



UNIVERSIDADE  
ESTADUAL DE LONDRINA

---

FERNANDA GARCIA DE ALMEIDA

**AVALIAÇÃO DO DESEMPENHO ADSORTIVO DO  
COPOLÍMERO POLI(VINILPIRIDINA-CO-PROTOPORFIRINA)  
PARA PRÉ-CONCENTRAÇÃO DE  $\text{Co}^{2+}$  EMPREGANDO  
SISTEMA DE ANÁLISE POR INJEÇÃO EM FLUXO**

---

Londrina  
2019

FERNANDA GARCIA DE ALMEIDA

**AVALIAÇÃO DO DESEMPENHO ADSORTIVO DO  
COPOLÍMERO POLI(VINILPIRIDINA-CO-PROTOPORFIRINA)  
PARA PRÉ-CONCENTRAÇÃO DE  $\text{Co}^{2+}$  EMPREGANDO  
SISTEMA DE ANÁLISE POR INJEÇÃO EM FLUXO**

Dissertação de Mestrado apresentada à  
Universidade Estadual de Londrina, como parte  
das exigências do Programa de Pós-Graduação  
em Química, Curso de Mestrado em Química,  
como requisito para a obtenção do título de Mestre  
em Química

Acadêmica: Fernanda Garcia de Almeida  
Orientador: Prof. Dr. César Ricardo Teixeira Tarley

Londrina  
2019

Ficha de identificação da obra elaborada pelo autor, através do Programa de Geração Automática do Sistema de Bibliotecas da UEL

Almeida, Fernanda Garcia de Almeida.

Avaliação do desempenho adsorptivo do copolímero poli(vinilpiridina-Co-protoporfirina) para a pré-concentração de  $\text{Co}^{2+}$  empregando sistema de análise por injeção em fluxo / Fernanda Garcia de Almeida Almeida. - Londrina, 2019.  
128 f. : il.

Orientador: César Ricardo Teixeira Tarley Tarley.

Dissertação (Mestrado em Química) - Universidade Estadual de Londrina, Centro de Ciências Exatas, Programa de Pós-Graduação em Química, 2019.  
Inclui bibliografia.

1. Cobalto - Tese. 2. Protoporfirina. poli(protoporfirina-co-vinilpiridina) - Tese. 3. Extração em fase sólida - Tese. 4. FIA-FAAS - Tese. I. Tarley, César Ricardo Teixeira Tarley. II. Universidade Estadual de Londrina. Centro de Ciências Exatas. Programa de Pós-Graduação em Química. III. Título.

FERNANDA GARCIA DE ALMEIDA

**AVALIAÇÃO DO DESEMPENHO ADSORTIVO DO COPOLÍMERO  
POLI(VINILPIRIDINA-CO-PROTOPORFIRINA) PARA PRÉ-  
CONCENTRAÇÃO DE  $\text{Co}^{2+}$  EMPREGANDO SISTEMA DE ANÁLISE POR  
INJEÇÃO EM FLUXO**

Dissertação de Mestrado apresentada à Universidade Estadual de Londrina, como parte das exigências do Programa de Pós-Graduação em Química, Curso de Mestrado em Química, como requisito para a obtenção do título de Mestre em Química

**BANCA EXAMINADORA**

---

Orientador: Prof. Dr. César Ricardo Teixeira  
Tarley  
Universidade Estadual de Londrina - UEL

---

Profa. Dra. Vanessa Nunes Alves  
Universidade Federal de Goiás - UFG

---

Prof. Dr. Luiz Henrique Dall'Antonia  
Universidade Estadual de Londrina - UEL

Londrina, 24 de junho de 2019.

Dedico este trabalho aos meus pais (Cristiane e Wanderley)  
e ao meu irmão (Daniel), que estiveram ao meu lado  
me apoiando a cada momento desses dois anos.  
Meu eterno amor a vocês!

## **AGRADECIMENTOS**

Agradeço ao meu orientador, professor César Ricardo Teixeira Tarley, por todos os ensinamentos, paciência, compreensão, confiança, e por todo o incentivo na carreira acadêmica. Agradeço também por todas as oportunidades concedidas por ele no decorrer desses dois anos. Meus sinceros agradecimentos.

A banca, professora Vanessa Nunes Alves e professor Luiz Henrique Dall'Antonia, pelo aceite ao convite, acredito que os dois tem muito a contribuir para a minha formação e ao meu trabalho.

A todos os professores que passaram por meu caminho contribuindo para a minha formação profissional.

A Universidade Estadual de Londrina, instituição que me acolheu durante toda minha formação

Ao programa de Pós-Graduação em Química da UEL.

A Capes, pela bolsa concedida.

A todas as agências de fomento.

## **AGRADECIMENTOS PESSOAIS**

A Deus, por ter me dado forças e me capacitado a cada dia do meus mestrado, por nunca me abandonar e diariamente me mostrar Sua presença em minha vida.

A mãezinha Maria, por ter intercedido por cada momento.

A minha família, mamãe, papai e Dani, pela confiança, motivação e por serem minha base. Amo vocês.

A minha irmã e meus sobrinhos, por mesmo longe se fazerem presentes em minha vida.

Agradeço a minha avó, Marleny, que infelizmente foi morar junto de Deus durante meu mestrado, por ter me incentivado a ser uma pessoa sempre melhor.

Aos colegas e amigos do grupo de pesquisa que me ajudaram no desenvolvimento do meu trabalho, de modo especial agradeço a Alexandra, Maiyara, Fábio, Leandro, Marianne, Maurício, Túlio, Felipe Gorla, Caroline Teixeira e Guilherme Orlandin.

As minha amigas de laboratório, Maria, Luciane, Milena, Paula, Érica, Lívia, Beatriz, Beatriz Helena, Caroline Santana e Thalita, pela companhia diária e sempre deixar a rotina de laboratório mais fácil e mais gostosa. Obrigada meninas!

Aos meus amigos que são presentes de Deus na minha vida, Ana Carolina, Lucas Maia, Gabriel Barros, Rômulo, Eduardo Caetano, Julia Rosseto, Rebeka, Alan Luiz e tantos outros.

Aos amigos do grupo Dom Bosco, por me proporcionarem momentos mais íntimos com Deus.

A todos que, de alguma forma, colaboraram para a realização deste trabalho.

“A melhor maneira que o homem dispõe para se aperfeiçoar, é aproximar-se de Deus.”

Pitágoras

ALMEIDA, F. G. **Avaliação do desempenho adsorptivo do copolímero poli(vinilpiridina-co-protoporfirina) para pré-concentração de  $\text{Co}^{2+}$  empregando sistema de análise por injeção em fluxo.** 2019. 128 f. Dissertação (Mestrado em Química) - Departamento de Química, Universidade Estadual de Londrina, Londrina, 2019.

## RESUMO

A quantificação de cobalto em amostras alimentícias e ambientais torna-se importante considerando que tanto seu excesso quanto sua falta pode ser prejudicial à saúde. A técnica de absorção atômica com chama (F AAS) é amplamente utilizada para a quantificação de cobalto, entretanto, devido sua baixa sensibilidade, o acoplamento do F AAS com as técnicas de pré-concentração, como a extração em fase sólida (SPE), se faz necessário. O desempenho da SPE é intimamente ligado as características do material adsorvente, como: capacidade adsorptiva e seletiva, resistência química e resistência ao inchaço frente a fluidos. Assim, a busca por novos materiais que tendem a melhorar tais características são alvo de pesquisa na área das técnicas de separações. Este estudo objetivou sintetizar copolímeros poli(protoporfirina-co-vinilpiridina) com diferentes proporções de 4-vinilpiridina (4VP) e protoporfirina (PP) para o desenvolvimento de um método de pré-concentração on-line de  $\text{Co}^{2+}$  e posterior determinação por F AAS acoplada a análise de injeção em fluxo (FIA-FAAS). A PP foi escolhida visto o caráter quelante que possui. Avaliou-se o desempenho do material como adsorvente no processo de pré-concentração de  $\text{Co}^{2+}$ . O material que apresentou melhor desempenho (5,0 mmol de 4VP e 0,1 mmol de PP - poli(4VP-PP)(5/0,1)) foi escolhido para a sequência dos estudos. A partir do estudo univariado do pH, do planejamento fatorial fracionário  $2^{5-1}$  e da matriz de Doehlert, as condições otimizadas para o método de pré-concentração on-line de íons  $\text{Co}^{2+}$  foram: pH 9,0, tampão Tris-HCl  $0,01 \text{ mol L}^{-1}$ , 50,0 mg de adsorvente na minicoluna, vazão de pré-concentração de  $7,4 \text{ mL min}^{-1}$  (20,0 mL) e concentração de eluente ( $\text{HNO}_3$ ) igual a  $2,0 \text{ mol L}^{-1}$ . O uso do polímero poli(4VP-PP)(5/0,1) possibilitou o desenvolvimento de um método de pré-concentração on-line de íons  $\text{Co}^{2+}$  acoplado ao F AAS com menor limite de detecção (LD), limite de quantificação (LQ), índice de consumo (IC), e maiores fator de pré-concentração (FP) e eficiência de pré-concentração (EP) comparado com o adsorvente sintetizado sem a PP, poli(4VP). Sob as condições otimizadas, com o uso do polímero poli(4VP-PP)(5/0,1) a faixa linear obtida para a curva analítica foi de 4,60 a  $200 \mu\text{g L}^{-1}$ , e o FP foi de 38 vezes. O LD, LQ, IC e EP foram  $1,38 \mu\text{g L}^{-1}$ ,  $4,60 \mu\text{g L}^{-1}$ , 0,53 mL e  $14,07 \text{ min}^{-1}$ , respectivamente. A frequência analítica obtida foi de 22 análises por hora. O método desenvolvido com uso do poli(4VP-PP)(5/0,1) apresentou menor interferência frente a vários íons contaminantes e foi mais seletivo para  $\text{Co}^{2+}$  do que quando usado o poli(4VP). Pode-se inferir que o método de pré-concentração on-line de  $\text{Co}^{2+}$  e posterior determinação por FIA-FAAS desenvolvido, fazendo uso do adsorvente poli(4VP-PP)(5/0,1), apresentou resultados analíticos satisfatórios, podendo ser aplicado em amostras de diferentes matrizes (água, cacau em pó, chá preto) e que, além de agregar melhoria nos parâmetros analíticos do método, o uso da PP resultou em um polímero com melhores propriedades hidrodinâmicas para ser utilizado em minicoluna.

**Palavras-chave:** Cobalto. Protoporfirina. poli(protoporfirina-co-vinilpiridina). Extração em fase sólida. FIA-FAAS.

ALMEIDA, F. G. **Evaluation of the adsorptive performance of the poly (vinylpyridine-co-protoporphyrin) copolymer for  $\text{Co}^{2+}$  preconcentration using flow injection analysis system.** 2019. Dissertation (Master of Chemistry) – Chemistry Department, Londrina State University, Londrina, 2019.

## ABSTRACT

Cobalt quantification of cobalt in food and environmental samples is of paramount importance considering that its excess and its lack can be harmful to health. The flame atomic absorption spectrometry (F AAS) is widely used for the quantification of cobalt; however, due to its low sensitivity, the coupling of F AAS with preconcentration techniques, such as solid phase extraction (SPE), is necessary. The performance of SPE is closely linked to adsorbent material characteristics, such as: adsorptive and selective capacity, chemical resistance and resistance to swelling against fluids. Thus, the search for new materials that tend to improve such characteristics are the subject of research in the area of separation techniques. This study aimed to synthesize poly(protoporphyrin-co-vinylpyridine) copolymers with different proportions of PP and 4-vinylpyridine (4VP), for the development of an on-line  $\text{Co}^{2+}$  preconcentration method and subsequent determination by F AAS coupled to flow injection analysis (FIA-FAAS). The PP was chosen because of its chelating character. The performance of the material as adsorbent in the  $\text{Co}^{2+}$  preconcentration process was evaluated. The material that showed the best performance (5.0 mmol of 4VP and 0.1 mmol of PP - poly (4VP-PP)(5 / 0.1)) was chosen for the sequence of the studies. From the univariate pH study,  $2^{5-1}$  fractional factorial design and from the Doehlert matrix, the optimized conditions for the on-line  $\text{Co}^{2+}$  preconcentration method were found to be: pH 9.0, 0.01 mol  $\text{L}^{-1}$  Tris-HCl buffer, 50.0 mg of adsorbent in the mini-column, preconcentration flow rate of 7.4 ml  $\text{min}^{-1}$  (20.0 mL) and eluent concentration ( $\text{HNO}_3$ ) equal to 2.0 mol  $\text{L}^{-1}$ . The use of the poly(4VP-PP)(5/0.1) polymer allowed the development of an on-line  $\text{Co}^{2+}$  preconcentration method coupled to the F AAS with satisfactory analytical characteristics, presenting lower limit of detection (LD), limit of quantification (LQ), consumption index (CI) and higher preconcentration factor (PF) and preconcentration efficiency (PE) when compared to the adsorbent synthesized without PP, poly(4VP). Under optimized conditions, using the P1 polymer the linear range obtained for the analytical curve was 4.61 to 200  $\mu\text{g L}^{-1}$ , the PF was 38 times. the LD, LQ, CI and PE equal to 1.38  $\mu\text{g L}^{-1}$ , 4.61  $\mu\text{g L}^{-1}$ , 0.53 mL and 14.07  $\text{min}^{-1}$ , respectively. The analytical frequency was 22 analyzes per hour. The method developed with the use of poly(4VP-PP)(5 / 0.1) was prove to less interference front several contaminant ions and it was more selective for  $\text{Co}^{2+}$  when using poly(4VP). It can be inferred that the on-line preconcentration method of  $\text{Co}^{2+}$  and subsequent determination by FIA-FAAS developed using the adsorbent poly (4VP-PP) (5/ 0.1), presented satisfactory analytical results and can be applied in samples from different matrices (water, cocoa powder, black tea) and that, in addition to improving the analytical parameters of the method, the use of PP.

**Key words:** Cobalt. Protoporphyrin. poly (protoporphyrin-co-vinylpyridine). Solid phase extraction. FI-FAAS.

## LISTA DE ILUSTRAÇÕES

<b>Figura 1</b> – Representação esquemática de uma minicoluna utilizada no método de pré-concentração em fase sólida on-line acoplada ao F AAS.....	29
<b>Figura 2</b> – Reações envolvidas na etapa de pré-concentração e eluição do ciano complexo de $\text{Co}^{2+}$ com alumina como adsorvente.....	34
<b>Figura 3</b> – Estrutura da molécula protoporfirina.....	38
<b>Figura 4</b> - Estrutura da vitamina B12 (A) e complexo formado entre a protoporfirina e o cobalto (B).....	42
<b>Figura 5</b> - Diagrama de Pareto para um experimento fictício.....	45
<b>Figura 6</b> - Distribuição dos pontos experimentais em uma matriz de Doehlert.....	46
<b>Figura 7</b> - Foto do banho de óleo e frasco reacional utilizado na síntese dos polímeros.....	52
<b>Figura 8</b> - Imagens polímeros sintetizados.....	53
<b>Figura 9</b> – Esquema representativo da formação da cadeia polimérica do polímero poli(protoporfirina-co-inilpiridina).....	54
<b>Figura 10</b> – Esquema representativo da formação da cadeia polimérica do polímero poli(4VP).....	55
<b>Figura 11</b> – Sistema de pré-concentração (A) e eluição (B) em fluxo utilizado no desenvolvimento do método de pré-concentração de íons $\text{Co}^{2+}$ .....	57
<b>Figura 12</b> - Foto da minicoluna recheada com poli(4VP-PP)(5/0,1) (A) e foto do sistema injetor comutador contendo a minicoluna recheada com poli(4VP-PP)(5/0,1) (B).....	58
<b>Figura 13</b> – Espectros FT-IR dos polímeros poli(4VP-PP)(5/0,1) (A e C) e poli(4VP) (B e D).....	68
<b>Figura 14</b> – Espectro FT-IR dos polímeros sintetizados na faixa de 1510 a 1700 $\text{cm}^{-1}$ .....	70
<b>Figura 15</b> – Isotermas de adsorção e dessorção de nitrogênio dos polímeros sintetizados.....	73
<b>Figura 16</b> – Micrografias Eletrônica de Varredura para os polímeros sintetizados, com ampliação de 100 vezes. (A) poli(4VP-PP)(5/0,1); (B) poli(4VP); (C) poli(4VP-PP)(5,075/0,025); (D) poli(4VP-PP)(5,099/0,001); (E) poli(4VP-PP)(4,9/0,2).....	75
<b>Figura 17</b> – Micrografias Eletrônica de Varredura para os polímeros sintetizados com	

ampliação de 20000 vezes. Micrografias Eletrônica de Varredura para os polímeros sintetizados, com ampliação de 100 vezes. (A) poli(4VP-PP)(5/0,1); (B) poli(4VP); (C) poli(4VP-PP)(5,075/0,025); (D) poli(4VP-PP)(5,099/0,001); (E) poli(4VP-PP)(4,9/0,2).....76

**Figura 18** - Comparação do desempenho dos polímeros como adsorventes no processo de pré-concentração dos íons  $\text{Co}^{2+}$  por meio do sinal analítico absorvância. Condições: 10,0 mL de solução de 200,0  $\mu\text{g L}^{-1}$  de  $\text{Co}^{2+}$  (pH 9,0; 0,1  $\text{mol L}^{-1}$  de tampão Tris-HCl); minicoluna contendo 50,0 mg dos respectivos polímeros; vazão de 5,0  $\text{mL min}^{-1}$ .....81

**Figura 19** – Estudo do efeito do pH na pré-concentração de íons  $\text{Co}^{2+}$  utilizando diferentes polímeros.....84

**Figura 20** – Distribuições das espécies de cobalto considerando concentração na ordem de  $10^{-6} \text{ mol L}^{-1}$ .....86

**Figura 21** – Efeito da presença do tampão no processo de pré-concentração de íons  $\text{Co}^{2+}$ .....87

**Figura 22** – Diagrama de Pareto utilizado na avaliação das variáveis no processo de pré-concentração de íons  $\text{Co}^{2+}$ , considerando como variável resposta a absorvância (A) e a eficiência de sensibilidade (B).....90

**Figura 23** – Superfície de resposta obtida a partir da matriz de Doehlert considerando como variável resposta a eficiência de sensibilidade.....93

**Figura 24** – Curvas analíticas: (A) pré-concentração de íons  $\text{Co}^{2+}$  utilizando como adsorvente o polímero poli(4VP-PP)(5/0,1) e sem a etapa de pré-concentração; (B) pré-concentração de íons  $\text{Co}^{2+}$  utilizando como adsorvente o polímero poli(4VP) e sem a etapa de pré-concentração.....96

**Figura 25** – Curvas analíticas utilizando poli(4VP-PP)(5/0,1) e poli(4VP) como adsorventes no processo de pré-concentração de íons  $\text{Co}^{2+}$ .....96

**Figura 26** – Curva de ruptura/exaustão do polímero poli(4VP-PP)(5/0,1).  $C_{\text{final}}$ : concentração de  $\text{Co}^{2+}$  no efluente da minicoluna;  $C_{\text{inicial}}$ : concentração de  $\text{Co}^{2+}$  na solução inicial (1,0  $\text{mg L}^{-1}$ ).....100

**Figura 27** – Espectros FT-IR dos polímeros poli(4VP-PP)(5,075/0,025) (A), poli(4VP-PP)(5,099/0,001) (B) e poli(4VP-PP)(4,9/0,2) (C).....128

## LISTA DE TABELAS

<b>Tabela 1</b> – Proporções de protoporfirina e 4-vinilpiridina utilizadas no procedimento de síntese de cada polímero.....	52
<b>Tabela 2</b> – Variáveis independentes e níveis descodificados (inferior e superior) utilizadas no delineamento experimental.....	60
<b>Tabela 3</b> – Matriz de Doehlert utilizada para a otimização do método de pré-concentração de íons $\text{Co}^{2+}$ .....	61
<b>Tabela 4</b> - Proporções de íon $\text{Co}^{2+}$ : íon contaminante (m/m) empregadas nos estudos de íons contaminantes para pré-concentração de $\text{Co}^{2+}$ com poli(4VP-PP)(5/0,1).....	63
<b>Tabela 5</b> – Proporções de íon $\text{Co}^{2+}$ : íon contaminante (m/m) empregadas nos estudos de íons contaminantes para pré-concentração de $\text{Co}^{2+}$ com poli(4VP).....	64
<b>Tabela 6</b> – Área de superfície, volume e diâmetro de poros dos polímeros sintetizados...	71
<b>Tabela 7</b> – Porcentagem de carbono, hidrogênio e nitrogênio em cada polímero sintetizado.....	77
<b>Tabela 8</b> – Porcentagem molar encontrada para monômero utilizado na síntese dos polímeros antes e após a polimerização.....	78
<b>Tabela 9</b> - Caráter hidrofílico dos polímeros sintetizados expressado como porcentagem de Teor de Água em Equilíbrio (%TAE).....	80
<b>Tabela 10</b> – Variáveis, níveis descodificados e respostas analíticas (absorbância e eficiência de sensibilidade) obtidas pela matriz do planejamento fatorial fracionário $2^{5-1}$ .....	88
<b>Tabela 11</b> – Matriz de Doehlert para a variável vazão de pré-concentração e concentração do tampão.....	92
<b>Tabela 12</b> – Análise de variância (ANOVA).....	93
<b>Tabela 13</b> – Parâmetro analíticos para os métodos obtidos com o uso do poli(4VP-PP)(5/0,1) e poli(4VP) como adsorvente no processo de pré-concentração de íons $\text{Co}^{2+}$ .....	97
<b>Tabela 14</b> – Comparação do método proposto com outros métodos de pré-concentração de íons $\text{Co}^{2+}$ e determinação por F AAS, utilizando como modalidade de pré-concentração a SPE.....	99

<b>Tabela 15</b> – Efeito dos íons contaminantes no processo de pré-concentração on-line de íons $\text{Co}^{2+}$ com poli(4VP-PP)(5/0,1).....	102
<b>Tabela 16</b> – Efeito dos íons contaminantes no processo de pré-concentração on-line de íons $\text{Co}^{2+}$ com poli(4-VP).....	104
<b>Tabela 17</b> – Aplicação do método proposto para a determinação de $\text{Co}^{2+}$ em amostras de água.....	105
<b>Tabela 18</b> - Aplicação do método proposto para a determinação de $\text{Co}^{2+}$ em amostras de cacau em pó 70%.....	106
<b>Tabela 19</b> - Aplicação do método proposto para a determinação de $\text{Co}^{2+}$ em amostras de chá preto.....	107
<b>Tabela 20</b> - Aplicação do método proposto para a determinação de $\text{Co}^{2+}$ em material certificado de referência.....	108

## LISTA DE QUADROS

<b>Quadro 1</b> – Adsorventes modificados empregados para a pré-concentração de $\text{Co}^{2+}$ .....	31
<b>Quadro 2</b> – Faixa de pH com maior predominância de $\text{Co}^{2+}$ de acordo com a faixa de pré-concentração.....	86

## LISTA DE ABREVIATURAS E SIGLAS

4-VP – 4-vinilpiridina

AIBN - 2,2'-azobis-iso-butironitrila

ANOVA – Análise de Variância

ANVISA – Agência Nacional de Vigilância Sanitária

CONAMA – Conselho Nacional de Meio Ambiente

CPE - Extração em ponto nuvem (do inglês: Cloud Point Extraction)

DLLME - Microextração Líquido-Líquido dispersiva (do inglês: Dispersive liquid-liquid microextraction)

EGDMA - Dimetacrilato de Etilenoglicol

E TAAS - Epectrometria de Absorção Atômica com Atomização Eletrotérmica (do inglês: Electrothermal Atomic Absorption Spectroscopy)

F AAS - Espectrometria de Absorção Atômica em Chama (do inglês: Flame Atomic Absorption Spectrometry)

FIA – Análise de Injeção em Fluxo (do inglês: Flow Injection Analysis)

FI-FAAS – Sistema de injeção em fluxo acoplado a Espectrometria de Absorção Atômica em Chama

FP – Fator de pré-concentração

FT-IR - Espectroscopia na região do infravermelho com transformada de Fourier

ICP-MS – Espectrometria de Aassas com Fonte de Plasma Acoplado Indutivamente (do inglês: Inductively Coupled Plasma Mass Spectrometry)

ICP-OES – Espectrometria de Emissão Óptica com Fonte de Plasma Indutivamente Acoplado (do inglês: Inductively Coupled Plasma Optical Emission Spectrometry)

IUPAC – União Internacional de Química Pura e Aplicada

LD – Limite de Detecção

LLE - Extração Líquido-líquido (do inglês: Liquid-Liquid Extraction)

LQ – Limite de pré-concentração

MEV – Microscopia Eletrônica de Varredura

pKa -  $-\log [K_a]$  [Constante de dissociação ácida (Ka)]

poli(4VP) – polímero sintetizado apenas com monômero 4-vinilpiridina

poli(4VP-PP)(5,099/0,001) - polímero sintetizado com 5,099 mmol de 4-vinilpiridina e 0,001 mmol de protoporfirina

poli(4VP-PP)(5,075/0,025) - polímero sintetizado com 5,075 mmol de 4-vinilpiridina e 0,025 mmol de protoporfirina

poli(4VP-PP)(5/0,1) – polímero sintetizado com 5,0 mmol de 4-vinilpiridina e 0,1 mmol de protoporfirina

poli(4VP-PP)(4,9/0,2) - polímero sintetizado com 4,9 mmol de 4-vinilpiridina e 0,2 mmol de protoporfirina

PP - Protoporfirina

SPE – Extração de fase sólida (do inglês: Solid Phase Extraction)

## SUMÁRIO

1	<b>INTRODUÇÃO</b> .....	18
2	<b>REVISÃO BIBLIOGRÁFICA</b> .....	22
2.1	Cobalto: Aplicações, saúde, fontes e legislações .....	22
2.2	Técnicas Analíticas para quantificação de Cobalto .....	24
2.3	Métodos de pré-concentração empregados para quantificação de Cobalto .....	26
2.4	Materiais adsorventes para pré-concentração de cobalto .....	29
2.5	O emprego de protoporfirina no preparo de fases sólidas adsorventes .....	37
2.6	Otimização de métodos de pré-concentração .....	43
3	<b>OBJETIVOS</b> .....	47
3.1	Objetivo geral.....	47
3.2	Objetivos específicos .....	47
4	<b>EXPERIMENTAL</b> .....	49
4.1	Reagentes e soluções .....	49
4.2	Instrumentação .....	50
4.3	Procedimento de sínteses dos polímeros .....	51
4.4	Medidas do teor de água em equilíbrio (Efeito Swelling) .....	56
4.5	Sistema de pré-concentração on-line de $\text{Co}^{2+}$ utilizando o sistema FIA-FAAS .....	56
4.6	Comparação do desempenho adsorativo dos materiais .....	58
4.7	Estudo da influência do pH e do tampão na pré-concentração de $\text{Co}^{2+}$ .....	59
4.8	Otimização do método proposto para pré-concentração de íons $\text{Co}^{2+}$ em sistema FIA-FAAS .....	59
4.9	Desempenho analítico do método de pré-concentração de $\text{Co}^{2+}$ .....	61
4.10	Estudo da capacidade exaustiva .....	62
4.11	Efeito de íons contaminantes na pré-concentração de íons $\text{Co}^{2+}$ .....	63

4.12	Aplicação do método proposto em amostras reais e material certificado .....	65
5	<b>RESULTADOS E DISCUSSÃO</b> .....	68
5.1	Caracterização do material .....	68
5.1.1	<i>Espectroscopia no infravermelho (FT-IR)</i> .....	68
5.1.2	<i>Fisiossorção de gás N<sub>2</sub></i> .....	70
5.1.3	<i>Microscopia Eletrônica de Varredura (MEV)</i> .....	74
5.1.4	<i>Análise elementar (CHN)</i> .....	77
5.1.5	<i>Medidas de teor de água em equilíbrio (Efeito Swelling)</i> .....	79
5.2	Comparação dos materiais .....	81
5.3	Estudo do pH e efeito do tampão .....	83
5.4	Otimização do método proposto para pré-concentração de íons Co <sup>2+</sup> em sistema FIA-FAAS .....	87
5.5	Parâmetros analíticos do método proposto .....	94
5.6	Estudo da capacidade exaustiva .....	100
5.7	Efeito de íons contaminantes na pré-concentração de íons Co <sup>2+</sup> .....	101
5.8	Aplicação do método proposto em amostras reais .....	105
6	<b>CONSIDERAÇÕES FINAIS</b> .....	109
	<b>REFERÊNCIAS</b> .....	111
	<b>ANEXO 1</b> .....	128

## 1 INTRODUÇÃO

O cobalto é um elemento amplamente utilizado em diversos processos industriais, como na produção de ligas metálicas, catalisadores e pigmentos. Esse metal também apresenta aplicação na medicina, sendo que pode ser utilizado como  $^{60}\text{Co}$  na cobaltoterapia para substituir a radioterapia no tratamento de câncer. Do ponto de vista nutricional, o cobalto é um elemento essencial ao organismo, visto que é um constituinte da vitamina B12. Como o organismo é incapaz de sintetizar vitaminas, sua ingestão através da alimentação se faz necessária. Tanto a deficiência como o excesso deste metal podem causar doenças e danos ao organismo. A deficiência da vitamina B12 leva a manifestações clínicas como anemia, fraqueza, confusão mental e depressão, por outro lado, o excesso de cobalto pode causar efeitos maléficos ao trato respiratório, a pele e o sistema cardíaco. Deste modo, a determinação de cobalto em matrizes de origem ambiental, biológica e alimentícia se torna essencial (DONATI, et al., 2006; PANIZ et al., 2005; SOUZA et al., 2009; ZAGO et al., 2013).

A determinação do cobalto pode ser realizada com uso das técnicas espectroanalíticas como absorção atômica em chama (F AAS), absorção atômica com atomização eletrotérmica (E TAAS), a espectrometria de massas com fonte de plasma acoplado indutivamente (ICP-MS) e a espectrometria de emissão óptica com fonte de plasma indutivamente acoplado (ICP OES). Dentre essas, a F AAS é a técnica mais empregada devido a suas vantagens como sua simplicidade operacional e menor custo de aquisição e manutenção do equipamento.

Entretanto, devido a menor sensibilidade da técnica, a quantificação direta do cobalto fazendo uso da F AAS pode-se tornar inviável quando as concentrações do analito nas amostras de interesse encontram-se na ordem de  $\leq \mu\text{g L}^{-1}$ . Deste modo métodos de pré-concentração tornam-se fundamentais (DA SILVA et al., 2016).

Dentre os métodos de pré-concentrações existentes, a extração em fase sólida (SPE) é um método que vem sendo amplamente utilizada, visto as vantagens que apresenta. Dentre elas, pode-se citar sua simplicidade, uso reduzido de solventes, grande variedade de materiais que podem ser utilizados como fases adsorventes, além

da possibilidade de reutilização destas e, a facilidade de automação do método, podendo ser acoplada ao F AAS por meio da análise de injeção em fluxo (FIA-FAAS) conferindo satisfatória frequência analítica ao método (PŁOTKA-WASYLKA, 2016).

A eficiência da SPE está diretamente ligada com o desempenho da fase adsortiva. Diversos adsorventes sólidos têm sido empregados em processo de adsorção de íons cobalto. Karatepe e colaboradores (2002) fizeram uso de uma resina de acrilato de metilo (Chromosorb105), para a pré-concentração de cobalto em água natural e amostras de sal e determinação. A partir do método proposto, os autores obtiveram um limite de detecção de  $2,5 \mu\text{g L}^{-1}$  e um fator de pré-concentração de 50 vezes, quando percolado pela coluna um volume de 50 mL de amostra. Stafiej e Pyszynska (2007) desenvolveram um método analítico para a pré-concentração de íons bivalentes ( $\text{Co}^{2+}$ ,  $\text{Cu}^{2+}$ ,  $\text{Cd}^{2+}$ ,  $\text{Zn}^{2+}$ ,  $\text{Mn}^{2+}$  e  $\text{Pb}^{2+}$ ) e determinação por F AAS, utilizando nanotubos de carbono como adsorvente. Os autores puderam inferir que em pH 9,0 obteve-se os melhores resultados de adsorção e que nesse pH a afinidade dos íons metálicos pelos nanotubos de carbono segue a seguinte ordem:  $\text{Cu}^{2+} > \text{Pb}^{2+} > \text{Co}^{2+} > \text{Zn}^{2+} > \text{Mn}^{2+}$ . Entretanto, nesses trabalhos citados, observou-se que estes materiais adsorventes não apresentaram desempenho seletivo ao cobalto.

Nesse sentido, visando um aumento de seletividade para adsorção de íons metálicos, alguns trabalhos reportam o uso de materiais modificados como adsorventes. Dentre os materiais modificados empregados na determinação de  $\text{Co}^{2+}$ , encontram-se a sílica quimicamente modificada óxido de nióbio (V) (DA SILVA et al., 2011), sílica fisicamente modificada resina de poli(p-hidroxiestireno)-1-nitroso-2-naftol (LI et al., 2019), carvão ativado modificado fisicamente com ditióxamida (GHAEDI et al., 2007), carvão ativado modificado fisicamente com 1,3,4-tiadiazol-2,5-ditiol (HABILA et al., 2018), C-18 modificado com sílica (BARTOSIAK, et al., 2018) e resina Amberlite XAD quimicamente modificada com 2,6-piridinocarboxaldeído (KARADA et al., 2013), nanopartícula magnética de óxido de ferro modificada fisicamente com fungo *Boletus edulis* (OZDEMIR et al., 2017) e nanopartícula de ferro fisicamente modificada com 2-nitroso-1-naftol (SHAKERIAN et al., 2019).

A modificação química baseia em imobilizar o complexante no material suporte por via de ligações químicas. Essa etapa de modificação é um processo cuidadoso e o preparo do material pode ser demorado, visto o número de etapas requeridas. Para a modificação física, pode-se percolar pelo material adsorvente uma solução contendo o complexante de modo que este fique impregnado na superfície do material. Em um segundo momento, é percolada uma solução contendo o analito, de forma que este fica retido no adsorvente. Por fim, efetua-se a eluição com uma solução apropriada. A modificação física também pode ocorrer por meio da formação do complexo metálico antes de ser percolado pela minicoluna, dessa forma, todo o complexo (agente complexante + analito) fica retido no adsorvente para depois ocorrer a eluição do analito. Em relação ao preparo do material, a modificação física é um procedimento mais simples, entretanto, o uso de solventes orgânicos para a eluição do analito pode se fazer necessário (DINIZ et al, 2013b; FERREIRA et al., 2007).

O uso de agentes complexantes no desenvolvimento de fases adsorventes é ainda predominante para a modificação da superfície de materiais, que como visto, pode levar a um aumento do custo do método analítico, uma vez que há um maior consumo de complexantes e o possível uso solvente orgânico para a eluição. Assim, uma alternativa ao uso dos materiais modificados é a síntese de polímeros que contenham na matriz polimérica um segundo monômero com propriedades quelantes, visando o preparo de fases sólidas adsorventes com melhores propriedades adsorptivas e seletivas.

Nesse sentido, a incorporação de protoporfirina na matriz polimérica como um co-monômero quelante, mostra-se como uma proposta interessante visando melhorar as características adsorptivas e seletivas do material. As protoporfirinas são compostos macrocíclicos porfirínicos formadas por quatro anéis de pirrol ligados por pontes de meteno, sendo seu núcleo um ligante tetradentado. O sistema de elétrons  $\pi$  deslocalizados dos anéis da protoporfirina é estável permitindo formação de complexos estáveis com íons metálicos (SACHAR et al., 2016). Encontra-se na literatura estudos acerca do uso da protoporfirina como modificador de superfícies no preparo de adsorventes. Entretanto, o uso da protoporfirina como um co-monômero no preparo de fases adsorventes ainda tem sido pouco estudado.

A incorporação da protoporfirina na rede polimérica para adsorção dos íons  $Mn^{2+}$  e  $Cd^{2+}$  foi estudada em nosso grupo de pesquisa apresentando resultados adsorptivos satisfatórios. Além disso, os materiais contendo a protoporfirina na matriz polimérica apresentaram boas características para o empacotamento em minicoluna, como a ausência de inchaço frente a fluídos, sendo esse, um fator importante para um material a ser utilizado em sistemas de pré-concentração on-line, fazendo uso de minicolunas (DINIZ, et al., 2013b; OLIVEIRA, et al., 2013).

Mesmo que a incorporação da protoporfirina como co-mônômero na rede polimérica, tenha mostrado ser uma proposta atraente para o desenvolvimento de fases adsorventes, porém outros estudos ainda precisam ser realizados. Não há relatos de estudos acerca do efeito da proporção de protoporfirina incorporada na matriz polimérica, podendo esse ser um fator relevante para os resultados analíticos obtidos no método de pré-concentração a ser desenvolvido, bem como nas características do material para empacotamento em minicoluna. Em complemento, o uso da protoporfirina no desenvolvimento de fases adsorventes para  $Co^{2+}$  ainda não foi explorado.

