para extração de metais de amostras complexas, por conta da boa eficiência de extração, simplicidade e baixo custo, fazendo com que essa aplicação seja considerada a melhor tecnologia disponível atualmente (LUO *et al.*, 2021). Uma boa eficiência de extração de um adsorvente dependerá diretamente de suas propriedades físico-químicas, principalmente na superfície da fase sólida, onde estão presentes os sítios de adsorção. Nessa perspectiva, os nanomateriais em geral têm

apresentado resultados mais satisfatórios para a extração de metais do que outros adsorventes tradicionais, devido à sua elevada área superficial e propriedades eletrônicas que favorecem a adsorção desses analitos (KHAN; ARAIN; SOYLAK, 2020).

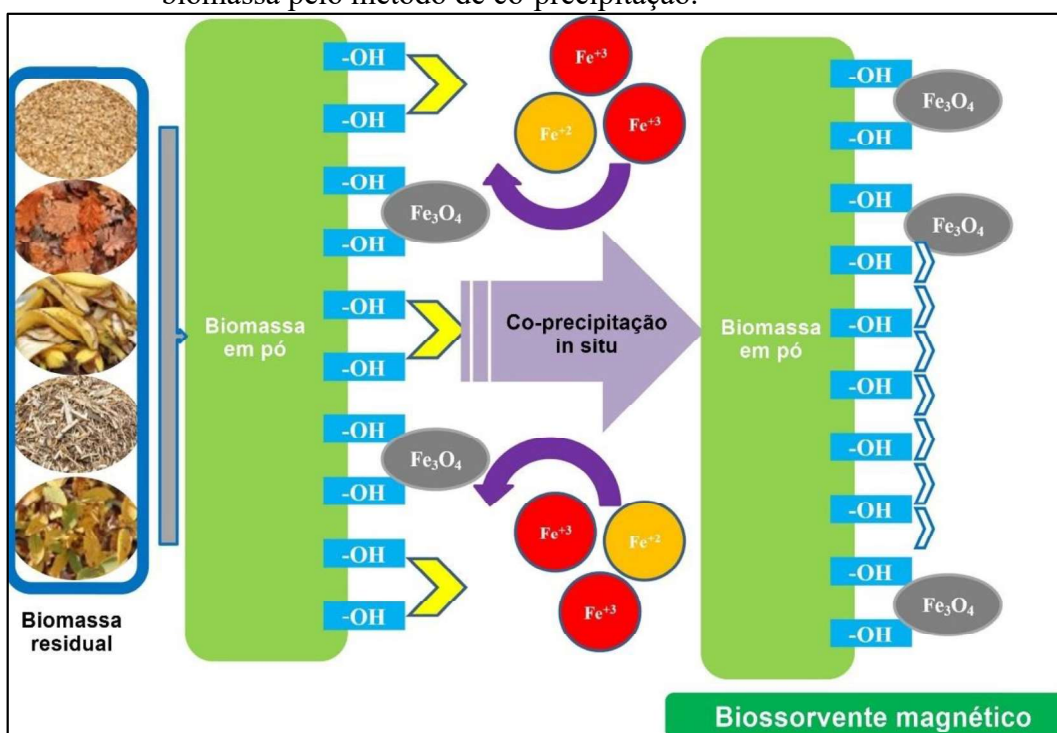
Nas determinações de metais em amostras de alimento, os nanomateriais também são frequentemente utilizados no preparo das amostras. Os nanomateriais mais utilizados incluem os CNMs, MNPs, NIPs, SiNPs e as estruturas metal-orgânicas (MOF - *Metal-organic Frameworks*) (KHAN; ARAIN; SOYLAK, 2020). O crescimento das aplicações desses materiais, não só em amostras alimentícias, impulsionou o desenvolvimento das metodologias de síntese dos nanoadsorventes, porém ainda há o desafio de equilibrar os custos e complexidade de produção com viabilidade da aplicação desses adsorventes em grande escala (LUO *et al.*, 2021). Nesse sentido, muitas pesquisas vêm analisando a possibilidade de aplicação de adsorventes vegetais ou provenientes de biomassa com o objetivo de simplificar e minimizar o custo de sua utilização nos procedimentos de extração (YADAV *et al.*, 2021).

A implementação de biomassa como fase extratora tem se mostrado promissora tanto pelo bom desempenho desse material quanto pelo baixo custo em sua utilização. As principais vantagens dessas aplicações recentes estão no reaproveitamento de resíduos agrícolas e na simplicidade de preparo desses adsorventes, que muitas vezes recebem apenas um tratamento físico da biomassa, minimizando os custos envolvidos (BILAL *et al.*, 2022). Os bioadsorventes já têm se mostrado eficientes para a extração de metais em matrizes aquosas e essa eficiência pode ser aprimorada tendo em vista que tratamentos químicos ativação e funcionalização das superfícies desses adsorventes também é possível (BILAL *et al.*, 2022; DEY *et al.*, 2021).

A casca da laranja também é uma biomassa que possui capacidade de adsorção de metais e pode ser utilizada como bioadsorvente. Por se tratar de uma fruta bastante consumida, o reaproveitamento dos seus resíduos é de grande importância e esses fatores motivaram muitos estudos que abordam a aplicação dessa biomassa como fase extratora (AFOLABI; MUSONGE; BAKARE, 2021; DEY *et al.*, 2021; LIANG *et al.*, 2010). Além das vantagens que a casca já apresenta, sua aplicação pode ser potencializada com a incorporação das nanopartículas magnéticas em sua superfície, tornando-a um bioadsorvente magnético (Figura 3), sendo uma modificação interessante que muitos trabalhos já estão utilizando (AHMED; MASHKOOR; NASAR, 2020; BILAL *et al.*, 2022; GUPTA; NAYAK, 2012; MUNAWER; CHEE; KIEW, 2021).

Os compósitos formados pelos biossorventes com as MNPs podem ser alternativas viáveis pois simplificam o preparo de amostras com d-SPE, reaproveitando resíduos agrícolas com materiais mais baratos e de fácil obtenção. Tais alternativas tendem a potencializar as vantagens dos métodos analíticos principalmente por permitirem ganhos expressivos na detectabilidade dos sistemas.

Figura 3 - Representação da incorporação das nanopartículas magnéticas com a biomassa pelo método de co-precipitação.



Fonte: Adaptado de BILAL *et al.*, 2022.

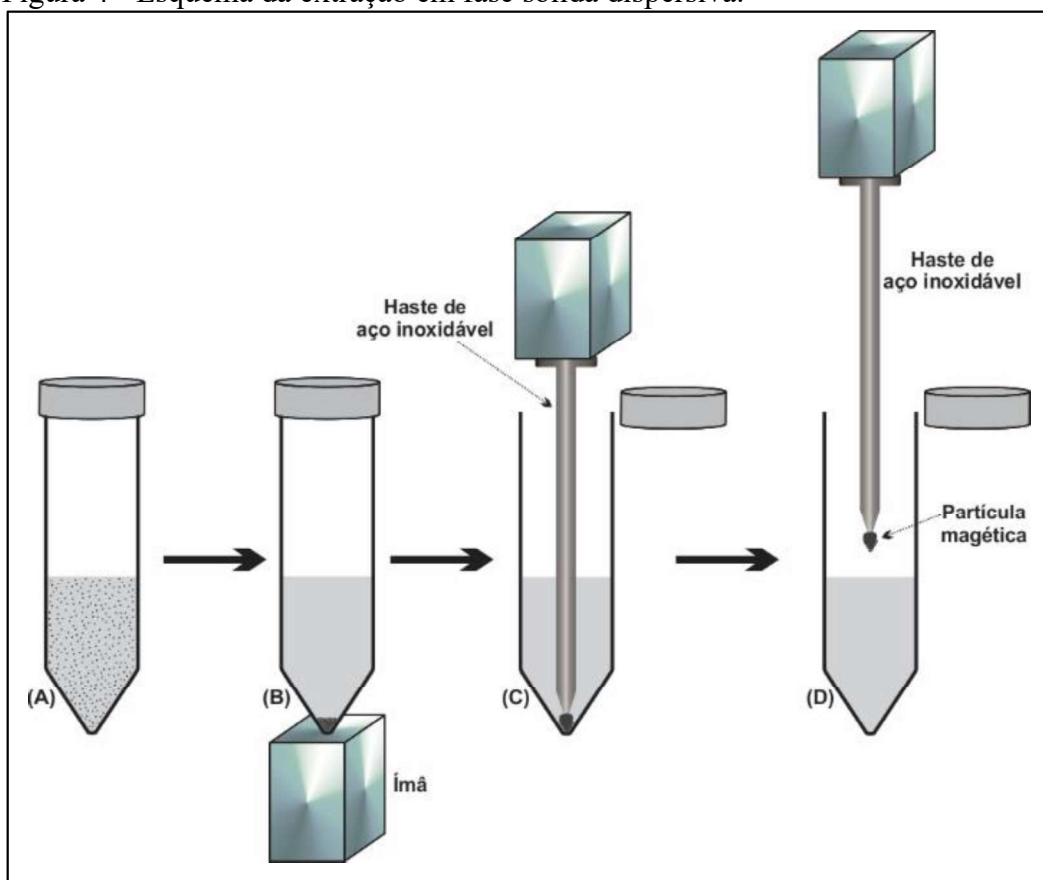
As estratégias analíticas baseadas em sistemas de extração em fase sólida podem aumentar significativamente a performance das técnicas espectrométricas, adicionalmente no desenvolvimento de novos métodos a otimização dos fatores (variáveis independentes) também é um ponto relevante e que permite obter as condições mais favoráveis a resposta analítica (variável dependente). Nesse sentido, otimizar significa investigar experimentalmente as melhores condições de análise que conduzam ao melhor desempenho analítico (BEVERIDGE; SCHECHTER, 1970; FERREIRA *et al.*, 2004).

2.5 AMOSTRAGEM DIRETA DE SORVENTE SÓLIDO MAGNÉTICO EM ESPECTROMETRIA DE ABSORÇÃO ATÔMICA COM CHAMA (DMSS-FAAS)

Nas metodologias convencionais por FAAS envolvendo d-SPE, após a etapa de extração, é realizada uma etapa de eluição em que a fase sólida é dispersa em uma solução ácida para a remoção dos analitos, em seguida as fases são separadas e a fase líquida é injetada no equipamento, para ocorrer o processo de nebulização e a atomização. Nesse método, há um desafio na separação das fases para que partículas sólidas não sejam injetadas no nebulizador, causando problemas no equipamento. Além disso, somente cerca de 5% da solução injetada chega até a chama do FAAS (ARAÚJO; IRIS, 2021).

Para simplificar as etapas de preparo e injeção das amostras, um novo método baseado na inserção de sorventes magnéticos carregados com metais diretamente na chama do FAAS foi desenvolvido por Figueiredo e colaboradores (2021). Foram realizadas extrações de chumbo por d-SPE em amostras aquosas utilizando um Aerogel de Óxido de Grafeno Magnético (m-AGO) como adsorvente. Após a extração, o m-AGO disperso nas amostras (Figura 4 A) foi atraído para o fundo do tubo utilizando um ímã de neodímio (Figura 4 B). Feito isso, o ímã foi acoplado a uma haste de ferro (prego) e a ponta e a haste foi mergulhada na solução de modo que o m-AGO ficasse retido na ponta por atração magnética (Figura 4 C e D). Posteriormente, a “gota” de m-AGO é posicionada na chama do FAAS, abaixo do feixe de radiação, para promover a atomização do analito (Figura 5 A e B).

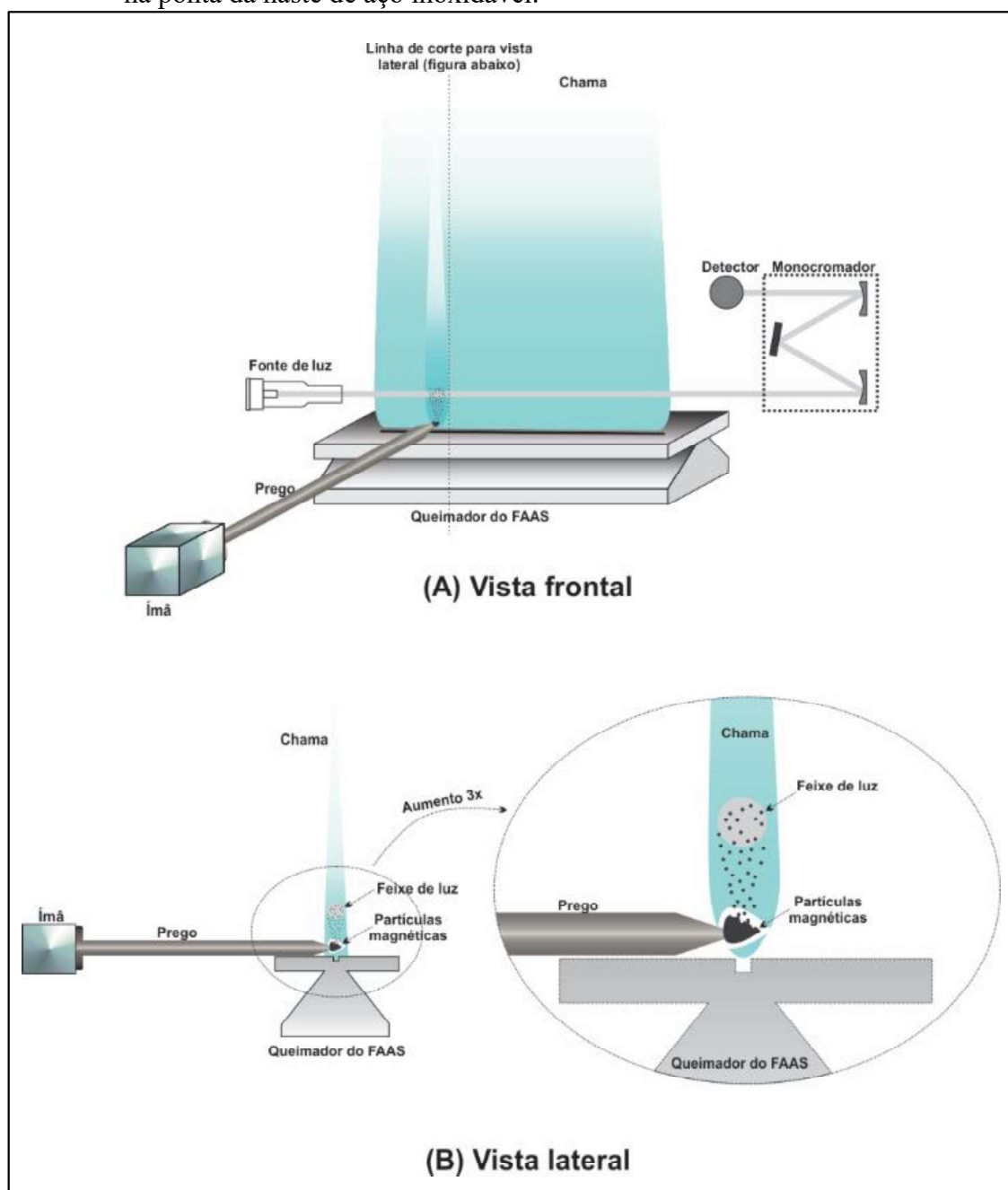
Figura 4 - Esquema da extração em fase sólida dispersiva.



Fonte: FIGUEIREDO *et al.*, 2021.

Legenda: A - Partículas magnéticas dispersas na amostra aquosa, onde ocorre a sorção de íons chumbo. B - Um ímã de neodímio é colocado na parte inferior do tubo e as partículas magnéticas são atraídas para o fundo. C - Uma haste de aço inoxidável magnetizada por um ímã de neodímio é colocada no interior do tubo, atraindo as partículas magnéticas. D - A haste contendo as partículas magnéticas é retirada do tubo.

Figura 5 - Esquema do processo de análise, por espectrometria de absorção atômica com chama, de metais retidos nas partículas magnéticas, magneticamente ancoradas na ponta da haste de aço inoxidável.



Fonte: FIGUEIREDO *et al.*, 2021.

Legenda: A - Vista frontal. B - Vista lateral.

Essa técnica promove a atomização de uma proporção muito maior dos analitos pois são inseridos diretamente na chama e não há perdas no nebulizador, como no método convencional. É relatado que a sensibilidade de chumbo foi cerca de 21 vezes maiores para essa nova metodologia empregando a pré-concentração por d-SPE com m-AGO e de até 71

vezes mais sensível quando não se realiza nenhuma pré-concentração (FIGUEIREDO *et al.*, 2021). Com essas vantagens, a determinação de chumbo em amostras complexas é simplificada e permite quantificações em concentrações bem menores que os métodos tradicionais.

2.6 OTIMIZAÇÃO MULTIVARIADA DOS FATORES

Em se tratando de sistemas que almejam melhorias na detectabilidade de métodos de quantificação por absorção atômica, a melhor condição experimental será aquela onde os fatores relacionados ao sistema conduzam ao maior sinal de absorbância por exemplo. Normalmente, o processo de otimização ocorre de forma univariada, por esse método sequencialmente os fatores são investigados um por vez. Na prática varia-se um fator em estudo mantendo o restante em um nível (valor assumido) selecionado previamente, observando seu efeito sobre a resposta analítica. A partir da melhor resposta obtida no experimento o ciclo se repete até que todos os fatores sejam avaliados, ao final do processo as condições experimentais são então obtidas em função do melhor sinal analítico (EIRAS; COSCIONE; ANDRADE, 2000).

Embora os procedimentos univariados sejam frequentemente aplicados, em situações em que o comportamento do sistema apresenta curvas de nível os resultados podem não conduzir ao ótimo verdadeiro. Isso acontece porque os fatores envolvidos podem sofrer interações refletindo em diferentes efeitos sinérgicos ou antagônicos sob a resposta analítica. Além disso, a etapa de otimização é uma das mais críticas no desenvolvimento de métodos, sendo responsável por elevado consumo de reagentes e tempo principalmente se realizada de forma univariada. Assim, a otimização multivariada figura-se como uma ferramenta mais eficaz na otimização dos fatores pertinentes aos sistemas (NOVAES *et al.*, 2017).

