



## DESENVOLVIMENTO DE MÉTODO COM BASE NA MICROEXTRAÇÃO LÍQUIDO-LÍQUIDO COM GOTA ORGÂNICA DISPERSIVA SOLIDIFICADA NA DETERMINAÇÃO DE COBRE EM ÁGUAS NATURAIS SUPERFICIAIS

Bruno N. Silva<sup>1</sup>, Geovane S. Oliveira<sup>1</sup>, Eduarda V. Cunha<sup>1</sup>, Marcella P. D. Girolamo<sup>1</sup>, Jaqueline P. Conteiros<sup>1</sup>, Josiane B. Santos<sup>1</sup>, Clinzen F. Cletche<sup>1</sup>, Marcos A. Bezerra<sup>1</sup>

<sup>1</sup>Universidade Estadual do Sudoeste da Bahia – UESB – Campus de Jequié/Ba – Av. José Moreira Sobrinho S/N

E-mail: bruno251998@outlook.com

**Palavras-Chave:** Águas naturais superficiais, SFODME, planejamento Doehlert

### Introdução

A contaminação ambiental por elementos-traço tem recebido crescente atenção em razão dos impactos adversos à natureza e à saúde humana. Dentre esses elementos, o cobre destaca-se pela sua relevância ecológica e toxicológica. Embora seja um micronutriente essencial, necessário ao funcionamento de diversos sistemas enzimáticos em seres vivos, o excesso de cobre em ambientes aquáticos pode acarretar efeitos tóxicos, comprometendo ecossistemas e a saúde pública (RODRIGUES, 2012).

A mobilidade do cobre aumenta em condições ácidas e com a diminuição da matéria orgânica no solo, facilitando seu transporte até os corpos hídricos superficiais, onde pode acumular-se nos sedimentos, ou na biota, representando riscos significativos. Fontes antropogênicas desse elemento incluem o uso intensivo de fungicidas à base de cobre, adubos orgânicos, atividades mineradoras e descarte industrial inadequado, caracterizando um cenário preocupante para a qualidade da água e exposição humana (MINGUEZ et al., 2002; NEVES et al., 2020).

Diante da complexidade e da variabilidade das matrizes ambientais, a determinação precisa e sensível de cobre em águas superficiais exige métodos analíticos robustos, econômicos e ambientalmente sustentáveis. Métodos tradicionais de tratamento de amostras, como a extração líquido-líquido convencional, apesar de eficientes, apresentam desvantagens significativas, como elevado consumo de solventes orgânicos tóxicos, maior geração de resíduos, tempo de análise prolongado e necessidade de grandes volumes de amostra e reagentes. Por essa razão, técnicas de microextrações líquido-líquido vêm ganhando destaque por aliar rapidez, alta sensibilidade e redução significativa de resíduos químicos, alinhando-se aos princípios da química verde (AGUILERA-HERRADOR et al., 2010; SPIETELUN et al., 2014).

Entre as técnicas miniaturizadas, a Microextração Líquido-Líquido Dispersiva com Gota Orgânica Dispersiva Solidificada (SFODME) surge como uma alternativa promissora, oferecendo diversas vantagens em relação a outras modalidades como microextração líquido-líquido dispersiva (DLLME), microextração em fase líquida com fibras ocas (HF-LPME) e microextração em gota única (SDME). A SFODME destaca-se por utilizar um volume reduzido de solvente extrator, que após dispersão e extração rápida, é solidificado em banho de gelo, facilitando a recuperação da fase orgânica sem necessidade de equipamentos complexos de

separação ou solventes altamente voláteis. Além disso, a técnica proporciona fator de enriquecimento adequado, reduz o tempo total da análise e minimiza contaminações cruzadas por ser simples e eficaz mesmo quando realizada manualmente (KOKOSA, 2015; MOREIRA et al., 2015). Estas características a tornam especialmente indicada para análises em amostras ambientais como águas naturais superficiais, onde a detecção de metais-traço em baixas concentrações é essencial para avaliação da qualidade hídrica.