Mediante o exposto, o presente estudo teve como objetivo sintetizar copolímeros poli(protoporfirina-co-vinilpiridina) com diferentes proporções de protoporfirina e 4-vinilpiridina, para o desenvolvimento de um método de pré-concentração on-line de íons  $Co^{2+}$  e posterior determinação por espectrometria de absorção atômica com chama empregando o sistema de análise de injeção em fluxo (FIA-FAAS).

## 2 REVISÃO BIBLIOGRÁFICA

### 2.1 Cobalto: Aplicações, saúde, fontes e legislações

O cobalto é um metal de coloração branco azulado ocorrendo na proporção de 23 ppm em peso na crosta terrestre. Encontram-se diversos minérios nos quais o cobalto está presente, entre estes a cobaltita, a esmaltita e a linneíta. O metal é encontrado nos estados de oxidação -1, 0, +1, +2, +3 e +4, sendo o +2 e o +3 os mais comuns, fato que se deve a maior estabilidade proporcionado pela distribuição eletrônica desses estados de oxidação. Dentre os compostos no qual o cobalto apresenta valência +2 tem-se o óxido de cobalto (II) (CoO), hidróxido de cobalto (II) (Co(OH)<sub>2</sub>), cloreto de cobalto (II) (CoCl<sub>2</sub>) e nitrato de cobalto (II) (Co(NO<sub>3</sub>)<sub>2</sub>). Devido suas características de dureza e resistência, o cobalto apresenta grande aplicação na indústria metalúrgica, sendo empregado na produção do aço, formando ligas de alta temperaturas. Estando na forma de óxidos, é empregado como catalisador na indústria química de óleos e, na forma de sais, desempenha a função de pigmento na indústria de cerâmica, vidros e tintas (ALVES; ROSA, 2003; LEE, 1999).

Pode-se considerar o cobalto como um elemento essencial ao organismo, visto que ele é um constituinte da vitamina B12 (cianocobalamina). Uma vez que o organismo não é capaz de realizar a síntese de vitaminas, é necessário que se tenha a ingestão destas por via da alimentação. Há uma ampla variedade de fontes de vitamina B12, estando entre essas: ovos, fígado, peixe, marisco, frutas, verduras e leite e derivados. A deficiência da vitamina B12 resulta em diversas manifestações clínicas, sendo a principal delas a anemia. Também são comuns fraqueza, glossite, parestesias, manifestações mentais como a depressão, déficits de memória e atenção, disfunção cognitiva, demência, confusão mental, entre outros (ATRDS; ZAGO et al., 2013; LANGAN et al., 2017; CARDOSO FILHO et al., 2019).

Em contrapartida, a exposição a elevadas doses de cobalto pode causar efeitos tóxicos que envolvem principalmente o trato respiratório, a pele e o sistema cardíaco, sendo relatados casos de inflamação da nasofaringe, rinite alérgica, asma ocupacional,

fibrose pulmonar, dermatite, eczema, urticária e lesões no miocárdio. Relatos mostram que na década de 60, cervejarias adicionavam cloreto e/ou sulfato de cobalto como estabilizadores de espuma de cerveja em uma concentração de 0,04 a 0,14 mg kg<sup>-1</sup>. Alguns consumidores de quantidade excessiva da cerveja apresentaram sintomas como náuseas, vômitos e problemas cardíacos que resultaram em morte (LANGAN et al., 2017; CARDOSO FILHO et al., 2019).

O cobalto pode também estar presente nas amostras como resultado de contaminação, como por exemplo durante o processo de cultivo. Fato que pode ocorrer em amostras tais como o cacau e o chá preto. Yanus e colaboradores (2014), apresentam em seu trabalho concentrações de alguns metais que podem estar presentes nos produtos de cacau, sendo o cobalto presente em concentrações de 757,00 ± 17 ng g<sup>-1</sup> em cacau em pó, 30,00 ± 03 ng g<sup>-1</sup> em manteiga de cacau, 394,00 ± 43 ng g<sup>-1</sup> em casca de cacau e 292,00 ± 39 ng g<sup>-1</sup> de semente de cacau. Talio e colaboradores (2014) e Shegefti e colaboradores (2016) quantificaram cobalto em amostra de cacau em pó na concentração de 428,00 ± 20 ng g<sup>-1</sup> e 210,00 ng g<sup>-1</sup>, respectivamente. Para o chá preto, Gouda e colaboradores (2016) e Lemos e colaboradores (2006) quantificaram cobalto em concentrações de 5,00 ± 0,2 µg g<sup>-1</sup> e 1,23 ± 0,007 µg g<sup>-1</sup>, respectivamente.

Não é relatado na literatura valores recomendados de ingestão diária para o cobalto, apenas valores referentes a vitamina B12. Segundo o Instituto de Medicina, a ingestão diária recomendada de vitamina B12 para homens e mulheres adultos é 2,4 µg/dia, sendo equivalente a 0,1 µg de cobalto. Para mulheres grávidas e lactantes os valores de vitamina B12 são respectivamente 2,6 µg/dia e 2,8 µg/dia (INSTITUTE OF MEDICINE).

Em relação a legislações, a Agência Nacional de Vigilância Sanitária (ANVISA), na resolução que dispõe sobre Regulamento Técnico sobre Lista Positiva de Aditivos para Materiais Plásticos destinados à Elaboração de Embalagens e Equipamentos em Contato com Alimentos, estabelece um limite de migração específico de 50 µg de cobalto por kg de alimento (ANVISA).

A ANVISA é o órgão nacional que preconiza concentrações máximas de metais permitidos em água potável, entretanto para o cobalto, não há limites estabelecidos. Para

padrão de qualidade das águas doces de classe I e classe III, o Conselho Nacional do Meio Ambiente (CONAMA) pela resolução Nº 357 de 2005 alterada pela resolução CONAMA Nº 430 de 2011, estabelece limites de  $50 \mu\text{g L}^{-1}$  e  $200 \mu\text{g L}^{-1}$  de cobalto, respectivamente (CONAMA). Ainda sobre a legislação para padrão de qualidade de água potável, não são encontrados valores estabelecidos por outros órgãos como o World Health Organization (WHO) e pela Agência de Proteção Ambiental dos Estados Unidos (USEPA).

Considerando que tanto a deficiência como o excesso de cobalto podem causar doenças ou até levar a morte, e que o cobalto pode se encontrar em concentrações elevadas em amostrar como resultado de contaminação, o monitoramento deste elemento em amostras biológicas, alimentícias e ambientais se faz importante, justificando o interesse no desenvolvimento de métodos analíticos sensíveis, seletivos e de baixo custo para a quantificação de cobalto.

## 2.2 Técnicas Analíticas para quantificação de Cobalto

É reportado na literatura o emprego de diferentes técnicas analíticas para a quantificação de cobalto, estando entre essas as técnicas eletroanalíticas (MORFOBOS et al., 2004; METTAKOONPITAKA et al., 2017), técnicas cromatográficas (WANG et al., 2016a; REKHI et al., 2017) e as técnicas espectroanalíticas.

As técnicas eletroanalíticas apresentam diversos aspectos positivos, como o menor custo de aquisição de equipamento, menor volume de solvente e amostra utilizado e a possibilidade de realizar a análise *in situ*, visto que os equipamentos podem ser portáteis. No entanto, as técnicas eletroanalíticas se comparada as espectroanalíticas, não são comumente implantadas em laboratório de rotina para análise de metais uma vez que podem apresentar limitações quanto sua reprodutibilidade, visto que podem ser mais influenciadas por alguns fatores como: variação do analista, reprodutibilidade de preparo de filme de eletrodos, entre outros (PACHECO et al., 2013).

A exemplo do uso das técnicas cromatográficas para a quantificação de cobalto, Wang e colaboradores (2016b) realizaram a determinação desse metal em amostras de

água por cromatografia líquida com detector UV-VIS, fazendo uso do método de extração em fase sólida, utilizando como adsorvente uma esponja de nanotubos de carbono. Para isso, o adsorvente foi empacotado em cartucho e pré-condicionado com 20,0 mL de metanol e 10,0 mL de água ultra purificada. Posteriormente, o agente quelante dietilditiocarbamato de sódio (DDTC) foi adicionado à solução da amostra que foi percolada pelo cartucho. O complexo retido no adsorvente foi eluído com 8,0 mL de acetonitrila e levado a evaporar até quase a secura. O resíduo foi retomado em 1,0 mL de metanol e por fim, 50,0  $\mu$ L da solução foram injetados no sistema de HPLC para a quantificação do complexo Co-DDTC. Outro modo de se realizar a quantificação de metais mediante as técnicas cromatográficas, é com o uso da cromatografia de troca iônica. Nesta técnica, a fase estacionária contém trocadores iônicos que podem ser catiônicos e aniônicos, e o mecanismo de separação se baseia na interação eletrostática entre os íons presentes na amostra e os contra íons da fase estacionária (KLEIN, 2010). Contudo, as técnicas cromatográficas também não são comumente implementadas para a quantificação de metais em laboratórios de análise de rotina, visto que a técnica apresenta um custo mais elevado para aquisição e manutenção de equipamentos, maior consumo de solventes orgânicos e, geralmente, permite uma menor frequência analítica, além da dificuldade de automação em processos on-line.

Para a quantificação de metais, as técnicas espectroanalíticas são as mais utilizadas em laboratórios de rotina. Há disponíveis diversas técnicas espectroanalíticas que permitem a quantificação de íons metálicos em amostras de matrizes biológicas, ambientais e alimentícias, dentre essas, a espectrometria de absorção atômica em chama (F AAS) tem sido amplamente utilizada, uma vez que apresenta maior simplicidade instrumental e custo relativamente baixo para aquisição e manutenção do equipamento quando comparada a outras técnicas espectroanalíticas, como a espectrometria de absorção atômica com atomização eletrotérmica (E TAAS), a espectrometria de massas com fonte de plasma acoplado indutivamente (ICP-MS) e a espectrometria de emissão óptica com fonte de plasma indutivamente acoplado (ICP-OES).

No entanto, a sensibilidade do F AAS é limitada por alguns fatores. Um deles é o baixo tempo de permanência dos átomos na chama, na ordem de milissegundos, o que impede sua total atomização. Além disso, a baixa eficiência no processo de nebulização é outro limitante. A amostra é aspirada do frasco de armazenamento e nebulizada na forma de um aerossol em uma câmara de nebulização, fazendo-se uso de nebulizadores pneumáticos, porém, somente de 5 a 10% da amostra aspirada é introduzida na chama, sendo o restante descartado, o que reduz a sensibilidade da técnica (MATUSIEWICZ, 1977; SCHIAVO et al., 2008).

Dessa forma, levando em consideração os baixos níveis de concentração do cobalto na matriz das amostras ( $\leq \mu\text{g L}^{-1}$ ) e a baixa sensibilidade mencionada em relação a técnica F AAS, a determinação direta do cobalto em tais amostras pode ser inviabilizada. Para tornar a técnica F AAS mais eficiente, pode acoplá-la ao sistema de análise de injeção em fluxo (FIA - flow injection system analysis) com pré-concentração on-line, obtendo vantagens como maior sensibilidade do método, baixo volume de amostra, baixo consumo de reagente, maior tolerância à interferência e maior frequência analítica (MARESTONI et al., 2013).

### **2.3 Métodos de pré-concentração empregados para quantificação de Cobalto**

É relatado na literatura o emprego de diferentes métodos de pré-concentração para cobalto, incluindo: microextração líquido-líquido dispersiva (DLLME- Dispersive liquid-liquid microextraction), Extração líquido-líquido (LLE – Liquid-Liquid Extraction), Extração em ponto nuvem (CPE – Cloud Point Extraction) e Extração em fase sólida (SPE- Solid Phase Extraction) (HABILA et al., 2018; GOUDA et al., 2016; ER et al., 2018; NIKAM, et al., 2012).

A extração líquido-líquido é uma etapa útil para a separação e pré-concentração de espécies orgânicas e inorgânicas. Este método se baseia na solubilidade do analito de interesse entre duas fases imiscíveis, sendo geralmente fases aquosas e orgânicas. A eficiência deste processo depende da afinidade dos analitos com o solvente de extração. Contudo, a LLE apresenta baixa seletividade, dificuldade de automação,

procedimento lento, além de fazer uso de uma alta quantidade de solventes orgânicos potencialmente tóxicos, o que torna caro e prejudicial ao meio ambiente e a saúde humana (FERREIRA et al., 2007; PEREIRA, et al., 2003). Como alternativa, a fim de superar tais limitações, em 2006 foi proposta, por REZAEI e colaboradores, a microextração líquido-líquido dispersiva (REZAEI et al., 2006). Esse método faz uso de um menor volume de solventes o que o torna menos tóxico, entretanto, a DLLME ainda é limitada quanto a seletividade, além da dificuldade de automação, que pode interferir na frequência analítica do método a ser desenvolvido (BALIZA et al., 2009; MARTINS et al., 2012).

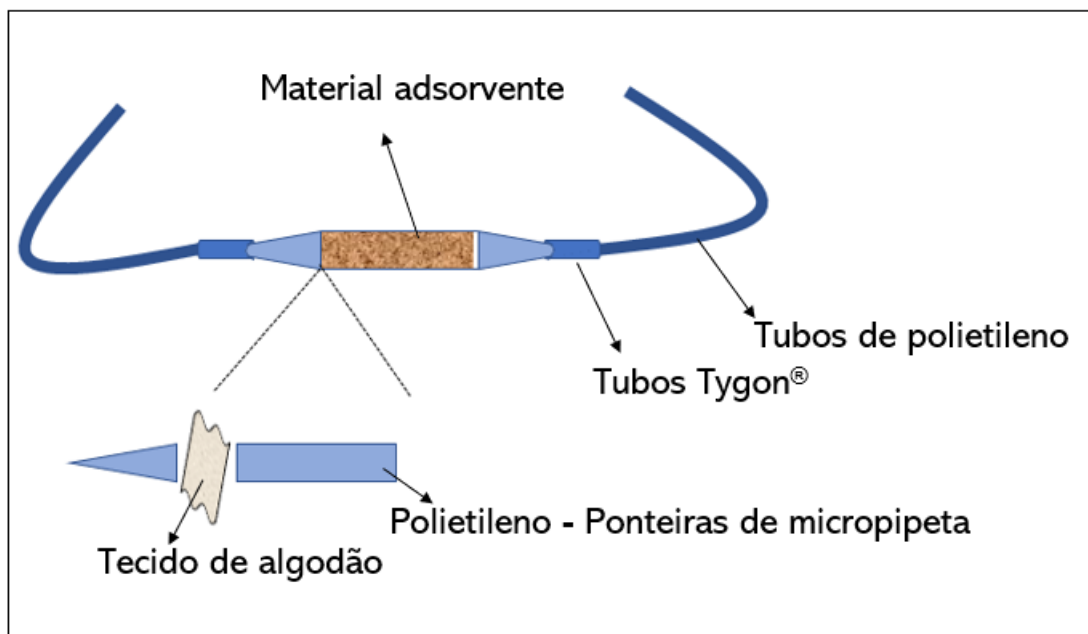
O método de extração ponto nuvem foi primeiramente estudado por Watanabe e colaboradores no início da década de 1980. O método baseia-se na capacidade dos tensoativos não iônicos ou anfóteros empregados acima da concentração micelar crítica, em diminuir sua solubilidade e turvar-se, devido a formação de micelas por alteração das condições da solução como a temperatura. Ao ocorrer a separação, duas fases são formadas, fase rica contendo o analito de interesse e fase pobre praticamente isenta do analito. A partir da formação de complexos com agentes quelantes, os metais podem ser extraídos para a fase rica em surfactante uma vez que há a interação do complexo hidrofóbico formado com a cauda de hidrocarbonetos da micela. Entre os ligantes utilizados no método de extração em ponto nuvem para complexação com cobalto estão o 2-(3,5-dicloro-2-piridilazo)-5-dimetilaminoanilina, 1-feniltiosemicarbazida (1-PTSC), ximato de metil-2-piridilcetona (MPKO), ditiocarbamato de pirrolidina (APDC), 1-(2-piridilazo)-2-naftol (PAN), 2-(benzotiazolilazo)-4-nitrofenol (BTANP), azul de hidroxinaftol (HNB) (NASCENTES et al., 2003; CITAK et al., 2010; GHAEDI et al., 2008; DONATI et al., 2006; HAN et al., 2015; GOUDA et al., 2016, TEMEL et al., 2018). O método de extração ponto nuvem é amplamente abordado para a determinação de cobalto em diferentes matrizes sendo determinados por F AAS e TS-FF-AAS. Pinheiro e Nogueira (2014) determinaram cobalto em esmalte de unha com o uso de ponto nuvem em F AAS, utilizando APDC como complexante. O valor máximo de cobalto determinado nas amostras de esmaltes foi 0,76 mg L<sup>-1</sup>. Citaki e Tuzen (2010) determinaram cobalto em amostra de alimentos e água, utilizando a extração ponto nuvem e F AAS, com 1-

PTSC como complexante, encontrando limite de detecção de  $1,00 \mu\text{g L}^{-1}$ . Donati e colaboradores (2006) determinaram cobalto fazendo uso da extração ponto nuvem e quantificação por TS-FF-AAS, utilizando como complexante o APDC, obtendo limite de detecção de  $2,1 \mu\text{g L}^{-1}$ . Mesmo sendo amplamente empregado, a CPE apresenta como limitação a dificuldade de automação além do número de etapas requeridos para execução do método (como centrifugação e aquecimento) o que pode comprometer a frequência analítica.

O método de extração/pré-concentração em fase sólida baseia-se na retenção de analitos de interesse (como íons metálicos), contidos em uma solução, em uma fase sólida (adsorvente). A SPE vem sendo amplamente utilizada devido às suas vantagens, como simplicidade, baixo volume de solvente e amostra utilizados, elevado fator de pré-concentração, tempo reduzido de pré-concentração, reutilização do adsorvente e grande variedades de materiais que podem ser utilizados como adsorventes (PŁOTKA-WASYLKA, 2016).

Outra vantagem que a extração em fase sólida apresenta é a facilidade de automação. A SPE demonstrou em vários procedimentos, ser uma técnica de pré-concentração eficaz quando acoplada ao F AAS. A combinação da SPE com F AAS pode ocorrer de maneira on-line ou off-line, sendo que o acoplamento on-line por meio da análise de injeção em fluxo (FIA) apresenta vantagens principalmente no que se refere a frequência analítica. A SPE, quando utilizada em sistema FIA-FAAS, consiste no preenchimento de uma minicoluna (Figura 1) com o adsorvente, um volume fixo de amostra é percolado através desta, permitindo a retenção do analito nos sítios ativos do material. Posteriormente, há a etapa de eluição, na qual utiliza-se pequenos volumes de eluente. Nesta etapa, o eluente utilizado rompe a interação analito-adsorvente carregando o analito até o equipamento para sua quantificação (CAMEL, 2003; DINIZ et al., 2013b; LANÇAS, 2004).

**Figura 1.** Representação esquemática de uma minicoluna utilizada no método de pré-concentração em fase sólida on-line acoplada ao F AAS.



Fonte: Autor

## 2.4 Materiais adsorventes para pré-concentração de cobalto

A SPE mostra-se uma ferramenta analítica eficiente para melhorar a sensibilidade das técnicas espectroanalíticas como o F AAS, entretanto, sua eficiência depende em grande parte do desempenho adsorptivo e seletivo do material adsorvente empregado. Os adsorventes devem apresentar características desejáveis como: uma matriz porosa estável e insolúvel, grupos ativos em sua superfície capazes de interagir com o analito, não apresentar efeito de inchaço em fluídos, alta capacidade de adsorção e boa regenerabilidade (HUANG; HU, 2008; ZAPPIELO et al., 2016;).

Diversos adsorventes sólidos têm sido empregados em processo de adsorção para a extração e pré-concentração de cobalto.

A exemplo disso, Karatepe e colaboradores (2007) realizaram a quantificação de cobalto em água natural e amostras de sal por F AAS, utilizando como fase adsorvente a resina de acrilato de metilo (Chromosorb105). Os autores determinaram que em pH

9,0 obteve-se melhores resultados para a pré-concentração de cobalto. O limite de detecção obtido a partir do método proposto foi de  $2,5 \mu\text{g L}^{-1}$  e o fator de pré-concentração, quando percolado pelo sistema um volume de 50 mL de amostra foi de 50 vezes. Entretanto, neste trabalho não foi realizada modificação na resina, o que pode gerar problemas quanto a seletividade, uma vez que pode haver uma competição entre metais pelos sítios de interação do adsorvente. Os autores não relatam a ocorrência de efeito de interferência entre os íons avaliados, contudo, o estudo não foi realizado com íons que possuem características químicas similares ao cobalto.

Stafiej e Pyrzyńska (2007) utilizaram nanotubos de carbono para a adsorção de íons bivalentes ( $\text{Co}^{2+}$ ,  $\text{Cu}^{2+}$ ,  $\text{Cd}^{2+}$ ,  $\text{Zn}^{2+}$ ,  $\text{Mn}^{2+}$  e  $\text{Pb}^{2+}$ ) e quantificação por F AAS. Os estudos foram realizados em batelada, nos quais 50,0 mg de nanotubos de carbono foram misturados com 10 mL de solução de cada íons metálicos por 4 horas. Vale destacar que os autores não realizam estudo de interferência entre os íons analisados, sendo todos os testes feitos com soluções individuais dos íons metálicos. Uma vez que os nanotubos de carbono não foram modificados sua seletividade pode ser comprometida, dessa forma, estudos de competição dos íons metálicos pelos sítios ativos do material torna-se fundamental. Destaca-se ainda que o procedimento não foi automatizado, e sim realizado em batelada, o que limita sua frequência analítica. Os autores inferem que em pH 9,0 foram obtidos os melhores resultados de adsorção e que nesse pH a afinidade dos íons metálicos pelos nanotubos de carbono segue a seguinte ordem:  $\text{Cu}^{2+} > \text{Pb}^{2+} > \text{Co}^{2+} > \text{Zn}^{2+} > \text{Mn}^{2+}$ .

De acordo com o exposto, o uso de resinas comerciais e nanotubos de carbono como adsorventes, bem como outros materiais como sílicas e grafeno, por exemplo, requerem uma etapa de modificação de sua superfície a fim de promover um aumento de seletividade. Desse modo, em trabalhos mais recentes é mais reportado na literatura o uso de adsorventes modificados para a determinação de íons cobalto, como demonstrado no Quadro 1.

**Quadro 1.** Adsorventes modificados empregados para a pré-concentração de  $\text{Co}^{2+}$ .

<b>Material Suporte</b>	<b>Agente modificador</b>	<b>Modificação</b>	<b>Eluente utilizado</b>	<b>Aplicação</b>	<b>Referência</b>
Amberlite XAD-2	$\alpha$ -Nitroso- $\beta$ -Naphthol	Química	Ácido clorídrico	Água	LEMOS et al., 2004
Carbônio ativado	Ditiooxamida - Ácido rubiânico	Física	Ácido nítrico em acetona	Solo, água de rio e de torneira, espinafre, sangue	GHAEDI et al., 2007
Amberlite XAD-16	novo derivado de resorcinarenes	Física	Ácido clorídrico em acetona	Vegetais, sucos, água, tabaco e chá preto	GHAEDI et al., 2009
Espuma de poliuretano	2-hidroxiacetofenona	Química	Ácido clorídrico	Temperos de alimentos	LEMOS et al., 2010
Amberlite XAD-4	2,6-piridinodicarboxaldeído	Química	Ácido nítrico	Água	KARADA et al., 2013
SBA-15	5-(4-dimetilaminobenzilideno)	Física	Ácido nítrico	Água e produtos agrícolas	AFZALI et al., 2018
$\text{Fe}_3\text{O}_2$	Fungo Boletus edulis	Física	Ácido clorídrico	Água mineral, chá gelado, suco de laranja e bebida energética	OZDEMIR et al., 2018
Sílica	4-amino-5-hidrazino-1,2,4-triazol-3-tiol	Química	Ácido nítrico	Água	IVASSECHE N et al., 2018

A modificação de um material pode ser realizada com agentes complexantes ocorrendo quimicamente ou fisicamente. A exemplo disso, Da Silva e colaboradores (2011) realizaram a pré-concentração de cobalto para determinação deste metal em álcool combustível, fazendo uso de sílica gel quimicamente modificada com óxido de nióbio (V) ( $\text{Nb}_2\text{O}_5 - \text{SiO}_2$ ). A modificação química consiste em imobilizar o complexante

no material suporte por via de ligações químicas, desse modo, o procedimento de preparo do material deve ser cuidadoso e pode ser demorado, dependendo do número de etapas que podem ser requeridas. Neste trabalho, a sílica gel foi mantida em refluxo com cloreto de nióbio (V) ( $\text{NbCl}_5$ ) por 52 horas. Após o adsorvente modificado ser obtido, este foi empacotado em minicoluna e empregado no sistema on-line de pré-concentração de íons cobalto acoplado ao F AAS. Para a etapa de eluição foi empregado uma solução de  $\text{HNO}_3$ , onde apenas o cobalto foi eluído, o adsorvente é então regenerado e novos ciclos de pré-concentração podem ocorrer. Os autores afirmam que o material não apresentou efeito de inchaço frente a fluidos, e que foi utilizado para todas as etapas de pré-concentração do desenvolvimento do trabalho sem perda da capacidade adsorvente.

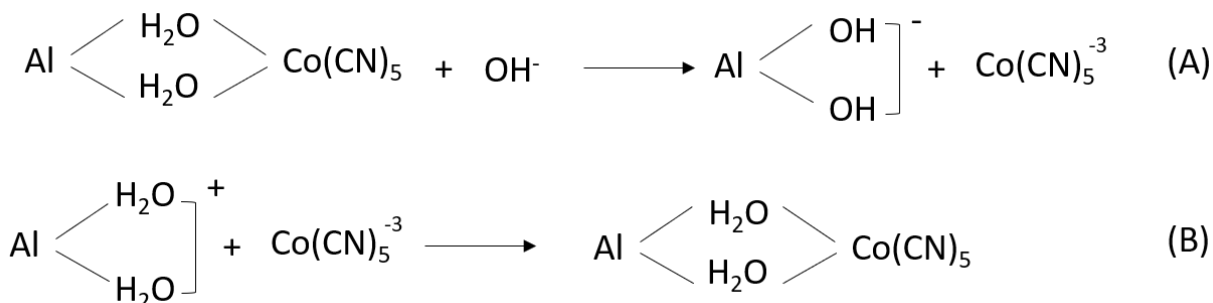
Lemos e colaboradores (2006) realizaram a modificação química da resina Amberlite XAD-2 com pirocatecol através de ligação do grupo  $\text{CH}_2$ . Para o preparo do adsorvente, primeiramente a resina foi tratada com octanol e cloreto de metila. Após isso, foi mantido em refluxo com cloreto de alumínio por 24 horas a  $90^\circ \text{C}$ . O copolímero clorometilado foi suspenso em uma mistura de nitrobenzeno e pirocatecol, e mantido em refluxo por 72 horas a  $70^\circ \text{C}$ . O adsorvente foi empacotado em minicoluna e utilizado em um sistema de pré-concentração on-line acoplado ao F AAS, sendo empregado  $\text{HCl}$   $0,50 \text{ mol L}^{-1}$  para a etapa de eluição. Os autores afirmam que o método foi empregado com sucesso para determinação de cobalto em amostras de alimentos (farinha de arroz e chá preto), apresentando alta tolerância a interferência aos íons da matriz das amostras.

Sivrikaya e Imamoglu (2018) realizaram a modificação química de sílica gel com o ligante amino 2-[N,N'-bis(salicildiamino)]aminoetil. O preparo do adsorvente consistiu em uma série de reações, sendo primeiramente imobilizado sobre a sílica o grupo 3-cloropropil com a reação com 3-cloropropiltrimetoxisilano. A reação de 3-cloropropil-silica com trietilamino e amino tris(2-aminoetil), gerou o amino tris(2-aminoetil)-sílica, que por fim mediante reação com 2-hidroxibenzaldeído, obteve-se amino 2-[N,N'-bis(salicildiamino)]aminoetil-sílica. O adsorvente foi empregado em para pré-concentração on-line de cobalto e determinação por F AAS. O limite de quantificação obtido foi de  $4,7 \mu\text{g L}^{-1}$  e o fator de pré-concentração foi de 11,1 vezes.

Ainda a exemplo da modificação química, Li e colaboradores (2019) desenvolveram um método para a remoção de cobalto de soluções ácidas empregando como adsorvente sílica suportada com uma resina de poli(p-hidroxiestireno)-1-nitroso-2-naftol. Neste trabalho, a resina poli(p-hidroxiestireno) foi primeiramente preparada a partir de poliestireno. Posteriormente, 1-nitroso-2-naftol foi imobilizado na resina poli(p-hidroxiestireno) através do grupo -O- por uma série de reações para obter poli(p-hidroxiestireno)-1-nitroso-2-naftol, que por fim foi suportada sobre a sílica. Os autores afirmam que o material modificado apresentou eficiência satisfatória para a remoção de cobalto apresentando boa seletividade e reutilização.

Outra forma de se modificar a superfície de materiais é fazendo uso da modificação física, como demonstrado por Dadfarnia e colaboradores (1999). Neste trabalho, os autores fizeram uso de uma minicoluna empacotada com alumina ácida, pela qual o ciano complexo de cobalto foi percolado, ficando retido no material e, posteriormente eluido para quantificação de cobalto em sistema FIA-FAAS. O procedimento empregado pelos autores consistiu primeiramente em percolar pela minicoluna empacotada com a alumina, uma solução  $0,05 \text{ mol L}^{-1}$  de  $\text{HNO}_3$  a fim de tornar a alumina ácida. Posteriormente, o complexo cobalto-ciano previamente formado pela adição de  $0,7738 \text{ g}$  de cianeto de sódio em  $100,0 \text{ mL}$  de amostra ou solução padrão, eram percoladas pela minicoluna a vazão de  $2,0 \text{ mL min}^{-1}$ . Por fim, para a eluição do complexo foi empregado solução de hidróxido de amônio  $2,0 \text{ mol L}^{-1}$ . A Figura 2 contém um esquema de reações envolvidas no processo de pré-concentração e eluição, e, como pode ser observado, no processo de eluição todo o complexo é removido da alumina. Desta forma, para cada nova pré-concentração se faz necessário o uso de soluções de complexante para a formação do ciano complexo de cobalto, o que acarreta maiores custos ao método desenvolvido.

**Figura 2.** Reações envolvidas na etapa de pré-concentração e eluição do ciano complexo de  $\text{Co}^{2+}$  com alumina como adsorvente.



Fonte: Dadfarnia et al, 1999.

Wang e colaboradores (2016a) também realizaram a modificação física para o uso do grafeno como adsorvente no processo de pré-concentração de  $\text{Co}^{2+}$ . Neste trabalho, o grafeno foi colocado em uma coluna aberta de SPE, a qual foi pré-condicionada com metanol, água e tampão acetado  $0,2 \text{ mol L}^{-1}$ . O procedimento empregado pelos autores consistiu em adicionar a 100,0 mL de padrões ou amostra, 2,5 mL de uma solução de  $2,0 \text{ g L}^{-1}$  do complexante PAN. Após a formação do complexo Co-PAN, a solução foi percolada pela coluna a um fluxo de  $2,0 \text{ mL min}^{-1}$  e, posteriormente, a eluição ocorreu com solução  $2,0 \text{ mol L}^{-1}$  de  $\text{HNO}_3$  em metanol. A determinação dos íons cobalto se deu por F AAS, entretanto o sistema de pré-concentração não foi realizado de maneira on-line. Assim como no trabalho de Dadfarnia e colaboradores, anteriormente descrito, durante a etapa de eluição todo o complexo é eluído, gerando um grande consumo de PAN, além de nesse caso, ser necessário o uso de solventes orgânicos no processo de eluição.

Habila e colaboradores (2018) realizaram a modificação física de carvão ativado para adsorção de cobalto. No trabalho desenvolvido, 0,1 g do carvão ativado foi empacotado em uma coluna feita com uma ponta de pipeta com capacidade máxima de 10,0 mL, e posteriormente lavada com água destilada e pré-condicionada com tampão acetato. Para a etapa de pré-concentração, 50  $\mu\text{L}$  de uma solução 0,1% (m/v) do ligante 1,3,4-tiadiazol-2,5-ditiol foram adicionados a 600,0 mL de solução da amostra e a mistura

foi percolada pela coluna. A vazão de pré-concentração utilizada não foi informada pelos autores. A etapa de eluição se deu com 5,0 mL de uma solução de  $\text{HNO}_3$  3 mol  $\text{L}^{-1}$ . A determinação de cobalto se deu por F AAS, porém não foi utilizado um sistema de pré-concentração on-line o que pode limitar a frequência analítica do método. Assim como no trabalho de Dadfarnia e colaboradores e Wang e colaboradores anteriormente descrito, durante a etapa de eluição todo o complexo é eluído, o que pode acarretar um consumo elevado de ligante.

Como foi demonstrado por Dadfarnia e colaboradores, Habila e colaboradores e Wang e colaboradores, uma forma de se realizar a modificação física é percolando-se pela minicoluna um complexo previamente formado entre o agente complexante e o analito de interesse, de modo que todo o complexo fique impregnado no material para posterior eluição. Entretanto, há outra forma de se realizar a modificação física, como pode ser observada no trabalho desenvolvido por Cassella e colaboradores (2001). Neste trabalho, os autores determinaram cobalto por FIA-FAAS fazendo uso de espuma de poliuretano modificada fisicamente com o complexante 2-(2-tiazolilazo)-p-cresol (TAC). Para o procedimento de pré-concentração, 50,0 mg de espuma de poliuretano do tipo poliéter foi recheado em minicoluna e acoplada ao sistema de análise de injeção em fluxo. Posteriormente, 30,0 mL de uma solução etanólica 0,5% m/v do complexante TAC foi percolada pela minicoluna, de modo que o complexante fique fisicamente impregnado na espuma. Após isso, as soluções de padrões e amostras contendo o analito de interesse são percoladas pela minicoluna empacotada com a espuma modificada com o TAC, de modo que os analitos fiquem retidos no adsorvente. O processo de eluição dos íons cobalto ocorreu com  $\text{HCl}$  2,0 mol  $\text{L}^{-1}$  de modo que apenas os íons  $\text{Co}^{2+}$  sejam eluídos, e o TAC permaneça impregnado. Essa forma de realizar a modificação física leva a um menor consumo de agente complexante se comparado ao modo anteriormente discutido, com a formação prévia do complexo para posterior percolação de todo o complexo pelo adsorvente.

Como observado, em relação ao preparo do material, a modificação física é um procedimento mais simples do que a modificação química. Entretanto, como demonstrado nesses trabalhos citados, a modificação física faz uso de uma maior

quantidade de soluções de complexante, e, o uso de solventes orgânicos no processo de eluição pode ser necessário, o que pode elevar o custo do método analítico desenvolvido.

O uso ou não de solventes orgânicos no processo de eluição é dependente da forma com a qual o complexante fica fisicamente adsorvido na superfície do material. Se o complexante ficar fortemente impregnado na superfície do material, a eluição pode ser realizada com solução ácida, na qual apenas o íon metálico será eluído. Se o complexante ficar fracamente retido na superfície do material, a eluição é realizada com solvente orgânico, na qual todo o complexo é eluído, o que acarreta na diminuição da extensão da curva analítica, uma vez que o processo de atomização é dificultado (DINIZ et al., 2013b; FERREIRA et al., 2007).

De acordo com a literatura, observa-se que o uso de agentes quelantes no desenvolvimento de fases adsorventes é ainda predominante para a modificação da superfície de materiais como resinas, sílicas e grafeno. Uma alternativa ao uso desses materiais é a síntese de polímeros que contenham em sua estrutura um segundo monômero com propriedades quelantes, visando o preparo de fases sólidas adsorventes com melhores propriedades adsorptivas e seletivas.

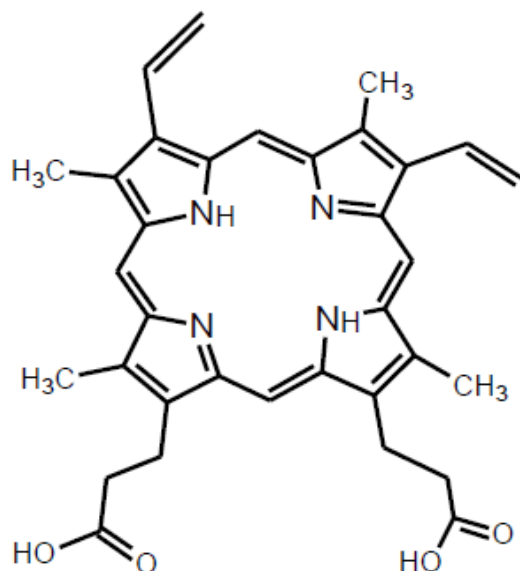
A escolha do monômero a ser utilizado na síntese do polímero é dependente da natureza do analito de interesse. Segundo a teoria de ácido e base de Pearson, o íon  $\text{Co}^{2+}$  é classificado como um ácido intermediário. Dessa forma, a interação do  $\text{Co}^{2+}$  com monômeros de caráter básico intermediário é favorecida. Nesse sentido, o uso da 4-vinilpiridina, uma base de Pearson de caráter intermediário, como monômero para a síntese de adsorvente visando a adsorção de  $\text{Co}^{2+}$  tende a ser promissora, sendo seu uso relatado na literatura (LV et al., 2011). Além disso, também é relatado na literatura síntese de polímeros que apresentam a associação de 4-vinilpiridina com um segundo monômero para adsorção de íons metálicos. Liu et al (2004) sintetizaram um polímero contendo a 4-vinilpiridina como monômero e diazoaminobenzeno (DAAB) como co-monômero para pré-concentração de íons cádmio, obtendo um polímero com capacidade de retenção satisfatória. Os autores puderam inferir que o polímero contendo

o segundo monômero levaram a materiais com melhores propriedades adsorptivas e seletivas.

