

UNIVERSIDADE FEDERAL DE PELOTAS  
Programa de Pós-Graduação em Química



Dissertação de Mestrado

**Desenvolvimento de método analítico para  
determinação de Cd e Pb em amostras de goma  
xantana por GF AAS**

Alexander Ossanes de Souza

Pelotas, julho de 2014

Alexander Ossanes de Souza

**Desenvolvimento de método analítico para  
determinação de Cd e Pb em amostras de goma  
xantana por GF AAS**

Dissertação apresentada ao Programa de Pós-Graduação em Química da Universidade Federal de Pelotas, como requisito parcial à obtenção do título de Mestre em Química. (Área de concentração: Química Analítica).

**Orientadora:** Profa. Dra. Adriane Medeiros Nunes

**Co-orientadora:** Profa. Dra. Mariana Antunes Vieira

Pelotas, 2014

A banca examinadora, abaixo assinada, aprova a Dissertação de Mestrado intitulada:

**“Desenvolvimento de método analítico para a determinação de Cd e Pb em amostras de goma xantana por GF AAS”**

Elaborada por  
ALEXANDER OSSANES DE SOUZA

**COMISSÃO EXAMINADORA:**

.....  
Profa. Dra. Adriane Medeiros Nunes (Orientadora - UFPel)

.....  
Prof. Dr. Anderson Schwingel Ribeiro - UFPel

.....  
Prof. Dr. Rafael Arromba de Sousa - UFJF

“...Por um bem querer  
Encurto distâncias, não importa as léguas  
Que a sorte renega  
Quem não mete "os peito" e faz acontecer.  
Sou de campo fino, de horizontes largos  
De amor e saudade  
E ando a vontade na pampa do mundo  
Em que me acostumei.  
Dou graças a Deus e sigo meu rumo... bem assim no más!  
Batendo na marca, talareando esporas, refazendo planos  
Só quem tem tutano costeia esta vida na força do braço  
E quando arma o laço por certo não fica matreiro pra trás.  
Se Deus me permite  
Vou alçar a perna... já pedi bolada!  
Nesta pataquada  
Da estampa grongueira, das voltas de peão  
O sorriso franco  
O jeito singelo de fazer amigos  
Pra cada perigo  
Um gesto, um abrigo um aperto de mão.  
De alma lavada, repasso os costumes  
Renovo a esperança  
Sou velho e criança, história curtida  
De terra e fumaça  
O sangue da raça, que ferve nas veias  
Sustenta um sulino  
Que bebe o destino, nas águas correntes  
Do tempo que passa.”  
(Anomar Danúbio Vieira e Marcello Caminha)



Dedico o presente trabalho:

À minha mãe Lorena;

À minha namorada Camila.

Agradeço primeiramente a minha protetora Santa Catarina, por ter atendido minhas preces, me aconselhado e protegido.

Principalmente a minha mãe, pois sem ela não teria chegado até aqui. Por sempre ter confiado e acreditado em mim, por sempre me dar muito amor e carinho, pelo ótimos conselhos e incentivos. Por ter se sacrificado por um sonho meu e dela. Agradecer nesse momento é pouco, dedico minha vida e minhas conquistas a você, te amo muito!

A Camila, minha companheira desde o início do curso de Química Industrial até aqui, que despertou em mim um grande amor, tenho muito a agradecer também, pois foi quem me aturou nos momentos felizes e tristes dessa caminhada. Obrigado pela paciência, companheirismo nos estudos e nas festas, pelo amor, carinho e por sempre acreditar no nosso potencial. Por ter me auxiliado no trabalho, sem ela não estaria hoje aqui!

A minha sogra Fernanda, meus “avos” João e Elecy e minha “tia” Fabiana por sempre acreditarem e pelos incentivos, muito obrigado por tudo e por me acolherem. Ao meu “primo” Christopher por tudo isso e aos momentos de descontração. Minha segunda família.

Ao meu grande amigo Wendel, pelos muitos anos de amizade, conselho e por estar sempre pronto para ajudar. Parceiro dos jogos de futebol, vídeo game e para todas as horas.

A amizade que é cultivada até hoje, Maiéli e Adriana, companheiras de graduação, estudos e descontração. Amigas que sempre levarei para toda vida.

Aos grandes amigos que fiz no mestrado Eliézer, Michele, Marta e Rodrigo, muito obrigado pelas discussões científicas até as festas e churrascos dos confirmados. Ao Eliézer pela orientação em diversos assuntos e pela grande amizade que surgiu nesses dois anos, mateando, estudando, produzindo trabalhos e descobrindo novos gêneros musicais.

Aos colegas do grupo LabMeQui, Camila Oliz, Eliete, Marcelo, Caroline, Meibel, Eliane, Ane, Aline Medina, Aline Almeida, Richard, Ana Clara, Mariana Antunes, Camila Piper, Laura, Emanoelli e Leila pelas trocas de experiências,

pela conversas e convivência. Em especial a minha colega de laboratório e iniciação científica Bruna, pela ajuda no desenvolvimento do trabalho

Ao Programa de Pós-Graduação em Química da Universidade Federal de Pelotas pela oportunidade de um aprendizado maior e o desenvolvimento do trabalho.

A todos os professores de graduação e pós-graduação que contribuíram para minha formação e conhecimento.

Aos meus colegas de mestrado pelo apoio nos estudos.

A minha orientadora Adriane Medeiros Nunes e minha co-orientadora Mariana Antunes Vieira, por ter acreditado em mim, mesmo vindo de uma área de pesquisa diferente, pela oportunidade de aprendizado e ensinamentos.

Ao professor Anderson Schwingel Ribeiro pelos conselhos, orientação, auxílio no desenvolvimento do trabalho e por ter dado oportunidade para meu crescimento profissional, além da confiança prestada durante este período.

Tenho muito a agradecer aos membros da banca examinadora Prof. Dr. Rafael Arromba de Sousa e Prof. Dr. Anderson Schwingel Ribeiro pelas sugestões feitas para o aprimoramento do trabalho.

Ao Conselho Nacional de Pesquisa e Desenvolvimento Tecnológico (CNPq) e a Coordenação de Aperfeiçoamento de Pessoal de Nível Superior (CAPES), pela bolsa concedida e suporte financeiro.

À todos de que certa forma contribuíram para este trabalho o meu muito obrigado.

DE SOUZA, Alexander Ossanes. **Desenvolvimento de método analítico para determinação de Cd e Pb em amostras de goma xantana por GF AAS.** 2014. 66f. Dissertação (Mestrado em Química). Programa de Pós-Graduação em Química, Centro de Ciências Químicas, Farmacêuticas e de Alimentos. Universidade Federal de Pelotas.

Neste trabalho apresenta-se o desenvolvimento de um método para a determinação de Cd e Pb em amostras de goma xantana por espectrometria de absorção atômica em forno de grafite, utilizando  $\text{NH}_4\text{H}_2\text{PO}_4$  como modificador químico. O preparo das amostras foi feito a partir da decomposição ácida utilizando um sistema de refluxo adaptado aos tubos digestores. Com esse sistema foi possível elevar a temperatura do bloco digestor a 220 °C, sem haver perda de ácido e/ou analitos por volatilização. As amostras foram mineralizadas em meio de 5 mL de  $\text{HNO}_3$  por um período de 3 h. Os limites de detecção para Cd e Pb foram de 2,2 e 33,8 ng g<sup>-1</sup>, respectivamente. Os RSDs para ambos analitos foram, em média, menores que 5,0%. Para avaliação da exatidão do método proposto, testes de adição e recuperação de analito foram realizados, obtendo-se resultados na faixa de 84 a 103 % de recuperação. A metodologia desenvolvida foi empregada para a análise de três amostras comerciais de goma xantana, as quais apresentaram concentrações de Pb abaixo do limite de detecção do método. Já para Cd, apenas uma amostra apresentou um valor de concentração acima do limite de quantificação. No entanto, o teor de Cd nesta amostra, ficou abaixo do limite estabelecido pela legislação vigente para xantana como aditivo alimentar.

**Palavras-chave:** Goma xantana, Cd, Pb, Preparo de amostra, GF AAS.

DE SOUZA, Alexander Ossanes. **Development of analytical method for the determination of Cd and Pb in samples of xanthan gum by GF AAS.** 2014. 66f. Thesis (Master degree in Chemistry). Graduate Program in Chemistry. Center for Chemical, Pharmaceutical and Food Science, Federal University of Pelotas.

This work describes the evaluation of a method for determination of Cd and Pb in xanthan gum samples by atomic absorption spectrometry with graphite furnace using  $\text{NH}_4\text{H}_2\text{PO}_4$  as chemical modifier. The sample preparation was performed using a reflux system adapted in the digestion tubes. Samples were digested with 5 mL  $\text{HNO}_3$  for 3 h in a digester block at 220 °C, with no loss of acid and/or analyte by volatilization. The limits of detection for Cd and Pb for the proposed methodology were 2.2 and 33.8 ng g<sup>-1</sup>, respectively. The RSDs for both analytes were, on average, lower than 5.0% and the accuracy of the method was verified by recovery tests and the values were in the range of 84-103% for the analytes. The developed methodology was applied to the analysis of three samples of commercial xanthan gum, which showed Pb concentrations below the limit of detection. As for Cd, only one sample had a concentration value above the limit of quantification. However, the Cd content in this sample was below the limit set by current legislation for xanthan gum as a food additive.

**Keywords:** Xanthan Gum, Cd, Pb, Sample preparation, GF AAS.

## LISTA DE FIGURAS

---

<b>Figura 1</b>	Estrutura unitária da goma xantana.....	6
<b>Figura 2</b>	Depósitos de patentes por empresa entre os anos de 1970 a 2010.....	8
<b>Figura 3</b>	Distribuição de patentes de goma xantana por aplicação.....	8
<b>Figura 4</b>	Custos e volumes anuais relacionados à importação de goma xantana pelo Brasil.....	9
<b>Figura 5</b>	Diferentes opções que podem ser adotadas para a etapa de preparo de amostra.....	12
<b>Figura 6</b>	Desenho esquemático de (A) dedo frio, (B) tubo de digestão e (C) sistema de decomposição com dedo frio.....	16
<b>Figura 7</b>	Sistema de dedo frio utilizado no processo de decomposição ácida. (A) Diagrama esquemático e (B) Foto do sistema de refluxo.....	18
<b>Figura 8</b>	Capacidade analítica de alguns métodos de análise.....	19
<b>Figura 9</b>	Forno de grafite desenvolvido por L'vov.....	21
<b>Figura 10</b>	Desenho esquemático de um forno de grafite.....	21
<b>Figura 11</b>	Curva de pirólise para $0,5 \mu\text{g L}^{-1}$ de Cd em meio aquoso (-■-) e na presença da amostra (-●-) sem adição de modificador químico.....	31
<b>Figura 12</b>	Curva de pirólise para $0,5 \mu\text{g L}^{-1}$ de Cd em meio aquoso (-■-) e na presença da amostra (-●-) com adição de $5 \mu\text{g}$ de $\text{Pd}(\text{NO}_3)_2$ .....	32
<b>Figura 13</b>	Curva de pirólise para $0,5 \mu\text{g L}^{-1}$ de Cd em meio aquoso (-■-) e na presença da amostra (-●-) com adição de $5 \mu\text{g}$ de $\text{Pd}(\text{NO}_3)_2$ + $3 \mu\text{g}$ de $\text{Mg}(\text{NO}_3)_2$ .....	32
<b>Figura 14</b>	Curva de pirólise para $0,5 \mu\text{g L}^{-1}$ de Cd em meio aquoso (-■-) e na presença da amostra (-●-) com adição de $50 \mu\text{g}$ de $\text{NH}_4\text{H}_2\text{PO}_4$ .....	33

<b>Figura 15</b>	Curva de pirólise (aberto) e atomização (sólido) para 1,0 $\mu\text{g L}^{-1}$ de Cd em meio aquoso (-□-) (-▼-) e na presença da amostra (-○-) (-▲-) com a adição de 50 $\mu\text{g NH}_4\text{H}_2\text{PO}_4$ como modificador químico.....	34
<b>Figura 16</b>	Estudo referente a faixa linear para Cd em meio aquoso.....	36
<b>Figura 17</b>	Curva de pirólise (aberto) e atomização (sólido) para 30 $\mu\text{g L}^{-1}$ de Pb em meio aquoso (-□-) (-▼-) e na presença da amostra (-○-) (-▲-) com a adição de 50 $\mu\text{g NH}_4\text{H}_2\text{PO}_4$ como modificador químico.....	37
<b>Figura 18</b>	Estudo referente a faixa linear para Pb em meio aquoso.....	38

## LISTA DE TABELAS

---

<b>Tabela 1</b>	Condições ideais de trabalho do GF AAS a partir do uso das condições STPF.....	23
<b>Tabela 2</b>	Parâmetros instrumentais usados na determinação de Cd e Pb em amostras de goma xantana por GF AAS.....	27
<b>Tabela 3</b>	Programa de Tempo e Temperatura utilizados na determinação de Cd em amostras de goma xantana por GF AAS.....	35
<b>Tabela 4</b>	Programa de tempo e temperatura utilizados na determinação de Pb em amostras de goma xantana por GF AAS.....	38
<b>Tabela 5</b>	Parâmetros de mérito para a determinação de Cd e Pb por GF AAS em amostras de goma xantana.....	39
<b>Tabela 6</b>	Resultados analíticos das adições e recuperações para Cd e Pb em uma amostra comercial.....	41



## LISTA DE ABREVIATURAS

---

<i>a</i>	Coeficiente de Correlação Angular da Curva de Calibração
<b>ANVISA</b>	Agência Nacional de Vigilância Sanitária
<b>ASTM</b>	Sociedade Americana de Testes e Materiais, do inglês <i>American Society for Testing and Materials</i>
<b>EP</b>	Espacenet
<b>F AAS</b>	Espectrometria de Absorção Atômica em Chama, do inglês <i>Flame Atomic Absorption Spectrometry</i>
<b>FDA</b>	Administração de alimentos e medicamentos, do inglês <i>Food and Drug Administration</i>
<b>GF AAS</b>	Espectrometria de Absorção Atômica em Forno de Grafite, do inglês <i>Graphite furnace atomic absorption spectrometry</i>
<b>LD</b>	Limite de Detecção
<b>LQ</b>	Limite de Quantificação
<b>NRRL</b>	Laboratório de Pesquisa da Região Norte, do inglês <i>Northern Regional Research Laboratories</i>
<b>PP</b>	Polipropileno
<b>ppm</b>	Partes por Milhão
<b>ppb</b>	Partes por Bilhão

<b>R<sup>2</sup></b>	Coeficiente de Correlação Linear ao Quadrado
<b>RSD</b>	Desvio Padrão Relativo, do inglês <i>Relative Standard Deviation</i>
<b>S</b>	Sensibilidade
<b>SD</b>	Desvio Padrão, do inglês <i>Standart Deviation</i>
<b>STPF</b>	Forno Plataforma com Temperatura Estabilizada, do inglês <i>Stabilized Temperature Plataform Furnace</i>
$\bar{x}$	Média do Valor

## SUMÁRIO

---

1.	Introdução.....	1
2.	Objetivos.....	4
2.1.	Objetivos gerais.....	4
2.2.	Objetivos específicos.....	4
3.	Revisão da literatura.....	5
3.1.	Goma xantana: Aspectos gerais.....	5
3.2.	Preparo de amostras.....	11
3.2.1.	Sistema Aberto.....	12
3.2.1.1.	Calcinação.....	12
3.2.1.2.	Decomposição via úmida.....	13
3.2.2.	Sistema fechado.....	14
3.2.3.	Sistema de refluxo.....	15
3.3.	Determinação de Cd e Pb.....	19
3.4.	Espectrometria de absorção atômica em forno de grafite.....	20
3.4.1.	Modificadores químicos.....	24
4.	Materiais e métodos.....	27
4.1.	Instrumentação.....	27
4.2.	Reagentes e soluções.....	28
4.3.	Metodologia.....	28
4.3.1.	Preparo das amostras – Decomposição ácida com sistema de refluxo.....	29
5.	Resultados e discussão.....	31
5.1.	Otimização do programa de tempo e temperatura do GF AAS.....	31
5.1.1.	Otimização do programa de tempo e temperatura para Cd.....	31
5.1.2.	Otimização do programa de tempo e temperatura para Pb.....	36
5.2.	Parâmetros de mérito.....	39

5.3.	Resultados analíticos para determinação de Cd e Pb em amostra de goma xantana.....	40
6.	Considerações finais.....	42
7.	Referências Bibliográficas.....	43

A goma xantana é um heteropolissacarídeo que apresenta uma gama de aplicações devido as suas propriedades reológicas e estabilidade em uma ampla faixa de pH e temperatura. Dentre essas aplicações, destaca-se a sua utilização como espessante, dispersante, emulsificante e estabilizante em diversas áreas industriais, tais como: farmacêutica, agrícola, têxteis, petrolífera e, principalmente na indústria de alimentos, como aditivos em iogurtes, pães, bolos, maionese, carne embalada, entre outros produtos, demonstrando assim, que a goma xantana é um produto biotecnológico de grande valor comercial (Garcia-Ochoa et al., 2000; Borges et al., 2007; Luvielmo & Scamparini, 2009; Silva et al., 2009; Menezes et al., 2012).

