

UNIVERSIDADE FEDERAL DE JUIZ DE FORA
INSTITUTO DE CIÊNCIAS EXATAS – DEPARTAMENTO DE QUÍMICA
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM QUÍMICA

Thalles Pedrosa Lisboa

Desenvolvimento de métodos espectrométricos e voltamétricos para avaliação crítica do teor de metais tóxicos presentes no cigarro e na fumaça inalada considerando-se aspectos de bioacessibilidade pulmonar

Juiz de Fora
2021

Thalles Pedrosa Lisboa

Desenvolvimento de métodos espectrométricos e voltamétricos para avaliação crítica do teor de metais tóxicos presentes no cigarro e na fumaça inalada considerando-se aspectos de bioacessibilidade pulmonar

Tese apresentada ao Programa de Pós-Graduação em Química da Universidade Federal de Juiz de Fora como requisito parcial para obtenção do grau de Doutor em Química

Orientador: Prof. Dr. Rafael Arromba de Sousa

Coorientador: Prof. Dr. Renato Camargo Matos

Juiz de Fora

2021

Ficha catalográfica elaborada através do programa de geração automática da Biblioteca Universitária da UFJF, com os dados fornecidos pelo(a) autor(a)

Lisboa, Thalles Pedrosa'.

Desenvolvimento de métodos espectrométricos e voltamétricos para avaliação crítica do teor de metais tóxicos presentes no cigarro e na fumaça inalada considerando-se aspectos de bioacessibilidade pulmonar / Thalles Pedrosa' Lisboa. -- 2021.

165 f. : il.

Orientador: Rafael Arromba de Sousa

Coorientador: Renato Camargo Matos

Tese (doutorado) - Universidade Federal de Juiz de Fora, Instituto de Ciências Exatas. Programa de Pós-Graduação em Química, 2021.

1. Espectrometria de absorção atômica. 2. Voltametria de onda quadrada. 3. Cigarros ilegais. 4. Metais tóxicos. 5. Bioacessibilidade pulmonar. I. Sousa, Rafael Arromba de , orient. II. Matos, Renato Camargo, coorient. III. Título.

Thalles Pedrosa Lisboa

Desenvolvimento de métodos espectrométricos e voltamétricos para avaliação crítica do teor de metais tóxicos presentes no cigarro e na fumaça inalada considerando-se aspectos de bioacessibilidade pulmonar

Tese apresentada ao Programa de Pós-Graduação em Química da Universidade Federal de Juiz de Fora como requisito parcial à obtenção do título de Doutor em Química.

Aprovada em 20 de abril de 2021.

BANCA EXAMINADORA

Rafael Sousa

Prof. Dr. Rafael Arromba de Sousa - Orientador
Universidade Federal de Juiz de Fora

Rafael Sousa

Prof. Dr. Renato Camargo Matos - Coorientador
Universidade Federal de Juiz de Fora

Rafael Sousa

Prof. Dr. Rodrigo Alejandro Abarza Munoz
Universidade Federal de Uberlândia

Rafael Sousa

Profa. Dra. Pollyana Souza Castro
Universidade Federal do Rio Grande do Norte

Rafael Sousa

Prof. Dr. Júlio César José da Silva
Universidade Federal de Juiz de Fora

Rafael Sousa

Prof. Dr. Anderson Schwingel Ribeiro
Universidade Federal de Pelotas

Dedico esta tese aos meus pais Rônia e Mauri, a minha irmã Maria Eduarda, a minha esposa Beatriz e ao meu filho Miguel.

AGRADECIMENTOS

Toda caminhada começa com um simples primeiro passo. Um impulso. Agradeço a Deus, por me proporcionar oportunidades como essa e colocar pessoas importantes em minha vida que permitiram que essa caminhada, na Química, tenha acontecido.

Agradeço à minha mãe Rônia e meu pai Mauri por me incentivarem a crescer e sonhar cada vez mais alto. Agradeço a minha irmã Maria Eduarda, que ainda não tem idade suficiente para entender, mas que foi uma das minhas principais motivações em continuar me dedicando à Pesquisa.

Agradeço à minha esposa Beatriz, pelos anos de dedicação e afeto, por sua compreensão e apoio nessa jornada. Agradeço também por gerar, zelar e amar aquilo que é meu bem mais precioso, nosso filho Miguel.

Agradeço à minha sogra Vera Lúcia pela imensa ajuda nesses dias em que me alterno nas trocas de fraldas e redação da tese.

Agradeço ao Professor Rafael pela orientação, conselhos e amizade nessa vida de pós-graduação.

Agradeço ao Professor Renato pela coragem em assumir uma coorientação em fase final de projeto, por sua amizade e seus ensinamentos.

Agradeço à Professora Maria Auxiliadora pelo carinho, cuidado e conhecimento compartilhado sem restrições.

Agradeço ao professor Rodrigo Stephani e ao NEEM (Núcleo de Espectroscopia e Estrutura Molecular) pelo auxílio na execução das análises por MEV.

Agradeço aos professores Júlio, Lilian, Marcone, Rodrigo e Denise, pelo convívio em laboratório e pelo compartilhamento do conhecimento durante a realização das disciplinas do programa de pós-graduação e tutorias.

Agradeço aos amigos do Grupo Baccan, os quais tive oportunidade de compartilhar conhecimento durante os últimos anos. Aparecida, Náira, Antonio, Ângela, Jemima, Paola, Felipe, Joseane, Marciel, Luiza, Rafael Oliveira, Agatha, Fernanda, Isadora, Jefferson e aos tantos outros alunos de projetos e disciplinas que dividiram o espaço em comum.

Agradeço aos amigos do Nupis que dividiram ao menos uma xícara de café em nossa vida acadêmica. Mellina, Marcos, Rafael Dornellas, Rafaella, Yara, Fernanda, Raiane, Roberto, Gustavo, Fausto, Mateus, Bruno, Taimara, Ana Luiza, Ana Cuvaca, Lívia, Monisa, Stephany, Davi, Guilherme, Cristiano e Lucas.

Agradeço aos amigos de pós-graduação que escolheram áreas diferentes, mas que não julgo: Karine, Camille, Fillipe, Jéssica, Olívia, Mariana, Paulo Victor e Thaeny.

Agradeço às técnicas de laboratório, secretárias e funcionários do Departamento de Química, que sempre trabalharam em prol de um ambiente adequado à realização de nossas pesquisas.

Agradeço em especial à amiga Aparecida. Sempre disposta a ajudar, aconselhar e incentivar.

Agradeço em especial ao amigo Lucas. Em algumas horas cúmplice, em outras companheiro dos trabalhos de bancada. Sempre bem humorado, cheio de expectativa e grande incentivador, fez com que os últimos anos de muita pressão se suavizassem e os dias de trabalho fossem mais prazerosos.

À CAPES, FAPEMIG, CNPq e à Rede Mineira de Química pelo suporte financeiro.

À todos aqueles que de alguma forma passaram pela minha vida e contribuíram para minha formação profissional e pessoal, o meu: Muito Obrigado!

Alea jacta est
Veni, Vidi, Vici
(Julius Caesar, 49 a.C.)

Maktüb

RESUMO

O tabagismo, um problema de saúde pública, é uma importante fonte de exposição a metais tóxicos e afeta uma parte significativa da população mundial. A procura por dados analíticos sobre elementos tóxicos nos cigarros ainda é uma questão de interesse analítico atual, uma vez que nem todas as substâncias presentes no tabaco foram bem identificadas e também pelo seu consumo relativamente alto. Nesse contexto, o objetivo deste estudo foi desenvolver estratégias para caracterização do perfil de elementos-traço nas diferentes partes constituintes (filtro pré e pós-queima, tabaco, cinzas e fumaça) de cigarros comercializados ilegalmente no Brasil utilizando a espectrometria de absorção atômica com forno de grafite (GF AAS) e a voltametria de onda quadrada (SWV). As amostras, consideradas ilegais de acordo com o Registro de Produto Fumígeno da Agência Nacional de Vigilância Sanitária (Anvisa), foram adquiridas no comércio local de Juiz de Fora-MG e de Conselheiro Lafaiete-MG, totalizando 12 diferentes rótulos de cigarros ilegais. Os parâmetros instrumentais para a determinação de Pb e Cr por GF AAS e Cd, Pb e Cu por SWV foram investigados. Diferentes métodos de preparo de amostras foram desenvolvidos, utilizando a digestão assistida por radiação micro-ondas. Os métodos apresentaram resultados adequados referentes à precisão (RSD <7% para o GF AAS e <11% para SWV) e à exatidão (recuperação média de 97,6% para GF AAS e 89,3% para SWV). A exatidão também foi avaliada usando uma amostra de referência de folhas de tomate (NIST SRM 1573a), que comprovou a eficiência do método (recuperações de 103% para GF AAS e 95% para SWV). Os limites de detecção de Cd, Pb e Cu por SWV foram inferiores a 1,72, 1,33 e 2,07 $\mu\text{g g}^{-1}$ para ambas amostras, respectivamente, enquanto que para o Cr por GF AAS ficaram abaixo de 80,7 ng g^{-1} . Em relação aos resultados analíticos, os valores médios de cromo encontrados para as amostras analisadas variaram de 0,96 a 3,85 e de 0,32 a 0,80 $\mu\text{g/cigarro}$ para tabaco e cinzas, respectivamente. Para a maioria das amostras de filtro pré-queima e pós-queima, os valores da concentração de cromo permaneceram abaixo dos limites de detecção. O conteúdo de cádmio permaneceu abaixo dos limites de detecção, enquanto os valores médios encontrados para chumbo variaram na faixa de 0,10 a 0,38 $\mu\text{g/cigarro}$ (filtro pós-queima), de 0,89 a 4,85 $\mu\text{g/cigarro}$ (cinzas) e de 1,76 a 9,92 $\mu\text{g/cigarro}$ (tabaco). Os valores médios encontrados de cobre estavam na faixa de 0,20 a 0,83 $\mu\text{g/cigarro}$ (filtro pós-queima), de 1,30 a 7,45 $\mu\text{g/cigarro}$ (cinzas) e de 7,24 a 43,1 $\mu\text{g/cigarro}$ (tabaco). As amostras da fumaça coletada tiveram seus níveis de Pb e Cu quantificados por SWV com

concentrações médias variando de 0,12 a 0,43 e de 0,05 a 1,47 $\mu\text{g}/\text{cigarro}$ de chumbo e cobre, respectivamente. A fração bioacessível desses metais na fumaça também foi estudada. Utilizou-se a solução de Gamble como líquido pulmonar simulado sendo possível quantificar apenas o cobre. A concentração média de cobre solúvel no líquido pulmonar simulado variou de 0,09 a 0,67 $\mu\text{g}/\text{cigarro}$. De modo geral, os dados indicam que o tabaco é a principal fonte de metais tóxicos em cigarros contrabandeados. Os resultados obtidos podem ser considerados elevados e preocupantes, tendo em vista o consumo exacerbado que pode desencadear em graves problemas de saúde aos consumidores e altas taxa de geração de resíduos (fumaça, filtros e cinzas) ocasionando também contaminações ambientais.

Palavras-chave: Cigarro. Espectrometria de Absorção Atômica com Forno de Grafite. Voltametria de Onda Quadrada. Cromo. Cádmio. Chumbo. Cobre. Bioacessibilidade. Solução de Gamble.

ABSTRACT

Smoking is a public health problem and an important source of exposure to toxic metals that affects a significant part of the world population. The search for analytical data on toxic elements in cigarettes is still a matter of current analytical interest, since not all substances present in tobacco have been well identified and also due to their relatively high consumption. In this context, the objective of this study was to develop strategies for characterizing the profile of trace elements in the different constituent parts (pre and post-burn filter, tobacco, ash and smoke) of cigarettes illegally sold in Brazil using the graphite furnace atomic absorption spectrometry (GF AAS) and square wave voltammetry (SWV). The samples, considered illegal according to the Fumigant Product Registry of the National Health Surveillance Agency, were purchased from the local shops of Juiz de Fora-MG and Conselheiro Lafaiete-MG, totaling 12 different brands of illegal cigarettes. The instrumental parameters for the determination of Pb and Cr by GF AAS and Cd, Pb and Cu by SWV were investigated. Different sample preparation methods were developed, using microwave assisted digestion. The methods showed adequate results regarding precision (RSD <7% for GF AAS and <11% for SWV) and accuracy (average recoveries of 97.6% for GF AAS and 89.3% for SWV). Accuracy was also evaluated using a reference sample of tomato leaves (NIST SRM 1573a), which proved the efficiency of the method (recoveries of 103% for GF AAS and 95% for SWV). The detection limits were less than 1.72, 1.33 e 2.07 $\mu\text{g g}^{-1}$ for Cd, Pb and Cu, respectively, while for Cr they were below 80.7 ng g^{-1} . Regarding the analytical results, the average values of chromium found for the analyzed samples ranged from 0.96 to 3.85 and from 0.32 to 0.80 $\mu\text{g/cigarette}$ for tobacco and ash, respectively. For most pre-burn and post-burn filter samples, the chromium concentration values remained below the detection limits. The cadmium content remained below the detection limits, while the average values found for lead ranged from 0.10 to 0.38 $\mu\text{g/cigarette}$ (post-burn filter), from 0.89 to 4.85 $\mu\text{g/cigarette}$ (ash) and from 1.76 to 9.92 $\mu\text{g/cigarette}$ (tobacco). The average values found for copper were in the range of 0.20 to 0.83 $\mu\text{g/cigarette}$ (post-burn filter), from 1.30 to 7.45 $\mu\text{g/cigarette}$ (ash) and from 7.24 to 43.1 $\mu\text{g/cigarette}$ (tobacco). The smoke samples collected had their Pb and Cu levels quantified by SWV with average concentrations ranging from 0.12 to 0.43 and from 0.05 to 1.47 $\mu\text{g/cigarette}$ for lead and copper, respectively. The

bioaccessible fraction of these metals in smoke was also studied. Gamble's solution was used as a simulated pulmonary fluid, being possible to quantify only copper. The average concentration of copper soluble in the simulated lung fluid ranged from 0.09 to 0.67 $\mu\text{g}/\text{cigarette}$. In general, the data indicate that tobacco is the main source of toxic metals in smuggled cigarettes. The results obtained can be considered high and worrying, in view of the exacerbated consumption that triggers serious health problems for consumers and high rate of waste generation (smoke, filters and ashes) causing also environmental contamination.