Mesmo frente a diversos materiais adsorventes descritos na literatura, a busca por adsorventes com melhores características adsorptivas, seletivas e hidrodinâmicas (que não apresentem o efeito de inchaço frente a fluidos), além de adsorventes que sejam estáveis permitindo o seu reuso, é fundamental para o desenvolvimento de métodos analíticos cada vez mais sensíveis, o que justifica o desenvolvimento de pesquisas nessa área.

## **2.5 O emprego de protoporfirina no preparo de fases sólidas adsorventes**

Visando melhorar o desempenho adsorptivo e seletivo do material adsorvente, pode-se adicionar a matriz polimérica um co-monômero que apresente propriedades quelantes, produzindo um polímero com maior número de sítios ativos de ligação com o analito de interesse. Neste sentido, a incorporação de protoporfirina na matriz polimérica mostra-se uma proposta interessante. As protoporfirinas são compostos macrocíclicos porfirínicos de ocorrência natural que desempenham um papel importante no metabolismo dos organismos vivos. A molécula é formada por quatro anéis de pirrol ligados por pontes de meteno, apresentando caráter aromático, sendo seu núcleo um ligante tetradentado (Figura 3). O sistema de elétrons  $\pi$  deslocalizados dos anéis da protoporfirina é estável o que permite a formação de complexos estáveis com íons de metais de transição. A incorporação da protoporfirina na matriz polimérica durante a síntese torna-se possível uma vez que contém grupos vinílicos em sua estrutura, o que a torna polimerizável (SACHAR et al., 2016).

**Figura 3.** Estrutura da molécula protoporfirina

Fonte: Adaptado de JUNG et al., 2001.

A exemplo do uso da protoporfirina no desenvolvimento de fases adsorventes, Jung e colaboradores (2001) desenvolveram um adsorvente polimérico quimicamente modificado para ser empregado em extração em fase sólida de fenol e clorofenóis. As resinas Amberlite XAD-2 e XAD-4 comercialmente disponíveis foram modificadas com protoporfirina IX (PPIX). Neste trabalho os autores realizaram a modificação química das resinas comerciais. Para isso, inicialmente a PPIX foi metalizada com  $Mn^{2+}$  sendo mantida em refluxo com  $MnCl_2$ , obtendo o  $MnPPIX$ , que posteriormente, foi quimicamente ligada as resinas através de ligação cetona. Os experimentos de adsorção foram realizados em batelada, sendo 10,0 mg do adsorvente agitados por 1 hora com a solução de analito. Os autores puderam concluir que a capacidade de adsorção foi aumentada para as resinas quimicamente modificadas com a protoporfirina, atribuindo que o aumento da interação  $\pi$ - $\pi$  devido à introdução da molécula de protoporfirina é o principal fator para o aumento da capacidade de adsorção.

Ainda, a exemplo do uso da protoporfirina no desenvolvimento de adsorventes para compostos orgânicos, Oh e colaboradores (2003) modificaram quimicamente as resinas Amberlite XAD-2 e XAD-4 com protoporfirina IX e carboxifenilporfirina (TCPP),

segundo o procedimento descrito por Jung e colaboradores (2001), para adsorção de hidrocarbonetos aromáticos policíclicos em amostras de solo. Os estudos de adsorção foram realizados em batelada com 10,0 mg do material adsorvente e agitação por 1 hora. Os autores inferiram que as resinas modificadas apresentaram melhores resultados de recuperação, reprodutibilidade e capacidade adsortiva se comparado as resinas não modificadas, sendo a modificação com a protoporfirina IX a que levou a melhores resultados.

A protoporfirina também é empregada no desenvolvimento de fases adsorventes para adsorção de íons metálicos. A exemplo disso, Kilian e Pyrzyńska (2001) e posteriormente em 2003 relataram o uso de resina do tipo Amberlite fisicamente modificada com carboxifenilporfirina (TCPP) para a adsorção de diferentes íons metálicos, sendo esses  $Pb^{2+}$ ,  $Ni^{2+}$ ,  $Cu^{2+}$ ,  $Cd^{2+}$ ,  $Mg^{2+}$ , e  $V^{5+}$ . As duas formas de modificação física foram testadas, o ligante em solução para a formação prévia do complexo, e a imobilização do ligante na superfície da resina. Para o preparo da fase sólida adsorvente fisicamente modificada com a imobilização do ligante, a resina foi lavada preliminarmente com HCl 6,0 mol L<sup>-1</sup>, água, depois com NaOH 2,0 mol L<sup>-1</sup> e água novamente. Após a lavagem, a resina foi agitada com solução de 10<sup>-4</sup> mol L<sup>-1</sup> de TCPP a pH 9,0 durante 2 horas. A partir dos resultados, os autores puderam inferir que a modificação física realizada com a formação prévia do complexo para posterior retenção na resina levou a melhores valores de adsorção. A adsorção dos metais foi maior em valores mais elevados de pH. Os autores relatam ainda que a formação de complexos com íons grandes ocorre rapidamente e são instáveis, características desejáveis uma vez que resulta em uma rápida dessorção na etapa de eluição.

Em 2005, Pyrzyńska e Wierzbicki, utilizaram a resina Amberlite funcionalizada com TCPP pra pré-concentração e separação de espécies de vanádio e detecção por F AAS. Para a etapa de pré-concentração, o volume apropriado de alíquotas foi ajustado para pH 6,5 com tampão fosfato e percolado por uma microcoluna contendo 0,1 g de resina Amberlite IRA-904 modificada com TCPP (0,22 mmol g<sup>-1</sup>) a vazão de 1,5 mL min<sup>-1</sup>. A etapa de eluição ocorreu com solução 2,0 mol L<sup>-1</sup> de HNO<sub>3</sub>. Os autores mostraram que pelo método proposto, ambas as espécies de vanádio ( $V^{4+}$  e  $V^{5+}$ ) foram

determinadas por FAAS, porém o material reteve apenas  $V^{5+}$ , sendo o  $V^{4+}$  complexado com ácido ciclohexano-1,2-diaminotetracético (CDTA). O método foi aplicado em amostras de água de rio.

Além de modificações na resina Amberlite, em 2008, Seyhan e colaboradores realizaram a modificação química da resina clorometilada Merrifield com 5,10,15,20-tetrakis(ácidofenoxiacético)-porfirina (PAAP), sendo aplicada como adsorvente para a pré-concentração de  $Ni^{2+}$ ,  $Cu^{2+}$ ,  $Zn^{2+}$ ,  $Co^{2+}$ ,  $Mn^{2+}$ ,  $U^{6+}$  e  $Th^{4+}$  e determinação por F AAS. Para o preparo do adsorvente, uma solução de PAAP em etanol, pH 9,5, foi mantida em refluxo com a resina Amberlite por 5 horas a  $65^{\circ}C$ . Fatores de pré-concentração na faixa de 115 a 215 vezes foram obtidos. Porém, os autores inferem que a resina pode ser reutilizada em apenas 15 ciclos.

Radi e colaboradores (2017) fizeram uso de um adsorvente híbrido baseado em sílica modificada com um composto porfirínico (2-formil-5,10,15-20-tetrafenilporfirina(2-CHO-TPP)) para a adsorção de  $Pb^{2+}$ ,  $Zn^{2+}$ ,  $Cd^{2+}$  e  $Cu^{2+}$ . Em relação ao preparo do material, o composto porfirínico foi utilizado como um modificador químico da superfície da sílica. O procedimento de preparo do adsorvente consistiu primeiramente na síntese do 3-aminopropil-silica, que posteriormente foi mantida sob refluxo por 48 h em meio de tolueno e etanol juntamente com o composto porfirínico. Os experimentos de adsorção foram realizados em batelada. Frente a um estudo realizado com uma solução quaternária dos íons citados, os autores puderam concluir que a extração foi inferior em relação a adsorção em soluções individuais, indicando o efeito de competição entre os íons. Além disso, foi observado que o material exibiu maior seletividade para  $Pb^{2+}$ , sendo um indicativo de ser um material promissor para a extração desse metal em soluções aquosas contendo íons concorrentes.

Como demonstrado, mesmo com as propriedades quelantes, a protoporfirina é mais utilizada no preparo de materiais adsorventes como modificador de superfícies de resinas comerciais e sílica. O uso de protoporfirina como co-monômero na cadeia polimérica é, ainda, pouco explorado.

Nesse sentido, Diniz e colaboradores (2013b) sintetizaram um polímero híbrido denominado poli(etilenoglicoldimetacrilado–protoporfirina)–sílica, para a pré-

concentração on-line de  $\text{Cd}^{2+}$  e determinação por FAAS. O estudo de cinética e das isotermas permitiu aos autores verificarem que a adsorção dos íons  $\text{Cd}^{2+}$  no polímero se dá por um processo de quimissorção, envolvendo diferentes sítios de ligação, sendo esses nos anéis pirrólicos e nos grupos carboxílicos presentes na molécula de protoporfirina. Os autores inferem ainda que a estabilidade química do material foi satisfatória, uma vez que a mesma minicoluna recheada com o material foi utilizada durante pelo menos 162 etapas de pré-concentração, sem ocorrer perdas da capacidade adsorptivas, além disso, não foi relatado o efeito de inchaço do adsorvente sintetizado.

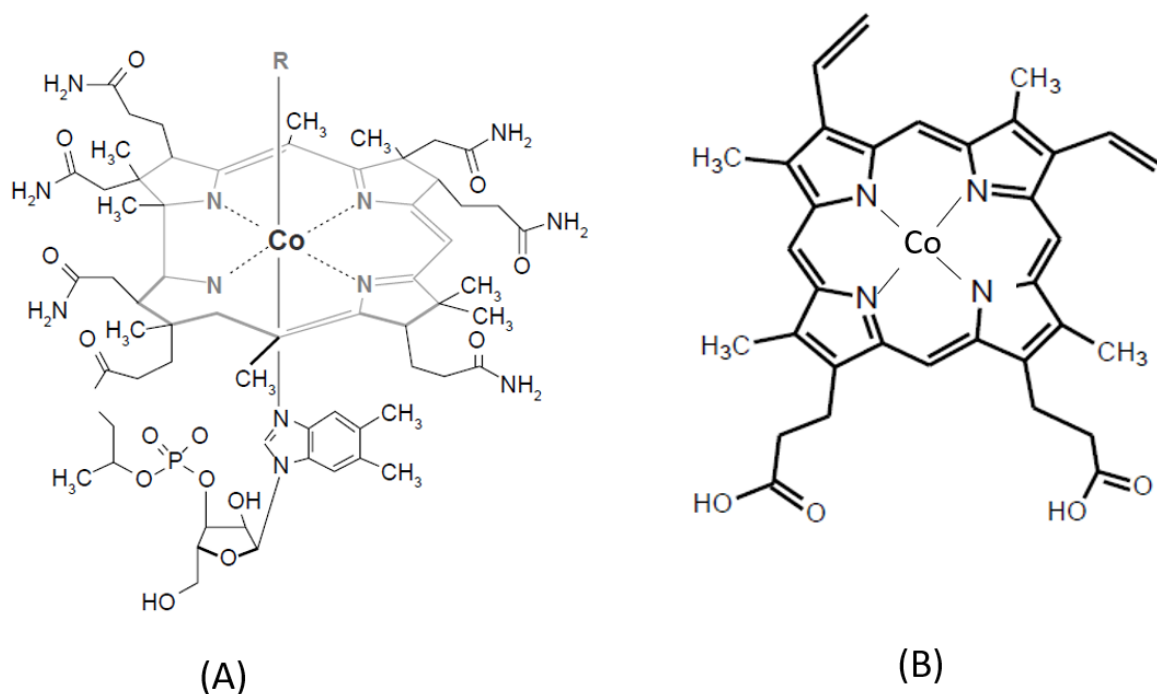
Oliveira e colaboradores (2013) realizaram a incorporação covalente de protoporfirina na matriz polimérica de um polímero poli(vinilpiridina) para a pré-concentração on-line de íons Manganês e determinação por F AAS. Os autores concluíram que a presença da protoporfirina na rede polimérica agregou melhorias adsorptivas ao polímero, quando comparado ao polímero apenas com vinilpiridina, além disso, o material apresentou características satisfatórias para o empacotamento em minicoluna. O método de pré-concentração de íons  $\text{Mn}^{2+}$  com o uso do polímero contendo protoporfirina em sua matriz, apresentaram menores limites de detecção e quantificação e maior fator de pré-concentração, do que quando utilizado o polímero apenas com vinilpiridina. Os autores evidenciaram que outros íons metálicos também podem ser adsorvidos ( $\text{Pb}^{2+}$ ,  $\text{Zn}^{2+}$  e  $\text{Fe}^{3+}$ ) pelo polímero com protoporfirina. O efeito da protoporfirina na rede polimérica também foi avaliado com o estudo de seletividade, no qual foi observado que o polímero com protoporfirina apresentou coeficiente de seletividade maior do que para o polímero apenas com a vinilpiridina, indicando que a capacidade de adsorção de íons  $\text{Mn}^{2+}$  frente aos íons co-existentes foi aumentada pela incorporação da protoporfirina na rede polimérica .

Como visto, os benefícios da incorporação da protoporfirina como co-monômero na rede polimérica, tanto em relação a capacidade adsorptiva e seletiva, bem como por apresentaram propriedades interessantes para ser empacotados em minicoluna, foram confirmados em outros estudos. Apesar disso, não há investigações mais profundas sobre o uso da protoporfirina no preparo de fases adsorventes, como por exemplo, o

estudo acerca do efeito da proporção de protoporfirina incorporado na matriz polimérica, fator que pode ser relevante para os resultados obtidos no método de pré-concentração.

Adicionalmente, como mencionado anteriormente, o cobalto é um constituinte da vitamina B12. Ao analisarmos a estrutura de tal vitamina, observa-se que o complexo formado com o cobalto é similar ao complexo formado entre a protoporfirina e o cobalto (Figura 4), podendo esse ser um indicativo de uma boa interação entre do metal com o quelante protoporfirina. Entretanto, não há na literatura estudos que realizaram a síntese de um polímero contendo protoporfirina como co-monômero para uso como adsorvente na pré-concentração on-line de íons cobalto.

**Figura 4.** Estrutura da vitamina B12 (A) e complexo formado entre a protoporfirina e o cobalto (B).



Fonte: Adaptado de JUNG et al., 2001 e Paniz et al., 2005.

## 2.6 Otimização de métodos de pré-concentração

Os métodos analíticos quando desenvolvidos devem ser otimizados. Nesta etapa são estudadas as variáveis que exercem influência sobre as respostas analíticas obtidas com o método, visando alcançar as condições desejáveis levando em consideração a sensibilidade do sistema em estudo e outras características analíticas, como a frequência analítica. Os procedimentos de otimização podem ocorrer de modo univariado e multivariado. No primeiro caso, otimização univariada, estuda-se cada variável de modo independente, variando apenas a variável de interesse e mantendo as demais constantes. Entretanto, a otimização univariada apresenta limitações como o tempo e o maior consumo de reagentes para realizar a otimização de todas as variáveis, visto que envolve um maior número de experimentos. Outra desvantagem é que o planejamento univariado não possibilita considerar os efeitos das interações que ocorrem entre as variáveis. Nesse sentido, o número de trabalhos que utilizam a otimização multivariada no desenvolvimento de métodos analíticos vem aumentando, o que justifica-se uma vez que esta permite avaliar simultaneamente o efeito de um grande número de variáveis a partir de um menor número de ensaios, resultando em menor consumo de reagentes e tempo de análise, além de permitir avaliar o efeito das interações entre as variáveis (MARINHO; DE CASTRO, 2005; NOVAES et al., 2017).

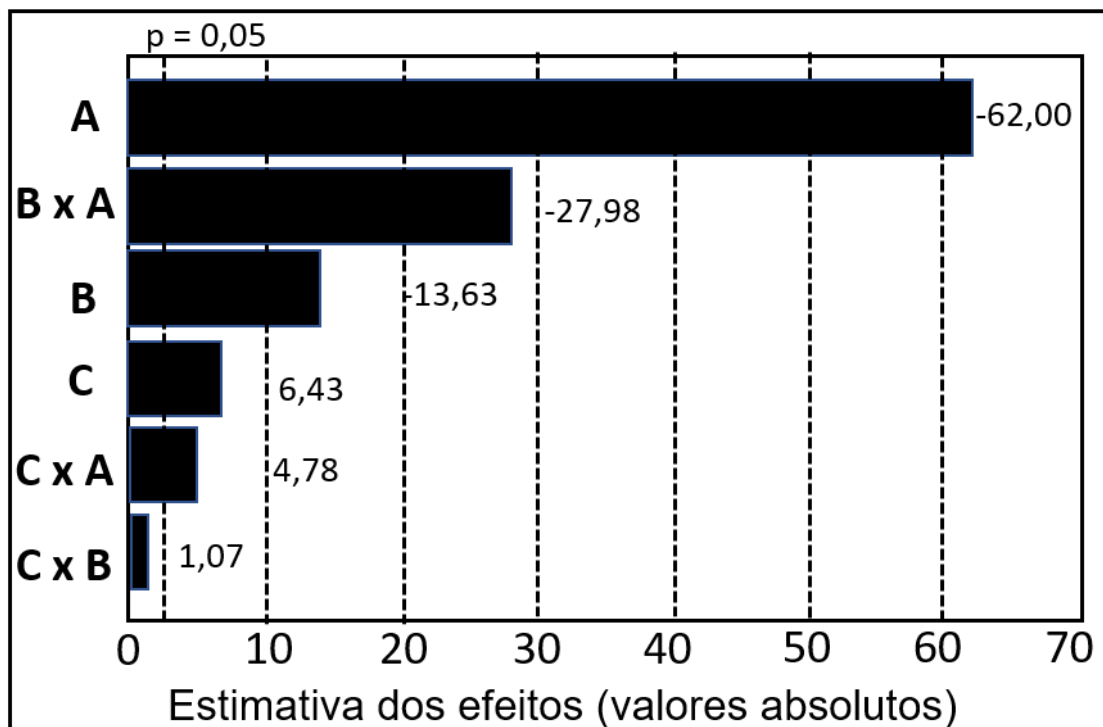
A avaliação multivariada das variáveis é realizada por meio de planejamentos fatoriais completos e fracionários, que se baseiam na variação simultânea das variáveis a um limitado número de níveis (condições investigadas). Esses tipos de planejamentos são usualmente empregados considerando-se dois níveis, sendo especialmente importantes no início de um estudo experimental, visto que permitem realizar uma triagem das variáveis evidenciando as mais significativas e quantificando suas interações (CUNICO et al., 2008).

O planejamento fatorial é, normalmente, representado por  $b^k$ , no qual  $k$  representa o número de variáveis a serem estudados, e  $b$ , representa o número de níveis escolhidos. Dessa forma, para um planejamento com dois níveis, sendo um nível superior e outro inferior normalmente codificados como em (+) e (-) respectivamente, e

5 variáveis, sua representação será  $2^5$  o que resulta em 32 ensaios. Quando o número de variáveis a serem avaliadas torna-se muito grande, o número de ensaios aumenta consideravelmente, podendo tornar inviável o planejamento fatorial completo. Uma alternativa a isso, é fazer uso do planejamento fatorial fracionário (incompleto) que consiste em avaliar os resultados realizando um número menor de ensaios, sem perder qualidade de respostas dos efeitos. Isso pode ser realizado visto que quando o número de variáveis aumenta, crescem as chances de uma ou mais variáveis não afetarem significativamente a resposta, seja por meio de efeitos principais, ou de efeitos de interação. Deste modo, para o mesmo exemplo citado anteriormente, um planejamento fatorial fracionário poderia ser representado por  $2^{5-1}$ , totalizando 16 experimentos (CUNICO et al., 2008; TEÓFILO; FERREIRA, 2006; VILELA, 2013).

Para a análise de quais variáveis e interações apresentam influências significativas sobre cada variável resposta considerada, pode-se utilizar uma representação gráfica, como o diagrama de Pareto. Na Figura 5 pode ser observado um diagrama de Pareto no qual as variáveis são representadas por A, B e C, e as interações por B x A, C x A e C x B. No gráfico, a importância de cada variável e de suas interações pode ser notada com o comprimento das barras horizontais. A linha vertical ( $p = 0,05$ ) indica o limite de significância, se a barra horizontal se encontra abaixo da linha vertical, variável pode ser considerada insignificante ou sem influência sob a variável resposta em estudo. Dessa forma, no exemplo presente na Figura 5 pode-se inferir que a variável A é mais significativa para o experimento, com efeito negativo estimado em -62,00, o que indica que há um ganho na variável resposta quando se utiliza a variável A em seu nível inferior. Para o diagrama de Pareto utilizado como exemplo, apenas a interação C x B não foi significativo ao sistema, visto que a barra está abaixo da linha limite de significância (VILELA, 2013).

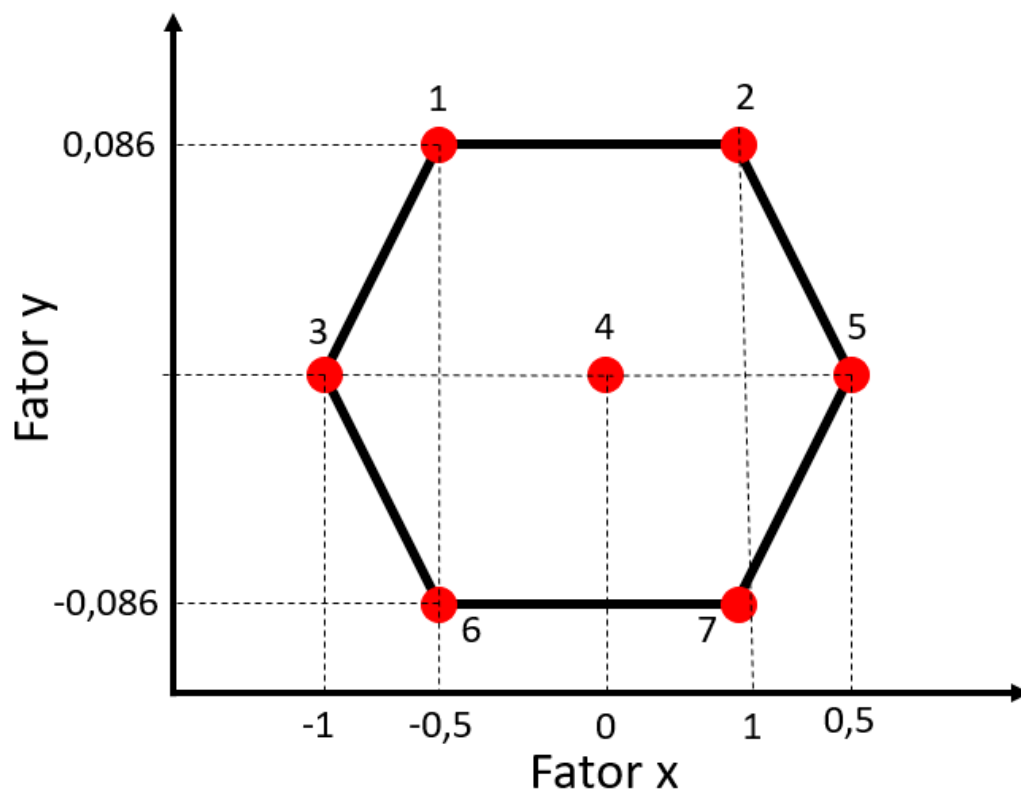
**Figura 5.** Diagrama de Pareto para um experimento fictício.



Fonte: Adaptado de VILELA, 2013.

Após triagem inicial dos experimentos, realizada pelo planejamento fatorial e analisada com o diagrama de Pareto, pode-se fazer uma otimização mais completa do planejamento utilizando as variáveis que foram mais significativas, estudando-as com mais níveis, a fim de se obter mais informação acerca do sistema. Para isso, pode ser empregado a Matriz de Doehlert, na qual os dados são tratados segundo a metodologia de superfície de resposta, em que modelos matemáticos quadráticos são construídos a fim de obter o ótimo experimental. Quando aplicado para duas variáveis, a matriz de Doehlert pode ser representada por um hexágono regular (Figura 6), totalizando 7 ensaios, sendo explorados cinco níveis para uma variável e três para a outra. A partir dos dados experimentais, com ajuda de softwares estatísticos é gerado um modelo quadrático que descreve a superfície de resposta. Realizando a derivada da equação do modelo quadrático em função da variável de interesse, obtém-se as condições ótimas experimentais (VILELA, 2013; NOVAES et al., 2017).

**Figura 6.** Distribuição dos pontos experimentais em uma matriz de Doehlert.



Fonte: adaptado de BASAGLIA, 2016.

### 3 OBJETIVOS

#### 3.1 Objetivo geral

O presente estudo teve como objetivo sintetizar copolímeros poli(protoporfirina-Co-vinilpiridina) com diferentes proporções de protoporfirina e 4-vinilpiridina, visando o desenvolvimento de um método de pré-concentração on-line de íons  $\text{Co}^{2+}$  e posterior determinação por espectrometria de absorção atômica com chama empregando o sistema de análise de injeção em fluxo (FIA-FAAS).

#### 3.2 Objetivos específicos

- Sintetizar os polímeros poli(protoporfirina-Co-vinilpiridina) com diferentes proporções de protoporfirina e 4-vinilpiridina;
- Sintetizar o polímero controle poli(vinilpiridina) para avaliar o efeito da protoporfirina na rede polimérica;
- Caracterizar os polímeros sintetizados por espectroscopia de infravermelho com transformada em Fourier (FT-IR), microscopia eletrônica de varredura (MEV), medidas de teor de água em equilíbrio (Efeito Swelling), análises de porosimetria por fisiossorção de gás nitrogênio e análise elementar;
- Avaliar a influência da protoporfirina na rede polimérica por meio de comparação do desempenho dos polímeros no sistema de pré-concentração on-line dos íons  $\text{Co}^{2+}$ ;
- Otimizar o pH para pré-concentração de  $\text{Co}^{2+}$
- Selecionar o polímero com melhor desempenho adsorptivo de cobalto para ser utilizado no desenvolvimento do método de pré-concentração;
- Otimizar o método de pré-concentração de cobalto em sistema FIA-FAAS empregando planejamento fatorial;
- Determinar as características analíticas do método de pré-concentração de  $\text{Co}^{2+}$  (linearidade da curva analítica, fator de pré-concentração, eficiência de pré-

concentração, índice de consumo, frequência analítica, limite de detecção e de quantificação e precisão intra e inter-dia);

- Avaliar a influência de possíveis íons interferentes no sistema de pré-concentração on-line de íons  $\text{Co}^{2+}$ ;
- Realizar o estudo da capacidade exaustiva do copolímero com melhor desempenho analítico;
- Realizar a aplicação do método em amostras reais de água de torneira, água mineral, água de lago, cacau em pó e chá preto;
- Avaliar a exatidão do método por meio da análise de material certificado.

## 4 EXPERIMENTAL

### 4.1 Reagentes e soluções

Todos os reagentes utilizados neste estudo foram de grau analítico, e todas as soluções foram preparadas com água purificada com resistividade de 18,2 M $\Omega$  provenientes de um sistema de purificação ELGA PURELAB<sup>®</sup> Maxima (High Wycombe, Bucks, Reino Unido). A fim de se evitar qualquer tipo de contaminação, todas as vidrarias e plásticos foram mantidos em uma solução de HNO<sub>3</sub> a 10,0% (v/v) por 24 horas e depois lavados com água deionizada, e secos antes do uso.

Para as sínteses dos polímeros foram utilizados: Protoporfirina IX (Na<sub>2</sub>PPIX,  $\geq 90,0\%$ ), 4-vinilpiridina (95,0%), dimetacrilato de etilenoglicol (EGDMA, 98,0%), 2,2'-azobis-iso-butironitrila (AIBN, 98,0%), dimetil sulfóxido (DMSO,  $\geq 99,0\%$ ) adquiridos da Sigma-Aldrich (Steinheim, Alemanha) e clorofórmio (CHCl<sub>3</sub>,  $\geq 99,0\%$ ) adquirido da Vetec (Rio de Janeiro, RJ, BR).

A solução de trabalho de 200  $\mu\text{g L}^{-1}$  de Co<sup>2+</sup> foi preparada a partir da diluição de uma solução de 5 mg L<sup>-1</sup> de Co<sup>2+</sup>, que por sua vez foi preparada a partir da diluição de uma solução estoque de 1000 mg L<sup>-1</sup> de Co<sup>2+</sup> preparada a partir do sal de nitrato de cobalto hexahidratado (Co(NO<sub>3</sub>)<sub>2</sub>.6H<sub>2</sub>O, 98,0%, Vetec) em 5,0%(v/v) de HNO<sub>3</sub>. HNO<sub>3</sub> 2 mol L<sup>-1</sup> foi utilizado como eluente no sistema FIA-FAAS. Para o estudo de íons contaminantes, soluções estoques de 1000 mg L<sup>-1</sup> dos íons (Ba<sup>2+</sup>, Ca<sup>2+</sup>, Cd<sup>2+</sup>, Cu<sup>2+</sup>, Mg<sup>2+</sup>, Ni<sup>2+</sup>, Pb<sup>2+</sup> e Zn<sup>2+</sup>) foram obtidas a partir do sal nitrato de bário (Sigma-Aldrich, 99%), nitrato de cálcio tetrahidratado (vetec, 99%), nitrato de cádmio tetrahidratado (Vetec, 99%), nitrato de cobre (II) trihidratado (vetec, 99%), nitrato de magnésio hexahidratado (Vetec, 98%), nitrato de níquel (II) hexahidratado (Sigma-Aldrich, 99%), nitrato de chumbo (Vetec, 99%) e nitrato de zinco hexahidratado (Vetec, 98%), respectivamente. Para digestão das amostras, utilizou-se HNO<sub>3</sub> (Sigma-Aldrich, 65%), H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> (Sigma-Aldrich, 30% v/v), HCl (Sigma-Aldrich, 37% v/v) e HF (Sigma-Aldrich, 40% v/v).

O ajuste do pH das soluções foi realizado com soluções de 1,0 mol L<sup>-1</sup> de hidróxido de sódio (NaOH, 99,0%) e/ou ácido nítrico. O preparo da solução de tampão

Tris-HCl foi feito a partir do sal Tris(hidroximetil) aminometano ( $\text{NH}_2\text{C}(\text{CH}_2\text{OH})_3\text{HCl}$ , Merck, Darmstadt, Alemanha) e o preparo do tampão Britton-Robinson (BR) a partir da mistura de ácido bórico (99,0%, Chemco, Brasil), ácido acético (Sigma-Aldrich) e ácido fosfórico (85,0%, Merck) nas mesmas concentrações.

## 4.2 Instrumentação

A determinação de cobalto foi realizada em um espectrômetro de absorção atômica com chama (F AAS, Shimadzu AA-7000, Tóquio, Japão). A chama foi composta por uma mistura de ar-acetileno com vazões de  $15,0 \text{ L min}^{-1}$  e  $2,0 \text{ L min}^{-1}$ , respectivamente. Como fonte de radiação utilizou-se uma lâmpada cátodo oco de cobalto (Hamamatsu Photonics, K.K) operando a  $13,0 \text{ mA}$  e comprimento de onda de  $240,7 \text{ nm}$  com largura de banda espectral de  $0,5 \text{ nm}$ . Para a correção de fundo, uma lâmpada de deutério foi utilizada. Para o sistema de pré-concentração on-line foi utilizada uma bomba peristáltica GILSON Minipuls Evolution (Middleton, Wi, EUA) de 4 canais.

Para a obtenção dos espectros FT-IR dos polímeros, foi utilizado um espectrofotômetro FT-IR Bruker® Vertex 70, com acessório de refletância Platinum ATR. A resolução espectral utilizada foi  $4 \text{ cm}^{-1}$  sendo utilizadas 16 varreduras para a obtenção dos espectros de  $400$  a  $4000 \text{ cm}^{-1}$ .

As análises de área superficial, tamanho e volume de poros dos polímeros foram realizadas empregando um analisador Quantachrome® Nova 1200 por meio da sorção de nitrogênio, sendo os dados de área superficial calculados a partir do modelo de BET (Brunauer, Emmett, Teller), e o volume e tamanho de poros determinados pelo modelo de BJH (Barrett, Joyner, Halenda). Para tal, inicialmente os polímeros foram aquecidos sob vácuo a  $120^\circ\text{C}$  por 4 horas e posteriormente submetidos a sorção de nitrogênio.

A morfologia dos polímeros foi avaliada empregando um microscópio eletrônico de varredura (MEV) utilizando ampliações de 100 e 20000 vezes, com escala de  $2,0 \mu\text{m}$ . Para análise de MEV, os polímeros foram dispersos em uma fita dupla face de carbono e revestidos com uma fina camada de ouro ( $30 \text{ nm}$ ) usando o equipamento Bal-Tec SCD Sputter Coater (New York, EUA).

A análise elementar para determinação da porcentagem molar de carbono, hidrogênio e nitrogênio presente nos polímeros foi realizada utilizando um Analisador Elementar Perkin 42 Elmer 2400 (Shelton, CT, USA).

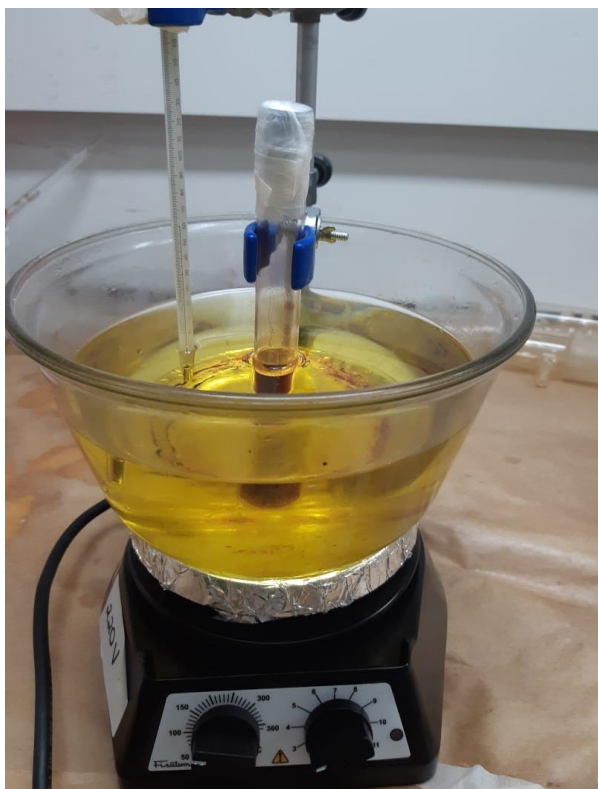
Para o ajuste do pH das soluções foi utilizado um pHmetro Metrohm® 826 (Herisau, Switzerland). Para a pesagem de todos os reagentes, polímeros e amostras utilizou-se uma balança analítica (Shimadzu Tóquio, Japão).

Amostras de cacau em pó 70%, chá preto e material certificado MESS-3 foram digeridas em sistema fechado utilizando um forno micro-ondas Milestone (ETHOS One, Sorisole, Itália). Uma chapa de aquecimento (Marconi, Brasil) foi utilizada na etapa de secura das amostras após a digestão.

### **4.3 Procedimento de sínteses dos polímeros**

A síntese dos polímeros foi embasada em procedimentos descritos na literatura, com algumas modificações (SARTORI et al., 2011; OLIVEIRA et al., 2013). Inicialmente, em um tubo de vidro, o sal protoporfirina IX de sódio foi dissolvido em 5,0 mL da mistura DMSO:CHCl<sub>3</sub> (1:1 v/v), seguida pela adição de 4-vinilpiridina, 10,0 mmol de EGDMA e 100,0 mg de AIBN. A solução foi purgada com gás nitrogênio por 15 minutos. Selou-se o frasco e a mistura reacional foi mantida em banho de óleo por 24h à 60°C (Figura 7). Após a polimerização o tubo de vidro foi quebrado e o material resultante foi removido do frasco. O sólido foi lavado com etanol e água ultrapura e seco a 50°C. Por fim, os polímeros foram triturados com almofariz e pistilo, e peneirados para obter um tamanho de partículas entre 106-150 µm, tamanho apropriado para empacotamento em minicoluna evitando a perda de polímero.

**Figura 7.** Foto do banho de óleo e frasco reacional utilizado na síntese dos polímeros.



A síntese foi realizada com diferentes proporções de protoporfirina e 4-vinilpiridina, sendo essas apresentadas na Tabela 1.