As ferramentas quimiométricas permitem, geralmente com um menor número de experimentos, avaliar de maneira simultânea os principais fatores relacionados ao sistema, considerando ainda suas possíveis interações. Dentre as vantagens destaca-se o menor consumo de reagentes e tempo de execução, além da possibilidade de se encontrar a condição ótima real. De forma geral, a otimização multivariada envolve primeiramente a aplicação de experimentos de triagem, como planejamento fatorial de dois níveis, onde é possível observar o efeito dos principais fatores na resposta. Em seguida, experimentos mais complexos envolvendo funções quadráticas podem ser aplicados para fins da otimização

final, a exemplo tem-se a metodologia da superfície de resposta (BREITKREITZ; DE SOUZA; POPPI, 2014).

2.6.1 Planejamentos fatoriais de dois níveis

Os métodos de análise são frequentemente afetados por diversos fatores, sendo essa influência refletida na resposta analítica, entender a magnitude desse efeito e investigar os níveis que melhor favoreçam a resposta é fundamental importância para a eficiência do método. Os planejamentos fatoriais são estratégias aplicáveis e de grande valia na etapa inicial de otimização também chamada etapa de triagem, uma vez que permitem prever a significância ou não dos fatores bem como suas possíveis interações (NETO; SCARMINIO; ROY EDWARD BRUNS, 1996).

Os planejamentos fatoriais de dois níveis são formados pela combinação de k fatores em dois níveis de estudo, ou seja, 2^k experimentos. Os níveis dos fatores podem representar características quantitativas ou qualitativas, normalmente para os fatores quantitativos define-se os sinais de mais (+) para o nível superior e menos (-) para o inferior, pouco importando essa escolha para os fatores qualitativos (TEÓFILO; FERREIRA, 2006).

Como representado na Tabela 1 uma matriz de planejamento experimental pode ser obtida pela combinação de sinais, na qual estarão representados os níveis de cada fator e as possíveis interações. Após a execução dos experimentos, o tratamento estatístico dos dados por meio da análise de variância apontará os efeitos de cada fator e das interações sob a resposta ou as respostas.

Tabela 1 - Matriz de coeficientes de contraste para um planejamento fatorial 2^3 .

Experimentos	Variáveis			Interações*			
	X ₁	X ₂	X ₃	X ₁₂	X ₁₃	X ₂₃	X ₁₂₃
1	-	-	-	+	+	+	-
2	+	-	-	-	-	+	+
3	-	+	-	-	+	-	+
4	+	+	-	+	-	-	-
5	-	-	+	+	-	-	+
6	+	-	+	-	+	-	-
7	-	+	+	-	-	+	-
8	+	+	+	+	+	+	+

Fonte: Adaptado de TEÓFILO; FERREIRA, 2006.

Legenda: *X₁₂, X₁₃ e X₂₃ são os efeitos de interação de 2ª ordem e X₁₂₃ é o efeito de interação de 3ª ordem.

Por sua característica, nos planejamentos fatoriais de dois níveis o número de experimentos cresce à medida que aumenta o número de fatores em estudo, por exemplo, em um método analítico onde estão envolvidos 2 fatores ($k = 2$) o número de ensaios necessários será dado por $2^2 = 4$ ensaios, enquanto para um sistema onde $k=6$ o número de ensaios será $2^6=64$ ensaios. Alternativamente, para situações em que um elevado número de fatores precisa ser investigado é possível aplicar os chamados planejamentos fatoriais fracionários (NETO; SCARMINIO; ROY EDWARD BRUNS, 1996).

Os planejamentos fatoriais fracionários justificam-se, pois, em sistemas envolvendo $K>4$ os efeitos das interações passam a ter pouca significância e, por isso, apenas uma fração do planejamento pode ser realizada sem prejuízos nos resultados. Portanto, aplicando-se um planejamento com menor de experimentos é possível retirar informações acerca dos efeitos mais relevantes (BOX; HUNTER; HUNTER, 1978). As matrizes de planejamentos fatoriais fracionários são construídas a partir de planejamentos completos, por exemplo, um planejamento 2^{4-1} pode ser construído baseando-se em um planejamento fatorial completo com 3 fatores, sendo necessários realizar 8 experimentos, ou seja, o experimento 2^{4-1} representa uma fração de um planejamento 2^4 (TEÓFILO; FERREIRA, 2006).

Considerando o que foi exposto, os planejamentos fatoriais completos ou fracionários firmam-se como importantes ferramentas estatísticas para investigações iniciais quanto ao efeito que cada fator pode propiciar na resposta. Contudo, estudos mais abrangentes devem ser feitos para eficiente otimização do sistema. Os experimentos de

segunda ordem podem e são frequentemente aplicados em uma segunda etapa pois permitem localizar a combinação das condições ótimas experimentais, representados por modelos de segunda ordem como a metodologia de superfície de resposta. Planejamentos com esse perfil empregam mais de dois níveis para cada fator e, portanto, permitem um ajuste quadrático e escolher a combinação mais favorável a resposta para dada situação (NOVAES *et al.*, 2017).

2.6.2 Metodologia de Superfícies de Resposta e Matriz de Doehlert

A metodologia de superfície de respostas (MSR) combina técnicas de planejamento de experimentos, análise de regressão e métodos de otimização para explorar/modelar os sistemas em estudo com elevada eficiência. Assim, baseia-se no ajuste de modelos matemáticos empíricos aos dados experimentais obtidos pela execução de experimentos previamente organizados em uma matriz de planejamento. Através da observação dos resultados é possível extrair informações estatísticas válidas, o que a torna útil no entendimento dos efeitos dos fatores sobre a resposta. Dentre os planejamentos experimentais que podem ser aplicados no ajuste de funções quadráticas destacamos Composto Central, Box-Behnken e Doehlert, porém nessa discussão iremos nos limitar a abordagem a esse último (NOVAES *et al.*, 2017).

O planejamento proposto por David H. Doehlert em 1970, denominado desde então como Matriz de Doehlert (do inglês, *Doehlert Design*) são bastante aplicáveis nos processos de otimização, por apresentarem vantagens em relação a outros tipos de planejamentos de segunda ordem. Neste tipo de planejamento diferentes fatores são avaliados em diferentes níveis, ou seja, é um planejamento assimétrico, característica importante em termos práticos pois permite que os fatores que apresentam efeitos mais proeminentes (mais significativos) sejam investigados em um maior número de níveis no campo experimental. Além disso, permite atingir o ótimo desejado com um menor número de experimentos, sendo possível aproveitar pontos do planejamento inicial no deslocamento do planejamento (FERREIRA *et al.*, 2004).

A partir das informações obtidas na execução dos experimentos descritos na Matriz de Doehlert é possível identificar as condições ótimas. A determinação do ótimo pode ocorrer pela equação da regressão ou visualmente pela análise das superfícies de respostas, uma vez que modelos quadráticos podem apontar pontos de máximo, mínimo ou sela. As coordenadas dos pontos críticos podem ser obtidas derivando-se a função matemática que

representa a superfície de resposta. Adicionalmente, caso o ótimo não seja alcançado, a análise das superfícies de respostas permite direcionar o deslocamento da superfície na busca pelas condições ideais. Porém para aquelas situações em que a região experimental seja limitada de deslocamento, seja por questões físicas ou instrumentais, é possível visualmente encontrar dentro da região experimental investigadas as melhores condições de trabalho (NOVAES *et al.*, 2017).

3 OBJETIVOS

3.1 OBJETIVOS GERAIS

Avaliar a aplicação de um bioissorvente magnético em DMSS-FAAS e a aplicação na análise de chumbo em amostras de sucos industrializados.

3.2 OBJETIVOS ESPECÍFICOS

- a) Sintetizar, caracterizar e avaliar o desempenho de um bioissorvente magnético a base de casca de laranja na extração de chumbo;
- b) Avaliar a possibilidade de inserção direta do bioissorvente na chama do FAAS por DMSS-FAAS, com intuito de ganho de detectabilidade.
- c) Aplicar técnicas multivariadas (planejamento fatorial e matriz de Doehlert) na otimização dos fatores relacionados ao sistema, visando maximizar as respostas analíticas e reduzir o número de experimentos e consumo de reagentes;
- d) Avaliar os parâmetros analíticos e as figuras de mérito incluindo os limites de detecção e quantificação, faixa linear e precisão analítica;
- e) Avaliar a exatidão dos métodos por meio de testes de adição/recuperação ou por técnicas de referência;
- f) Realizar estudos de cinética e isoterma de adsorção de chumbo no bioissorvente magnético;
- g) Empregar a metodologia proposta na quantificação de chumbo em amostras de sucos industrializados.

4 METODOLOGIA

4.1 REAGENTES E SOLUÇÕES

Os reagentes utilizados na condução dos experimentos foram de grau analítico e todas as soluções preparadas em água deionizada em sistema de purificação Milli-Q (Millipore, EUA). Os reagentes e soluções utilizados foram:

- a) Água ultrapura (água Milli-Q)
- b) HNO_3 65% (Anidrol, Brasil);
- c) NaOH P.A. (ACS Científica, Brasil);
- d) Solução padrão de chumbo (Sigma-Aldrich, EUA);
- e) $\text{FeSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$ 99% (Sigma-Aldrich, EUA);
- f) $\text{FeCl}_3 \cdot 6\text{H}_2\text{O}$ P.A. (ACS Científica, Brasil);
- g) NH_4OH 26% (Proquimios, Brasil)
- h) Casca de laranja em pó;
- i) Gás nitrogênio (Messer, Alemanha);
- j) Gás acetileno (Messer, Alemanha).

4.2 EQUIPAMENTOS E ACESSÓRIOS

Para minimizar contaminações, todas as vidrarias foram mantidas em solução de HNO_3 10% v/v durante 24h, posteriormente estas foram enxaguadas com água deionizada e secas em ambiente livre de poeira. Os equipamentos e acessórios utilizados foram:

- a) Vidrarias gerais e de precisão;
- b) Tubos Falcon;
- c) Micropipetas;
- d) Peneira granulométrica 106 μm ;
- e) Balança analítica (AY220, Shimadzu, Japão);
- f) Estufa;
- g) Agitador vertical;
- h) Agitador vórtex;

- i) Banho ultrassom;
- j) Manta de aquecimento;
- k) Termômetro;
- l) Ímã de neodímio;
- m) Haste de ferro (prego de 19 cm x 8 mm Ø);
- n) pHmetro (mPA-210, MS Tecnoyon, Brasil);
- o) Eletrodo de pH (DME-CV1, Digimed, Brasil);
- p) Espectrômetro de absorção atômica com chama de ar-acetileno (AA-7000, Shimadzu, Japão), acoplado com lâmpada de cátodo oco de chumbo (10 mA, 283,3 nm, Hamamatsu Photonics, Japão) e correção de background com lâmpada de Deutério (Shimadzu, Japão);
- q) Sistema Milli-Q (Filtro Millipak 0,22 µm, Millipore, EUA);
- r) Sistema termobalança (Q600; TA Instruments, EUA);
- s) Espectrofotômetro FTIR (IRAffinity-1, Shimadzu, Japão) com acessório de amostragem de refletância total atenuada (Pike Technologies, EUA);
- t) Microscópio eletrônico de transmissão (JEM 1200 EX-II, Jeol, EUA) com câmera de alta resolução (SC1000B ORIUS CCD, Gatan, EUA);
- u) Analisador de partículas (Zetasizer ZS Nano ZEN3600, Malvern Panalytical, Reino Unido).

4.3 AQUISIÇÃO DE AMOSTRAS

As amostras de sucos industrializados foram adquiridas em comércio local. Utilizou-se amostras de suco a base de soja, suco de uva integral, suco de uva reconstituído e néctar de laranja. Essas amostras foram armazenadas sob refrigeração antes de serem utilizadas.

4.4 SÍNTESE

O biossorvente magnético a base de casca de laranja escolhido para uso nesse trabalho foi o desenvolvido por Gupta e Nayak (2012) e sua síntese foi realizada da seguinte forma (Figura 6):

Primeiramente lavou-se as cascas de laranja em água corrente e as mesmas foram secas em estufa por cerca de 72h à 50 °C. As cascas secas foram trituradas e em peneiradas até se obter um pó com partículas na ordem de 106 µm.

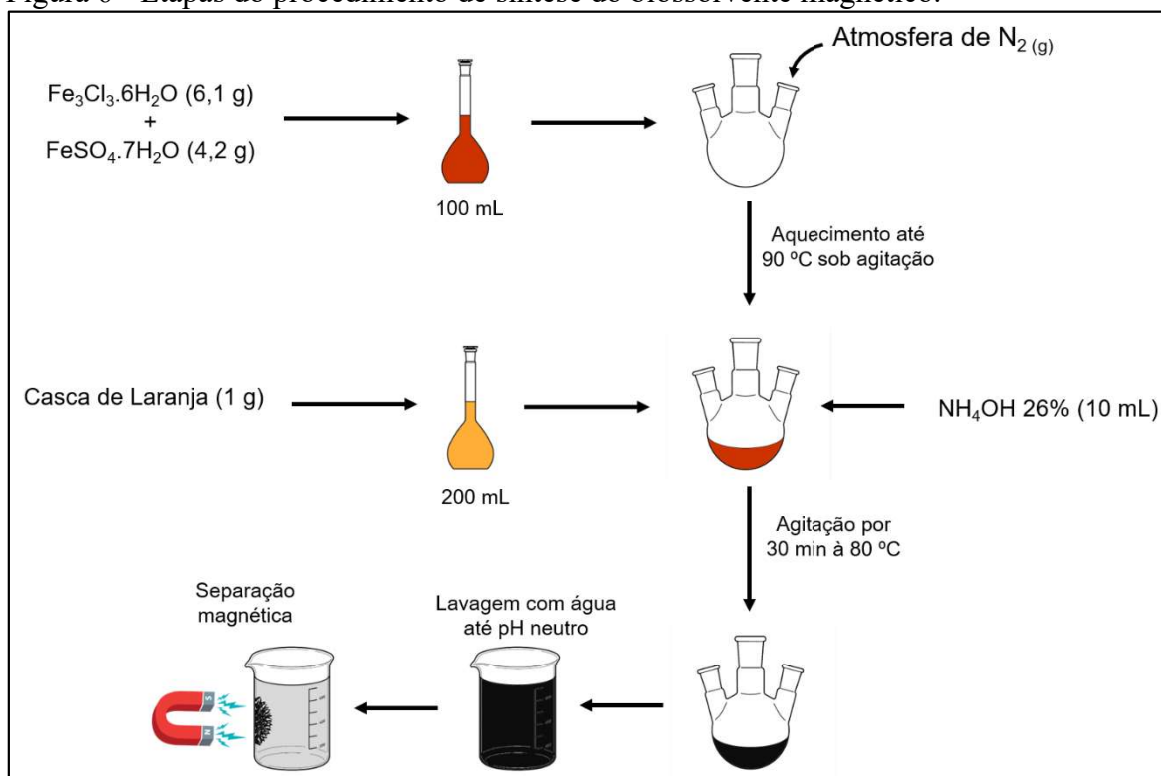
Foi preparada uma solução composta de 6,1 g de $\text{FeCl}_3 \cdot 6\text{H}_2\text{O}$ e 4,2 g de $\text{FeSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$ dissolvidos em 100 mL de água. Também foi preparada uma suspensão com 1 g de casca de laranja em pó em 200 mL de água.

Em um balão de síntese, a solução de $\text{FeCl}_3 \cdot 6\text{H}_2\text{O}$ e $\text{FeSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$ foi aquecida até atingir 90 °C. Ao atingir a temperatura, foram adicionados 10 mL de NH_4OH 26% e também a suspensão de casca de laranja logo em seguida. O pH do meio foi ajustado para 10 utilizando NaOH 3 mol L^{-1} . Nesse momento iniciou-se a agitação com um agitador vertical o sistema foi mantido à 80 °C por 30 min. O sistema reacional estava sob atmosfera de nitrogênio.

Após a síntese, o sistema foi arrefecido até temperatura ambiente. O produto foi então lavado com água até pH neutro. Em seguida o biossorvente foi seco em estufa à 50° C por 24h. Após a secagem, o material foi novamente peneirado em peneira granulométrica de 106 µm e armazenado sob refrigeração.

As nanopartículas magnéticas isoladas também foram sintetizadas com o mesmo procedimento, exceto pela adição de suspensão de casca de laranja que não foi utilizada.

Figura 6 - Etapas do procedimento de síntese do biossorvente magnético.



Fonte: Autor.

4.5 CARACTERIZAÇÃO

4.5.1 Análise por Espectroscopia no Infravermelho por Transformada de Fourier (FTIR)

As análises por FTIR foram realizadas para a casca de laranja em pó, nanopartículas magnéticas e biossorvente magnético. Para isso, foi utilizado um acessório de refletância total atenuada (ATR) com guias de onda ZnSe. As leituras foram operadas no modo de transmitância em temperatura ambiente, com 32 varreduras por análise, resolução $4,0\text{ cm}^{-1}$ no intervalo de $4000\text{ a }500\text{ cm}^{-1}$. Essas análises foram realizadas no Núcleo de Controle de Qualidade (NCQ, UNIFAL-MG).

4.5.2 Análise Termogravimétrica (TGA)

Foram realizadas análises por TGA da casca de laranja em pó, nanopartículas magnéticas e do biossorvente magnético. A análise foi operada em atmosfera de ar sintético,

com uma vazão de gás de 100 mL/min, um intervalo de 20 °C à 1100 °C, taxa de aquecimento em 20 °C/min e com 10 à 15 mg de material. As análises foram realizadas no Laboratório Interdisciplinar de Química (LabiQ, UNIFAL-MG).

4.5.3 Potencial Zeta

Para avaliar a carga superficial das nanopartículas magnéticas, da casca de laranja e do bioissorvente magnético, foram preparadas suspensões de 100 µg mL⁻¹ de cada material dispersos em água ultrapura. As cargas foram avaliadas na faixa de pH 3,0 ao pH 10,0 utilizando soluções tampão Fosfato de Sódio 0,01 mol L⁻¹. As medições foram realizadas em triplicata em um analisador de partículas do Laboratório de Pesquisa em Sistemas de Liberação de Fármacos (LSLF, UNIFAL-MG).

4.5.4 Microscopia Eletrônica de Transmissão (TEM)

Para as análises por TEM das nanopartículas magnéticas, casca de laranja em pó e o bioissorvente magnético utilizou-se uma câmera de alta resolução sob voltagem de 120 kV. Os materiais foram suspensos em água ultrapura e dispersos em banho ultrassom por 20 minutos. Posteriormente, uma gota da suspensão foi depositada em grids de cobre, recobertos com Formvar, e secos à temperatura ambiente. As imagens foram registradas com aumentos de 4 e 200 kx para as nanopartículas e bioissorvente magnético e com aumentos de 4 e 10 kx para a casca de laranja. Essas análises foram realizadas na Central Analítica do Departamento de Química da Universidade Federal do Paraná (CA-DQUI, UFPR).