Keywords: Cigarette. Graphite Furnace Atomic Absorption Spectrometry. Square Wave Voltammetry. Chromium. Cadmium. Lead. Copper. Bioaccessibility. Gamble solution.

LISTA DE FIGURAS

- Figura 1 – Ilustração da planta *Nicotiana tabacum*, popularmente conhecida como tabaco ou fumo 34
- Figura 2 – (A) Processo de secagem e cura de folhas de tabaco. (B) Diferença de intensidade de cor em folhas de tabaco resultantes de diferentes processos de secagem e cura 36
- Figura 3 – Imagens e frases de alerta estampados em maços de cigarros comercializados no Brasil 39
- Figura 4 – Esquema do processo de queima do cigarro e geração das fumaças ativa e passiva 42
- Figura 5 – Esquema dos caminhos ópticos em um espectrômetro de absorção atômica de duplo feixe 49
- Figura 6 – Representação esquemática da forma de aplicação de potencial na voltametria de onda quadrada 52
- Figura 7 – (A) Amostra de tabaco antes do pré-tratamento; e, (B) amostra de tabaco após o pré-tratamento 57
- Figura 8 – Microfotografia obtida por microscopia eletrônica de varredura para uma amostra de tabaco. Parâmetros: tensão de aceleração: 15 kV; ampliação: 300x; distância de trabalho: 6 mm; corrente de emissão: 34,2 μ A; corrente do filamento: 1750 mA 61
- Figura 9 – Superfícies de resposta obtida para o planejamento Box Behnken 3^3 para otimização de preparo de suspensões de tabaco com: (A) variável X_3 (tempo em banho ultrassônico) fixada no nível médio (15 min de agitação); (B) variável X_2

(concentração de Triton X-100) fixada no nível inferior (sem adição de surfactante)	66
Figura 10 – Aspecto visual da suspensão de tabaco de uma das amostras após o procedimento de preparo	66
Figura 11 – Superfície de resposta para planejamento fatorial 3^2 para otimização das massas de modificador químico para determinação de Pb por GF AAS	71
Figura 12 – Amostras pré-queima (A) tabaco e (B) filtro de acetato de celulose, e amostras pós-queima (C) cinzas e (D) filtro de acetato de celulose	79
Figura 13 – Arranjo instrumental construído para obtenção das frações pós-queima: (a) seringa de 60 mL; (b) duto condutor; e, (c) placa de Petri	80
Figura 14 – Varredura analítica realizada por espectroscopia de energia dispersiva em uma das amostras de tabaco. Condições: aumento óptico de 1500x, fonte de energia primária de 15 keV, detector XFlash 430 com espessura de 0,45 mm e 2048 canais	87
Figura 15 – Picos de absorvância obtidos para o cromo após o programa de aquecimento disposto na Tabela 15. Amostras digeridas em micro-ondas de (A) tabaco, (B) filtro e (C) cinzas de cigarro	91
Figura 16 – (A) Voltamogramas referentes a uma das replicatas das curvas analíticas para Cd, Pb e Cu. Curvas de calibração externa para: (B) Cd; (C) Pb; e, (D) Cu. Condições instrumentais: amplitude 30 mV; incremento de potencial 3 mV; frequência 50 Hz; demais parâmetros conforme descrição na Tabela 20. Faixa de concentração: 14,2 a 69,4 $\mu\text{g/L}$ para Cd e de 9,8 a 46,3 $\mu\text{g/L}$ para Cu e Pb	116

- Figura 17 – (A) Voltamogramas referentes a uma das réplicas da determinação de Cd, Pb e Cu na amostra de tabaco. (B) Curva de adição de padrão para Pb. (C) Curva de adição de padrão para Cu. (D) Curva de adição de padrão para Cd. Faixa de concentração dos padrões de Pb e Cu de 27,8 a 76,9 $\mu\text{g L}^{-1}$ e Cd de 39,0 a 108,4 $\mu\text{g L}^{-1}$. Condições analíticas vide Tabela 23, página 112 120
- Figura 18 – (A) Voltamogramas referentes a uma das réplicas da determinação de Cd, Pb e Cu na amostra de filtro. (B) Curva de adição de padrão para Pb. (C) Curva de adição de padrão para Cu. (D) Curva de adição de padrão para Cd. Faixa de concentração dos padrões de Pb e Cu 26,9 a 72,3 $\mu\text{g L}^{-1}$ e Cd de 39,0 a 108,4 $\mu\text{g L}^{-1}$. Condições analíticas vide Tabela 23, página 112 121
- Figura 19 – (A) Voltamogramas referentes a uma das réplicas da determinação de Cd, Pb e Cu na amostra de cinzas de cigarro. (B) Curva de adição de padrão para Pb. (C) Curva de adição de padrão para Cu. (D) Curva de adição de padrão para Cd. Faixa de concentração dos padrões de Pb de 27,1 a 96,8 $\mu\text{g L}^{-1}$, Cu de 13,6 a 48,4 $\mu\text{g L}^{-1}$ e Cd de 39,0 a 108,4 $\mu\text{g L}^{-1}$. Condições analíticas vide Tabela 23, página 112 122
- Figura 20 – Arranjo instrumental utilizado para coleta das frações gasosas dos cigarros ilegais. (A) Cigarro sofrendo processo de queima simulada conforme Tabela 12; (B) duto conector de silicone atóxico; (C) frasco Drechsel de 125 mL; e, (D) seringa de 60 mL 131
- Figura 21 – Voltamogramas referentes a uma das réplicas das determinações de Cd, Pb e Cu em uma das amostras de fumaça extraída em HNO_3 10% v/v. Curvas de adição de padrão de Pb, Cd e Cu inseridas. Faixa de concentração dos padrões de Pb e Cu: 17,5 a 50,0 $\mu\text{g L}^{-1}$; Cd: 26,3 a 75,0 $\mu\text{g L}^{-1}$. Condições analíticas vide Tabela 23, página 112 134

Figura 22 – Voltamograma referente a uma das réplicas da análise de Cd, Pb e Cu na fração bioacessível de fumaça extraída em solução de Gamble. Curvas de adição de padrão de Pb, Cd e Cu inseridas. Faixa de concentração dos padrões de Cu: 17,5 a 50,0 $\mu\text{g L}^{-1}$; Pb: 8,8 a 25,0 $\mu\text{g L}^{-1}$; e, Cd: 6,9 a 17,4 $\mu\text{g L}^{-1}$. Condições analíticas vide Tabela 23, página 112 138

LISTA DE GRÁFICOS

- Gráfico 1 – Produção mundial de fumo em folha no período de 2007-2017 35
- Gráfico 2 – Curvas de pirólise em função de diferentes modificadores químicos para determinação de chumbo em suspensões de tabaco, em meio ácido, por GF AAS utilizando o programa de aquecimento disposto na Tabela 7 68
- Gráfico 3 – Curvas de pirólise e atomização para determinação de chumbo por GF AAS em amostras de suspensão de tabaco. Temperatura de pirólise variando de 900 a 1400 °C e temperatura de atomização variando de 1250 a 1650 °C. Modificador químico: 4,5 µg de Pd(NO₃)₂ e 4,5 µg de Mg(NO₃) 72
- Gráfico 4 – Curvas de pirólise e atomização para determinação de chumbo por GF AAS em amostras de tabaco digeridas em meio ácido com aquecimento por radiação micro-ondas. Temperatura de pirólise variando de 700 a 1100 °C e temperatura de atomização variando de 900 a 1400 °C. Modificador químico: 3,0 µg de Mg(NO₃) 73
- Gráfico 5 – Curvas de pirólise avaliando a eficiência de diferentes modificadores químicos para estabilização térmica de soluções digeridas de: (A) tabaco; (B) filtro; e, (C) cinzas 85
- Gráfico 6 – Curvas de pirólise e atomização para: (A) amostra de tabaco (digerida em micro-ondas) e solução padrão de Cr 10,0 µg L⁻¹; (B) amostra de filtro (digerida em micro-ondas) e solução padrão de Cr 2,5 µg L⁻¹; (C) amostra de cinzas de cigarro (digerida em micro-ondas) e solução padrão de Cr 6,0 µg L⁻¹. Modificadores químicos: (A) 3 µg de Pd(NO₃)₂ e 3 µg de Mg(NO₃)₂; (B) sem modificador químico; e, (C) 3 µg de Pd(NO₃)₂ 89

- Gráfico 7 – Curvas de adição de padrão (a) e calibração externa de cromo (b) para amostras de: (A) tabaco; (B) filtro; e, (C) cinzas de cigarro. Curva externa variando na faixa de 2 a 10 $\mu\text{g L}^{-1}$ para amostras de tabaco e cinzas e de 2,5 a 12,5 $\mu\text{g L}^{-1}$ para amostras de filtro 93
- Gráfico 8 – (A) Voltamogramas referentes ao estudo da otimização da amplitude de pulso para determinação de Cd, Cu e Pb. (B) Correlação entre a corrente e a amplitude de pulso para determinação de Cd, Cu e Pb em amostras de tabaco. Condições: velocidade de varredura de 150 mV s^{-1} e concentrações de Cu^{2+} de 45 $\mu\text{g L}^{-1}$, Pb^{2+} e Cd^{2+} de 65 $\mu\text{g L}^{-1}$ 111
- Gráfico 9 – (A) Voltamogramas referentes ao estudo da otimização da frequência da onda para determinação de Cd, Cu e Pb. (B) Correlação entre a corrente e a frequência de onda para determinação de Cd, Cu e Pb em amostras de tabaco. Condições: velocidade de varredura de 150 mV s^{-1} e concentrações de Cu de 45 $\mu\text{g L}^{-1}$, Pb e Cd de 65 $\mu\text{g L}^{-1}$ e amplitude fixada em 30 mV 112
- Gráfico 10 – (A) Voltamogramas referentes ao estudo da otimização do incremento de potencial para determinação de Cd, Cu e Pb. (B) Correlação entre a corrente e o incremento de potencial para determinação de Cu e Pb em amostras de tabaco. (C) Correlação entre a corrente e o incremento de potencial para determinação de Cd em amostras de tabaco. Condições: concentrações de Cu de 45 $\mu\text{g L}^{-1}$, Pb e Cd de 65 $\mu\text{g L}^{-1}$, amplitude fixada em 30 mV e frequência em 50 Hz 114

LISTA DE TABELAS

- Tabela 1 – Número de compostos em diferentes classes presentes na fumaça de tabaco 43
- Tabela 2 – Composição iônica da solução de Gamble 47
- Tabela 3 – Matriz do planejamento fatorial Box Behnken, 3^3 , contendo os ensaios realizados e sua ordem de execução para otimização das condições de preparo da suspensão de tabaco. Parâmetros: X1 – concentração de HNO₃: nível -1 (0% v/v), nível 0 (7,5% v/v) e nível +1 (15% v/v); X2 – concentração de Triton X-100 nível -1 (0% v/v), nível 0 (0,5% v/v) e nível +1 (1% v/v); X3 – tempo de sonicação em banho ultrassônico: nível -1 (0 min), nível 0 (15 min) e nível +1 (30 min) 58
- Tabela 4 – Matriz X e matriz Y dos experimentos realizados no planejamento Box Behnken para suspensões de tabaco com suas respectivas respostas de absorvância média (n = 3) 63
- Tabela 5 – Coeficientes e intervalo de confiança dos estimadores do modelo a 95% de significância ($t_{(2;0,025)} = 4,303$) 64
- Tabela 6 – Valores estatísticos para análise de variância do modelo de preparo de suspensão para determinação de chumbo em tabaco por GF AAS. Falta de ajuste: $F_{crítico} = 19,16$; significância: $F_{crítico} = 0,287$ 65
- Tabela 7 – Programa de aquecimento fornecido pelo *software* SOLAAR para determinação de Pb por GF AAS 67
- Tabela 8 – Planejamento fatorial 3^2 com triplicata no ponto central para otimização da massa de modificadores químicos empregados para determinação de chumbo por GF AAS em amostras de suspensão de tabaco. Parâmetros: X₁ – massa de Mg(NO₃)₂

variando de 1 µg (nível -1) a 9 µg (nível +1); X ₂ – massa de Pd(NO ₃) ₂ variando de 1 µg (nível -1) a 9 µg (nível +1)	69
Tabela 9 – Coeficientes e intervalo de confiança dos coeficientes do modelo a 95% de significância ($t_{(2;0,025)} = 4,303$)	70
Tabela 10 – Valores estatísticos para análise de variância do modelo de avaliação das massas de modificadores químicos para determinação de chumbo por GF AAS em suspensões de tabaco. Falta de ajuste: $F_{crítico} = 19,16$; significância: $F_{crítico} = 0,198$	70
Tabela 11 – Programa de aquecimento otimizado para determinação de Pb em amostras de suspensão e amostras digeridas de tabaco por GF AAS	74
Tabela 12 – Parâmetros de queima simulada de cigarros utilizados para obtenção das frações pós-queima (filtro, cinzas)	80
Tabela 13 – Programa de aquecimento do forno micro-ondas empregado para digestão ácida de amostras de tabaco e cinzas	81
Tabela 14 – Programa de aquecimento do forno micro-ondas utilizado para digestão ácida de amostras de filtro	81
Tabela 15 – Programa de aquecimento fornecido para determinação de Cr em amostras de tabaco, filtro e cinzas por GF AAS	90
Tabela 16 – Equações de reta para curvas de calibração externa e curva de adição de padrão para Cr	94
Tabela 17 – Resultados estatísticos para análise de regressão linear	95