**Tabela 1.** Proporções de protoporfirina e 4-vinilpiridina utilizadas no procedimento de síntese de cada polímero.

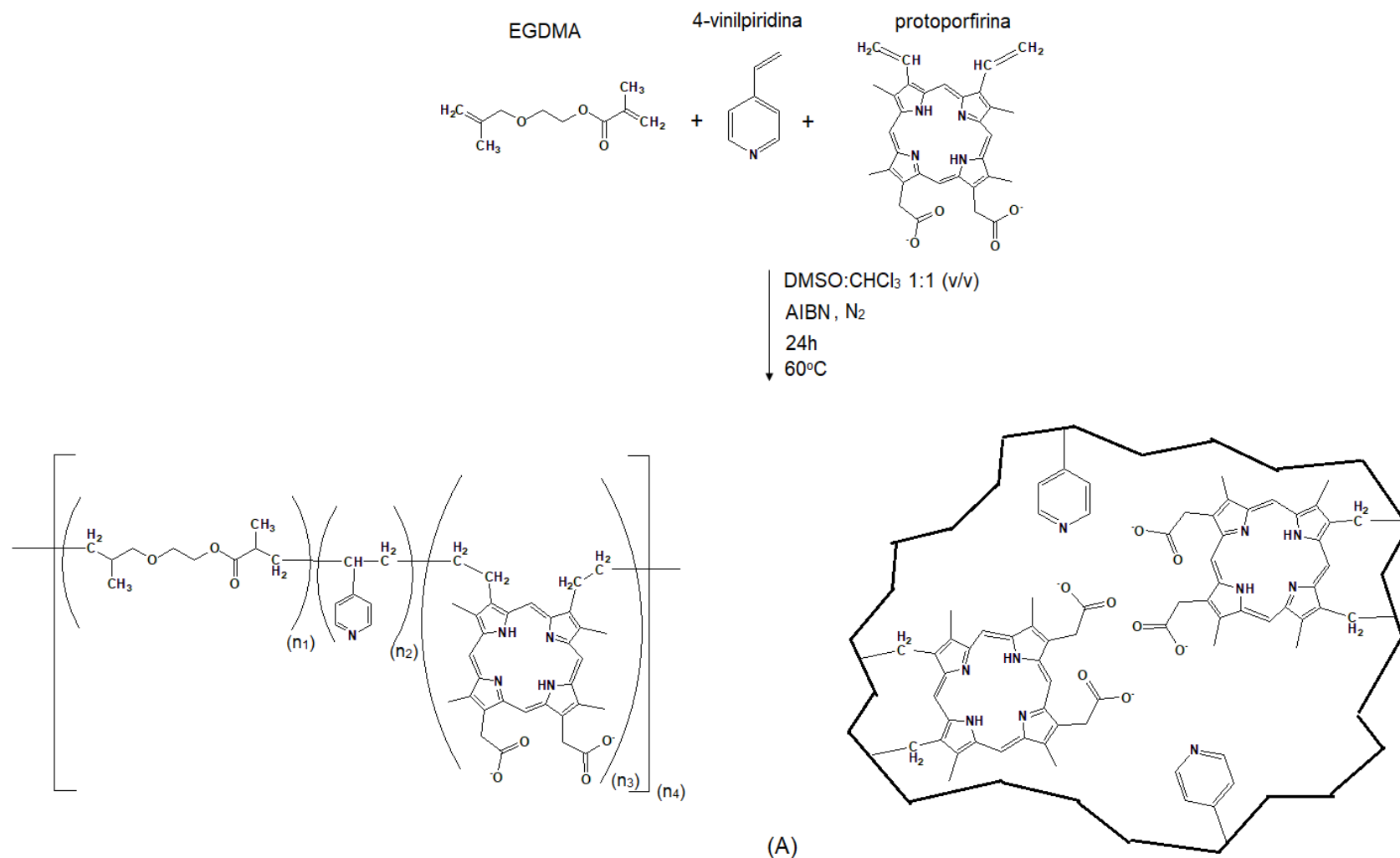
<b>Polímero</b>	<b>4-Vinilpiridina (4VP) (mmol)</b>	<b>Protoporfirina IX (PP) (mmol)</b>
<b>poli(4VP)</b>	5,100	-
<b>poli(4VP-PP)(5,099/0,001)</b>	5,099	0,001
<b>poli(4VP-PP)(5,075/0,025)</b>	5,075	0,025
<b>poli(4VP-PP)(5/0,1)</b>	5,000	0,100
<b>poli(4VP-PP)(4,9/0,2)</b>	4,900	0,200

A imagem os polímeros obtidos após as etapas de lavagem e moagem mencionadas, pode ser observada na Figura 8. As Figuras 9 e 10 contém um esquema representativo de síntese proposta para os polímeros.

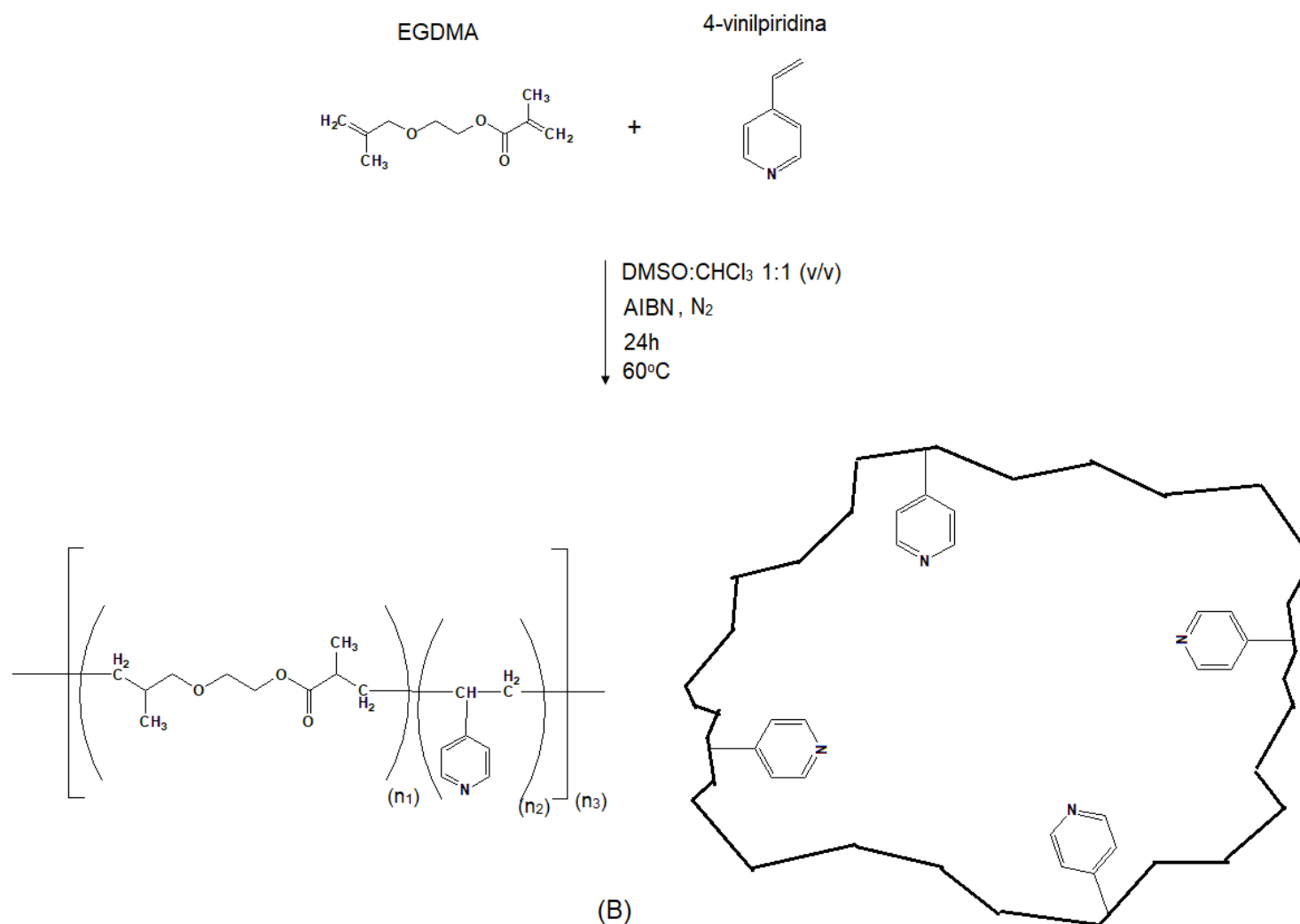
**Figura 8.** Imagens polímeros sintetizados.



**Figura 9.** Esquema representativo da formação da cadeia polimérica do polímero poli(protoporfirina-co-vinilpiridina).



**Figura 10.** Esquema representativo da formação da cadeia polimérica do polímero poli(4VP).



#### 4.4 Medidas do teor de água em equilíbrio (Efeito Swelling)

Para avaliar o caráter hidrofílico dos polímeros sintetizados, Mediante a absorção de água, foi realizado medidas do teor de água em equilíbrio (efeito Swelling). Para a realização desse estudo, 100,0 mg de cada polímero (massa seca) foram agitados com 10,0 mL de água ultrapura durante 24 h. Decorrido esse tempo, os materiais foram filtrados a vácuo em membrana de Nylon® (marca Magna, 0,45 µm) e pesados em balança analítica (marca Shimadzu modelo AUX220). Para se calcular o Teor de água em equilíbrio (TAE) para cada polímero utilizou-se a equação 1.

$$\text{TAE (\%)} = \frac{m_U - m_S}{m_S} \times 100 \quad (1)$$

$m_U$  representa a massa do polímero úmido e  $m_S$  refere-se a massa do polímero seco. O estudo foi realizado em triplicata (n=3).

#### 4.5 Sistema de pré-concentração on-line de $\text{Co}^{2+}$ utilizando o sistema FIA-FAAS

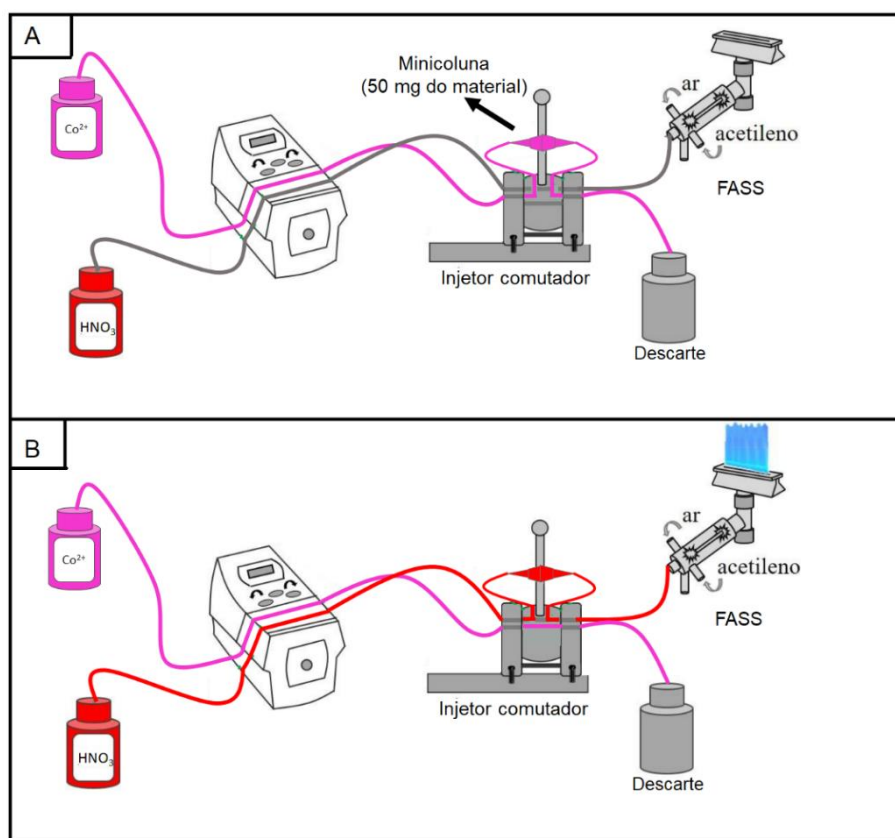
O sistema de análise por injeção em fluxo (FIA) com detecção por F AAS foi composto por um injetor comutador 2-3-2 de acrílico acoplado ao F AAS e, para propulsionar as soluções líquidas, uma bomba peristáltica de 4 canais, equipada com tubos Tygon® (diâmetro de 1,65 mm). As conexões entre os tubos Tygon® com o injetor, bem como com F AAS foram feitas com tubos de polipropileno com diâmetro interno de 0,8 mm.

O sistema de pré-concentração on-line consiste no empacotamento de 50,0 mg de cada polímero, separadamente, em minicolunas com formato cilíndrico de 1,5 cm de comprimento e 5,0 mm de diâmetro interno, confeccionadas em polietileno obtidos de ponteiros de micropipetas. Tecido de algodão foi adicionado nas extremidades das minicolunas para se evitar perda dos polímeros durante o processo de análise. As minicolunas foram acopladas ao injetor comutador para a pré-concentração e eluição on-line de  $\text{Co}^{2+}$ , conforme mostrado na Figura 11. Vale ressaltar que para cada material foi

preparada mais de uma coluna com o intuito de se averiguar a reprodutibilidade das colunas preparadas bem como a homogeneidade dos materiais.

Para a etapa de pré-concentração, 20,0 mL de soluções de amostra ou padrão em pH 9,0 tamponadas com tampão Tris-HCl 0,01 mol L<sup>-1</sup>, foram percolados por uma minicoluna contendo 50,0 mg do poli(4VP-PP)(5/0,1) a uma vazão de 7,40 mL min<sup>-1</sup>. A etapa de eluição ocorreu com o uso de uma solução de HNO<sub>3</sub> 2,0 mol L<sup>-1</sup>. Durante a etapa de pré-concentração, o tubo Tygon® é desconectado da bomba peristáltica a fim de se evitar desperdícios de solução, como representado na letra A da Figura 11. Vale ressaltar que a escolha do tipo de eluente se embasou na pureza mais elevada do HNO<sub>3</sub> em relação ao HCl por exemplo, além disso, levou-se em consideração o fato de não haver a formação de compostos insolúveis de cobalto com o uso do HNO<sub>3</sub>.

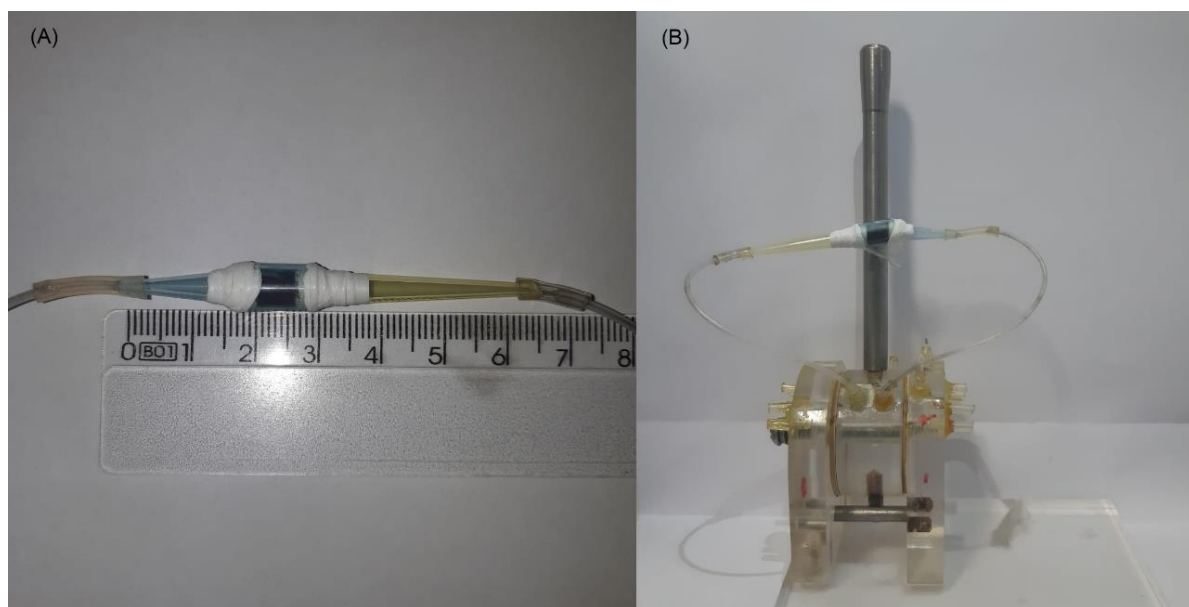
**Figura 11.** Sistema de pré-concentração (A) e eluição (B) em fluxo utilizado no desenvolvimento do método de pré-concentração de íons Co<sup>2+</sup>.



Fonte: Adaptado de SUQUILA et al., 2018.

Uma foto da minicoluna utilizada contendo o poli(4VP-PP)(5/0,1) (A) bem como a foto do sistema injetor comutador contendo a minicoluna (B), pode ser visto na Figura 12.

**Figura 12.** Foto da minicoluna recheada com poli(4VP-PP)(5/0,1) (A) e foto do sistema injetor comutador contendo a minicoluna recheada com poli(4VP-PP)(5/0,1) (B).



#### 4.6 Comparação do desempenho adsorativo dos materiais

A fim de se comparar a eficiência de cada polímero como adsorvente no sistema de pré-concentração on-line de  $\text{Co}^{2+}$ , foram percoladas alíquotas de 10,0 mL de uma solução de  $200,0 \text{ ug L}^{-1}$  de  $\text{Co}^{2+}$  em pH 9,0 na presença de  $0,1 \text{ mol L}^{-1}$  de tampão Tris-HCl por cada minicoluna contendo 50,0 mg dos respectivos polímeros, a uma vazão de  $5,0 \text{ mL min}^{-1}$ . O valor inicial de pH empregado para as pré-concentrações foi baseado em estudos anteriores reportados na literatura (KARATEPE et al., 2007; STAFIEJ; PYRZYNSKA, 2007). Foram determinadas a razão entre o sinal analítico obtido com a etapa de pré-concentração com cada polímero e a medida obtida sem a etapa de pré-concentração, além da razão entre as absorbâncias obtidas com o uso dos polímeros sintetizados na presença de protoporfirina (poli(4VP-PP)(5/0,1), poli(4VP-

PP)(5,075/0,025), poli(4VP-PP)(5,099/0,001) e poli(4VP-PP)(4,9/0,2)) e na ausência de protoporfirina (poli(4VP)).

#### **4.7 Estudo da influência do pH e do tampão na pré-concentração de $\text{Co}^{2+}$**

O efeito do pH sobre a pré-concentração de íons  $\text{Co}^{2+}$  foi avaliado de modo univariado. Para a etapa de pré-concentração, alíquotas de 10,0 mL contendo 200,0  $\mu\text{g L}^{-1}$  de  $\text{Co}^{2+}$  em diferentes valores de pH, variando de 4,0 a 10,0, na presença de 0,1 mol  $\text{L}^{-1}$  de tampão BR foram percolados por cada minicoluna contendo 50,0 mg dos respectivos polímeros, a vazão de 5,0 mL  $\text{min}^{-1}$ .

A influência da presença do tampão também foi avaliada nesse estudo. Para o polímero que se obteve maior resposta analítica no estudo de pH (poli(4VP-PP)(5/0,1)), foram percoladas alíquotas de soluções de  $\text{Co}^{2+}$  na presença e ausência de tampão, nas mesmas condições anteriormente descritas.

#### **4.8 Otimização do método proposto para pré-concentração de íons $\text{Co}^{2+}$ em sistema FIA-FAAS**

A fim de avaliar o efeito da massa do adsorvente (MA), vazão de pré-concentração (VP), concentração do eluente (CE) e concentração do tampão (CT) (BASAGLIA et al., 2017; NANICUACUA, et al., 2016; SUQUILA et al., 2018), no sistema de pré-concentração on-line de  $\text{Co}^{2+}$ , foi realizado um planejamento fatorial fracionário  $2^{5-1}$  (totalizando 16 experimentos). O estudo foi realizado empregando como o adsorvente tanto o polímero poli(4VP-PP)(5/0,1) que apresentou melhor desempenho adsorativo, quanto o polímero poli(4VP), a fim de se avaliar o efeito da presença da protoporfirina na matriz polimérica sobre os parâmetros analíticos do método de pré-concentração de  $\text{Co}^{2+}$ . Para este estudo, pela minicoluna foram percolados 20,0 mL de uma solução de 200,0  $\mu\text{g L}^{-1}$  de  $\text{Co}^{2+}$  com pH 9,0. Vale ressaltar que esse valor de pH fora previamente otimizado, e o volume percolado está de acordo com trabalhos desenvolvidos no grupo de pesquisa. O planejamento fatorial foi avaliado utilizando como variável dependente (resposta) o sinal analítico (absorbância, Abs) e o parâmetro

analítico “eficiência de sensibilidade” (ES). O parâmetro ES foi calculado a partir da equação  $ES = Abs/t$ , sendo Abs a absorvância e t o tempo de pré-concentração e eluição em segundos. A Tabela 2 apresenta os níveis descodificados (inferior e superior) para as variáveis independentes (fatores) utilizadas no delineamento experimental.

**Tabela 2.** Variáveis independentes e níveis descodificados (inferior e superior) utilizadas no delineamento experimental.

Variáveis	Níveis	
	Inferior (-1)	Superior (+1)
<b>Massa adsorvente (MA) (mg)</b>	50,0	100,0
<b>Vazão de pré-concentração (VP) (ml min<sup>-1</sup>)</b>	3,0	7,0
<b>Concentração do eluente (CE) (mol L<sup>-1</sup>)</b>	1,0	2,0
<b>Concentração do tampão (CT) (mol L<sup>-1</sup>)</b>	0,01	0,1
<b>Tipo do tampão</b>	Tris-HCl	Tampão BR

Após ser estabelecido a significância de cada fator, bem como de suas interações, pela análise de variância (ANOVA) com intervalo de confiança de 95%, foi empregado uma matriz de Doehlert a fim de se obter as condições ótimas para o sistema de pré-concentração de  $Co^{2+}$ . As variáveis vazão de pré-concentração (VP) e concentração do tampão (CT) foram avaliadas em cinco e três níveis, respectivamente, totalizando 7 experimentos, com ponto central realizado em triplicata, de acordo com a Tabela 3. As variáveis MA, CE e pH foram fixadas em 50,0 mg, 2,0 mol L<sup>-1</sup> e 9,0, respectivamente. Os dados experimentais foram processados usando o pacote de software StatSoft STATISTICA 7.0 (Tulsa, USA, 1984-2004).

**Tabela 3.** Matriz de Doehlert utilizada para a otimização do método de pré-concentração de íons  $\text{Co}^{2+}$ .

Ensaio	Variáveis	
	VP ( $\text{mL min}^{-1}$ )	CT ( $\text{mol L}^{-1}$ )
1	0 (7,0)	0 ( $1,0 \times 10^{-2}$ )
2	1 (9,0)	0 ( $1,0 \times 10^{-2}$ )
3	0,5 (8,0)	0,866 ( $1,5 \times 10^{-2}$ )
4	-1 (5,0)	0 ( $1,0 \times 10^{-2}$ )
5	-0,5 (6,0)	-0,866 ( $5,0 \times 10^{-3}$ )
6	0,5 (8,0)	-0,866 ( $5,0 \times 10^{-3}$ )
7	-0,5 (6,0)	0,866 ( $1,5 \times 10^{-2}$ )

Os valores em parênteses representam os níveis descodificados para as variáveis vazão de pré-concentração (VP) e concentração do tampão (CT).

#### 4.9 Desempenho analítico do método de pré-concentração de $\text{Co}^{2+}$

Sob as melhores condições, o desempenho analítico do método proposto para a pré-concentração de cobalto foi avaliada por meio da linearidade da curva analítica, fator de pré-concentração (FP), eficiência de pré-concentração (EP), índice de consumo (IC), frequência analítica (FA), limite de detecção (LD) e limite de quantificação (LQ) e precisão intra e inter-dia, avaliada em termos de repetibilidade ( $n=10$  e  $n=2$ , respectivamente).

Curvas analíticas foram construídas após a etapa de pré-concentração utilizando o poli(4VP-PP)(5/0,1) e o poli(4VP) como adsorventes, a partir de soluções padrões de  $\text{Co}^{2+}$  ajustadas a pH 9,0 na presença de  $0,01 \text{ mol L}^{-1}$  de tampão Tris-HCl, na faixa de concentração de 4,60 a  $200,0 \mu\text{g L}^{-1}$  de  $\text{Co}^{2+}$  e 9,80 a  $150,0 \mu\text{g L}^{-1}$  de  $\text{Co}^{2+}$  respectivamente. Também foi construída uma curva analítica sem a etapa de pré-concentração, ou seja, leitura direta no F AAS, na faixa e concentração de 200,0 a  $5000,0 \mu\text{g L}^{-1}$ . O FP foi determinado como a razão entre o coeficiente angular das curvas analíticas na presença e ausência da etapa de pré-concentração. A EP foi calculada a partir da razão entre o FP e o tempo de pré-concentração (162 segundos), O IC foi estimado pela razão entre o volume da amostra utilizado na etapa de pré-concentração

(20,0 mL) e o valor do FP. A frequência analítica foi definida como o número de análises que podem ser realizadas em uma hora. O LD e o LQ foram determinados de acordo com a IUPAC (International Union of Pure and Applied Chemistry), fazendo uso das equações  $3 \times DP/b$  e  $10 \times DP/b$ , respectivamente, onde DP é o desvio padrão de 10 medidas de brancos analíticos e b representa o coeficiente angular da curva analítica. A precisão intra e inter-dia foi avaliada levando em consideração o desvio padrão relativo (DPR) para  $n=10$  em três níveis de concentração da curva analítica, sendo esses 200,0, 100,0 e 10,0  $\mu\text{g L}^{-1}$  utilizando poli(4VP-PP)(5/0,1) como adsorvente e 150,0, 75,0 e 10,0  $\mu\text{g L}^{-1}$  quando poli(4VP) foi utilizado como adsorvente.

#### 4.10 Estudo da capacidade exaustiva

Quando se desenvolve um método de pré-concentração, é importante se ter o conhecimento do desempenho da minicoluna em relação a retenção quantitativa do analito de interesse, e para isso pode ser feito a curva de ruptura/exaustão. A curva de ruptura, além de permitir identificar qual a concentração máxima de analito que pode ser adsorvido por grama do material adsorvente, permite avaliar o volume e a concentração da amostra que pode ser percolada pela minicoluna sem perdas da eficiência adsortiva. Para a construção da curva de ruptura, sob condições previamente otimizadas do método proposto, percolou-se alíquotas de 0,5 mL, 1,0 mL e 2,0 mL de uma solução de 1,0  $\text{mg L}^{-1}$  de  $\text{Co}^{2+}$  tamponada com 0,01  $\text{mol L}^{-1}$  de Tris-HCl em pH 9,0, através da minicoluna empacotada com 50,0 mg do polímero poli(4VP-PP)(5/0,1). As alíquotas de 0,5 mL foram coletadas nos primeiros 11,0 mL, as alíquotas de 1,0 mL coletadas de 11,0 a 27,0 mL e as alíquotas de 2,0 mL foram coletadas de 27,0 a 171,0 mL. A determinação de íons  $\text{Co}^{2+}$  em cada alíquota coletada foi realizada por F AAS. Para a análise dos dados, plotou-se a curva de ruptura que consiste em um gráfico de  $\frac{C_{\text{final}}}{C_{\text{inicial}}}$  em função do volume percolado, na qual  $C_{\text{inicial}}$  refere-se a concentração de  $\text{Co}^{2+}$  na solução inicial e  $C_{\text{final}}$  refere-se a concentração de  $\text{Co}^{2+}$  nas alíquotas percoladas pela minicoluna.

#### 4.11 Efeito de íons contaminantes na pré-concentração de íons $\text{Co}^{2+}$

A fim de se avaliar a influência de íons contaminantes no sistema de pré-concentração on-line de  $\text{Co}^{2+}$ , soluções binárias contendo  $50,0 \mu\text{g L}^{-1}$  de  $\text{Co}^{2+}$  e os íons contaminantes ( $\text{Ba}^{2+}$ ,  $\text{Ca}^{2+}$ ,  $\text{Cd}^{2+}$ ,  $\text{Cu}^{2+}$ ,  $\text{Mg}^{2+}$ ,  $\text{Ni}^{2+}$ ,  $\text{Pb}^{2+}$  e  $\text{Zn}^{2+}$ ) foram submetidas a pré-concentração on-line sob as condições otimizadas. O uso de soluções binárias permite a compreensão de como cada íon contaminante afeta o sistema de pré-concentração dos íons  $\text{Co}^{2+}$ . Para avaliação da possível influência dos íons  $\text{Mn}^{2+}$ , o estudo se deu com soluções binárias contendo  $10,0 \mu\text{g L}^{-1}$  de íons  $\text{Co}^{2+}$ . Vale ressaltar que entre a etapa de pré-concentração de cada solução binária, realizou-se a etapa de pré-concentração com uma solução check ( $200 \mu\text{g L}^{-1}$  de  $\text{Co}^{2+}$ ) a fim de se averiguar se a condição inicial da minicoluna fora reestabelecida, não afetando as etapas de pré-concentração subsequentes. Foram estudadas diferentes proporções, em razão de íon  $\text{Co}^{2+}$ : íon contaminante, conforme apresentado na Tabela 4.

**Tabela 4.** Proporções de íon  $\text{Co}^{2+}$ : íon contaminante (m/m) empregadas nos estudos de íons contaminantes para pré-concentração de  $\text{Co}^{2+}$  com poli(4VP-PP)(5/0,1).

	Proporções (íon $\text{Co}^{2+}$ : íon contaminante (m/m))					
	1:1	1:10	1:30	1:50	1:100	1:200
<b>Íons</b>	$\text{Ba}^{2+}$	$\text{Ba}^{2+}$	$\text{Ba}^{2+}$			
	$\text{Cd}^{2+}$	$\text{Ca}^{2+}$	$\text{Ca}^{2+}$	$\text{Ba}^{2+}$		
	$\text{Cu}^{2+}$	$\text{Cd}^{2+}$	$\text{Cd}^{2+}$	$\text{Ca}^{2+}$	$\text{Ba}^{2+}$	
	$\text{Mn}^{2+}$	$\text{Cu}^{2+}$	$\text{Cu}^{2+}$	$\text{Cu}^{2+}$	$\text{Ca}^{2+}$	$\text{Ca}^{2+}$
	$\text{Ni}^{2+}$	$\text{Mg}^{2+}$	$\text{Mg}^{2+}$	$\text{Mg}^{2+}$	$\text{Cu}^{2+}$	$\text{Mg}^{2+}$
	$\text{Pb}^{2+}$	$\text{Mn}^{2+}$	$\text{Ni}^{2+}$	$\text{Pb}^{2+}$	$\text{Mg}^{2+}$	
	$\text{Zn}^{2+}$	$\text{Ni}^{2+}$	$\text{Pb}^{2+}$			
		$\text{Pb}^{2+}$	$\text{Zn}^{2+}$			
		$\text{Zn}^{2+}$				

Tais íons foram selecionados para estudo visto que apresentam características similares aos íons  $\text{Co}^{2+}$  como a carga e/ou raio iônico e/ou características ácidas. Outro aspecto importante a ser levado em consideração é que a protoporfirina, por conter em sua estrutura um extenso sistema de elétrons descentralizados, apresenta propriedades quelantes que permite formar metaloporfirinas, ou seja, formar complexos estáveis com diversos metais além do cobalto, dentre esses o  $\text{Mn}^{2+}$ ,  $\text{Zn}^{2+}$  (MORETTI et al., 2016; PYRZYŃSKA; KILIAN et al., 2001; PYRZYŃSKA; WIERZBICKI et al., 2003; SEYHAN et al., 2008; OLIVEIRA, 2013).

O mesmo estudo foi realizado utilizando como adsorvente o polímero poli(4VP) para se averiguar a influência de íons contaminantes no sistema de pré-concentração on-line de íons  $\text{Co}^{2+}$ , e dessa forma, inferir sobre a seletividade do polímero poli(4VP-PP)(5/0,1). As proporções m/m de íon  $\text{Co}^{2+}$ : íon contaminante utilizada nesse estudo encontram-se na tabela 5. A escolha de tais proporções foram baseadas na proporção na qual ocorreu a interferência no estudo realizado anteriormente com o uso do adsorvente poli(4VP-PP)(5/0,1). Como exemplo, para  $\text{Cu}^{2+}$  com o uso do adsorvente poli(4VP-PP)(5/0,1) observou-se efeito de interferência na proporção de 1:100, deste modo utilizando o poli(4VP), a proporção inicial testada foi de 1:50.

**Tabela 5.** Proporções de íon  $\text{Co}^{2+}$ : íon contaminante (m/m) empregadas nos estudos de íons contaminantes para pré-concentração de  $\text{Co}^{2+}$  com poli(4VP).

	Proporções (íon $\text{Co}^{2+}$ : íon contaminante (m/m))				
	1:1	1:10	1:50	1:100	1:200
	$\text{Cd}^{2+}$				
	$\text{Pb}^{2+}$	$\text{Cd}^{2+}$			$\text{Ba}^{2+}$
<b>Íons</b>	$\text{Ni}^{2+}$	$\text{Ni}^{2+}$	$\text{Cu}^{2+}$	$\text{Cu}^{2+}$	$\text{Ca}^{2+}$
	$\text{Zn}^{2+}$				$\text{Mg}^{2+}$
	$\text{Mn}^{2+}$				

O efeito de interferência foi avaliado por meio das porcentagens de recuperação estimadas ao se comparar o sinal analítico obtido na presença e ausência do íon

contaminante. Recuperações de  $100\pm 10\%$  foram consideradas aceitáveis para se inferir a ausência do efeito de interferência pelos íons estudados.

#### **4.12 Aplicação do método proposto em amostras reais e material certificado**

Para avaliar a exatidão e a aplicabilidade do método proposto, foram realizadas análises em diferentes amostras de água, sendo essas: água mineral, água de torneira e água de lago. As amostras de água mineral foram adquiridas em supermercados da região de Londrina/PR. As amostras de água de torneira foram coletadas no Campus da Universidade Estadual de Londrina. As amostras de água de lago foram coletadas no Lago Igapó, localizado na cidade de Londrina. A água do lago foi coletada em um frasco previamente descontaminado, imediatamente acidificada a pH 2,0 com  $\text{HNO}_3$  e, filtrada em membrana  $0,45\ \mu\text{m}$ . Todas as amostras de água tiveram seu pH ajustado a 9,0 em meio de tampão Tris-HCl  $0,01\ \text{mol L}^{-1}$  e submetidas ao processo de pré-concentração sob as condições otimizadas.

O método também foi aplicado em amostras de cacau em pó 70% adquiridas em supermercado da região de Londrina/PR. Para isso, as amostras foram digeridas em sistema fechado com micro-ondas, seguindo metodologia de Tarley et al., (2017b) com modificações. Inicialmente, transferiu-se 700,0 mg da amostra em um frasco de teflon, e deixadas overnight para uma pré-digestão com uma mistura de 10,0 mL de  $\text{HNO}_3$  concentrado e 4,0 mL de  $\text{H}_2\text{O}_2$  30% (v/v). Posteriormente, a mistura foi submetida a digestão com o forno micro-ondas, fazendo uso da seguinte programação de rampa de aquecimento: Aquecimento até  $80^\circ\text{C}$  em 10 minutos, mantendo nessa temperatura por 6 minutos, aquecimento até  $120^\circ\text{C}$  em 7 minutos, mantendo nessa temperatura por 5 minutos, aquecimento até  $190^\circ\text{C}$  em 15 minutos, mantendo nessa temperatura por 20 minutos. A potência utilizada em toda a rampa foi 700W. Por fim, as amostras digeridas foram transferidas para béqueres e aquecidas em chapa de aquecimento até quase a secura. As amostras foram transferidas para balões volumétricos de 50,0 mL, tendo seu pH ajustado em 9,0 em meio de tampão Tris-HCl  $0,01\ \text{mol L}^{-1}$ .

Amostras de chá preto a granel adquiridas em supermercado da região de Londrina/PR, tiveram sua infusão preparadas conforme indicação do rótulo. Para o

preparo, 15,0 g do chá foram deixadas por 10 minutos em infusão com 500,0 mL de água a 80° C. As amostras tiveram seu pH ajustado a 9,0 em meio de tampão Tris-HCl 0,01 mol L<sup>-1</sup> e foram submetidas ao processo de pré-concentração. Foi também empregado o método na amostra de chá preto a granel digerida, seguindo a rampa descrita por Suquila et al. (2019), com modificações. Para tal, 700,0 mg de chá preto a granel foram transferidas para frascos de teflon, e deixadas overnight para uma pré-digestão com uma mistura de 15,0 mL de HNO<sub>3</sub> concentrado e 4,0 mL de H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> 30% (v/v). Posteriormente, a mistura foi submetida a digestão com o forno micro-ondas, fazendo uso da seguinte programação de rampa de aquecimento adaptada de: Aquecimento até 80°C em 10 minutos, mantendo nessa temperatura por 5 minutos, aquecimento até 120°C em 7 minutos, mantendo nessa temperatura por 5 minutos, aquecimento até 190°C em 15 minutos, mantendo nessa temperatura por 15 minutos. A potência utilizada em toda a rampa foi 700W. Por fim, as amostras digeridas foram transferidas para um béquer e deixadas em aquecimento para a secura. As amostras foram avolumadas para 50,0 mL em balão volumétrico, tendo seu pH ajustado em 9,0 em meio de tampão Tris-HCl 0,01 mol L<sup>-1</sup>.