O meio de cultura para a produção da goma xantana contém uma fonte de carboidrato, geralmente glicose ou sacarose, uma fonte de nitrogênio e sais minerais, tais como K, Fe, Ca, Na e Mg. Esses cátions apresentam-se em diferentes proporções, as quais devem ser controladas, uma vez que podem influenciar diretamente nas propriedades reológicas da goma xantana (Garcia-Ochoa et al., 2000; Klaic et al., 2011).

A inclusão de elementos potencialmente tóxicos pode surgir na etapa de produção, com a utilização de reagentes de baixo grau de pureza, bem como das fontes alternativas de carboidratos, as quais são utilizadas a fim de diminuir o custo de produção. Desta forma, faz parte do controle de qualidade das xantanas a determinação de Pb e outros metais tóxicos, para os quais o limite permitido é de 5 e 20  $\mu\text{g g}^{-1}$ , respectivamente (Burdock, 1996; Committee on food chemicals codex, 1996).

O fator principal para caracterizar a toxicidade de um elemento é sua concentração no organismo, podendo elementos essenciais se tornarem tóxicos em concentrações elevadas. No entanto, elementos como Cd e Pb mesmo em baixas concentrações apresentam características tóxicas para o ser humano, uma vez que esses são capazes de substituir elementos essenciais em macromoléculas e enzimas, assegurando uma alta toxicidade. A grande afinidade com grupamento sulfidrílica pode causar estresse oxidativo e baixa taxa de excreção. Além disso, esses elementos também podem causar distúrbios renais, insuficiência pulmonar, lesões ósseas, hipertensão e ser cancerígeno,

afetando principalmente rim, bexiga, próstata, e endométrio, (Pandey & Mishra, 2012; Choong et al., 2014; Mera, 2014; Varaksin et al., 2014; Yuan et al., 2014).

Para a determinação de elementos metálicos em amostras de goma xantana, a literatura reporta diferentes métodos para o preparo de amostras. A “American Society for Testing and Materials” (ASTM) recomenda o uso de calcinação para decomposição da goma xantana a uma temperatura de 550 °C por um tempo de 5 a 8 h. Entretanto, esse método é ineficiente para determinação de elementos voláteis, uma vez que trata-se de um sistema aberto e que requer o uso de altas temperaturas, havendo assim, perda de analitos por volatilização durante o procedimento experimental. Além disso, trata-se de um método moroso e susceptível a contaminações (ASTM, 1981; Oliveira, 2003).

Para contornar os inconvenientes do forno mufla, Klaic e colaboradores, 2011, propuseram uma decomposição ácida em sistema aberto utilizando uma mistura ácida nitro-perclórica. Segundo os autores esse método de preparo de amostra mostrou-se eficiente para a decomposição de diferentes amostras de goma xantana e a posterior determinação de Na, K, Ca e Mg por espectrometria atômica. Entretanto, a utilização  $\text{HClO}_4$  tem se tornado cada vez mais inviável, devido a alguns inconvenientes, tais como: difícil aquisição, elevado custo e risco ao analista, já que sua reação com compostos orgânicos ou inorgânicos de fácil oxidação pode liberar muita energia tornando a reação explosiva (Mitra, 2003; Oliveira, 2003; Brasil, Relação de produtos controlados).

Para a determinação de elementos voláteis nos mais diversos tipos de matrizes, a literatura tem reportado a utilização da decomposição assistida por radiação microondas, em sistema fechado, que conseqüentemente, elimina o risco de perda dos analitos por volatilização (Mitra, 2003; Oliveira, 2003; Korn et al., 2008; Krug, 2010).

Recentemente, o uso de sistemas de refluxo para decomposição ácida também vem se credenciando como uma alternativa simples e segura no preparo de amostras em sistema aberto e, subsequente determinação de diferentes elementos, inclusive os voláteis. Esses sistemas mostram-se eficiente devido a condensação dos vapores gerados no interior do frasco de decomposição, minimizando assim, possíveis perdas de analito e/ou ácido por volatilização. O sucesso do sistema de refluxo em reter quantitativamente os analitos e evitar perdas por volatilização se deve ao fato da superfície fria do “dedo frio” permitir

a formação de um filme líquido de uma solução absorvedora, rica em vapores de água e ácidos utilizados durante a mineralização das amostras. Dessa forma, por exemplo, quando se utiliza uma quantidade adequada de  $\text{HNO}_3$  no frasco de decomposição e aliada ao emprego de temperatura para o aquecimento do bloco digestor superior a sua temperatura de ebulição, propicia uma formação da solução absorvedora (mistura azeotrópica) na superfície do frasco de refluxo, com elevada força iônica, a qual propicia a retenção dos analitos na forma de nitratos solúveis em água e após condensação e gotejamento, retornam para o meio reacional no tubo digestor (Ferreira et al., 2013; Oreste et al., 2013a).

Para a determinação de metais em diferentes tipos de amostras, a literatura reporta o uso de diversas técnicas analíticas. Dentre estas, a espectrometria de absorção atômica em forno de grafite (GF AAS) destaca-se por sua alta sensibilidade e seletividade para a determinação de Cd e Pb em diferentes tipos de matrizes. Além disso, a GF AAS também torna-se atrativa devido a possibilidade do uso de pequenas quantidades de amostras, o que muitas vezes é um fator limitante para uma análise (Welz & Sperling, 1999; Maranhão et al., 2005; Lemos & Carvalho, 2005; Oreste, et al., 2013b).

### 2.1. Objetivos gerais

Considerando que há poucos relatos na literatura envolvendo a determinação elementar em goma xantana, bem como a importância de conhecer o teor de metais tóxicos nessas amostras, o presente estudo tem por objetivo avaliar o desenvolvimento de um método analítico para a determinação de Cd e Pb por GF AAS, avaliando também, a utilização de um sistema de refluxo adaptado aos tubos digestores para o preparo das amostras.

### 2.2. Objetivos Específicos

- Escolha das temperaturas de pirólise e atomização para o programa de aquecimento do GF AAS, bem como a seleção do modificador químico mais adequado para as análises;
- Aplicar o sistema de refluxo como método de preparo das amostras de goma xantana;
- Verificar a eficiência desse sistema de decomposição para a determinação de elementos voláteis, Cd e Pb;
- Aplicar o método desenvolvido em amostras de goma xantana comercial, garantindo a qualidade destas amostras, bem como sua aplicação nos diversos setores industriais.

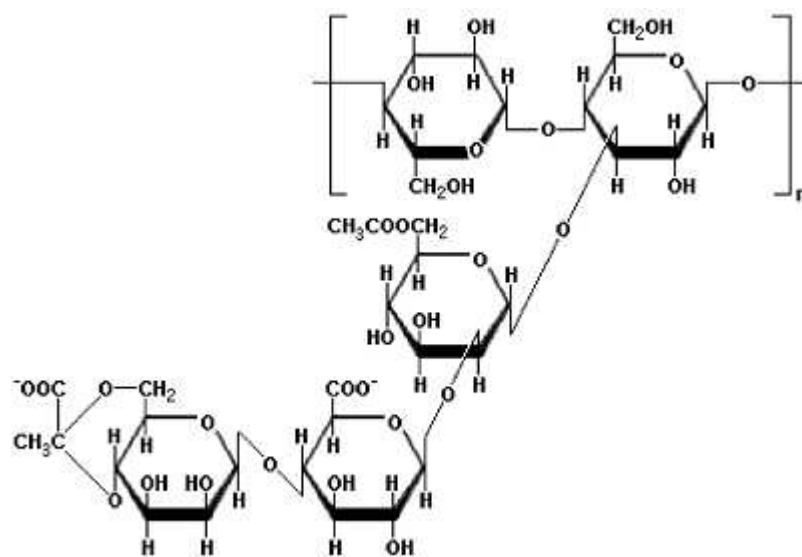


#### 3.1. Goma Xantana: Aspectos Gerais

A goma xantana teve sua descoberta no ano de 1950 pelo Northern Regional Research Laboratories (NRRL) nos Estados Unidos, que tinha como objetivo de pesquisa identificar microorganismos que produzissem gomas de interesse comercial que fossem solúveis em água. Esse polissacarídeo é produzido pela bactéria do gênero *Xanthomonas*, sendo que a bactéria mais utilizada é a *Xanthomonas campestris*, e teve grande destaque devido as suas propriedades (García-Ochoa et al., 2000; Luvielmo & Scamparini, 2009; Menezes et al., 2012).

Nas décadas seguintes as pesquisas foram estendidas por vários laboratórios industriais, tendo uma produção semicomercial em busca de aplicações para esse novo produto, mas somente no ano de 1964 começou a comercialização desse produto. Hoje em dia, as principais empresas produtoras deste biopolímero, Merck e Pfizer, encontram-se nos Estados Unidos, demonstrando assim, que a goma xantana é um produto biotecnológico de grande valor comercial, pois é facilmente obtido a partir da fermentação de bactérias (García-Ochoa et al., 2000; Schmidell et al., 2001; Borges et al., 2007; Luvielmo & Scamparini, 2009; Menezes et al., 2012).

A goma xantana é um heteropolissacarídeo constituído com uma estrutura primária de repetidas unidades de pentassacarídeos formados por duas unidades de glicose, duas unidades de manose e uma unidade de ácido glicorônico. Sua cadeia principal é formada por monômeros de glicose unidos por ligações glicosídicas  $\beta$ -(1,4), as quais são substituídas alternativamente, por uma ramificação de  $\alpha$ -manose, ácido  $\beta$ -glucurônico e  $\beta$ -manose, conforme mostrado na Figura 1 (García-Ochoa et al., 2000; Luvielmo & Scamparini, 2009).



**Figura 1:** Estrutura unitária da goma xantana. Adaptado de Nery e colaboradores, 2008.

A goma xantana foi aprovada pela Food and Drug Administration (FDA), em 1969, para o uso em alimento como aditivo, sem quaisquer limitações de quantidade específicas, bem como no uso em fármacos, já que não apresenta toxicidade, não inibe o crescimento, não é sensibilizante, não irrita os olhos e a pele (García-Ochoa et al., 2000; Schmidell et al., 2001; Luviélmo & Scamparini, 2009).

Devido as suas propriedades reológicas, estabilidade em ampla faixa de pH e temperatura, além de ser compatível com diversos produtos, a goma xantana apresenta diversas aplicações industriais, podendo ser utilizada como estabilizante de emulsões e suspensões, estabilizante de temperatura, agente espessante, dentre outras. Assim, possui aplicações em formulações farmacêuticas, cosméticos, produtos agrícolas, impressão de têxteis, pastas, esmaltes cerâmicos, formulações de explosivos, removedores de ferrugem e principalmente, como aditivo nos mais diversos tipos de alimentos, como iogurtes, pães, bolos, maionese, carne embalada, entre outros produtos. Devido a sua alta viscosidade pode ser utilizada na indústria do petróleo em fluidos de perfuração (García-Ochoa et al. 2000; Borges et al. 2007; Silva et al, 2009; Luviélmo & Scamparini, 2009; Menezes et al., 2012).

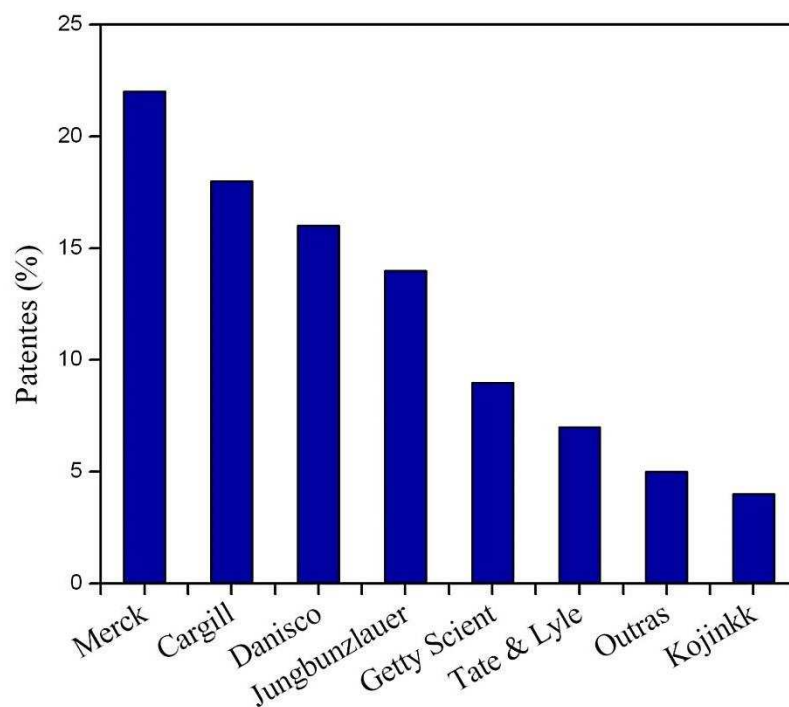
A produção da goma xantana começa com a escolha dos microorganismos e seu armazenamento em longo prazo, garantido desta forma, que não haja uma grande variação do produto final. Uma pequena quantidade

dessa cultura é preservada e tem seu crescimento em meio líquido ou sólido para obter-se o inóculo que irá para o biorreator. A quantidade de inóculo varia de reator para reator, e seu crescimento e a produção de goma xantana são afetados pelo tipo de biorreator, produção (batelada ou contínua), nutrientes (micronutrientes: K, Fe, Na, Mg e Ca; e macronutrientes: carbono, nitrogênio, glicose e sacarose) e as condições de cultura (temperatura, pH, concentração de oxigênio dissolvido) (García-Ochoa et al., 2000; Luviélmo & Scamparini, 2009; Silva et al., 2009; Klaic et al., 2011).

Ao fim do processo de fermentação, as células são removidas do produto por filtração ou centrifugação. A purificação pode incluir uma etapa de precipitação utilizando etanol, adição de sais e ajuste de pH. A FDA recomenda a utilização de isopropano para a precipitação, com posterior evaporação do solvente, já que pode causar irritação na pele e nos olhos, sendo também nocivo se inalado. Logo após a purificação o produto é desidratado, seco e moído para ser comercializado (García-Ochoa et al., 2000; Luviélmo & Scamparini, 2009; Silva et al., 2009; Ficha informativa relativa à segurança, 2011).

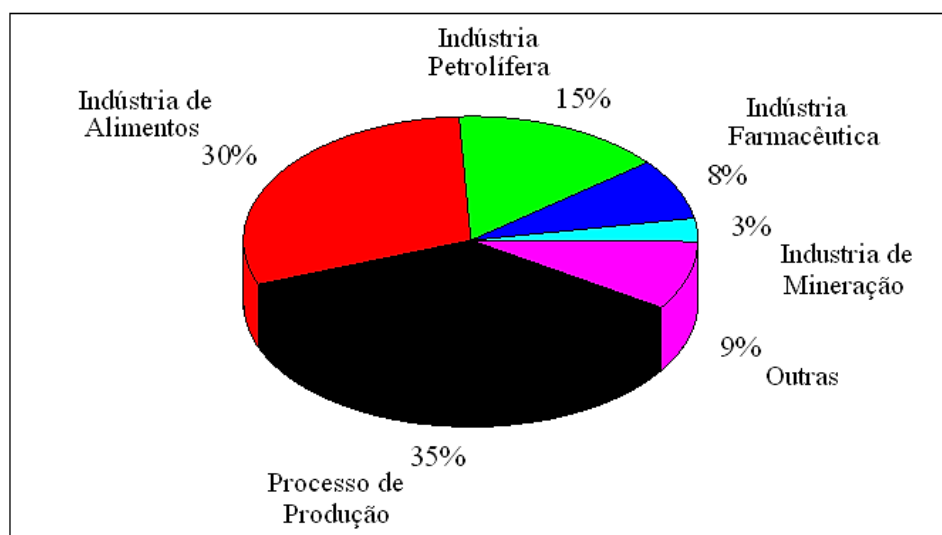
Com base nas inúmeras aplicabilidades da goma xantana e os diversos produtos que ela pode ser aplicada, estudos referentes as cepas, modo de incubação, produção, purificação e melhorias na reologia deste biopolímero têm crescido. Uma pesquisa feita em 2012, demonstrou que o número de patentes encontradas na base de dados Europeia, Espacenet (EP), a qual abrange mais de 80 países, apresentou 3.813 patentes depositadas utilizando a palavra-chave “xanthan gum”, 827 patentes utilizando palavra-chave “*Xanthomonas*” (Machado et al., 2012).

