

DESENVOLVIMENTO DE METODOLOGIA DE EXTRAÇÃO ASSISTIDA POR ULTRASSOM PARA DETERMINAÇÃO DE METAIS EM TECIDO VEGETAL COLETADO NO ESTUÁRIO DO RIO CACHOEIRA, ILHÉUS-BA

Raquel Viana Pinto Leal^{1*}, Floriatan dos Santos Costa², Adrielle Santos Fontes², Clissiane Soares Viana Pacheco³, Fábio Alan Carqueija Amorim⁴, Luana Novaes Santos⁴, Erik Galvão Paranhos da Silva^{4,5}

1. Graduanda em Engenharia Química, Universidade Estadual de Santa Cruz (DCET-UESC)
2. Mestrando em Química, Universidade Estadual de Santa Cruz (DCET-UESC)
3. Doutoranda em Química, Universidade Federal da Bahia (IQ-UFBA)
4. Docente, Universidade Estadual de Santa Cruz (DCET-UESC)
5. Orientador, Universidade Estadual de Santa Cruz (DCET-UESC)

*E-mail: raquelvpleal@gmail.com

Resumo

O objetivo deste trabalho, foi desenvolver uma metodologia de extração assistida por ultrassom para determinar metais em tecido vegetal. Um planejamento de mistura foi aplicado no estudo da solução extratora (HNO₃, HCl e H₂O) e Box-Behnken na otimização do tempo, temperatura e potência. A solução extratora que conduziu à obtenção da máxima resposta foi composta por 11% HNO₃, 38% HCl e 51% H₂O, correspondendo a concentração final de 0,44 e 1,52 mol L⁻¹ para HNO₃ e HCl, respectivamente. As melhores condições para extração foram obtidas com tempo de 7 minutos, temperatura de 40 °C e potência de 90%. A precisão do procedimento foi satisfatória (RSD 0,2–7,3%) e as recuperações quantitativas variaram de 90–103% para material de referência e 93–105 em comparação com digestão ácida convencional. As concentrações dos metais nas amostras de caule (mg kg⁻¹) foram de 1,41–2,31 Cu, 19,77–46,09 Fe, 45,40–160,70 Mn, 4,16–9,08 Zn, sendo semelhantes aos relatados em outros estudos.

Palavras-chave: Extração Assistida por Ultrassom; Plantas; Otimização Multivariada.

Apoio financeiro: FAPESB, CNPq e UESC.

Trabalho selecionado para a JNIC: UESC (Universidade Estadual de Santa Cruz).

Introdução

Na última década, tem aumentado de forma significativa a distribuição de metais em diversos ambientes. O manguezal apresenta características únicas, e desempenha funções importantes, principalmente relacionadas à imobilização de metais do ambiente, desempenhado um importante papel de filtro biológico, através de diversos mecanismos em um processo altamente eficiente¹⁻³. Para avaliação dos impactos de atividades antrópicas no meio ambiente, é necessário dispor de metodologias analíticas capazes de determinar a concentração de metais potencialmente contaminantes e que possam representar riscos à manutenção do equilíbrio ecológico. Nesse sentido, o objetivo do trabalho foi desenvolver, otimizar e validar metodologia de extração assistida por ultrassom para determinação de Cu, Fe Mn e Zn em material vegetal. O trabalho justifica-se, considerando a aplicação de metodologia mais eficiente, de baixo custo e rápida com capacidade de extração equivalente aos protocolos convencionais.

