

# OTIMIZAÇÃO MULTIVARIADA NA EXTRAÇÃO DE GUIAIACOL POR PONTO DE NUVEM

**Michelle Suemy Suzuki**

Faculdade de Química  
CEATEC  
mi.suemy.suzuki@uol.com.br

**Alessandra Borin Nogueira**

Metrologia Química, Quimiometria e Química Analítica  
CEATEC  
aleborin@puc-campinas.edu.br

**Resumo:** Este trabalho teve por objetivo otimizar a pré-concentração de guaiacol, através de planejamento de experimentos e extração por ponto de nuvem. A extração por ponto de nuvem é uma técnica ambientalmente amigável e eficiente para pré-concentrar analitos, como compostos fenólicos, para serem analisados em técnicas de baixa sensibilidade, como no caso, a espectrofotometria na região do Visível. Neste trabalho, para a otimização da extração por ponto de nuvem, foi empregado primeiramente o planejamento fatorial fracionário  $2^{6-3}$  que identificou que os fatores mais significativos e que impactam positivamente nas respostas (absorbância) foram: 1) a concentração de surfactante (Triton X-100) e 2) NaCl. A partir disso foi realizado o planejamento fatorial  $2^2$  com ponto central onde foram determinadas as melhores condições: 1) 6% Triton X -100 e 2) 1,0 mol/L de NaCl. A partir desta extração otimizada, calculou-se o fator de concentração que foi de 10,8 vezes, ou seja, uma pré-concentração de grande eficiência, especialmente para amostras com concentrações baixas de compostos fenólicos.

**Palavras-chave:** Planejamento Composto Central, Extração por ponto de nuvem e guaiacol.

**Área do Conhecimento:** Ciências Exatas e da Terra – Química – CNPq.

## 1. INTRODUÇÃO

Os compostos fenólicos podem ser encontrados em efluentes de indústria de corantes, pesticidas, papel e celulose e siderurgia. Também são intermediários para a fabricação de plásticos, corantes e produtos farmacêuticos, além de serem usados como pesticidas, antisépticos e desinfetantes. Apesar de serem importantes na cadeia produtiva fenóis e derivados são tóxicos e comuns em efluentes industriais. Mesmo em pequenas quantidades (1mg/L) afetam o odor e o gosto de água potáveis e peixes. Como penetram facilmente por pele e membranas celulares também são tóxicos a plantas e animais [1]. A Diretiva da Comunidade Econômica Européia (80/778 EEC) determinou como concentração máxima permitida de

0,5 mg/L, para todos os tipos de fenóis em meio aquoso e 0,1 mg/L para fenóis individuais. O Instituto Nacional Norte Americano para Saúde e Segurança Ocupacional estabeleceu como limite de exposição a concentração de 5 mg/L de fenol. No Brasil, com a publicação em 1999 da Resolução CEPRAM 2113 o limite de concentração de fenóis no efluente final, lançado pelas indústrias no meio ambiente, é de 10 mg/L. A resolução CONAMA n°357, publicada em 2005, revogou a Resolução CONAMA 20/86 e define como concentração para efluentes industriais o teor de 0,5 mg/L de fenóis totais (expresso em  $C_6H_5OH$ ) [2]. Há diferentes técnicas analíticas para a determinação de compostos fenólicos, onde alguns deles necessitam de etapas de pré-concentração por apresentarem baixa sensibilidade, como por exemplo, a espectrofotometria na região do visível. Porém, ao longo da sequência analítica a extração pode ser considerada a etapa mais poluente do processo analítico [3]. Por outro lado, há extrações consideradas limpas como a microextração em fase líquida, microextração em fase sólida, extração por fluido super crítico, líquidos iônicos e a extração por ponto nuvem [4]. Nos casos de otimização da extração por ponto de nuvem, muitos usam a otimização univariada, ou seja, estudando o comportamento da extração variando apenas um dos fatores. Com o uso da Quimiometria, particularmente do planejamento de experimentos, esta otimização poder ser multivariada, minimizando o número de ensaios, diminuindo a quantidade do uso de reagentes, menos tempo e menor quantidade de resíduos. A otimização destes fatores pode ser realizada com o emprego de Quimiometria, mais especificamente, do planejamento de experimentos, que permite o estudo simultâneo das variáveis com um menor número de ensaios, economizando tempo, reagentes e gerando menos resíduo [5].

## 2. METODOLOGIA

### 2.1. Materiais

Os reagentes utilizados foram guaiacol (Dinâmica), surfactante não iônico Triton X-100 (Polyethylene glycol tert-octylphenyl ether)(Vetec), cloreto de amônio(Vetec), hidróxido de amônio(Vetec), 4-aminoantipirina (Sigma Aldrich), ferrocianeto (Sinth), ácido nítrico, ácido sulfúrico. Também utilizou-se os equipamentos: banho termostático (Marconi, modelo M.A 184), centrífuga (Fa-

nem, modelo 206MP Excelsa II), tubos de centrifuga 25mL, pHmetro, espectrofotômetro na região do visível (Shimadzu, modelo UV-1800).

