

## DLLME EM SERINGA COM VARIAÇÃO DE PRESSÃO ASSOCIADA COM COLORIMETRIA DE IMAGEM DIGITAL: DETERMINAÇÃO DE COBALTO EM ALIMENTOS

Jeferson A. Barreto<sup>1,2</sup>; Luana B. Santos<sup>1</sup>; Ricardo J. Cassella<sup>2</sup>; Valfredo A. Lemos<sup>1</sup>

<sup>1</sup>Universidade Estadual do Sudoeste da Bahia, Laboratório de Química Analítica, Campus de Jequié, Jequié, Bahia 45208-051, Brasil

<sup>2</sup>Departamento de Química Analítica, Universidade Federal Fluminense, Outeiro de São João Batista s/n, Niterói, Rio de Janeiro 24020-141, Brasil

### Introdução

Os alimentos são a principal fonte de exposição humana ao cobalto. A exposição ao cobalto no ar em altos níveis causa efeitos respiratórios, congestão, edema e sangramento nos pulmões. A inalação de altos níveis desse metal pode causar pneumoconiose por metal duro, uma forma progressiva de fibrose pulmonar intersticial, em pessoas diretamente expostas (AHMADZADEH; REZAYI; FAGHIH-MIRZAEI; YOOSEFIAN; KASSIM, 2015). Devido a esses fatores relacionados à toxicidade e, principalmente, à função nutricional, a determinação de cobalto em amostras de alimentos é uma questão importante (KINOBE, 2016).

Dentre as técnicas de detecção analítica, a colorimetria de imagem digital (DIC) vem ganhando destaque para fins analíticos, pois torna o processo extremamente viável em laboratório, devido ao seu baixo custo e versatilidade (POHANKA, 2017). Para esta técnica, a imagem digital surge da percepção e sensação visual do operador. Para obter as imagens, são utilizados detectores de dispositivos de acoplamento de carga (CCD) e detectores de óxidos metálicos semicondutores complementares (CMOS). Esses dispositivos são feitos com materiais semicondutores, que podem capturar e converter a energia luminosa visível em energia elétrica, seguida da formação da imagem digital (LAMARCA; DA COSTA LUCHIARI; BONJORNO; PASSARETTI FILHO *et al.*, 2019).

A microextração líquido-líquido dispersiva (DLLME) é uma técnica de preparação de amostra para extração, limpeza e pré-concentração. O princípio básico consiste na injeção rápida de uma mistura (solvente de extração e solvente dispersivo) na amostra, formando um sistema de solvente ternário. O solvente dispersivo deve ser miscível no solvente de extração (fase orgânica) e na amostra (fase aquosa). O solvente de extração deve ser imiscível na fase aquosa. A rápida injeção dos solventes de extração e dispersivos resulta em sua dispersão eficiente por toda a amostra, com a formação de uma mistura turva, e o processo de extração ocorre devido à grande área de superfície entre o solvente de extração e a fase aquosa. Consequentemente, a transferência de analitos entre as fases é rápida, atingindo o equilíbrio quase instantaneamente. A sedimentação da fase de extração é geralmente realizada usando centrifugação (SAJID, 2018; SERESHTI; KHORRAM; NOURI, 2019).

Recentemente, foi apresentada uma técnica derivada da DLLME, denominada microextração líquido-líquido dispersiva em seringa por variação de pressão (PV-IS-DLLME). Uma seringa é utilizada como uma câmara de extração, e a mistura contendo a fase aquosa, reagente complexante e solvente de extração são aspirados para dentro da seringa. A ponta é selada e, então, é feito um movimento no êmbolo para gerar dispersão. O PV-IS-DLLME

provou ser vantajoso por ser simples, barato, rápido e produzir pouco desperdício (BARRETO; DOS SANTOS DE ASSIS; CASSELLA; LEMOS, 2019). Neste trabalho, a nova técnica PV-IS-DLLME foi utilizada para extrair Co(II) de amostras de alimentos para sua quantificação por colorimetria de imagem digital.