4.6 ESTUDOS DE ADSORÇÃO

4.6.1 Cinética de Adsorção

Para avaliar os processos cinéticos durante as etapas de extração em fase sólida, foi realizado um estudo da cinética de adsorção do chumbo no bioissorvente magnético em meio aquoso. Para isso, em 1 mL de solução padrão de chumbo (5 mg L⁻¹, pH 5,5) foram adicionadas 2 mg de bioissorvente magnético. As extrações foram realizadas em temperatura ambiente nos tempos de 0, 5, 10, 15 e 30 segundos e 1, 2, 5, 8, 12 e 30 minutos. As leituras

foram realizadas por FAAS, utilizando o sobrenadante da extração, para determinar a concentração de chumbo na fase líquida (C_e).

De acordo com a equação (1), foi calculado a massa de chumbo (ou adsorvato) por grama de adsorvente (q_e). Por meio do software OriginPro 2018 (OriginLab Corporation, Reino Unido), foi realizado um ajuste não linear dos dados experimentais com os modelos cinéticos de Pseudo-primeira Ordem, Pseudo-Segunda Ordem, Quimissorção (Elovich) e Ordem Fracionária (Avrami) (BENJELLOUN *et al.*, 2021; NASCIMENTO *et al.*, 2014; WANG; GUO, 2020).

$$q_e = \frac{(C_o - C_e)}{m} \cdot V \quad (1)$$

q_e – Capacidade de adsorção

C_o – Concentração inicial do adsorvato

C_e – Concentração de adsorvato após a extração ou no equilíbrio

m – Massa de adsorvente

V – Volume de solução

Além dos ajustes com os modelos cinéticos, foi calculada a função de erro ($F_{error}(\%)$) para cada modelo utilizando a equação (2), a fim de estimar qual modelo apresenta melhor ajuste com a correlação dos dados experimentais com os parâmetros de cada modelo teórico.

$$F_{error}(\%) = 100 \cdot \sqrt{\sum_i^n \left(\frac{q_{i\ exp} - q_{i\ model}}{q_{i\ exp}} \right)^2 \cdot \left(\frac{1}{n - p} \right)} \quad (2)$$

$q_{i\ exp}$ – Valor de q medido experimentalmente

$q_{i\ model}$ – Valor de q previsto por cada modelo

n – Número de experimentos realizados

p – Número de parâmetros de cada modelo

4.6.2 Isoterma de Adsorção

Os experimentos de isotermas foram realizados para avaliar a natureza de ligação entre o chumbo e o bioissorvente magnético. Nessa etapa, foram realizadas extrações utilizando 2 mg de adsorvente em 1 mL de solução padrão de chumbo (pH 5,5) nas concentrações de 5, 20, 40, 80, 120 e 140 mg L⁻¹ em meio aquoso e temperatura ambiente com 8 minutos de agitação. Posteriormente, com a separação do sobrenadante, foi determinada a C_e de chumbo por FAAS.

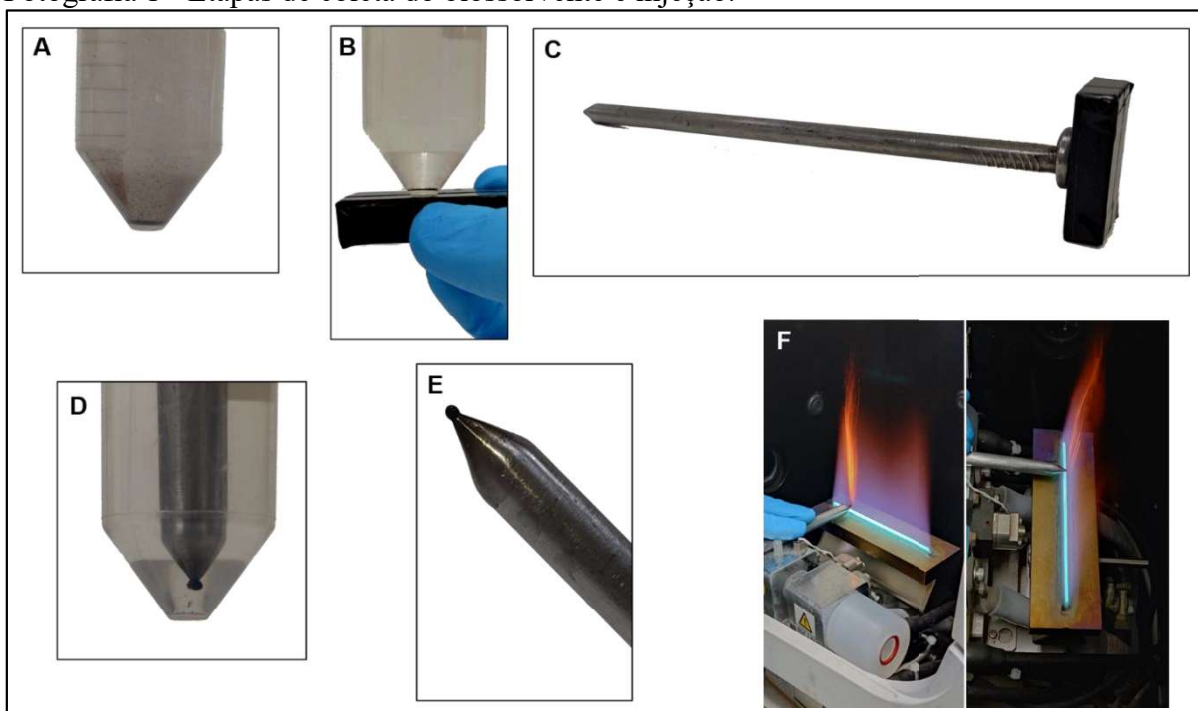
Assim como nos experimentos de cinética, foi calculada a q_e utilizando a Equação 5, bem como os ajustes dos dados com modelos teóricos de isotermas de adsorção por meio do software OriginPro 2018 (OriginLab Corporation, Reino Unido) e o cálculo da função de erro com a Equação 6. Os modelos isotérmicos de adsorção utilizados foram os modelos de Langmuir, Freundlich, Sips, Khan, Redlich-Peterson e Toth (AL-GHOUTI; DA'ANA, 2020; MOZAFFARI MAJD *et al.*, 2022; NASCIMENTO *et al.*, 2014).

4.7 SISTEMA DE ANÁLISE DE METAIS POR INSERÇÃO DIRETA NA CHAMA

A técnica utilizada foi baseada no pedido de patente depositado por Figueiredo e colaboradores (2021), em que foi desenvolvida uma nova metodologia de inserção de partículas diretamente na chama do FAAS (Seção 2.5, FIGURAS 4 e 5). Uma d-SPE foi realizada em tubo falcon empregando 40 mL de amostra, com pH ajustado para 5,5, e 1 mg de bioissorvente magnético. (Fotografia 1 A). O sistema foi agitado por 5 min à 1000 rpm. Em seguida, um ímã de neodímio foi colocado da parte de baixo do tubo, e o sorvente magnético foi totalmente atraído para o fundo (Fotografia 1 B). Feito isso, o ímã foi retirado e acoplado na extremidade de um prego (Fotografia 1 C) e mergulhado no tubo Falcon até o fundo. O material magnético foi atraído pela ponta da sonda e removido da solução (Fotografia 1 D).

O material acumulado na ponta do prego (Fotografia 1 E) foi inserido diretamente na chama do FAAS, permitindo a atomização do chumbo (Fotografia 1 F). Após cada leitura, o prego foi limpo em água e seco para um novo ciclo.

Fotografia 1 - Etapas de coleta do bioissorvente e injeção.



Fonte: Autor.

Legenda: A - Bioissorvente disperso na amostra. B - Atração do bioissorvente magnético para o fundo do tubo. C - Sonda constituída por um prego e um ímã de neodímio. D - Coleta do bioissorvente na ponta da sonda. E - Gota de bioissorvente magnético formada na ponta da sonda. F - Etapa de injeção e atomização direta na chama.

4.8 TESTES INICIAIS

4.8.1 Influência do pH na eficiência de extração

O bioissorvente magnético foi avaliado quanto à sorção em chumbo em soluções aquosas de $100 \mu\text{g L}^{-1}$ do metal nos pHs de 3,0; 4,5; 6,0 e 7,5. Foram adicionados 30 mL da solução padrão de chumbo em tubos Falcon de 50 mL juntamente com 8 mg de bioissorvente magnético (adição de $400 \mu\text{L}$ de uma suspensão aquosa do material magnético na proporção de 20 mg mL^{-1}). O sistema foi agitado em vórtex ($\sim 1000 \text{ rpm}$) por 16 min. As partículas foram coletadas com um a haste magnética e analisadas conforme o descrito na Seção 4.6.

4.8.2 Teste de massas

Massas de 1, 2, 4 e 12 mg de biossorvente magnético foram avaliadas quanto à eficiência de extração. Os experimentos foram realizados com 10 mL de solução de chumbo na concentração de $100 \mu\text{g L}^{-1}$, pH 5,0 e 16 min de agitação.

4.9 OTIMIZAÇÃO

Neste estudo optou-se pela otimização multivariada na avaliação dos fatores relacionados ao sistema. Assim, considerando as particularidades físicas e químicas do sistema em desenvolvimento, inicialmente selecionou-se os três fatores (tempo de extração, volume e pH da amostra), os quais desempenham grande influência sobre a resposta analítica, sendo estes investigados por um planejamento fatorial em dois níveis, seguido da Matriz de Doehlert.

4.9.1 Planejamento Fatorial 2^3

O planejamento fatorial 2^3 realizado envolveu a realização de oito (8) experimentos para a investigação das variáveis volume de amostra, pH da amostra e tempo de extração. Os níveis estudados foram: pH: 4,5 e 7,5; volumes de amostra (VA): 10 e 40 mL e tempos de extração (TE): 5 e 20 min. O pH das soluções foi ajustado com soluções de HNO_3 $0,1 \text{ mol L}^{-1}$ e NaOH $0,1 \text{ mol L}^{-1}$. As extrações foram realizadas em soluções padrão de $0,1 \text{ mg L}^{-1}$ empregando 1 mg de biossorvente magnético. A Tabela 2 apresenta os experimentos realizados no planejamento e seus respectivos níveis.

Tabela 2 - Níveis dos fatores e matriz de planejamento fatorial 2³.

Sigla	Fator	Níveis	
		Mínimo (-)	Máximo (+)
pH	pH	4,5	7,5
TE	Tempo de extração (min.)	5	20
VA	Volume de amostra (mL)	10	40

Experimentos	Fatores		
	pH	TE	VA
1	- (4,5)	- (5)	- (10)
2	+ (7,5)	- (5)	- (10)
3	- (4,5)	+ (20)	- (10)
4	+ (7,5)	+ (20)	- (10)
5	- (4,5)	- (5)	+ (40)
6	+ (7,5)	- (5)	+ (40)
7	- (4,5)	+ (20)	+ (40)
8	+ (7,5)	+ (20)	+ (40)

Fonte: Autor.

Estes experimentos foram realizados em ordem aleatória para evitar erros sistemáticos. A análise dos dados foi realizada por meio do software STATISTICA 10.0 (StatSoft, EUA) com 95% de confiança para significância estatística.

4.9.2 Matriz de Doehlert

De posse dos resultados obtidos pelo planejamento fatorial realizou-se uma Matriz de Doehlert para os dois fatores considerados significativos para a extração: pH e o volume de amostra. O volume foi avaliado em três níveis: 20, 30 e 40 mL. O pH foi avaliado em cinco níveis: 4,0; 4,5; 5,0; 5,5; 6,0. Para isso, foram realizados 7 experimentos, com 3 réplicas do ponto central. Estes dados também foram analisados pelo software STATISTICA 10.0 (StatSoft, EUA). Os experimentos realizados nessa etapa estão apresentados na Tabela 3.

Tabela 3 - Matriz de Doehlert com 2 fatores.

Fatores		Níveis codificados e reais			
pH	4,0 (-1)	4,5 (-0,5)	5,0 (0)	5,5 (0,5)	6,0 (1)
VA (mL)		20 (-0,866)	30 (0)	40 (0,866)	

Experimentos	Fatores	
	pH	VA
1	5,0 (0)	30 (0)
2	6,0 (1)	30 (0)
3	5,5 (0,5)	40 (0,866)
4	4,0 (-1)	30 (0)
5	4,5 (-0,5)	20 (-0,866)
6	5,5 (0,5)	20 (-0,866)
7	4,5 (-0,5)	40 (0,866)

Fonte: Autor.

Legenda: Os valores entre parênteses representam os valores codificados da matriz.

4.10 TESTE INICIAL EM SUCO

Foi realizado um teste de extração em uma amostra de suco à base de soja para verificar se o método adotado é capaz de extrair e determinar chumbo nesse tipo de matriz. Para isso, foram preparadas duas soluções de chumbo na concentração de $100 \mu\text{g L}^{-1}$, uma em água e outra diretamente no suco. As condições utilizadas foram as mesmas otimizadas em água: 1 mg de biossorvente magnético, 40 mL de amostra, 5 min de agitação e pH 5,5. Para os experimentos em amostras de suco, foi escolhido o suco de soja por se tratar de uma amostra de maior complexidade.

4.11 VALIDAÇÃO DO MÉTODO ANALÍTICO

4.11.1 Figuras de mérito

Alguns parâmetros de validação foram determinados para avaliar a aplicação do método proposto em diferentes amostras. Para isso, foram preparadas curvas de calibração

em água, em suco à base de soja, suco de uva integral, suco de uva reconstituído e em néctar de laranja, a fim de se obter algumas figuras de mérito, como: ruído, sensibilidade, faixa linear, linearidade, limites de detecção (LD) e quantificação (LQ), precisão e exatidão intra e interdia.

A curva de calibração em água foi construída com 5 soluções padrão de chumbo nas concentrações de 5, 40, 70, 100 e 140 $\mu\text{g L}^{-1}$. As extrações foram realizadas já nas condições otimizadas. As curvas em sucos, foram preparadas com 7 soluções padrão em amostras de sucos enriquecidas com chumbo nas concentrações de 10, 50, 100, 150, 200, 260 e 300 $\mu\text{g L}^{-1}$ para o suco a base de soja e nas concentrações de 10, 25, 50, 75, 100, 125 e 150 $\mu\text{g L}^{-1}$ para os demais sucos utilizados. Nas aplicações em suco, as condições utilizadas foram as mesmas otimizadas em água.

O ruído, sendo considerado como a oscilação do equipamento ou do método utilizado, foi determinado de acordo com o desvio padrão de 10 leituras do branco. A sensibilidade representa a fração de sinal que é acrescida quando a concentração do analito é elevada em uma unidade, sendo determinada pelo coeficiente angular da curva de calibração. A faixa linear é o intervalo de concentrações dos padrões que foram utilizados na construção da curva. A linearidade foi determinada por meio do coeficiente de correlação (R^2) da curva, referindo-se à capacidade do método de fornecer resultados diretamente proporcionais à concentração dos analitos.

O LD corresponde à menor concentração do analito que pode ser detectado, mas não necessariamente quantificado, tendo sido calculado utilizando o desvio padrão do branco e o coeficiente angular da curva por meio da equação (3).

O LQ equivale à menor concentração de analito que pode ser quantificado com uma incerteza máxima de 10%, tendo sido calculado utilizando o desvio padrão do branco e o coeficiente angular da curva por meio da equação (4) (VALDERRAMA; BRAGA; POPPI, 2009).

A precisão intradia foi calculada por meio do desvio padrão relativo (DPR%) de três pontos da curva analítica por meio da equação (5), utilizando o ponto mais baixo, um ponto intermediário e o ponto mais alto. A exatidão foi calculada como erro relativo (ER%) por meio da equação (6) também para três pontos da curva, utilizando o ponto mais baixo, um ponto intermediário e o ponto mais alto. A precisão e exatidão interdias foram determinadas apenas para o suco à base de soja por ser a amostra mais complexa utilizada. Para isso, também foram utilizadas as equações (5) e (6), porém com leituras realizadas em três dias

diferentes. Os cálculos realizados para obter essas figuras de mérito foram baseados nos critérios de validação estabelecidos pela ANVISA (AGÊNCIA NACIONAL DE VIGILÂNCIA SANITÁRIA, 2017).

Também foi calculada a frequência analítica média de cada ensaio, somando os tempos necessários para cada etapa do método e dividindo esse tempo pela quantidade de réplicas realizadas em cada ponto da curva.

$$LD = 3,3 \frac{s}{m} \quad (3)$$

$$LQ = 10 \frac{s}{m} \quad (4)$$

$$DPR\% = \frac{s}{\bar{x}} \times 100 \quad (5)$$

$$ER\% = \frac{(C_a - C_r)}{C_r} \times 100 \quad (6)$$

s – Desvio padrão amostral

m – Coeficiente angular da curva

\bar{x} – Média dos sinais

C_a – Concentração analítica (obtida pela equação da reta)

C_r – Concentração real

4.11.2 Comparação analítica

Foi realizada uma comparação do método proposto com outros já utilizados para análise de metais em amostras líquidas. Nessa comparação, além da técnica de inserção direta na chama, foi utilizada a metodologia de d-SPE convencional, em que é feita a injeção das amostras no sistema de nebulização, e também a metodologia de análise direta.

Para a construção da curva com d-SPE convencional, foi realizada uma pré-concentração com 3 mg de biossorvente magnético em 40 mL de amostras de suco enriquecidas com padrões de chumbo, em pH 5,5 por 5 minutos de agitação em vórtex, seguida de uma etapa de eluição com 0,5 mL de HNO₃ 0,5 mol L⁻¹ também por 5 minutos de agitação. Nessa curva foram utilizadas soluções padrões na concentração de 100, 300, 500, 750, 1000 e 1500 µg L⁻¹.

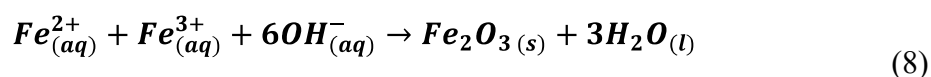
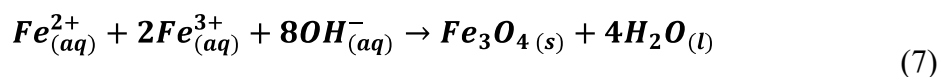
Na análise direta foram utilizadas soluções padrões de chumbo nas concentrações de 500, 1000, 1500, 2000, 2500 e 3000 µg L⁻¹. Essas soluções foram preparadas em água, pois não era viável a injeção de suco diretamente no sistema de nebulização.