## 2.2. Determinação espectrofotométrica de compostos fenólicos

Conforme a ASTM D1783-01 [6] determina-se compostos fenólicos pelo método analítico com 4-aminoantipirina. Este método determina fenol, fenóis orto ou para-substituídos em que o substituinte é um grupo carboxílico, metoxilíco, hidroxilíco, halogêneo, sulfônico. A concentração dos compostos fenólicos na amostra é expressa em ug/L de fenol – C<sub>6</sub>H<sub>5</sub>OH.

## 2.3. Curva analítica

Antes de iniciar a etapa de otimização da pré-concentração foi construída a curva analítica, em duplicata, para a determinação do Guaiacol. Considerando a resolução CONAMA n° 357, publicada em 2005, que define como concentração para efluentes industriais o teor de 0,5 mg/L de fenóis totais (expresso em C<sub>6</sub>H<sub>5</sub>OH), a faixa da curva construída foi de 0,01 a 0,7 mg/L (sete pontos), a partir da solução estoque de Guaiacol 1000mg.L<sup>-1</sup>. A linearidade foi avaliada pela análise visual da distribuição dos pontos ao longo da curva analítica e pelo coeficiente de determinação (R<sup>2</sup>). As medidas foram realizadas no espectrofotômetro na região do ultravioleta-visível que possui resolução de 1 nm, fabricante Shimadzu, modelo UV-1800.

## 2.4. Triagem dos fatores- aplicação do planejamento fatorial fracionário 2<sup>6-3</sup> para otimização da extração de guaiacol por ponto de nuvem

Para a triagem dos fatores mais importantes realizou-se o planejamento fatorial fracionário 2<sup>6-3</sup> com os fatores: pH, temperatura, concentração de 4-aminoantipirina, ferrocianeto, Triton x-100 e Guaiacol. Os níveis foram estabelecidos a partir de pesquisa na literatura e são apresentados na Tabela 1. Estes ensaios para otimização da extração por ponto de nuvem foram realizados aleatoriamente e em duplicata.

**Tabela 1. Fatores e níveis para o planejamento fatorial fracionário 2<sup>6-3</sup>.**

Fatores	Nível Inferior (-1)	Nível Superior (+1)
Fator 1 – Triton X-100 (%)	4	8
Fator 2- NaCl (mol/L)	0,3	0,6
Fator 3- Temperatura (°C)	65	68
Fator 4 – Aminoantipirina (AAP) – ( mg/L)	500	1000
Fator 5 – K <sub>3</sub> Fe(CN) <sub>6</sub> (mg/L)	350	750
Fator 6 – Guaiacol (mg/L)	0,05	0,5

Após a realização dos ensaios deste planejamento fracionário foram identificados os fatores mais importantes através da planilha de cálculos de Teófilo [5]. Identificados estes fatores, a próxima etapa foi a realização do planejamento composto central.

## 2.5. Otimização com Planejamento Fatorial 2<sup>2</sup> com ponto central da extração de guaiacol por ponto de nuvem

Os níveis e fatores do planejamento fatorial 2<sup>2</sup> com ponto central são apresentados na Tabela 2. Da mesma forma que no planejamento fracionário estes ensaios foram realizados aleatoriamente, em duplicata e todos com solução padrão de guaiacol de 0,05 mg.L<sup>-1</sup>.

**Tabela 2. Níveis e fatores do planejamento fatorial 2<sup>2</sup> com ponto central.**

Fatores	-1	0	+1
Fator 1- Triton X-100 (%)	4	5	6
Fator 2- NaCl (mol/L)	0,3	0,6	1,0

## 2.6. Procedimento de extração por ponto de nuvem

Otimizada as variáveis o procedimento da extração por ponto de nuvem foi realizado em um tubo de ensaio onde foi adicionado 4 mL de solução do Guaiacol ou da solução da amostra e 0,8 mL da de 4 aminoantipirina. Em seguida adicionado 0,8 mL de ferrocianeto e 1,2 mL de tampão (NH<sub>4</sub>OH + NH<sub>4</sub>Cl) até a solução atingir pH 9,0. Essa mistura foi agitada vigorosamente por 30 segundos. Depois foi adicionado 1,2mL da solução de Triton x-100 v/v. A solução foi agitada e deixada em aquecimento pela temperatura otimizada por 15 minutos. A solução foi retirada após o tempo de 20 minutos e foi levada a centrifuga em 4000 rpm por 15 min para que ocorresse a separação de fases. Depois de visível a separação das fases, a solução foi levada ao congelador por 20 minutos para aumentar a viscosidade da fase rica em surfactante e facilitar a remoção do sobrenadante (fase pobre em surfactante) através de micropipeta. Após a retirada, a solução foi medida no espectrofotômetro UV-visível a 480 nanômetros.