### Material e Métodos

O instrumento utilizado para obtenção das imagens foi o microscópio portátil multifuncional Supereyes (Shenzhen, Guangdong, China), modelo B007, com fator de ampliação de 600× e resolução de 640×480, e um sensor de imagem CMOS conectado a uma porta USB 2.0. Foi adaptado um suporte universal juntamente com uma pinça para conter o microscópio portátil, e foi utilizada uma caixa de madeira com dimensões (32 × 23 × 8 cm) com uma câmera com iluminação de luz branca da lâmpada LED (7 W).

A amostra ou solução padrão (7,0 mL), a um pH de 7,8, foi transferida para um tubo de ensaio. Em seguida, 100,0 µL de solução de TAC 1,25×10<sup>-2</sup>% (m/v) e 115,0 µL de tricloroetileno foram adicionados. A mistura foi aspirada para uma seringa de vidro, a saída foi selada e o êmbolo foi puxado e liberado rapidamente, repetidamente, por 10s, causando uma rápida mudança na pressão dentro da seringa. Em seguida, uma emulsão foi formada, quase instantaneamente, através da diferença de pressão gerada pelo movimento do êmbolo. É importante mencionar que o êmbolo foi sempre puxado para um ponto fixo da seringa (máximo da escala). O número de ciclos também foi fixo. Em seguida, a emulsão foi transferida para um tubo de centrifuga, que foi centrifugado por 6,0 min a 3500 rpm, para induzir a separação das fases. O sobrenadante foi descartado e a fase orgânica sedimentada foi empregada para a medição da colorimetria de imagem digital. Os dados foram registrados como sinais de pixel usando o canal vermelho do modelo RGB e processados usando o software Chemostat.