Teste de adição e recuperação foi empregado com o intuito de se averiguar a exatidão do método proposto. Para isso, as amostras de água e infusão de chá preto foram dopadas com 10 µg L<sup>-1</sup> de Co<sup>2+</sup> e 15 µg L<sup>-1</sup> de Co<sup>2+</sup>, respectivamente. As amostras tiveram seu pH ajustado a 9,0 (tampão Tris-HCl 0,01 mol L<sup>-1</sup>) e foram submetidas ao processo de pré-concentração. A amostra de cacau em pó 70% e a amostra de chá preto a granel foram dopadas com 10 µg L<sup>-1</sup> de Co<sup>2+</sup> e submetidas a digestão, seguindo o programa de aquecimento anteriormente descrito. As amostras tiveram seu pH ajustado a 9,0 (tampão Tris-HCl 0,01 mol L<sup>-1</sup>) e foram submetidas ao processo de pré-concentração. Considerou-se porcentagens de recuperação satisfatórias aquelas que se encontraram entre 90% e 110%.

Para a aplicação do método em material certificado de referência foi utilizado o MESS-3 (Marine Sediment), cujo valor certificado de concentração para cobalto é 14,4 ± 2,0 mg kg<sup>-1</sup>. Porções de 150,0 mg do material certificado foram transferidas para frascos de teflon, e deixadas overnight para uma pré-digestão com uma mistura de 10,0 mL de

solução de água régia (3 HCl: 1 HNO<sub>3</sub>) e 1,0 mL de ácido fluorídrico concentrado. Posteriormente, a mistura foi submetida a digestão com o forno micro-ondas, utilizando programação de rampa de aquecimento adaptada de Basaglia et al., (2017). A rampa utilizada consistiu em aquecimento até 80°C em 10 minutos, mantendo nessa temperatura por 5 minutos, aquecimento até 120°C em 10 minutos, mantendo nessa temperatura por 10 minutos, aquecimento até 190°C em 15 minutos, mantendo nessa temperatura por 20 minutos. A potência utilizada em toda a rampa foi 700W. Por fim, as amostras digeridas foram transferidas para um béquer e deixadas em aquecimento para a secura. As amostras foram avolumadas para 50,0 mL em balão volumétrico, tendo seu pH ajustado em 9,0 em meio de tampão Tris-HCl 0,01 mol L<sup>-1</sup>.

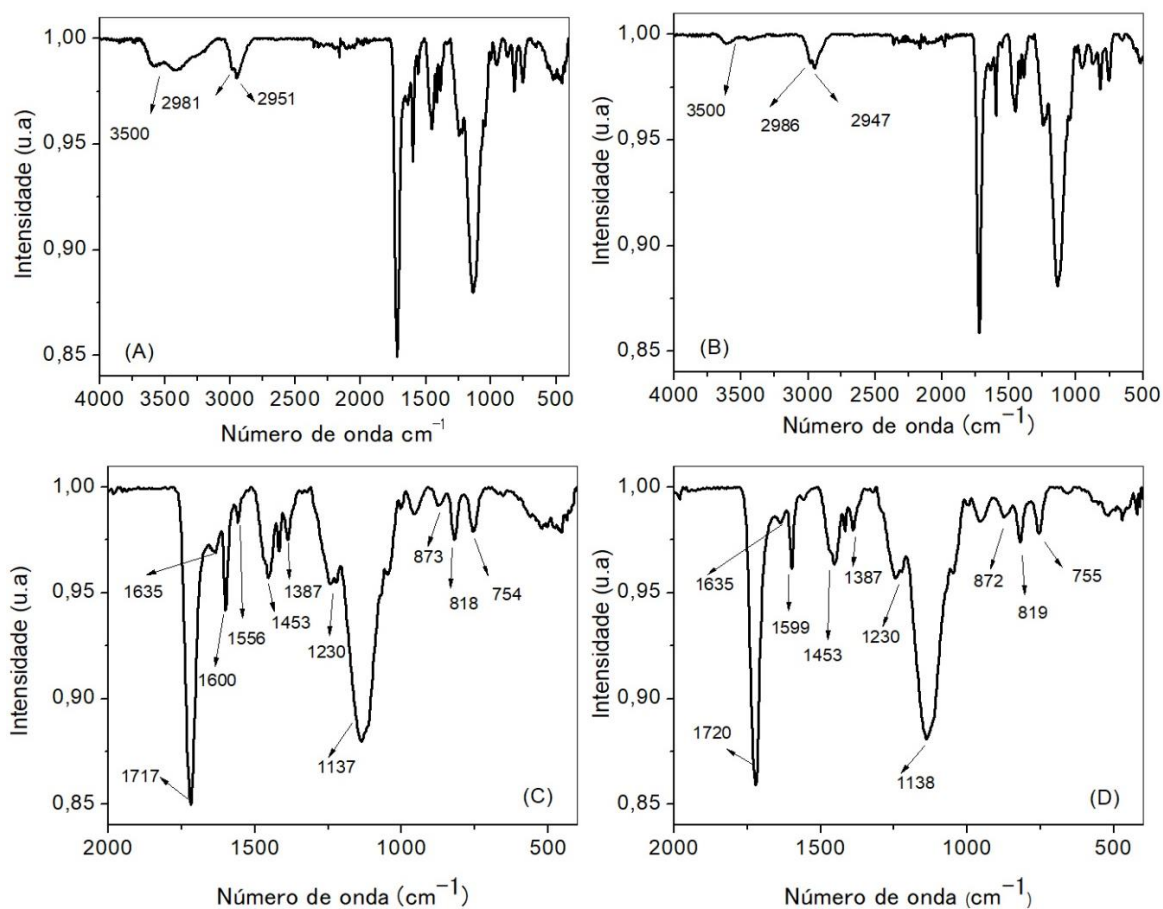
## 5 RESULTADOS E DISCUSSÃO

### 5.1 Caracterização do material

#### 5.1.1 Espectroscopia no infravermelho (FT-IR)

A Figura 13 contém os espectros FT-IR dos polímeros poli(4VP-PP)(5/0,1) e poli(4VP). Visto que o perfil dos espectros dos demais polímeros são similares ao do poli(4VP-PP)(5/0,1), variando apenas em sua intensidade em decorrência a variação da proporção de protoporfirina, esses não foram apresentados, porém encontram-se no Anexo 1.

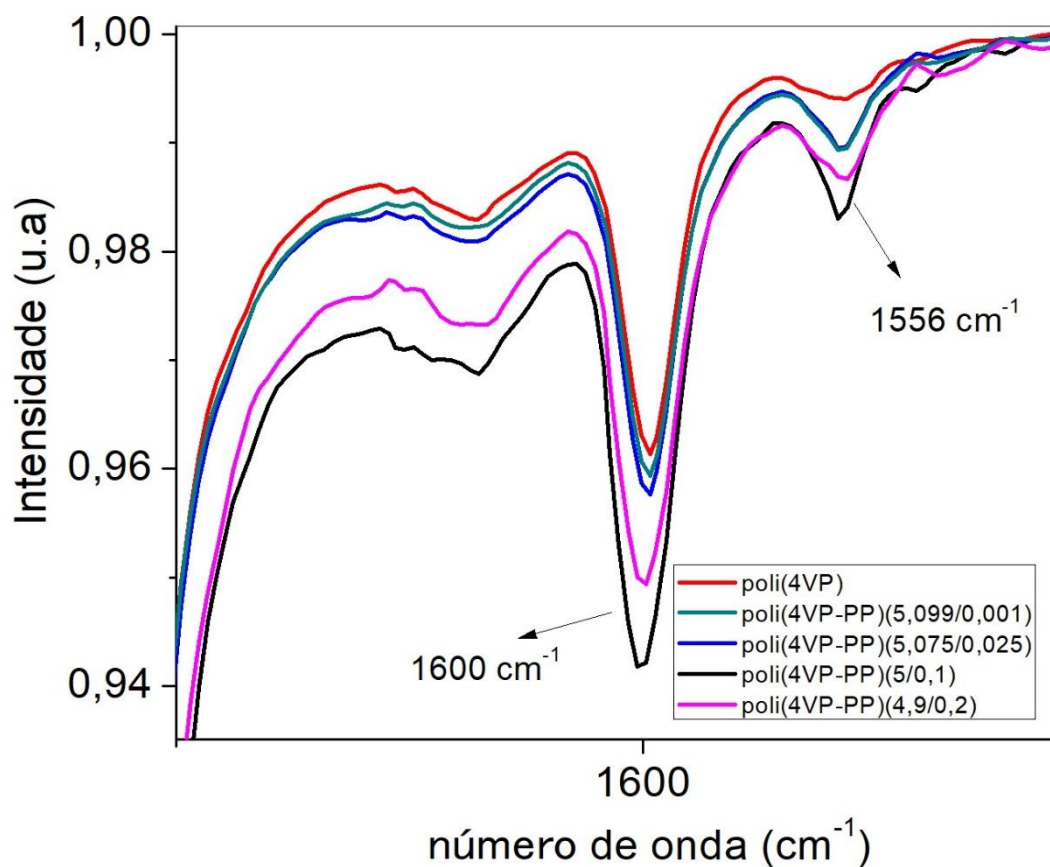
**Figura 13.** Espectros FT-IR dos polímeros poli(4VP-PP)(5/0,1) (A e C) e poli(4VP) (B e D).



Pode ser observado nos espectros, uma banda na região de  $3500\text{ cm}^{-1}$  que pode ser atribuída a vibrações de estiramento de grupos OH provenientes de moléculas de água adsorvidas na superfície dos materiais (JIANMING et al., 2010). As duas bandas na região de  $3000\text{ cm}^{-1}$  podem ser atribuídas a estiramento assimétricos da ligação entre carbono e hidrogênio de  $-\text{CH}_2$  e  $-\text{CH}_3$  (AFZALI et al., 2018).

A intensa banda próxima de  $1720\text{ cm}^{-1}$  refere-se à vibração de estiramento da ligação  $\text{C}=\text{O}$  da estrutura do agente de ligação cruzada (EGDMA) ou ainda da estrutura da protoporfirina (KANG et al., 2016; LI; IMAE, 2003). A banda em  $1635\text{ cm}^{-1}$  refere-se ao estiramento assimétrico de  $\text{C}=\text{C}$  de agrupamentos vinila residuais ( $-\text{CH}=\text{CH}_2$ ), ou ainda devido a deformação angular de OH proveniente de  $\text{H}_2\text{O}$  adsorvida (GROCHOWICZ, 2014). Como se observa na Figura 14, as bandas em  $1600\text{ cm}^{-1}$  e  $1556\text{ cm}^{-1}$  presente nos espectros de poli(4VP-PP)(5/0,1), poli(4VP-PP)(5,075/0,025), poli(4VP-PP)(5,099/0,001), poli(4VP-PP)(4,9/0,2) e poli(4VP), são atribuídas ao estiramento da ligação  $\text{C}=\text{C}$  e  $\text{C}=\text{N}$  do macroclíclico porfirínico ou do anel da 4-vinilpiridina, ou ainda a vibrações do esqueleto protoporfirínico, no qual os polímeros com maiores proporções de protoporfirina apresentam bandas mais intensas (DINIZ et al., 2013b; LI; IMAE, 2003; OLIVEIRA et al., 2013; RADY et al., 2017; TARLEY et al., 2017a; ZAITOUN, 2005). Em  $1387\text{ cm}^{-1}$ , a banda presente deve-se a deformação angular do grupo  $-\text{CH}_3$  (SHAH et al., 2011). Em  $1230$  e  $1137\text{ cm}^{-1}$  se observa a banda referente ao estiramento da ligação  $\text{C}-\text{O}$  presente no EGDMA (BASAGLIA et al., 2017; OLIVEIRA et al., 2013). As três bandas na região de  $870$  a  $750\text{ cm}^{-1}$  refere-se a deformação fora do plano de  $\text{O}-\text{H}$  e  $\text{C}-\text{H}$  (ISMAIL et al., 2013; ZOREL et al., 2001).

**Figura 14.** Espectro FT-IR dos polímeros sintetizados na faixa de 1510 a 1700  $\text{cm}^{-1}$ .



### 5.1.2 Fisiossorção de gás $\text{N}_2$

A incorporação da protoporfirina também pode ser confirmada com base nos dados obtidos na caracterização textural (Tabela 6), nos quais foi possível evidenciar o efeito da proporção de protoporfirina utilizada na síntese nas características texturais dos materiais.

**Tabela 6.** Área de superfície, volume e diâmetro de poros dos polímeros sintetizados.

<b>Material</b>	<b>Área (m<sup>2</sup> g<sup>-1</sup>)</b>	<b>Volume poro (cm<sup>3</sup> g<sup>-1</sup>)</b>	<b>Diâmetro de poro (nm)</b>
<b>poli(4VP)</b>	181,8	0,2405	3,38
<b>poli(4VP-PP)(5,099/0,001)</b>	156,5	0,1980	3,36
<b>poli(4VP-PP)(5,075/0,025)</b>	170,7	0,2394	3,32
<b>poli(4VP-PP)(5/0,1)</b>	112,5	0,1304	3,76
<b>poli(4VP-PP)(4,9/0,2)</b>	95,0	0,1535	4,22

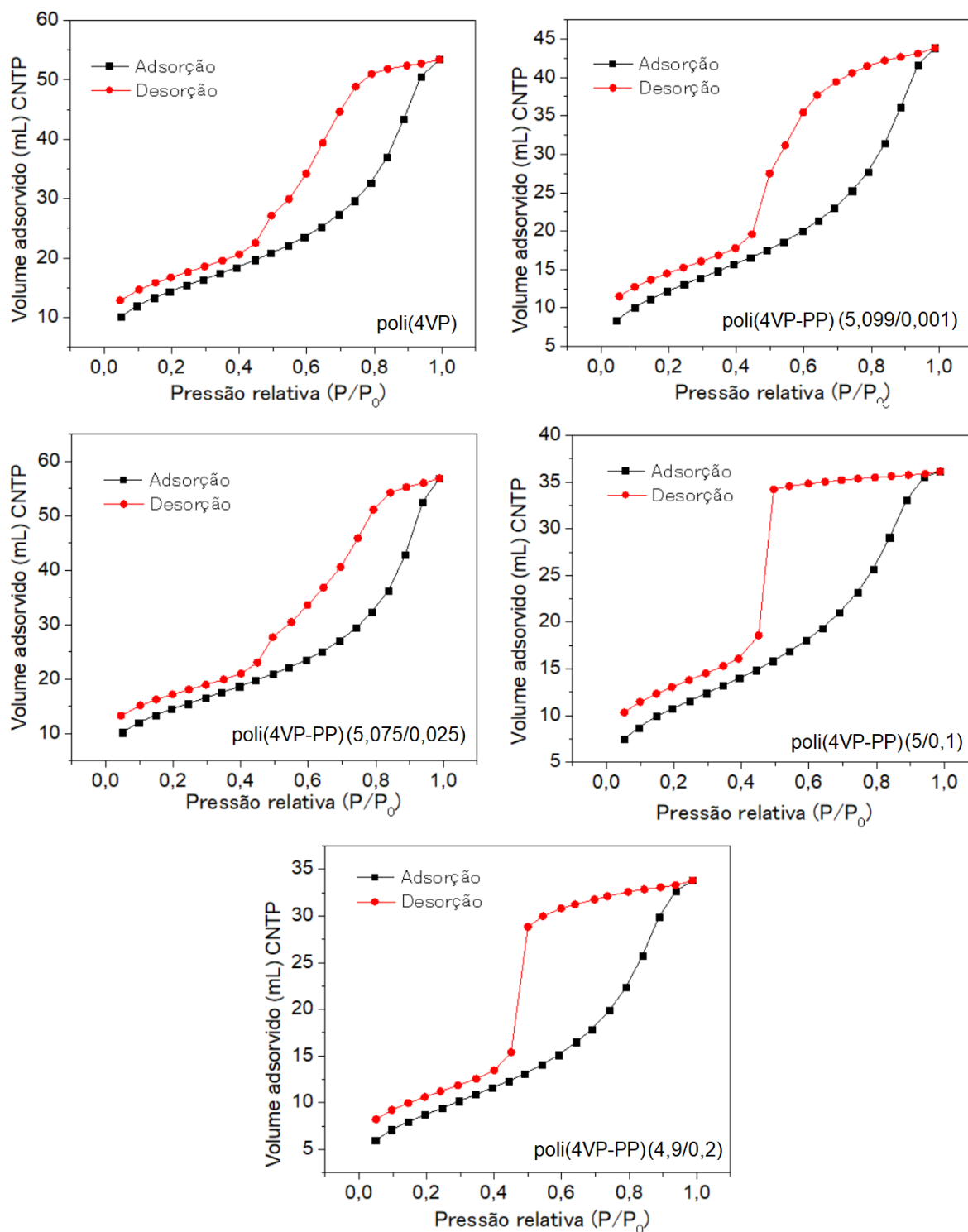
Menores áreas e volumes de poro e maiores diâmetros de poro, foram observados para materiais com maiores proporções de protoporfirina na matriz polimérica (poli(4VP-PP)(5/0,1) e poli(4VP-PP)(4,9/0,2)). Esses dados eram esperados, uma vez que a protoporfirina é um ligante volumoso e, por apresentar dimensão menor (~1,2 nm) que os poros do material sem a protoporfirina, podem ocupá-los, resultando em uma menor área superficial (LI; IMAE, 2003). Os dados de área superficial observados na Tabela 6 corroboram com o maior grau de agregação das partículas obtidos para os materiais com maiores proporções de protoporfirina, como observado nas micrografias eletrônicas de varredura (Figura 17). Como será mencionado no estudo de comparação de desempenho adsorptivo dos materiais (seção 5.2), observou-se que os materiais com menores áreas superficiais, apresentaram um melhor desempenho adsorptivo.

Os dados presentes na Tabela 6 permitem inferir que os materiais se caracterizam como mesoporosos, visto que apresentam diâmetro de poro entre 2 e 50 nm, segundo a classificação da IUPAC (IUPAC, 1995).

Em relação as histereses presentes nas isotermas dos polímeros, segundo a IUPAC são classificadas como histereses do tipo H2, sendo característicos de estruturas com poros mais complexos. A Figura 15 contém as isotermas de cada polímero.

A IUPAC classifica ainda as histereses do tipo H2 como H2(a), que apresenta uma curva de dessorção muito íngreme que pode ser atribuída ao bloqueio de poros do material, e H2(b) que apresenta a curva de dessorção com uma queda contínua e não brusca, sendo também associada ao bloqueio dos poros, porém esse bloqueio ocorre de forma mais sutil. Dessa forma, pode-se classificar as histereses dos polímeros poli(4VP-PP)(5/0,1) e poli(4VP-PP)(4,9/0,2) como do tipo H2(a), na qual a maior presença da protoporfirina, um ligante volumoso, acarreta em um maior bloqueio dos poros, sendo indicada pela brusca queda de volume adsorvido presente na curva de dessorção, como evidenciado na Figura 15. As histereses dos polímeros sem ou com menor quantidade de protoporfirina na matriz polimérica (poli(4VP), poli(4VP-PP)(5,075/0,025) e poli(4VP-PP)(5,099/0,001)), enquadram-se no grupo H2(b) sem a presença da queda íngreme na curva de dessorção, indicando um menor bloqueio dos poros presentes nos materiais (THOMMES et al., 2015).

**Figura 15.** Isotermas de adsorção e dessorção de nitrogênio dos polímeros sintetizados

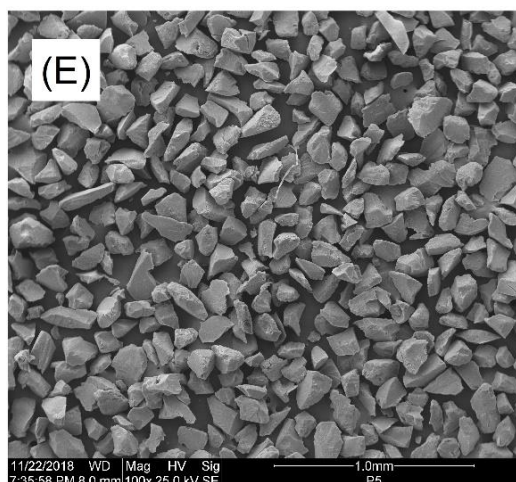
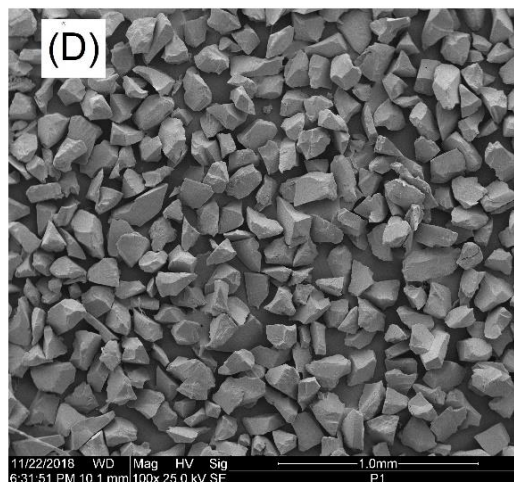
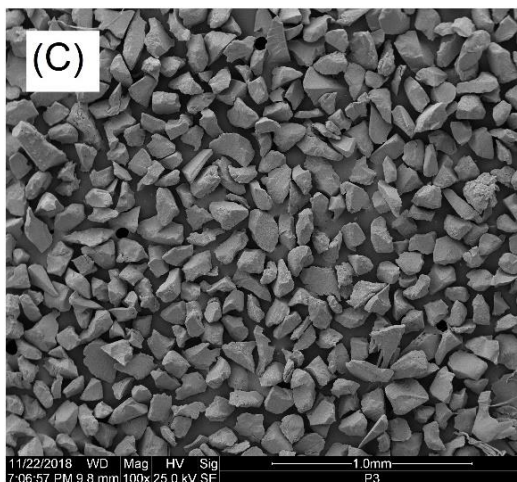
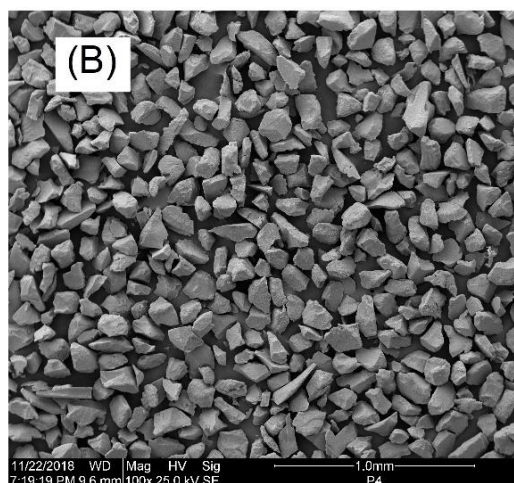
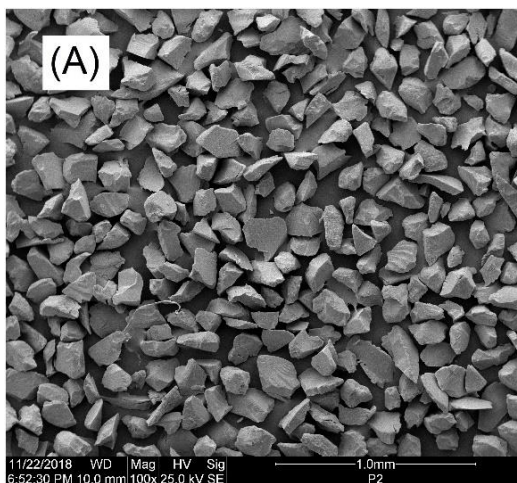


### 5.1.3 Microscopia Eletrônica de Varredura (MEV)

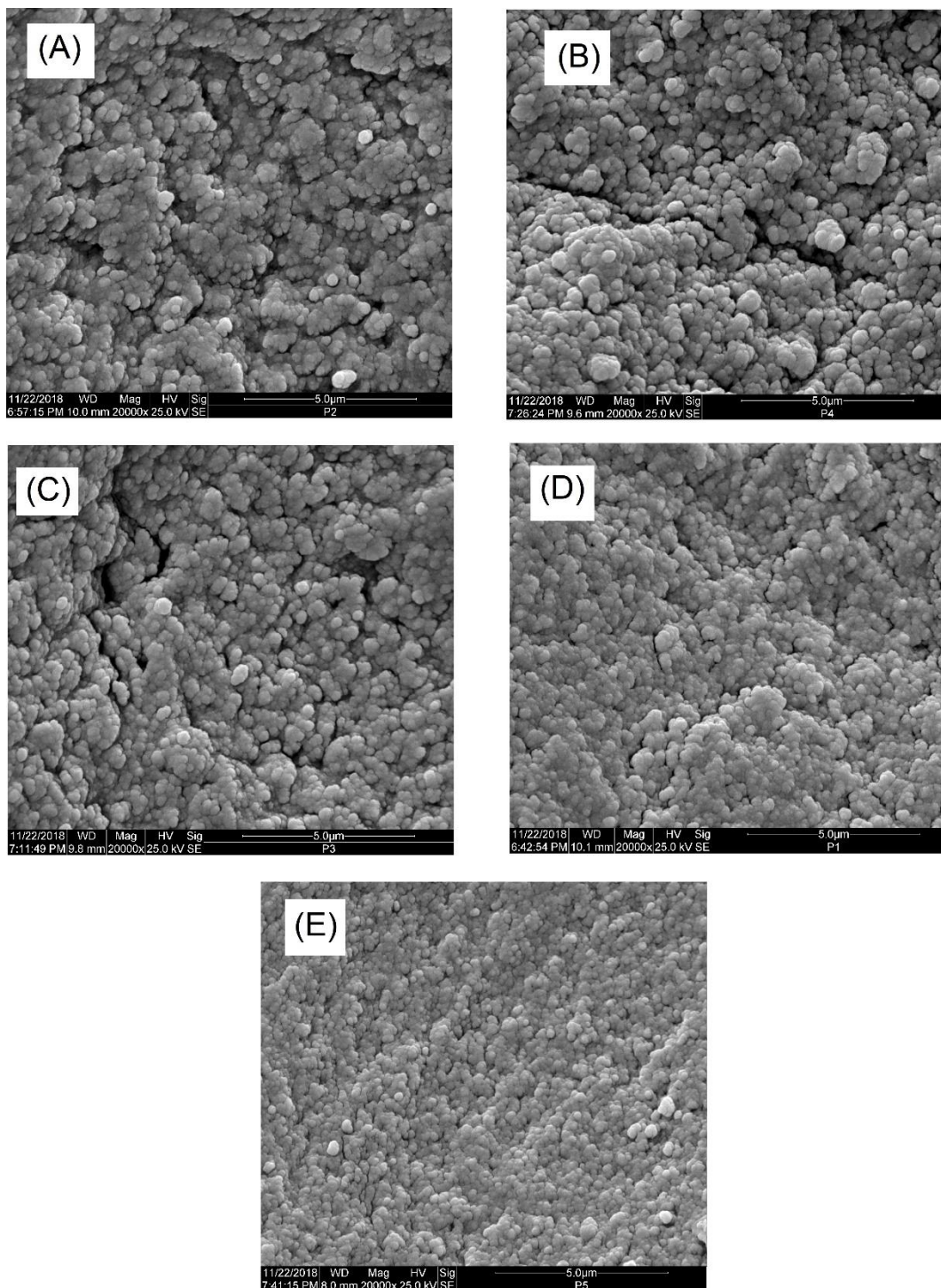
A Figura 16 contém as micrografias eletrônicas de varredura dos 5 polímeros sintetizados em uma ampliação de 100 vezes. Como pode ser observado, os materiais apresentam partículas de tamanhos e formatos irregulares, o que pode advir do processo de moagem requerido após a síntese do material.

Na Figura 17 observa-se uma maior ampliação (20000 vezes) da micrografia eletrônica de varredura dos 5 polímeros sintetizados. A partir das micrografias é possível inferir que há um leve aumento no grau de agregação das nas partículas dos polímeros com maiores proporções de protoporfirina (poli(4VP-PP)(5/0,1) e poli(4VP-PP)(4,9/0,2)). O sutil aumento no grau de agregação pode ser devido a inserção da protoporfirina na rede polimérica. Os dados de análise textural (Tabela 6) corroboram o observado na caracterização por MEV, visto que os polímeros com maiores proporções de protoporfirina (poli(4VP-PP)(5/0,1) e poli(4VP-PP)(5/0,1)) apresentaram menores áreas superficiais.

**Figura 16.** Micrografias Eletrônica de Varredura para os polímeros sintetizados, com ampliação de 100 vezes. (A) poli(4VP-PP)(5/0,1); (B) poli(4VP); (C) poli(4VP-PP)(5,075/0,025); (D) poli(4VP-PP)(5,099/0,001); (E) poli(4VP-PP)(4,9/0,2).



**Figura 17.** Micrografias Eletrônica de Varredura para os polímeros sintetizados, com ampliação de 20000 vezes. (A) poli(4VP-PP)(5/0,1); (B) poli(4VP); (C) poli(4VP-PP)(5,075/0,025); (D) poli(4VP-PP)(5,099/0,001); (E) poli(4VP-PP)(4,9/0,2).



#### 5.1.4 Análise elementar (CHN)

Com o objetivo de se avaliar o grau de incorporação dos monômeros 4-vinilpiridina, protoporfirina e EGDMA nos polímeros sintetizados, determinou-se a composição dos polímeros em relação a quantidade de carbono, hidrogênio e nitrogênio presentes, com o uso de um analisador elementar. Os dados de porcentagem de carbono, hidrogênio e nitrogênio em cada polímero, fornecidos pela análise, estão resumidos na Tabela 7.

**Tabela 7.** Porcentagem de carbono, hidrogênio e nitrogênio em cada polímero sintetizado.

<b>Polímero</b>	<b>Carbono (%)</b>	<b>Hidrogênio (%)</b>	<b>Nitrogênio (%)</b>
poli(4VP)	55,27	7,66	2,49
poli(4VP-PP)(5,099/0,001)	55,59	7,68	2,67
poli(4VP-PP)(5,075/0,025)	54,67	7,60	2,75
poli(4VP-PP)(5/0,1)	59,91	7,15	3,17
poli(4VP-PP)(4,9/0,2)	59,06	6,94	2,91

Com os dados presentes na Tabela 7 e por intermédio de cálculos estequiométricos, torna-se possível inferir sobre a quantidade de 4-vinilpiridina, protoporfirina e EGDMA presente em cada polímero. Para a realização do cálculo estequiométrico considerou-se que a variação molar de 4-vinilpiridina entre os polímeros é desprezível se comparado a variação molar de protoporfirina, dessa forma, manteve-se para os cálculos em todos os polímeros, 5,1 mmol de 4-vinilpiridina. A Tabela 8 apresenta a porcentagem molar de cada monômero antes e após a polimerização.

**Tabela 8.** Porcentagem molar encontrada para monômero utilizado na síntese dos polímeros antes e após a polimerização.

MONÔMEROS	poli(4VP) (%mol)	
	Antes da polimerização	Após a polimerização
4-vinilpiridina	33,77	34,47
EGDMA	66,22	65,52
MONÔMEROS	poli(4VP-PP)(5,099/0,001) (%mol)	
	Antes da polimerização	Após a polimerização
4-vinilpiridina	33,77	34,83
Protoporfirina	0,0066	0,69
EGDMA	66,22	64,50
MONÔMEROS	poli(4VP-PP)(5,075/0,025) (%mol)	
	Antes da polimerização	Após a polimerização
4-vinilpiridina	33,72	35,64
Protoporfirina	0,165	0,96
EGDMA	66,11	63,39
MONÔMEROS	poli(4VP-PP)(5/0,1) (%mol)	
	Antes da polimerização	Após a polimerização
4-vinilpiridina	33,55	33,90
Protoporfirina	0,65	2,35
EGDMA	65,78	63,74
MONÔMEROS	poli(4VP-PP)(4,9/0,2) (%mol)	
	Antes da polimerização	Após a polimerização
4-vinilpiridina	33,33	33,62
Protoporfirina	1,31	1,46
EGDMA	65,36	64,92

Como observado, os polímeros apresentaram similares porcentagem molar dos monômeros antes e após a polimerização, sendo esse um indicativo de que a proporção monômero:reticulante utilizada na síntese foi suficiente, não gerando excessos de um em relação ao outro.

Era de se esperar que o polímero poli(4VP-PP)(4,9/0,2) apresentasse a maior porcentagem de protoporfirina após a polimerização, visto que foi utilizado maior quantidade molar durante a síntese, porém não foi o observado. Em relação a taxa de conversão dos monômeros antes e após a polimerização, infere-se que para a 4-vinilpiridina a taxa de conversão foi constante para todos os polímeros sintetizados. Para o monômero protoporfirina, foi observado que ao ser aumentado a proporção de protoporfirina utilizada na síntese, menor foi a taxa de conversão para esse monômero.

Para o poli(4VP-PP)(5,0099/0,001) a taxa de conversão foi de 104 vezes, para o poli(4VP-PP)(5,075/0,025) foi de 6 vezes, para o poli(4VP-PP)(5/0,1) foi de 4 vezes e para o poli(4VP-PP)(4,9/0,2) foi de 1 vez. Este fato pode ser compreendido uma vez que a protoporfirina é um ligante volumoso, e desta forma, maiores quantidades desse composto pode comprometer o processo de polimerização, fazendo com que deixe de ser incorporada na matriz polimérica.

Nota-se que o polímero poli(4VP-PP)(5/0,1) apresentou maior porcentagem de protoporfirina após a polimerização, sendo um indicativo de que essa proporção 4-VP-PP resulta em um polímero mais promissor para ser aplicado como um adsorvente, sendo esperado uma maior capacidade adsorvente, considerando o maior número de sítios de ligação.

#### **5.1.5 Medidas de teor de água em equilíbrio (Efeito Swelling)**

O efeito Swelling (inchaço) pode ser entendido como o aumento no volume de um sólido devido a absorção de um líquido. Tal absorção resulta em alterações de propriedades mecânicas dos materiais no estado inchado, podendo criar pressão quando o material se encontra em espaços confinados, como as minicoluna utilizadas no sistema de pré-concentração (Sienkiewicz et al., 2017).

A Tabela 9 apresenta o Teor de Água em Equilíbrio (% TAE) em cada polímero sintetizado. Os dados são expressos como médias  $\pm$  desvio padrão ( $\bar{X} \pm DP$ ) de  $n=3$

**Tabela 9.** Caráter hidrofílico dos polímeros sintetizados expressado como porcentagem de Teor de Água em Equilíbrio (%TAE).

<b>Polímero</b>	<b>Teor de Água em Equilíbrio (%, TAE)</b>	<b>TAE/Área superficial</b>
<b>poli(4VP)</b>	250,83 ± 1,38	1,38
<b>poli(4VP-PP)(5,099/0,001)</b>	241,50 ± 2,92	1,54
<b>poli(4VP-PP)(5,075/0,025)</b>	231,61 ± 1,87	1,36
<b>poli(4VP-PP)(5/0,1)</b>	218,87 ± 1,48	1,94
<b>poli(4VP-PP)(4,9/0,2)</b>	204,07 ± 2,57	2,14

Como pode ser observado na Tabela 9, os polímeros com maiores proporções de protoporfirina na matriz polimérica (poli(4VP-PP)(5/0,1) e poli(4VP-PP)(4,9/0,2)) apresentam menores TAE (218,87 e 204,07%, respectivamente), enquanto que o polímero com ausência de protoporfirina na matriz polimérica (poli(4VP)) apresenta maior TAE (250,83%). A maior capacidade de absorção de água observada para os polímeros com maiores proporções de protoporfirina pode associar-se a maior porosidade que esses materiais apresentam (Tabela 6), bem como pela influência da presença da protoporfirina na matriz polimérica. Uma observação a ser levada em consideração é que, o material poli(4VP) apresenta o dobro de área superficial que o material poli(4VP-PP)(4,9/0,2), 181,8 m<sup>2</sup> g<sup>-1</sup> e 95,0 m<sup>2</sup> g<sup>-1</sup>, respectivamente, entretanto, o valor de TAE não é o dobro, sendo um indicativo que a influência da presença da protoporfirina possa ser um fator mais significativo. Desse modo, a incorporação da protoporfirina na matriz polimérica torna o polímero menos hidrofílico, conferindo melhores propriedades hidrodinâmicas para ser empacotados em minicoluna, como a menor tendência ao inchaço frente a fluidos.