Metodologia

Amostragem: este estudo foi realizado com amostras de tecido vegetal (folha e caule) das espécies *Rhizophora mangle* L. e *Laguncularia racemosa*, coletadas no estuário do Rio Cachoeira, Baía do Pontal, localizada no município de Ilhéus-BA (14°47'20" S; 39°02'56" O). As amostras de tecido vegetal foram coletadas no mês de fevereiro/2018. **Otimização multivariada:** para a otimização da composição da solução extratora, foi aplicado um planejamento de mistura simplex-centroide com restrição, visando avaliar a composição percentual dos componentes: HNO₃ (Ácido nítrico), HCl (ácido clorídrico) e H₂O (água). Foram utilizados ácidos previamente diluídos, na concentração de 4,0 mol L⁻¹. Um Box-Behnken foi utilizado para a otimização das condições instrumentais aplicadas no procedimento de extração. Os fatores estudados foram: Tempo de extração (minutos), potência (%) e temperatura (°C), todos investigados em três níveis. Uma resposta múltipla calculada a partir das absorvâncias de cada analito foi utilizada como resposta experimental. **Preparo de amostra:** As amostras de caules foram lavadas com água destilada, secas em estufa (Odontobrás, São Paulo, Brasil) em temperatura de 60 °C por 48 h, seguido da moagem em moinho de facas, modelo TE350 (Tecnal, Ltda., São Paulo, Brasil). Todas as amostras foram peneiradas em malha com abertura de 0,15 mm (Partícula < 150 µm). Para extração, aproximadamente 250 mg da amostra foi pesada em microtubo e transferida para tubo de ensaio de vidro (30 mm diâmetro e 180 mm altura). A solução extratora (HNO₃ e HCl) foi adicionada, agitada em agitador de tubos por aproximadamente 10 segundos, fixado no suporte no banho ultrassônico e sonicada nas condições otimizadas. Os extratos foram centrifugados por cinco minutos a 3000 rpm (1844 G). O protocolo de digestão ácida convencional (CAD)⁴ foi utilizado como referência para avaliar a eficiência da extração. Aproximadamente 250 mg da amostra foi aferida em microtubo e transferida para tubo de digestão, seguido da adição de 4 mL de

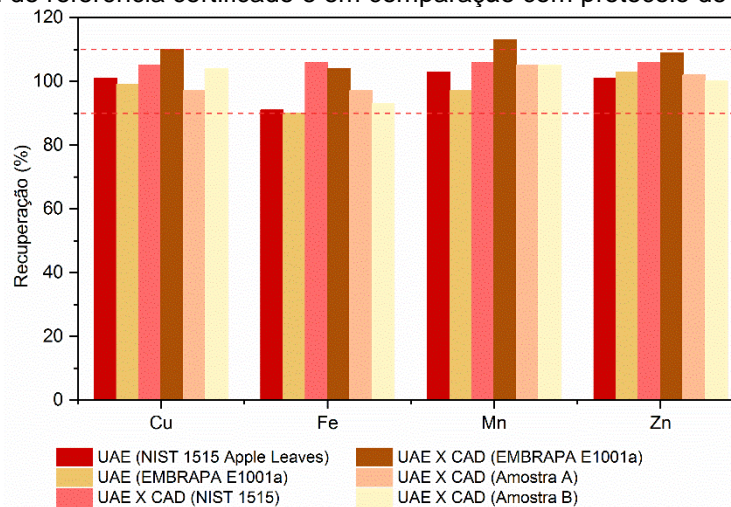
HNO₃ e 1 mL de H₂O₂, mantidas em aquecimento por 3h a 120°C. As determinações elementares foram realizadas com Espectrômetro de Absorção Atômica em Chama (F AAS). **Avaliação dos parâmetros de desempenho:** A precisão foi avaliada por meio do desvio padrão relativo (RSD%) e a exatidão por meio da aplicação do procedimento em material de referência certificado e comparação com protocolo de referência (CAD), usando as recuperações quantitativas (%) como critério.

Resultados e Discussão

A otimização das condições de extração foi executada a partir do planejamento de mistura simplex-centroide e Box-Behnken. Ambos os modelos matemáticos obtidos foram adequados e demonstraram elevada capacidade preditiva ($R^2 > 0,96$). A composição da mistura que favoreceu à obtenção da máxima resposta foi: 1,1 mL HNO₃, 3,8 mL HCl e 5,1 mL de H₂O e as condições operacionais otimizadas foram: temperatura de 40°C, tempo de extração de 7 minutos e potência de 90%.

A exatidão da metodologia foi confirmada com base na análise de material de referência certificado. Os valores determinados experimentalmente são adequados e as recuperações quantitativas (Figura 1) são satisfatórias, obtidas na faixa de 91–103% (NIST 1515 Apple Leaves) e 90–103% (Embrapa E1001a) mostrando que extração foi eficiente para todos os analitos.