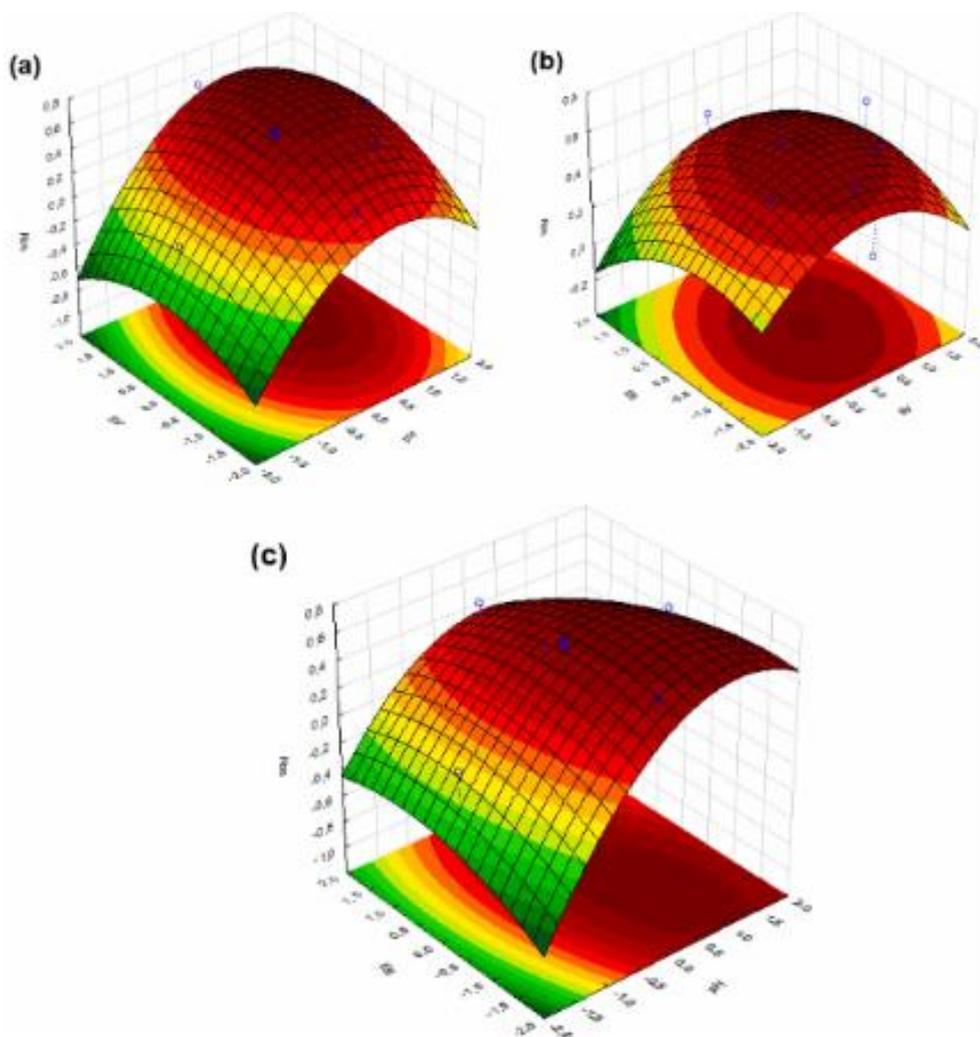
### Resultados e Discussão

Uma avaliação preliminar foi realizada para identificar o canal mais adequado do modelo RGB para as medições. Uma curva analítica foi construída usando os três canais do modelo RGB. O canal vermelho resultou em uma curva analítica com a maior inclinação e correlação. Assim, o canal vermelho foi usado em todos os experimentos subsequentes. A absorvância foi calculada usando a equação  $A = \frac{P_S}{P_B}$  onde A é o sinal analítico, em absorvância, calculado para o canal vermelho; P<sub>S</sub> representa o sinal, em pixels, da solução padrão ou amostra; e P<sub>B</sub> representa o sinal, em pixels, do branco. Soluções de cobalto (50,0 µg L<sup>-1</sup>) e TAC (1,25 × 10<sup>-2</sup>% (m/v)) foram fixadas nos experimentos de otimização, com base em experimentos preliminares.

O tipo de solvente de extração foi escolhido após otimização univariada. Um planejamento fatorial fracionário foi aplicado para rastrear os seguintes fatores: pH, volume da amostra (SV), quantidade de solvente de extração (ES) e tempo de extração (ET). O planejamento composto central foi usado para encontrar os valores ótimos.

A Figura 1 apresenta a superfície de resposta para o planejamento composto central com 3 variáveis.

**Figura 1.** Superfícies de resposta (a) SV × pH, (b) ES × SV e (c) ES × pH obtidas usando o planejamento composto central para a determinação de Co(II) após PV-IS-DLLME. SV: volume da amostra, ES: a quantidade de solvente de extração.



As superfícies de respostas geradas pela modelagem dos dados obtidos no planejamento proposto indicaram pontos de máximos. Nesta situação, o cálculo das coordenadas do ponto máximo é adequado para a identificação das condições ótimas. Os pontos críticos foram calculados através da equação de regressão obtida pelo modelo, derivando a função parcialmente em relação a cada variável e igualando a equação obtida a zero. Este procedimento gerou um sistema de três equações lineares e três variáveis, que pode ser facilmente resolvido. Os cálculos foram efetuados utilizando-se o programa Statistica 10. A equação que descreve o modelo está mostrada a seguir.

$$\text{Abs} = 0,5962 + 0,1984 \text{ pH} - 0,1496 \text{ pH}^2 + 0,0487 \text{ SV} - 0,0764 \text{ SV}^2 - 0,0352 \text{ ES} - 0,0498 \text{ ES}^2 + 0,0244 \text{ pH} \times \text{SV} - 0,0527 \text{ pH} \times \text{ES} + 0,0211 \text{ SV} \times \text{ES}$$

Os valores críticos (condições ótimas) obtidos foram: pH, 7,81; volume de amostra (SV), 7,35 mL e quantidade de solvente extrator (ES), 115  $\mu\text{L}$ . De acordo com as superfícies de resposta, podemos observar que a extração do complexo Co(II)-TAC abaixo do valor crítico

de pH diminui, possivelmente devido à competição que ocorre pelo TAC entre o analito e o  $H_3O^+$ . Já a diminuição no sinal de absorvância acima do pH crítico pode ser explicada pela formação do hidróxido de cobalto, diminuindo a formação do complexo. Por sua vez, a diminuição dos sinais analíticos devido à diminuição dos níveis de VS e ES abaixo do ponto crítico, pode ser explicada pela pequena quantidade de analito presente e pela baixa eficiência de extração na presença de um baixo volume de extrator, respectivamente. A Tabela 1 mostra os resultados obtidos na determinação de Co(II) em amostras de alimentos após a utilização da PV-IS-DLLME.