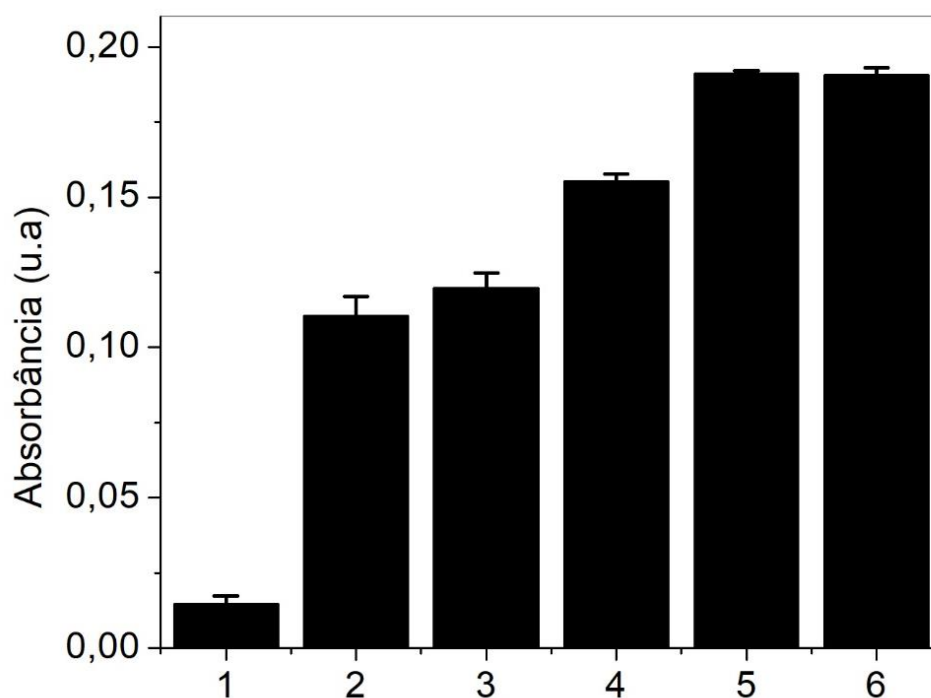
Durante o processo de pré-concentração on-line dos íons Co<sup>2+</sup> o material poli(4VP) apresentou maior feito de inchaço, gerando pressão na minicoluna. Uma maior adsorção de água pelo polímero poli(4VP) também era esperado devido a maior área superficial e maior volume de poro comparado ao poli(4VP-PP) em qualquer proporção.

Essa característica resultou em vazamentos durante as análises, fato não observado quando o material poli(4VP-PP)(5/0,1) foi utilizado empacotado na minicoluna.

## 5.2 Comparação dos materiais

Para a comparação da eficiência adsortiva de cada material no sistema de pré-concentração on-line de  $\text{Co}^{2+}$ , foram percolados pela minicoluna 10,0 mL de uma solução de  $200,0 \mu\text{g L}^{-1}$  de  $\text{Co}^{2+}$ . As absorvâncias obtidas para etapas de pré-concentração com cada polímero e a absorvância obtida sem a etapa de pré-concentração, encontram-se na Figura 18.

**Figura 18.** Comparação do desempenho dos polímeros como adsorventes no processo de pré-concentração dos íons  $\text{Co}^{2+}$  por meio do sinal analítico absorvância. Condições: 10,0 mL de solução de  $200,0 \mu\text{g L}^{-1}$  de  $\text{Co}^{2+}$  (pH 9,0;  $0,1 \text{ mol L}^{-1}$  de tampão Tris-HCl); minicoluna contendo 50,0 mg dos respectivos polímeros; vazão de  $5,0 \text{ mL min}^{-1}$ .



A barra 1 representa o valor de absorvância obtido sem a etapa de pré-concentração, a barra 2 pré-concentrando com o polímero poli(4VP), a barra 3 com o polímero poli(4VP-PP)(5,099/0,001), a barra 4 com o polímero poli(4VP-PP)(5,075/0,025), a barra 5 com o polímero poli(4VP-PP)(5/0,1) e a barra 6 com o polímero poli(4VP-PP)(4,9/0,2).

Observa-se que maiores absorvâncias foram obtidas para os polímeros com maiores proporções de protoporfirina na matriz polimérica, indicando a influência desse co-monômero quelante na pré-concentração de íons  $\text{Co}^{2+}$ . Obteve-se um aumento de 13,64 vezes no sinal analítico (Absorvância) para a pré-concentração quando utilizado o poli(4VP-PP)(5/0,1) e poli(4VP-PP)(4,9/0,2) em relação ao sinal analítico obtido na ausência da etapa de pré-concentração. O aumento foi de 7,86 vezes para o poli(4VP), 11,07 vezes para o poli(4VP-PP)(5,075/0,025) e 8,5 vezes para o poli(4VP-PP)(5,099/0,001). Em relação ao polímero sintetizado na ausência de protoporfirina (poli(4VP)), obteve-se um aumento de 1,74 vezes no sinal analítico quando utilizado o poli(4VP-PP)(5/0,1) e o poli(4VP-PP)(4,9/0,2), 1,41 vezes para o poli(4VP-PP)(5,075/0,025) e 1,08 vezes para o poli(4VP-PP)(5,099/0,001). O poli(4VP-PP)(5,099/0,001) apresentou valores muito próximos aos valores obtidos para o polímero apenas com a 4-VP (poli(4VP)), devido a menor concentração de protoporfirina adicionada. Entre os polímeros poli(4VP-PP)(4,9/0,2) e poli(4VP-PP)(5/0,1), mesmo que sendo utilizado o dobro de protoporfirina no processo de síntese para o poli(4VP-PP)(5/0,1), não foram observadas diferenças nas respostas analíticas obtidas. Este fato pode ser devido a um limite de dissolução do sal de protoporfirina, resultando na não incorporação na matriz polimérica, ou ainda, como discutido na análise elementar, pelo fato da protoporfirina ser um ligante volumoso, maiores quantidades desse composto podem comprometer o processo de polimerização, que também resulta na não incorporação na matriz polimérica.

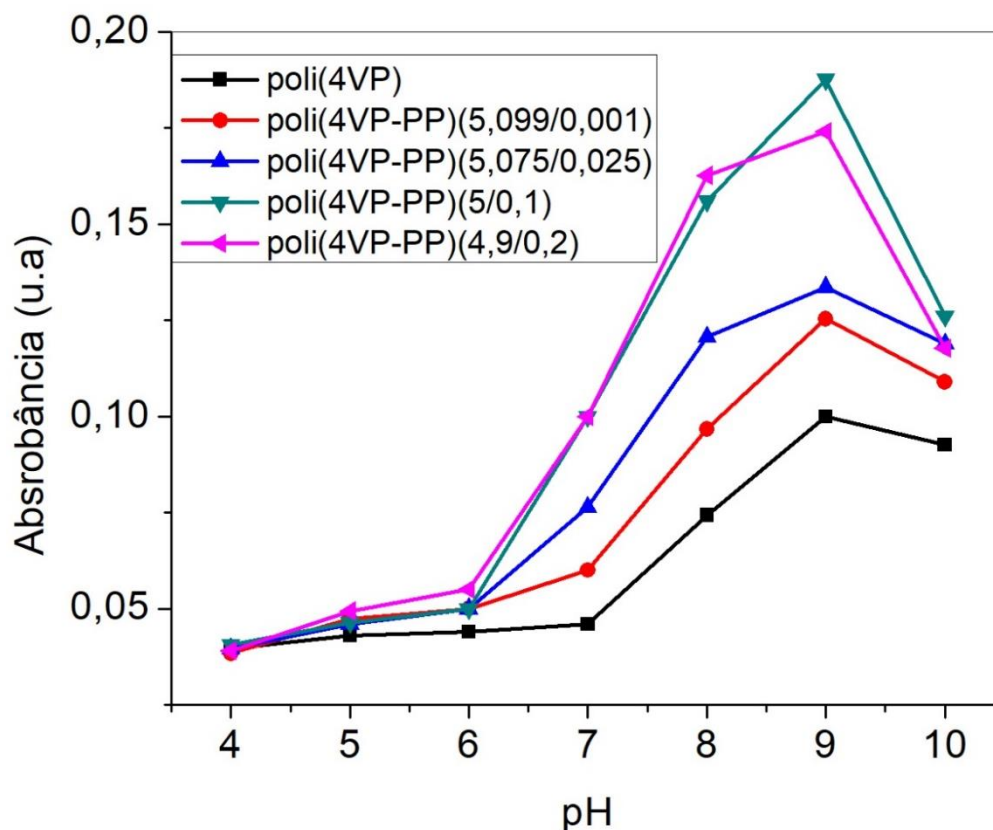
Diversos trabalhos relatam que adsorventes com maiores áreas superficiais tendem a apresentar maior capacidade adsortiva. Entretanto, neste trabalho pode-se inferir que os materiais com menores áreas superficiais apresentaram maior capacidade de retenção (Tabela 6), sendo este um indicativo de que a capacidade adsortiva dos materiais não se relaciona apenas com o fator área superficial, sendo também

dependente do número de sítios de ligação presentes no material, que neste trabalho é promovido pela protoporfirina. Dessa forma, o poli(4VP-PP)(5/0,1) mostrou-se mais promissor visando o desenvolvimento do método de pré-concentração de íons  $\text{Co}^{2+}$ .

### **5.3 Estudo do pH e efeito do tampão**

O estudo do pH foi realizado de modo univariado, sendo explorado valores de pH de 4,0 a 10,0 em meio de tampão BR. Tal tampão foi empregado visto que tampona toda a faixa de pH selecionada para estudo e deste modo, elimina-se a influência que o tipo do tampão exerce sobre o resultado analítico. Cabe salientar que o pH não foi inserido nos estudos multivariados pois foi necessário confirmar o melhor desempenho do polímero poli(4VP-PP)(5/0,1) frente os demais polímeros em ampla faixa de pH. Como pode ser observado na Figura 19, para todos os polímeros, a adsorção do metal pelo adsorvente é maior em meio alcalino. O sinal de absorbância aumentou para valores de pH de 4,0 até 9,0 e decresceu de 9,0 para 10,0. Adicionalmente, os polímeros com maiores quantidades de protoporfirina (poli(4VP-PP)(5/0,1) e poli(4VP-PP)(4,9/0,2)) apresentaram melhor desempenho adsortivo.

**Figura 19.** Estudo do efeito do pH na pré-concentração de íons  $\text{Co}^{2+}$  utilizando diferentes polímeros.



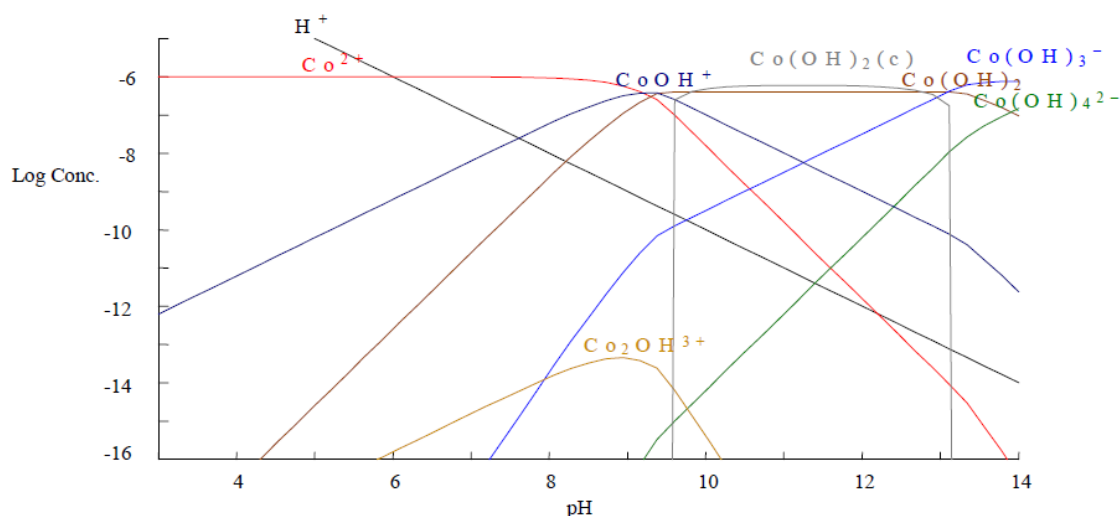
Para todos os polímeros, o maior sinal de absorbância para a pré-concentração de íons  $\text{Co}^{2+}$  foi obtido em pH 9,0. Isso pode ser explicado com base em uma análise do comportamento dos sítios de ligação dos polímeros frente aos diferentes valores de pH, com base nos valores de pKa dos monômeros bem como dos polímeros. É de conhecimento que quando o pH atinge o valor de pKa, a superfície do material encontra-se 50% desprotonado, 1 unidade de pH acima do pKa, 90% desprotonado, 2 unidades de pH acima do pKa, 99,0% desprotonado e 3 unidades acima, 99,9% desprotonado. Os átomos de nitrogênio presentes nas estruturas de 4-vinilpiridina e da protoporfirina apresentam pKa igual a 5,46 e 4,5, respectivamente (OLIVEIRA et al., 2013; TARLEY et al., 2017b). Para a poli-4-vinilpiridina, Kirsh e Komarova (1976) a partir de titulação potenciométrica, determinaram que o pKa é igual a 3,5, entretanto destacam que o valor encontrado foi inferior a valores reportados, sendo esses em média 6,1. Pourjavadi e colaboradores (2015) e Kargina e colaboradores (1973) apresentam valor de pKa para a

poli-4-vinilpiridina igual a 5,62 e 5,60 respectivamente. Dessa forma, com base nos dados da literatura apresentados, para a análise desse estudo, adotou-se um pKa médio de 5,5.

Para valores de pH abaixo do pKa, a superfície do polímero encontra-se protonada, o que gera uma repulsão eletrostática com os íons  $\text{Co}^{2+}$ . Em valor de pH 1 unidade acima do pKa (~6,5), 90,0% encontra-se na sua forma desprotonada, o que favorece a interação com os íons  $\text{Co}^{2+}$ , justificando o aumento considerável no sinal de absorbância em pH 7,0. Em valor de pH 2 unidades acima do pKa (~7,5) e 3 unidades acima do pKa (~8,5) a superfície do polímero apresenta-se 99,0% e 99,9% desprotonada, respectivamente, o que justifica o maior sinal de absorbância obtido em pH 9,0.

A diminuição do sinal analítico observado de pH 9,0 para 10,0 associa-se com a distribuição das espécies de cobalto em função do pH (Figura 20), na qual para valores de pH acima de 9,0 se tem uma diminuição da fração dos íons  $\text{Co}^{2+}$  e aumento das espécies  $\text{Co}(\text{OH})_2$  e  $\text{Co}(\text{OH})_3^-$ . No Quadro 2, pode-se observar que para a concentração na ordem de  $\mu\text{g L}^{-1}$ , a maior concentração de  $\text{Co}^{2+}$  está na faixa de pH de 3 a 9. Em complemento a isso, o comportamento pode ser justificado devido a uma possível interação entre íons  $\text{Co}^{2+}$  e as hidroxilas em excesso na solução formando a espécie negativamente carregada,  $[\text{Co}(\text{OH})_4]^{2-}$  e  $\text{Co}(\text{OH})_3^-$ , resultando em uma repulsão com a superfície desprotonada do material (TARLEY et al. 2011; FONTELLES, 2014; YUAN et al., 2018).

**Figura 20.** Distribuições das espécies de cobalto considerando concentração na ordem de  $10^{-6}$  mol L $^{-1}$ .



Fonte: FONTELLES, 2014.

**Quadro 2.** Faixa de pH com maior predominância de Co<sup>2+</sup> de acordo com a faixa de pré-concentração.

Concentração (mol L <sup>-1</sup> )	10 <sup>-3</sup>	10 <sup>-4</sup>	10 <sup>-5</sup>	10 <sup>-6</sup>
Faixa pH	3 a 7	3 a 9	3 a 9	3 a 9

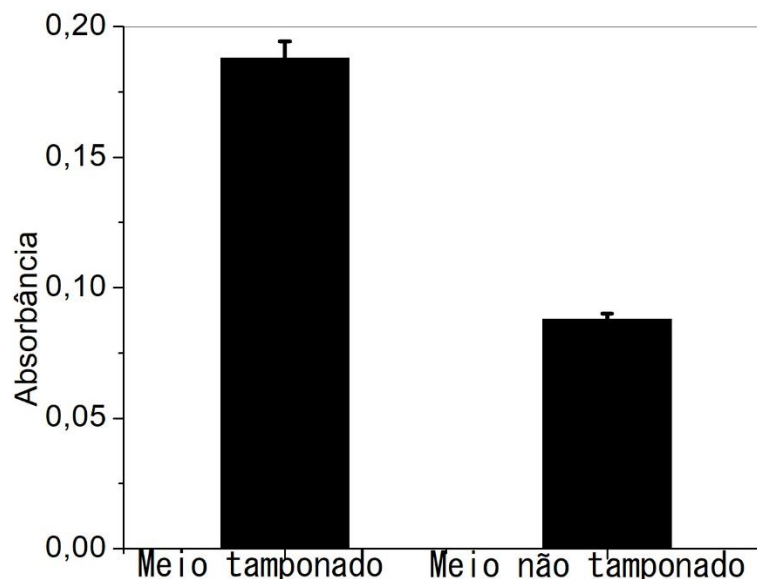
Fonte: FONTELLES, 2014.

Como mencionado, todos os materiais estudados apresentaram maiores respostas analíticas em valor de pH igual a 9,0 (Figura 19). Deste modo, esse valor foi fixado para dar sequência as análises.

O polímero poli(4VP-PP)(5/0,1) foi escolhido para dar continuidade no desenvolvimento do método analítico de pré-concentração on-line de Co<sup>2+</sup>, uma vez que dentre os polímeros sintetizados na presença de protoporfirina, mostrou-se mais promissor, levando em conta a proporção de protoporfirina utilizado na síntese e sua eficiência adsortiva no valor de pH fixado.

A fim de se verificar a influência da presença de tampão no meio reacional, para a minicoluna contendo poli(4VP-PP)(5/0,1), percolou-se 10,0 mL de uma solução de 200,0 µg L<sup>-1</sup> de Co<sup>2+</sup> ajustada para pH 9,0 na presença de tampão Tris-Cl 0,1 mol L<sup>-1</sup> e, na ausência de tampão.

**Figura 21.** Efeito da presença do tampão no processo de pré-concentração de íons  $\text{Co}^{2+}$ .



A partir dos dados do teste contidos na Figura 21, em meio tamponado, o sinal analítico obtido na pré-concentração de íons  $\text{Co}^{2+}$  foi 2,14 vezes maior do que em meio não tamponado, sendo  $0,188 \pm 0,006$  e  $0,088 \pm 0,002$  respectivamente. Este resultado pode estar relacionado a estabilidade que o tampão proporciona ao valor de pH das amostras e padrões durante a etapa de pré-concentração (SUQUILA et al.; 2018).

#### **5.4 Otimização do método proposto para pré-concentração de íons $\text{Co}^{2+}$ em sistema FIA-FAAS**

Inicialmente, o efeito das variáveis massa do adsorvente (MA), vazão de pré-concentração (VP), concentração do eluente (CE) e concentração do tampão (CT) na pré-concentração de íons  $\text{Co}^{2+}$  foi estudado por meio de um planejamento fatorial  $2^{5-1}$ . Este planejamento foi realizado com pH fixo em 9,0. A Tabela 10 apresenta as variáveis resposta absorbância e eficiência de sensibilidade para cada ensaio realizado.

**Tabela 10.** Variáveis, níveis descodificados e respostas analíticas (absorbância e eficiência de sensibilidade) obtidas pela matriz do planejamento fatorial fracionário  $2^{5-1}$ . resposta absorbância e eficiência de sensibilidade para cada ensaio realizado.

Variáveis	Níveis	
	Inferior (-1)	Superior (+1)
Massa adsorvente (MA) (mg)	50,0	100,0
Vazão de pré-concentração (VP) (mL min <sup>-1</sup> )	3,0	7,0
Concentração do eluente (CE) (mol L <sup>-1</sup> )	1,0	2,0
Concentração do tampão (CT) (mol L <sup>-1</sup> )	0,01	0,10
Tipo do tampão (TP)	Tris-HCl	Tampão BR

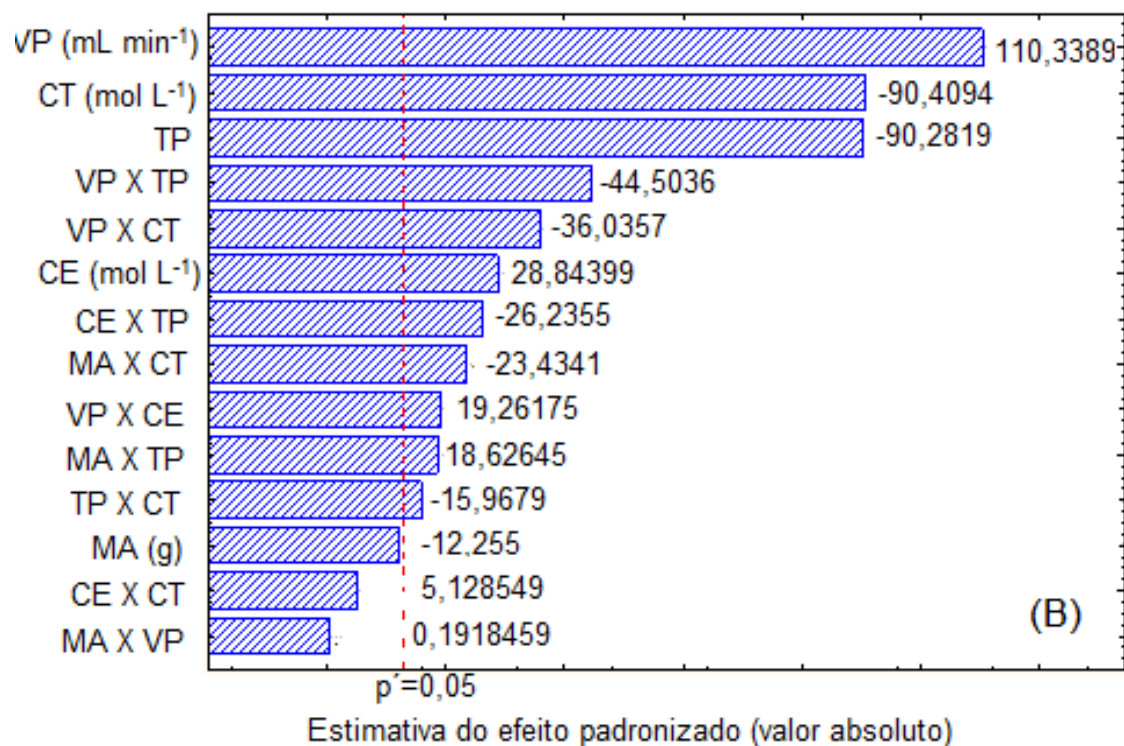
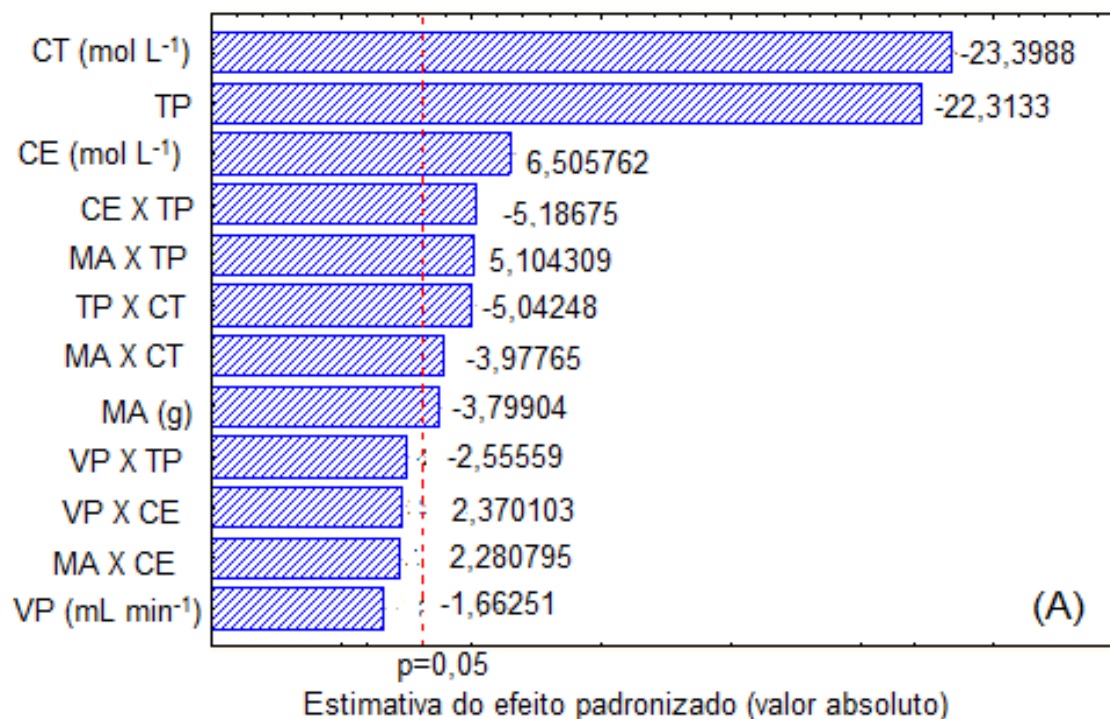
Ensaio	MA	VP	CE	TP	CT	Abs*	ES** (x10 <sup>5</sup> )
1	-1	-1	-1	-1	1	0,262	15,59
2	1	-1	-1	-1	-1	0,292	17,38
3	-1	1	-1	-1	-1	0,326	19,42
4	1	1	-1	-1	1	0,161	9,61
5	-1	-1	1	-1	-1	0,379	22,56
6	1	-1	1	-1	1	0,226	13,48
7	-1	1	1	-1	1	0,311	18,51
8	1	1	1	-1	-1	0,393	23,55
9	-1	-1	-1	1	-1	0,256	15,24
10	1	-1	-1	1	1	0,072	4,31
11	-1	1	-1	1	1	0,063	3,75
12	1	1	-1	1	-1	0,234	13,95
13	-1	-1	1	1	1	0,087	5,21
14	1	-1	1	1	-1	0,277	16,45
15	-1	1	1	1	-1	0,219	13,06
16	1	1	1	1	1	0,074	4,42

\*Absorbância (Altura de pico); \*\*Eficiência de sensibilidade (ES = Absorbância/ $t_{precon.e elui.}$ )

\* Média das triplicatas de Abs e ES

Os efeitos das variáveis estão representados graficamente pelo diagrama de Pareto (Figura 22). O diagrama de Pareto permitiu avaliar os efeitos principais de cada variável bem como suas interações através da análise de variância (ANOVA), com intervalo de confiança em um nível de 95%. A significância estatística de cada fator foi observada quando a barra horizontal de efeito ultrapassa a linha vertical dos 95% de confiança, que representa  $p=0,05$ . De acordo com os resultados da ANOVA, o modelo estatístico não apresentou falta de ajuste ( $F_{cal} < F_{tab}$ ) para as duas variáveis respostas analisadas. O diagrama de Pareto presente na Figura 22a, considera a absorvância como variável resposta e, a Figura 22b considera a eficiência de sensibilidade como variável resposta.

**Figura 22.** Diagrama de Pareto utilizado na avaliação das variáveis no processo de pré-concentração de íons  $\text{Co}^{2+}$ , considerando como variável resposta a absorvância (A) e a eficiência de sensibilidade (B).



Para o diagrama de Pareto em que se tem como variável resposta a absorvância (Figura 22a), nota-se que apenas o fator VP não apresentou efeito estatisticamente significativo ( $p < 0,05$ ). As variáveis CT, TP e MA foram estatisticamente significativas com efeito negativo estimado em -23,40, -22,31 e -3,98 respectivamente, ou seja, ao se utilizar a variável no seu nível inferior, há um ganho no sinal analítico. A variável CE apresentou significância estatística com efeito positivo estimado em 6,51, ou seja, a utilização da variável em seu nível superior acarreta em um ganho no sinal analítico.

Para o diagrama de Pareto considerando a eficiência de sensibilidade como variável resposta (Figura 22b), apenas a MA não apresentou efeito estatisticamente significativo. Para esse caso, o fator mais significativo foi a VP, com efeito positivo estimado em 110,34. Fato este compreensível uma vez que o parâmetro ES leva em consideração não somente a resposta analítica Abs, mas também o tempo gasto na etapa de pré-concentração. Em concordância com os resultados obtidos para o diagrama de Pareto para a resposta Abs, as variáveis CT e TP também foram estatisticamente significativas com efeito negativo estimado em -90,41 e -90,28 respectivamente, bem como o fator CE, com efeito positivo estimado em 28,84.

Dessa forma, optou-se em seguir com as otimizações utilizando como variável resposta a eficiência de sensibilidade, visando encontrar uma condição onde se consegue um equilíbrio entre sensibilidade e frequência analítica.

Como mencionado, para ES como variável resposta, o TP apresentou efeito negativo, ou seja, o tampão Tris-HCl favorece o processo de pré-concentração de íons  $\text{Co}^{2+}$  quando comparado com o uso do tampão BR. A CE apresentou efeito positivo ( $2,0 \text{ mol L}^{-1}$ ), dessa forma, concentrações mais baixas de eluente podem resultar em uma eluição incompleta dos íons  $\text{Co}^{2+}$ . Por razões instrumentais, níveis mais altos para CE não foram testados visto que, o meio excessivamente ácido pode causar danos ao equipamento. A MA não foi um fator estatisticamente significativo, deste modo é indiferente utilizar minicolunas preenchidas com 50,0 ou 100,0 mg do polímero, porém, adotou-se o nível inferior (50,0 mg) visto que uma maior quantidade de adsorvente na minicoluna pode gerar vazamento devido à pressão excessiva no sistema.

Considerando que a VP e a CT foram as variáveis mais significativas, foi realizada a otimização final com uso da matriz de Doehlert. Os sete experimentos requeridos pela matriz de Doehlert, sendo o primeiro experimento realizado em triplicata, estão resumidos na Tabela 11 e a superfície de resposta correspondente é apresentada na Figura 23.

Uma vez que o diagrama de Pareto indicou efeito positivo para a VP e negativo para a CT, a região de nível máximo para o fator VP e mínimo para o fator CT foram exploradas adotando tais níveis como nível central para a matriz de Doehlert. Assim, a VP e CT variaram de 5,0 a 9,0 mL min<sup>-1</sup> e 5,0x10<sup>-3</sup> a 1,5x10<sup>-2</sup> mol L<sup>-1</sup>, respectivamente. Níveis mais elevados de VP não foram avaliados por limitações do método, a fim de se evitar problemas de pressão excessiva e vazamentos no sistema. A resposta adotada para a matriz de Doehlert foi a eficiência de sensibilidade (ES) e as demais variáveis utilizadas foram as estabelecidas como melhores pelo estudo do planejamento fatorial fracionário.

**Tabela 11.** Matriz de Doehlert para a variável vazão de pré-concentração e concentração do tampão.

Ensaio	Variáveis Descodificadas (valores codificados)		
	VP (mL min <sup>-1</sup> ) <sup>a</sup>	CT (mol L <sup>-1</sup> ) <sup>b</sup>	ES <sup>c</sup> (x10 <sup>5</sup> )
1	7 (0)	1,0x10 <sup>-2</sup> (0)	23,83
2	9 (1)	1,0x10 <sup>-2</sup> (0)	20,9
3	8 (0,5)	1,5x10 <sup>-2</sup> (0,866)	22,4
4	5 (-1)	1,0x10 <sup>-2</sup> (0)	18,9
5	6 (-0,5)	5,0x10 <sup>-3</sup> (-0,866)	19,4
6	8 (0,5)	5,0x10 <sup>-3</sup> (-0,866)	21,0
7	6 (-0,5)	1,5x10 <sup>-2</sup> (0,866)	19,0

<sup>a</sup>Vazão de pré-concentração; <sup>b</sup>Concentração do Tampão; <sup>c</sup>ES = Absorbância/t<sub>precon.e elui</sub>.

\*Média das triplicatas

A partir dos experimentos da matriz de Doehlert, foi construído um modelo quadrático (Equação 2), onde se relaciona o efeito de sensibilidade e as variáveis VP e CT.

$$y \text{ (ES)} = - 33,0 + 13,5 \text{ (VP)} - 1,0 \text{ (VP)}^2 + 1345,8 \text{ (CT)} - 95788,8 \text{ (CT)}^2 + 88,8 \text{ (VP} \times \text{CT)} \quad (2)$$

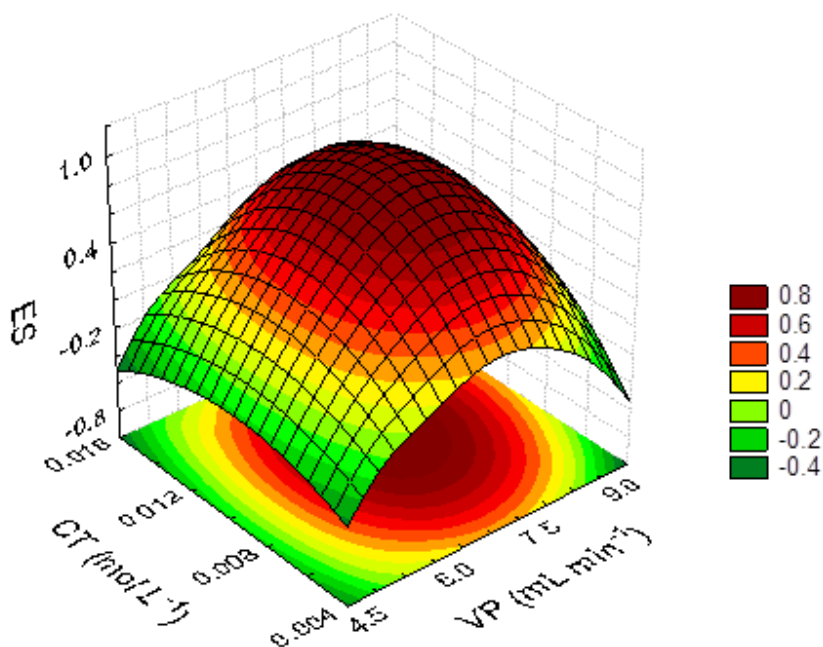
A ANOVA (Tabela 12), permite inferir o modelo quadrático não apresenta falta de ajuste, uma vez que o valor do  $F_{cal}$  ( $MQ_{falta\ de\ ajuste} / MQ_{erro\ puro}$ ) obtido (11,54) foi inferior ao valor de  $F_{tab}$  (18,51).

**Tabela 12.** Análise de variância (ANOVA).

Parâmetro	Soma Quadrática (SQ)	Graus de Liberdade (GL)	Média quadrática (MQ)	$F_{calculado}$	$F_{tabelado}$	Valor de prova
Falta de Ajuste	1,59065	1	1,59065	11,54	18,51	0,076794
Erro puro	0,27563	2	0,13782	-	-	-
Erro total	35,24922	8	4,40615	-	-	-
Varição explicada ( $R^2$ )	0,94705	R	0,97316	-	-	-

Mediante a validação da Equação 2 pela ANOVA, construiu-se a superfície de resposta (Figura 23).

**Figura 23.** Superfície de resposta obtida a partir da matriz de Doehlert considerando como variável resposta a eficiência de sensibilidade.



A partir da derivada da Equação 2, foi possível encontrar os valores ótimos obtidos pelo modelo quadrático, sendo esses  $7,40 \text{ mL min}^{-1}$  e  $0,01 \text{ mol L}^{-1}$  para VP e CT, respectivamente. Para maiores valores de VP, a queda da ES pode ser explicada considerando-se o baixo tempo de contato dos íons  $\text{Co}^{2+}$  com os sítios de ligação do adsorvente, bem como a pressão excessiva gerada no sistema. Para menores valores de VP, por mais que o tempo de contato dos íons  $\text{Co}^{2+}$  seja satisfatório, a queda de ES se deve ao tempo muito elevado requerido na pré-concentração, fazendo com que haja uma diminuição da ES. Para o fator CT, no nível central foi onde se obteve a melhor ES. Para concentrações mais altas obtém-se decréscimo do sinal analítico absorvância, resultando em uma menor ES. Esse resultado é atribuído a um aumento da força iônica no meio reacional o que dificulta o transporte dos íons  $\text{Co}^{2+}$  para os sítios de ligação do polímero diminuindo sua adsorção, levando a uma menor resposta analítica. Por outro lado, se a CT for muito baixa, pode-se perder a eficiência do tampão, não sendo suficiente para a manutenção do valor de pH, o que também leva a uma diminuição da resposta analítica (OLIVEIRA, 2013; DINIZ et al, 2013a).

Deste modo, os valores otimizados para o sistema de pré-concentração on-line de íons  $\text{Co}^{2+}$  foram tampão Tris- HCl, 50 mg de adsorvente,  $2,0 \text{ mol L}^{-1}$ ,  $7,4 \text{ mL min}^{-1}$  e  $0,01 \text{ mol L}^{-1}$  para as variáveis TP, MA, CE, VP e CT respectivamente.