5 RESULTADOS

5.1 SÍNTESE

O processo de síntese do bioissorvente ocorreu por co-precipitação *in situ*, em que a formação das nanopartículas ocorreu já na presença da casca de laranja em pó para promover a incorporação nas nanopartículas magnéticas na superfície da casca (Figura 3). Trata-se de um método bastante eficaz para a formação das nanopartículas magnéticas, permitindo a formação de partículas menores que 50 μm (SHUKLA; KHAN; DAVEREY, 2021). Desta forma, o bioissorvente magnético obtido possui partículas na ordem de 100 μm (referentes à casca em pó) com as nanopartículas magnéticas incorporadas em sua superfície.

Nas condições utilizadas durante a síntese, é favorecida a formação de nanopartículas magnéticas de óxido de ferro, tanto na forma de Magnetita (Fe_3O_4) quanto na forma de Maghemita (Fe_2O_3) (GUPTA; AGARWAL; SALEH, 2011). As reações para a formação dessas nanopartículas ocorrem da seguinte forma (GOLMOHAMMAD *et al.*, 2022; PERALES PEREZ; UMETSU; SASAKI, 1998):



Essa síntese também poderia ser realizada em temperatura ambiente. Entretanto, quando submetida ao aquecimento, o magnetismo das nanopartículas é favorecido devido a formação de partículas maiores (PARK *et al.*, 2011). Como o tempo de síntese é curto e a temperatura utilizada não é muito elevada, a realização da síntese sob aquecimento continua sendo vantajosa quando comparada com sínteses de outros bioissorventes realizadas em altas temperaturas e por um tempo prolongado. Em adição ao método original proposto por Gupta e Nayak (2012), foi utilizada uma atmosfera de gás nitrogênio a fim de garantir estabilidade para as nanopartículas que são passíveis de oxidação pelo oxigênio atmosférico.

A adição da casca de laranja no meio reacional buscou a obtenção de um compósito com características interessantes para uma aplicação analítica, incorporando o magnetismo

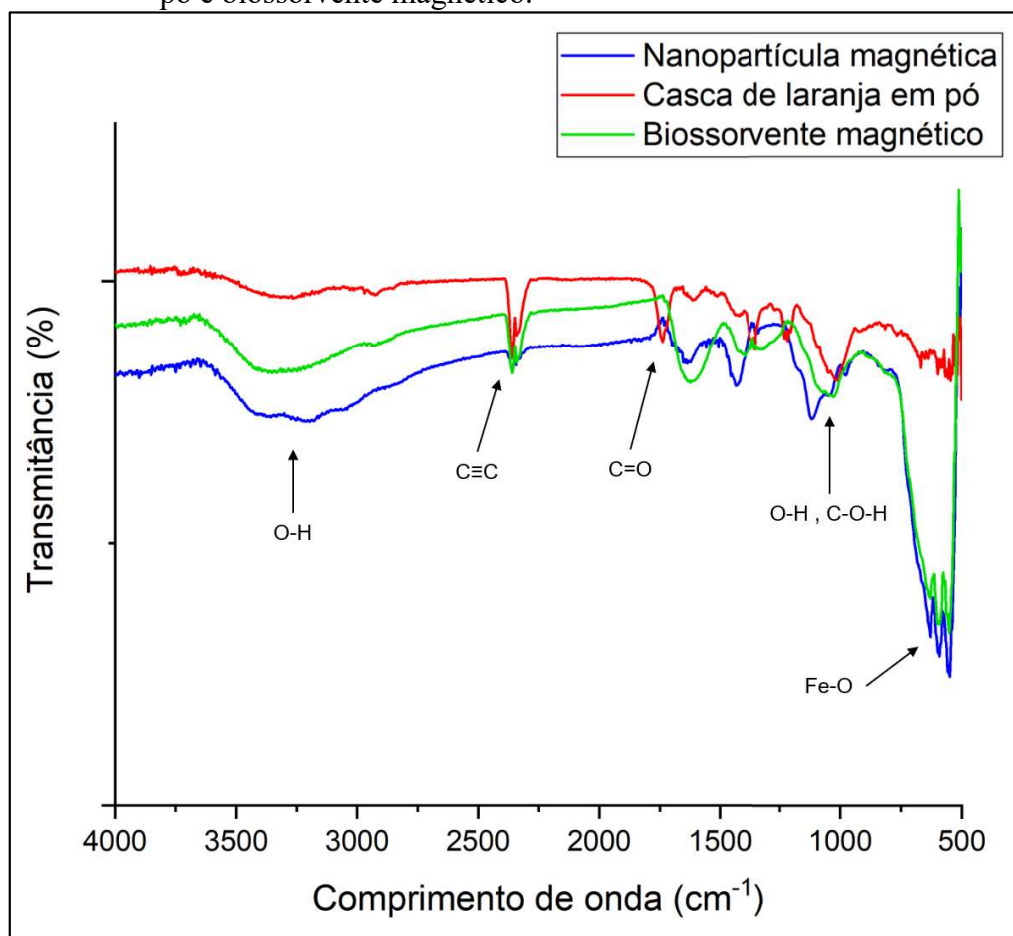
das nanopartículas com a boa capacidade adsortiva que a casca de laranja possui (DEY *et al.*, 2021).

5.2 CARACTERIZAÇÃO

5.2.1 Análise por Espectroscopia no Infravermelho por Transformada de Fourier

Analisando os espectros de infravermelho é possível apontar algumas características dos materiais analisados (Gráfico 1). A casca de laranja é composta principalmente de celulose, pectina, lignina, pigmentos de clorofila e alguns hidrocarbonetos (DEY *et al.*, 2021). As bandas observadas nas regiões de 1750 cm^{-1} , 2300 cm^{-1} e 1000 cm^{-1} indicam a presença das funções alcino, carboxila e hidroxila, respectivamente, que estão de acordo com a composição da casca (AFOLABI; MUSONGE; BAKARE, 2021; GUPTA; NAYAK, 2012). O sinal intenso na região de 500 cm^{-1} à 750 cm^{-1} se refere à ligação Fe-O presente na Magnetita. Como as nanopartículas possuem grupos hidroxila em sua superfície, foi observado um sinal característico dessa função na região de 3000 cm^{-1} à 3500 cm^{-1} (GUPTA; NAYAK, 2012). Como resultante, o espectro do bioissorvente magnético apresentou bandas correspondentes à associação das nanopartículas com a casca de laranja. Para o bioissorvente magnético, também foram observados picos para as funções hidroxila, alcino e carboxila nas regiões de 3000 cm^{-1} à 3500 cm^{-1} (OH⁻), 2300 cm^{-1} (C≡C), 1500 cm^{-1} à 1750 cm^{-1} (C=O) e 1000 cm^{-1} à 1250 cm^{-1} (OH⁻, C-O-H) e também o sinal característico da ligação Fe-O em 500 cm^{-1} à 750 cm^{-1} .

Gráfico 1 - Espectros FTIR das nanopartículas magnéticas, casca de laranja em pó e bioissorvente magnético.



Fonte: Autor.

O fato dos sinais observados na casca e nas nanopartículas também serem detectados no bioissorvente indica que a incorporação de ambos materiais foi bem sucedida para a formação de um compósito. Outro indício dessa incorporação está na intensidade dos sinais, sendo que os sinais do bioissorvente estão menos intensos do que as nanopartículas, possivelmente por conta da presença da casca que interferiu na detecção das funções presentes no bioissorvente.

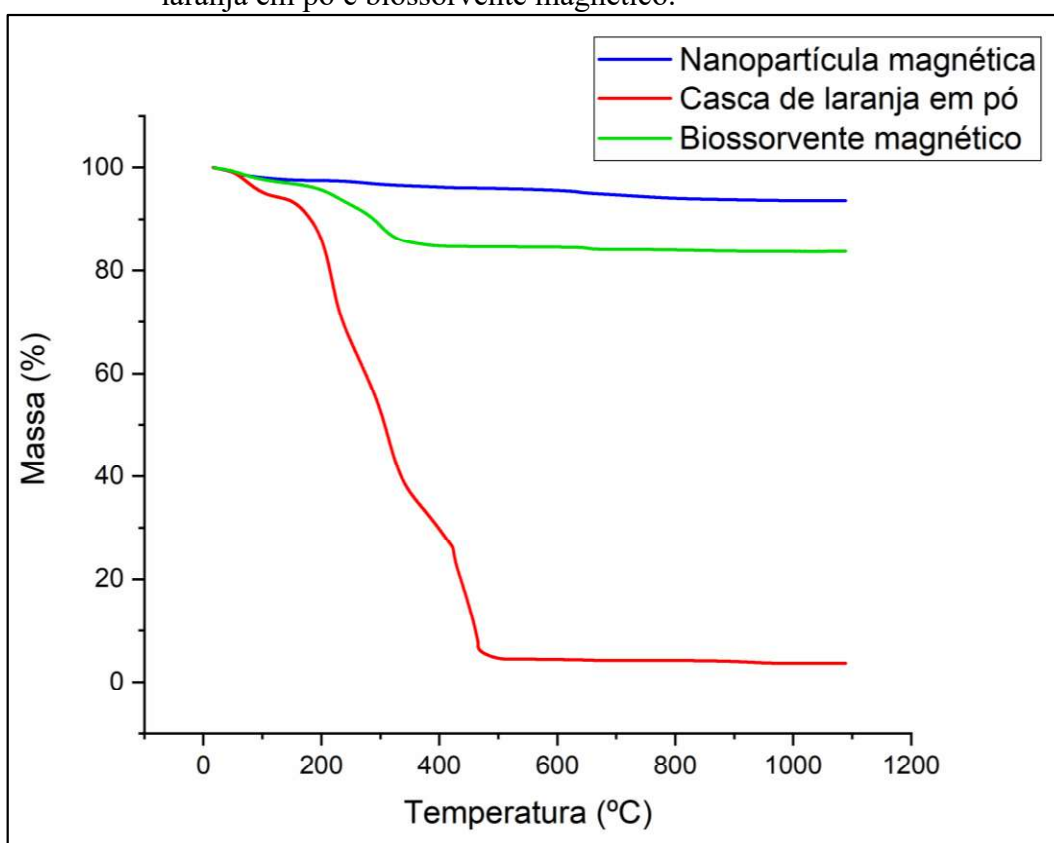
5.2.2 Análise Termogravimétrica

Os resultados da TGA dos materiais estão expostos no Gráfico 2. No caso da casca de laranja, a degradação foi maior do que as nanopartículas e o bioissorvente, em que aproximadamente 97% de sua massa total foi degradada. A perda de massa mais significativa

na faixa de temperatura de 150 °C à 500 °C pode estar relacionada com a despolimerização da celulose, seguida de degradação desse polímero (YARADODDI *et al.*, 2021). Os demais compostos de menor peso molecular que compõem a casca se degradam mais a facilmente e possivelmente foram liberados já no início dessa análise.

O biossorvente apresentou uma degradação de 17% devido à incorporação da casca de laranja nesse material que foi eliminada no intervalo de 200 e 300 °C. A presença da casca de laranja no biossorvente magnético não apresentou grande influência na perda de massa desse material. Isso se deu pelo fato de que a proporção de casca utilizada na síntese foi pequena em relação às nanopartículas. Já as nanopartículas magnéticas apresentaram maior estabilidade térmica mesmo em elevadas temperaturas, pois apenas 7% de sua massa inicial foi degradada durante a análise.

Gráfico 2 - Curvas de perda de massas para as nanopartículas magnéticas, casca de laranja em pó e biossorvente magnético.



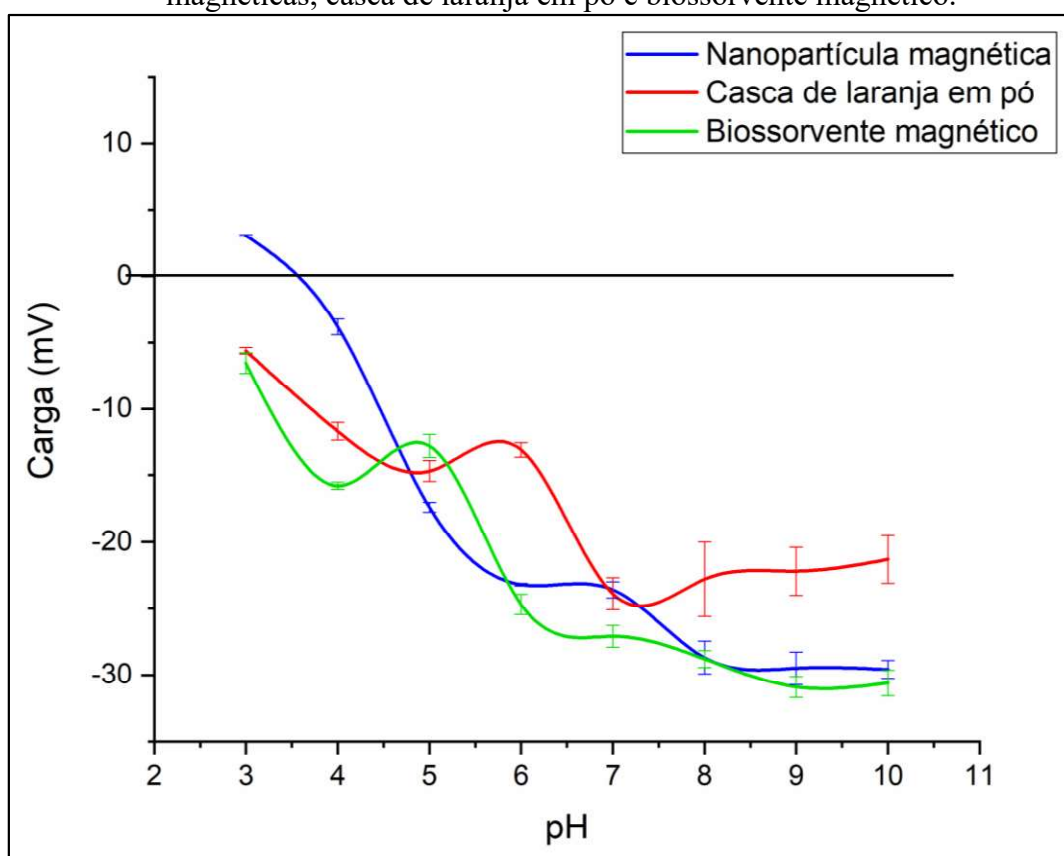
Fonte: Autor.

5.2.3 Potencial Zeta

A análise da carga superficial dos materiais está apresentada no Gráfico 3. Na faixa de pH escolhida não foi possível determinar o ponto isoelétrico de todos os materiais, apenas da nanopartícula magnética, que foi próximo de pH 3,5. Já a casca de laranja e o bioissorvente magnético apresentaram cargas negativas, mesmo nos pH's mais baixos.

É possível afirmar que a carga superficial do bioissorvente possui influência de ambos materiais, em $\text{pH} < 5$ a carga é semelhante à casca e em $\text{pH} > 5$ a carga é semelhante com a das nanopartículas. A prevalência de cargas negativas em todos os materiais pode ser justificada pela presença de alguns grupos funcionais como grupos hidroxilas e carboxilas, por exemplo.

Gráfico 3 - Variação da carga superficial de acordo com o pH para as nanopartículas magnéticas, casca de laranja em pó e bioissorvente magnético.

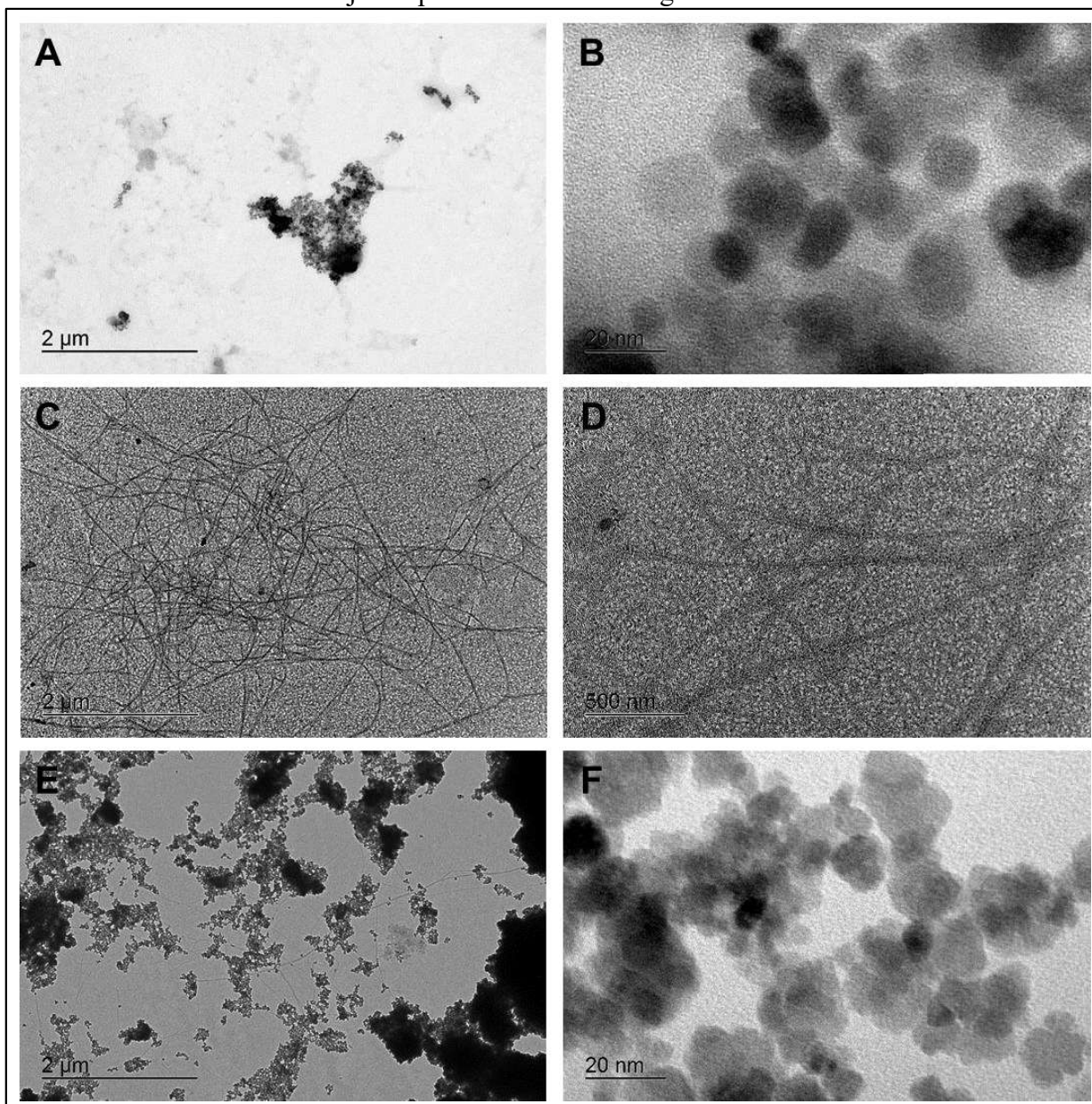


Fonte: Autor.