Este trabalho propõe o desenvolvimento, otimização e validação de um método baseado na SFODME de cobre em amostras de águas superficiais naturais e determinação por espectrometria de absorção atômica com chama (FAAS). O método desenvolvido visa aumentar a sensibilidade analítica e garantir resultados confiáveis com baixo custo operacional, refletindo também preocupações ambientais pela redução do uso de reagentes perigosos. A otimização do método foi conduzida por meio de planejamento experimental multivariado de Doehlert, o que permitiu avaliar o impacto conjunto das variáveis envolvidas na microextração, favorecendo a obtenção das condições experimentais que maximizam a eficiência do processo. As concentrações de cobre encontradas nas amostras obtidas foram confrontadas com padrões legais brasileiros e internacionais. A aplicação do método desenvolvido poderá contribuir para o monitoramento ambiental e para subsídio a políticas públicas voltadas à gestão sustentável dos recursos hídricos, em consonância com os Objetivos de Desenvolvimento Sustentável (ODS) relacionados à água limpa e saneamento universal (COSTA & SILVA, 2020; BARBOSA JÚNIOR et al., 2024).

## Material e Métodos

As análises foram realizadas utilizando-se um espectrômetro de absorção atômica com chama (FAAS), da Perkin Elmer (modelo Analyst 200) equipado com lâmpada de cátodo oco de cobre e fonte de luz de deutério para correção de fundo. A determinação do cobre foi feita no comprimento de onda de 324,8 nm, com fluxo de gás acetileno de 2,0 L min<sup>-1</sup> e ar atmosférico de 13,5 L min<sup>-1</sup>, utilizando nebulizador com fluxo de 5,0 mL min<sup>-1</sup>.

Amostras de água de rio e de lagoa foram coletadas na região rural dos municípios de Campo Largo e Piraí do Norte, Bahia. As coletas ocorreram em três pontos distintos de cada corpo hídrico — início, meio e fim —, sendo as amostras armazenadas em frascos de polietileno âmbar de 250 mL previamente lavados e acidificados com ácido nítrico diluído, para evitar a adsorção e precipitação dos analitos. As amostras foram conservadas em embalagem térmica protegida da luz até a realização das análises.

A metodologia analítica empregada envolveu a microextração líquido-líquido dispersiva com gota orgânica solidificada (SFODME) associada à FAAS. Para a extração, em um tubo de 15 mL, adicionou-se 1,0 mL de solução tampão borato pH 7,0, seguido de 10 mL da amostra de água. Posteriormente, foram incorporados 500 µL de acetona (solvente dispersante), 50 µL de solução de Br-PADAP a 0,025% m/v (agente complexante) e 50 µL de 1-undecanol (solvente extrator). O sistema foi agitado e posteriormente centrifugado a 3500 rpm por 9 minutos para promover a formação e separação da gota orgânica. Em seguida, a fase orgânica foi solidificada por imersão em banho de gelo, retirada manualmente e diluída em 200 µL de solução de ácido nítrico e álcool etílico na relação 1:2, conforme protocolo estabelecido para compatibilizar a amostra com a análise por FAAS.

A otimização do método foi conduzida por meio do planejamento experimental multivariado Doehlert, visando a avaliação simultânea e eficiente de três variáveis críticas: o pH da amostra (6 a 10), o volume da solução do complexante Br-PADAP (20 a 60  $\mu\text{L}$ ) e o tempo de centrifugação (3 a 9 minutos). As demais variáveis relacionadas aos volumes dos solventes e solução tampão foram mantidas constantes. Foram realizados 13 ensaios em triplicata. Os dados gerados da determinação de cobre foram analisados estatisticamente utilizando os softwares Statistica 10.0 e Microsoft Excel 2013 para modelagem de superfícies de resposta e análise de variância (ANOVA). O ajuste dos modelos (linear e quadrático) foi avaliado pela significância estatística da regressão e análise dos resíduos, escolhendo-se o modelo quadrático para determinação das condições ótimas.

Os limites de detecção (LOD) e quantificação (LOQ) foram calculados a partir do desvio padrão do branco e da inclinação da curva analítica. A precisão foi avaliada por repetibilidade, com dez determinações consecutivas em níveis fixos de padrão de cobre, expressa pelo desvio padrão relativo percentual (%RSD). A exatidão foi verificada por meio de testes de adição e recuperação em amostras de águas naturais.