Tabela 18 – Resultados de recuperação média de cromo em amostras de tabaco, filtro, cinzas de cigarro e em SRM de folhas de tomate	96
Tabela 19 – Limites de detecção e quantificação para determinação de cromo em amostras de tabaco, filtro e cinzas de cigarro	98
Tabela 20 – Níveis de cromo em $\mu\text{g g}^{-1}$ para amostras de tabaco, filtro pré-queima, filtro pós-queima e cinzas de cigarro analisadas por GF AAS	99
Tabela 21 – Níveis de cromo em μg por unidade de cigarro em amostras de tabaco, filtro pós-queima e cinzas de cigarro	101
Tabela 22 – Comparação do método desenvolvido por GF AAS com os métodos ICP-MS e ICP OES disponíveis na literatura	103
Tabela 23 – Parâmetros instrumentais otimizados para determinação de Cd, Pb e Cu por voltametria de onda quadrada com redissolução anódica em amostras de tabaco, filtro e cinzas de cigarro	115
Tabela 24 – Limites instrumentais de detecção e quantificação para Cd, Pb e Cu por voltametria de onda quadrada com redissolução anódica	117
Tabela 25 – Resultados estatísticos para análise de regressão linear das curvas de calibração externa para determinação de Cd, Pb e Cu por voltametria de onda quadrada com redissolução anódica	117
Tabela 26 – Percentuais de recuperação obtidos para determinação de Cd, Pb e Cu por voltametria de onda quadrada nas amostras de tabaco, filtros, cinzas de cigarro e material de referência de folhas de tomate	118

Tabela 27 – Limites de detecção e quantificação do método para Cd, Pb e Cu em amostras de tabaco, filtros e cinzas de cigarro	119
Tabela 28 – Resultados para determinação de chumbo e cobre em amostras de tabaco, filtro pré-queima, filtro pós-queima e cinzas de cigarro	123
Tabela 29 – Concentração de chumbo e cobre por unidade de cigarro em amostras de tabaco, filtro pós-queima e cinzas de cigarro	125
Tabela 30 – Concentração de chumbo e cobre em amostras de fumaça de cigarro extraídas em solução de HNO ₃ 10% v/v	135
Tabela 31 – Concentração de cobre em amostras da fração bioacessível dos metais na fumaça de cigarro extraídas em solução de Gamble	139
Tabela 32 – Fração bioacessível de cobre em amostras de fumaça ativa de cigarros ilegais extraída em solução de Gamble, líquido pulmonar simulado, considerando os valores estimados de concentração na fumaça pelo balanço de massas	140

LISTA DE EQUAÇÕES

Equação 1 – Cálculo dos estimadores do modelo por mínimos quadrados	63
Equação 2 – Cálculo das incertezas dos estimadores dos parâmetros	63
Equação 3 – Intervalos de confiança para os valores dos efeitos, usando a distribuição de Student	63
Equação 4 – Cálculo da massa característica para determinação de elementos-traço por GF AAS	97
Equação 5 – Limite de Detecção a partir do desvio padrão do branco amostral	98
Equação 6 – Limite de Quantificação a partir do desvio padrão do branco amostral	98
Equação 7 – Equação de Parry e Osteryoung	110
Equação 8 – Equação de Randles-Sevcik	113

LISTA DE ABREVIATURAS E SIGLAS

AAS	Espectrometria de absorção atômica, do inglês <i>Atomic Absorption Spectrometry</i>
a.C.	Antes de Cristo
ALF	Fluido lisossômico artificial, do inglês <i>artificial lysosomal fluid</i>
ANOVA	Análise de variância
Anvisa	Agência Nacional de Vigilância Sanitária
AR	Água régia
DPASV	Voltametria de pulso diferencial com <i>stripping</i> anódico, do inglês <i>Differential Pulse Anodic Stripping Voltammetry</i>
DPP	Polarografia de pulso diferencial, do inglês <i>Differential Pulse Polarography</i>
EDS	Espectroscopia de energia dispersiva, do inglês <i>Energy Dispersive X-Ray Spectroscopy</i>
ETS	Fumaça ambiental do tabaco, do inglês <i>Environmental Tobacco Smoke</i>
F AAS	Espectrometria de absorção atômica com chama, do inglês <i>Flame Atomic Absorption Spectrometry</i>
FAOSTAT	Organização das Nações Unidas para Alimentação e Agricultura, do inglês <i>Food and Agriculture Organization of the United Nations</i>
GCE	Eletrodo de carbono vítreo, do inglês <i>Glassy Carbon Electrode</i>
GF AAS	Espectrometria de absorção atômica com forno de grafite, do inglês <i>Graphite Furnace Atomic Absorption Spectrometry</i>
HPAs	Hidrocarbonetos aromáticos policíclicos
HPLC	Cromatografia líquida de alta eficiência, do inglês <i>High Performance Liquid Chromatography</i>
ICP-MS	Espectrometria de massas com plasma indutivamente acoplado, do inglês <i>Inductively Coupled Plasma Mass Spectrometry</i>
ICP OES	Espectrometria de emissão óptica com plasma indutivamente acoplado, do inglês <i>Inductively Coupled Plasma Optical Emission Spectrometry</i>
ISO	Organização Internacional da Padronização, do inglês <i>International Organization for Standardization</i>

LD	Limite de detecção
LQ	Limite de quantificação
LPS	Líquido pulmonar simulado
OMS	Organização Mundial da Saúde
SEM	Microscopia eletrônica de varredura, do inglês <i>Scanning Electron Microscopy</i>
SRM	Material de referência padronizado, do inglês <i>Standard reference material</i>
SWV	Voltametria de onda quadrada, do inglês <i>Squate Wave Voltammetry</i>
PM	Material particulado, do inglês <i>Particulate Material</i>
PTFE	Politetrafluoretileno
RSD	Desvio padrão relativo, do inglês <i>Relative standard deviation</i>

LISTA DE SÍMBOLOS

ΔE_p	Amplitude de pulso
ΔE_s	Incremento de potencial
τ	Período
a	Largura da onda
I_p	Corrente de pico
A	Área do eletrodo
C	Concentração da espécie eletroativa
F	Constante de Faraday
D	Coefficiente de difusão
n	Número de elétrons
t	Tempo
R	Constante dos gases
T	Temperatura absoluta
f	Frequência
v	Velocidade de varredura
m_0	Massa característica

SUMÁRIO

CAPÍTULO 1 – FUNDAMENTAÇÃO TEÓRICA.....	31
1. INTRODUÇÃO	32
1.1. ASPECTOS HISTÓRICOS DO TABACO	32
1.2. <i>NICOTIANA TABACUM</i>	33
1.3. CONSUMO DE TABACO E PROBLEMAS DE SAÚDE	37
1.4. PROPRIEDADES DO PROCESSO DE QUEIMA DOS CIGARROS	40
1.5. PREPARO DE AMOSTRAS.....	44
1.6. ASPECTOS SOBRE A BIOACESSIBILIDADE PULMONAR	46
1.7. ESPECTROMETRIA DE ABSORÇÃO ATÔMICA COM FORNO DE GRAFITE.....	48
1.8. VOLTAMETRIA DE ONDA QUADRADA	50
2. OBJETIVOS	53
2.1. OBJETIVO GERAL	53
2.2. OBJETIVOS ESPECÍFICOS.....	53
CAPÍTULO 2 – OTIMIZAÇÃO DAS CONDIÇÕES EXPERIMENTAIS DE PREPARO DE SUSPENSÕES DE TABACO E INSTRUMENTAIS PARA DETERMINAÇÃO DE CHUMBO UTILIZANDO A ESPECTROMETRIA DE ABSORÇÃO ATÔMICA COM FORNO DE GRAFITE.....	54
3. PARTE EXPERIMENTAL.....	55
3.1. REAGENTES E SOLUÇÕES	55
3.2. INSTRUMENTAÇÃO E MATERIAIS.....	55
3.3. AMOSTRAS E PREPARO DAS AMOSTRAS.....	56
3.3.1. Obtenção das Amostras de Cigarro	56
3.3.2. Pré-tratamento das Amostras	56
3.3.3. Microscopia Eletrônica de Varredura	57
3.3.4. Preparo das Suspensões	57
3.4. ESPECTROMETRIA DE ABSORÇÃO ATÔMICA COM FORNO DE GRAFITE.....	59
4. RESULTADOS E DISCUSSÕES	60
4.1. PREPARO DE AMOSTRAS – SUSPENSÕES DE TABACO	60

4.2. OTIMIZAÇÃO INSTRUMENTAL PARA DETERMINAÇÃO DE CHUMBO NAS AMOSTRAS DE SUSPENSÃO DE TABACO	67
5. CONCLUSÕES PARCIAIS E PERSPECTIVAS	75
6. PRODUÇÃO TÉCNICA.....	76
CAPÍTULO 3 – OTIMIZAÇÃO DAS CONDIÇÕES EXPERIMENTAIS DE PREPARO DE AMOSTRAS POR DIGESTÃO ASSISTIDA POR RADIAÇÃO MICRO-ONDAS E INSTRUMENTAIS PARA DETERMINAÇÃO DE CROMO UTILIZANDO A ESPECTROMETRIA DE ABSORÇÃO ATÔMICA COM FORNO DE GRAFITE	
7. PARTE EXPERIMENTAL.....	78
7.1. REAGENTES E SOLUÇÕES	78
7.2. INSTRUMENTAÇÃO E MATERIAIS.....	78
7.3. ESPECTROSCOPIA DE ENERGIA DISPERSIVA.....	78
7.4. PREPARO DE AMOSTRAS.....	78
7.4.1. Pré-tratamento das Amostras	78
7.4.2. Digestão Ácida Assistida por Radiação Micro-ondas	80
7.5. ESPECTROMETRIA DE ABSORÇÃO ATÔMICA COM FORNO DE GRAFITE	82
8. RESULTADOS E DISCUSSÕES	83
8.1. OTIMIZAÇÃO INSTRUMENTAL PARA DETERMINAÇÃO DE CROMO EM AMOSTRAS DE TABACO, FILTRO E CINZAS	83
8.2. FIGURAS DE MÉRITO PARA DETERMINAÇÃO DE CROMO	91
8.2.1. Seletividade	91
8.2.2. Linearidade	94
8.2.3. Exatidão, Precisão e Frequência Analítica.....	96
8.2.4. Sensibilidade Analítica e Limites de Detecção e Quantificação	97
8.3. APLICAÇÃO DOS MÉTODOS ÀS AMOSTRAS COMERCIAIS DE “CIGARROS ILEGAIS”	99
9. CONCLUSÕES PARCIAIS	104
10. TRABALHOS PUBLICADOS.....	106
CAPÍTULO 4 – OTIMIZAÇÃO DAS CONDIÇÕES INSTRUMENTAIS PARA DETERMINAÇÃO DE CÁDMIO, COBRE E CHUMBO UTILIZANDO A VOLTAMETRIA DE ONDA QUADRADA POR REDISSOLUÇÃO ANÓDICA ...	
	107

11. PARTE EXPERIMENTAL	108
11.1. REAGENTES E SOLUÇÕES	108
11.2. INSTRUMENTAÇÃO E MATERIAIS.....	108
11.3. PREPARO DE AMOSTRAS.....	108
11.4. VOLTAMETRIA DE ONDA QUADRADA	109
12. RESULTADOS E DISCUSSÕES	110
12.1. OTIMIZAÇÃO DOS PARÂMETROS INSTRUMENTAIS DE ANÁLISE ..	110
12.1.1. Amplitude de Pulso	111
12.1.2. Frequência.....	112
12.1.3. Incremento de Potencial	112
12.2. LIMITES DE DETECÇÃO E QUANTIFICAÇÃO INSTRUMENTAIS	115
12.3. FIGURAS DE MÉRITO PARA DETERMINAÇÃO DE CÁDMIO, CHUMBO E COBRE	118
12.4. APLICAÇÃO DO MÉTODO ÀS AMOSTRAS DE CIGARROS ILEGAIS .	119
13. CONCLUSÕES PARCIAIS	127
14. TRABALHOS PUBLICADOS	128
CAPÍTULO 5 – OTIMIZAÇÃO DAS CONDIÇÕES DE COLETA DAS FRAÇÕES GASOSAS DOS CIGARROS PARA DETERMINAÇÃO DE CÁDMIO, COBRE E CHUMBO EM AMOSTRAS DE FUMAÇA UTILIZANDO A VOLTAMETRIA DE ONDA QUADRADA COM REDISSOLUÇÃO ANÓDICA E ASPECTOS SOBRE A BIOACESSIBILIDADE PULMONAR	129
15. PARTE EXPERIMENTAL	130
15.1. REAGENTES E SOLUÇÕES	130
15.2. INSTRUMENTAÇÃO E MATERIAIS.....	130
15.3. PREPARO DE AMOSTRAS.....	130
15.3.1. Coleta das Frações Gasosas.....	130
15.3.2. Solução Extratora: HNO ₃ 10% v/v.....	131
15.3.3. Solução Extratora: Solução de Gamble	132
15.4. VOLTAMETRIA DE ONDA QUADRADA	132
16. RESULTADOS E DISCUSSÕES	133
16.1. DETERMINAÇÃO DE CÁDMIO, CHUMBO E COBRE TOTAIS EM AMOSTRAS DE FUMAÇA DE CIGARROS ILEGAIS	133
16.2. DETERMINAÇÃO DE CÁDMIO, CHUMBO E COBRE BIOACESSÍVEIS EM AMOSTRAS DE FUMAÇA DE CIGARROS ILEGAIS	137

17. CONCLUSÕES PARCIAIS	142
18. CONCLUSÕES FINAIS	143
19. PERSPECTIVAS.....	146
REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS	147
APÊNDICE 1 – PRODUÇÃO BIBLIOGRÁFICA	161

CAPÍTULO 1 – FUNDAMENTAÇÃO TEÓRICA

1. INTRODUÇÃO

1.1. ASPECTOS HISTÓRICOS DO TABACO

Arqueólogos e historiadores acreditam que o tabaco (*Nicotiana tabacum*) seja uma planta originária dos Andes Bolivianos, onde já era cultivada pelas sociedades indígenas a pelo menos 600 a.C. (SouzaCruz, 2001b; Silva, 2002; Estranho, 2018). O tabaco tinha caráter sagrado e era utilizado em rituais religiosos ou para fins medicinais, os índios acreditavam que a fumaça tinha poderes mágicos e terapêuticos, além de dar ao líder espiritual da tribo, o poder de prever o futuro (Brasil, 2019).