5.2.4 Microscopia Eletrônica de Transmissão

As imagens obtidas pela análise por TEM estão apresentadas na Fotografia 2.

Fotografia 2 - Microscopias Eletrônicas de Transmissão das nanopartículas magnéticas, casca de laranja em pó e bioissorvente magnético.



Fonte: Autor.

Legenda: A e B – Nanopartículas magnéticas com aumentos de 4 e 200 kx, respectivamente. C e D – Casca de laranja em pó com aumentos de 4 e 10 kx, respectivamente. E e F – Bioissorvente magnético com aumentos de 4 e 200 kx, respectivamente.

Esses resultados forneceram informações a respeito das morfologias dos materiais. O bioissorvente magnético apresentou morfologia semelhante às nanopartículas isoladas,

sendo partículas esféricas com tamanhos não uniformes e de dimensões próximas de 20 nm (Fotografia 2 B e F). Já a casca de laranja possui fibras de tamanhos maiores e com tamanhos indefinidos.

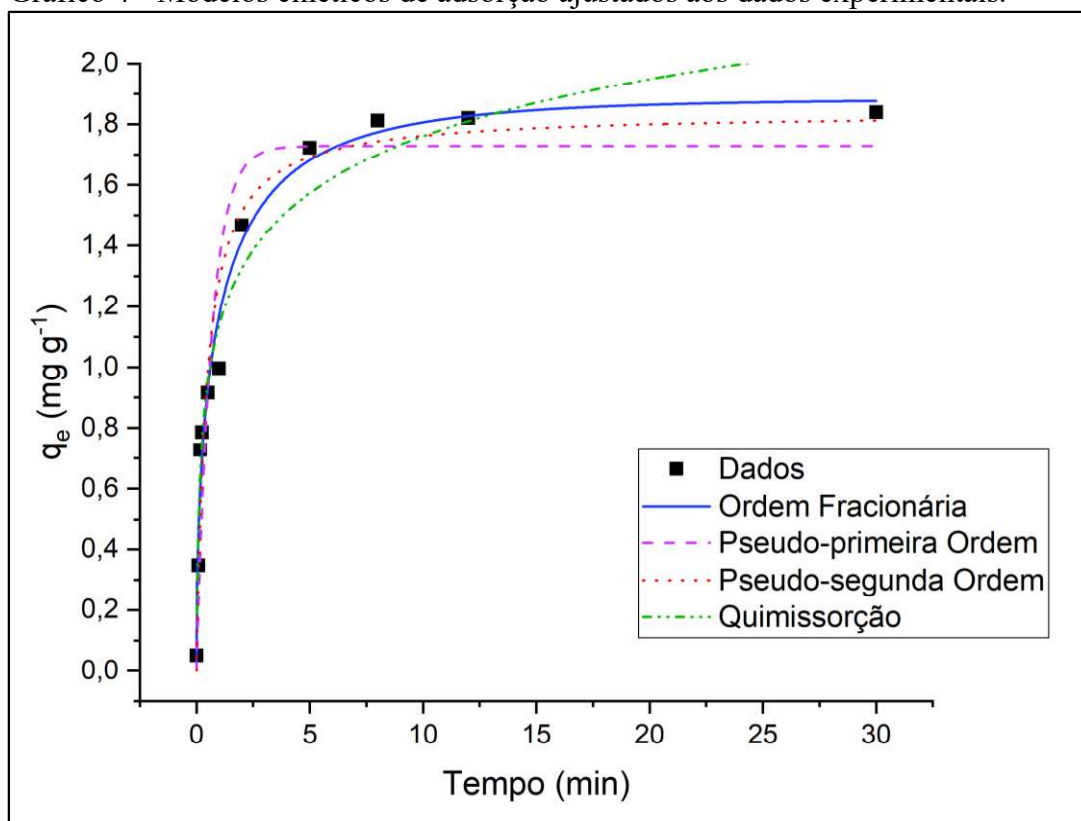
Comparando a Fotografia 2 E com a Fotografia 2 A, nota-se a presença de algumas fibras no bioissorvente magnético que são provenientes da casca de laranja. Como era esperado, essas fibras possivelmente atuam com suporte para as nanopartículas magnéticas nesse material, levando em conta que essa incorporação também foi validada pelas caracterizações por FTIR e TGA.

5.3 ESTUDOS DE ADSORÇÃO

5.3.1 Cinética de Adsorção

O Gráfico 4 apresenta os dados obtidos nos experimentos de cinética e os ajustes com os modelos teóricos utilizados.

Gráfico 4 - Modelos cinéticos de adsorção ajustados aos dados experimentais.



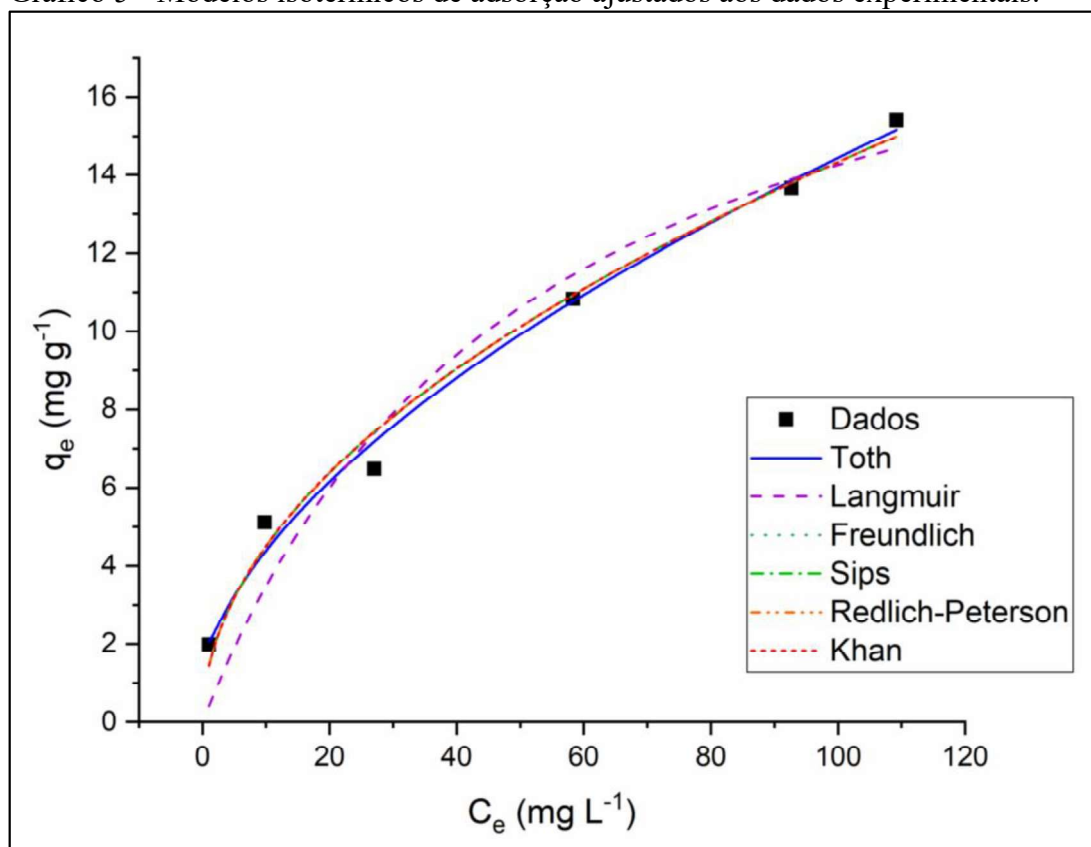
Fonte: Autor.

Os parâmetros de ajuste para as cinéticas de adsorção estão apresentados na Tabela 4. Considerando os valores de fator de correlação (R^2) dos modelos ajustados e os valores da função de erro para cada modelo, o melhor ajuste ocorreu para o modelo de Ordem Fracionária e o tempo de equilíbrio se deu próximo de 8 minutos de agitação. Esse modelo utiliza o parâmetro n_{AV} para avaliar se a etapa limitante de processo de adsorção se dá na superfície do adsorvente ou não (BENJELLOUN *et al.*, 2021; GEORGE; SUGUNAN, 2014). De acordo com o valor de n_{AV} obtido (0,58774), a transferência de massa de chumbo para a superfície do biossorvente magnético foi homogênea e os processos envolvidos nas regiões de interface entre as espécies (adsorvente e adsorvato) não foram fatores limitantes para o tempo de equilíbrio de adsorção.

5.3.2 Isoterma de Adsorção

O Gráfico 5 apresenta as os dados experimentais para a isoterma de adsorção e os ajustes com os modelos teóricos.

Gráfico 5 - Modelos isotérmicos de adsorção ajustados aos dados experimentais.



Fonte: Autor.

Os parâmetros de ajuste para as isotermas de adsorção estão apresentados na Tabela 5. Nessa etapa, o modelo de Toth apresentou melhor ajuste aos dados experimentais por apresentar maior valor de R^2 e menor valor da função de erro. Esse modelo é um aprimoramento do modelo de Langmuir, mas voltado para superfícies heterogêneas no adsorvato (AL-GHOUTI; DA'ANA, 2020; MOZAFFARI MAJD *et al.*, 2022). Dessa forma, o parâmetro t obtido sendo diferente de 1, indica uma superfície com sítios de adsorção heterogêneos no biossorvente magnético.

Na faixa de concentração utilizada nos experimentos, a isoterma obtida não apresentou uma região de equilíbrio com valores constantes de q_e . Sendo assim, trata-se de uma isoterma de caráter favorável (NASCIMENTO *et al.*, 2014), em que a capacidade de adsorção de chumbo (q_e) é alta para uma baixa concentração do metal na fase líquida (C_e), certificando o biossorvente magnético como um bom adsorvente de chumbo em meio líquido.

Tabela 4 - Parâmetros de ajuste para as cinéticas de adsorção de Pb^{2+} no biossorvente magnético.

Modelo Cinético	Equação	Parâmetros	Valores Obtidos
Pseudo-primeira Ordem	$q_t = q_e [1 - \exp(-k_1 t)]$	q_e (mg g ⁻¹) k_1 (min ⁻¹) R^2 F_{error} (%)	1,72829 0,02536 0,90546 27,98%
Pseudo-segunda Ordem	$q_t = \frac{k_2 q_e^2 t}{1 + k_2 q_e t}$	q_e (mg g ⁻¹) k_2 (g mg ⁻¹ min ⁻¹) R^2 F_{error} (%)	1,83825 0,02094 0,95979 16,66%
Quimissorção (Elovich)	$q_t = \frac{1}{\beta} \ln(\alpha\beta) + \frac{1}{\beta} \ln(t)$	α (mg g ⁻¹ min ⁻¹) β (g mg ⁻¹) R^2 F_{error} (%)	0,30138 3,69421 0,96357 15,15%
Ordem Fracionária (Avrami)	$q_t = q_e \{1 - \exp[-(k_{AV} t)]^{n_{AV}}\}$	q_e (mg g ⁻¹) k_{AV} (min ⁻¹) n_{AV} R^2 F_{error} (%)	1,7959 0,0219 0,58774 0,99239 14,93%

Fonte: Autor.

Legenda: q_t : Quantidade de analito adsorvido no tempo t ; q_e : Quantidade de analito adsorvido por grama de material; t : Tempo de contato; k_1 : Constante de taxa de Pseudo-primeira ordem; k_2 : Constante de taxa de pseudo-segunda ordem; α : Taxa de adsorção da equação de Elovich inicial; β : Constante de Elovich relacionada com a extensão da cobertura da superfície e também com a energia de ativação envolvida na quimissorção; k_{AV} : Constante cinética Avrami; n_{AV} : Ordem de reação fracionária (Avrami) relacionada ao mecanismo de adsorção.

Tabela 5 - Parâmetros de ajuste para as isotermas de adsorção de Pb^{2+} no biossorvente magnético.

Modelo Isotérmico	Equação	Parâmetros	Valores Obtidos
Langmuir	$q_e = \frac{q_s K_L C_e}{1 + K_L C_e}$	q_s (mg g ⁻¹)	21,75847
		K_L (mg L ⁻¹)	0,01904
		R^2	0,94828
		$F_{\text{error}} (\%)$	43,49%
Freundlich	$q_e = K_F C_e^{1/n_F}$	K_F (mg g ⁻¹) (mg L ⁻¹) ⁿ	1,4128
		n_F	1,98722
		R^2	0,98672
		$F_{\text{error}} (\%)$	27,46%
Sips	$q_e = \frac{q_s K_s C_e^{1/n_s}}{1 + K_s C_e^{1/n_s}}$	q_s (mg g ⁻¹)	$9,4159 \cdot 10^4$
		K_s (mg L ⁻¹)	$1,4989 \cdot 10^{-5}$
		n_s	0,50349
		R^2	0,98672
		$F_{\text{error}} (\%)$	19,59%
Khan	$q_e = \frac{q_s b_K C_e}{(1 + b_K C_e)^{a_K}}$	q_s (mg g ⁻¹)	$7,5368 \cdot 10^{-4}$
		a_K	$3,2056 \cdot 10^6$
		b_K	0,4969
		R^2	0,98672
		$F_{\text{error}} (\%)$	19,55%
Redlich-Peterson	$q_e = \frac{K_R C_e}{1 + a_R C_e^g}$	K_R (g L ⁻¹)	$5,4530 \cdot 10^4$
		a_R (mg L ⁻¹)	$3,8594 \cdot 10^4$
		g	0,4968
		R^2	0,98672
		$F_{\text{error}} (\%)$	19,55%
		onde $0 \leq g \leq 1$	

Modelo Isotérmico	Equação	Parâmetros	Valores Obtidos
Toth	$q_e = \frac{K_T C_e}{(a_T + C_e)^{1/t}}$	K_T (mg g ⁻¹) a_T (L mg ⁻¹) t R^2 F_{error} (%)	0,87723 -0,57862 2,43005 0,99139 11,13%

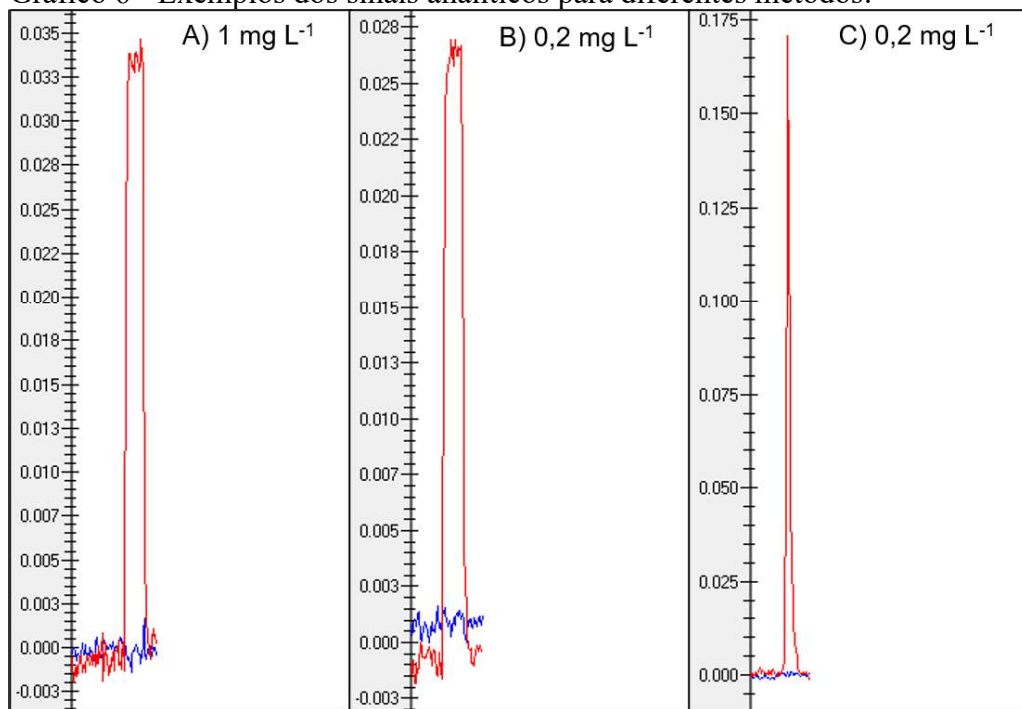
Fonte: Autor.

Legenda: q_e : Quantidade de analito adsorvido no equilíbrio por grama de material; q_s : Capacidade de saturação teórica; K_L : Constante de afinidade de Langmuir; C_e : Concentração do analito no equilíbrio; K_F e n_F : Constante e expoente do modelo de Freundlich, respectivamente; K_s e n_s : Constante e expoente do modelo Sips, respectivamente; a_K e b_K : Constante e expoente do modelo Khan, respectivamente; K_R e a_R : Constante e g é expoente do modelo de Redlich-Peterson, respectivamente; K_T e a_T : Constantes isotérmicas do modelo de Toth; t : Expoente do modelo Toth.

5.4 AMOSTRAGEM DIRETA DE SORVENTE SÓLIDO MAGNÉTICO EM ESPECTROMETRIA DE ABSORÇÃO ATÔMICA COM CHAMA

A implementação da técnica de DMSS-FAAS simplificou bastante as etapas de preparo de amostra e as leituras por FAAS. Nos métodos tradicionais por injeção direta de amostra ou por pré-concentração com SPE, seguido de uma etapa de eluição, as aplicações em amostras complexas são mais limitadas porque as partículas presentes na matriz ou a própria fase sólida podem causar entupimentos nas vias do nebulizador do FAAS. Nesse método, como o sorvente foi inserido diretamente na chama, não houve o risco de entupimento, além de ter favorecido a atomização completa dos analitos extraídos. A magnitude e o perfil dos sinais analíticos obtidos com essa técnica apontam para uma relevante melhoria na eficiência de atomização (Gráfico 6).