## 2.7. Cálculo do fator de pré-concentração

O fator de pré-concentração (Fc) é calculado pela razão entre a concentração do analito na fase rica do surfactante (Cs) e a concentração da solução inicial do analito (Cin) conforme apresentado na Eq. 1 e proposto por [7].

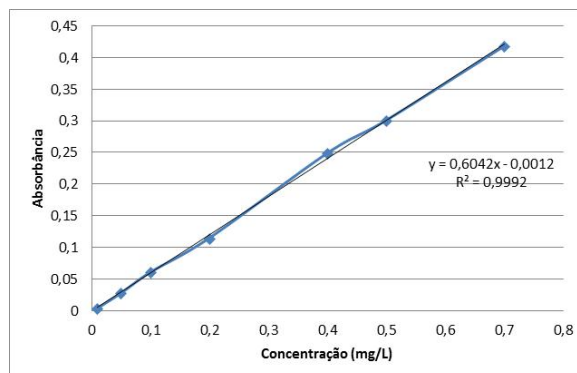
$$Fc = Cs/Cin \quad (\text{Eq.1})$$

## 3. RESULTADOS E DISCUSSÃO

### 3.1. Linearidade

Na Figura 1 é possível observar que a melhor curva para guaiacol, com uma adequada distribuição de pontos ao longo da curva e com melhor coeficiente de determinação ( $r^2$ ) de 0,9992 é a  $y=0,6042.x-0,0012$ .

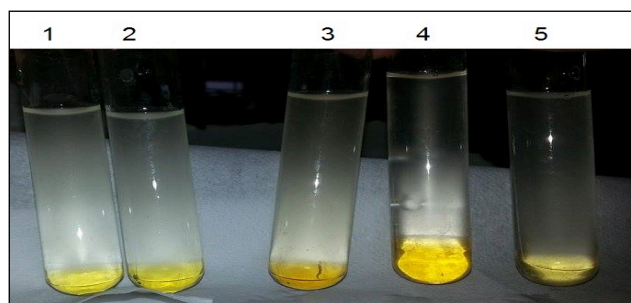
Figura 1. Curva analítica para determinação de guaiacol.



### 3.2. Planejamento fatorial fracionário 2<sup>6-3</sup>

Na Figura 2 é apresentada a imagem da formação do ponto de nuvem para os seis primeiros ensaios do planejamento fatorial fracionário.

Figura 2. Imagem da formação do ponto de nuvem nos seis primeiros ensaios do planejamento.



Foram realizadas as medidas de absorbância da fase inferior (ponto de nuvem). As absorbâncias dos oito ensaios do planejamento fatorial fracionário foram colocados na planilha de cálculos disponibilizada por Teófilo e colaboradores [5] que gerou os resultados apresentados na Tabela 3.

**Tabela 3. Resultados dos efeitos e erros do planejamento fatorial fracionário.**

Fatores	Efeitos/ erros
<b>C1 – Triton</b>	<b>0,163 ± 0,008</b>
<b>C2 - NaCl</b>	<b>0,031 ± 0,008</b>
C3 – Temperatura	-0,04 ± 0,008
C4 – Aminoantipirina	0,022 ± 0,008
C5 – Ferrocianeto	-0,03 ± 0,008
C6 - Guaiacol	0,006 ± 0,008

Pelos resultados da Tabela 3 pode-se perceber que os efeitos dos fatores de 1 a 5 são estatisticamente significativos (efeitos maiores que os erros). O fator 6 (guaiacol) não foi significativo e o fator 3 (temperatura) e 5 (ferrocianeto) apresentam efeitos negativos, ou seja, quando se aumenta o nível de ambos, a resposta (absorbância) diminui.

O fator 1 (Triton X-100) e o fator 2 (NaCl) foram aqueles que apresentaram os maiores efeitos significativos. Dessa maneira, estes dois fatores serão otimizados pelo planejamento composto central.

### 3.3. Planejamento fatorial 2<sup>2</sup> com ponto central

Na Tabela 4 são apresentados os valores das absorbâncias dos sete ensaios do planejamento fatorial 2<sup>2</sup> com ponto central.