Foi justamente por meio das migrações indígenas que a planta chegou ao Brasil. Seu uso se dava de diferentes formas: comiam, bebiam, mascavam e aspiravam as folhas secas e moídas, porém a principal forma de consumo se dava através do fumo (SouzaCruz, 2001b). O primeiro registro pictórico do ato de fumar provém de um vaso de cerâmica maia do Século X. De acordo com historiadores, os astecas fumavam o tabaco em pedaços de junco oco ou em tubos de cana, enquanto outros nativos do México, da América Central e de parte da América do Sul usavam casca de milho e outros vegetais secos para envolver o fumo (Silva, 2002; Estranho, 2018).

Os europeus tiveram contato com a planta pela primeira vez em 1492, quando Cristóvão Colombo chegou à América. No entanto, só a partir de 1530 que o tabaco chegou à Europa, onde começou a ser cultivado pela família real portuguesa, inicialmente com finalidades medicinais (SouzaCruz, 2001b). Por volta de 1560, o botânico e então embaixador francês em Portugal, Jean Nicot, estudou e atribuiu propriedades medicinais à planta, que acabou sendo batizada com seu nome e ficou conhecida cientificamente como *Nicotiana tabacum* (SouzaCruz, 2001b; Brasil, 2019). Nicot enviou tabaco à rainha Catherina de Medicis para tratamento de cefaleia (SouzaCruz, 2001b). Logo, o hábito de fumar rapidamente se difundiu entre a nobreza francesa e, posteriormente, entre os demais países da Europa. Com período de grandes descobrimentos e a colonização europeia na África e na Ásia, o tabaco se difundiu por todos os continentes (Silva, 2002; Brasil, 2019).

Com a revolução industrial e a mudança significativa na rotina de trabalho com o avanço do capitalismo, no século XVIII, o tabaco passou também a ser usado com fins não medicinais. As primeiras fábricas surgiram no final do século XIX e o consumo de tabaco,

principalmente na forma de cigarro, ganhou impulso durante as grandes guerras (Carvalho, 2001).

Um dos registros mais antigos associando o uso do tabaco aos prejuízos à saúde é descrito pelo jornalista e historiador Mario Cesar Carvalho em seu livro. De acordo com o mesmo, o médico londrino John Hill correlacionou a presença de tumores no nariz de seus pacientes com o consumo de rapé (Carvalho, 2001). Pesquisas já na década de 1930 demonstravam que o cigarro era nocivo à saúde, porém só em 1953 uma pesquisa conduzida pelo médico alemão Ernest L. Wynder comprovou cientificamente o malefício causado pelo tabaco (Wynder *et al.*, 1953). Carvalho ainda cita que a indústria do cigarro cometeu fraudes e com auxílio da indústria cinematográfica hollywoodiana e campanhas publicitárias, manipulou a opinião pública a respeito da nocividade do tabaco (Carvalho, 2001).

Por volta da segunda metade do século XX, a indústria fumageira havia consolidado as principais marcas de cigarro no mercado internacional, apesar de uma forte e crescente pressão de entidades científicas que criticavam a veiculação de ideias que transmitiam aos consumidores uma imagem de produtos seguros para consumo (Barreto, 2018). A fim de amenizar as críticas, a indústria fumageira adicionou na década de 1950 os filtros nos cigarros. A introdução desse dispositivo teve ampla aceitação, uma vez que houve associação deste com uma sensação de segurança e proteção contra as substâncias prejudiciais do tabaco (Rosemberg, 1987). Como a Medicina continuou a demonstrar ao longo dos anos a associação entre o tabagismo e doenças clínicas (Bothwell, 1960; Kreyberg, 1965; Christen, 1970; Elson e Betts, 1975; Johnston e Ballantyne, 1977), o conceito de produto prejudicial à saúde se consolidou a partir dos 80 (Brasil, 2019).

1.2. *Nicotiana tabacum*

A *Nicotiana tabacum*, mostrada na Figura 1, é uma planta pertencente à família Solanaceae, de características perenes e pode atingir dois metros de altura. Os caules apresentam-se eretos, robustos, cilíndricos e ramosos. As folhas são alternas, sésseis, ovais ou lanceoladas pontiagudas, inteiras, pegajosas, com nervuras muito salientes na página inferior e de cor verde mais carregado na página superior, de cheiro fraco e sabor levemente picante, amargo e nauseoso. As flores são grandes, rosadas, munidas de brácteas dispostas

numa espécie de panícula na extremidade dos ramos, tendo cálice tubuloso e esverdeado. Finalmente, o fruto forma uma cápsula ovóide, encerrando numerosíssimas sementes muito pequenas, rugosas e irregularmente arredondadas (Vignoli-Silva e Mentz, 2005; Oliveira e Costa, 2012).

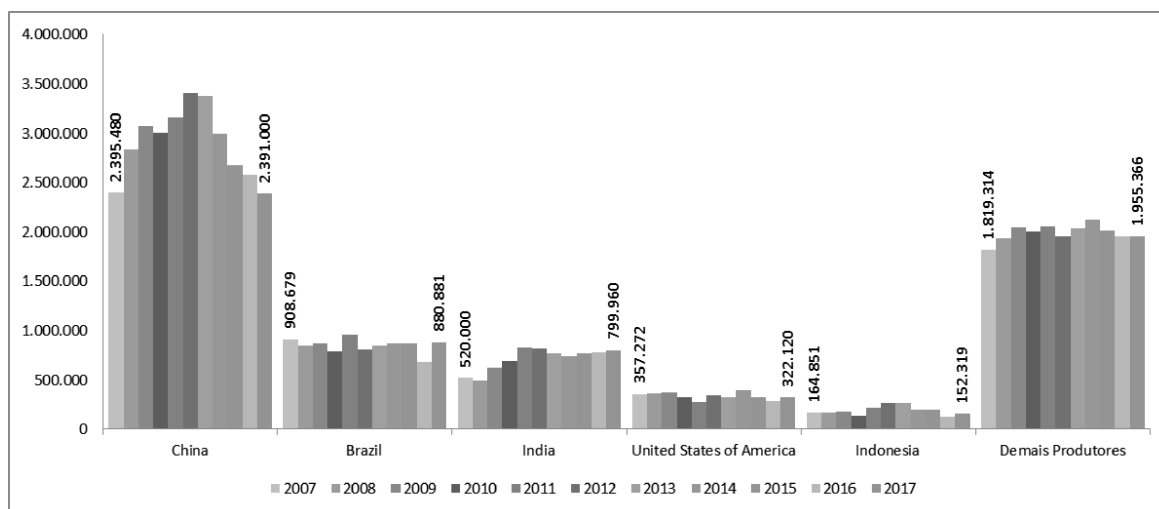
Figura 1 – Ilustração da planta *Nicotiana tabacum*, popularmente conhecida como tabaco ou fumo.



Fonte: Adaptado de (Google Imagens, 2020).

O Brasil, de acordo com o relatório da Organização das Nações Unidas para Agricultura e Alimentação (FAOSTAT), ocupa a segunda colocação no ranking dos cinco maiores produtores mundiais de tabaco atrás somente da China, como mostrado no Gráfico 1 (FAOSTAT, 2017; Brasil, 2020a). Em contrapartida, é o maior exportador no cenário mundial (Riquinho e Hennington, 2016). Após a colheita, as folhas de tabaco iniciam o processo de secagem e cura onde são acondicionadas em estufas ou galpões com temperatura e umidade específicos, a fim proporcionar transformações bioquímicas que caracterizam a cor, intensidade de aroma e sabor dos diferentes tipos de tabaco. Esse processamento pode demorar entre 5 a 40 dias de acordo com o tipo de tabaco produzido, tabaco Virgínia (de cor clara e aromas e sabores leves) e tabaco Burley (de cor escura com aromas e sabores mais intensos), respectivamente (SouzaCruz, 2001c; PMI, 2010).

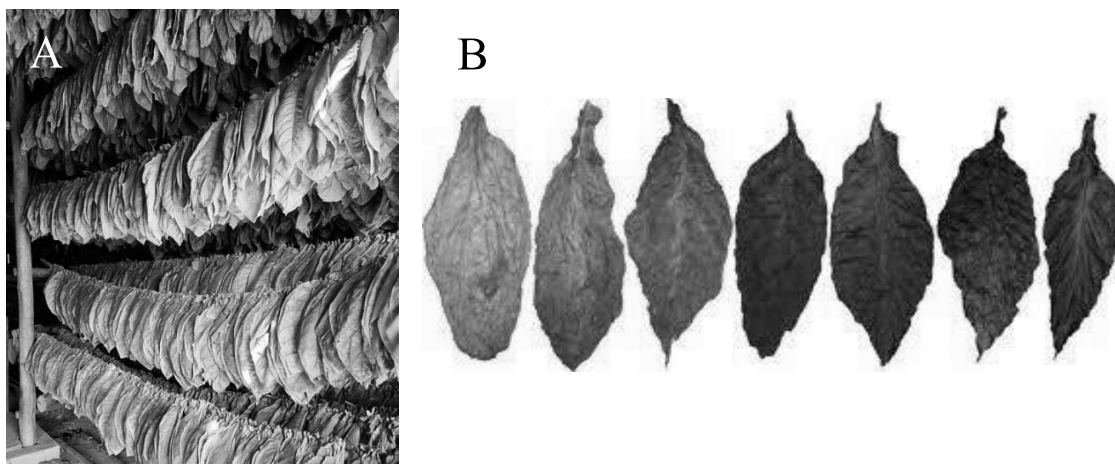
Gráfico 1 – Produção mundial de fumo em folha no período de 2007-2017.



Fonte: Adaptado de (FAOSTAT, 2017).

Acredita-se que o principal responsável pela contaminação e acumulação de metais pesados nas plantas de tabaco seja o uso exagerado de fertilizantes (Stephens *et al.*, 2005; Atafar *et al.*, 2009; Silva, *et al.*, 2014; Lourdes *et al.*, 2016; Mirra e Carvalho, 2017). A acumulação pode ainda ser agravada em função de contaminações ambientais do solo, água e ar (Pedroso e Alves, 2008; Pelit *et al.*, 2013), porém vários outros fatores como a variação climática, variedade de plantas, tratamento e manuseio do tabaco, como mostrado na Figura 2, e a utilização de fertilizantes e defensores agrícolas de qualidade contestada podem influenciar nesse processo (Figueiredo, 2008; Rubio Armendáriz *et al.*, 2015; Lourdes *et al.*, 2016), uma vez que de acordo com Figueiredo, nos anos 1990 utilizava-se em média 5,7 kg/ha (hectare, 0,01 km²) de defensivos agrícolas (Figueiredo, 2008).

Figura 2 – (A) Processo de secagem e cura de folhas de tabaco. (B) Diferença de intensidade de cor em folhas de tabaco resultantes de diferentes processos de secagem e cura.



Fonte: Adaptado de (Google Imagens, 2020).

Diversos trabalhos verificaram a eficiência da *Nicotiana tabacum* na fitorremediação e acumulação de metais tóxicos como o Pb e cádmio (Cd) em suas folhas e caules (Azevedo e Chasin, 2003; Boonyapookana *et al.*, 2005; Galażyn-Sidorczuk *et al.*, 2008; Viana *et al.*, 2011; Silva, *et al.*, 2014). Zeittouni e seus colaboradores observaram que a parte aérea das plantas de tabaco acumularam Cd numa faixa de concentração variando de 0,60 a 13,3 mg kg⁻¹, enquanto para Zn os valores de acumulação variaram de 52 a 899 mg kg⁻¹, demonstrando sua capacidade de fitorremediação (Zeittouni *et al.*, 2007).

Os processos que envolvem a utilização de plantas para remoção, transferência, estabilização ou destruição de elementos nocivos são denominados fitorremediação (Souza *et al.*, 2015). Sua eficiência depende da espécie química contaminante e do mecanismo de ação da planta remediadora (Gerhardt *et al.*, 2009). De acordo com Gonçalves Jr e seus colaboradores, a fitorremediação pode ser dividida em cinco processos distintos, sendo eles: a fitoextração (hiperacumulação), fitoestabilização, rizofiltração, fitotransformação e fitovolatilização (Jr. *et al.*, 2014). A hiperacumulação, basicamente se resume na absorção de metais tóxicos pelas raízes das plantas e a posterior translocação e deposição nos tecidos da parte aérea, o que permite a remoção dos mesmos da área contaminada (Jr. *et al.*, 2014). Essas plantas são capazes de acumular em seus tecidos concentrações de cobalto (Co), cobre

(Cu), cromo (Cr), chumbo (Pb) e níquel (Ni) em níveis de até 0,1% de massa seca, enquanto que para zinco (Zn) e manganês (Mn) essa concentração pode ser de até 1% (Almeida, 2012).