## 5.5 Parâmetros analíticos do método proposto

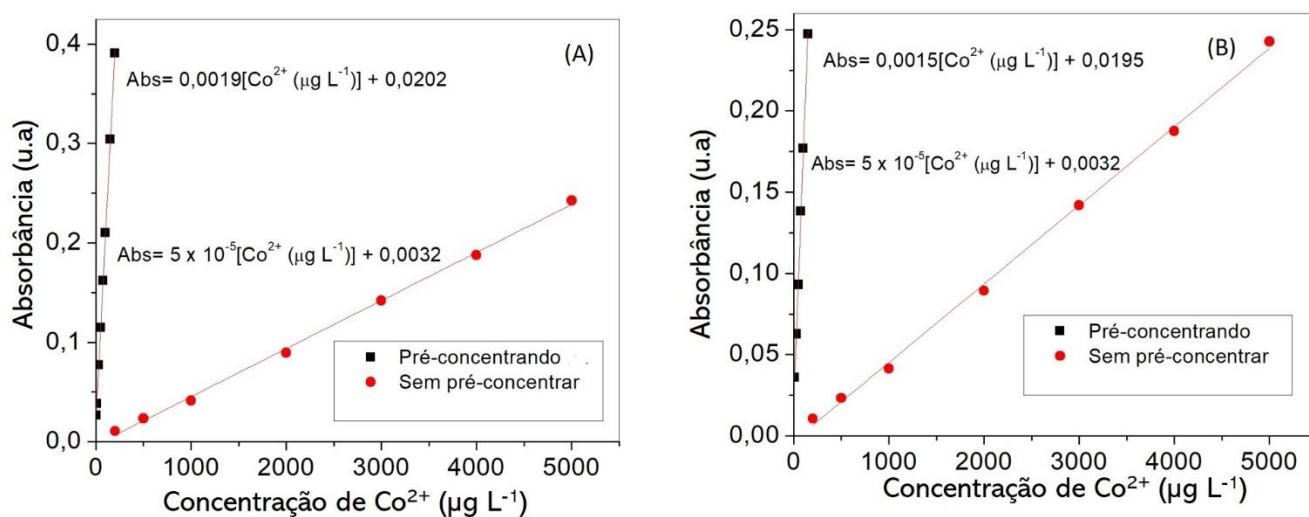
Nas condições otimizadas, a pré-concentração on-line de íons  $\text{Co}^{2+}$  em sistema FIA-FAAS utilizando o polímero poli(4VP-PP)(5/0,1) apresentou uma curva analítica linear na faixa de  $4,60$  a  $200,0 \mu\text{g L}^{-1}$  de  $\text{Co}^{2+}$  com equação linear igual a  $\text{Abs} = 0,0019 [\text{Co}^{2+} (\mu\text{g L}^{-1})] + 0,0202$ . Com uso ANOVA, foi possível concluir que o modelo apresentou um bom coeficiente de determinação linear ( $R^2 = 0,998$ ) para o modelo, o qual não apresentou falta de ajuste, uma vez que o  $F_{\text{calculado}}$  (0,75), obtido pela razão entre  $\text{MQ}_{\text{falta de ajuste}}/\text{MQ}_{\text{erro puro}}$ , foi menor que o  $F_{\text{tabelado}} (1,22)$  (4,30) a 95% de confiança. A fim de se verificar a extensão da curva analítica, o mesmo tratamento estatístico foi realizado considerando pontos de  $4,60$  a  $300,0 \mu\text{g L}^{-1}$  de  $\text{Co}^{2+}$ . Para este caso, uma vez

que o  $F_{\text{calculado}}$  (88,03), foi maior que o  $F_{\text{tabelado (1,25)}}$  (4,24) a 95% de confiança, pode-se concluir que o modelo apresenta falta de ajuste, confirmando a extensão da curva analítica de 4,60 a 200,0  $\mu\text{g L}^{-1}$  de  $\text{Co}^{2+}$ .

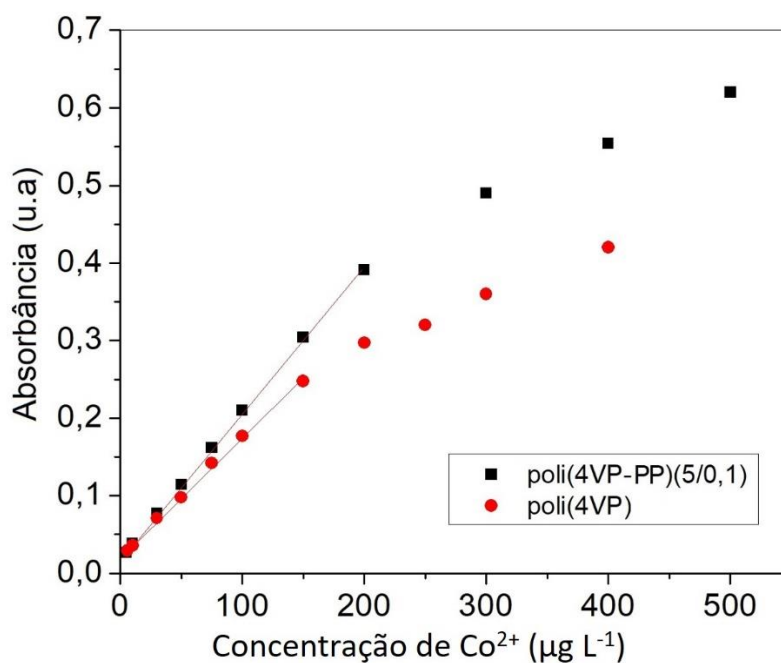
Utilizando o poli(4VP) para a etapa de pré-concentração, a curva analítica apresentou uma faixa linear de 9,80 a 150,0  $\mu\text{g L}^{-1}$  de  $\text{Co}^{2+}$  sendo a equação linear igual a  $\text{Abs} = 0,0015 [\text{Co}^{2+} (\mu\text{g L}^{-1})] + 0,0195$ . O tratamento estatístico a partir da ANOVA, foi possível concluir que o modelo apresentou coeficiente de determinação ( $R^2$ ) igual a 0,997, o qual não apresentou falta de ajuste, uma vez que o  $F_{\text{calculado}}$  (0,12) foi menor que o  $F_{\text{tabelado (1,19)}}$  (4,40) a 95% de confiança. A fim de se verificar a extensão da curva analítica, o mesmo tratamento estatístico foi realizado considerando pontos de 9,8 a 200,0  $\mu\text{g L}^{-1}$  de  $\text{Co}^{2+}$ . Para este caso, uma vez que o  $F_{\text{calculado}}$  (151,25), foi maior que o  $F_{\text{tabelado (1,25)}}$  (4,38) a 95% de confiança, pode-se concluir que o modelo apresenta falta de ajuste, confirmando a extensão da curva analítica de 9,80 a 150  $\mu\text{g L}^{-1}$  de  $\text{Co}^{2+}$ .

Na ausência da etapa de pré-concentração a faixa linear obtida para a curva analítica foi de 200 a 5000  $\mu\text{g L}^{-1}$  de  $\text{Co}^{2+}$  com equação linear igual a  $\text{Abs} = 5,0 \times 10^{-5} [\text{Co}^{2+} (\mu\text{g L}^{-1})] + 0,0032$  e  $R^2$  igual a 0,9991. A partir da equação linear obtida pela etapa de pré-concentração, o LD e LQ encontrados foram 1,38 e 4,60  $\mu\text{g L}^{-1}$ , respectivamente para o polímero poli(4VP-PP)(5/0,1) como adsorvente e, 2,92 e 9,84  $\mu\text{g L}^{-1}$ , respectivamente quando utilizado o material poli(4VP). Vale ressaltar que primeiramente foram feitas as curvas analíticas, em seguida obteve-se os valores de LD e LQ e posteriormente, uma solução padrão de  $\text{Co}^{2+}$  na concentração do LQ foi submetida a pré-concentração e o sinal analítico obtido foi inserido na curva analítica a fim de checar se houve perda da linearidade. O FP obtido para a pré-concentração utilizando o polímero poli(4VP-PP)(5/0,1) foi de 38 vezes, ao passo que quando se empregou o poli(4VP), o fator de pré-concentração foi de 30 vezes. A razão das inclinações das curvas analíticas, permite inferir que a presença da protoporfirina na matriz polimérica (poli(4VP-PP)(5/0,1)) agrega um aumento de 1,3 vezes na sensibilidade do método se comparado ao uso polímero poli(4VP) como adsorvente. As curvas analíticas encontram-se nas Figuras 24 e 25.

**Figura 24.** Curvas analíticas: (A) pré-concentração de íons  $\text{Co}^{2+}$  utilizando como adsorvente o polímero poli(4VP-PP)(5/0,1) e sem a etapa de pré-concentração; (B) pré-concentração de íons  $\text{Co}^{2+}$  utilizando como adsorvente o polímero poli(4VP) e sem a etapa de pré-concentração.



**Figura 25.** Curvas analíticas utilizando poli(4VP-PP)(5/0,1) e poli(4VP) como adsorventes no processo de pré-concentração de íons  $\text{Co}^{2+}$ .



Com o método proposto é possível realizar 22 análises por hora. Para precisão intra e inter-dia, pode-se inferir que a precisão do método obtida neste trabalho foi satisfatória, uma vez que os valores de DPR obtidos foram inferiores a 5%. Os demais parâmetros analíticos para o método de pré-concentração on-line de íons  $\text{Co}^{2+}$  utilizando os polímeros poli(4VP-PP)(5/0,1) e poli(4VP) encontram-se na Tabela 13.

**Tabela 13.** Parâmetro analíticos para os métodos obtidos com o uso do poli(4VP-PP)(5/0,1) e poli(4VP) como adsorvente no processo de pré-concentração de íons  $\text{Co}^{2+}$ .

Parâmetro	poli(4VP-PP)(5/0,1)	poli(4VP)
Faixa linear ( $\mu\text{g L}^{-1}$ )	4,60 - 200	9,80 – 150
Limite de detecção – LD ( $\mu\text{g L}^{-1}$ )	1,38	2,92
Limite de Quantificação - LQ ( $\mu\text{g L}^{-1}$ )	4,60	9,80
Fator de pré-concentração - FP (vezes)	38	30
Eficiência de pré-concentração – EP ( $\text{min}^{-1}$ )	14,07	11,11
Índice de consumo – IC (mL)	0,53	0,67
Frequência analítica – FA (análises por hora)	22	22
Precisão intra-dia (%)	3,6, 3,09 e 4,56 (200, 100 e 10 $\mu\text{g L}^{-1}$ )	3,78, 2,71 e 4,87 (150, 75 e 10 $\mu\text{g L}^{-1}$ )
Precisão inter-dia (%)	4,44, 3,49 e 4,68 (200, 100 e 10 $\mu\text{g L}^{-1}$ )	4,98, 4,97 e 4,94 (150, 75 e 10 $\mu\text{g L}^{-1}$ )

Como pode ser observado nos dados presentes na Tabela 13, o uso do polímero poli(4VP-PP)(5/0,1) como adsorvente apresentou desempenho moderadamente superior ao uso do polímero poli(4VP) para o desenvolvimento do método de pré-concentração on-line de  $\text{Co}^{2+}$ . Entretanto, a principal vantagem obtida com o uso do polímero poli(4VP-PP)(5/0,1) refere-se as melhores propriedades hidrodinâmica para ser empacotado em minicoluna, como a ausência de inchaço frente a fluidos, o que faz com que não haja pressão excessiva no sistema gerando vazamentos indesejáveis.

As figuras de mérito obtidas no presente método foram comparadas (Tabela 11) com outros métodos relatados na literatura empregados para a pré-concentração de íons  $\text{Co}^{2+}$  acoplados ao F AAS. Pode-se inferir que o método de pré-concentração proposto, fazendo uso do poli(4VP-PP)(5/0,1) como adsorvente, apresenta valores de LD e LQ satisfatórios, estando dentro da faixa reportada na literatura. Ressalta-se que os menores valores de LD e LQ encontrados para alguns métodos presentes na Tabela 14, em relação ao método proposto nesse trabalho, pode estar associado ao maior volume de amostra pré-concentrado e maior oscilação dos brancos analíticos. Dessa forma, os menores LD e LQ para os demais métodos podem estar relacionados a limitações instrumentais (marcas e modelos de equipamentos) e não ao desempenho do material adsorvente.

Fatores de pré-concentração mais altos foram obtidos para o método proposto, levando em consideração o volume de amostra empregado. Além disso, o método apresenta uma boa frequência analítica, além de maior eficiência de pré-concentração e menores índices de consumo.

**Tabela 14.** Comparação do método proposto com outros métodos de pré-concentração de íons  $\text{Co}^{2+}$  e determinação por F AAS, utilizando como modalidade de pré-concentração a SPE.

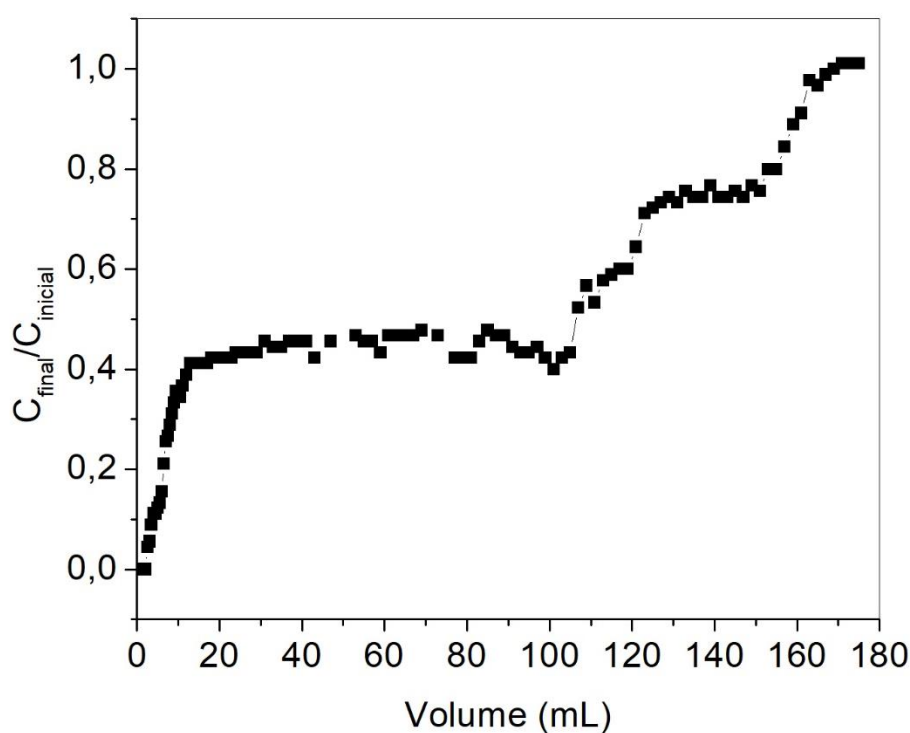
Modo de detecção	Adsorvente	Faixa linear ( $\mu\text{g L}^{-1}$ )	LD	LQ	FP	VP	FA	IC	EP	Amostra	Ref.
F AAS	Chromosorb 105	0,00-2000,00	2,50	-	50,0	50,0	4,71	1,00	4,00	Água de torneira	(KARATEPE et al., 2002)
F AAS	$\text{Nb}_2\text{O}_5\text{-SiO}_2$	20,00-100,00	1,40	-	16,6	100,0	4,50	6,00	8,30	Álcool combustível	(DA SILVA et al., 2011)
F AAS	$\text{SiO}_2$ / $\text{Nb}_2\text{O}_5$ /ZnO	0,96–150,00	0,28	0,96	26,0	16,0	23,00	0,61	13,00	Água de torneira, água mineral, água de lago, água de mar sintética, orégano, chá preto, arroz e espinafre	(DINIZ et al., 2013a)
F AAS	5-(4-dimethylaminobenzylidene)rhodanin modified SBA-15	10,00-6000,00	4,20	-	80,0	50,0	-	0,62	-	Água e produtos agrícolas	(AFZALI et al., 2018)
F AAS	1,3,4-thiadiazole-2,5-dithiol	-	2,90	-	120,0	600,0	-	-	-	Água e fertilizante	(HABILA et al., 2018)
F AAS	poli(protoporfirin a-co-vinilpiridina)	4,60 – 200,00	1,38	4,60	38,0	20,0	22,00	0,53	14,07	Água de torneira, água mineral e água de lago, cacau em pó, chá preto	Este trabalho
F AAS	poli(vinilpiridina)	9,80 – 150,00	2,92	9,80	30,0	20,0	22,00	0,67	11,11	-	Este trabalho

LD = Limite de detecção ( $\mu\text{g L}^{-1}$ ); LQ = Limite de quantificação ( $\mu\text{g L}^{-1}$ ); FP = Fator de Pré-concentração (-vezes); VP = Volume de Pré-concentração; FA = Frequência analítica ( $\text{h}^{-1}$ ); IC = Índice de Consumo (mL); EP = Eficiência de Pré-concentração ( $\text{min}^{-1}$ ).

## 5.6 Estudo da capacidade exaustiva

A fim de se avaliar o desempenho da minicoluna em relação a retenção quantitativa dos íons  $\text{Co}^{2+}$ , foi construída a curva de exaustão/ruptura, presente na Figura 26.

**Figura 26.** Curva de ruptura/exaustão do polímero poli(4VP-PP)(5/0,1).  $C_{\text{final}}$ : concentração de  $\text{Co}^{2+}$  no efluente da minicoluna;  $C_{\text{inicial}}$ : concentração de  $\text{Co}^{2+}$  na solução inicial ( $1,0 \text{ mg L}^{-1}$ )



A partir dos resultados, foi possível inferir que o volume de ruptura da minicoluna contendo 50,0 mg do material adsorvente (poli(4VP-PP)(5/0,1)) foi obtido ao ser percolado 2,5 mL de uma solução  $1,0 \text{ mg L}^{-1}$  de  $\text{Co}^{2+}$ , sendo evidenciado na Figura 24 pelo ponto no qual a razão entre  $C_{\text{inicial}}$  e  $C_{\text{final}}$  deixa de ser zero e a minicoluna deixa de adsorver 100% do analito. Dessa forma, a ruptura da minicoluna foi atingida com 0,0025 mg de íons  $\text{Co}^{2+}$ , o que representa 0,05 mg de  $\text{Co}^{2+}/\text{g}$  de material.

Para o último ponto da curva analítica construída realizando a pré-concentração com o uso do polímero poli(4VP-PP)(5/0,1) ( $200 \mu\text{g L}^{-1}$ ), foram percolados pela minicoluna

0,004 mg de  $\text{Co}^{2+}$  (20 mL de solução). Isso leva a concluir que neste ponto, a minicoluna preenchida com o material não está retendo 100% dos íons  $\text{Co}^{2+}$ , uma vez que esse valor é superior ao valor de ruptura (0,0025 mg). Entretanto, ao ser calculado um fator de pré-concentração teórico para o método proposto, considerando que 20 mL da solução de  $\text{Co}^{2+}$  é pré-concentrado em um volume de eluição de 742  $\mu\text{L}$ , obtém-se um valor de 27 vezes. Dessa forma, como o fator de pré-concentração obtido pelo método proposto foi de 38 vezes, ou seja, maior que o fator de pré-concentração teórico, pode-se inferir que a minicoluna ainda adsorve 100% dos íons  $\text{Co}^{2+}$  nesse ponto da curva. Esse fenômeno pode ser explicado visto que as condições para a construção da curva de exaustão são diferentes daquelas durante o método de pré-concentração. Para a construção da curva de exaustão é percolado pela minicoluna alíquotas de pequenos volumes de uma solução de concentração elevada, enquanto que no método de pré-concentração é percolado uma alíquota de maior volume e menor concentração. Estas diferenças podem levar o analito a apresentar diferentes comportamentos ao ser percolado pela minicoluna, justificando os resultados observados.

A capacidade máxima de adsorção do material foi determinada quando a razão entre  $C_{\text{inicial}}$  e  $C_{\text{final}}$  é igual a 1, o que representa que os sítios de ligação do polímero encontram-se saturados. Este resultado permite inferir que para um volume de 167,0 mL, ou seja, para a minicoluna de 50,0 mg de poli(4VP-PP)(5/0,1) a saturação ocorre com 0,157 mg de  $\text{Co}^{2+}$ , resultando em uma capacidade máxima adsortiva de 3,14 mg de  $\text{Co}^{2+}$ /g de material.

## **5.7 Efeito de íons contaminantes na pré-concentração de íons $\text{Co}^{2+}$**

A Tabela 15 apresenta o efeito dos íons contaminantes ( $\text{Ba}^{2+}$ ,  $\text{Ca}^{2+}$ ,  $\text{Cd}^{2+}$ ,  $\text{Cu}^{2+}$ ,  $\text{Mg}^{2+}$ ,  $\text{Mn}^{2+}$ ,  $\text{Ni}^{2+}$ ,  $\text{Pb}^{2+}$  e  $\text{Zn}^{2+}$ ) no sinal analítico de íons  $\text{Co}^{2+}$  obtidos do sistema de pré-concentração on-line com determinação por F AAS.

**Tabela 15.** Efeito dos íons contaminantes no processo de pré-concentração on-line de íons  $\text{Co}^{2+}$  com poli(4VP-PP)(5/0,1).

Íons contaminantes	Proporção (m/m)					
	1:1	1:10	1:30	1:50	1:100	1:200
	% de Recuperação					
<b>Cd<sup>2+</sup></b>	108,1	105,3	66,4	-	-	-
<b>Pb<sup>2+</sup></b>	95,4	94,2	106,3	104,5	-	-
<b>Cu<sup>2+</sup></b>	109,8	108,1	100,5	92,4	82,3	-
<b>Ni<sup>2+</sup></b>	106,4	90,1	67,5	-	-	-
<b>Zn<sup>2+</sup></b>	107,4	99,6	69,8	-	-	-
<b>Ba<sup>2+</sup></b>	98,9	108,0	108,0	96,5	102,4	-
<b>Ca<sup>2+</sup></b>	-	107,5	95,0	100,5	105,1	97,3
<b>Mg<sup>2+</sup></b>	-	92,8	105,6	108,9	103,5	102,4
<b>Mn<sup>2+</sup></b>	103,1	45,0	-	-	-	-

(-) = proporções não testadas.

A partir dos dados da Tabela 15, pode-se inferir que nenhum dos íons estudados apresentaram interferência na proporção de 1:1 (m/m). Para a proporção de 1:10 (m/m) o íon  $\text{Mn}^{2+}$  apresentou interferência negativa (45% de recuperação) no sinal analítico de  $\text{Co}^{2+}$ . Esta interferência pode ser resultado de uma competição entre os íons  $\text{Co}^{2+}$  e os íons  $\text{Mn}^{2+}$  pelos sítios ativos de ligação do material. Como demonstrado por Oliveira e colaboradores (2013), o copolímero poli(protoporfirina-co-vinilpiridina) apresentou resultados satisfatórios quando utilizado como adsorvente no processo de pré-concentração on-line de  $\text{Mn}^{2+}$ . Tarley e colaboradores (2011) também observou o efeito de interferência de  $\text{Mn}^{2+}$  na determinação de  $\text{Co}^{2+}$  em um estudo no qual utilizou sílica gel ionicamente impressa para a determinação de cobalto. Neste trabalho, para uma solução binária na proporção de 1:10 ( $\text{Co}^{2+}/\text{Mn}^{2+}$ ) contendo  $100 \mu\text{g L}^{-1}$  de  $\text{Co}^{2+}$  foi observado o efeito de interferência na qual a porcentagem de recuperação obtida foi de 77% (TARLEY et al., 2011).

Na proporção de 1:30 (m/m), ou seja,  $1500,0 \mu\text{g L}^{-1}$ , obteve-se efeitos de interferência negativa para os íons  $\text{Cd}^{2+}$ ,  $\text{Ni}^{2+}$  e  $\text{Zn}^{2+}$ . Para concentrações de  $5000,0 \mu\text{g L}^{-1}$  do íon interferente (1:100 (m/m)), observou-se interferência negativa para íons  $\text{Cu}^{2+}$ .

Estudos demonstram que a protoporfirinas pode formar complexos estáveis com uma série de metais (KILIAN; PYRZYŃSKA, 2001; PYRZYŃSKA; WIERZBICKI, 2003; SEYHAN et al., 2008), dessa forma, tais interferências podem ser resultado de competições entre os íons interferentes e os íons  $\text{Co}^{2+}$ . Casos de interferência como para os íons  $\text{Ni}^{2+}$  (83,0 pm),  $\text{Zn}^{2+}$  (88,0 pm) e  $\text{Mn}^{2+}$  (91,0 pm) pode ainda ser justificado pela similaridade de tamanho de raio iônico com o do  $\text{Co}^{2+}$  (88,5 pm). Em complemento, para  $\text{Ni}^{2+}$  e  $\text{Zn}^{2+}$  a interferência pode também estar relacionada com a classificação de ácido e base de Pearson, visto que tais íons apresentam a mesma classificação que o  $\text{Co}^{2+}$ , ácidos intermediários.

Os íons  $\text{Pb}^{2+}$  não apresentaram efeito de interferência em proporções de até 1:50 (m/m), entretanto concentrações mais elevadas não puderam ser averiguadas devido ao seu limite de solubilidade. Os íons  $\text{Ba}^{2+}$ , bem como os macronutrientes,  $\text{Ca}^{2+}$  e  $\text{Mg}^{2+}$ , que de modo geral ocorrem em maiores concentrações nas amostras, não causaram efeito de interferência em nenhuma das proporções estudadas.

Vale ressaltar que por mais que efeitos de interferência sobre o sinal analítico para íons  $\text{Co}^{2+}$  tenham sido observadas, a proporção de interferentes por analito é superior as proporções presentes em amostrar reais. Dessa forma, não se espera que os contaminantes presentes nas amostram interfiram na quantificação de íons  $\text{Co}^{2+}$ .

O mesmo estudo foi realizado aplicando como adsorvente o poli(4-VP), sendo as proporções avaliadas para cada íon contaminante e as porcentagens de recuperação apresentadas na Tabela 16.

**Tabela 16.** Efeito dos íons contaminantes no processo de pré-concentração on-line de íons  $\text{Co}^{2+}$  com poli(4-VP).

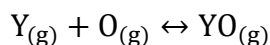
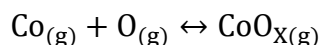
Íons contaminantes	Proporção (m/m)					
	1:1	1:10	1:30	1:50	1:100	1:200
% de Recuperação						
$\text{Cd}^{2+}$	106,8	87,1	-	-	-	-
$\text{Pb}^{2+}$	131,6	-	-	-	-	-
$\text{Cu}^{2+}$	-	-	-	98,8	-	-
$\text{Ni}^{2+}$	107,0	86,1	-	-	-	-
$\text{Zn}^{2+}$	115,2	-	-	-	-	-
$\text{Ba}^{2+}$	-	-	-	-	-	108,7
$\text{Ca}^{2+}$	-	-	-	-	-	54,4
$\text{Mg}^{2+}$	-	-	-	-	-	119,0
$\text{Mn}^{2+}$	52,6	-	-	-	-	-

(-) = proporções não testadas.

Como se observa nos dados presentes na Tabela 16, para os metais  $\text{Cd}^{2+}$ ,  $\text{Pb}^{2+}$ ,  $\text{Ni}^{2+}$ ,  $\text{Zn}^{2+}$ ,  $\text{Ca}^{2+}$ ,  $\text{Mg}^{2+}$  e  $\text{Mn}^{2+}$ , o efeito de interferência ocorreu em proporções inferiores quando utilizado o adsorvente poli(4VP) em relação ao uso do poli(VP-PP)(5/0,1). Este fato é um indicativo que o polímero contendo protoporfirina em sua matriz polimérica apresenta uma maior seletividade para  $\text{Co}^{2+}$  em relação ao polímero poli(4VP).

Como discutido anteriormente, os efeitos de interferência que apresentam % de recuperação inferior a 90% podem ser justificados pela competição entre os íons  $\text{Co}^{2+}$  e os íons contaminantes pelo sítio de ligação do adsorvente, diminuindo o sinal analítico obtido. Entretanto, utilizando o polímero poli(4VP) para tal estudo, observou-se que para os íons contaminantes  $\text{Pb}^{2+}$ ,  $\text{Zn}^{2+}$  e  $\text{Mg}^{2+}$ , as porcentagens de recuperação obtidas foram superiores a 110%, ou seja, a presença de tais íons leva a um aumento do sinal analítico. Uma possível explicação para esse dado, é a afinidade que esses íons apresentam pelos átomos de oxigênio presentes na chama. Em face da menor seletividade do poli(4VP) para os íons  $\text{Co}^{2+}$ , uma maior quantidade de íons contaminantes ficam retidos na minicoluna, até mesmo nas menores proporções de  $\text{Co}^{2+}$ :íons contaminante, e assim são

eluídos e levados a chama. Dessa forma, os íons contaminantes podem formar óxidos interferindo no equilíbrio termodinâmico do  $\text{Co}^{2+}$  após a atomização, como demonstrado na reação genérica abaixo:



Os átomos de contaminantes (Y) consomem o oxigênio que participa do equilíbrio do cobalto na chama. Dessa forma, o equilíbrio químico na qual os átomos de cobalto participam é perturbado sendo deslocado para a direita, que, como consequência, leva a um aumento da população de átomos de cobalto resultando em um aumento do sinal analítico (TARLEY et al., 2006).

## 5.8 Aplicação do método proposto em amostras reais

A aplicabilidade do método proposto em amostras de água foi averiguada por meio de análise de água de torneira, água mineral e água de lago. O método de adição e recuperação foi utilizado visando verificar a exatidão do método desenvolvido. As porcentagens de recuperação obtidas encontram-se na Tabela 17.

**Tabela 17.** Aplicação do método proposto para a determinação de  $\text{Co}^{2+}$  em amostras de água.

Amostras de água	Concentração de $\text{Co}^{2+}$ adicionada ( $\mu\text{g L}^{-1}$ )	Concentração de $\text{Co}^{2+}$ encontrada ( $\mu\text{g L}^{-1}$ )	Recuperação (%)
<b>Mineral</b>	0,00	<LD	-
	10,00	$9,89 \pm 0,50$	99
<b>Torneira</b>	0,00	<LD	-
	10,00	$10,24 \pm 0,86$	102
<b>Lago</b>	0,00	<LD	-
	10,00	$9,19 \pm 0,66$	92

\*<LD – abaixo de Limite de Detecção.

De acordo com a Tabela 17, não foram encontrados teores de  $\text{Co}^{2+}$  acima do LD nas amostras de águas analisadas. Utilizando o método de adição e recuperação,

obteve-se recuperações na faixa de 92% a 102%, o que afirma a exatidão do método proposto, visto que os valores estão dentro do considerado satisfatório (90%-110%). Além disso, pode-se inferir que o método pode ser aplicado em diferentes amostras de água sem apresentar efeito de matriz.

Os valores de  $\text{Co}^{2+}$  encontrado na amostra de cacau 70%, bem como a porcentagem de recuperação obtida no teste de adição e recuperação, encontram-se na Tabela 18.

**Tabela 18.** Aplicação do método proposto para a determinação de  $\text{Co}^{2+}$  em amostras de cacau em pó 70%.

Amostras de água	Concentração de $\text{Co}^{2+}$ adicionada ( $\text{ng g}^{-1}$ )	Concentração de $\text{Co}^{2+}$ encontrada ( $\text{ng g}^{-1}$ )	Recuperação (%)
<b>Cacau 70%</b>	0,00	761,4 ± 15,4	-
	1071,43	1897,1 ± 78,4	104

Como observado na Tabela 18, a concentração de  $\text{Co}^{2+}$  encontrado na amostra de cacau 70% foi  $761,43 \pm 15,37$ , este valor é coerente com o relatado por Yanus e colaboradores (2014), no qual o autor relata que a concentração de cobalto encontrada em cacau 70% em pó é  $757,0 \pm 17,0 \text{ ng g}^{-1}$ . A partir da adição e recuperação, pode-se inferir que o método proposto pode ser aplicado para a quantificação de cobalto em cacau sem apresentar efeito de matriz, uma vez que as porcentagens de recuperação foram consideradas satisfatórias (90%-110%), afirmando a exatidão do método proposto.

A Tabela 19 contém os dados obtidos a partir da aplicação do método proposto para a análise da amostra da infusão de chá preto bem como amostra de chá preto digerido, além dos resultados obtidos com o teste de adição e recuperação para as mesmas.

**Tabela 19.** Aplicação do método proposto para a determinação de  $\text{Co}^{2+}$  em amostras de chá preto.

Amostras de água	Concentração de $\text{Co}^{2+}$ adicionada ( $\mu\text{g L}^{-1}$ )	Concentração de $\text{Co}^{2+}$ encontrada ( $\mu\text{g L}^{-1}$ )	Recuperação (%)
Infusão de chá preto	0,00	<LD	-
	15,0	$13,58 \pm 0,86$	91
Chá digerido em micro-ondas	0,00	<LD	-
	10,0	$10,23 \pm 1,02$	103

\*<LD – abaixo de Limite de Detecção.

Observa-se nos dados apresentados na Tabela 19 que não foram detectadas concentrações de  $\text{Co}^{2+}$  nas amostras de chá tanto pelo processo de infusão como pela digestão em micro-ondas. A concentração de cobalto encontrada em amostras de chá preto relatadas na literatura, apresentam grande variação. Como exemplo Gouda e colaboradores (2016) e Lemos e colaboradores (2006) quantificaram cobalto em concentrações de  $5,00 \pm 0,2 \mu\text{g g}^{-1}$  e  $1,23 \pm 0,007 \mu\text{g g}^{-1}$ , respectivamente. Diniz e colaboradores (2013a) não encontraram concentrações de cobalto em amostra de chá preto acima do limite de detecção do método desenvolvido ( $0,28 \mu\text{g L}^{-1}$ ). Essa variação na concentração do metal presente na amostra de chá preto pode ser atribuída a diferentes fatores, como exemplo região de plantio. Entretanto, a partir do método de adição e recuperação, pode-se inferir que o método proposto pode ser aplicado para a quantificação de cobalto em chá preto sem apresentar efeito de matriz, uma vez que as porcentagens de recuperação foram consideradas satisfatórias (91%-103%), afirmando a exatidão do método proposto.

Ainda, a exatidão do método foi comprovada por meio da aplicação do método de pré-concentração proposto em material certificado de referência (Mess-3), os teores de cobalto determinados encontram-se na Tabela 20.

**Tabela 20.** Aplicação do método proposto para a determinação de  $\text{Co}^{2+}$  em material certificado de referência.

<b>Material certificado de referência</b>	<b>Valor certificado <math>\text{mg Kg}^{-1}</math></b>	<b>Concentração de <math>\text{Co}^{2+}</math> encontrada (<math>\mu\text{g L}^{-1}</math>)</b>
<b>Mess-3</b>	$14,4 \pm 2,0$	$15,2 \pm 2,5^*$

\*Resultado expresso com valor médio  $\pm$  desvio padrão com base em nove repetições (n=9)

O test-t *student*, com 95% de confiança, permite inferir que o valor certificado ( $14,4 \pm 2,0$ ) não difere estatisticamente do valor determinado pelo método proposto, comprovando assim a exatidão do método desenvolvido neste trabalho.

## 6 CONSIDERAÇÕES FINAIS

A adição da protoporfirina na matriz polimérica agregou melhorias nas propriedades hidrodinâmicas e na capacidade adsortiva do material. Como melhorias nas propriedades hidrodinâmicas, destaca-se a menor tendência ao efeito de inchaço que os materiais com maiores proporções de protoporfirina apresentaram (especialmente poli(4VP-PP)(5/0,1) e poli(4VP-PP)(4,9/0,2)), o que levou com que esses materiais não apresentassem vazamentos no sistema de pré-concentração por excesso de pressão, quando empacotados em uma minicoluna.

Observou-se que quanto maior a proporções de protoporfirina na rede polimérica, maior a capacidade adsortiva do material para  $\text{Co}^{2+}$ ; entretanto a adição de protoporfirina no processo de síntese é limitada pela dissolução desse sal no meio reacional, bem como pelo volume da molécula, que em concentrações mais elevadas pode comprometer a incorporação desta na matriz polimérica. No estudo de comparação do desempenho dos polímeros sintetizados para serem usados como adsorvente no processo de pré-concentração on-line de  $\text{Co}^{2+}$ , os polímeros poli(4VP-PP)(5/0,1) e poli(4VP-PP)(4,9/0,2) apresentaram os melhores resultados. O polímero poli(4VP-PP)(5/0,1) foi escolhido para o desenvolvimento do método analítico, visto que em relação ao poli(4VP-PP)(4,9/0,2) não houve diferença em relação ao desempenho analítico e que, para a sua síntese, foi utilizado metade da quantidade de protoporfirina.

Foi possível inferir que a capacidade adsortiva dos materiais não se relaciona apenas com o fator área superficial, sendo também dependente do número de sítios de ligação presentes no material, por vez que como demonstrado nos resultados da análise textural (pororimetria por fisiossorção de gás nitrogênio), bem como das imagens de MEV, os materiais com menores áreas superficiais (poli(4VP-PP)(5/0,1) e poli(4VP-PP)(4,9/0,2)) apresentaram melhores desempenho analítico.

As melhorias proporcionadas pela incorporação da protoporfirina na rede polimérica do adsorvente também puderam ser confirmadas através dos parâmetros analíticos do método desenvolvido. O uso do polímero poli(4VP-PP)(5/0,1) possibilitou o desenvolvimento de um método de pré-concentração on-line de íons  $\text{Co}^{2+}$  acoplado ao F AAS com características analíticas satisfatórias, apresentando menor LD ( $1,38 \mu\text{g L}^{-1}$ ), LQ

(4,60  $\mu\text{g L}^{-1}$ ), IC (0,53) e maiores FP (38 vezes) e EP (14,07) do que quando utilizado como adsorvente o material apenas com o monômero 4-vinilpiridina (poli(4VP)).