**Tabela 4. Valores médios da absorbância referentes ao Planejamento fatorial 2<sup>2</sup> com ponto central**

Ensaio	Absorbância média da fase aquosa (480 nm)	Absorbância média da extração do ponto nuvem (480 nm)
Ensaio 1	0,009	0,099
Ensaio 2	0,007	0,275
Ensaio 3	0,012	0,185
<b>Ensaio 4</b>	<b>0,003</b>	<b>0,329</b>
Ensaio 5	0,006	0,311
Ensaio 6	0,009	0,307
Ensaio 7	0,018	0,302

Para o cálculo do modelo matemático, a partir dos resultados de absorbância do planejamento composto central, foi utilizada a planilha de cálculos disponibilizada

por Teófilo e colaboradores [6]. O modelo matemático desenvolvido foi  $Y=0,258 + 0,08.x_1 + 0,035.x_2$

É possível observar que o modelo matemático apresenta os coeficientes do Triton (x1) e do NaCl (x2) positivos, ou seja, com o aumento das concentrações de NaCl e Triton X-100 a extração por ponto de nuvem do guaiacol é mais eficiente.

### 3.4. Cálculo do fator de pré-concentração

Para o cálculo do fator de pré-concentração será usada a absorbância do ensaio 4 (Tabela 4) referente ao ensaio com a concentração de guaiacol de 0,05 mg/L.

Empregando a equação da curva analítica (Figura 1)  $y=0,6042-0,0012x$  e a absorbância de 0,329 a concentração de guaiacol é 0,54 mg/L, ou seja a pré-concentração maior de 10 vezes, conforme os cálculos do fator de concentração (Fc) apresentado na Equação 1 [7].

$$F_c = 0,54/0,05 = 10,8$$

Dessa maneira, é uma pré-concentração eficiente que proporciona, nestas condições, 10,8 vezes de pré-concentração no caso de soluções com baixas concentrações de guaiacol.

## 4. CONCLUSÕES

Foi possível realizar nesse trabalho a otimização da técnica de extração por ponto de nuvem do guaiacol através do planejamento de experimentos e análise por espectrofotometria na região do Visível. A extração por ponto de nuvem permite a pré-concentração de analitos sem uso de solventes orgânicos, por isso é considerada uma extração dentro dos princípios da Química Verde. Para a triagem das variáveis mais significativas foi realizado primeiramente o planejamento fatorial fracionário 2<sup>6-3</sup>, que possibilitou estudar 6 fatores, simultaneamente, com apenas 8 ensaios. Nesta triagem os fatores que impactaram positiva e significativamente nas respostas foram o Triton x-100 (surfactante) e NaCl. Em seguida, com o uso do planejamento fatorial 2<sup>2</sup> com ponto central foi possível realizar um ajuste nos níveis de NaCl e Triton X-100 para encontrar as condições ótimas a fim de encontrar a maior absorbância (maior extração). Definidos estes níveis ótimos, calculou-se o fator de concentração onde constatou-se que a pré-concentração do guaiacol foi de mais de 10 vezes, permitindo assim que amostras reais, mesmo em baixas concentrações, após a extração por ponto de nuvem, podem ser analisadas pela espectrofotometria na região do visível, que apresenta baixa sensibilidade. Por fim, o planejamento de experimentos é uma importante ferramenta para o estudo simultâneo de diferentes variáveis com um menor número de ensaios, menor demanda de tempo, menor consumo de reagentes e menor geração de resíduos.

## AGRADECIMENTOS

À PUC-Campinas pela infraestrutura e pela bolsa de iniciação científica FAPIC/ Reitoria da aluna M.S.S.

## REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

[1] FATIBELLO FILHO, O.; SOUZA, M.G. Determinação espectrofotométrica po injeção em fluxo de compostos fenólicos em águas residuárias empregando peroxidase de abobrinha (*Cucurbita pepo*), *Eclética Química*, 27, 2002, 45-52.

[2] BRITTO, J.M.; RANGEL, M.C. Processos avançados de oxidação de compostos fenólicos em efluentes industriais, *Química Nova*, 31(1), 2008, 114-122.

[3] FARRÉ, M.; PÉREZ, S.; GONÇALVES, C.; ALPENDURADA, M.F.; BARCELÓ, D. Green analytical chemistry in the determination of organic pollutants in the aquatic environment, *Trends in Analytical Chemistry*, 29 (11), 2010, 1347-1362.

[4] RODRIGUES, G.D.; SILVA, L.H.M.; SILVA, M.C.H. Alternativas verdes para o preparo de amostra e determinação de poluentes fenólicos em água. *Química Nova*, 33 (6), 2010.

[5] TEÓFILO, R. F. ; FERREIRA, M5M.C. Quimiometria II: Planilhas eletrônicas para cálculos de planejamentos experimentais, um tutorial. *Química Nova*, 29, 2006, 338- 350.

[6] ASTM D 1783-01 – Standard Test Mathos For Phenolic compounds in Water, ASTM, Estados Unidos, 2012.

[7] FERRERA, Z.S.; SANZ, C.P.; SANTANA, C.M.; RODRIGUEZ, J.J.S. The use of micellar systems in the extraction and pre-concentration of organic pollutants in environmental samples, *Trends in Analytical Chemistry*, 23 (7), 2004, 469-479.