Gráfico 6 - Exemplos dos sinais analíticos para diferentes métodos.



Fonte: Autor.

Legenda: A – Injeção direta de padrão aquoso no FAAS, sem preconcentração. B - Pré-concentração por d-SPE com biosorvente magnético, seguido de eluição e injeção no FAAS via sistema de nebulização. C - Pré-concentração por d-SPE com biosorvente magnético, seguido de inserção direta na chama. Cada gráfico tem um tempo total de 190 segundos.

Os picos obtidos por DMSS-FAAS foram mais finos e altos. Este fator indica que o processo de atomização completa dos analitos foi mais rápido nessa nova técnica. Outro indicativo é de que a inserção direta promoveu a atomização de uma proporção maior de chumbo do que as outras técnicas, tendo em vista que o valor de absorbância foi bem maior (Gráfico 6 C) que as demais, mesmo em concentrações iguais (Gráfico 6 B) ou superiores (Gráfico 6 A). Um exemplo do processo de amostragem e inserção na chama do FAAS está apresentado em um vídeo no seguinte link: https://drive.google.com/file/d/1-3mj6glZOg_K167bpRUCnBgb2DGZIBdT/view.

Mesmo simplificando o processo de análise com um todo, a técnica de DMSS-FAAS ainda apresenta alguns desafios a serem superados. O principal desafio encontrado foi reproduzir a inserção da gota de sorvente na chama exatamente na mesma posição em todas as leituras, pois como isso foi feito pelo próprio analista, houve variações nesse posicionamento, o que pode ter afetado na reprodutibilidade das análises. Uma alternativa possível é a mecanização dessa etapa, o que inclusive já está sendo feito pelo grupo.

Foi observado também que ao remover a sonda da solução no tubo Falcon, parte do sorvente retido na ponta da haste se desprendia e ficava na solução. Isso ocorreu quando o tubo havia uma quantidade maior que 10 mL de solução. Este problema foi resolvido mantendo o ímã no fundo do tubo para atrair o sorvente magnético e descartando a maior parte da solução após a extração, deixando somente volumes menores que 10 mL no tubo. Desta forma, todo o material ficou retido na ponta da haste e não houve perdas. Outra adaptação importante foi o ajuste da altura do queimador, pois na altura padrão a gota de sorvente obstruiu o feixe de radiação, nesse caso o queimador foi abaixado em cerca de 0,5 cm para que o feixe ficasse acima da gota, como está representado na Figura 5 B.

5.5 TESTES INICIAIS

5.5.1 Avaliação da extração e triagem de pH

A Tabela 6 apresenta os sinais analíticos obtidos neste teste realizado com diferentes valores de pH:

Tabela 6 - Sinais analíticos para a triagem de pH, para padrão aquoso de chumbo à 100 $\mu\text{g L}^{-1}$.

pH	Média dos Sinais	DPR%
Branco	0,003	47,14
pH 3,0	0,256	13,27
pH 4,5	0,378	17,59
pH 6,0	0,293	13,72
pH 7,5	0,047	35,03

Fonte: Autor.

Mesmo com uma faixa curta na avaliação do pH, comparando os resultados, nota-se que o melhor sinal foi para a extração em pH 4,5. Em princípio, considerando a carga superficial do bioissorvente magnético em diferentes pHs (Gráfico 3), a extração seria melhor em pHs mais elevados, já que a superfície ficaria com uma carga negativa mais elevada, favorecendo a atração eletrostática dos cátions Pb^{2+} para o sorvente. Porém, em $\text{pH} > 6$ a disponibilidade de Pb^{2+} livre na amostra é diminuída por conta da formação de PbOH^+ e Pb(OH)_2 (LAI *et al.*, 2019). Nesse caso, em pH 4,5 houve uma disponibilidade maior dos analitos na solução, resultando em um sinal maior nessa condição.

Como as massas de bioissorvente utilizadas nos experimentos eram baixas (<10 mg), a pesagem repetitiva do material para as réplicas dos experimentos se tornou um processo inviável em que a precisão seria comprometida e o tempo de preparo seria maior. Para solucionar isso, foi adotada uma alternativa que consistiu na pipetagem de um a suspensão do material em água utilizando uma micropipeta, de tal forma que a coleta do bioissorvente era feita de forma mais rápida e precisa.

5.5.2 Teste de massas

Ainda sem a otimização das condições experimentais, foram feitas leituras com 5 réplicas para o branco e 10 réplicas para as soluções padrão. A expectativa era de que o sinal médio fosse maior para a utilização de massas elevadas (12 mg). Contudo, os sinais da solução padrão formam todos na mesma magnitude, independente da massa utilizada. Os resultados desse experimento estão expostos na Tabela 7:

Tabela 7 - Sinais analíticos para diferentes massas de bioissorvente.

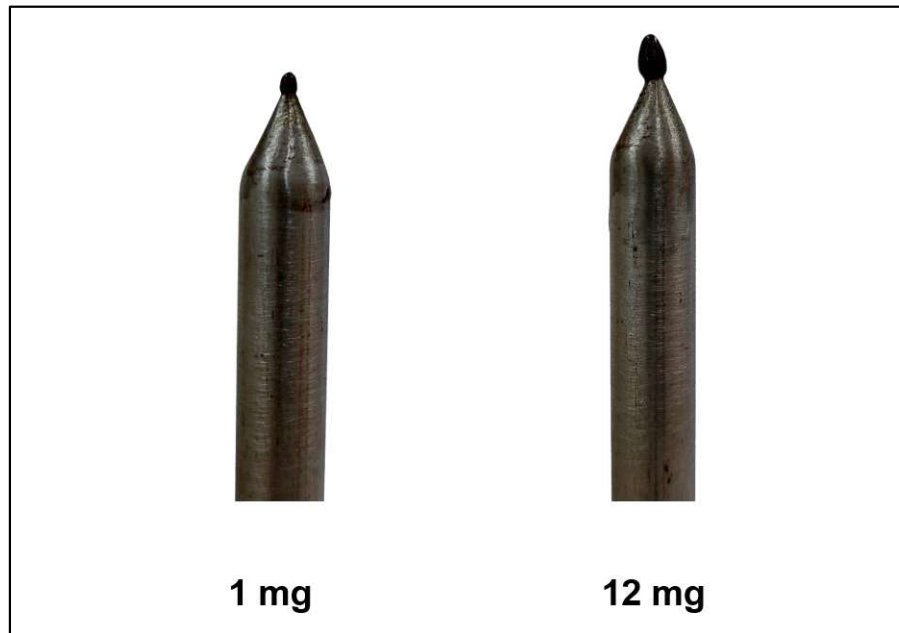
Massas	Amostras	Média dos Sinais	DPR%
1 mg	Branco	0,007	20,55
	Padrão	0,100	26,51
2 mg	Branco	0,030	22,77
	Padrão	0,149	20,12
4 mg	Branco	0,054	38,52
	Padrão	0,103	10,53
12 mg	Branco	0,112	5,15
	Padrão	0,155	12,85

Fonte: Autor.

Foi observado que as leituras do branco apresentavam sinais indesejados e que aumentavam de acordo com a massa do adsorvente. Uma hipótese é de que a própria queima do bioissorvente magnético, quando o mesmo é inserido na chama, possa causar uma interferência espectral na análise por obstrução física do feixe óptico. Contudo, para massas menores, este efeito foi minimizado.

Também foi constatado que utilizando massas menores, as gotas de material formadas na ponta da sonda ficaram mais esféricas e menores (Fotografia 3). As gotas maiores não foram totalmente abrangidas pela espessura da chama e, conseqüentemente, o material não foi totalmente queimado. Já com as gotas menores, todo material ficou no interior da chama e foi queimado completamente. Essa queima incompleta para as massas maiores possivelmente limitou a atomização dos íons chumbo adsorvidos, resultando em sinais menores do que o esperado. Sendo assim, considerando o tamanho da gota e os sinais para o branco, foi estabelecida a utilização de 1 mg de bioissorvente magnético nos demais experimentos. A utilização de uma pequena quantidade de bioissorvente é vantajosa porque diminui o consumo de sorvente, considerando que nessa técnica o material não pode ser reaproveitado.

Fotografia 3 - Comparação das gotas com diferentes massas de biossorvente.



Fonte: Autor.

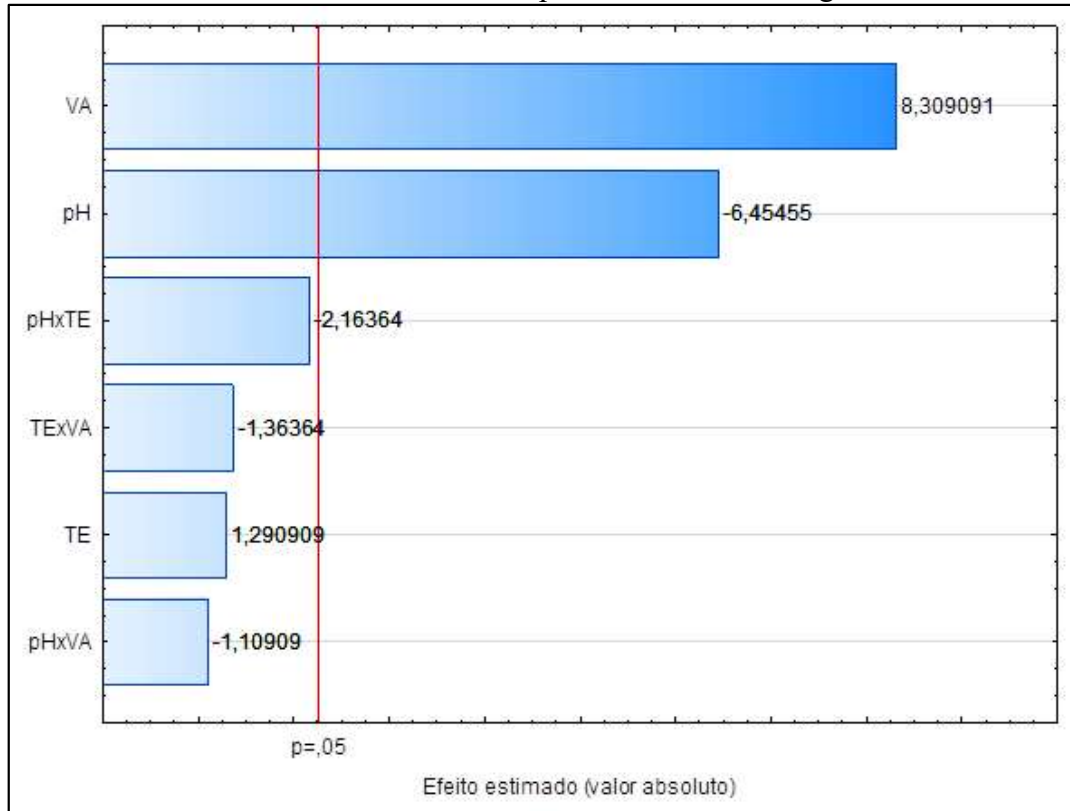
5.6 OTIMIZAÇÃO

Os tópicos a seguir descrevem os resultados obtidos na otimização multivariada dos fatores pertinentes ao sistema.

5.6.1 Planejamento fatorial de dois níveis 2^3

Os resultados obtidos pela realização dos experimentos descritos na Tabela 2 estão apresentados no Gráfico de Pareto (Gráfico **7**), onde a significância dos efeitos de cada fator estudado pode ser avaliada através da Análise de Variância (ANOVA) utilizando-se os valores P (VIEIRA; HOFFMANN, 1989). Analisando-se os resultados observa-se que os fatores volume de amostra (VA) e pH são bastante significativos dentro do intervalo estudado.

Gráfico 7 - Gráfico de Pareto dos efeitos para os fatores investigados.



Fonte: Autor.

Legenda: Nível de confiança 95%.

Dentre os fatores avaliados o volume de amostra foi o mais significativo. Essa informação demonstra que o nível superior estudado no planejamento favorece a resposta analítica, ou seja, experimentos realizados com um volume de amostra de 40 mL podem conduzir a uma maior absorbância quando comparados ao mesmo experimento realizado com 10 mL de amostra. Tal fato faz sentido pois aumentar o volume de amostra implica em aumentar a quantidade de analito disponível para adsorção e conseqüentemente atomização.

O fator pH é o segundo com efeito mais significativo negativamente, essa informação é coerente considerando que o valor de pH está diretamente relacionado aos processos de adsorção, impactando na forma em que o metal se encontra em solução e na carga superficial do biosorvente. Pelo valor negativo de efeito apresentado no diagrama de Pareto para este fator sugere-se que a execução de experimentos em pH 4,5 oferece-se maior contribuição a resposta analítica em comparação aos experimentos realizados em pH 7,5.

O tempo de extração não apresentou efeito significativo ao nível estudado sugerindo que tanto o tempo de 5 minutos quanto 20 minutos são suficientes para adequada extração do analito sem prejuízos na intensidade do sinal de absorbância. Além desse fator principal não

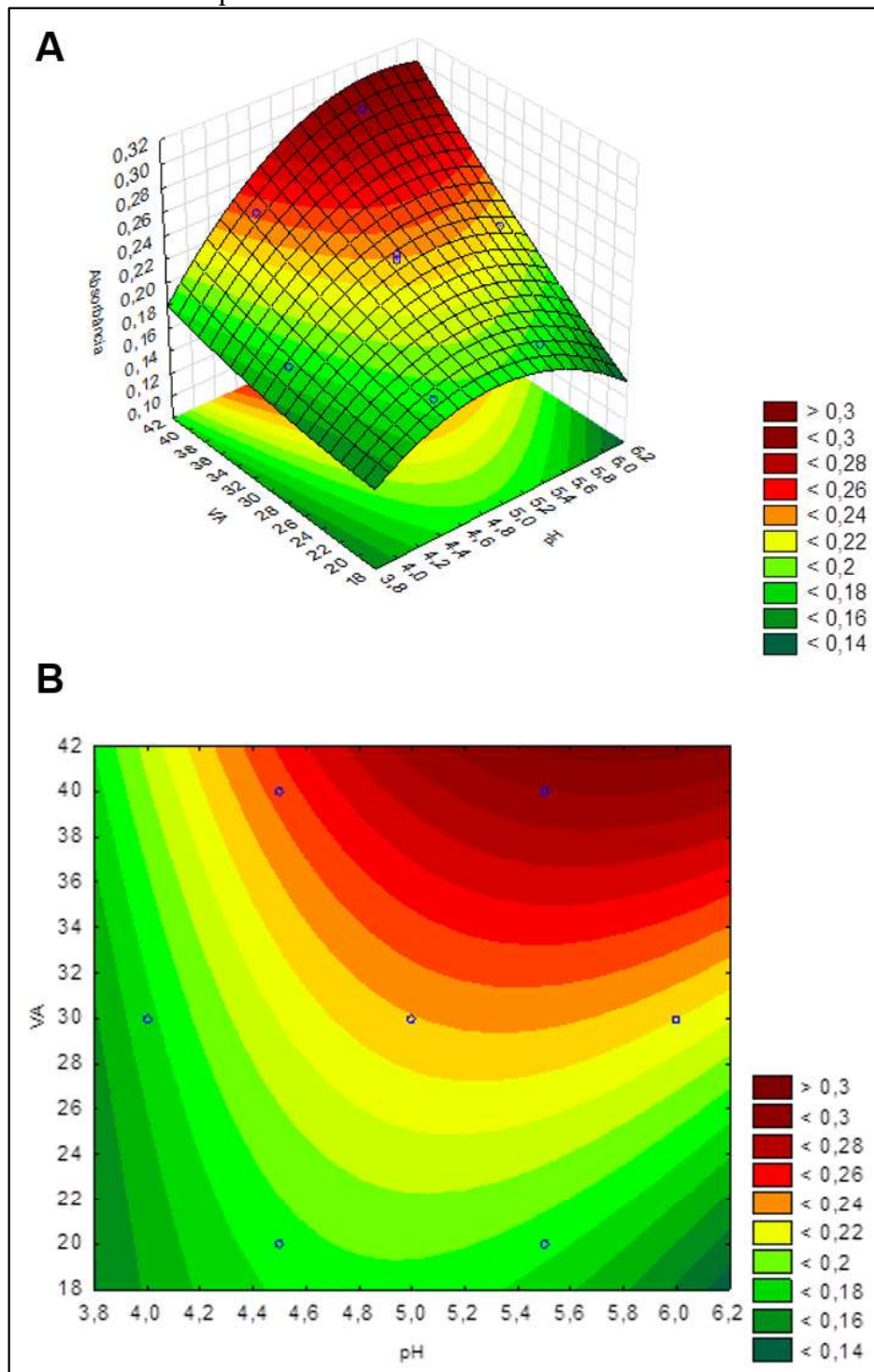
significativo, é possível perceber também a não significância das interações entre fatores. Assim, de posse da significância de cada fator sob a resposta analítica, seguiu-se para a aplicação da Matriz de Doehlert em busca dos valores ótimos para o sistema.

5.6.2 Otimização utilizando Matriz de Doehlert

Os resultados apresentados no planejamento fatorial 2^3 demonstraram principalmente que os fatores pH e volume de amostra, necessitavam melhor investigação em um maior número de níveis para otimização final. Para esse fim, aplicou-se a matriz de Doehlert (Tabela 2) para esses dois fatores mais significativos. Ainda considerando as informações apresentadas no diagrama de pareto, onde o fator TE não apresentou efeito significativo no nível estudado, optou-se por manter esse fator no seu nível inferior (5 minutos) buscando maior frequência analítica.

Na execução da Matriz de Doehlert para dois fatores (pH e VA) foram mantidas as seguintes condições experimentais: TE de 5 min e massa de adsorvente de 1 mg. O Gráfico 8 apresenta a superfície de resposta (A) e gráfico de curvas de níveis (B) obtidas com os dados dos sete experimentos realizados na Matriz de Doehlert. A equação (9) descreve essa superfície a qual relaciona o pH, volume de amostra e resposta analítica (absorbância).

Gráfico 8 - Resultados da Matriz de Doehlert para otimização dos fatores VA e pH.



Fonte: Autor.