As empresas Merck e Cargill, dos Estados Unidos, possuem 22 e 18%, respectivamente das patentes depositadas, a Danisco da Dinamarca apresenta-se com um percentual de 16% e a Jungbunzlauer da Áustria, com 14%, são as indústrias que detêm as maiores parcelas de patentes depositadas, conforme pode ser melhor visualizado na Figura 2.



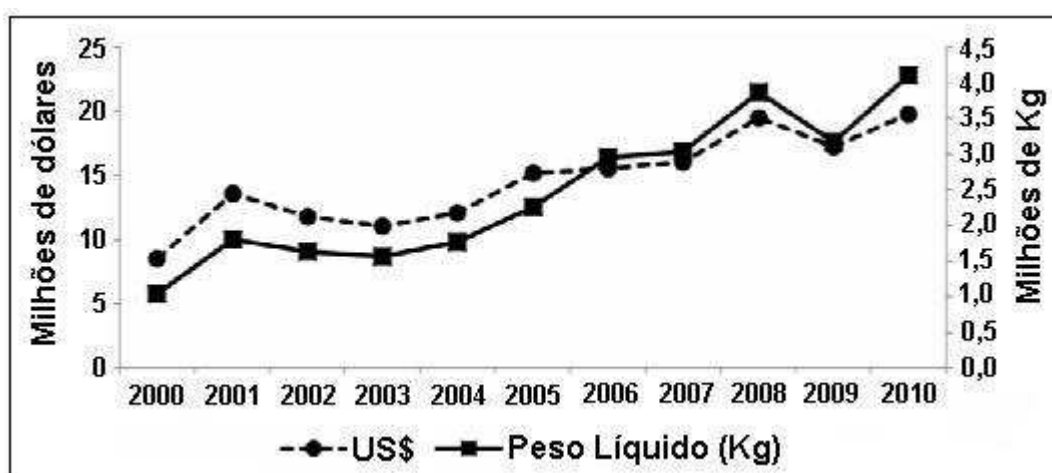
**Figura 2:** Depósitos de patentes por empresa entre os anos de 1970 a 2010. Adaptado de Machado e colaboradores, 2012.

A relação de depósitos relacionados com a finalidade de aplicação da goma xantana é apresentada na Figura 3, sendo que principal enfoque é dado para os processos de produção e seu uso em produtos alimentícios (Machado et al., 2012).



**Figura 3:** Distribuição de patentes de goma xantana por aplicação. Adaptado de Machado e colaboradores, 2012.

No ano de 2007 foram produzidos 30 mil toneladas de goma xantana, sendo que o Brasil consumiu mais de 2 mil toneladas. Dados disponíveis em 2010, segundo o sistema de análise das informações do comércio exterior, demonstraram que o Brasil gastou 15 milhões de dólares para importar 2200 toneladas de goma xantana no ano de 2005, aumentando esse gasto para 20 milhões de dólares em 2010, representando uma taxa de crescimento médio de 12% entre estes anos (Figura 4), e já se estima que os gastos sejam de 26 milhões de dólares para o ano de 2015, o que será correspondente a importação de 7200 toneladas de goma xantana (Bastos, 2007; Menezes et al., 2012).



**Figura 4:** Custos e volumes anuais relacionados à importação de goma xantana pelo Brasil. Adaptado de Menezes e colaboradores, 2012.

Cabe salientar que o Brasil tem matéria prima disponível para a produção da goma xantana no país, como açúcar, extrato da bactéria e álcool, além da glicerina, subproduto do biodiesel, que é considerada uma matéria prima alternativa. Dessa forma, o Brasil possui capacidade de competir com países que detêm essa tecnologia, diminuindo assim, os gastos com importação (Menezes et al., 2012).

A adsorção de elementos potencialmente tóxicos na goma xantana pode surgir na etapa de produção, através da utilização de reagentes de baixo grau de pureza, uma vez que o meio de cultura contém uma fonte de carboidrato, geralmente glicose ou sacarose, uma fonte de nitrogênio e sais minerais. As possíveis fontes de contaminação podem ser provenientes das fontes

alternativas de carboidratos, as quais são utilizadas a fim de diminuir os custos de produção. Dentre essas fontes pode-se citar o caldo de cana (Faria, 2009), soro de queijo (Mesomo, 2007), casca de soja (Varela, 2008), entre outros. Caso esses reagentes não sejam analisados para verificar se há ou não elementos tóxicos o produto final pode ficar comprometido.

Uma vez que estudos vêm evidenciando capacidade adsorvente da goma xantana, tanto para compostos orgânicos, como para elementos metálicos, a utilização de reagentes de elevado grau pureza para a produção deste biopolímero, se faz cada vez mais necessária (Pandey & Mishra, 2012; Zhang et al., 2013).

Recentemente, Zhang e colaboradores, 2013, realizaram um estudo que utiliza a combinação da goma xantana e pérolas de alginato para remoção de chumbo. De acordo com os autores, este adsorvente mostrou-se promissor, já que bons valores de recuperação foram apresentados. Assim, estudos em escala piloto e industrial devem ser realizados.

Pandey & Mishra, 2012, relatam que a goma xantana é um bom adsorvente para Pb, porém se houver algumas modificações em seus grupamentos a capacidade de adsorção pode ser até quatro vezes maior, apresentando bons resultados de recuperação.

Outro estudo é relatado na literatura com emprego de microorganismos, como fungos e bactérias, para adsorção de metais tóxicos. De acordo com os autores, os resultados de recuperação para Cd, após uma etapa de otimização das condições de trabalho, foram ótimos. Tornando o processo econômico e sustentável para remediação ambiental (Manasi et al., 2013).

Assim, como os microorganismos possuem capacidade adsorvente, é de grande importância a utilização de reagentes de alta pureza para que não haja incorporação de elementos tóxicos no produto final, além desse inconveniente, como o produto final também é um bom adsorvente, quanto mais tempo ele permanecer em solução, a quantidade adsorvida também pode ser elevada (Pandey & Mishra, 2012; Manasi et al., 2013; Zhang et al., 2013).

A Agência Nacional de Vigilância Sanitária (ANVISA) classifica a goma xantana como espessante, emulsificante, estabilizante e espumante, e o limite máximo a ser utilizado são de 1,0 g/100g ou 100 mL (Brasil, 2010). Sua utilização é permitida como diluente e veículo, ou seja, pode ser utilizada para manter a

uniformidade e a diluição necessária nos produtos alimentícios. Utilizados para encapsular os aromatizantes com a finalidade de protegê-los da evaporação e de possíveis alterações durante seu armazenamento (Brasil, 2007).

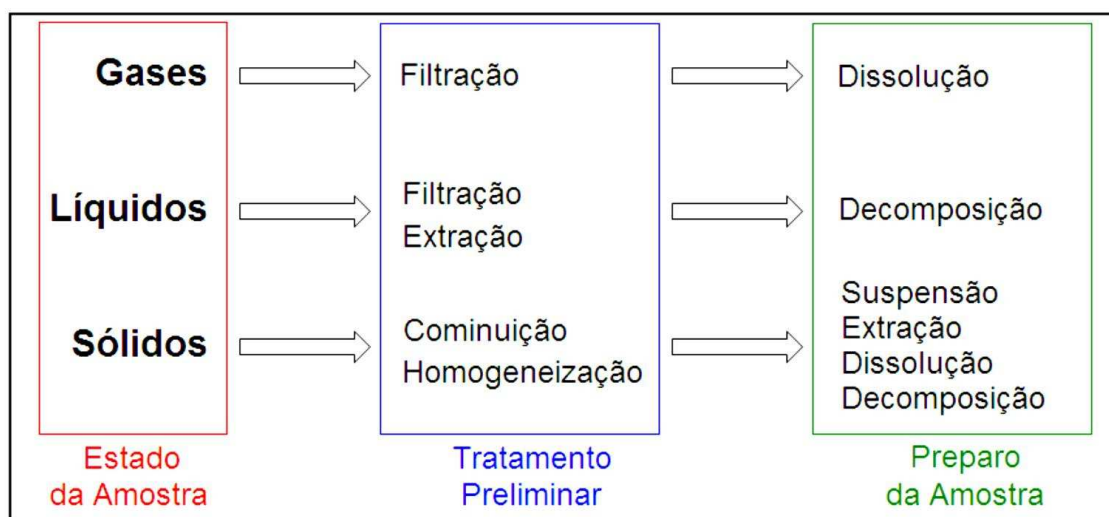
Faz parte do controle de qualidade das xantanas a determinação de Pb e outros elementos potencialmente tóxicos, para os quais aceita-se respectivamente, 5 e 20  $\mu\text{g g}^{-1}$  (Burdock, 1996; Committee on Food Chemicals Codex, 1996).

### **3.2. Preparo de amostras**

A etapa de preparo da amostra é uma das etapas mais crítica da sequência analítica, pois nessa etapa é escolhida a forma com que a matriz será separada totalmente ou parcialmente do analito, de acordo com o método de determinação a ser empregado. Para demonstrar a importância desta etapa, estima-se que 61% do tempo gasto da sequência analítica é nessa etapa, além dela estar associada a 30% dos erros de uma análise (Oliveira, 2003; Korn et al. 2008; Krug, 2010).

Os erros relacionados à etapa de preparo das amostras podem estar associados a perdas dos analitos por volatilização (elementos ou compostos voláteis) ou adsorção, dissolução incompleta da amostra e contaminação, que pode advir de diversas fontes (principalmente pelos reagentes e materiais descontaminados de forma inadequada) (Mitra, 2003; Oliveira, 2003; Korn et al. 2008; Krug, 2010).

Assim, cada vez mais a química analítica busca adequar os métodos que vem sendo desenvolvidos aos conceitos da química verde ou química limpa, diminuindo o máximo possível a quantidade de reagentes, tempo de reação, reações mais eficientes e diminuição da geração de resíduos. Conforme apresentado na Figura 5, a química analítica reporta na literatura diferentes opções que possibilitam adequar o tipo de amostra com o método desejado, fazendo com que etapas desnecessárias possam ser excluídas (Lenardão et al., 2003).



**Figura 5:** Diferentes opções que podem ser adotadas para a etapa de preparo de amostra. Adaptado de Oreste, 2013c.

No entanto, para um preparo de amostra eficiente deve-se conhecer o analito que se quer determinar, os parâmetros de mérito instrumental, quantidade de amostra disponível, tipo de matriz, além de outros parâmetros importantes para verificar se há realmente possibilidade de realizar as determinações com o preparo da amostra disponível na literatura. Contudo, se a literatura não reportar métodos de preparo de amostra compatíveis com o analito ou com o método de determinação, deve-se buscar o desenvolvimento de métodos que consigam suprir estas necessidades, mas que garantam a exatidão e a precisão requerida para a análise (Mitra, 2003; Oliveira, 2003; Korn et al. 2008; Krug, 2010).

### 3.2.1. Sistema Aberto

#### 3.2.1.1. Calcinação

As maiores das técnicas instrumentais de análise necessitam que todos os tipos de amostras estejam na forma líquida para que possa ser introduzida no equipamento, assim a decomposição utilizando forno mufla apresenta-se de forma eficiente, já que amostras de difícil dissolução são completamente mineralizadas a partir deste método. No entanto, este método é ineficiente para determinação de elementos voláteis, devido ao sistema ser aberto havendo perdas do analito. Além disso, o método também é propenso a contaminação, o



que pode ocorrer através das paredes do forno mufla ou da porosidade do cadinho de porcelana, que se não estiver devidamente descontaminado irá interferir nos resultados (Oliveira, 2003; Korn et al. 2008; Krug, 2010).

A ASTM recomenda o uso de calcinação para decomposição das amostras de xantana a uma temperatura de 550 °C por um tempo de 5 a 8 h. Entretanto, a determinação de elementos voláteis como Cd e Pb ficaria comprometida, já que a uma temperatura de 500 °C o Cd tem uma perda de 6 a 20% e o Pb tem uma perda de mais de 20% (ASTM, 1981).

### **3.2.1.2. Decomposição via úmida**

Como o forno mufla apresenta algumas desvantagens que podem ser cruciais para a quantificação de alguns elementos, as técnicas mais utilizadas para decomposição de amostras biológicas, fármacos, ambientais entre outras, é a decomposição por via úmida, a qual emprega diferentes tipos de energia (térmica ou radiante) para o aquecimento. Os principais reagentes utilizados são ácidos ou mistura de ácidos ( $\text{HNO}_3$ ,  $\text{H}_2\text{SO}_4$ ,  $\text{HCl}$ , entre outros) e outros reagentes oxidantes como  $\text{H}_2\text{O}_2$ , que são adicionados afim de melhorar a decomposição da matéria orgânica em  $\text{CO}_2$  e  $\text{H}_2\text{O}$ , liberando os analitos na solução (Mitra, 2003; Oliveira, 2003; Korn et al. 2008; Krug, 2010).

O processo de decomposição por via úmida, normalmente se procede através da utilização de sistemas abertos sob aquecimento, podendo ser utilizado como fonte de aquecimento térmico, bloco digestor, chapa de aquecimento, entre outros sistemas. Entretanto, a utilização desta instrumentação para determinação de elementos voláteis, como Cd e Pb não é adequada, pois trata-se de um sistema aberto que trabalha em condições de temperaturas elevadas, havendo assim perdas de analito (Mitra, 2003; Oliveira, 2003; Korn et al. 2008; Krug, 2010; Ferreira et al., 2013).

Além disso, se a temperatura utilizada no processo de decomposição for superior ao ponto de ebulição dos reagentes, pode também, haver a secura do sistema, e uma reposição contínua de reagente deve ser feita. Um dos ácidos com menor temperatura de ebulição é o  $\text{HCl}$ , 109 °C e o que possui maior temperatura de ebulição é o  $\text{H}_2\text{SO}_4$ , 339 °C. Assim, o ponto de ebulição, neste caso, é um fator limitante do método, já que o uso de temperaturas amenas

prolonga o tempo de decomposição (Mitra, 2003; Oliveira, 2003; Korn et al. 2008; Krug, 2010; Ferreira et al., 2013).

Com objetivo de contornar os inconvenientes relacionados ao forno mufla, Klaic e colaboradores, 2011, propuseram a mineralização da goma xantana através de uma decomposição ácida em sistema aberto utilizando uma mistura ácida nitro-perclórica. De acordo com os autores, o método proposto mostrou-se eficiente para a decomposição de diferentes amostras de goma xantana e, subsequente determinação de Na, K, Ca e Mg por técnica de espectrometria atômica. No entanto, o uso do  $\text{HClO}_4$  tem se tornado cada vez mais inviável, já que trata-se de um reagente de alto custo, com compra restrita e controlada pelas forças armadas. Além disso, devido ao seu caráter altamente reativo, o manuseio deste reagente pode oferecer risco ao analista, já que sua reação com compostos orgânicos ou inorgânicos de fácil oxidação pode liberar muita energia tornando a reação explosiva (Mitra, 2003; Oliveira, 2003; Krug, 2010; Brasil, relação de produtos controlados).

### **3.2.2. Sistema fechado**

Para contornar os inconvenientes relacionados com os sistemas abertos de decomposição, o uso de sistemas fechados tem sido uma alternativa para determinação de elementos voláteis, eliminar a perda de ácidos e aumentar a eficiência de decomposição das amostras.