Essa estrutura metodológica buscou garantir uma análise rápida, sensível e sustentável, com baixo consumo de reagentes e mínimo impacto ambiental, alinhada aos princípios da química verde e às demandas atuais do monitoramento ambiental de metais-traço.

## Resultados e Discussão

A otimização das variáveis envolvidas no processo de microextração líquido-líquido dispersiva com gota orgânica solidificada (SFODME) para a determinação de cobre em águas naturais foi realizada utilizando o planejamento experimental Doehlert. Na Tabela 1, apresentam-se os resultados obtidos nos 13 experimentos, os quais avaliaram simultaneamente o pH da amostra, o volume do agente complexante Br-PADAP e o tempo de centrifugação, obtendo-se, como resposta, a absorbância do cobre. O modelo quadrático ajustado aos dados experimentais demonstrou melhor descrever o comportamento dos dados em relação ao modelo linear, conforme evidenciado nos gráficos de valores preditos versus observados e na análise dos resíduos (Figuras 1 e 2). A regressão para o modelo quadrático ajustado mostrou-se adequado, com valor de  $p$  superior a 0,05 e ausência de falta de ajuste significativa, assegurando confiabilidade do modelo para predição das condições ótimas.

As superfícies de resposta parciais mostraram que, a combinação ideal dos níveis das variáveis que maximiza a extração de cobre, ocorre em pH 7,0, volume de complexante de 50  $\mu\text{L}$  e tempo de centrifugação de 9 minutos. Estas condições maximiza a formação do complexo de cobre com o reagente Br-PADAP e potencializa a transferência do metal para a fase orgânica antes dela ser solidificada (Figura 1).

Tabela 1. Matriz de planejamento Doehlert (e respostas em termos de absorvância) aplicada na otimização de variáveis envolvidas

Exp.	Variáveis			Absorbância do cobre
	Vol. Complexante (μL)	pH	Tempo de Centrifugação (min)	
1	60	8	6	0,0125/0,0088
2	50	7	3	0,0122/0,0105
3	50	7	9	0,0193/0,0149
4	50	9	3	0,0115/0,0135
5	50	9	9	0,0146/0,0141
6	40	6	6	0,0138/0,0129
7	40	8	6	0,0118/0,0116
8	40	10	6	0,0099/0,0097
9	30	7	3	0,0085/0,0087
10	30	7	9	0,0180/0,0093
11	30	9	3	0,0127/0,0167
12	30	9	9	0,0089/0,0092
13	20	8	6	0,0109/0,0125

Figura 1. Superfícies de respostas parciais encontradas por ajuste de um modelo quadrático aos dados obtidos pela aplicação da matriz de planejamento Doehlert na otimização da SFODME para o cobre