1.3. CONSUMO DE TABACO E PROBLEMAS DE SAÚDE

O tabaco agride sistematicamente a saúde humana de diferentes maneiras: pela manipulação de defensivos agrícolas, durante o processo de cultivo, pelo contato direto com a planta úmida e pelo cheiro das folhas durante a secagem nas estufas (Figueiredo, 2008). Em 2009, o Ministério da Saúde conduziu uma pesquisa e admitiu pela primeira vez que os sintomas como tremor, cefaleia, dores no corpo, náuseas e tonturas são decorrentes de uma intoxicação (espécie de overdose) devido à absorção de nicotina pela pele dos agricultores durante o manuseio de folhas durante a colheita (Frois, 2015).

Atualmente, o tabagismo integra o grupo dos transtornos mentais e comportamentais devido ao uso de substância psicoativa na Revisão da Classificação Estatística Internacional de Doenças e Problemas Relacionados à Saúde e é a maior causa isolada evitável de adoecimento e mortes precoces em todo o mundo (OMS, 2008). É reconhecido como uma doença epidêmica que causa dependência física, psicológica e comportamental (Mirra e Carvalho, 2017; Grad *et al.*, 2019). A dependência ocorre pela presença da nicotina nos produtos à base de tabaco e obriga os fumantes a inalarem mais de 6700 substâncias tóxicas das quais 4720 bem identificadas quimicamente, como: monóxido de carbono, amônia, cetonas, formaldeído, acetaldeído, acroleína, além de 60 a 70 substâncias com poder cancerígeno, sendo as principais: hidrocarbonetos aromáticos policíclicos (HPAs), aminas aromáticas e nitrosaminas, arsênio, níquel, cádmio, chumbo, resíduos agrotóxicos e substâncias radioativas como o polônio 210 (Rosemberg *et al.*, 2003; Mirra *et al.*, 2010; Viana *et al.*, 2011; Baird e Cann, 2012).

De acordo com Organização Mundial da Saúde (OMS), o tabagismo está relacionado a mais de 50 doenças sendo responsável por 30% das mortes por diversos tipos de câncer (boca, laringe, faringe, esôfago, estômago, rim, pâncreas), 90% das mortes por todos os cânceres de pulmão, 25% das mortes por doença coronariana (angina e infarto), 85% das mortes por doença pulmonar crônica (bronquite e enfisema) e 25% das mortes por derrame cerebral, além de deteriorar severamente o sistema reprodutivo, contribuindo com abortos,

partos prematuros e morte súbita (OMS, 2006; Mirra *et al.*, 2010; Milnerowicz *et al.*, 2015; Barreto, 2018).

A OMS estimou em seu último relatório global sobre tendências em prevalência do tabagismo que há cerca de 1,1 bilhão de fumantes no mundo e pelo menos 367 milhões de usuários de derivados de tabaco que não produzem fumaça, o que corresponde a 27% da população mundial. Estima-se ainda que atualmente 34% da população masculina adulta seja dependente do tabaco, enquanto que a porcentagem da população feminina dependente é de 6%. Aproximadamente 9,8% da população brasileira acima dos 18 anos faz uso do tabaco, isso representa um total de aproximadamente 21 milhões de pessoas. Atualmente, no Brasil, 7,7% das mulheres fumam, enquanto que para os homens a fração de fumantes corresponde a 12,3% (INCA, 2021). O consumo de tabaco geralmente se inicia na adolescência, em média entre 13 e 15 anos de idade e dados da OMS indicam que cerca de 7% da população mundial jovem, pouco mais de 24 milhões de crianças, fumam cigarros e 4% usam produtos de tabaco sem fumaça (Mirra *et al.*, 2010; OMS, 2018).

Por conta disso, em todo mundo medidas têm sido implementadas para conter o avanço no consumo de cigarros, das quais destaca-se a alta tributação de impostos (Silva, *et al.*, 2014; Mirra e Carvalho, 2017). Essa medida, porém, ocasiona a ampliação do mercado ilegal que é abastecido principalmente pelo contrabando (Joossens *et al.*, 2010; OMS, 2013; Silva, *et al.*, 2014). Dessa forma, torna-se possível a entrada de produtos de qualidade e origem duvidosas o que confere maior risco aos consumidores destes produtos (He *et al.*, 2015). Estima-se que cerca de 35 a 50% do mercado de cigarros do Brasil seja ocupado por produtos que entraram ilegalmente no país, um dano que vai muito além das questões financeiras (Romero e Silva, 2011; Silva, *et al.*, 2014). Segundo levantamento do Fórum Nacional de Combate à Pirataria (FNCP), o Brasil teve prejuízo de R\$ 115 bilhões em 2015 por conta de crimes de contrabando e descaminho, o mercado de tabaco foi o mais afetado, onde aproximadamente 67% dos produtos que entraram ilegalmente no país em 2015, eram cigarros (SouzaCruz, 2001a).

Políticas socioeducativas também têm se destacado no controle de consumo do tabaco e o Brasil se firma com uma referência mundial (Pantini *et al.*, 2011). De forma tal que o percentual de adultos fumantes no Brasil vem apresentando uma expressiva queda nas últimas décadas. Em 1989, 34,8% da população acima de 18 anos era fumante, enquanto que

no ano de 2003, o percentual observado foi de 22,4%. No ano de 2008 este percentual era de 18,5%. Já os dados mais recentes do ano de 2019, apontam o percentual total de adultos fumantes em 12,6% (INCA, 2021).

O Brasil foi também o primeiro país a banir os descritores das embalagens, o segundo a inserir os alertas com frases e imagens nos maços, como mostrado na Figura 3, e um dos poucos a restringir a publicidade (Brasil, 2007). Recentemente, a Agência Nacional de Vigilância Sanitária (Anvisa) restringiu o uso de aditivos que conferem aromas e sabores aos derivados do tabaco, como forma de mascarar o gosto e/ou cheiro provenientes do cigarro. Ainda de acordo com a Anvisa, mais de 60% dos jovens que experimentam cigarros escolhem produtos com sabor (Brasil, 2012).

Figura 3 – Imagens e frases de alerta estampados em maços de cigarros comercializados no Brasil.



Fonte: Adaptado de (INCA, 2007).

1.4. PROPRIEDADES DO PROCESSO DE QUEIMA DOS CIGARROS

Fumar é uma importante fonte de exposição a elementos tóxicos como: chumbo, cádmio, arsênio, níquel, cromo, manganês, alumínio e zinco (Viana *et al.*, 2011); e, o conhecimento da liberação percentual destes metais tóxicos durante a queima do cigarro, permite estimar sua exposição média e possíveis efeitos nocivos correlatos (Galazyn-Sidorczuk *et al.*, 2008).

Durante a queima do cigarro, ocorre uma divisão das substâncias tóxicas presentes no tabaco entre o filtro do cigarro, as cinzas e a fumaça, de forma que uma porção substancial de metais tóxicos pode atingir os pulmões (Counts *et al.*, 2005; Stephens *et al.*, 2005; Pappas *et al.*, 2006). A fumaça do tabaco é gerada por processos complexos e sobrepostos de queima, pirólise, pirossíntese, destilação, sublimação e condensação (Borgerding e Klus, 2005). Esta pode ser subdividida em duas fases: a fumaça ativa, aquela inalada para os pulmões durante a tragada; e, a fumaça passiva, aquela liberada pela extremidade acesa do cigarro, como mostrado pela Figura 4.

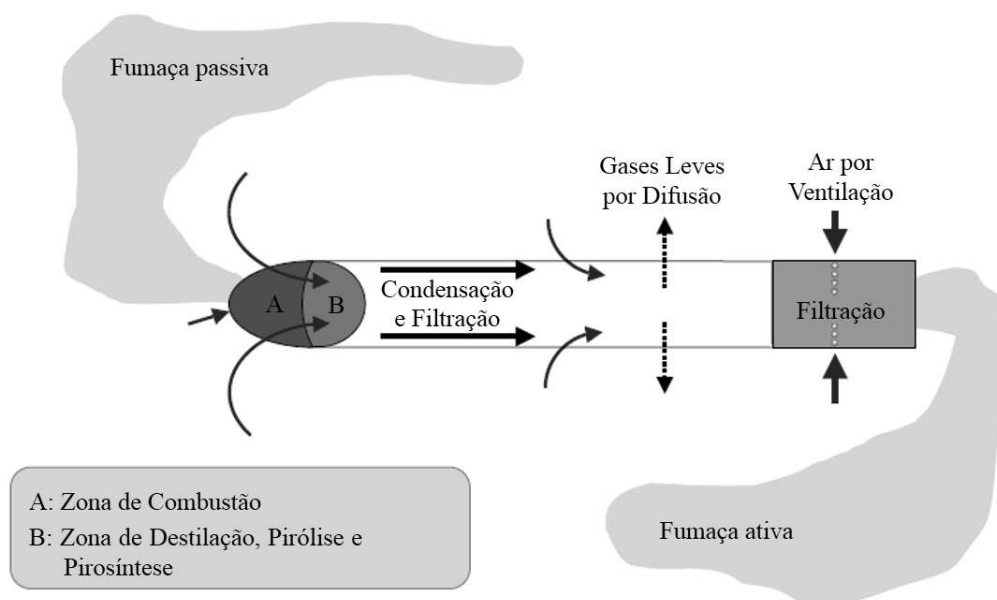
A fumaça ativa (do inglês, *mainstream smoke*) é um aerossol que consiste em gotículas sólidas e líquidas (fase particulada), que é coletada pelo filtro geralmente de acetato de celulose e com a função de reduzir principalmente a passagem de alcatrão e nicotina (Thielen *et al.*, 2008), em uma fase gasosa que passa pelo filtro (Borgerding e Klus, 2005; Counts *et al.*, 2005; Pappas *et al.*, 2006). Os metais tóxicos presentes no tabaco se particionam nessas fases sendo transportados até os pulmões, posteriormente podem ser transferidos para circulação periférica e atingir outros órgãos do corpo (Pappas *et al.*, 2006). Estudos indicam que a concentração de substâncias tóxicas liberadas na fumaça passiva (do inglês, *sidestream smoke*) é maior que na fumaça ativa, porém a primeira sofre diluição para o ambiente (Sógor *et al.*, 1998). Após várias mudanças físicas e químicas, incluindo reações com substâncias químicas não geradas pelo tabaco, ambas as fumaças, ativa exalada pelos pulmões e passiva diluída para o ambiente, tornam-se a fumaça ambiental do tabaco (ETS, do inglês *environmental tobacco smoke*). A fumaça ativa "filtrada pelo trato respiratório" e exalada, contribui entre 15% e 43% da matéria particulada do ETS e entre 1% e 13% da fase de vapor, sendo o restante proveniente da fumaça passiva (Borgerding e Klus, 2005).

Durante a combustão natural do tabaco, entre as tragadas a temperatura no centro do cone em chamas pode variar de 600 a 700 °C, enquanto que durante a tragada ela pode

alcançar temperaturas até 950 °C na periferia da zona de queima, entre 0,2 e 1,0 mm a frente da linha de queima do papel (Borgerding e Klus, 2005; Counts *et al.*, 2005; Thielen *et al.*, 2008; Baird e Cann, 2012). Os processos endotérmicos de consumo de energia, como destilação e sublimação, que ocorrem apenas alguns milímetros atrás do cone incandescente do cigarro, são os principais responsáveis pela diminuição extremamente rápida da temperatura da fumaça ativa de mais de 800 °C até a temperatura ambiente. Os constituintes da fumaça gerados por pirólise e pirossíntese são incluídos nesses processos repetitivos de destilação e sublimação (Nagao *et al.*, 2014). Nestas temperaturas há energia suficiente para vaporização de elementos mais voláteis ou mesmo transformação em espécies mais tóxicas, como a oxidação de alguns componentes de cromo presentes no tabaco em Cr(VI) (Sógor *et al.*, 1998; Liu *et al.*, 2011; Liu e Woodcock, 2014).

Dessa forma, pode-se resumir que um vapor supersaturado e altamente concentrado é gerado na região de pirólise/destilação endotérmica da zona de queima e, durante a tragada, é puxado pela haste do tabaco para formar a fumaça ativa. À medida que o vapor é extraído dessa região, ele esfria para a temperatura do ar ambiente em alguns milissegundos. Isso leva o vapor dos compostos menos voláteis rapidamente ao seu ponto de saturação e a condensação segue imediatamente formando um aerossol que consiste em gotículas (partículas) líquidas suspensas em uma fase gasosa (Borgerding e Klus, 2005). Dessa forma, a fumaça é filtrada pela coluna de tabaco e pelo filtro de acetato de celulose, logo, à medida que o cigarro é pirolisado, o caminho filtrante diminui e ocorre redestilação da fumaça filtrada nas tragadas anteriores (Wright, 2015).

Figura 4 – Esquema do processo de queima do cigarro e geração das fumaças ativa e passiva.



Fonte: Adaptado de (Thielen *et al.*, 2008).

Muitos constituintes da fumaça do cigarro são capazes de desenvolver alterações que levam ao câncer. Estima-se que a fumaça principal contenha cerca de 10^{10} partículas por cm^3 com tamanho médio de 0,1 a 1 μm que, quando inalados se depositam nos pulmões (Wright, 2015), especialmente quando os mecanismos de defesa mucociliar já estão comprometidos devido ao tabagismo. Como eles não são biodegradáveis, permanecem por longos períodos causando alterações celulares (Viana *et al.*, 2011). Os metais absorvidos junto à fumaça são ainda transferidos para corrente sanguínea e acumulados por meio de mecanismos no fígado e rins, podendo assim interferir nos processos biológicos envolvendo o DNA, causando mutações e tumores em diversos tecidos do corpo humano (Silva, *et al.*, 2014).

Aproximadamente 4700 substâncias diferentes foram identificadas na fumaça do tabaco. Quase todas as classes de compostos químicos orgânicos, juntamente com vestígios de metais, podem ser encontradas. A Tabela 1, a seguir, mostra o número aproximado de compostos identificados em algumas das principais classes de compostos.