Os primeiros sistemas fechados desenvolvidos foram: método de Carius, no qual o sistema consistia em um tubo de vidro recoberto por um tubo de proteção de aço; frascos de alta pressão que consiste em frascos de teflon. A grande desvantagem desses sistemas é a possibilidade de explosão dos frascos durante o processo de decomposição e/ou risco de projeções em direção ao analista no momento de abertura do sistema. A literatura tem reportado a utilização de decomposição assistida por radiação micro-ondas, pois é um sistema com uma maior segurança, envolvendo o uso de vasos reacionais, utilização de frascos de quartzo que diminuem contaminações, possibilidade de pressurização com  $\text{O}_2$ , menor tempo de reação, entre outros. Entretanto esse equipamento tem um custo elevado, o que restringe a aquisição desse

instrumento (Mitra, 2003; Oliveira, 2003; Korn et al. 2008; Krug, 2010; Dantas et al., 2013; Ferreira et al., 2013, Picoloto et al. 2013).

### **3.2.3. Sistema de refluxo**

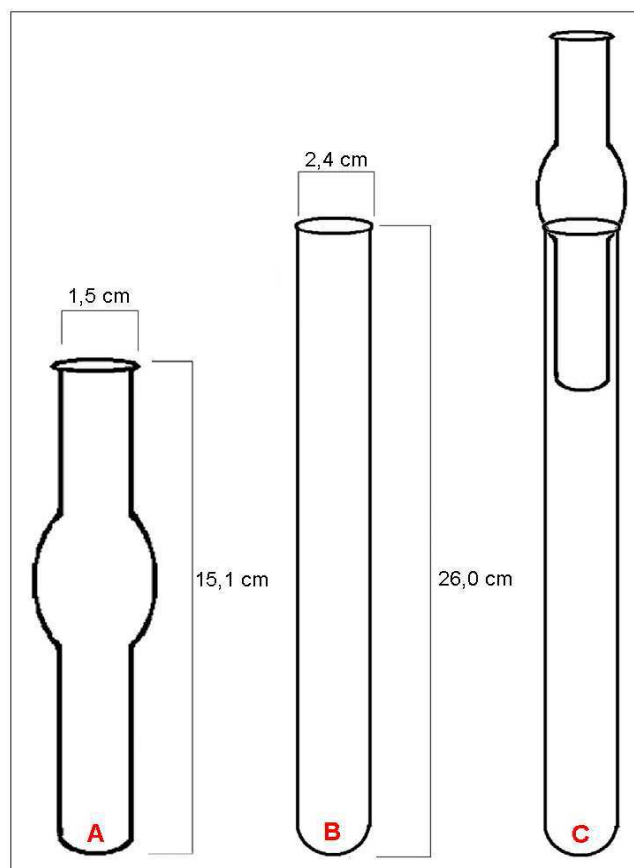
Devido às desvantagens dos sistemas abertos e, os custos referentes aos sistemas fechados, tem-se buscado o desenvolvimento de novos meios de preparo de amostra, mas que mantenham a eficiência dos sistemas que existem na literatura, como por exemplo, eficiência na decomposição, menor tempo, minimizar perda de elementos voláteis, entre outras.

No ano de 2012, Ferreira e colaboradores, publicaram uma revisão com um novo sistema para o preparo de amostras em bloco digestor convencional e a posterior determinação de elementos voláteis.

Os primeiros sistemas utilizados baseiam-se na utilização de condensadores adaptados a balões de reação, os quais possibilitam o refluxo durante a etapa de aquecimento. Delft e colaboradores utilizaram esse sistema e fizeram sua comparação com o forno de microondas para determinação de alguns elementos, como Cd e Pb. Segundo os autores, foi possível encontrar bons resultados na comparação entre os dois métodos de preparo.

Saraswati e colaboradores, em 1994 e 1995a b, também empregaram esse sistema e, através de seus estudos puderam observar sua eficiência para determinação de voláteis, obtendo bons resultados para a determinação de As e Hg em diferentes amostras.

Ferreira e colaboradores, em 2013, apresentam o desenho esquemático do sistema de refluxo utilizado por eles, Figura 6, chamado de dedo frio, sendo que até então não havia sido demonstrado na literatura como eram utilizados os condensadores. Os autores relatam que estudos utilizando esse sistema para a análise elementar, incluindo analitos voláteis, apresentaram recuperações em torno de 84 e 110%.



**Figura 6:** Desenho esquemático de (A) dedo frio, (B) tubo de digestão e (C) sistema de decomposição com dedo frio. Adaptado de Ferreira et al, 2013.

A aplicabilidade do sistema desenvolvido por Ferreira e colaboradores, também vêm sendo demonstrada em vários trabalhos, onde foi utilizado para a decomposição de diversos tipos de matrizes, como vegetais, gasolina, arroz, vinagre, entre outros trabalhos disponíveis na literatura (Jesus et al., 2011; Silva et al., 2013; Junior et al., 2014).

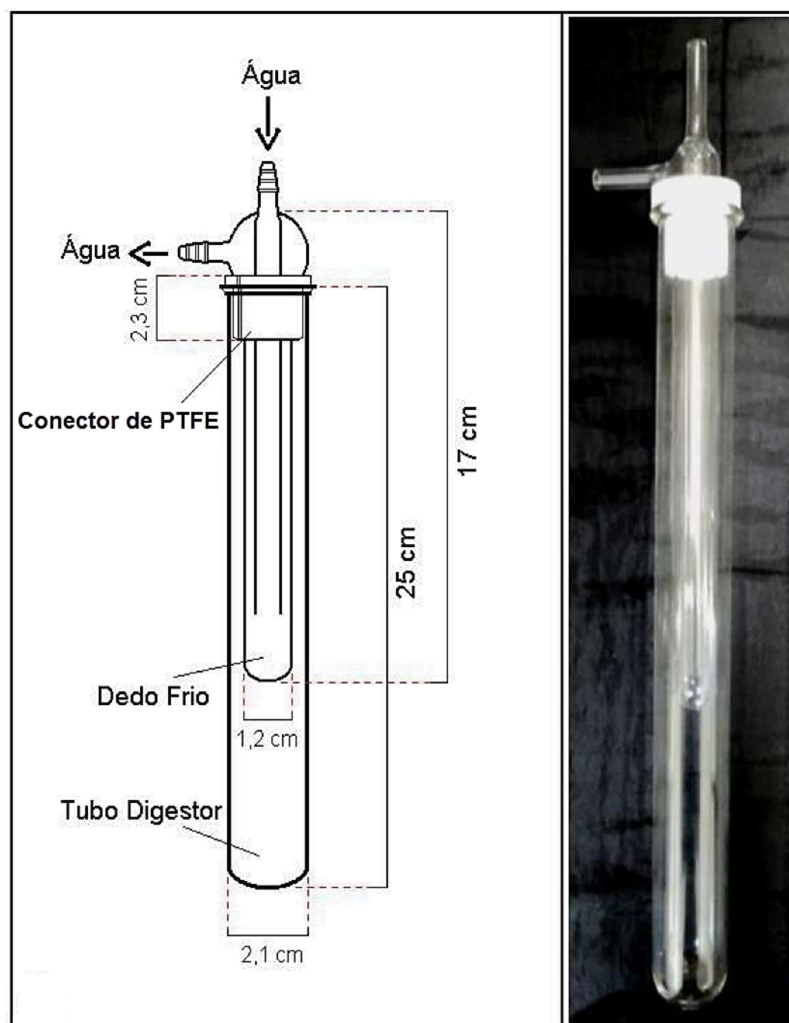
Recentemente, Oreste e colaboradores, 2013a, fizeram o aprimoramento do sistema de dedo frio (Figura 6) que, consiste em um recipiente comprido e circular com uma extremidade fechada e a outra aberta, a qual serve para adicionar e retirar água, sendo este encaixado no tubo de digestão. Assim, reagentes e analitos entram em contato com essa superfície fria e condensam, voltando para a solução.

O sucesso do sistema de refluxo em reter quantitativamente os analitos e evitar perdas por volatilização se deve ao fato da superfície fria do “dedo frio” permitir a formação de um filme líquido de uma solução absorvedora, rica em

vapores de água e ácidos utilizados durante a mineralização das amostras. Dessa forma, por exemplo, quando se utiliza uma quantidade adequada de  $\text{HNO}_3$  no frasco de decomposição e aliada ao emprego de temperatura para o aquecimento do bloco digestor superior a sua temperatura de ebulição, propicia uma formação da solução absorvedora (mistura azeotrópica) na superfície do frasco de refluxo, com elevada força iônica, o qual propicia a retenção dos analitos na forma de nitratos solúveis em água e após condensação e gotejamento, retornam para o meio reacional no tubo digestor.

No sistema desenvolvido por Oreste e colaboradores, 2013a, a água é continuamente circulada pelo sistema. A utilização de um banho termostaticado ligado a este, mantém constante a temperatura da água durante o processo de decomposição.

A recirculação de água aumenta a eficiência de refluxo, já que no sistema de dedo frio descrito anteriormente, a água fica parada no recipiente que está em contato com o tubo de digestão, dessa forma, o tubo acaba aquecendo, o que diminui a eficiência do sistema ao longo do seu funcionamento.



**Figura 7:** Sistema de dedo frio utilizado no processo de decomposição ácida. (A) Diagrama esquemático e (B) Foto do sistema de refluxo.

Um dos primeiro trabalhos publicados com esse novo modelo de sistema de refluxo, foi na determinação de Hg em amostras biológicas, onde os autores obtiveram bons resultados de recuperação desse analito. Através deste estudo, os autores puderam avaliar a capacidades de condensação do sistema, já que o Hg é o elemento mais volátil dentre todos os outros (Oreste et al., 2013a).

Em outro trabalho desenvolvido pelo mesmo grupo de pesquisa, o sistema também se mostrou a adequado para análise de voláteis em amostras de carne apresentando bons resultados de recuperação e concordância entre os valores do material de referência certificada para Cd, Pb e Sn, comprovando a eficiência do sistema de refluxo (Oreste et al., 2013b).

Como o método proposto pela ASTM para decomposição da goma xantana e o método de decomposição ácida proposto por Klaic e colaboradores,

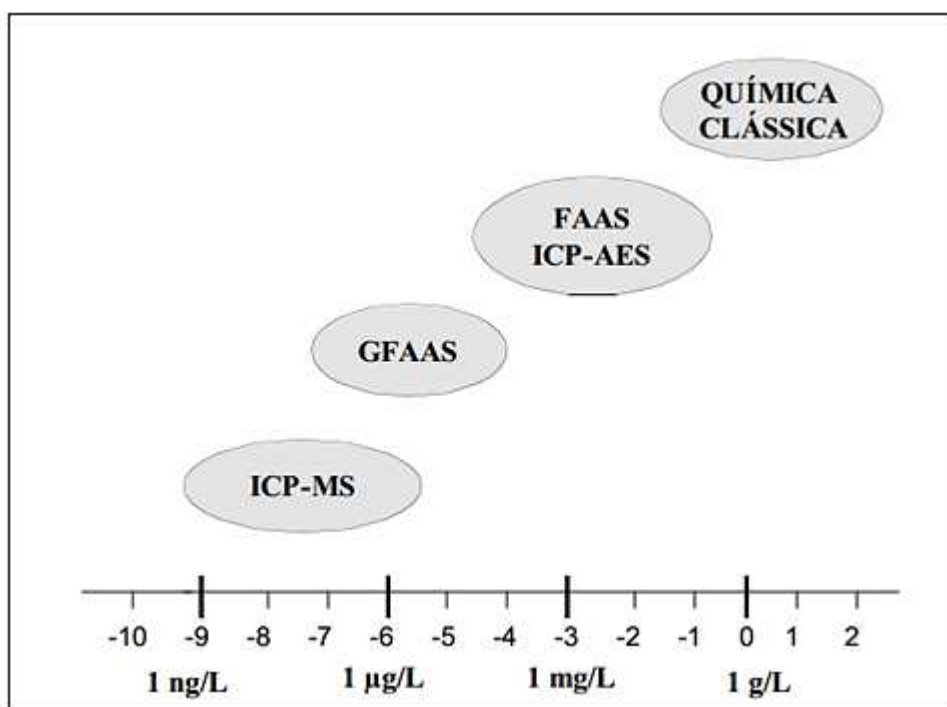
2011, são impróprios para determinação de elementos voláteis, bem como apresentam risco ao analista, esse trabalho busca aplicar o novo sistema de refluxo adaptado aos tubos digestores, na mineralização das amostras de goma xantana e a subsequente determinação de elementos traços voláteis como Cd e Pb por GF AAS.

### **3.3. Determinação de Cd e Pb**

O desenvolvimento da técnica de espectrometria atômica teve início com os experimentos de Joannes Marci, em 1648, através de relatos sobre a formação do arco íris, seguidos dos estudos de emissão por Kirchhoff e Bunsen, em 1860, onde a espectrometria atômica começava a crescer em termos de pesquisa e desenvolvimento. Contudo, devido à falta de instrumentação apropriada para a época, os estudos se deram de forma lenta. Passados quase 100 anos, o cientista australiano Alan Walsh, em 1954, propôs uma técnica para determinação de metais, chamada de espectrometria de absorção atômica em chama, onde quatro anos após ter sido lançada, foi aceita pela sociedade acadêmica. Essa técnica somente foi consolidada devido ao desenvolvimento e aprimoramento das lâmpadas de radiação, monocromadores, lentes colimadoras, entre outras peças que compõe este instrumento (Welz & Sperling, 1999; Amorim et. al., 2008; Skoog et al., 2009).

Sendo assim, a técnica de espectrometria de absorção atômica é muito utilizada para análise de rotina, auxiliando na determinação elementar e no desenvolvimento de novas metodologias, além de ser comumente empregada para o controle de qualidade de diversos produtos, pois trata-se de uma técnica de baixo custo e por ser bem consolidada (Welz & Sperling, 1999; Amorim et. al., 2008; Skoog et al., 2009; Lemos & Carvalho, 2010).

Dentre as técnicas de análise utilizadas para a determinação de metais (Figura 8), a GF AAS, quando comparada as demais, destaca-se pela alta sensibilidade e seletividade, sendo uma técnica adequada para determinação de elementos como Cd e Pb em diferentes tipos de matrizes (Welz & Sperling, 1999; Amorim et. al., 2008; Skoog et al., 2009; Lemos & Carvalho, 2010).

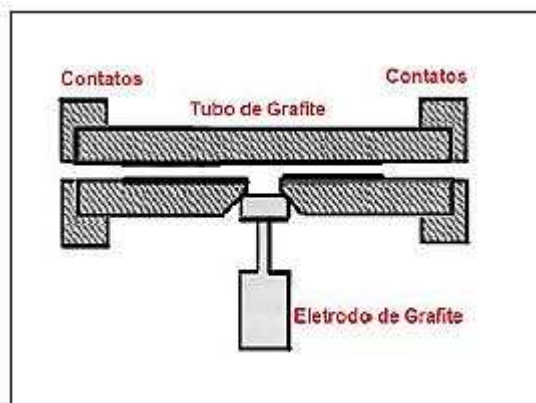


**Figura 8:** Capacidade analítica de alguns métodos de análise. Adaptado de Ribeiro, 2005.

### 3.4. Espectrometria de absorção atômica em forno de grafite

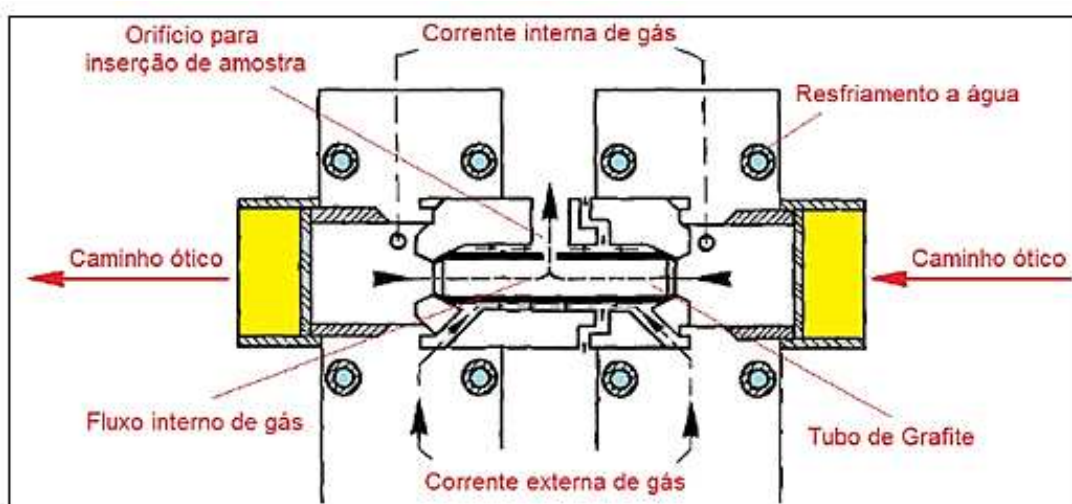
O surgimento do atomizador eletrotérmico (Figura 9) ocorreu no ano de 1959 através dos estudos de Boris L'vov, que criou o forno de grafite na tentativa de utilizar amostragem direta de sólidos. Neste sistema, a amostra era colocada em um eletrodo de grafite móvel e havia a formação de um arco elétrico quando o eletrodo se aproximava do tubo, vaporizando a amostra, enquanto o tubo era aquecido pelo efeito Joule. Através deste sistema, foi possível atingir limites de detecção (LD) entre 0,1 ng a 0,01 pg, diversas ordens de grandeza melhores do que os obtidos através da técnica de espectrometria de absorção atômica em chama (FAAS) (Welz & Sperling, 1999; Amorim et. al., 2008; Skoog et al., 2009).