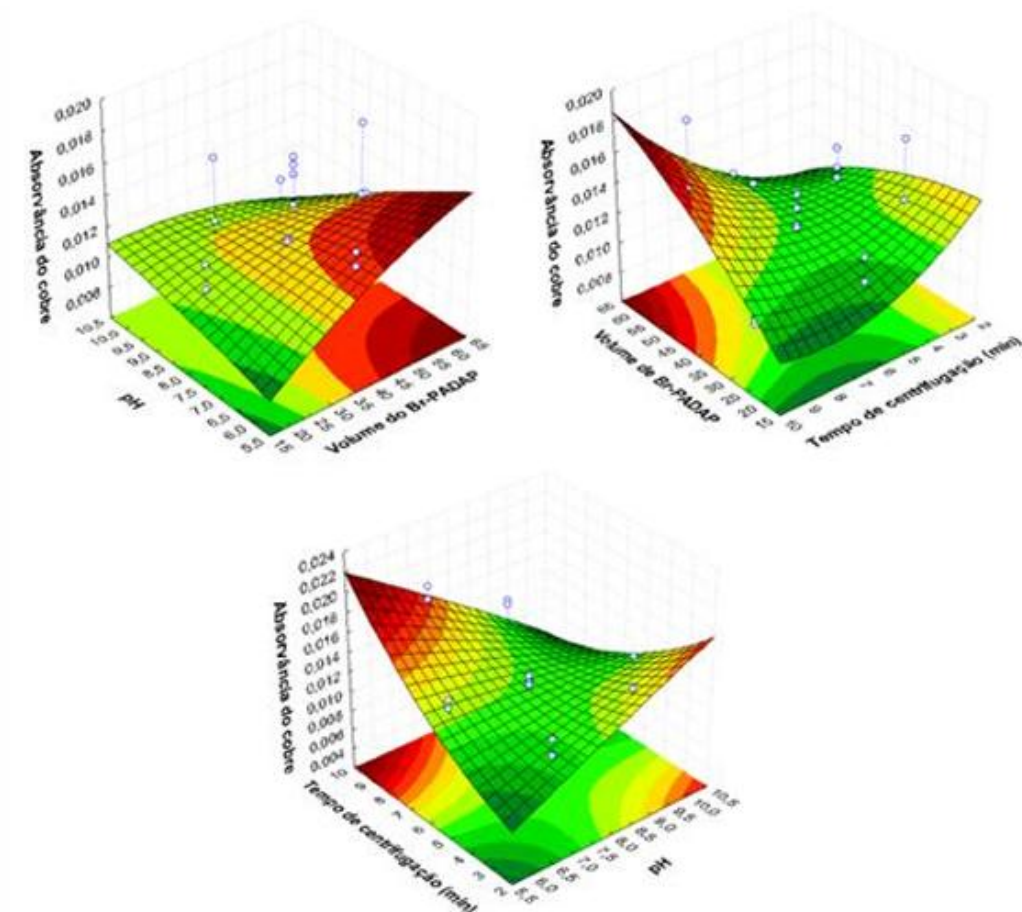
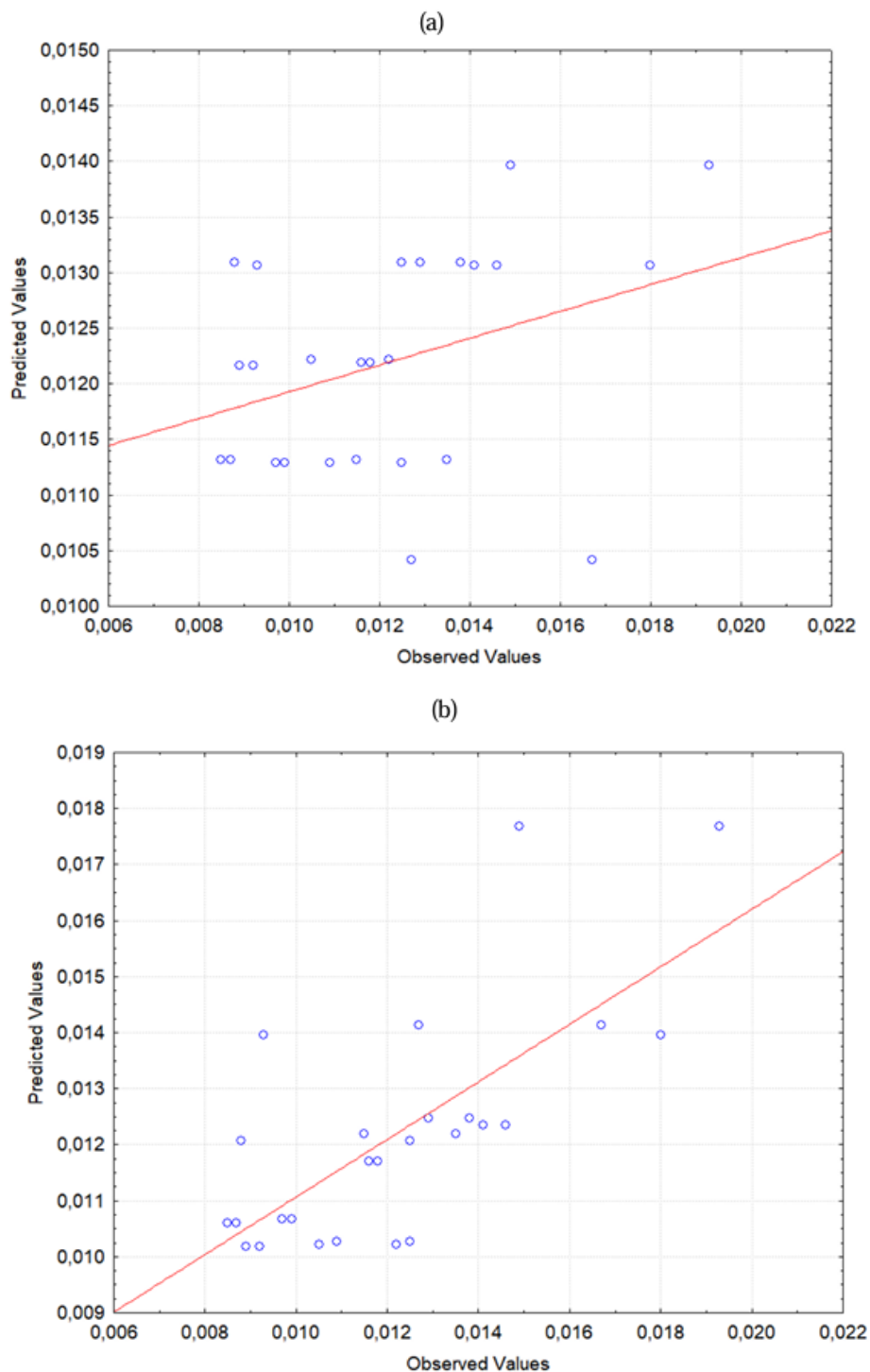