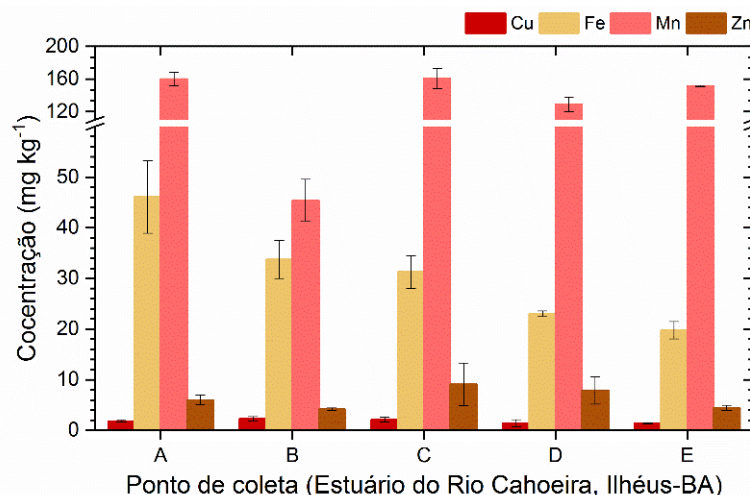
Figura 1 – Recuperações quantitativas obtidas a partir da aplicação do procedimento proposto na análise de material de referência certificado e em comparação com protocolo de referência



Na comparação do protocolo de extração assistida por ultrassom (UAE) com a digestão ácida convencional (CAD), aplicados em amostras reais, as recuperações obtidas foram na faixa de 97–105%. Portanto, verifica-se que a metodologia apresenta eficiência similar ao protocolo convencional. Além disso, os resultados não se diferem significativamente ($p < 0,05$). A precisão foi avaliada a partir do desvio padrão relativo, obtidos na faixa de 0,2–7,3%. Os RSDs são satisfatórios e adequados, considerando que os níveis de concentração estudados toleram RSD% de até 11%⁵.

O procedimento proposto foi aplicado na determinação de Cu, Fe, Mn e Zn (Figura 2) em amostras de caule (*Rhizophora mangle* L. e *Laguncularia racemosa*).

Figura 2 – Concentração de Cu, Fe, Mn e Zn determinados em amostras de caule aplicando procedimento de extração assistida por ultrassom



O manganês apresentou maiores concentrações nos diferentes pontos de coleta. No geral, as concentrações mostraram baixa variação na espécie *R. mangle* (Pontos A – C, D, E). Na espécie *L. racemosa*, a concentração do Mn é consideravelmente menor, e pode ser relacionado às características morfológicas desta espécie, que

possui mecanismos de controle iônico nos tecidos radiculares, que impedem a absorção dos íons metálicos². As concentrações de ferro decresceram dos pontos de coleta A – E, tal fato pode ser associado ao efeito de diluição causado pela água do mar ou as variações de características biogeoquímicas dos sedimentos, que podem reduzir a biodisponibilidade do metal. As concentrações de cobre e zinco são as menores observadas no tecido e os resultados obtidos foram similares aos relatados em outros estudos^{3,6}, que encontraram perfil de concentração Mn > Fe > Zn > Cu nos tecidos das espécies *R. mangle* e *L. racemosa*.

Conclusões

A metodologia proposta foi eficiente na extração dos analitos investigados. As técnicas de otimização multivariada foram úteis na otimização das condições para determinação dos analitos na matriz investigada e a metodologia proposta mostrou-se eficiente e confiável para determinação dos metais em amostras de plantas, com maior eficiência, baixo custo e rapidez. A concentração dos metais determinados no tecidos de caule, apresentam o mesmo perfil de distribuição que outros trabalhos relatados na literatura^{6,7}.

Referências bibliográficas

1. Souza, C. A.; Duarte, L. F. de A.; João, M. C. A.; Pinheiro, M. A. A. In *Educação Ambiental sobre Manguezais*; Pinheiro, M. A. A.; Talamoni, A. C. B., Eds.; UNESP: São Vicente, 2018; pp. 16–56.
2. Cuzzuol, G. R. F.; Rocha, A. C. ; *Acta Bot. Brasilica* **2012**, *26*, 11.
3. Bernini, E.; Silva, M. A. B.; Carmo, T. M. S.; Cuzzuol, G. R. F. ; *Brazilian J. Plant Physiol.* **2010**, *22*, 177.
4. Marchand, C.; Fernandez, J. M.; Moreton, B. ; *Sci. Total Environ.* **2016**, *562*, 216.
5. In *Official Methods of Analysis of AOAC International, 20th Edition, 2016*; Latimer, G. W., Ed.; AOAC International: Rockville, 2016; p. 18.
6. Madi, A. P. L. M.; Boeger, M. R. T.; Reissmann, C. B. ; *Brazilian Arch. Biol. Technol.* **2015**, *58*, 970.
7. Gonçalves, M. R. M.; Geraldo, L. P. ; *Eng. Sanitária Ambient.* **2007**, *12*, 440.