**Figura 9:** Forno de grafite desenvolvido por L'vov. Adaptado de Welz & Sperling, 1999.

Logo após os estudos de L'vov, em 1965, Hans Massmann aprimorou o forno de grafite de L'vov, transformando este em uma peça única com circulação de gás inerte. Este gás servia de proteção tanto para as partes internas e externas do forno, ajudando na retirada de produtos gasosos gerados durante o aquecimento (Figura 10). Além disso, o forno desenvolvido por Massmann era aquecido eletricamente através de uma corrente de baixa voltagem. Este aquecimento por resistência elétrica permitiu uma mudança gradual da temperatura em estágios o que possibilitava a seleção das condições ótimas de temperatura para a atomização de cada elemento (Welz & Sperling, 1999, Oliveira et al., 2008; Oreste, 2013c).



**Figura 10:** Desenho esquemático de um forno de grafite. Adaptado de Oreste, 2013C.

Com esse novo modelo de atomizador eletrotérmico, as empresas começaram a se interessar por esse novo sistema, desenvolvendo modelos de amostradores e outros acessórios para facilitar a amostragem direta. Contudo, a técnica cresceu através dos diversos avanços instrumentais, com o surgimento dos fornos de grafite com aquecimento transversal e tubos de grafite com plataforma revestidos piroliticamente, uso de corretores de fundo baseados no efeito Zeeman, além da utilização de detectores com resposta rápida, sendo estes adequados para o registro de sinais transientes (Welz & Sperling, 1999).

Em 1981, essas inovações instrumentais foram consolidadas por Walter Slavin e colaboradores, resultando no conceito das condições ideais de trabalho no atomizador eletrotérmico, as quais foram denominadas como condições STPF (*“Stabilized Temperature Platform Furnace”*). Este conceito compreende um conjunto de condições que garantem determinações no forno de grafite livre de interferências. Este conceito inclui as seguintes recomendações, conforme apresentado na Tabela 1 (Welz & Sperling, 1999; Correia et al., 2003; Amorim et al., 2008):

**Tabela 1:** Condições ideais de trabalho do GF AAS a partir do uso das condições STPF. Adaptado de Oreste, 2013c.

Condições STPF	Observações
Uso da Plataforma de L'vov	Aquecimento mais homogêneo do tubo durante a atomização
Sinais de absorvância registrados em área, ao invés de altura.	Minimização dos efeitos das variações cinéticas do processo de atomização
Uso de tubos revestidos com grafite pirolítico	Redução de perdas por difusão através da parede do atomizador
Aquecimento transversal do tubo de grafite	Estabelecimento de um ambiente espacialmente isotérmico
Uso de corretor de fundo eficiente	Correções das interferências espectrais
Uso de modificador químico	Aumento da eficiência do tratamento térmico durante a etapa de pirólise
Interrupção do fluxo de gás durante a etapa de atomização	Aumento do tempo de residência da nuvem atômica no caminho ótico
Elevada taxa de aquecimento do tubo de grafite durante as etapas	Redução de interferências na fase vapor e formação de uma densa nuvem atômica
Eletrônica rápida e adequada	Obtenção do registro dos sinais de absorvância em tempo real

Para cada tipo de análise é necessário otimizar um programa de temperatura e tempo específico, o qual é composto de cinco etapas essenciais: secagem (evaporação dos solventes), pirólise, atomização, limpeza e resfriamento.

Na etapa de secagem os solventes são evaporados da amostra, para qual o aquecimento do tubo tem que ser lento e de forma uniforme, para que não haja

ebulição da solução e consequentemente, perdas da amostra para fora do tubo, refletindo na repetibilidade das medidas. A pirólise é responsável pela eliminação dos componentes da matriz, nela o objetivo é atingir a máxima temperatura possível, sem que haja perda de analito por volatilização. Na atomização a temperatura fornecida formará uma nuvem atômica com o analito de interesse no estado fundamental e assim é possível gerar um sinal transiente que representa a quantidade de analito presente na amostra analisada. A limpeza é realizada para eliminar possíveis resíduos de amostra que possam ter ficado no tubo de grafite, dessa forma é empregado temperaturas elevadas, assim não propicia um efeito de memória nas próximas leituras instrumentais. Por último é feito a etapa de resfriamento, onde a temperatura é diminuída até chegar na temperatura ambiente, para que se possa realizar um novo ciclo no tubo de grafite (Welz et al., 1999; Skoog et al., 2009).

#### **3.4.1. Modificadores químicos**

O uso de modificadores químico teve início com Ediger, em 1975, que definiu as propriedades que um modificador deveria exercer, como uma substância capaz de aumentar a estabilidade térmica do analito ou volatilizar componentes da matriz. Sendo assim, essas características se aplicam basicamente na etapa de pirólise do GF AAS, já que essa etapa visa a eliminação da matriz sem a perda do analito. Logo após os estudos de Ediger, Schlemmer e Welz ampliaram as características dos modificadores químicos, além de estabilizar o analito em temperaturas mais elevadas e remover componentes da matriz, ele deveria ser eficiente para mais de um analito e para mais de uma forma química que esse analito possa se apresentar, ter alto grau de pureza, não degradar os forno de grafite ou os componentes do equipamento (Schlemmer & Welz, 1986; Oreste, 2013c).

O modificador químico pode ser utilizado de duas formas diferentes, diretamente na amostra, podendo adicionar o modificador no tubo de grafite e a amostra ser pipetado por cima, ou vice-versa, ou misturar os dois em solução. A outra segunda opção é a utilização de um modificador permanente, o qual é pipetado diretamente na plataforma e logo após, é utilizado um programa de aquecimento para sua deposição, recobrando assim a plataforma, além desse

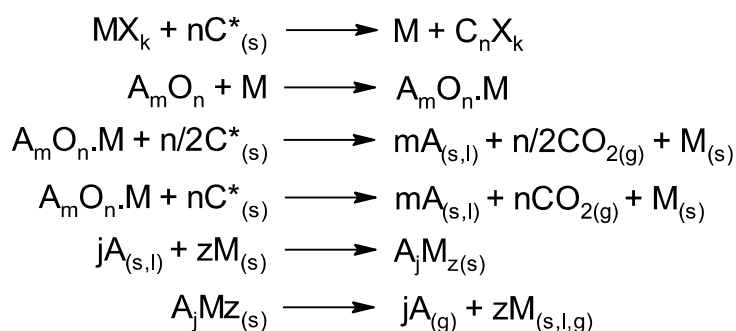
tipo de impregnação outras formas podem ser utilizadas como, eletrodeposição ou umedecendo a plataforma com uma solução de modificador (Oreste, 2013c; Borges et al., 2014).

Os modificadores químicos mais utilizados são Cu, Ni, Pd e Pd/Mg e os modificadores permanentes são os do grupo da platina (Pd, Pt, Ir, Ru e Rh) e os formadores de carbeto (Zr, W, Nb e Ta). A mistura de Pd/Mg(NO<sub>3</sub>)<sub>2</sub> é conhecida como modificador universal devido os estudos de Welz e colaboradores que conseguiram determinar 21 elementos, mostrando sua eficiência na etapa de pirólise, temperaturas superiores e eficiência na remoção da matriz (Oreste, 2013c, Borges et al., 2014).

A escolha do modificador químico adequado para uma análise é, ainda hoje, um das etapas mais importantes relacionadas a GF AAS. O uso de um modificador inadequado, além de não eliminar os efeitos de matriz pode agravar, ainda mais os efeitos da mesma. Assim, somente um entendimento dos mecanismos de ação dos modificadores químicos, pode conduzir a uma simplificação na sua seleção.

Dentro deste contexto, no ano de 1991, Qiao e Jackson, elucidaram um possível mecanismo de ação do Pd(NO<sub>3</sub>)<sub>2</sub>. De acordo com os autores, primeiramente o Pd é reduzido a sua forma metálica na etapa de pirólise e logo após forma uma ligação estável metal analito, podendo assim, suportar temperaturas mais elevadas, já na etapa de atomização essa ligação é desfeita, para que seja possível a determinação do analito.

Cinco anos depois Volynsky, 1996, apresenta uma série de possíveis reações para os modificadores do grupo da platina. Conforme apresentado na Equação 1, o mecanismo proposto assemelha-se ao mecanismo descrito por Qiao e Jackson, já que ambos formam uma ligação estável entre o modificador e o analito.



**Equação 1**

Para a equação acima, M é referente ao modificador químico, A é o analito, X é o íon ligado ao elemento modificador, C\* os sítios ativos na superfície do tubo de grafite, k, m, n, j e z são os coeficientes estequiométricos (Oreste, 2013c).

Cabe salientar que, existem algumas contradições com respeito ao mecanismo de ação dos modificadores químicos. Os estudos destes processos são muito difíceis, devido às pequenas concentrações do analito em relação à matriz, necessitando assim, do uso de técnicas específicas.

### 4.1. Instrumentação

Para a determinação de Cd e Pb foi utilizado um espectrômetro de absorção atômica em forno de grafite (GF AAS) modelo PinAAcle 900Z (Perkin Elmer, Singapura) equipado com amostrador automático modelo AS900. Sinal transiente foi utilizado para calcular a concentração dos analitos e as áreas de pico foram corrigidas através de um corretor de fundo baseado no Efeito Zeeman. Foi utilizado para ambos os elementos: tubo de grafite eletrolítico, com plataforma de L'vov e revestido com grafite pirolítico, com aquecimento transversal (Perkin Elmer), lâmpadas de cátodo oco para cada elemento estudado (Lumina, Perkin Elmer), argônio como gás de purga e de refrigeração, com pureza de 99,996% (Linde, Barueri, SP). As condições de operação do espectrômetro são apresentadas na Tabela 2.

**Tabela 2:** Parâmetros instrumentais usados na determinação de Cd e Pb em amostras de goma xantana por GF AAS.

Parâmetro	Cd	Pb
Comprimento de onda (nm)	228,80	283,31
Fenda espectral (nm)	0,7	0,7
Corrente da lâmpada (mA)	4	10

A sequência de pipetagem utilizadas para introdução da amostra no tubo de grafite foi realizada em três etapas (amostra, modificador 1 e modificador 2), intercaladas com limpeza da ponteira.

As amostras foram pesadas em uma balança analítica Ohaus Adventurer modelo Ar 2140 (Pine Brook, NJ, EUA) com uma resolução de 0,1 mg e tara de 210 g.

No preparo das amostras, foi utilizado um bloco digestor modelo MA-4025 (Marconi, Piracicaba, SP, Brasil). Aos tubos de digestão foram acoplados os sistemas de refluxo, os quais possuem um encaixe de teflon que apresenta uma ranhura lateral para alívio de pressão. O sistema citado tem circulação interna de água na temperatura de 15 °C, resfriado com um banho termostatizado

modelo Q-214M2 (Quimis, Brasil). Esse sistema de refluxo desenvolvido pelo nosso grupo de pesquisa trabalha com constante circulação de água, o que garante uma boa condensação da solução, além de contribuir para a química verde, já que ocorre recirculação de água.

#### **4.2. Reagentes e Soluções**

Os reagentes utilizados no estudo foram de grau analítico e as soluções empregadas foram preparadas com água de alta pureza, obtida a partir de um sistema de purificação de água Direct-Q 3 (Millipore Corporation, Bedford, MA, Estados Unidos), com resistividade de 18,3 M $\Omega$  cm.

As soluções padrão de Cd e Pb foram preparadas diariamente em meio ácido a partir da diluição de soluções estoques contendo 1000 mg L<sup>-1</sup> (Merck, Darmstadt, Alemanha) de cada elemento em água desionizada. As curvas de calibração foram construídas a partir desses padrões em concentrações que variaram entre 2,5 e 10,0  $\mu$ g L<sup>-1</sup> para Cd e 10,0 e 100,0  $\mu$ g L<sup>-1</sup> para Pb.

Para o preparo das amostras foi utilizado ácido nítrico 65 % (m/m) (Synth, Brasil), o qual foi purificado a partir de um sistema de destilação com sub-ebulição em quartzo MA-075 (Marconi, Piracicaba, SP, Brasil).

Os frascos de polipropileno (PP), materiais de vidro, bem como os tubos do bloco digestor foram lavados primeiramente com água de torneira, seguidos de imersão em uma solução de HNO<sub>3</sub> 10% (v/v) por 48 h. Posteriormente, foram lavados com água desionizada e secos.

#### **4.3. Metodologia**

Para todas as análises foi utilizado um volume de 20  $\mu$ L de solução da amostra e padrões, os quais foram introduzidos no interior do tubo de grafite através do amostrador automático e, submetidos ao programa de aquecimento. Cabe salientar que todas as determinações foram realizadas em triplicata.

Para a quantificação de Cd e Pb nas amostras de goma xantana, estudos de otimização das temperaturas de pirólise e atomização foram realizados, a fim de obter uma melhor eliminação da matriz durante a etapa de pirólise, além de obter uma maior sensibilidade. Para este estudo, foi utilizada uma quantidade



conhecida de analito ( $1,0$  e  $30 \mu\text{g L}^{-1}$  de Cd e Pb, respectivamente), tanto em meio aquoso como na presença da amostra, nesse estudo em questão, foram testados diferentes modificadores químicos. Os modificadores utilizados foram  $\text{Pd}(\text{NO}_3)_2$  ( $5 \mu\text{g}$ ),  $\text{Pd/Mg}(\text{NO}_3)_2$  ( $5 \mu\text{g}$  e  $3 \mu\text{g}$ , respectivamente) e  $\text{NH}_4\text{H}_2\text{PO}_4$  ( $50 \mu\text{g}$ ), onde o último modificador químico é o indicado pelo fabricante na determinação de Cd e Pb.

A exatidão do método foi avaliada através de testes de adição e recuperação de analito. Para este estudo, durante a etapa de preparo das amostras, concentrações de  $500$ ;  $750$  e  $1000 \text{ ng g}^{-1}$  para Cd e  $1000$ ;  $5000$  e  $10000 \text{ ng g}^{-1}$  para Pb, foram adicionadas à amostra de Xantana Comercial A e o percentual de recuperação foi calculado ao final de cada análise.

#### **4.3.1. Preparo das amostras – Decomposição ácida com sistema de refluxo**

As amostras de goma xantana utilizadas para os estudos em questão foram de três marcas comerciais diferentes, as quais serão denominadas como Xantana Comercial A, Xantana Comercial B e Xantana Comercial C.

Todas as amostras foram preparadas através de uma decomposição ácida utilizando um sistema de refluxo, para qual foi pesado aproximadamente  $100 \text{ mg}$  de amostra de goma xantana diretamente nos tubos de digestão e, posteriormente adicionou-se  $5,0 \text{ mL}$  de  $\text{HNO}_3$ . Em seguida o sistema de refluxo foi acoplado aos tubos de digestão, e levados ao aquecimento no bloco digestor por  $3 \text{ h}$  a  $220^\circ\text{C}$ . Cabe salientar que, a temperatura utilizada foi baseada no trabalho desenvolvido por Pichler e colaboradores, 1999, onde eles relatam que algumas macromoléculas necessitam de uma temperatura de aquecimento acima de  $200^\circ\text{C}$  para uma completa decomposição da amostra na presença de apenas ácido nítrico.