**Tabela 1.** Resultados da determinação de cobalto em amostras de alimentos usando o método proposto.

Amostra	Quantidade de cobalto ( $\mu\text{g g}^{-1}$ )		Recuperação (%)
	Adicionada	Encontrada	
Farinha de banana verde	0,00	$0,49 \pm 0,10$	---
	3,50	$4,01 \pm 0,10$	101
	7,00	$7,46 \pm 0,70$	100
Tempero baiano	0,00	$1,01 \pm 0,11$	---
	3,50	$4,66 \pm 0,51$	104
	7,00	$7,37 \pm 0,19$	90
Farinha de berinjela	0,00	$0,88 \pm 0,40$	---
	3,50	$4,23 \pm 0,30$	96
	7,00	$7,24 \pm 0,60$	91
<i>Tribulus terrestris</i>	0,00	$0,97 \pm 0,10$	---
	3,50	$4,22 \pm 0,30$	93
	7,00	$8,06 \pm 0,60$	101

## Conclusões

O método PV-IS-DLLME combinado com colorimetria de imagem digital foi aplicado com sucesso para determinar cobalto em alimentos. Esta técnica é de baixo custo, fácil manipulação e altamente versátil, sendo capaz de quantificar espécies inorgânicas e orgânicas em diversas amostras através de reações químicas colorimétricas. O método desenvolvido neste estudo demonstra características analíticas excelentes, incluindo baixo limite de detecção (LOD), alta eficiência (EF) e ampla faixa dinâmica. Assim, apresenta-se como uma alternativa simples, rápida, confiável e versátil para análise de cobalto em alimentos.

## Agradecimentos

CNPq, Capes, Faperj e Fapesb.

## Referências

- AHMADZADEH, S.; REZAYI, M.; FAGHIH-MIRZAEI, E.; YOOSEFIAN, M.; KASSIM, A. Highly Selective Detection of Titanium (III) in Industrial Waste Water Samples Using Meso-octamethylcalix[4]pyrrole-Doped PVC Membrane Ion-Selective Electrode. *Electrochimica Acta*, 178, p. 580-589, 2015/10/01/ 2015.
- BARRETO, J. A.; DOS SANTOS DE ASSIS, R.; CASSELLA, R. J.; LEMOS, V. A. A novel strategy based on in-syringe dispersive liquid-liquid microextraction for the determination of nickel in chocolate samples. *Talanta*, 193, p. 23-28, 2019/02/01/ 2019.



KINOBE, R. T. Towards the elimination of excessive cobalt supplementation in racing horses: A pharmacological review. **Research in Veterinary Science**, 104, p. 106-112, 2016/02/01/ 2016.

LAMARCA, R. S.; DA COSTA LUCHIARI, N.; BONJORNO, A. F.; PASSARETTI FILHO, J. *et al.* Determination of formaldehyde in cosmetic products using gas-diffusion microextraction coupled with a smartphone reader. **Analytical Methods**, 11, n. 29, p. 3697-3705, 2019.

POHANKA, M. Small camera as a handheld colorimetric tool in the analytical chemistry. **Chemical Papers**, 71, n. 9, p. 1553-1561, 2017.

SAJID, M. Dispersive liquid-liquid microextraction coupled with derivatization: A review of different modes, applications, and green aspects. **TrAC Trends in Analytical Chemistry**, 106, p. 169-182, 2018/09/01/ 2018.

SERESHTI, H.; KHORRAM, P.; NOURI, N. Recent trends in replacement of disperser solvent in dispersive liquid-liquid microextraction methods. **Separation & Purification Reviews**, 48, n. 2, p. 159-178, 2019.