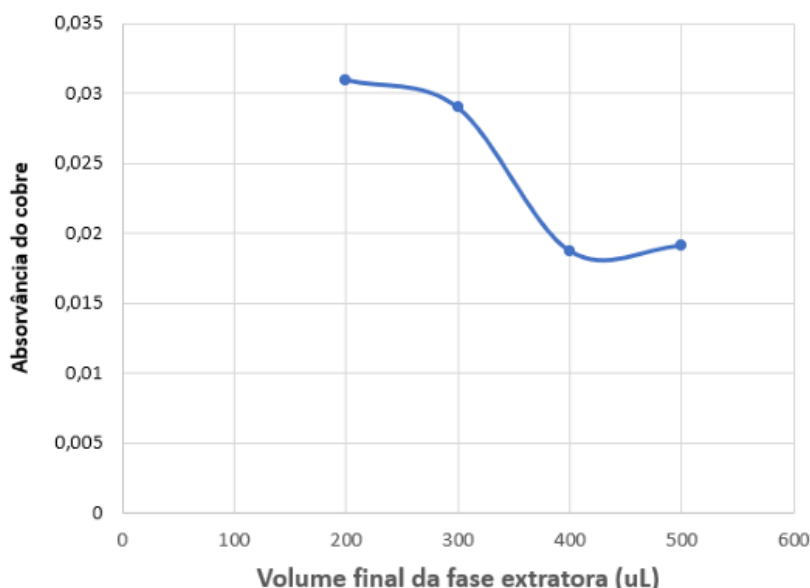