Após o resfriamento das amostras a temperatura ambiente, a solução resultante foi transferida de forma quantitativa para frascos volumétricos de polipropileno e avolumadas a  $10,0 \text{ mL}$  com água desionizada. As amostras foram decompostas em triplicata e os brancos analíticos foram preparados pelo mesmo procedimento sem a adição da amostra.

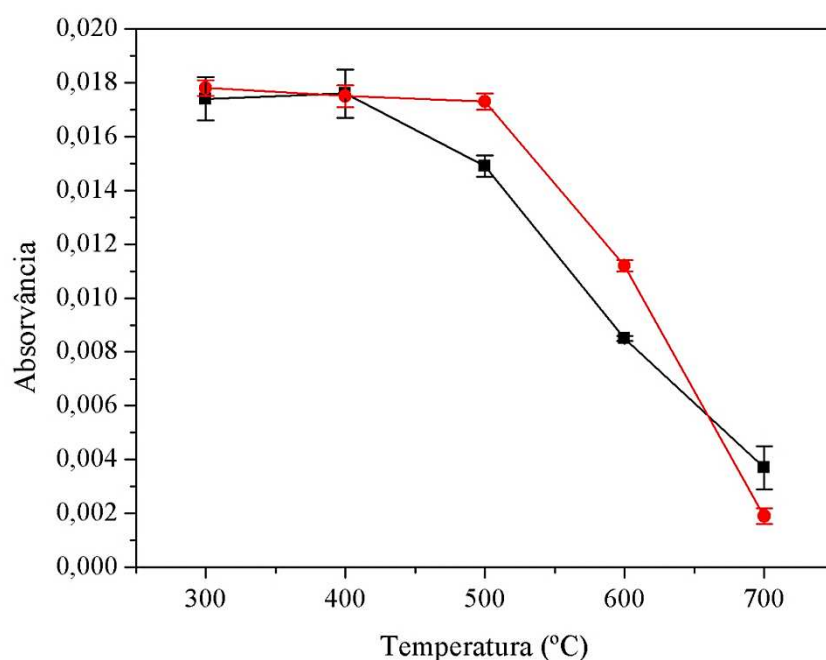
Para que fosse possível otimizar o programa de tempo e temperatura do GF AAS foi adicionado  $0,5 \mu\text{g L}^{-1}$  de Cd e  $30 \mu\text{g L}^{-1}$  de Pb às amostras durante a etapa de preparo das amostras, já que as mesmas não apresentam concentração considerável para otimização dessas etapas.

### 5.1. Otimização do programa de tempo e temperatura do GF AAS

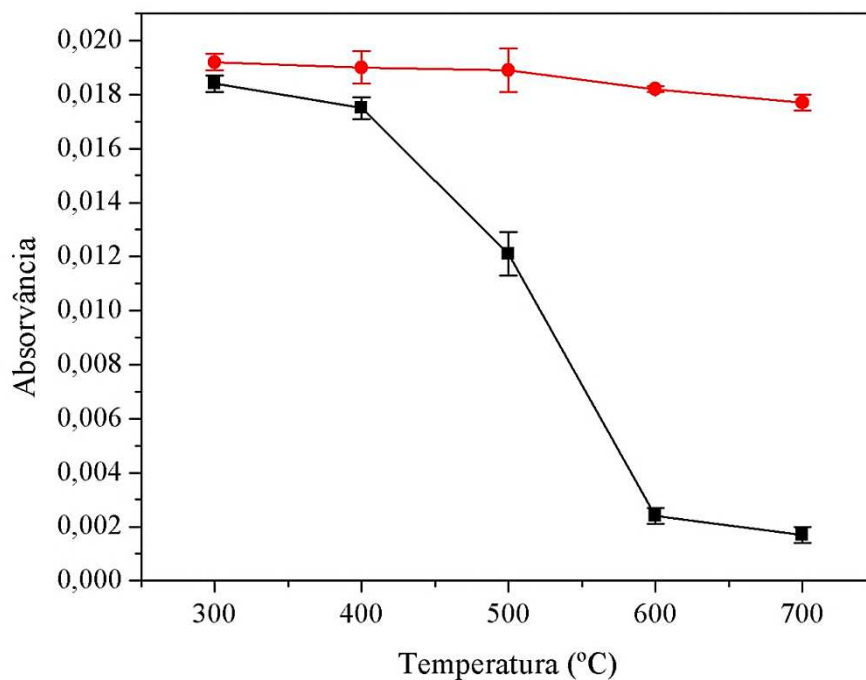
Conforme mencionado anteriormente, com o objetivo de avaliar as melhores condições de trabalho do programa de aquecimento adotado para a quantificação de Cd e Pb em amostras de goma xantana por GF AAS, foram feitas análises das curvas de pirólise e atomização em função do sinal analítico para cada elemento.

#### 5.1.1. Otimização do programa de tempo e temperatura para Cd

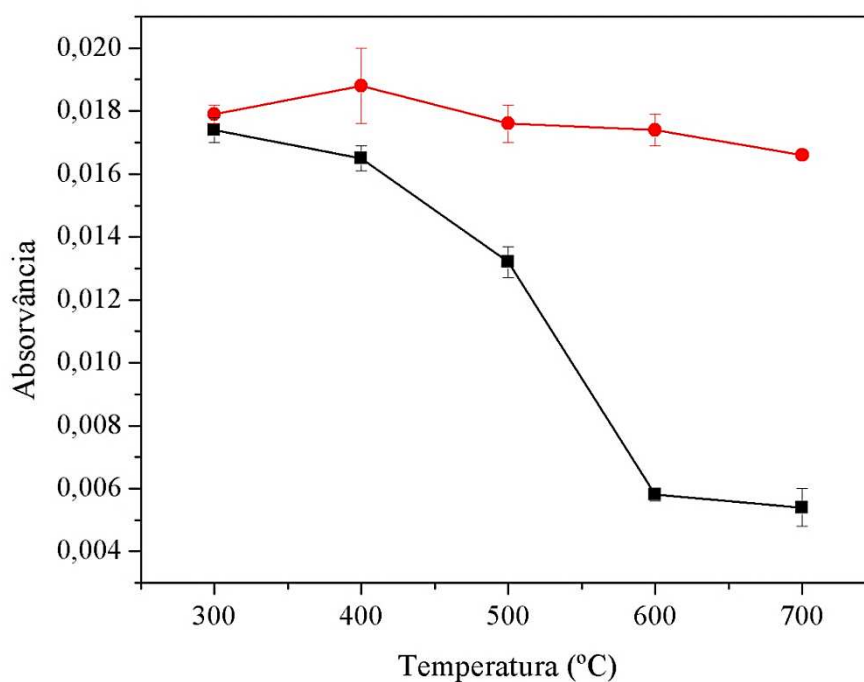
Para Cd, conforme pode ser visto nas Figuras abaixo, foram realizados estudos observando-se o comportamento do sinal analítico em uma faixa de temperatura de pirólise que variou de 300 a 700 °C. O estudo foi feito sem a presença de modificador químico (Figura 11), bem como na presença de diferentes modificadores (Figuras 12, 13 e 14).



**Figura 11:** Curva de pirólise para 0,5  $\mu\text{g L}^{-1}$  de Cd em meio aquoso (-■-) e na presença da amostra (-●-) sem adição de modificador químico.



**Figura 12:** Curva de pirólise para  $0,5 \mu\text{g L}^{-1}$  de Cd em meio aquoso (-■-) e na presença da amostra (-●-) com adição de  $5 \mu\text{g}$  de  $\text{Pd}(\text{NO}_3)_2$ .

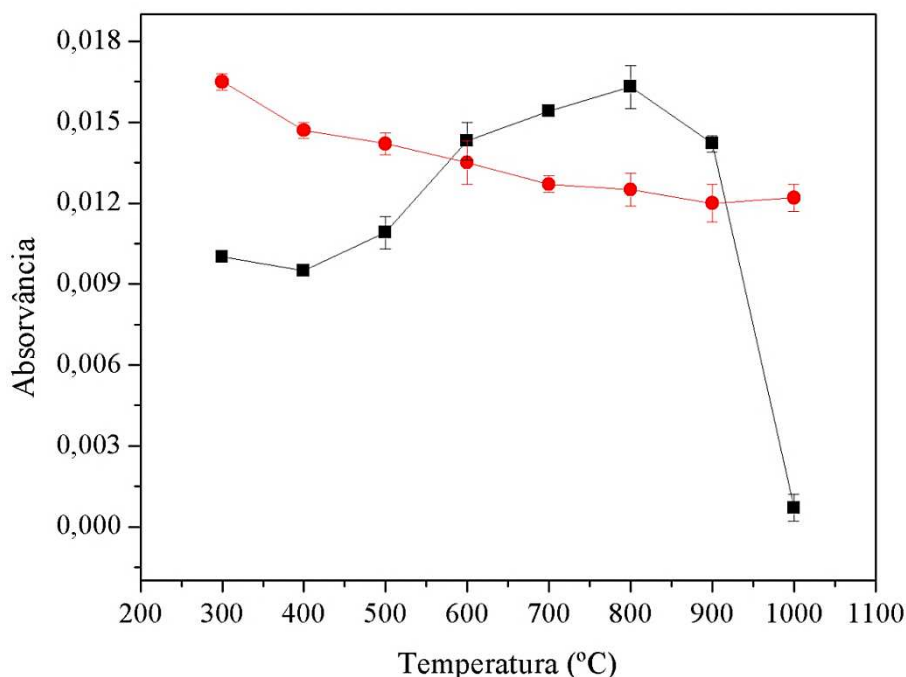


**Figura 13:** Curva de pirólise para  $0,5 \mu\text{g L}^{-1}$  de Cd em meio aquoso (-■-) e na presença da amostra (-●-) com adição de  $5 \mu\text{g}$  de  $\text{Pd}(\text{NO}_3)_2$  +  $3 \mu\text{g}$  de  $\text{Mg}(\text{NO}_3)_2$ .

De acordo com os resultados apresentados na Figura 11, verifica-se que a temperatura máxima de pirólise permitida, sem a presença de modificador químico, em meio aquoso é de 400 °C, já na presença da amostra verifica-se que não há perda de analito até 500 °C.

Com base nas curvas de pirólise para Cd apresentadas nas Figuras 12 e 13, a adição de paládio como modificador, bem como da mistura de paládio e magnésio, mostraram-se eficiente em aumentar a estabilidade térmica do analito, somente em meio da amostra, não havendo perdas significativas de analito até 700 °C. No entanto, em meio aquoso, o comportamento do analito observado na presença destes modificadores químicos, foi o mesmo que sem a presença de modificador, ou seja, foi possível verificar perdas significativas a partir de 400 °C.

A Figura 14 apresenta o estudo das curvas de pirólise para Cd, em meio aquoso e na presença da amostra, utilizando  $\text{NH}_4\text{H}_2\text{PO}_4$  como modificador químico.

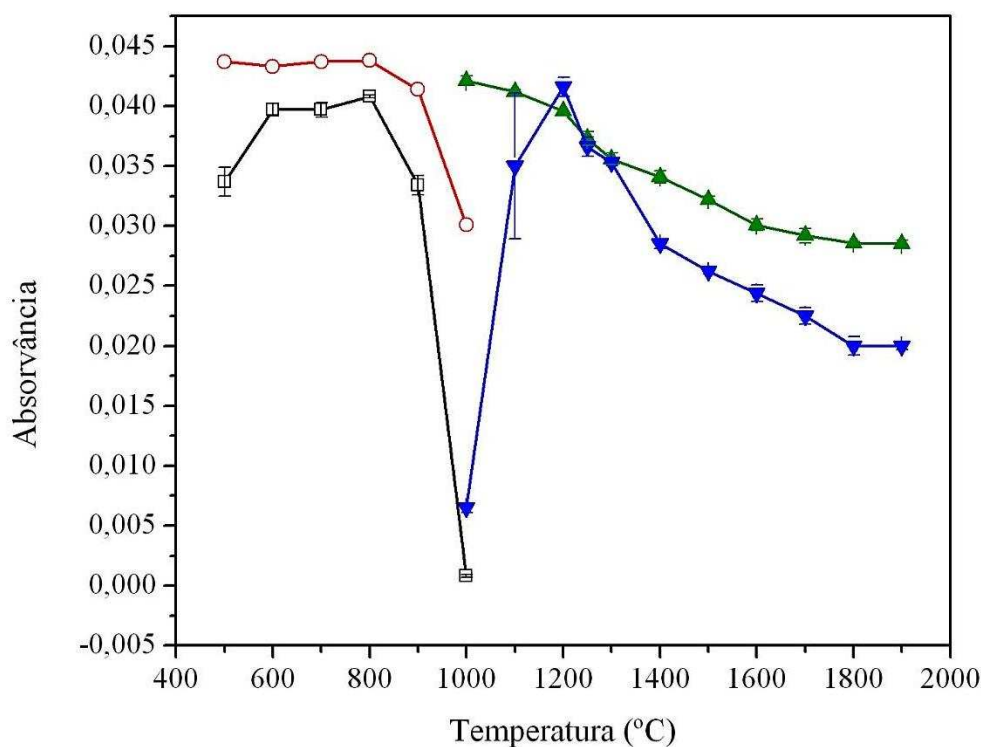


**Figura 14:** Curva de pirólise para 0,5  $\mu\text{g L}^{-1}$  de Cd em meio aquoso (-■-) e na presença da amostra (-●-) com adição de 50  $\mu\text{g}$  de  $\text{NH}_4\text{H}_2\text{PO}_4$ .

De acordo com as curvas obtidas, verifica-se uma maior estabilidade do analito na presença deste modificador químico, quando comparado aos demais, além de uma melhor concordância nos sinais analíticos analisando os diferentes meios.

Assim, como o modificador  $\text{NH}_4\text{H}_2\text{PO}_4$  apresentou uma melhor estabilidade do analito, mesmo na presença de temperaturas mais elevadas, o que possibilita uma melhor eliminação da matriz durante a etapa de pirólise, optou-se em trabalhar com este modificador, e um estudo adicional levando em consideração as curvas de atomização foi feito.

Para melhor visualizar o comportamento do modificador  $\text{NH}_4\text{H}_2\text{PO}_4$  frente ao sinal analítico para Cd, neste estudo (Figura 15), a concentração de Cd foi aumentada para  $1 \mu\text{g L}^{-1}$ .



**Figura 15:** Curva de pirólise (aberto) e atomização (sólido) para  $1,0 \mu\text{g L}^{-1}$  de Cd em meio aquoso (-□-) (-▼-) e na presença da amostra (-○-) (-▲-) com a adição de  $50 \mu\text{g NH}_4\text{H}_2\text{PO}_4$  como modificador químico.

Tendo como base os resultados apresentados na Figura 15, foi possível verificar a partir das curvas de pirólise e atomização, uma boa concordância do sinal analítico para Cd, tanto em meio aquoso, como na presença da amostra. Através deste estudo, fixou-se a temperatura de pirólise em 800 °C, já que foi a temperatura máxima permitida para esta etapa, sem haver perda de analito. A temperatura de atomização foi fixada em 1250 °C, pois foi a menor temperatura que apresenta um ganho significativo em sensibilidade para o analito em ambos meios.

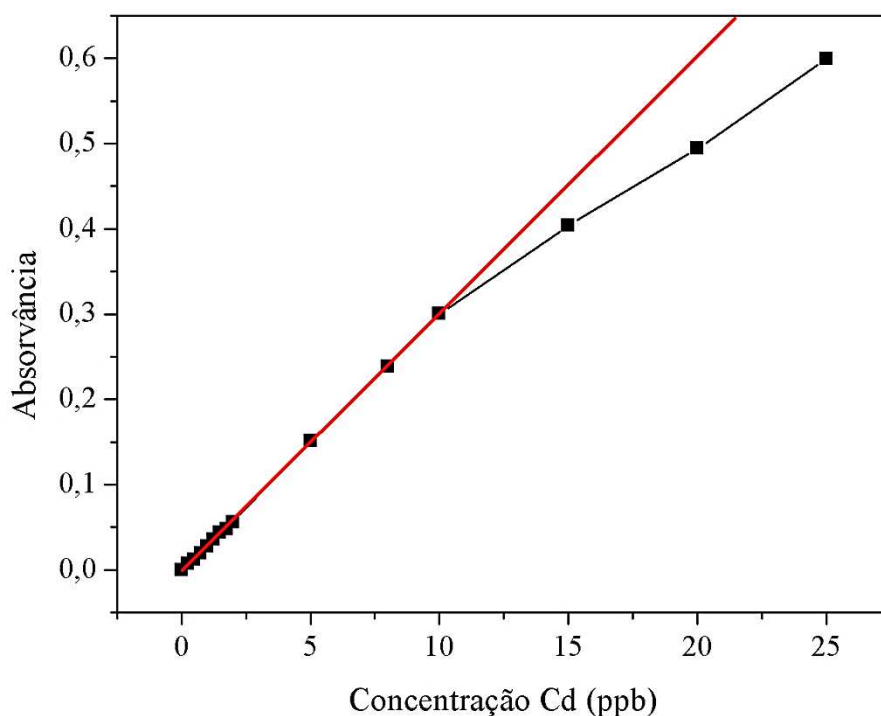
De acordo com as temperaturas de pirólise e atomização descritas acima, a Tabela 3 apresenta o programa completo de tempo e temperatura utilizado para determinação de Cd nas amostras de goma xantana por GF AAS.