Tabela 1 – Número de compostos em diferentes classes presentes na fumaça de tabaco.

Classe	Número de compostos
Gases neutros	>5
Óxidos de carbono	2
Óxidos de nitrogênio	1 (2)
Amidas, imidas e lactamas	~240
Ácidos carboxílicos	~230
Lactonas	~150
Ésteres	~470
Aldeídos	~110
Cetonas	~520
Álcoois	~380
Fenóis	~280
Aminas	~200
<i>N</i> -nitrosaminas voláteis	4
Nitrosaminas específicas do tabaco	4
<i>N</i> -heterocíclicos	~920
Hidrocarbonetos alifáticos, acíclicos, aromáticos	~760
Nitrilas	~100
Anidridos	~10
Carboidratos	~40
Éteres	~310
Nitro-compostos	>10
Metais	~30

Fonte: Adaptado de (Borgerding & Klus, 2005).

Os processos pelos quais são verificados os efeitos tóxicos de muitos destes metais contaminantes devem-se principalmente da capacidade dos mesmos causarem *stress* oxidativo devido à geração de radicais livres direta ou indiretamente e o enfraquecimento dos mecanismos celulares antioxidantes (Bizoń *et al.*, 2011; He *et al.*, 2015; Milnerowicz *et al.*, 2015). Há evidências ainda de que alguns contaminantes como chumbo e cádmio podem

substituir minerais como o zinco, cobre, ferro e selênio em processos enzimáticos reduzindo os níveis de substâncias antioxidantes no organismo (Çay *et al.*, 2009; Milnerowicz *et al.*, 2015).

A fração de um elemento que é transferida para a fase da fumaça depende das propriedades de cada elemento, onde estudos indicam que 33% do Cd, 19% do Pb e 20% do Ni presentes no tabaco são liberados na fumaça (Viana *et al.*, 2011; Silva, *et al.*, 2014). Deste total, pode-se esperar que entre 25 e 50% do cádmio e cerca de 20 a 35% do níquel sejam absorvidos pelo organismo durante a queima do cigarro (Torjussen *et al.*, 2003; Viana *et al.*, 2011).

1.5. PREPARO DE AMOSTRAS

Para determinação de elementos metálicos em amostras sólidas, geralmente faz-se necessária uma etapa prévia de preparo de amostra, a fim de extrair o analito para uma solução que seja compatível com a técnica analítica de interesse aplicada (Mketo *et al.*, 2016). Procedimentos convencionais baseados na digestão ácida da amostra usando ácidos minerais e agentes oxidantes (HNO₃, H₂SO₄, HClO₄, HF, HCl e H₂O₂), independentemente ou combinados, sob aquecimento são os mais comuns (Oliveira, 2003; Nóbrega *et al.*, 2012). No entanto, os métodos convencionais são geralmente demorados e envolvem várias etapas de aquecimento em recipientes abertos, com riscos de acidentes, perda de espécies voláteis e possíveis contaminações (Castilho *et al.*, 2012).

Dessa forma, com o avanço tecnológico, desde o início dos anos 2000 novos métodos de preparo de amostra têm sido desenvolvidos com objetivo de obter procedimentos mais rápidos e práticos, com menor consumo de amostras e de reagentes e mínima geração de resíduos (Flores, 2014). Neste sentido, a digestão assistida por radiação micro-ondas e os procedimentos usando-a combinadamente com outras fontes de energia destacam-se para o preparo de amostras.

Micro-ondas são ondas eletromagnéticas, que apesar de possuírem energia menor que a necessária para a quebra de ligações químicas, são absorvidas durante o preparo de amostras, provocando rotação e realinhamento das moléculas polares e íons com o campo

magnético estabelecido em uma taxa elevada, a resistência causada por esses movimentos gera o aquecimento da mistura reacional que por sua vez acelera as reações químicas de decomposição e/ou solubilização (Souza e Miranda, 2011; Krug e Rocha, 2016). Assim, em fornos micro-ondas a amostra é submetida a altas temperaturas, geralmente em recipientes fechados e pressurizados, o que aumenta a eficiência das reações, tornando possível a obtenção de métodos analíticos mais simples utilizando menores volumes de reagentes. Além disso, os métodos de preparo de amostras baseados na utilização de sistemas de micro-ondas fechados e pressurizados minimizam a perda de analitos voláteis e possíveis contaminações das amostras (Castilho *et al.*, 2012; Nóbrega *et al.*, 2012; Shaltout *et al.*, 2014; Welna *et al.*, 2015; Mketi *et al.*, 2016; Muller *et al.*, 2016). A extração assistida por micro-ondas também tem sido destacada pela possibilidade de permitir o uso de reagentes diluídos sem que haja perda de eficiência no processo de extração (Bizzi *et al.*, 2014; Bizzi *et al.*, 2017).

Diversos trabalhos descritos na literatura científica ao longo dos últimos 25 anos ilustram o avanço tecnológico descrito anteriormente em prol de novos métodos de preparo de amostra. No início dos anos 1990 comumente empregava-se métodos de digestão ácida em chapa de aquecimento, como utilizado por Jung *et al.* (1998) para determinação de As, Cd, Cu, Pb e Zn em amostras de tabaco (Jung *et al.*, 1998). Nos anos seguintes diversos trabalhos foram publicados utilizando a digestão assistida por radiação micro-ondas para determinação de mais de 30 elementos (Zumbado *et al.*, 2019). Galażyn-Sidorczuk *et al.* (2008) usaram HNO₃ e HCl para determinar Pb e Cd em amostras de tabaco, filtro, papel e cinzas de cigarro (Galażyn-Sidorczuk *et al.*, 2008). Taebunpakul *et al.* (2011), desenvolveram um método de especiação de As nas folhas de tabaco e na fumaça usando a cromatografia líquida de alta eficiência (HPLC, do inglês *High Performance Liquid Chromatography*) para separação das espécies (Taebunpakul *et al.*, 2011). He *et al.* (2015) e Zumbado *et al.* (2019) utilizaram digestão assistida por radiação micro-ondas com HNO₃ para determinar diversos elementos tóxicos em amostras de tabaco (He *et al.*, 2015; Zumbado *et al.*, 2019).

Outros métodos de preparo de amostras são descritos na literatura. Silva *et al.* (2014) determinaram Cu, Mn, Zn, Co, Cr, Cd, Pb, Fe, Ag e Ni em amostras de cigarro digeridos em bloco digestor com mistura de HNO₃ e H₂O₂ (Silva, C. P. D. *et al.*, 2014). Alternativamente, métodos que se baseiam em extração também são descritos. Mohammadi *et al.* (2012) e

Yilmaz *et al.* (2016) utilizaram métodos de extração em fase sólida para determinação de Cd, Pb, Ni e Co em amostras de cigarro (Mohammadi *et al.*, 2012; Yilmaz *et al.*, 2016).

1.6. ASPECTOS SOBRE A BIOACESSIBILIDADE PULMONAR

A bioacessibilidade pulmonar pode ser definida como a gama de contaminantes retidos em materiais particulados, aerossóis e outros materiais inalantes que são solúveis no trato respiratório e, portanto, potencialmente disponíveis para absorção (Pelfrêne *et al.*, 2012; Cruz *et al.*, 2015). A presença de compostos solúveis e insolúveis em fluidos pulmonares pode ocasionar processos inflamatórios, de forma que para compostos solúveis as reações são mais rápidas. Dessa forma, a bioacessibilidade pulmonar pode também ser definida como a solubilidade de metais em um ambiente de fluido pulmonar, que fornece uma estimativa da quantidade de metal disponível para absorção na corrente sanguínea, ou seja, a fração biodisponível (Julien *et al.*, 2011).

Atualmente, a dificuldade associada à obtenção de autorização junto aos Conselhos de Ética é um entrave para o desenvolvimento de estudos *in vivo*, porém estabelecer correlação entre os dados obtidos para cobaias pode ser também um desafio grande. Dessa forma, para avaliar os riscos à saúde decorrentes da exposição por inalação de elementos tóxicos em meios ambientais, vários métodos *in vitro* que usam fluidos biológicos pulmonares simulados foram desenvolvidos (Zhong *et al.*, 2019). Os testes de bioacessibilidade pulmonar *in vitro* se assemelham aos estudos para o trato gastrointestinal e incluem extrações usando soluções semelhantes aos fluidos corporais humanos, que imitam condições bioquímicas do trato respiratório (Cruz *et al.*, 2015). O fluido lisossômico artificial (ALF, do inglês *artificial lysosomal fluid*) é análogo ao fluido com o qual as partículas inaladas entrariam em contato após a fagocitose por macrófagos alveolares e intersticiais no pulmão e representa o ambiente mais ácido no pulmão. A solução de Gamble representa o fluido liberado pelas células alveolares que preenchem o espaço entre essas células atuando na redução da tensão superficial da água nos pulmões o que facilita as trocas gasosas. As principais diferenças entre a solução de Gamble e o ALF são o pH (o primeiro tem pH 7,4 enquanto o ALF tem pH 4,5) e o conteúdo orgânico (o ALF tem conteúdo orgânico muito

maior que a solução de Gamble) (Daniels e Orgeig, 2003; Colombo *et al.*, 2008; Mukhtar e Limbeck, 2013; Cruz *et al.*, 2015; Yu *et al.*, 2018; Zhong *et al.*, 2019).

A solução de Gamble é uma mistura de água e sais inorgânicos incluindo cloretos, carbonatos e fosfatos e pode ser considerada uma solução padrão para líquido pulmonar, pois a maior parte dos experimentos são realizados em pH fisiológico, com concentrações de CO₂ pulmonar (5% vol.) e temperaturas entre 25 e 37 °C (Takaya *et al.*, 2006; Lima, 2012; Yu *et al.*, 2018). Em alguns estudos reportados pela literatura foi utilizada a solução de Gamble para avaliação da fração bioacessível de prata em solos urbanos (Cruz *et al.*, 2015). Takaya *et al.* (2006) investigou a dissolução de óxidos de terras raras e algumas ligas a base de ítrio, lantânio, cério e neodímio no líquido pulmonar simulado (Takaya *et al.*, 2006). Julien *et al.* (2011) utilizou materiais certificados para investigar a bioacessibilidade de diversos metais (Ba, Cd, Ce, Co, Cu, La, Mn, Mo, Ni, Pb, Rb, Sb e Zn) (Julien *et al.*, 2011). Coufalík *et al.* (2016) determinaram a presença de Cd, Ce, Cr, Cu, Fe, Mn, Ni, Pb, V e Zn em amostras de aerossol urbano (Coufalík *et al.*, 2016).

Tabela 2 – Composição iônica da solução de Gamble (pH ajustado para 7,4).

Componentes	Concentração (g L⁻¹)
MgCl ₂ .6H ₂ O	0,2033
NaCl	6,0193
KCl	0,2982
CaCl ₂ .2H ₂ O	0,3676
Na ₂ SO ₄	0,0710
Na ₂ HPO ₄	0,1420
NaHCO ₃	2,6043
CH ₃ COONa.3H ₂ O	0,9526
Na ₃ C ₆ H ₅ O ₇ .2H ₂ O (citrato de sódio)	0,0970

Fonte: Adaptado de (Coufalík *et al.*, 2016).

Apesar do conhecimento dos níveis de metais tóxicos na fumaça de cigarros (Torjussen *et al.*, 2003; Miranda *et al.*, 2012; Pelit *et al.*, 2013; Behera *et al.*, 2014), poucos trabalhos têm sido desenvolvidos para descrever a fração bioacessível de metais tóxicos na

fumaça e em derivados inaláveis de tabaco. Dessa forma, considerando que uma parcela significativa da sociedade é dependente do tabaco torna-se importante o desenvolvimento de estudos para avaliação e conhecimento da presença de elementos-traço tóxicos nas diferentes partes dos cigarros, desde o tabaco *in natura* à fumaça. Tais estudos são importantes para caracterização e controle de qualidade dos produtos inseridos no mercado nacional e para divulgação científica a fim de conscientizar dependentes do tabaco com relação à importância e benefícios associados à interrupção do consumo de cigarros. Além disso, quando correlacionados a ensaios de bioacessibilidade permitem conhecer a porcentagem de contaminantes que podem, de fato, atingir o trato respiratório causando risco às pessoas expostas a esses produtos.

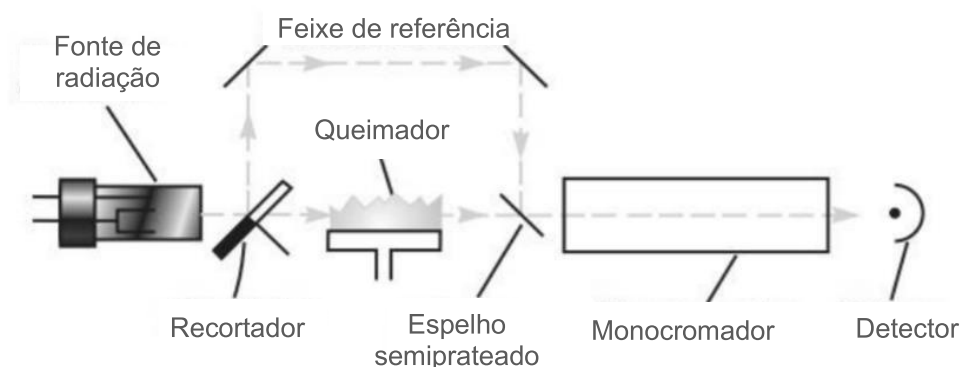
1.7. ESPECTROMETRIA DE ABSORÇÃO ATÔMICA COM FORNO DE GRAFITE

Atualmente, diferentes técnicas instrumentais permitem a determinação de metais em amostras complexas, porém diversas diretrizes internacionais como o *CODEX Alimentarius* recomendam principalmente a utilização de técnicas espectrométricas (Codex, 1999). Dessa forma, diferentes técnicas espectrométricas podem ser utilizadas para investigar a presença de elementos-traço em amostras de cigarro, como a espectrometria de absorção atômica (AAS, do inglês *Atomic Absorption Spectrometry*) (Lisboa *et al.*, 2020), a espectrometria de emissão óptica com plasma indutivamente acoplado (ICP OES, do inglês *Inductively Coupled Plasma Optical Emission Spectrometry*) (Rubio Armendáriz *et al.*, 2015) e a espectrometria de massas com plasma indutivamente acoplado (ICP-MS, do inglês *Inductively Coupled Plasma Mass Spectrometry*) (Zumbado *et al.*, 2019). Nos últimos anos, as técnicas ICP-MS e ICP OES se popularizaram no cenário científico para análise de amostras de cigarros por apresentarem-se como técnicas multi-elementares com baixos limites de detecção e quantificação (Pérez-Bernal *et al.*, 2011; Behera *et al.*, 2014; He *et al.*, 2015; Rubio Armendáriz *et al.*, 2015; Pinto *et al.*, 2017; Zumbado *et al.*, 2019). No entanto, envolvem o uso de equipamentos com manutenção e custo relativamente elevados.