Legenda: A - Superfícies de resposta. B – Curvas de níveis.

$$\begin{aligned}
 Abs = & -0,38479 + 0,25966 (pH) - 0,03083 (pH)^2 \\
 & - 0,01010 (VA) + 0,00004 (VA)^2 + 0,0235 (pH)(VA)
 \end{aligned}
 \quad (9)$$

Analisando os resultados da Matriz de Doehlert pode-se observar que o melhor volume de amostra dentro do intervalo estudo refere-se a 40 mL e que neste volume podemos ver um valor de pH 5,5 também inserido na região ótima da superfície de resposta. Houve uma tendência crescente na absorvância em relação ao volume de amostra, porém, devido às limitações físicas do tamanho do tubo de extração, não foi possível avaliar volumes maiores. Deste modo, com os resultados obtidos no processo de otimização multivariada as condições ótimas para os fatores VA e pH foram: Volume de amostra de 40 mL e pH 5,5. Assim, após a otimização dos fatores significativos estudados, acrescidos de estudos adicionais de outros fatores e considerando as especificidades químicas e físicas relacionados ao sistema proposto, as melhores condições experimentais foram: VA de 40 mL; pH 5,5; TE de 5 min; Massa adsorvente = 1 mg. Sendo estas as condições utilizadas nos experimentos que sucedem.

5.7 TESTE INICIAL EM SUCO

Os resultados do teste de extração em amostras de suco estão expostos na Tabela 8.

Tabela 8 - Sinais obtidos para extrações em água e suco fortificados com 100 $\mu\text{g L}^{-1}$ de chumbo.

Amostras		Média dos Sinais	DPR%
Água	Branco	0,002	56,57
	Padrão	0,376	22,27
Suco	Branco	0,003	12,55
	Padrão	0,101	5,35

Fonte: Autor.

Para as extrações no suco não foi necessário nenhum pré-tratamento da amostra, como diluição ou filtração por exemplo. Assim como nas extrações em água, o biossorvente foi pipetado diretamente no suco enriquecido com chumbo, seguido da etapa de extração e inserção direta na chama.

Comparando as amostras, a magnitude dos sinais do suco foi cerca de 3 vezes menor do que em água, o que já era esperado por se tratar de uma matriz complexa, em que diversas

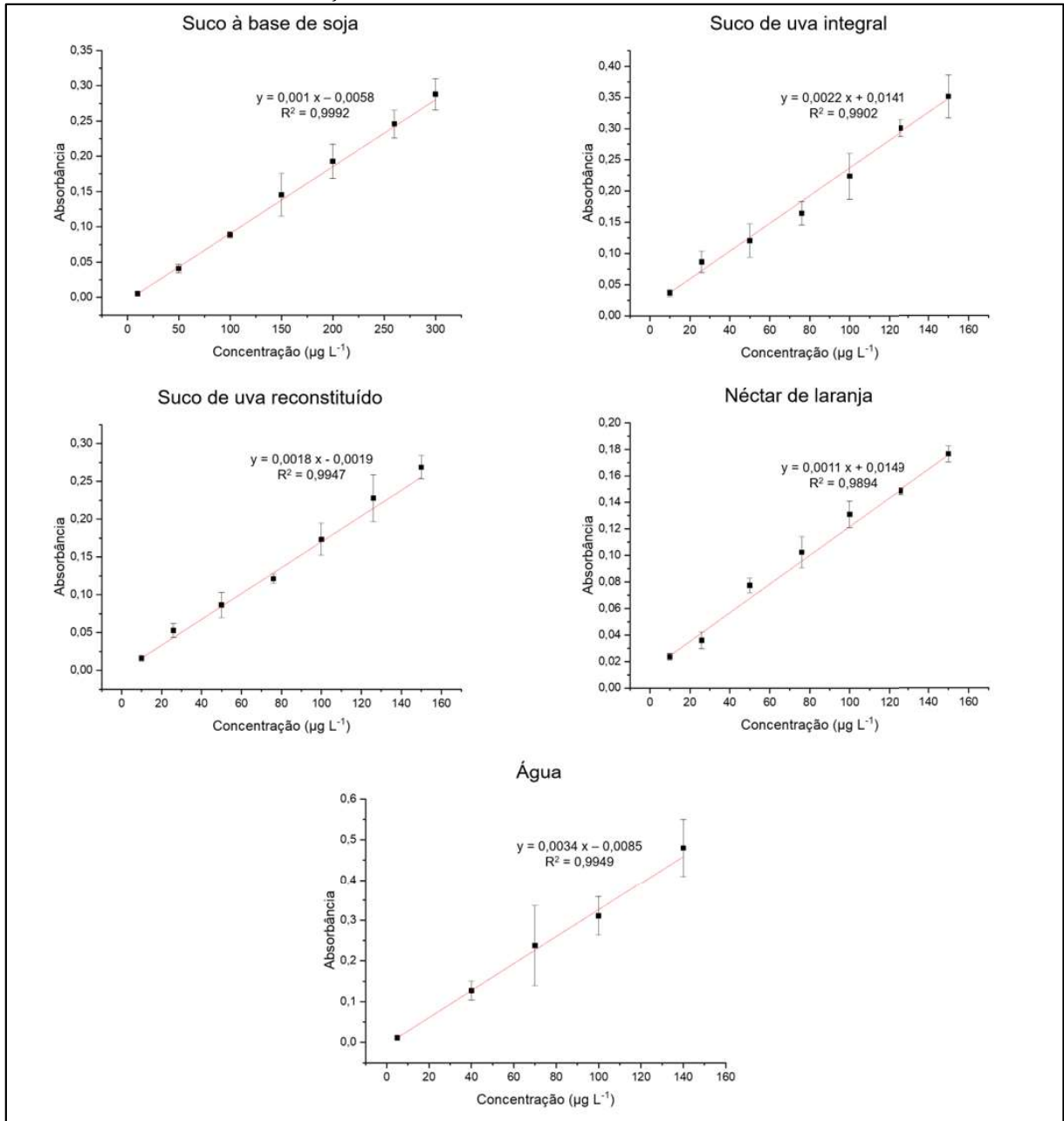
substâncias interferem no processo de adsorção dos analitos. Ainda assim, os sinais foram satisfatórios, o que indica que o método também funciona para esse tipo de amostra e que a detecção e quantificação de chumbo é possível.

5.8 VALIDAÇÃO DO MÉTODO ANALÍTICO

5.8.1 Figuras de mérito

No Gráfico 9 estão representadas as curvas analíticas construídas.

Gráfico 9 - Curvas de calibração em diferentes amostras.



Fonte: Autor.

Todas as curvas apresentaram boa linearidade, com coeficientes de correlação $R^2 \approx 0,99$. Nos experimentos em amostras de suco, a repetibilidade dos sinais foi melhor, resultando em desvios menores quando comparado com os experimentos em água. Isso possibilitou a construção de curvas analíticas com mais pontos, mantendo boa linearidade.

A Tabela 9 apresenta as figuras de mérito que foram determinadas.

Tabela 9 - Figuras de mérito para os experimentos em diferentes amostras.

Parâmetros	Suco à base de soja*	Suco de uva integral	Suco de uva reconstituído	Néctar de laranja	Água**
Ruído	0,0008	0,0020	0,0025	0,0014	0,0010
Sensibilidade	0,0010	0,0022	0,0018	0,0011	0,0034
Faixa Linear ($\mu\text{g L}^{-1}$)	10 - 300	10 - 150	10 - 150	10 - 150	5 - 140
Linearidade	0,9992	0,9902	0,9947	0,9894	0,9949
LD ($\mu\text{g L}^{-1}$)	2,64	3,00	4,58	4,20	0,97
LQ ($\mu\text{g L}^{-1}$)	8,00	9,09	13,89	12,73	2,94
Precisão Intradia (DPR%)	25,0 ^a	11,3 ^d	16,9 ^d	12,2 ^d	19,6 ^g
	20,6 ^b	10,7 ^e	4,9 ^e	11,2 ^e	41,2 ^h
	7,7 ^c	9,6 ^f	5,5 ^f	2,2 ^f	14,6 ⁱ
Exatidão Intradia (ER%)	15,8 ^a	3,2 ^d	0,6 ^d	24,5 ^d	15,6 ^g
	2,8 ^b	8,9 ^e	8,8 ^e	8,4 ^e	3,3 ^h
	1,0 ^c	2,3 ^f	0,3 ^f	0,8 ^f	1,4 ⁱ
Precisão Interdia (DPR%)	16,7 ^a
	8,1 ^b
	12,5 ^c
Exatidão Interdia (ER%)	18,0 ^a
	1,2 ^b
	5,9 ^c
Frequência Analítica Média	4 min/ensaio				

Fonte: Autor.

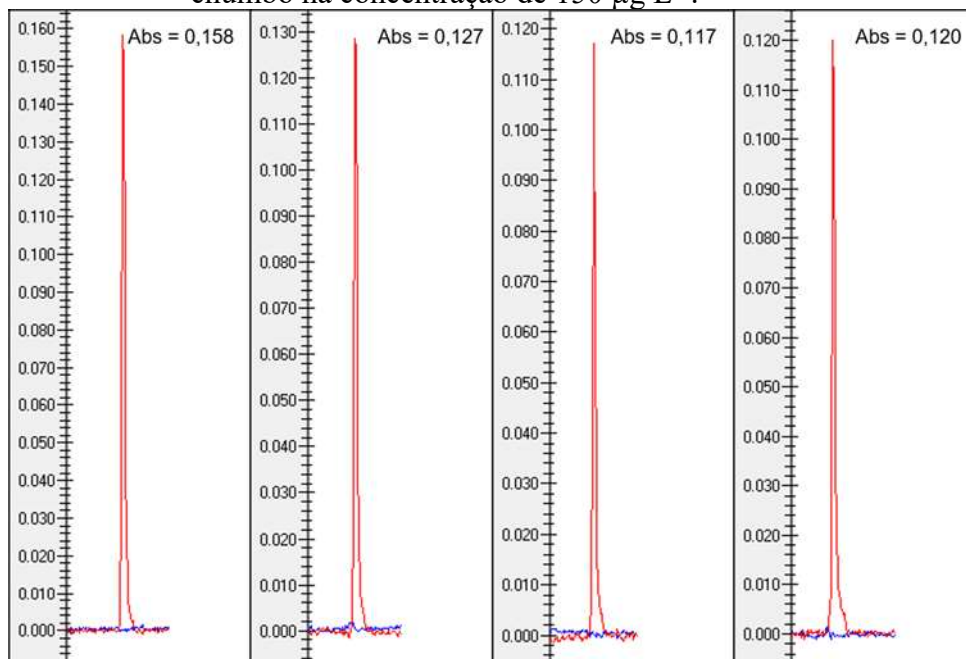
Legenda: * Amostra de maior complexidade. ** Amostra em que foi realizada a otimização. Os estudos de precisão e exatidão foram feitos com padrões de 10^a, 150^b, 300^c $\mu\text{g L}^{-1}$ para a curva no suco à base de soja; padrões de 10^d, 75^e, 150^f $\mu\text{g L}^{-1}$ para as curvas nos sucos de uva integral, reconstituído e néctar de laranja; padrões de 5^g, 70^h e 140ⁱ $\mu\text{g L}^{-1}$ para a curva em água.

Em todas as amostras foi possível obter baixos valores de ruído, boa sensibilidade e linearidade para as curvas analíticas. As faixas de trabalho obtidas foram satisfatórias para a determinação de chumbo em níveis traço, levando em conta um limite máximo tolerado (LMT)

de $50 \mu\text{g L}^{-1}$ desse analito em amostras de suco (AGÊNCIA NACIONAL DE VIGILÂNCIA SANITÁRIA, 2021).

Os experimentos realizados com amostras de suco apresentaram bons valores de precisão e exatidão, mesmo se tratando de amostras mais complexas que a água, por exemplo. O Gráfico 10 apresenta um exemplo das réplicas dos sinais analíticos obtidos na construção da curva de calibração em suco à base de soja. A absorvância média e o desvio padrão relativo foram de 0,131 e 14,41% respectivamente.

Gráfico 10 - Réplicas das leituras de suco a base de soja fortificado com chumbo na concentração de $150 \mu\text{g L}^{-1}$.



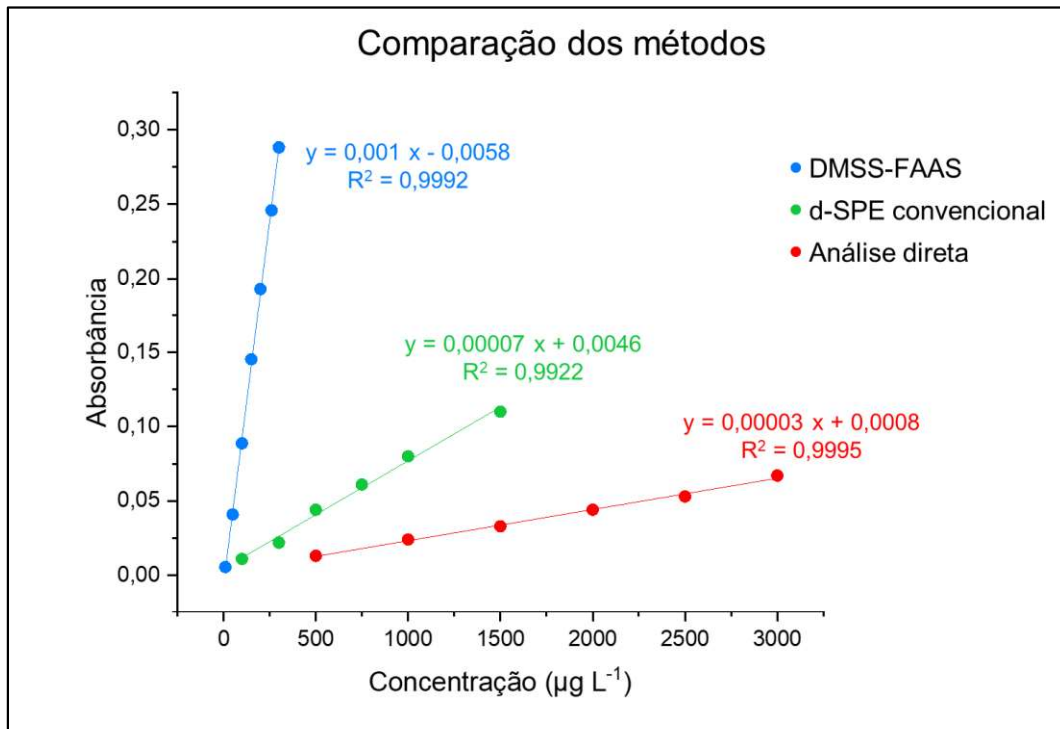
Fonte: Autor.

Legenda: Cada gráfico tem um tempo total de 130 segundos.

5.8.2 Comparação analítica

O Gráfico 11 apresenta as curvas analíticas construídas para fins de comparação.

Gráfico 11 - Curvas analíticas para análise de chumbo pelo método convencional, após d-SPE convencional e análise do eluato por FAAs e por DMSS-FAAS.



Fonte: Autor.

Analisando as inclinações das curvas é evidente que o método por DMSS-FAAS oferece maior sensibilidade, mesmo com análises em baixas concentrações. Comparando com o método por d-SPE convencional, por exemplo, a DMSS-FAAS oferece uma sensibilidade de 14 vezes maior. Além disso, nos experimentos com d-SPE convencional foi utilizada uma massa maior de bio sorvente e ainda assim não ofereceu uma sensibilidade semelhante à inserção direta na chama.

Com a análise direta, o preparo de amostra e a etapa de leitura é mais simples, entretanto, essa técnica é bastante limitada, pois apresenta baixa detectabilidade para chumbo e grandes obstáculos na inserção de amostras líquidas no sistema de nebulização sem um tratamento prévio bem elaborado.

A Tabela 10 apresenta alguns trabalhos encontrados na literatura em que também foram realizadas análises de chumbo em bebidas.

Tabela 10 - Exemplos de trabalhos em que foi feita a detecção de chumbo por diferentes técnicas.

Trabalhos	Tipo de Amostra	Técnica Analítica	Preparo da Amostra	LD (ppb)
(ANASTÁCIO, 2016)	Suco	GFAAS	Digestão assistida por micro-ondas	0,767
(SANTANA <i>et al.</i> , 2021)	Suco e Vinho	FAAS	d-SPE com nanotubos de halosita funcionalizados	12
(DADFARNIA; SHABANI; DEHGHANI, 2006)	Suco e água	FAAS	SPE com ácido esteárico imobilizado	2,9
(LO COCO <i>et al.</i> , 2006)	Suco	SCP	Digestão ácida	4,8
(ALKHATIB; ATAIE, 2020)	Refrigerante	GFAAS	Digestão assistida por micro-ondas	0,43
(OLOYEDE <i>et al.</i> , 2022)	Leite bovino	ICP OES	Digestão assistida por micro-ondas	0,006
Este trabalho	Suco à base de soja	DMSS-FAAS	d-SPE com biossorvente magnético	2,64

Fonte: Autor.

Em comparação com os métodos encontrados para análise de chumbo em bebidas, este trabalho utilizou uma técnica mais simples, do ponto de vista operacional, do que outros trabalhos reportados na literatura. Outra vantagem foi o preparo de amostras, em que se utilizou um sorvente de baixo custo, com uma síntese simples, além da inserção direta na chama, o que resultou em um preparo de amostra mais rápido. Em alguns casos, foram obtidos LDs de chumbo em concentrações mais baixas do que pela inserção direta no FAAS, porém, utilizando técnicas mais sofisticadas ou um preparo de amostras mais complexo. Além disso, este trabalho utilizou um biossorvente simples e sem modificações químicas na sua superfície, mas que já foi satisfatório para os objetivos do trabalho. A utilização de um sorvente magnético mais seletivo, aliado à DMSS-FAAS, tem o potencial de oferecer menores valores de LD se necessário.

6 CONCLUSÃO

O procedimento de síntese adotado foi simples, rápido e de baixo custo, permitindo a obtenção de um compósito com propriedades magnéticas a boa capacidade adsortiva, que são consideradas vantagens para uma aplicação analítica, além do reaproveitamento de biomassa. O método de síntese por co-precipitação promoveu a incorporação das nanopartículas magnéticas na casca, garantindo boa estabilidade para o biossorbente magnético e com uma carga superficial negativa, o que favoreceu a adsorção de chumbo.

A DMSS-FAAS simplificou o processo de preparo de amostras, contribuiu para um processo de atomização mais rápido e proporcionou sinais analíticos de maior amplitude do que outras técnicas convencionais, diminuindo consideravelmente os limites de detecção e quantificação. Por se tratar de uma técnica nova, ainda há limitações na inserção direta na chama, que requerem alguns aprimoramentos a fim de obter uma melhor reprodutibilidade.