**Tabela 3:** Programa de tempo e temperatura utilizados na determinação de Cd em amostras de goma xantana por GF AAS.

<b>Etapa</b>	<b>Temperatura (°C)</b>	<b>Rampa (s)</b>	<b>Permanência (s)</b>	<b>Vazão de Gás (mL min<sup>-1</sup>)</b>
<b>Secagem</b>	90	10	20	250
<b>Secagem</b>	130	10	40	250
<b>Pirólise</b>	800	10	20	250
<b>Atomização</b>	1250	0	5	0
<b>Limpeza</b>	2450	1	3	250

Para poder dar continuidade aos demais estudos, e trabalhar sob melhores condições, foi feito um teste de linearidade para Cd em meio aquoso utilizando concentrações que variaram entre 0 a 25 µg L<sup>-1</sup> (2500 ng g<sup>-1</sup>).

Conforme apresentado na Figura 16, boa linearidade pode ser verificada até a concentração de 10 µg L<sup>-1</sup> (1000 ng g<sup>-1</sup>), possibilitando assim, o uso desta concentração para subseqüentes análises.



**Figura 16:** Estudo referente a faixa linear para Cd em meio aquoso.

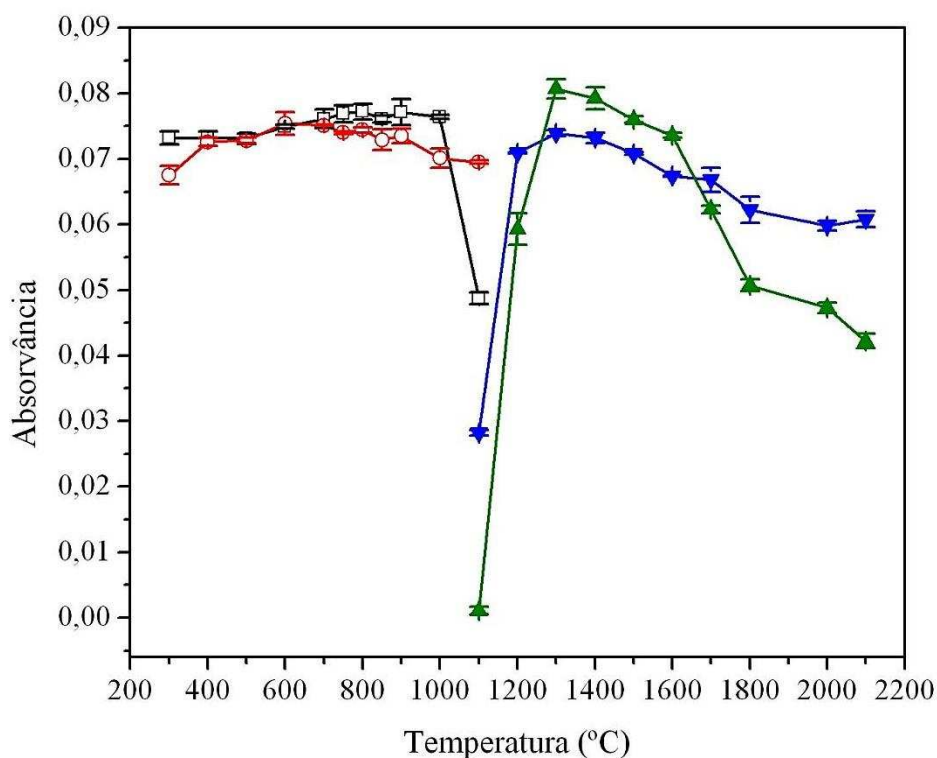
Observa-se que realizando uma curva de calibração com pontos equidistantes podemos verificar uma ótima linearidade com  $R^2 > 0,99$ , demonstrados na Tabela 5.

#### **5.1.2. Otimização do programa de tempo e temperatura para Pb**

Tendo como base que os elementos analisados (Cd e Pb), apresentam características térmicas similares, optou-se em trabalhar utilizando  $\text{NH}_4\text{H}_2\text{PO}_4$  como modificador químico, uma vez que este foi o modificador selecionado para a determinação de Cd nas amostras de goma xantana, conforme apresentado no item anterior.

Sendo assim, curvas de pirólise (300 a 1000 °C) e atomização (1100 a 2200 °C) para Pb utilizando  $\text{NH}_4\text{H}_2\text{PO}_4$  como modificador, em meio aquoso e na presença da amostra, foram feitas, conforme apresentado na Figura 17.





**Figura 17:** Curva de pirólise (aberto) e atomização (sólido) para  $30 \mu\text{g L}^{-1}$  de Pb em meio aquoso (-□-) (-▼-) e na presença da amostra (-○-) (-▲-) com a adição de  $50 \mu\text{g NH}_4\text{H}_2\text{PO}_4$  como modificador químico.

Através deste estudo, conforme esperado, pode-se observar uma similaridade das curvas de pirólise para Pb, quando comparado as curvas obtidas para Cd na presença deste modificador, o que pode ser visto analisando as Figuras 15 e 17.

Sendo assim, fixou-se a temperatura de pirólise em  $900^\circ\text{C}$  e a temperatura de atomização em  $1400^\circ\text{C}$ , garantindo desta forma, uma maior eficiência do tratamento térmico, o que resultará na decomposição e volatilização dos concomitantes, tornando o processo menos suscetível a interferências, condição esta ideal para análise.

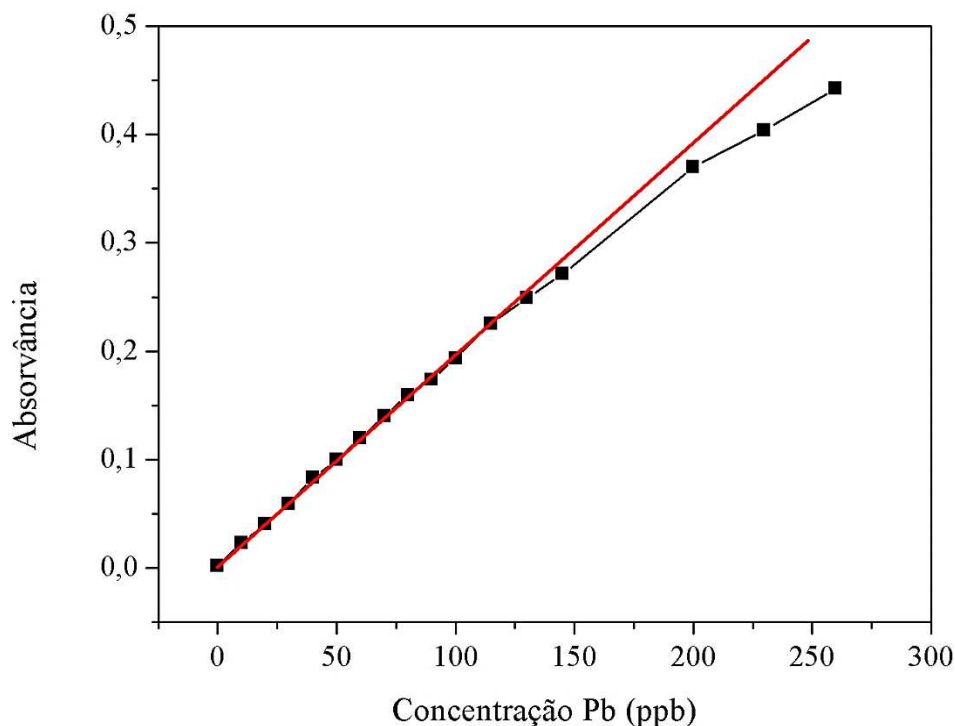
A Tabela 4 apresenta o programa completo de tempo e temperatura utilizado para a análise de Pb em amostras de goma xantana por GF AAS.

**Tabela 4:** Programa de tempo e temperatura utilizados na determinação de Pb em amostras de goma xantana por GF AAS.

Etapa	Temperatura (°C)	Rampa (s)	Permanência (s)	Vazão de Gás (mL min <sup>-1</sup> )
Secagem	90	10	20	250
Secagem	130	10	40	250
Pirólise	900	10	20	250
Atomização	1400	0	5	0
Limpeza	2450	1	3	250

Para o Pb também foi realizado o teste de linearidade em meio aquoso, o qual foi avaliado utilizando concentrações que variaram entre 0 a 260  $\mu\text{g L}^{-1}$  (26000  $\text{ng g}^{-1}$ ).

Conforme apresentado na Figura 18, boa linearidade pode ser verificada até a concentração de 115  $\mu\text{g L}^{-1}$  (11500  $\text{ng g}^{-1}$ ), acima desta, já observa-se a curvatura da reta.



**Figura 18:** Estudo referente a faixa linear para Pb em meio aquoso.

Observa-se que realizando uma curva de calibração com pontos equidistantes podemos verificar uma ótima linearidade com  $R^2 > 0,99$ , conforme demonstrado na Tabela 5.

## 5.2. Parâmetros de mérito

Os parâmetros de mérito obtidos para as curvas de calibração para Cd e Pb por GF AAS, a partir do método proposto estão apresentados na Tabela 5. Como podem ser observados, os valores do coeficiente de correlação ao quadrado ( $R^2$ ) foram superiores a 0,99, atestando a boa linearidade do método, referente à faixa linear específica para cada analito.

Os LDs para Cd e Pb foram 2,2 e 33,8 ng g<sup>-1</sup>, respectivamente, e os limites de quantificação (LQ) foram 7,1 e 111,4 ng g<sup>-1</sup> para Cd e Pb, respectivamente.

Estes parâmetros foram calculados a partir do uso de duas equações, para o cálculo do LD é necessário considerar um fator multiplicativo ( $K = 3$ ) e a fração entre o desvio padrão (SD) da leitura de dez sinais do branco e a sensibilidade (S). Já para o LQ a diferença na equação é o fator multiplicativo, que neste caso trata-se de ( $K = 10$ ) (Anvisa, 2003 e Long et al., 1983). As equações podem ser visualizadas abaixo na Equação 2A e 2B.

$$LD = \frac{3 \times SD}{S}$$

$$LQ = \frac{10 \times SD}{S}$$

**Equação 2: A e B**

**Tabela 5:** Parâmetros de mérito para a determinação de Cd e Pb por GF AAS em amostras de goma xantana.

Analito	Faixa linear (µg L <sup>-1</sup> )	a (L µg <sup>-1</sup> )	LD (ng g <sup>-1</sup> )	LQ (ng g <sup>-1</sup> )	R <sup>2</sup>
<b>Cd</b>	2,5-10	0,0471	2,2	7,1	0,999
<b>Pb</b>	10-100	0,0026	33,8	111,4	0,997

a: coeficiente de correlação angular da curva; LD: limite de detecção; LQ: limite de quantificação; R<sup>2</sup>: coeficiente de correlação linear.

### **5.3. Resultados analíticos para determinação de Cd e Pb em amostras de goma xantana**

Tendo como base a grande aplicabilidade da goma xantana nos mais diversos setores industriais, onde pode-se destacar seu uso em fármacos e principalmente, como um aditivo bastante utilizado na indústria de alimentos, bem como em estudos que comprovam que esse biopolímero pode adsorver contaminantes como Cd e Pb durante o processamento, a determinação de metais tóxicos, faz parte do controle de qualidade das xantanas, o que vem garantir uma maior segurança na sua aplicação.

Sendo assim, para obter informações a respeito da concentração de Cd e Pb nas amostras comerciais de goma xantana analisadas, o método proposto inseriu contribuições significativas, quando comparado aos métodos já existentes na literatura.

Neste estudo, as amostras foram tratadas a partir da decomposição ácida com um sistema de refluxo adaptado aos tubos do bloco digestor convencional, permitindo assim, a análise de metais traço voláteis, o que não seria possível a partir do método recomendado pela ASTM, nem pelo método proposto por Klaic e colaboradores, já que ambos baseiam-se em sistemas abertos de decomposição.

Cabe salientar também que, o uso do sistema de refluxo adaptado aos tubos digestores, possibilitou a decomposição das amostras de goma xantana em meio de apenas  $\text{HNO}_3$  como meio oxidante, já que a partir da utilização do sistema “semi fechado”, foi possível a aplicação de uma temperatura do bloco digestor superior a  $200\text{ }^\circ\text{C}$ , condição esta que, de acordo com Pichler e colaboradores, 1999, é a condição ideal para a completa decomposição de macromoléculas em meio de ácido nítrico. Assim, o processo de decomposição das respectivas amostras, foi feito sem a presença de  $\text{HClO}_4$ , o que atualmente, pode ser considerado um grande avanço no desenvolvimento de novos métodos de preparo de amostras, uma vez que, o uso deste reagente tem se tornado cada vez mais inviável, devido ao seu alto custo e o risco que este apresenta ao analista, como comentando anteriormente.

Conforme apresentado na Tabela 6, a amostra comercial A apresentou uma concentração superior ao limite de quantificação para Cd. No entanto, a

concentração de Cd encontrada nesta amostra está dentro dos padrões exigidos pela legislação vigente, ou seja, bem abaixo do limite tolerável para goma xantana como aditivo alimentar que é de 20  $\mu\text{g g}^{-1}$ .

Para fins de validação do método empregado, testes de adição e recuperação dos analitos foram realizados e, os resultados obtidos foram satisfatórios. De acordo com Tabela 6, pode-se verificar uma faixa de recuperação que varia de 83 a 100 % para ambos analitos.

**Tabela 6:** Resultados analíticos das adições e recuperações para Cd e Pb em uma amostra comercial.

<b>Amostra</b>	<b>Concentração (<math>\text{ng g}^{-1}</math>)*</b>	<b>Recuperação (%)</b>
<b>Cd</b>		
<b>Sem adição</b>	8,0 $\pm$ 0,6 (7,5)	-
<b>Adição 500 <math>\text{ng g}^{-1}</math></b>	506,5 $\pm$ 47,3 (9,3)	99,7
<b>Adição 750 <math>\text{ng g}^{-1}</math></b>	690,2 $\pm$ 33,9 (4,9)	91,0
<b>Adição 1000 <math>\text{ng g}^{-1}</math></b>	1007,3 $\pm$ 23,4 (2,3)	99,9
<b>Pb</b>		
<b>Sem adição</b>	<LD	-
<b>Adição 1000 <math>\text{ng g}^{-1}</math></b>	830,6 $\pm$ 32,4 (3,9)	83,1
<b>Adição 5000 <math>\text{ng g}^{-1}</math></b>	4407,8 $\pm$ 137,5 (3,1)	88,2
<b>Adição 10000 <math>\text{ng g}^{-1}</math></b>	8791,1 $\pm$ 383,5 (4,4)	87,9

\* média  $\pm$  desvio padrão (desvio padrão relativo). n=3

A partir da análise das amostras comerciais de goma xantana estudadas, foi possível verificar que estas encontram-se adequadas para as mais diversas aplicações industriais, já que as amostras B e C apresentaram concentrações inferiores ao limite de detecção do método, tanto para Cd como para Pb.

Com relação à precisão do método proposto, foi possível verificar uma boa reprodutibilidade dos resultados, já que em média os RSDs obtidos para ambos analitos foram em torno de 5,0 %, garantindo assim, a confiabilidade dos resultados.

## 6. Considerações Finais

---

Através dos resultados obtidos, foi possível observar que o método proposto se apresentou de forma eficiente para a quantificação de Cd e Pb em amostras de goma xantana, já que houveram bons resultados de recuperação dos respectivos analitos, comprovando assim a exatidão do método.

O uso do sistema de refluxo adaptado aos tubos digestores mostrou-se eficiente na mineralização destas amostras, evitando-se também, possíveis perdas dos analitos por volatilização, pois trata-se de um sistema “semifechado”.