Figura 2. Gráficos de valores observados versus valores preditos para (a) modelo linear e (b) modelo quadrático.



O estudo subsequente sobre o volume final da fase extratora, após a coleta e da gota solidificada e volta ao estado líquido, revelou que a diluição com 200  $\mu\text{L}$  de ácido nítrico e álcool etílico (proporção 1:2) produziu o maior sinal de absorvância para cobre (Figura 3), indicando que volumes adicionais de diluente causam diluições excessivas do analito, reduzindo o sinal.

Figura 3. Estudo do volume final da fase extratora na magnitude do sinal de absorvância do cobre



As características analíticas do método otimizado foram acessadas. Limite de detecção (LOD) de  $2,6 \mu\text{g}\cdot\text{L}^{-1}$  e limite de quantificação (LOQ) de  $8,7 \mu\text{g}\cdot\text{L}^{-1}$  foram encontrados para cobre, valores compatíveis com a aplicação em monitoramento ambiental de metais-traço em água. O fator de enriquecimento calculado foi 5,1 vezes, revelando capacidade adequada da técnica para pré-concentração do analito, facilitando detecção em baixos níveis. A precisão acessada na forma de repetibilidade apresentou bons resultados, com desvio padrão relativo percentual (%RSD) de 2,5% para  $30 \mu\text{g}\cdot\text{L}^{-1}$  e 3,1% para  $80 \mu\text{g}\cdot\text{L}^{-1}$ , indicativos de boa precisão operacional.

A tabela 2 apresenta os resultados dos testes de adição/recuperação realizados em amostras de águas naturais provenientes de lagoa, obtendo-se recuperação de 91,2%. Este valor está dentro do intervalo aceitável (entre 90 e 110%), confirmando a exatidão do método para o sistema em estudo. A aplicação prática do método em amostras de águas superficiais de rios e lagos das localidades de Campo Largo e Pirai do Norte, apresentou resultados reveladores (Tabela 2). Enquanto a maior parte das amostras encontrou concentrações de cobre dentro dos limites estabelecidos pela Resolução CONAMA nº 357/2005, a amostra coletada no Rio Pirai do Norte apresentou valor elevado de  $33,3 \mu\text{g}\cdot\text{L}^{-1}$ , superior ao limite máximo permitido para águas de classe 2 ( $13 \mu\text{g}\cdot\text{L}^{-1}$ ). Essa constatação sugere a presença de uma fonte local de contaminação. No entanto, determinações adicionais neste corpo de água devem ser realizadas ao longo do tempo para confirmar se esta hipótese é verdadeira ou foi fruto de um evento esporádico.



Tabela 2. Concentração ( $\mu\text{g L}^{-1}$ ) de cobre em amostras de águas doces naturais

Amostra	Tipo de água	Concentração ( $\mu\text{g}\cdot\text{L}^{-1}$ )
1	Rio Piraí do Norte	$33,3 \pm 3,6$
2	Rio Campo largo	<LQ
3	Lago Campo largo (1)	$34,4 \pm 2,6$
4	Lago Campo largo (2)	$5,95 \pm 0,66$

\*média  $\pm$  desvio padrão

As demais amostras dos rios e lagos analisados mostraram-se seguras para uso segundo os parâmetros da legislação, evidenciando a aplicabilidade do método para avaliação da qualidade da água na região em estudo. Este fato confirma a capacidade da técnica SFODME combinada com FAAS para monitorar concentrações de cobre em diferentes corpos hídricos, alinhando-se ao que é reportado na literatura quanto à eficiência e sustentabilidade das metodologias miniaturizadas para determinação de elementos traço (Kokosa, 2015; Moreira et al., 2015).

Além dos bons resultados analíticos, a técnica demonstrou ser rápida, simples e de baixo custo operacional. A redução do volume de solventes orgânicos usados contribui para minimizar impactos ambientais adversos, em consonância com os princípios da química verde, um diferencial frente a métodos convencionais que demandam maiores volumes e geram grandes quantidades de resíduos (Aguilera-Herrador et al., 2010; Spietelun et al., 2014). A possibilidade de adaptação da metodologia para outras matrizes ambientais amplia seu potencial como ferramenta para monitoramento contínuo e abrangente da poluição hídrica por metais-traço.

Dessa forma, os resultados alcançados corroboram a viabilidade e a eficácia da SFODME-FAAS como método alternativo para determinação de cobre em águas naturais, oferecendo alta sensibilidade, exatidão e aplicabilidade em campo. Observa-se, entretanto, a importância da continuidade de estudos para permitir a aplicação do método em matrizes mais complexas e para monitoramento espacial e temporal das regiões afetadas, possibilitando respaldo técnico para tomada de decisão e políticas públicas ambientais.