Nesse contexto, a AAS é de grande aplicabilidade na determinação de elementos-traço considerando a simplicidade, custo operacional e a confiabilidade dos resultados obtidos (Evans *et al.*, 2017). O princípio fundamental da AAS envolve a medida da absorção

da intensidade da radiação eletromagnética, proveniente de uma fonte primária, por átomos gasosos no estado fundamental. Assim, um elemento químico pode ser determinado na presença de outros, em uma amostra complexa. Para tanto, as amostras devem ser atomizadas (decompostas em átomos), seja com a utilização de uma chama ou através da atomização eletrotérmica em um forno de grafite, dentre outras formas (Welz e Sperling, 1998; Harris, 2017).

Figura 5 – Esquema dos caminhos ópticos em um espectrômetro de absorção atômica de duplo feixe.



Fonte: Adaptado de (Skoog *et al.*, 2010).

A espectrometria de absorção atômica com forno de grafite (GF AAS, do inglês *Graphite Furnace Atomic Absorption Spectrometry*) atualmente, encontra-se bem estabelecida e tem seu uso disseminado para a determinação de elementos que ocorrem em baixas concentrações em amostras ambientais, biológicas, clínicas e de alimentos. Os limites de detecção obtidos por GF AAS ficam na faixa de $\mu\text{g L}^{-1}$, estabelecendo-se entre os limites obtidos pela ICP-MS, mais sensível, e ICP OES. Quando comparada à espectrometria de absorção atômica com chama (F AAS, do inglês *Flame Atomic Absorption Spectrometry*), a GF AAS apresenta menor frequência analítica (Evans *et al.*, 2017). Por outro lado, a técnica baseia-se na introdução de um pequeno volume, na ordem de microlitros ($< 50 \mu\text{L}$), no interior de um tubo de grafite que é, então, aquecido de tal forma que o solvente da amostra é evaporado; precursores atômicos são formados ainda no estado sólido e, em seguida, ocorre a atomização do analito. Durante a atomização, a nuvem atômica produzida no interior do

tubo é detectada e um sinal transiente, cuja área (ou altura) é proporcional à concentração do analito da amostra, é produzido (Welz e Sperling, 1998; Skoog *et al.*, 2010).

As características exigidas pela GF AAS são completamente diferentes das requeridas quando utilizado o modo chama. Tais características instrumentais desejáveis para GF AAS são estabelecidas no conceito STPF (do inglês, *stabilized temperature platform furnace*). Destaca-se como parâmetros desejáveis o uso de eletrônica digital de alta velocidade, obtenção do sinal de absorvância atômica de forma integrada, o aquecimento homogêneo e com taxa elevada do forno de grafite, uso de uma plataforma de grafite no interior do tubo, uso de modificadores químicos, interrupção da injeção do gás argônio durante o processo de atomização, utilização de tubo de grafite com revestimento pirolítico e compensação do sinal de fundo através da utilização de corretores (Welz e Sperling, 1998).

Algumas interferências podem ser comuns em análises por GF AAS e normalmente se devem à presença da matriz da amostra, que pode causar elevado sinal de fundo na etapa de atomização. Além disso, perdas dos analitos podem ocorrer na etapa de pirólise. Estas interferências podem ser evitadas através da escolha correta das condições de temperatura e tempo do programa de aquecimento do forno de grafite, que permite eliminar grande parte da matriz sem perda dos analitos anteriormente à etapa de atomização (Özcan e Akman, 2000), assim como a utilização de substâncias que auxiliam no processo, chamadas de modificadores químicos. Essas substâncias podem aumentar a estabilidade térmica do analito de interesse possibilitando a utilização de temperaturas de pirólise mais elevadas e, assim, permitindo a completa eliminação de concomitantes (Welz e Sperling, 1998). O programa de aquecimento do forno de grafite (principalmente em relação às temperaturas de pirólise e atomização) deve ser cuidadosamente estudado, pois cada elemento químico presente em uma determinada matriz possui temperaturas de pirólise e atomização características (Silva, 2004).

1.8. VOLTAMETRIA DE ONDA QUADRADA

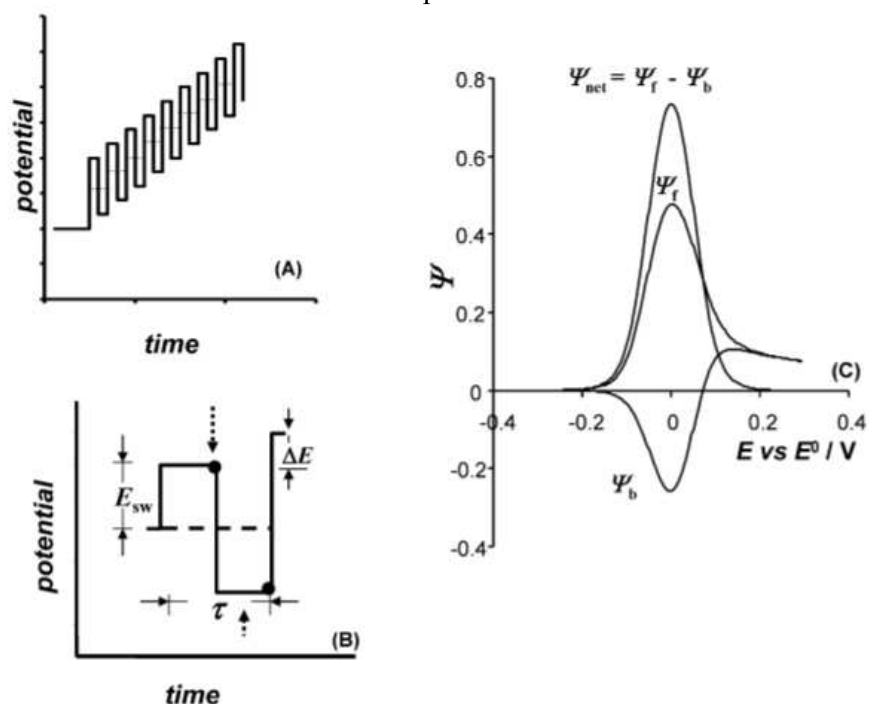
As técnicas eletroanalíticas têm sido amplamente empregadas na quantificação de espécies, orgânicas e inorgânicas, em diferentes áreas de estudos. Uma das mais importantes características relaciona-se ao fato destas técnicas possibilitarem o estabelecimento de

relações diretas entre a concentração do analito e alguma propriedade elétrica como corrente, potencial, condutividade, resistência ou carga (Souza *et al.*, 2003). Dentre as técnicas destacam-se as voltamétricas que são um grupo de técnicas interfaciais que envolvem a aplicação de um potencial controlado ao longo do tempo em uma célula eletroquímica, promovendo uma reação na interface do eletrodo com a solução analisada. Para tanto são utilizados, no arranjo experimental, três eletrodos: trabalho, referência e auxiliar. Através da polarização do eletrodo de trabalho torna-se possível a ocorrência de reações de oxidação-redução que, ao se processarem, geram uma transferência de carga do eletrodo para a solução ou vice-versa, e essa transferência de carga gera uma corrente elétrica, que é registrada em função do tempo, ou em função do potencial aplicado (Azevedo, 2019).

As técnicas voltamétricas se desenvolveram a partir da polarografia, que utiliza um eletrodo gotejante de mercúrio como eletrodo de trabalho (Skoog *et al.*, 2010). A polarografia tornou-se popular no mundo, ganhando novos impulsos devido à possibilidade de pré-concentrar as espécies eletroativas na gota de um eletrodo de mercúrio, conferindo um aumento significativo de detectabilidade. Esse processo de pré-concentração pode ser estendido a outros eletrodos com aumento de sensibilidade na ordem de 100 a 1000 vezes e diminuição do limite de detecção em 3 ordens de magnitude, atingindo concentrações abaixo de 10^{-10} mol L⁻¹. Dessa forma, com o desenvolvimento tecnológico a portatidade, simplicidade e o baixo custo instrumental aliados a sensibilidade e seletividade das técnicas, proporcionaram inúmeras aplicações analíticas (Mirceski *et al.*, 2013).

A voltametria de onda quadrada (SWV, do inglês *Square Wave Voltammetry*) é uma técnica voltamétrica de pulso, onde uma onda quadrada e simétrica de amplitude ΔE_p sobreposta a uma rampa de potencial na forma de escada, caracterizada pela amplitude ΔE_s (incremento de potencial), largura a e período τ é aplicada ao eletrodo de trabalho, conforme ilustra a Figura 6A. As medidas de corrente são feitas no final dos pulsos diretos e reversos, Figura 6B, e o sinal obtido após a derivação é dado como uma intensidade de corrente resultante, apresentando excelente sensibilidade. O pico voltamétrico resultante apresenta posição, largura e altura característicos do tipo de sistema oxidação-redução avaliado (Souza *et al.*, 2003; Mirceski *et al.*, 2013).

Figura 6 – Representação esquemática da forma de aplicação de potencial na voltametria de onda quadrada.



Fonte: Adaptado de (Mirceski *et al.*, 2013).

Para sistemas reversíveis a SWV apresenta um aumento de sensibilidade considerável quando comparada às outras técnicas voltamétricas. Isso está correlacionado ao fato da SWV trabalhar com a diferença das correntes anódicas (oxidação) e catódicas (redução) (Souza *et al.*, 2003; Cypriano *et al.*, 2008; Mirceski *et al.*, 2013), Figura 6C.

No que tange a determinação de metais em amostras de cigarro e seus derivados utilizando técnicas eletroquímicas, poucos trabalhos são relatados na literatura científica. Destacam-se os trabalhos onde foram utilizadas a SWV, a voltametria de pulso diferencial com stripping anódico (DPASV, do inglês *Differential Pulse Anodic Stripping Voltammetry*) e a polarografia de pulso diferencial (DPP, do inglês *Differential Pulse Polarography*) (Dhaware *et al.*, 2009; Ünal e Somer, 2012; Palisoc *et al.*, 2017). Dessa forma, torna-se oportuno explorar as técnicas voltamétricas para descrever amostras de cigarro, tabaco e seus derivados inseridas no mercado com relação a sua composição química, com ênfase na presença de metais tóxicos (geralmente em baixas concentrações).

2. OBJETIVOS

2.1.OBJETIVO GERAL

O objetivo geral deste trabalho foi o desenvolvimento de estratégias para caracterização do perfil de metais tóxicos a nível traço nas diferentes partes constituintes do cigarro e tendo como foco de aplicação, os cigarros comercializados ilegalmente no Brasil.

2.2.OBJETIVOS ESPECÍFICOS

- a) Otimizar as condições experimentais para o preparo das amostras de cigarro fracionadas em duas partes: pré queima, compreendendo o tabaco e filtro; e, pós queima, compreendendo o filtro e as cinzas;
- b) Otimizar os parâmetros instrumentais relativos à determinação de metais tóxicos utilizando a técnica GF AAS e a técnica SWV nas amostras mencionadas anteriormente;
- c) Quantificar os elementos-traço nas diferentes partes do cigarro por GF AAS e por SWV;
- d) Coletar a porção de fumaça ativa produzida por um dispositivo construído e que permitiu simular a queima dos cigarros conforme as condições humanas para o ato de fumar;
- e) Otimizar parâmetros instrumentais e quantificar elementos-traço presentes na fumaça ativa por GF AAS e SWV;
- f) Otimizar procedimento para obtenção da fração bioacessível de elementos-traço na fumaça ativa;
- g) Otimizar parâmetros instrumentais e quantificar elementos-traço presentes na fração bioacessível da fumaça ativa por GF AAS e SWV.

**CAPÍTULO 2 – OTIMIZAÇÃO DAS CONDIÇÕES EXPERIMENTAIS DE
PREPARO DE SUSPENSÕES DE TABACO E INSTRUMENTAIS PARA
DETERMINAÇÃO DE CHUMBO UTILIZANDO A ESPECTROMETRIA DE
ABSORÇÃO ATÔMICA COM FORNO DE GRAFITE**

3. PARTE EXPERIMENTAL

3.1. REAGENTES E SOLUÇÕES

Todos reagentes usados foram de grau analítico. As soluções foram preparadas com água deionizada (Elga Purelab Option-Q, model LA611), com resistividade maior ou igual a 18,2 M Ω cm. Ácido nítrico (HNO₃ 65% m/m, Sciavicco Comércio e Indústria Ltda P.A.) e o agente surfactante éter terc-octilfenílico de polietileno glicol (Triton X-100, Synth) foram utilizados na etapa de tratamento das amostras. Os modificadores químicos Pd(NO₃)₂ (Perkin Elmer), Mg(NO₃)₂ e as misturas de modificadores químicos NH₄H₂PO₄ + Mg(NO₃)₂ e Pd(NO₃)₂ + Mg(NO₃)₂ foram empregados para as otimizações instrumentais da GF AAS para determinação de Pb. Todas as vidrarias utilizadas foram descontaminadas em banho de ácido nítrico 10% v/v por 24 horas, em seguida enxaguadas com água deionizada e secas em temperatura ambiente.