O método proposto mostrou ser uma alternativa promissora para a análise de metais tóxicos voláteis em amostras de goma xantana, o que se deve principalmente ao seu baixo custo de instrumentação. Sendo assim, o método desenvolvido irá contribuir de forma significativa no controle de qualidade dessas amostras, garantindo uma maior segurança na sua aplicação nos diversos setores industriais.

## 7. Referências Bibliográficas

---

AMORIM, F. A. C.; LOBO, I. P.; SANTOS, V. L. C. S.; FERREIRA, S. L. C. Espectrometria de absorção atômica: o caminho para determinações multi-elementares. **Química Nova**, v. 31, p. 1784-1790, 2008.

ANVISA, Agência Nacional de Vigilância Sanitária. **Resoluções: RE nº 899**, de 29 de maio de 2003.

ASTM D1428-64. (1981). **Annual book of ASTM standard**, v. 10, Philadelphia, USA.

BASTOS, V. D. Biopolímeros e polímeros de matérias-primas renováveis alternativas aos petroquímicos. **Revista do Banco Nacional do Desenvolvimento**, v. 14, p. 201-234, 2007.

BORGES, A. R.; BECKER, E. M.; DESSUY, M. B.; VALE, M. G. R.; WELZ, B. Investigation of chemical modifiers for the determination of lead in fertilizers and limestone using graphite furnace atomic absorption spectrometry with Zeeman-effect background correction and slurry sampling. **Spectrochimica Acta Part B**, v. 92, p. 1-8, 2014.

BORGES, C. D.; BASTOS, C. P.; VENDRUSCOLO, C. T. Avaliação das características físicas e químicas de gomas xantanas. **Semina: Ciências Exatas e Tecnológicas**, v. 28, p. 107-114, 2007.

BRASIL. Decreto Federal n. 3.665 de 19 de Novembro de 2000 – (R-105) do Ministério do Exército, **Lei n. 9.017**, de 30 de março de 1995 e **Resolução n. 01**, de 07 de novembro de 1995 do Ministério da Justiça; **Decreto Estadual n. 6.911**, de 19 de Janeiro de 1935 **Comunicado D. Oficial 09/08/2003** e **Portaria nº 17** – DLOG, de 28 de dezembro de 2004 e **Portaria 03-** DLOG de 16/07/2008. **Relação de produtos controlados.**

BRASIL. Ministério da Saúde - Agência Nacional de Vigilância Sanitária **Resolução - RDC n. 45**, de 3 de novembro de 2010.

BRASIL. Ministério da Saúde - Agência Nacional de Vigilância Sanitária **Resolução - RDC n. 2**, de 15 de janeiro de 2007.

BURDOCK, G. A. **Encyclopedia of food and color additives**. 1. ed. United States of America p. 1114. 1996.

CHOONG, G.; LIU, Y.; TEMPLETON, D. M. Interplay of calcium and cadmium in mediating cadmium toxicity. **Chemico-Biological Interactions**, v. 211, p. 54-65, 2014.

COMMITTEE ON FOOD CHEMICALS CODEX. **Food Chemicals Codex**. 4th ed. Washington D.C.: National Academic Press, p. 742-754, 1996.

CORREIA, P. R. M.; NOMURA, C. S.; OLIVEIRA, P. V. Espectrometria de absorção atômica multielementar: desafios e perspectivas. **Revista Analytica**, p. 52-59, 2003.

DANTAS, A. N. S.; MATOS, W. O.; GOUVEIA, S. T.; LOPES, G. S. The combination of infrared and microwave radiation to quantify trace elements inorganic samples by ICP OES. **Talanta**, v, 107, p. 292-296, 2013.

DELFT, W.; AKKER, A. H.; NIEUWENHUIZE, J.; POLEY-VOS, C. H. Comparison of microwave and conventional extraction techniques for the determination of metals in soil, sediment and sludge samples by atomic spectrometry. **Analyst**, v. 116, p. 347-351, 1991.

FARIA, S. **Otimização da produção e caracterização de goma xantana empregando caldo de cana**. 2009. 144 f. Tese (Doutorado em Engenharia Química) – Programa de Pós-Graduação em Engenharia Química, Universidade Federal de Uberlândia, Uberlândia, 2009.



FERREIRA, S. L. C.; SILVA, L. O. B.; SANTANA, F. A.; S. JUNIOR, M. M.; MATOS, G. D.; SANTOS, W. N.L. A review of reflux systems using cold finger for sample preparation in the determination of volatile elements. **Microchemical Journal**, v. 106, p. 307-310, 2013.

Ficha informativa relativa à segurança: **Isopropanol**. AB SCIEX Pte. Ltd., versão 1.01, 2011.

GARCÍA-OCHOA, F.; SANTOS, V. E.; CASAS, J. A. Xanthan gum: production, recovery, and properties. **Biotechnology Advances**, v. 18, p. 549-579, 2000.

JESUS, R. M.; JUNIOR, M. M. S.; MATOS, G. D.; SANTOS, A. M. P.; FERREIRA, S. L.C. Validation of a Digestion System Using a Digester Block/Cold Finger System for the Determination of Lead in Vegetable Foods Employing Electrothermal Atomic Absorption Spectrometry. **Journal of AOAC International**, v. 94, p. 942-946, 2011.

JUNIOR, M. M. S.; SILVA, L. O. B.; LEÃO, D. J.; FERREIRA, S. L. C. Analytical strategies for determination of cadmium in Brazilian vinegar samples using ET AAS. **Food Chemistry**, v. 160, p. 209–213, 2014.

KLAIC, P. M. M A.; NUNES, A. M.; MOREIRA, A. S.; VENDRUSCOLO, C. T.; RIBEIRO, A. S. Determination of Na, K, Ca and Mg in xanthan gum: Sample treatment by acid digestion. **Carbohydrate Polymers**, v. 83, p. 1895-1900, 2011.

KORN, M. G. A.; BOA MORTE, E.S.; SANTOS, D. C. M. B.; CASTRO, J. T.; BARBOSA, J. T. P.; TEIXEIRA, A. P.; FERNANDES, A. P.; WELZ, B.; SANTOS, W. P. C.; SANTOS, E. B. G. N.; KORN, M. Sample preparation for the determination of metals in food Samples using spectroanalytical methods – a review. **Applied Spectroscopy Reviews**, v. 43, p. 67-92, 2008.

KRUG, F. J.; **Métodos de Preparo de Amostras: Fundamentos sobre preparo de amostras orgânicas e inorgânicas para análise elementar**. 1ª ed. Piracicaba, p. 340, 2010.

LEMOS, V. A. L.; CARVALHO, A. L. Determination of cadmium and lead in human biological samples by spectrometric techniques: a review. **Environmental Monitoring and Assessment**, v. 171, p. 255-265, 2010

LENARDÃO, E. J.; FREITAG, R. A.; DABDOUB, M. J.; BATISTA, A. C. F.; SILVEIRA, C. C. "Green Chemistry" – os 12 princípios da química verde e sua inserção nas atividades de ensino e pesquisa. **Química Nova**, v. 26, p. 123-129, 2003.

LONG, G. L.; WINEFORDNER, J. D. Limit of detection: a closer look at the IUPAC definition. **Analytical Chemistry**, v. 55, p. 712-724, 1983.

LUVIELMO, M. M.; SCAMPARINI, A. R. P. Goma xantana: produção, recuperação, propriedades e aplicação. **Estudos tecnológicos**, v. 5, p. 50-67, 2009.

MACHADO, B. A. S.; REIS, J. H. H. O.; FIGUEIREDO, T. V. B.; DRUZIAN, J. I. Technology mapping of xanthan gum with a focus on patent applications filed worldwide from 1970 to 2009. **Revista GEINTEC**, v. 2, p. 154-165, 2012.

MANASI, V. R.; KUMAR, A. S. K.; RAJESH, N. Biosorption of cadmium using a novel bacterium isolated from an electronic industry effluent. **Chemical Engineering Journal**, v. 235, p. 176-185, 2014.

MARANHÃO, T. A.; BORGES, D. L. G.; Da VEIGA, M. A. M. S.; CURTIUS, A. J. Cloud point extraction for the determination of cadmium and lead in biological samples by graphite furnace atomic absorption spectrometry. **Spectrochimica Acta Part B**, v. 60, p. 667-672, 2005

MENEZES, J. D.S.; DRUZIAN, J. I.; PADILHA, F. F.; SOUZA, R. R. Produção biotecnológica de goma xantana em alguns resíduos agroindustriais, caracterização e aplicações. **Revista Eletronica em Gestão, Educação e Tecnologia Ambiental**, v. 8, p. 1761-1776, 2012.

MERA, R.; TORRES, E.; Abalde, J. Sulphate, more than a nutrient, protects the microalga *Chlamydomonas moewusii* from cadmium toxicity. **Aquatic Toxicology**, v. 148, p. 92-103, 2014.

MESOMO, C. M. **Produção de goma xantana em biorreator utilizando meio à base de soro de queijo**. 2007. 81 f. Dissertação (Mestrado em Engenharia de Alimentos) - Programa de Mestrado em Engenharia de Alimentos, Universidade Regional Integrada do Alto Uruguai e das Missões, Erechim, 2007.

MITRA, S. **Sample preparation techniques in analytical chemistry**. John Wiley & Sons, New Jersey, p. 472, 2003.

NERY, T. B. R.; BRANDÃO, L. V.; ESPERIDIÃO, M. C. A.; DRUZIAN, J. I.; Biosynthesis of xanthan gum from the fermentation of milk whey: productivity and viscosity. **Química Nova**, v. 31, p. 1937-1941, 2008.

OLIVEIRA, E. Sample Preparation for Atomic Spectroscopy: Evolution and Future Trends. **Journal Brazilian Chemical Society**, v. 14, p. 174-182, 2003.

OLIVEIRA, P. V.; SILVA, C. S.; NOMURA, C. S. Análise direta de sólidos por espectrometria de absorção atômica com atomização em forno de grafite: uma revisão. **Química Nova**, v. 31, p. 104-113, 2008.

ORESTE, E. Q.; OLIVEIRA, R. M.; NUNES, A. M.; VIEIRA, M. A.; RIBEIRO, A. S. New design of cold finger for sample preparation in open system: Determination of Hg in biological samples by CV-AAS. **Microchemical Journal**, v. 109, p. 5-9, 2013a.

ORESTE, E. Q.; JESUS, A.; OLIVEIRA, R. M.; SILVA, M. M.; VIEIRA, M. A.; RIBEIRO, A. S. Sample preparation methods for determination of Cd, Pb and Sn in meat samples by GFAAS: use of acid digestion associated with a cold finger apparatus versus solubilization methods. **Analytical Methods**, v. 5, p. 1590-1595, 2013b.

ORESTE, E. Q. **Avaliação de diferentes métodos de preparo de amostras biológicas para determinação de Hg, Cd, Pb e Sn por espectrometria de absorção atômica.** 2013. 188 f. Dissertação (Mestrado em Química) – Programa de Pós-Graduação em Química, Universidade Federal de Pelotas, Pelotas, 2013c.

PANDEY, S.; MISHRA, S. Microwave synthesized xanthan gum-g-poly (ethylacrylate): An efficient  $Pb^{2+}$  ion binder. **Carbohydrate Polymers.** v. 90, p. 370-379, 2012.

PICHLER, U.; HAASE, A.; KNAPP, G. Microwave-Enhanced Flow System for High-Temperature Digestion of Resistant Organic Materials. **Analytical Chemistry**, v 71, p. 4050-4055, 1999.

PICOLOTO, R. S.; WILTSCHKE, H.; KNAPP, G.; MELLO, P. A.; BARIN, J. S.; FLORE, E. M. M. Determination of inorganic pollutants in soil after volatilization using microwave-induced combustion. **Spectrochimica Acta Part B**, v. 86, p. 123-130, 2013.

QIAO, H; JACKSON, K. W. Mechanism of modification by palladium in graphite furnace atomic absorption spectrometry. **Spectrochimica Acta part B**, v. 46, p. 1841-1859, 1991.

RIBEIRO, C. M. C. da M. **Estabelecimento de uma rotina laboratorial para análise química de sedimentos e sua aplicação a sedimentos continentais do Minho (NW Portugal): contribuição para a reconstituição paleoambiental da região.** 2005. 205 f. Dissertação (Mestrado em Ciências do Ambiente) - Departamento de Ciências da Terra, Universidade do Minho, Portugal, 2005.

SARASWATI, R.; VETTER, T. W.; WATTERS JR, R. L. Comparison of reflux and microwave oven digestion for the determination of arsenic and selenium in sludge reference material using flow injection hydride generation and atomic absorption spectrometry. **Analyst**, v. 120, p. 95-99, 1995a.

SARASWATI, R.; VETTER, T. W.; WATTERS JR, R. L. Determination of arsenic, selenium and mercury in an estuarine sediment standard reference material using flow injection and atomic absorption spectrometry. **Mikrochimica. Acta**, v. 118, p. 163-175, 1995b.

SARASWATI, R.; WATTERS JR, R. L. Determination of arsenic and selenium in Spinach and tomato leaves reference materials using flow injection and atomic absorption spectrometry. **Talanta**, v. 41, p. 1781-1790, 1994.

SCHLEMMER, G.; WELZ, B. Palladium and magnesium nitrates, a more universal modifier for graphite furnace atomic absorption spectrometry. **Spectrochimica Acta**, v. 41, p.1157-1165, 1986.

SCHMIDELL, W.; LIMA, U. A.; AQUARONE, E.; BORZANI, W. **Biotecnologia Industrial**. 1ª ed. v. 2. São Paulo: Edgar Blücher, 541 f. 2001.

SILVA, D. G.; SCARMINIO, I. S.; ANUNCIAÇÃO, D. S.; SOUZA, A. S.; SILVA, E. G. P.; FERREIRA, S. L. C. Determination of the mineral composition of Brazilian rice and evaluation using chemometric techniques. **Analytical Methods**, v. 5, p. 998-1003, 2013.

SILVA, M. F.; FORNARI, R. C. G.; MAZUTTI, M. A.; OLIVEIRA, D.; PADILHA, F. F.; CICHOSKI, A. J.; CANSIAN, R. L.; DI LUCCIO, M.; TREICHEL, H. Production and characterization of xanthan gum by *Xanthomonas campestris* using cheese whey as sole carbon source. **Journal of Food Engineering**, v. 90, p. 119-123, 2009.

SKOOG, D. A.; HOLLER, F. J.; CROUCH S. R. **Princípios de análise instrumental** – 6ª ed - Porto Alegre; Bookman, 2009.

VARAKSIN, A.; KATSNELSON, B.; PANOV, V.; PRIVALOVA, L.; KIREYEVA, E.; VALAMINA, I. E.; BERESNEVA, O. Y. Some considerations concerning the theory of combined toxicity: A case study of subchronic experimental intoxication

with cadmium and lead. **Food and Chemical Toxicology**, v. 64, p. 144-156, 2014.

VARELA, J. W. **Produção de goma xantana utilizando casca de soja como substrato em cultivo submerso e cultivo semi-sólido**. 2008. 70 f. Dissertação (Mestrado em Ciência e Tecnologia de Alimentos) – Programa de Pós-Graduação em Ciências e Tecnologia de Alimentos, Universidade Federal do Rio Grande do Sul, Porto Alegre, 2008.

VOLYNSKY, A. B. Catalytic processes in graphite furnaces for electrothermal atomic absorption spectrometry. **Spectrochimica Acta part B**, v. 51, p. 1573-1589, 1996.

WELZ, B; SPERLING, M. **Atomic Absorption Spectrometry** – 3<sup>a</sup> ed., Completely Revised Edition -WILEY-VCH Verlag GrnbH, 1999.

YUAN, G.; DAI, S.; YIN, Z.; LU, H.; JIA, R.; XU, J.; SONG, X.; LI, L.; SHU, Y.; ZHAO, X. Toxicological assessment of combined lead and cadmium: Acute and sub-chronic toxicity study in rats. **Food and Chemical Toxicology**, v. 65, p. 260-268, 2014.

ZHANG, S.; XU, F.; ZHANG, Y. W. W.; PENG, X.; PEPE, F. Silica modified Calcium alginate–xanthan gum hybrid bead composites for the removal and recovery of Pb (II) from aqueous solution. **Chemical Engineering Journal**, v. 234, p. 33-42, 2013.