## Conclusões

O método baseado na microextração líquido-líquido com gota orgânica dispersiva solidificada (SFODME) associado à FAAS mostrou-se eficiente, sensível e preciso para a determinação de cobre em águas naturais superficiais. A otimização via planejamento Doehlert resultou em condições experimentais ideais que garantiram boa extração e pré-concentração do metal, com limites de detecção adequados e fator de enriquecimento significativo. Os testes de recuperação confirmaram a exatidão do método, e a aplicação em amostras reais indicou concentrações geralmente dentro dos limites legais, exceto em um rio que apresentou nível elevado de cobre, apontando para possível contaminação local. O método é rápido, econômico, de baixo consumo de solventes e alinhado aos princípios da química verde, sendo uma alternativa promissora para monitoramento ambiental de metais traço em águas superficiais.



## Agradecimentos

Os autores agradecem ao Conselho Nacional de Desenvolvimento Científico e Tecnológico (CNPq), Fundação de Amparo à Pesquisa do Estado da Bahia (FAPESB) e Coordenação de Aperfeiçoamento de Pessoal de Nível Superior (CAPES) pelo apoio financeiro no desenvolvimento da pesquisa.

## Referências

- AGUILERA-HERRADOR E., LUCENA R., CÁRDENAS S., VALCÁRCEL M (2010). The roles of ionic liquids in sorptive microextraction techniques. *Trends in Analytical Chemistry*. 29(7):602–16.
- BARBOSA JÚNIOR, I. DE O. et al. Sustainable practices in the construction sector: an overview of companies operating in Brazil and their contributions to achieving the UN SDGs. *Ambiente construído*, v. 24, 2024.
- BEZERRA, M. A.; FERREIRA, S. L. C.; NOVAES, C. G.; SANTOS, A. M. P. dos; VALASQUES, G. S.; CERQUEIRA, U. M. F. da M.; ALVES, J. P. dos S. Otimização simultânea de múltiplas respostas e sua aplicação em Química Analítica – Uma revisão. *Talanta*, v. 194, p. 941-959, 1 mar. 2019.
- Brasil. Ministério do Meio Ambiente (MMA). Conselho Nacional do Meio Ambiente (CONAMA). RESOLUÇÃO CONAMA N° 357, DE 17 DE MARÇO DE 2005 (retificada). 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.
- Brasil. Ministério do Meio Ambiente (MMA). Conselho Nacional do Meio Ambiente (CONAMA). Resolução CONAMA n. 420, de 28 de janeiro de 2009. Brasília, 16 p. 2009. Dispõe sobre critérios e valores orientadores de qualidade do solo quanto à presença de substâncias químicas e estabelece diretrizes para o gerenciamento ambiental de áreas contaminadas por essas substâncias em decorrência de atividades antrópicas.
- COSTA, K.; SILVA, E. Anais do I Workshop de Pós-Graduação e Pesquisa: mineração e sustentabilidade: perspectivas e desafios para os Objetivos de Desenvolvimento Sustentável - ODS. [s.l.] ITV, 2020.
- KOKOSA J. M (2015). Recent trends in using single-drop microextraction and related techniques in green analytical methods. *Trends in Analytical Chemistry*. 71:194–204.
- MÍNGUEZ-MOSQUERA, M. I.; HORNERO-MÉNDEZ, D.; PÉREZ-GÁLVEZ, A (2002). Carotenoids and provitamin A in functional foods. In: HURST, W. J. *Methods of analysis for functional foods and nutraceuticals*. New York: CRC PRESS, 400p;
- MOREIRA B. J., YOKOYA J. M. C., GAITANI C. M (2015). Microextração líquido líquido dispersiva (DLLME): fundamentos, inovações e aplicações biológicas. *Scientia Chromatographica*. 6(3):186–204.
- NEVES, D. S. C. et al (2020). Determinação de cádmio, cobalto e níquel em amostras de alface após pré-concentração com microextração líquido-líquido dispersiva com solidificação da gota suspensa (DLLM-SFO). *O conhecimento científico na química*. Editora Atena;
- RODRIGUES, Mônica Aparecida; SILVA, Priscila Pereira; GUERRA, Wendell. Cobre. *Química nova na escola*, v. 34, n. 3, p. 161-162, 2012.
- SPIETELUN A, MARCINKOWSKI Ł, DE LA GUARDIA M, NAMIEŚNIK J (2014). Green aspects, developments and perspectives of liquid phase microextraction techniques. *Talanta*. 119:34–45;