O método desenvolvido apresentou resultados satisfatórios quanto a sua aplicabilidade em amostras ambientais e alimentícias com matrizes distintas, sendo neste trabalho aplicada em águas (torneira, mineral e lago), cacau em pó e em chá preto.

Por fim, pode-se inferir que a incorporação da protoporfirina como um co-monômero com propriedades quelantes na rede polimérica mostra-se uma alternativa frente ao uso de adsorventes que utilizam os complexantes como modificadores de superfície de suportes (sílica, resinas, grafeno), sendo a presente síntese simples, e sem a necessidade do uso de solventes orgânicos no processo de eluição. Além disso, o polímero mostrou boa estabilidade química, uma vez que a mesma minicoluna empacotada com o material foi utilizada durante o desenvolvimento de todo o trabalho (aproximadamente 300 pré-concentrações), sem ocorrer perda da capacidade adsortiva.

## REFERÊNCIAS

AFZALI, D.; AFZALI, M.; GHANBARIAN, M. Preconcentration of trace amounts of cobalt (II) ions in water and agricultural products samples using of 5-(4-dimethylaminobenzylidene) rhodanin modified SBA-15 sorbent prior to FAAS determination. **International journal of environmental analytical chemistry**, p. 1-11, 2018.

ALVES, A. N. L.; ROSA, H. V. D. Exposição ocupacional ao cobalto: aspectos toxicológicos. **Brazilian Journal of Pharmaceutical Sciences**, v. 39, p.129 – 139, 2003.

ANVISA – Agência Nacional de Vigilância Sanitária. **Resolução RDC nº 17**, de 17 de março de 2008. Dispõe sobre Regulamento Técnico sobre Lista Positiva de Aditivos para Materiais Plásticos destinados à Elaboração de Embalagens e Equipamentos em Contato com Alimentos. Disponível em <[http://portal.anvisa.gov.br/documents/33880/2568070/res0017\\_17\\_03\\_2008.pdf/5710c792-2d7d-4e74-91c5-b63b86edcdae](http://portal.anvisa.gov.br/documents/33880/2568070/res0017_17_03_2008.pdf/5710c792-2d7d-4e74-91c5-b63b86edcdae)>. Acessado em jan. 2018

ATSDR - Agency for Toxic Substances and Disease Registry. Toxicological profile for cobalto. Disponível em: <<https://www.atsdr.cdc.gov/toxprofiles/tp33.pdf>> Acessado em jan. 2018

BALIZA, P. X.; TEIXEIRA, L. S. G.; LEMOS, V. A. A procedure for determination of cobalt in water samples after dispersive liquid–liquid microextraction. **Microchemical Journal**, v. 93, p. 220-224, 2009.

BARTOSIAK, M.; JANKOWSK, K.; GIERSZ, J. Determination of cobalt species in nutritional supplements using ICP-OES after microwave-assisted extraction and solid-phase extraction. **Journal of Pharmaceutical and Biomedical Analysis**, v. 155, p.135-140, 2018.

BASAGLIA, A. M.; CORAZZA, M. Z.; SEGATELLI, M. G.; TARLEY, C. R. T. Synthesis of Pb(II)-imprinted poly(methacrylic acid) polymeric particles loaded with 1-(2-pyridylazo)-2-naphthol (PAN) for micro-solid phase preconcentration of Pb<sup>2+</sup> on-line coupled to flame atomic absorption spectrometry. **RSC Advances**, v. 7, p. 33001-33011, 2017

BASAGLIA, A.M. **Síntese e caracterização de um polímero impresso com complexo metálico (Pb-PAN) e seu uso para pré-concentração on-line de Pb<sup>2+</sup> e determinação por FAAS**. 2016. Dissertação (Mestrado em Química). Universidade Estadual de Londrina. Londrina, 2016.

CAMEL, V. Review: Solid phase extraction of trace elements. **Spectrochimica Acta Part B**, v. 58, p. 1177–1233, 2003.

CARDOSO FILHO, O.; BARBOSA CRUZ, I.; RODRIGUES SANTOS, A.; COUTO QUINTÃO, V.; ROSELI RIOS DURÃS, L.; DANIELLE RIBEIRO, R.; MORAIS COSTA, F.; BARBOSA CRUZ, L.; TOLENTINO MOURA, P. H.; FERNANDA DE FREITAS, D.; RIBEIRO ARRUDAS, S.; PEREIRA SENA DA CRUZ, A. C.; COSTA MENDES, P. H.; REGINA SOUZA, L. Vitaminas hidrossolúveis (b6, b12 e c): uma revisão bibliográfica. **Revista Eletrônica Acervo Saúde**, v. 11, p. 1-7, 2019.

CASSELLA, R. J.; SALIM, V. A.; JESUÍNO, L. S.; SANTELLI, R. E.; FERREIRA, S. L. C.; CARVALHO, M. S. Flow injection determination of cobalt after its sorption onto polyurethane foam loaded with 2-(2-thiazolylazo)-p-cresol (TAC). **Talanta**, v. 54, p. 61-67, 2001.

CITAK, D.; TUZEN, M. A novel preconcentration procedure using cloud point extraction for determination of lead, cobalt and copper in water and food samples using flame atomic absorption spectrometry. **Food and Chemical Toxicology**, v. 48, p.1399-1404, 2010.

CONAMA - Conselho Nacional do Meio Ambiente. **Resolução nº 357**, de 17 de março de 2005 alterada pela **Resolução nº 430**, de 2011. Dispõe sobre a classificação dos

corpos de água e diretrizes ambientais para o seu enquadramento, bem como estabelece as condições e padrões de lançamento de efluentes, e dá outras providências. Disponível em: <

[http://www.icmbio.gov.br/cepsul/images/stories/legislacao/Resolucao/2005/res\\_conama\\_357\\_2005\\_classificacao\\_corpos\\_agua\\_rtfcda\\_altrd\\_res\\_393\\_2007\\_397\\_2008\\_410\\_2009\\_430\\_2011.pdf](http://www.icmbio.gov.br/cepsul/images/stories/legislacao/Resolucao/2005/res_conama_357_2005_classificacao_corpos_agua_rtfcda_altrd_res_393_2007_397_2008_410_2009_430_2011.pdf)>. Acessado em nov. 2018

CUNICO, M. W. M.; CUNICO, M. M.; MIGUEL, O. G.; ZAWADZKI, S. F.; PERALTA-ZAMORA, P.; VOLPATO, N. Planejamento fatorial: uma ferramenta estatística valiosa para a definição de parâmetros experimentais empregados na pesquisa científica. **Visão Acadêmica**, v. 9, p. 23-32, 2008.

DADFARNIA, S.; JAFARZADEH, M. H. Online Trace Enrichment and Determination of Cobalt Ion as an Anionic Complex by Flow Injection Atomic Absorption Spectrometry. **Microchemical Journal**, v. 63, p. 226–234, 1999.

DA SILVA, E. L.; BUDZIAK, D.; CARASEK, E. Determination of Trace Metals in Fuel Alcohol by FAAS Using Nb<sub>2</sub>O<sub>5</sub>–SiO<sub>2</sub> as Sorbent Material in a Flow Injection On-Line Preconcentration System. **Analytical letters**. v. 37, p. 1909–1924, 2011

DA SILVA, J. P. R.; CRUZ, G. F. B.; CASSELLA, R. J.; PACHECO, W. F. Desenvolvimento de um sistema de análise por injeção em fluxo para pré concentração de Cd sobre resina de XAD-4 modificada com fenilfluorona e determinação por espectrometria de absorção atômica. **Química Nova**, v. 39, p. 561-566, 2016.

DEPOI, F.S.; POZEBON, D. The Use of Cloud Point Extraction and Hydride Generation for Improving the Sb and Se Limits of Detection in ICP OES. **Journal of the Brazil Chemical Society**, v. 23, p. 2211-2221, 2012.

DINIZ, K. M. ; GORLA, F. A.; RIBEIRO, E. S.; NASCIMENTO, M. B. O.; CORRÊA, R. J.; TARLEY, C. R. T.; SEGATELLI, M. G. Preparation of SiO<sub>2</sub>/Nb<sub>2</sub>O<sub>5</sub>/ZnO mixed oxide by

sol-gel method and its application for adsorption studies and on-line preconcentration of cobalt ions from aqueous medium. **Chemical Engineering Journal**, v. 239, p. 233-241, 2013a.

DINIZ, K. M.; SEGATELLI, M.G.; TARLEY, C. R. T. Synthesis and adsorption studies of novel hybrid mesoporous copolymer functionalized with protoporphyrin for batch and on-line solid-phase extraction of  $\text{Cd}^{2+}$  ions. **Reactive & Functional Polymers**, v. 73, p. 838–846, 2013b.

DONATI, G. L.; NASCENTES, C. C.; NOGUEIRA, A. R. A.; ARRUDA, M. A. Z.; NÓBREGA, J. A. Acid extraction and cloud point preconcentration as sample preparation strategies for cobalt determination in biological materials by thermospray flame furnace atomic absorption spectrometry. **Microchemical Journal**, v. 82, p. 189-195, 2006.

ER, E. O.; BAKIRDERE E. G.; UNUTKAN, T.; BAKIRDERE, S. Trace determination of cobalt in biological fluids based on preconcentration with a new competitive ligand using dispersive liquid-liquid microextraction combined with slotted quartz tube–flame atomic absorption spectrophotometry. **Journal of Trace Elements in Medicine and Biology**, v. 49, p. 13–18, 2018.

FERREIRA, S. L.C.; DE ANDRADE, J.; KORN, M. G. A.; PEREIRA, M. G.; LEMOS, V. A.; DOS SANTOS, W. N. L.; ROFRIGUES, F. M.; SOUZA, A. S.; FERREIRA, H. S.; DA SILVA, E. G. P. Review of procedures involving separation and preconcentration for the determination of cadmium using spectrometric techniques. **Journal of Hazardous Materials**, v. 145, p. 358-367, 2007.

FONTELLES, C. M. **Estudo das propriedades eletrocinéticas e de espectroscopia no campo do infravermelho da estirpe R. Ruber na presença de cátions metálicos**. 2014. Dissertação (Mestrado em Engenharia de Materiais e de Processos Químicos e Metalúrgicos). Pontifícia Universidade Católica do Rio de Janeiro. Rio de Janeiro, 2014.

GHAEDI, M.; AHMADI, F., SOYLAK, M. Preconcentration and separation of nickel, copper and cobalt using solid phase extraction and their determination in some real samples. **Journal of Hazardous Materials**, v. 147, p. 226-231, 2007.

GHAEDI, M.; SHOKROLLAHI, A.; AHMADI, F.; RAJABI, H.R.; SOLYLAK, M. Cloud point extraction for the determination of copper, nickel and cobalt ions in environmental samples by flame atomic absorption spectrometry. **Journal of Hazardous Materials**, v. 150, p. 533-540, 2008.

GHAED, M.; KARAMI, B.; EHSANI, Sh.; MARAHEL, F.; SOYLAK, M. Preconcentration–separation of  $\text{Co}^{2+}$ ,  $\text{Ni}^{2+}$ ,  $\text{Cu}^{2+}$  and  $\text{Cd}^{2+}$  in real samples by solid phase extraction of a calix[4] resorcinarene modified Amberlite XAD-16 resin. **Journal of Hazardous Materials**, v. 172, p. 802-808, 2009.

BT, A. A.; SUMMAN, A. M.; AMIN, A. H. Development of cloud-point extraction method for preconcentration of trace quantities of cobalt and nickel in water and food samples. **RSC Advances**, v. 6, p. 94048- 94057, 2016.

HABILA, M. A.; ALOTHMAN, Z. A.; YILMAZ, E.; SOYLAK, M. Activated carbon cloth filled pipette tip for solid phase extraction of nickel(II), lead(II), cadmium(II), copper(II) and cobalt(II) as 1,3,4-thiadiazole-2,5-dithiol chelates for ultra-trace detection by FAAS. **International Journal of Environmental Analytical Chemistry**, v. 98, p.1-11, 2018.

HAN, Q.; HUO, Y.; YANG N.; YANG, X.; HAO, T. Determination of Cobalt in Water by Thermal Lens Spectrometry with Cloud Point Extraction. **Analytical Letters**, v. 48, p. 2096-2106, 2015.

HUANG, C.; HU, B. Silica-coated magnetic nanoparticles modified with  $\gamma$ -mercaptopropyltrimethoxysilane for fast and selective solid phase extraction of trace amounts of Cd, Cu, Hg, and Pb in environmental and biological samples prior to their

determination by inductively coupled plasma mass spectrometry. **Spectrochemical Acta Part B**, v. 63, p. 437-444, 2008.

INSTITUTE OF MEDICINE. **Dietary reference intakes for thiamine, riboflavin, niacin, vitamin B6, folate, vitamin B12, pantothenic acid, biotin and choline**. 1998

Disponível em: <<http://www.nap.edu/books/0309065542/html/index.html>>. Acessado em jan. 2018.

ISMAIL, O.; KIPCAK, S.; PISKIN, S. Modeling of absorption kinetics of poly(acrylamide) hydrogels crosslinked by EGDMA and PEGDMAs. **Research on Chemical Intermediates**, v. 39, p. 907-919, 2013.

IUPAC - International Union of Pure and Applied Chemistry. Nomenclature in evaluation of analytical methods including detection and quantification capabilities. **Pure and Applied Chemistry**. v. 67, p. 1699-1723, 1995.

IVASSECHEN, J. R.; JORGETTO, A. O. WONDRAK, M. H. P.; SILVA, A. C. P.; ZARA, L. F.; PEDROSA, V. A.; ROCHA, B. P.; SAEKI, M. J.; CASTRO, G. R. Adsorptive properties of mesoporous silica modified with Lewis base molecule and its application in the preconcentration of Cu(II), Co(II), and Cd(II) from aqueous media. **Turkish Journal of Chemistry**, v. 42, p. 547-561, 2018.

JIANMING, P.; WEI, G.; ZULEI, Z.; XUE, W.; CHUNXIANG, L.; YONGSHENG, Y. Selective Adsorption of Co(II) Ions by Whisker Surface Ion-Imprinted Polymer: Equilibrium and Kinetics Modeling. **Chinese Journal of Chemistry**, v. 28, p. 2483-2488, 2010.

JUNG M-W.; AHN, K-H.; LEE, Y.; KIM, K-P; PAENG, I. R.; RHEE, J-S.; PARK, J.T.; PAENG, K-J. Evaluation on the adsorption capabilities of new chemically modified polymeric adsorbents with protoporphyrin IX. **Journal of Chromatography A**, v. 917, p. 87-93, 2001.

KANG, R.; QUIU, L.; FANG, L.; YU, R.; CHEN, Y.; LU, X.; LUO, X. A novel magnetic and hydrophilic ion-imprinted polymer as a selective sorbent for the removal of cobalt ions from industrial wastewater. **Journal of Environmental Chemical Engineering**, v. 4, p. 2268-2277, 2016.

KARADA, C.; TURHAN, O.; KARA, D. Synthesis and application of a new functionalized resin for use in an on-line, solid phase extraction system for the determination of trace elements in waters and reference cereal materials by flame atomic absorption spectrometry. **Food Chemistry**, v. 141, p. 655–661, 2013.

KARATEPE, A. U.; SOYLAK M.; ELCI, L. Cobalt determination in natural water and table salt samples by flame atomic absorption spectroscopy/on-line solid phase extraction combination. **Analytical letters**, v. 35, p. 2363-2374, 2002

KARGINA, O. V.; MISHUSTINA, L. A.; SVERGUN, V. I.; LUKOVNIK, G. M.; YEVDKOV, V. P.; KABANOV, V.A. Polymerization of 4-vinylpyridine in aqueous solutions of low molecular weight acids and poly-acids in a wide acidity range. **Vysokomol. soyed.** A. 6, n. 8, p.1755-1764, 1974.

KILIAN, K.; PYRZYŃSKA, K. Preconcentration of metal ions on porphyrin-modified sorbents as pretreatment step in AAS determination Preconcentration of metal ions on porphyrin-modified sorbents as pretreatment step in AAS determination. **Fresenius Journal Analytical Chemistry**, v. 371, p. 1076-1078, 2001.

KIRSH, Y. E.; KOMAROVA, O. P. Protonization in aqueous solutions of poly-4-vinylpyridine and poly-2-vinylpyridine partially quaternized with dimethyl sulphate. **Vysokomol. soyed.**, v. 18, p. 191-195, 1976.

KLEIN, A. C. **Cromatografia iônica como método analítico alternativo para a análise quantitativa de analitos**. 2010. Trabalho de conclusão de curso (Química industrial) – Universidade Federal do Rio Grande do Sul, Porto Alegre, 2010.

LANGAN, R. C.; FAAFP, M.; GOODBRED, A. J. Vitamin B12 Deficiency: Recognition and Management. **American Family Physician**, v. 96, p. 384-389, 2017.

LANÇAS, F. M. **Extração em fase sólida (SPE)**. 4<sup>a</sup> ed, v. 1, Rima, 2004.

LEE, J. D. **Química inorgânica não tão concisa**. 5<sup>a</sup> ed, Edgard Blücher Ltda, 1999.

LEMOS, V. A.; SANTOS, J. S.; BALIZA, P. X. Synthesis of  $\alpha$ -Nitroso- $\beta$ -Naphthol Modified Amberlite XAD-2 Resin and its Application in On-Line Solid Phase Extraction System for Cobalt Preconcentration. **Separation science and technology**, v. 39, p. 3317-3330, 2004.

LEMOS, V. A.; GAMA, E. M.; LIMA, A. S. On-Line Preconcentration and Determination of Cadmium, Cobalt and Nickel in Food Samples by Flame Atomic Absorption Spectrometry Using a New Functionalized Resin. **Microchim Acta**, v. 153, p. 179–186, 2006.

LEMOS V. A.; SANTOS, L. N.; BERREZA, M. A. Determination of cobalt and manganese in food seasonings by flame atomic absorption spectrometry after preconcentration with 2-hydroxyacetophenone-functionalized polyurethane foam. **Journal of Food Composition and Analysis**, v. 23, p. 277-281, 2010.

LI, C.; IMAE, T. Protoporphyrin IX Zinc(II) Organization at the Air/Water Interface and Its Langmuir-Blodgett Films. **Langmuir**, v. 19, p. 779-784, 2003.

LI, Y.; ZHAO, H.; YANG, W.; GAO, Y.; WANG, L. Preparation of silica supported 1-nitroso-2-naphthol-grafted- poly(p-hydroxystyrene) resin for the removal of trace cobalt from acidic solution. **Separation Science and Technology**, 2019  
<https://doi.org/10.1080/01496395.2019.1591449>.

LIU, Y.; CHANG, X.; WANG, S.; GUO, Y.; DIN, B.; MENG, S. Solid-phase extraction and preconcentration of cadmium(II) in aqueous solution with Cd(II)-imprinted resin (poly-Cd(II)-DAAB-VP) packed columns. **Analytica Chimica Acta**, v. 519, p. 173–179, 2004.

LV, Y-K.; ZHANG, Q.; SONG, Y-L, YAN, S-L. Preparation and Characterization of Imprinted Polymers Based on Cobalt (II) - Enrofloxacin Coordination. **Asian Journal of Chemistry**, v. 23, p. 4037-4041, 2011.

MARESTONI, L. D.; SEGATELLI, M. G.; SOTOMAYOR, M. P. T.; SARTORI, L. R.; TARLEY, C. R. T. Polímeros impressos com íons: fundamentos, estratégias de preparo e aplicações em química analítica. **Revista Química Nova**, v. 36, p. 1194-1207, 2013.

MARINHO, M. R. M.; DE CASTRO, W. B. Planejamento fatorial: uma ferramenta poderosa para os pesquisadores. In: XXXIII Congresso Brasileiro de Ensino de Engenharia, 2005. Campina Grande.

MARTINS, M. L.; PRIMEL, E. G.; CALDAS, S. S.; PRESTES, O. D.; ADAIME, M. B.; ZANELLA, R. Microextração Líquido-Líquido Dispersiva (DLLME): fundamentos e aplicações. **Scientia Chromatographica**, v. 4, p. 35-51, 2012.

MATUSIEWICZ, H. Atom trapping and in situ preconcentration techniques for flame atomic absorption spectrometry. **Spectrochimica Acta**, v. 52, p. 1711-1736, 1997.

METTAKOONPITAKA, J.; MILLER-LIONBERG, D.; REILLY, T.; VOLCKENS, J.; HENRY, C. S. Low-cost reusable sensor for cobalt and nickel detection in aerosols using adsorptive cathodic square-wave stripping voltammetry. **Journal of Electroanalytical Chemistry**, v. 805, p. 75–82, 2017.

MORETTI, E. S.; GIAROLA, J. F.; KUCEKI, M.; PRETE, M. C.; PEREIRA, A.C.; TARLEY, C. R. T. A nanocomposite based on multi-walled carbon nanotubes grafted by molecularly

imprinted poly(methacrylic acid–hemin) as a peroxidase-like catalyst for biomimetic sensing of acetaminophen. **Royal Society of Chemistry**, v. 6, p. 28751–28760, 2016.

MORFOBOS, M.; ECONOMOU A.; VOULGAROPOULOS, A. Simultaneous determination of nickel(II) and cobalt(II) by square wave adsorptive stripping voltammetry on a rotating-disc bismuth-film electrode. **Analytica Chimica Acta**, v. 519, p. 57–64, 2004.

NANICUACUA, D. M.; CORAZZA, M. Z.; SEGATELLI, M. G.; TARLEY, C. R. T. Assessment of organosilane-functionalized nano-carbon black for interference-free on-line Pb(II) ions enrichment in water, herb medicines and environmental samples. **Analytical Methods**, v. 8, p. 2820-2830, 2016.

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

NIKAM G.H.; MOHITE B.S. Liquid-Liquid Extraction and Separation of Cobalt(II) from Sodium Acetate media using Cyanex 272. **Research Journal of Chemical Sciences**, v.2, p. 75-82, 2012.

NOVAES, C. G.; YAMAKI, R. T.; DE PAULA, V. F.; DO NASCIMENTO JÚNIOR, B. B.; BARRETO, J. A.; VALASQUES, G. S.; BEZERRA, M. A. Otimização de Métodos Analíticos Usando Metodologia de Superfícies De Resposta - Parte I: Variáveis de Processo. **Revista Virtual Química**, v. 9, 2017.

OLIVEIRA, T. F.; OLIVEIRA, F. M.; SEGATELLI, M. G.; TARLEY, C. R. T. Evaluation of poly(vinylpyridine)-supported protoporphyrin resin for the sampling/separation of manganese(II) using a hyphenated FIA-FAAS system. **Analytical Methods**, v. 5, p.3264-3271, 2013.

OLIVEIRA, T. F.; RIBEIRO, E. S.; SEGATELLI, M. G.; TARLEY, C. R. T. Enhanced sorption of  $Mn^{2+}$  ions from aqueous medium by inserting protoporphyrin as a pendant group in poly(vinylpyridine) network. **Chemical Engineering Journal**, v. 221, p. 275–282, 2013.

OH, S. Y.; KIRN, K. P.; JUNG, M. W.; BAEK, D. J.; LI, H. B.; PAENG, K. J. Selective Solid-Phase Extraction of Polycyclic Aromatic Hydrocarbons by the Chemically Modified Polymeric Adsorbents with Protoporphyrin IX. **Chromatographia**, v. 57, p. 665-670, 2003.

OZDEMIR, S.; YALCIN, M. S.; KILINC, E.; SOYLAK, M. Boletus edulis loaded with  $\gamma\text{-Fe}_2\text{O}_3$  nanoparticles as a magnetic sorbent for preconcentration of Co (II) and Sn(II) prior to their determination by ICP-OES. **Microchimica Acta**, v. 185, p. 1-6, 2018.

PACHECO, W. F.; SAMAAN, F. S.; ALMEIDA, V. G. K.; RITTA, A. G. S. L.; AUCÉLIO, R. Q. Voltamétrias: Uma Breve Revisão Sobre os Conceitos. **Revista Virtual de Química**, v. 5, p. 516-537, 2013.

PANIZ, C.; GROTO, D.; SCHIMITT, G. C.; VALENTINI, J.; SCHOTT, K. L.; POMBLUM, V. J.; GARCIA, S. C. Fisiopatologia da deficiência de vitamina B12 e seu diagnóstico laboratorial. **Jornal Brasileiro de Patologia e Medicina Laboratorial**, v. 41, p. 323-334, 2005.

PEREIRA, M. G.; ARRUDA, M. A. Z. Trends in Preconcentration Procedures for Metal Determination Using Atomic Spectrometry Techniques. **Microchimical Acta**, v. 141, p. 115-131, 2003.

PINHEIRO, N. B.; NOGUEIRA, A.B. aplicação de planejamento fatorial na otimização da extração por ponto de nuvem na determinação de Cobalto em esmalte de unha. Resumos do Anais do XIX Encontro de Iniciação e Anais do IV Encontro de Iniciação em Desenvolvimento Tecnológico e Inovação. 2014.

PŁOTKA-WASYLKA, J.; SZCZEPAŃSKA, N.; LA GUARDIA, M.; NAMIEŚNIK, J. Modern trends in solid phase extraction: New sorbent media. **Trends in Analytical Chemistry**, v. 77, p. 23-43, 2016.

POURJAVADI, A.; TEHRANI, Z. M.; BENNETT, C. PEG-co-Polyvinyl Pyridine Coated Magnetic Mesoporous Silica Nanoparticles for pH-Responsive Controlled Release of Doxorubicin. **International Journal of Polymeric Materials and Polymeric Biomaterials**, v. 64, p. 570–577, 2015.

PYRZYŃSKA, K. KILIAN, K. Preconcentration of metal ions on porphyrin-modified sorbents as pretreatment step in AAS determination. **Fresenius Journal Analytical Chemistry**, v. 371, p. 1076-1078, 2001.

PYRZYŃSKA, K. KILIAN, K. Kinetic Study of Metals Sorption on a Resin Modified with Tetrakis(carboxyphenyl)Porphyrin. **Microchemica Acta**, v. 142, p. 67-70, 2003.

PYRZYŃSKA, K.; WIERZBICKI, T. Pre-concentration and separation of vanadium on Amberlite IRA-904 resin functionalized with porphyrin ligands. **Analytica Chimica Acta**, v. 540, p. 91-94, 2005.

RADI, S.; ABIAD, C. E.; MOURA, N. M. M.; FAUSTINO, M. A. F.; NEVES, M. G. P. M. S. New Hybrid Adsorbent Based on Porphyrin Functionalized Silica for Heavy Metals Removal: Synthesis, Characterization, Isotherms, Kinetics and Thermodynamics Studies. **Journal of Hazardous Materials**, 2017.

REKHI, R.; KAUR, R.; RANI, S.; MALIK, A. K.; KABIR, A.; FURTON, K. G. Determination of Cobalt (II), Nickel (II) and Palladium (II) Ions via Fabric Phase Sorptive Extraction in Combination with High Performance Liquid Chromatography-UV Detection. **Separation Science and Technology**, v. 52, p. 81-90, 2017

REZAEI, M.; ASSADI, Y.; HOSSEIN, M. M.; AGHAEI, E.; AHMADIA, F.; BERIJANI, S. Determination of organic compounds in water using dispersive liquid-liquid microextraction. **Journal Chromatography A**, v. 1116, p. 1-9, 2006.

SACHAR, M.; ANDERSON, K. E.; MA, X. Protoporphyrin IX: the Good, the Bad, and the Ugly. **The journal of pharmacology and experimental therapeutics**, v. 356, p. 267-275, 2016.

SARTORI, L. R.; SANTOS, W. J. R.; KUBOTA, L. T.; SEGATELLI, M. G.; TARLEY, C. R. T. Flow-based method for epinephrine determination using a solid reactor based on molecularly imprinted poly(FePP-MAA-EGDMA). **Materials Science and Engineering C**, v. 31, p. 114-119, 2011.

SCHIAVO, D.; NEIRA, J. Y.; NOBREGA, J. A. Direct determination of Cd, Cu and Pb in wines and grape juices by thermospray flame furnace atomic absorption spectrometry. **Talanta**, v. 76, p. 1113-1118, 2008.

SEYHAN, S.; MERDIVAN, M.; DEMIREL, N.; HOSGOREN, H. Polymer supported 5,10,15,20-tetrakis(phenoxy acetic acid)porphyrinderivative for separation and preconcentration of d- and f-electron metals. **Microchimica Acta**, v. 161, p. 87-93, 2008.

SIENKIEWICZ, A.; Krasucka, P.; Charnas, B.; Stefaniak, W.; Goworek, J. Swelling effects in cross-linked polymers by thermogravimetry. **Journal of Thermal Analysis and Calorimetry**, n. 130, p. 85-93, 2017.

SIVRIKAYA, S. S.; IMAMOGLU, M. Online Solid-Phase Extraction of Cd(II), Cu(II), and Co(II) Using Covalently Attached Bis(salicylaldimine) to Silica Gel for Determination in Food and Water by Flame Atomic Absorption Spectrometry. **Analytical Letters**, v. 51, p. 773-791, 2018.

SHAH, B. A.; SHAH, V. V.; TAILOR, T. V. Characterization of hydroxybenzoic acid chelating resins equilibrium, kinetics, and isotherm profiles for Cd(II) and Pb(II) uptake. **Journal of the Serbian Chemical Society**, v. 76, p. 903-922, 2011.

SHAKERIAN, F.; CHELONGAR, Y.; SHABANI, A. M. H.; DADFARNIA, S. Mixed hemimicelles solid phase extraction based on sodium dodecyl sulphate-coated nano-magnets Fe<sub>3</sub>O<sub>4</sub> for the simultaneous separation and preconcentration of cobalt and nickel. **Microchemical Journal**, <https://doi.org/10.1016/j.microc.2019.01.004>.

SHEGEFTI, S.; MEHDINA, A.; SHEMIRANI, F. Preconcentration of cobalt(II) using polythionine-coated Fe<sub>3</sub>O<sub>4</sub> nanocomposite prior its determination by AAS. **Microchimica Acta**, v. 183, p. 1963-1970, 2016.

SOUZA, J. M. O; TARLEY, C. R. T. Sorbent separation and enrichment method for cobalt ions determination by graphite furnace atomic absorption spectrometry in water and urine samples using multiwall carbon nanotubes. **International Journal of Environmental Analytical Chemistry**, v. 89, p. 489-502, 2009.

STAFIEJ, A.; PYRZYNSKA, K. Adsorption of heavy metal ions with carbon nanotubes. **Separation and Purification Technology**, v. 58, p. 49-52, 2007.

SUQUILA, F. A. C.; OLIVEIRA, L. L. G. ; TARLEY, C. R. T. . Restricted Access Copper Imprinted Poly(Allylthiourea): The Role of Hydroxyethyl Methacrylate (HEMA) and Bovine Serum Albumin (BSA) on the Sorptive Performance of Imprinted Polymer. **Chemical engineering journal**, v. 350, p. 714-728, 2018.

SUQUILA, F. A. C.; SCHEEL, G. L.; OLIVEIRA, F. M.; TARLEY, C. R. T. Assessment of ultrasound-assisted extraction combined with supramolecular solvent-based microextraction for highly sensitive cadmium determination in medicinal plant sample by TS-FF-AAS. **Microchemical Journal**, v. 145, p. 1071–1077, 2019

TALIO, M. C.; ALESSO, M. ACOSTA, M. G.; ACOSTA, M.; FÉRNANDEZ, L. P. Sequential determination of lead and cobalt in tap water and foods samples by fluorescence. **Talanta**, v.127, p. 244-249, 2014.

TARLEY, C. R. T.; CORAZZA, M. Z.; DE OLIVEIRA, F. M.; SOMERA, B. F. ; NASCENTES, C. C.; SEGATELLI, M. G. On-line micro-solid phase preconcentration of Cd<sup>2+</sup> coupled to TS-FF-AAS using a novel ion-selective bifunctional hybrid imprinted adsorbent. *Microchemical Journal*, v. 131, p. 57-69, 2017a.

TARLEY, C. R. T.; DINIZ, K. M.; SUQUILA, F. A. C.; SEGATELLI, M. G. Study on the performance of micro-flow injection preconcentration method on-line coupled to thermospray flame furnace AAS using MWCNTs wrapped with polyvinylpyridine nanocomposites as adsorbent. **The Royal Society of Chemistry**, v.7, p. 19296-19304, 2017b.

TARLEY, C. R. T.; FERNANDES, F. F.; LUCCAS, P. O., SEGATELLI, M. G. Enhanced Selectivity and Sensitivity for Flow Injection Spectrophotometric Determination of Cobalt Using Solid Phase Extraction with a 2D Ion-Imprinted Adsorbent. **Analytical Letters**, v. 44, p. 216–231, 2011.

TARLEY, C. R. T.; BARBOSA, A. F.; SEGATELLI, M. G.; FIGUEIREDO, E. C.; LUCCAS, P. O. Highly improved sensitivity of TS-FF-AAS for Cd(II) determination at ng L<sup>-1</sup> levels using a simple flow injection minicolumn preconcentration system with multiwall carbon nanotubes. **Journal of Analytical Atomic Spectrometry**, v. 21, p. 1305-1313, 2006.

TEMEL, N. K.; SERTAKAN, K.; GÜRKAN, R. Preconcentration and Determination of Trace Nickel and Cobalt in Milk-Based Samples by Ultrasound-Assisted Cloud Point Extraction Coupled with Flame Atomic Absorption Spectrometry. **Biological Trace Element Research**, v. 186, p. 597-607, 2018.

TEÓFILO, R. F.; FERREIRA, M. M. C. Quimiometria ii: planilhas eletrônicas para cálculos de planejamentos experimentais, um tutorial. **Química Nova**, v. 29, p. 338-350, 2006.

THOMMES, M.; KANEKO, K.; NEIMARK, A. V.; OLIVIER, J. P.; REINOSO-RODRIGUEZ, F.; ROUQUEROL, J.; SING, K. S. W. Physisorption of gases, with special reference to the evaluation of surface area and pore size distribution (IUPAC Technical Report). **Pure Appl. Chem.** 2015.

VILELA, E. F. **Utilização do planejamento fatorial para a otimização do experimento do pêndulo**. 2013. Trabalho de Conclusão de Curso (Física licenciatura) – Universidade Federal de Alfenas. Alfenas, 2013.

WANG, Y.; KE X.; ZHOU, X.; LI, J.; MA, J. Graphene for separation and preconcentration of trace amounts of cobalt in water samples prior to flame atomic absorption spectrometry. **Journal of Saudi Chemical Society**, v. 20, p. 145-152, 2016a.

WANG, L.; ZHOU, J-B.; WANG, X.; WANG, Z-H.; ZHAO, R-S. Simultaneous determination of copper, cobalt, and mercury ions in water samples by solid-phase extraction using carbon nanotube sponges as adsorbent after chelating with sodium diethyldithiocarbamate prior to high performance liquid chromatography. **Analytical and Bioanalytical Chemistry**, v. 408, p. 4445–4453, 2016b.

YANUS, R. L.; SELA, H.; BOROJOVICH, E. J. C.; SAPHIER, N., NIKOLSKI, A.; GURFLAIS, E.; LORBER, A.; KARPAS, Z. Trace elements in cocoa solids and chocolate: An ICPMS study. **Talanta**, v. 119, p. 1-4, 2014.

YUAN, G.; TU, H.; LIU, J.; ZHAO C.; LIAO, J.; YANG, Y.; YANG, J.; LIU, N. A novel ion-imprinted polymer induced by the glycyglycine modified metalorganic framework for the selective removal of Co (II) from aqueous solutions. **Chemical Engineering Journal**, v. 333, p. 280-288, 2018.

ZAGO, M. A.; FALCÃO, R. P.; Pasquini, R. **Tratado de Hematologia**. 1ª ed. Atheneu, 2013.

ZAITOUN, M. A. Spectroscopic study of protoporphyrin IX zinc (II) encapsulated in sol-gel glass. **Spectrochimica Acta**, n. 61, p. 1715–1719, 2005.

ZAPPIELO, C. D.; NANICUACUA, D. M.; SANTOS, W. N. L.; SILVA, D. L. F.; DALLANTONIA, L. H.; OLIVEIRA, F. M; CLAUSEN, D. N.; TARLEY, C. R. T. Solid Phase Extraction to On-Line Preconcentrate Trace Cadmium Using Chemically Modified Nano-Carbon Black with 3-Mercaptopropyltrimethoxysilane. **Journal of the Brazilian Chemical Society**, v. 27, p. 1715-1726, 2016.

ZOREL, H. F.; COSTALONGA, A. G. C.; CRESPI, M. S.; RIBEIRO, C. A. Comportamento térmico do 8-quinolinol e seus nitro-derivados. **Química Nova**, v. 24, p. 599-603, 2001.

## ANEXO 1

**Figura 27.** Espectros FT-IR dos polímeros poli(4VP-PP)(5,075/0,025) (A), poli(4VP-PP)(5,099/0,001) (B) e poli(4VP-PP)(4,9/0,2) (C).