O biossorbente magnético apresentou boa capacidade adsortiva tanto em água quanto em suco, mesmo em condições não otimizadas. A implementação desse material na técnica por atomização direta na chama simplificou bastante a determinação de chumbo em uma matriz complexa, sem a necessidade de uma etapa de eluição dos analitos ou algum tratamento prévio das amostras.

De acordo com as curvas analíticas e as figuras de mérito alcançados, esse método é adequado para o monitoramento de chumbo em amostras de suco, pois o LMT estabelecido pela ANVISA para esse analito está acima dos limites de detecção e quantificação atingidos. Trata-se de uma técnica ainda em desenvolvimento, mas se mostrando muito promissora para a determinação de metais tóxicos em amostras complexas.

REFERÊNCIAS

AFOLABI, F. O.; MUSONGE, P.; BAKARE, B. F. Application of the Response Surface Methodology in the Removal of Cu²⁺ and Pb²⁺ from Aqueous Solutions Using Orange Peels. **Scientific African**, [s. l.], v. 13, p. e00931, 2021.

AGÊNCIA NACIONAL DE VIGILÂNCIA SANITÁRIA. **Resolução da Diretoria Colegiada - RDC nº 166, de 24 de Julho de 2017**, 2017.

AGÊNCIA NACIONAL DE VIGILÂNCIA SANITÁRIA. **Instrução Normativa - IN nº 88, de 26 de Março de 2021**, 2021.

AHMED, M.; MASHKOOR, F.; NASAR, A. Development, characterization, and utilization of magnetized orange peel waste as a novel adsorbent for the confiscation of crystal violet dye from aqueous solution. **Groundwater for Sustainable Development**, [s. l.], v. 10, n. May 2019, p. 100322, 2020.

AL-GHOUTI, M. A.; DA'ANA, D. A. **Guidelines for the use and interpretation of adsorption isotherm models: A review**. **Journal of Hazardous Materials**, [s. l.], Elsevier B.V., , 5 jul. 2020.

ALKHATIB, R.; ATAIE, M. Determination of Trace Lead and Cadmium in Canned Soft Drinks in Syria. **Journal of Pharmacy and Bioallied Sciences**, [s. l.], v. 12, n. 3, 2020.

AL-SALEH, I.; ELKHATIB, R. Analysis of phthalates residues in apple juices produced in Saudi Arabia. **Journal of Food Measurement and Characterization**, [s. l.], v. 8, n. 4, p. 373–380, 2014.

ANASTÁCIO, M. V. G. **Determination of Trace Metals in Fruit Juices selected by ASAE using Atomic Absorption Spectroscopy**. Dissertação (Mestrado em Biologia Humana e Ambiente), Universidade de Lisboa, 2016.

ARAÚJO, H.; IRIS, A. **Análise instrumental: uma abordagem prática**. 1. ed. Rio de Janeiro: LTC, 2021.

ASSOCIAÇÃO BRASILEIRA DE SAÚDE COLETIVA. Parte 1 - Agrotóxicos, Segurança Alimentar e Nutricional e Saúde. Em: **Dossiê ABRASCO - Um alerta sobre os impactos dos agrotóxicos na saúde**. Rio de Janeiro: ABRASCO, 2012.

BENJELLOUN, M. *et al.* **Recent Advances in Adsorption Kinetic Models: Their Application to Dye Types**. **Arabian Journal of Chemistry**, [s. l.], Elsevier B.V., 1 abr. 2021.

BEVERIDGE, G. S. G.; SCHECHTER, R. S. **Optimization: theory and practice**. New York: McGraw-Hill Book Company, 1970.

BILAL, M. *et al.* Recent advances in applications of low-cost adsorbents for the removal of heavy metals from water: A critical review. **Separation and Purification Technology**, [s. l.], v. 278, n. July 2021, p. 119510, 2022.

BOX, G. E. P.; HUNTER, W. G.; HUNTER, J. S. **Statistics for Experimenters**. New York: John Wiley & Sons, 1978.

BREITKREITZ, M. C.; DE SOUZA, A. M.; POPPI, R. J. Experimento didático de quimiometria para planejamento de experimentos: Avaliação das condições experimentais na determinação espectrofotométrica de ferro ii com o-fenantrolina. um tutorial, parte iii. **Quimica Nova**, [s. l.], v. 37, n. 3, p. 564–573, 2014.

BULSKA, E.; RUSZCZYŃSKA, A. Analytical techniques for trace element determination. **Physical Sciences Reviews**, [s. l.], v. 2, n. 5, p. 1–14, 2017.

BÜYÜKTIRYAKI, S.; KEÇILI, R.; HUSSAIN, C. M. Functionalized nanomaterials in dispersive solid phase extraction: Advances & prospects. **TrAC - Trends in Analytical Chemistry**, [s. l.], v. 127, p. 115893, 2020.

CAMPOS, E. M. F. DE *et al.* Quantificação de minerais em sucos industrializados. **Arquivos de Ciências da Saúde da UNIPAR**, [s. l.], p. 11–16, 2010.

CARMO, M. C. L. DO; DANTAS, M. I. DE S.; RIBEIRO, S. M. R. Caracterização do mercado consumidor de sucos prontos para o consumo. **Brazilian Journal of Food Technology**, [s. l.], v. 17, n. 4, p. 305–309, 2014.

DADFARNIA, S.; SHABANI, A. M. H.; DEHGHANI, Z. Immobilized stearic acid as a new sorbent for on-line preconcentration and determination of lead by flow injection flame atomic absorption spectrometry. **Journal of the Brazilian Chemical Society**, [s. l.], v. 17, n. 3, p. 548–554, 2006.

DEY, S. *et al.* Characteristic and biosorption capacities of orange peels biosorbents for removal of ammonia and nitrate from contaminated water. **Cleaner Materials**, [s. l.], v. 1, n. April, p. 100001, 2021.

EIRAS, S. D. P.; COSCIONE, A. R.; ANDRADE, J. C. DE. Métodos de Otimização em Química, [s. l.], 2000.

FATHABAD, A. E. *et al.* Determination of heavy metal content of processed fruit products from Tehran's market using ICP- OES: A risk assessment study. **Food and Chemical Toxicology**, [s. l.], v. 115, n. March, p. 436–446, 2018.

FERREIRA, S. L. C. *et al.* Doehlert matrix: A chemometric tool for analytical chemistry - Review. **Talanta**, [s. l.], v. 63, n. 4, p. 1061–1067, 2004.

FIGUEIREDO, E. C.; BORGES, K. B.; QUEIROZ, M. E. C. **Preparo de amostras para análise de compostos orgânicos**. 1. ed. Rio de Janeiro: LTC, 2015.

FIGUEIREDO, E. C. *et al.* **Processos de análise de metais retidos em sorventes magnéticos inseridos diretamente na chama ou dentro de tubos atomizadores sobre a chama do Espectrômetro de Absorção Atômica**. Brasil. Instituto Nacional da Propriedade Intelectual, 16 set. 2021.

GEORGE, R.; SUGUNAN, S. Kinetics of adsorption of lipase onto different mesoporous materials: Evaluation of Avrami model and leaching studies. **Journal of Molecular Catalysis B: Enzymatic**, [s. l.], v. 105, p. 26–32, 2014.

GOLMOHAMMAD, M. *et al.* Synthesis and characterization of bar-like maghemite (γ -Fe₂O₃) as an anode for Li-ion batteries. **Ceramics International**, [s. l.], v. 48, n. 18, p. 27148–27153, 2022.

GUPTA, V. K.; AGARWAL, S.; SALEH, T. A. Chromium removal by combining the magnetic properties of iron oxide with adsorption properties of carbon nanotubes. **Water Research**, [s. l.], v. 45, n. 6, p. 2207–2212, 2011.

GUPTA, V. K.; NAYAK, A. Cadmium removal and recovery from aqueous solutions by novel adsorbents prepared from orange peel and Fe₂O₃ nanoparticles. **Chemical Engineering Journal**, [s. l.], v. 180, p. 81–90, 2012.

HANSEN, F. A.; PEDERSEN-BJERGAARD, S. Emerging Extraction Strategies in Analytical Chemistry. **Analytical Chemistry**, [s. l.], v. 92, n. 1, p. 2–15, 2020.

HERALDY, E. *et al.* Biosorbent from tomato waste and apple juice residue for lead removal. **Journal of Environmental Chemical Engineering**, [s. l.], v. 6, n. 1, p. 1201–1208, 2018.

ISLAS, G. *et al.* Dispersive Solid Phase Extraction for the Analysis of Veterinary Drugs Applied to Food Samples: A Review. **International Journal of Analytical Chemistry**, v. 2017, 2017.

JIANG, X. *et al.* Lead exposure activates the Nrf2/Keap1 pathway, aggravates oxidative stress, and induces reproductive damage in female mice. **Ecotoxicology and Environmental Safety**, [s. l.], v. 207, Ago. 2020, p. 111231, 2021.

KHAN, M. R. *et al.* Bisphenol A leaches from packaging to fruit juice commercially available in markets. **Food Packaging and Shelf Life**, [s. l.], v. 28, p. 100678, 2021.

KHAN, W. A.; ARAIN, M. B.; SOYLAK, M. Nanomaterials-based solid phase extraction and solid phase microextraction for heavy metals food toxicity. **Food and Chemical Toxicology**, [s. l.], v. 145, Jul, p. 111704, 2020.

KLAASSEN, C. D.; WATKINS, J. B. **Fundamentos em toxicologia de Casarett e Doull**. 2. ed. Porto Alegre: AMGH, 2012.

LACHENMEIER, D. W. *et al.* Occurrence of benzene as a heat-induced contaminant of carrot juice for babies in a general survey of beverages. **Food Additives & Contaminants**, [s. l.], v. 25, n. 10, 2008.

LEE, S. *et al.* Microbiological quality and safety of commercial fresh fruit and vegetable juices in Korea. **Lwt**, [s. l.], v. 152, n. May, p. 112432, 2021.

LIANG, S. *et al.* Isotherms, kinetics and thermodynamic studies of adsorption of Cu²⁺ from aqueous solutions by Mg²⁺/K⁺ type orange peel adsorbents. **Journal of Hazardous Materials**, [s. l.], v. 174, n. 1–3, p. 756–762, 2010.

LIN, F. *et al.* Recent progress in heavy metal extraction by supercritical CO₂ fluids. **Industrial and Engineering Chemistry Research**, [s. l.], v. 53, n. 5, p. 1866–1877, 2014.

LO COCO, F. *et al.* Determination of cadmium and lead in fruit juices by stripping chronopotentiometry and comparison of two sample pretreatment procedures. **Food Control**, [s. l.], v. 17, n. 12, p. 966–970, 2006.

LUO, J. *et al.* Review of Advances in Engineering Nanomaterial Adsorbents for Metal Removal and Recovery from Water: Synthesis and Microstructure Impacts. **ACS ES&T Engineering**, [s. l.], v. 1, n. 4, p. 623–661, 2021.

MELLO, P. A. *et al.* Sample preparation methods for subsequent determination of metals and non-metals in crude oil-A review. **Analytica Chimica Acta**, [s. l.], v. 746, p. 15–36, 2012.

MNG'ONG'O, M. *et al.* Toxic metals in East African agro-ecosystems: Key risks for sustainable food production. **Journal of Environmental Management**, [s. l.], v. 294, n. May, p. 112973, 2021.

MOHAMED, F. *et al.* ICP-OES assisted determination of the metal content of some fruit juices from Yemen's market. **Heliyon**, [s. l.], v. 6, n. 9, p. e04908, 2020.

MOZAFFARI MAJD, M. *et al.* **Adsorption isotherm models: A comprehensive and systematic review (2010–2020)**. **Science of the Total Environment**, [s. l.], Elsevier B.V., , 15 mar. 2022.

MUNAWER, M. H.; CHEE, H. L.; KIEW, P. L. Magnetized orange peel: A realistic approach for methylene blue removal. **Materials Today: Proceedings**, [s. l.], v. 47, p. 1287–1294, 2021.

NASCIMENTO, R. F. *et al.* **Adsorção: aspectos teóricos e aplicações ambientais**. 1. ed. Fortaleza: Imprensa Universitária, 2014.

NAVA, I. A. *et al.* Availability of cadmium, lead and chromium toxic heavy metals in soil and soybean leaf tissue fertilized with different sources of NPK+Zn. **Ciencia e Agrotecnologia**, [s. l.], v. 35, n. 5, p. 884–892, 2011.

NETO, B. DE B.; SCARMINIO, I. S.; ROY EDWARD BRUNS. **Planejamento e otimização de experimentos**. 2. ed. Campinas: UNICAMP, 1996.

NEWTRADE. **Mercado de sucos cresce no Brasil e ganha força nos supermercados**. Disponível em: <<https://newtrade.com.br/industria/mercado-de-sucos-cresce-no-brasil-e-ganha-forca-nos-supermercados/>>. Acesso em: 5 nov. 2021.

NOVAES, C. G. *et al.* Optimization of analytical methods using response surface methodology part i: Process variables. **Revista Virtual de Química**, [s. l.], v. 9, n. 3, p. 1184–1215, 2017.

OGA, S.; CAMARGO, M. M. DE A.; BATISTUZZO, J. A. DE O. **Fundamentos de Toxicologia**. 4. ed. São Paulo: Atheneu, 2014.

OLOYEDE, O. O. *et al.* Elemental composition of marketed milk from Nigeria and Brazil using ICP-OES: Health risk assessment study. **Journal of Food Composition and Analysis**, [s. l.], v. 114, p. 104768, dez. 2022.

ORGANIZAÇÃO MUNDIAL DA SAÚDE. **Lead poisoning and health**. Disponível em: <<https://www.who.int/en/news-room/fact-sheets/detail/lead-poisoning-and-health>>. Acesso em: 11 ago. 2021.

PERALES PEREZ, O.; UMETSU, Y.; SASAKI, H. Precipitation and densification of magnetic iron compounds from aqueous solutions at room temperature. **Hydrometallurgy**, [s. l.], v. 50, n. 3, p. 223–242, 1998.

SALEM, M. A. *et al.* Assessment of physiochemical properties and concentration of heavy metals in agricultural soils fertilized with chemical fertilizers. **Heliyon**, [s. l.], v. 6, n. 10, p. e05224, 2020.

SANTANA, A. M. *et al.* Organophosphorus halloysite nanotubes as adsorbent for lead preconcentration in wine and grape juice. **Applied Clay Science**, [s. l.], v. 200, n. August 2020, p. 105912, 2021.

ŚCIGALSKI, P.; KOSOBUCKI, P. Recent Materials Developed for Dispersive Solid Phase Extraction. **Molecules (Basel, Switzerland)**, [s. l.], v. 25, n. 21, p. 1–26, 2020.

SHUKLA, S.; KHAN, R.; DAVEREY, A. Synthesis and characterization of magnetic nanoparticles, and their applications in wastewater treatment: A review. **Environmental Technology & Innovation**, [s. l.], v. 24, p. 101924, 2021.

SILVA, C. R. *et al.* Development and validation of an extraction method using liquid chromatography-tandem mass spectrometry to determine patulin in apple juice. **Food Chemistry**, [s. l.], v. 366, n. February 2021, 2022.

SILVA, M. L. DE S.; VITTI, G. C.; TREVIZAM, A. R. Concentração de metais pesados em grãos de plantas cultivadas em solo com diferentes níveis de contaminação. **Pesquisa Agropecuária Brasileira**, [s. l.], v. 42, n. 4, p. 527–535, 2007.

SKOOG, D. A.; HOLLER, F. J.; NIEMAN, T. A. **Princípios de Análise Instrumental**. 5. ed. Porto Alegre: Bookman, 2002.

TACTA FOOD SCHOOL. **ÓRGÃOS REGULADORES DE ALIMENTOS: QUAL É A FUNÇÃO DE CADA UM**. Disponível em: <<https://tactafood.school/blog/competencias-dos-orgaos-reguladores>>. Acesso em: 3 nov. 2021.

TEÓFILO, R. F.; FERREIRA, M. M. C. QUIMIOMETRIA II: PLANILHAS ELETRÔNICAS PARA CÁLCULOS DE PLANEJAMENTOS EXPERIMENTAIS, UM TUTORIAL Reinaldo F. Teófilo e Márcia M. C. Ferreira*. **Química Nova**, [s. l.], v. 29, n. 2, p. 338–350, 2006.

TOKAY, F.; GÜNAYDIN, R.; BAĞDAT, S. A novel vortex assisted dispersive solid phase extraction of some trace elements in essential oils and fish oil. **Talanta**, [s. l.], v. 230, n. March, 2021.

TVERMOES, B. E. *et al.* Screening level health risk assessment of selected metals in apple juice sold in the United States. **Food and Chemical Toxicology**, [s. l.], v. 71, p. 42–50, 2014.

UOL. **Pra que tanta soja?** Disponível em: <<https://economia.uol.com.br/reportagens-especiais/agronegocio-soja-/#cover>>. Acesso em: 5 nov. 2021.

VALDERRAMA, P.; BRAGA, J. W. B.; POPPI, R. J. Estado da arte de figuras de mérito em calibração multivariada. **Química Nova**, [s. l.], v. 32, n. 5, p. 1278–1287, 2009.

VIANA, J. L. M.; MENEGÁRIO, A. A.; FOSTIER, A. H. Preparation of environmental samples for chemical speciation of metal/metalloids: A review of extraction techniques. **Talanta**, [s. l.], v. 226, n. January, 2021.

VIEIRA, S.; HOFFMANN, R. **Estatística Experimental**. São Paulo: Atlas, 1989.

WANG, J.; GUO, X. **Adsorption kinetic models: Physical meanings, applications, and solving methods**. **Journal of Hazardous Materials**, [s. l.], Elsevier B.V., 15 maio 2020.

YADAV, S. *et al.* Adsorptive potential of modified plant-based adsorbents for sequestration of dyes and heavy metals from wastewater - A review. **Journal of Water Process Engineering**, [s. l.], v. 42, n. May, p. 102148, 2021.

YARADODDI, J. S. *et al.* Bio-based material from fruit waste of orange peel for industrial applications. **Journal of Materials Research and Technology**, [s. l.], 2021.

YIN, S. J.; ZHAO, J.; YANG, F. Q. Recent applications of magnetic solid phase extraction in sample preparation for phytochemical analysis. **Journal of Pharmaceutical and Biomedical Analysis**, [s. l.], v. 192, p. 113675, 2021.

ZHAO, F.-J. *et al.* Toxic Metals and Metalloids: Uptake, Transport, Detoxification, Phytoremediation and Crop Improvement for Safer Food. **Molecular Plant**, [s. l.], 4 out. 2021.