3.2. INSTRUMENTAÇÃO E MATERIAIS

O ácido empregado para o preparo das soluções para análise por GF AAS foi purificado em destilador de ácidos subebulição Distillacid (Berghof, modelo BSB-939-IR) com aquecimento por lâmpada de infravermelho (250 W).

Suspensões foram preparadas com auxílio de banho ultrassônico (Unique, modelo USC-3300, 220 W) com capacidade volumétrica de 9,5 L e frequência de operação de 40 kHz. Foram utilizados frascos de polipropileno do tipo Falcon e temperatura ambiente.

Todas as medidas relativas ao Pb foram realizadas em um espectrômetro de absorção atômica com forno de grafite (GF AAS) Thermo Scientific (modelo Solaar Serie M5, USA), com aquecimento longitudinal e equipado com lâmpada de catodo oco (Photron Lamps, USA). Foram usados tubos de grafite com revestimento pirolítico e as injeções foram realizadas de forma manual. As amostras de suspensão foram homogeneizadas em agitador tipo vórtex (AV-2, Gehaka, 220 V), por um período de 30 segundos, imediatamente antes de sua injeção manual no atomizador.

3.3. AMOSTRAS E PREPARO DAS AMOSTRAS

3.3.1. Obtenção das Amostras de Cigarro

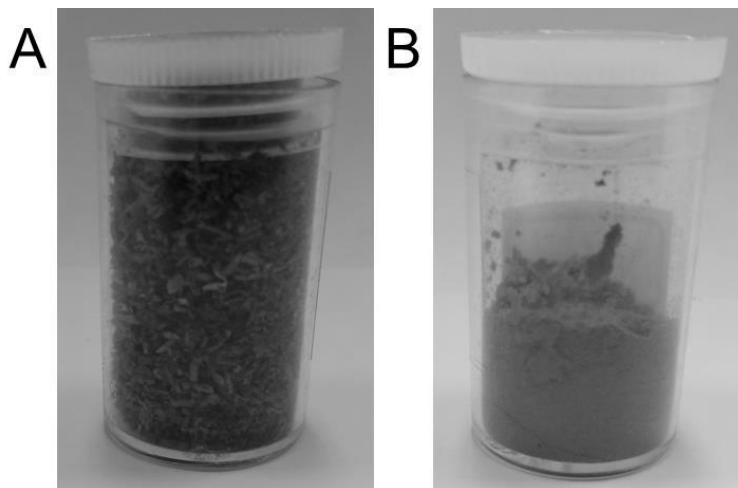
Foram adquiridas amostras de cigarro sob a forma de embalagens lacradas (maços) no comércio local de Juiz de Fora e Conselheiro Lafaiete, Minas Gerais, entre os anos de 2016 e 2017. Os trabalhos foram conduzidos com um total de doze amostras, sendo todas de cigarros de origem ilícita no Brasil.

É importante destacar que no momento da aquisição das amostras (marcas: San Marino-PAR, Euro-PAR, US-PAR, Blitz-PAR, Hobby-PAR, Madison Azul-PAR, Madison Vermelho-PAR, R7 Azul-PAR, R7 Vermelho-PAR, Gift-PAR, Outback-BRA e Eight-PAR) todas eram consideradas ilegais. Porém, de acordo com o Registro de Produto Fumígeno da Anvisa, atualizado em 2020, algumas marcas foram registradas posteriormente à aquisição (Brasil, 2020b).

3.3.2. Pré-tratamento das Amostras

As amostras de tabaco, codificadas de T-1 a T-12, foram secas em estufa (Odontobras EL 1.3, Brasil) com temperatura controlada para (45 ± 5) °C por 48 horas. Após esse período as amostras foram pulverizadas com auxílio de pistilo e almofariz de ágata até a obtenção de um pó finamente dividido. As amostras foram peneiradas em malha com granulometria de 63 μm e acondicionadas em frascos de acrílico previamente descontaminados em banho de ácido nítrico 10 % v/v, conforme mostrado na Figura 7 a seguir. Destaca-se que aproximadamente 5% das amostras (material fibroso) ficaram retiradas na peneira.

Figura 7 – (A) Amostra de tabaco antes do pré-tratamento; e, (B) amostra de tabaco após o pré-tratamento.



Fonte: Elaborado pelo próprio autor (2021).

3.3.3. Microscopia Eletrônica de Varredura

As amostras de tabaco foram caracterizadas com relação à distribuição de tamanho médio das partículas após pulverização, utilizando um microscópio eletrônico de varredura (SEM, do inglês *Scanning Electron Microscopy*) com aumento óptico de 300x (Hitachi, modelo TM 3000, Japão). As amostras, previamente pulverizadas, foram dispersas sobre uma fita de carbono disposta sobre o autoamostrador do SEM e as medidas foram realizadas.

3.3.4. Preparo das Suspensões

Para otimização do método de preparo de suspensões foram aplicados planejamentos de experimentos, os quais tem como objetivo reduzir o gasto de reagentes e investigar a significância das variáveis envolvidas. Foi utilizado um planejamento Box Behnken, 3^3 . Na Tabela 3 a seguir estão os fatores, níveis e codificações do planejamento além da ordem dos ensaios realizados.

Tabela 3 – Matriz do planejamento fatorial Box Behnken, 3^3 , contendo os ensaios realizados e sua ordem de execução para otimização das condições de preparo da suspensão de tabaco. Parâmetros: X_1 – concentração de HNO_3 : nível -1 (0% v/v), nível 0 (7,5% v/v) e nível +1 (15% v/v); X_2 – concentração de Triton X-100 nível -1 (0% v/v), nível 0 (0,5% v/v) e nível +1 (1% v/v); X_3 – tempo de sonicação em banho ultrassônico: nível -1 (0 min), nível 0 (15 min) e nível +1 (30 min).

Ensaio	Ordem	X_1	X_2	X_3
1	13°	-1	-1	0
2	8°	1	-1	0
3	9°	-1	1	0
4	14°	1	1	0
5	10°	-1	0	-1
6	5°	1	0	-1
7	7°	-1	0	1
8	11°	1	0	1
9	4°	0	-1	-1
10	12°	0	1	-1
11	15°	0	-1	1
12	2°	0	1	1
13	3°	0	0	0
14	1°	0	0	0
15	6°	0	0	0

Fonte: Elaborado pelo próprio autor (2019).

As suspensões foram preparadas para volume final de 4,0 mL, utilizando uma razão final de massa de 1,4% m/v. Utilizou-se tubos de polipropileno previamente descontaminados em banho de ácido nítrico 10% v/v para o preparo e acondicionamento das suspensões.

3.4. ESPECTROMETRIA DE ABSORÇÃO ATÔMICA COM FORNO DE GRAFITE

Utilizou-se o espectrômetro de absorção atômica disponível no Departamento de Química. O espectrômetro estava equipado com lâmpada de cátodo oco de chumbo operando com corrente máxima de 4 mA, fenda espectral de 0,5 nm e comprimento de onda de 217,0 nm e sistema de correção de fundo de fonte contínua (lâmpada de deutério).

Foram realizados testes avaliando a necessidade de utilização de modificadores químicos bem como a otimização das temperaturas de pirólise e de atomização para as amostras de tabaco.

4. RESULTADOS E DISCUSSÕES

4.1. PREPARO DE AMOSTRAS – SUSPENSÕES DE TABACO

Em análise elementar a maioria das matrizes orgânicas e inorgânicas requerem a dissolução parcial ou total das amostras antes da análise instrumental. Dessa forma, o preparo de amostras é uma etapa que exige cerca de 60% do tempo total de análise e é responsável por pelo menos 30% do erro analítico (Oliveira, 2003).

As determinações de metais tóxicos em diferentes tipos de amostras têm sido tradicionalmente realizadas por digestão com ácidos ou misturas ácidas e, então, medindo os elementos por uma técnica instrumental adequada. Durante o início do desenvolvimento deste projeto, o forno micro-ondas disponível no Departamento de Química, encontrava-se em período de manutenção. Então, como alternativa de contorno, métodos de preparo de amostras alternativos foram considerados, como a otimização de um método baseado na preparação de suspensões em meio ácido.

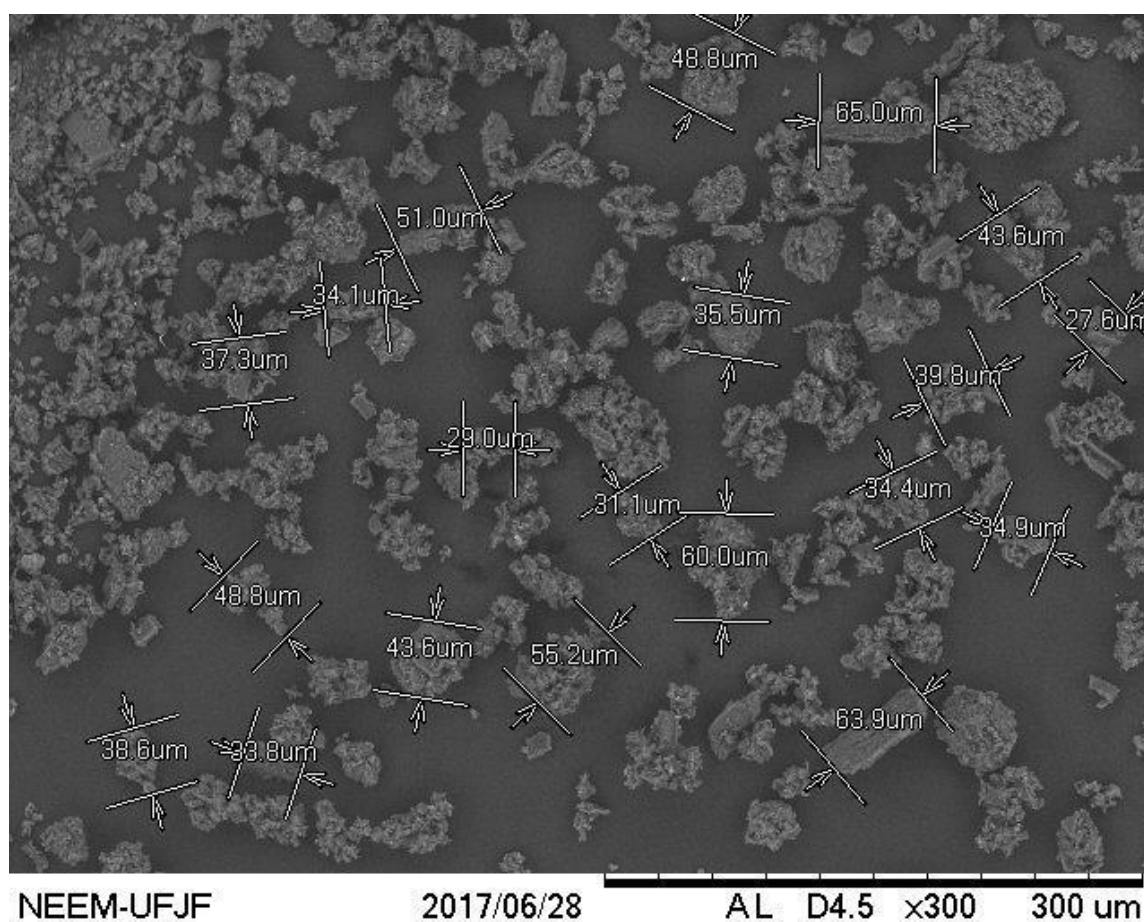
A análise de suspensões tem sido proposta como alternativa para os métodos de decomposição das amostras, pois conjuga satisfatoriamente as vantagens da amostragem de sólidos (redução do tempo de preparo da amostra, minimização dos riscos de contaminação, menor consumo de ácidos concentrados e perdas de analitos por volatilização) e amostragem em fase líquida (fácil distribuição da amostra no atomizador além da possibilidade de diluição). Uma outra vantagem se remete à possibilidade de calibração realizada também por soluções padrão aquosas (Scaccia e Mecozzi, 2012).

Neste sentido, diversas variáveis devem ser controladas para estabelecer as condições experimentais apropriadas para análises de suspensões, como por exemplo: a solução diluente das suspensões, agentes estabilizadores, sistema de homogeneização, tamanho de partícula e proporção de massa de amostra e volume de diluente, entre outras. Assim, as técnicas quimiométricas mostram-se muito úteis para otimizar essas condições (Cal-Prieto *et al.*, 2002).

O tamanho das partículas do material sólido tem papel decisivo na estabilidade das suspensões durante a aspiração, transporte e introdução da amostra, assim como na eficiência da atomização. Alguns autores sugerem que o tamanho médio de partículas não exceda 30 µm para a introdução de suspensões em GF AAS, porém Miller-Ihli sugere que a análise

direta de suspensões por essa técnica pode tolerar partículas com até 500 μm em alguns casos (Miller-Ihli, 1990). Para as amostras de tabaco verificou-se na imagem obtida por SEM, mostrada na Figura 8, que o tamanho médio das partículas obtidas após os processos de pulverização e peneiramento foi inferior a 65 μm .

Figura 8 – Microfotografia obtida por microscopia eletrônica de varredura para uma amostra de tabaco. Parâmetros: tensão de aceleração: 15 kV; ampliação: 300x; distância de trabalho: 6 mm; corrente de emissão: 34,2 μA ; corrente do filamento: 1750 mA.



Fonte: Elaborado pelo próprio autor (2019).

Para manutenção da estabilidade das suspensões, além do cuidado com a densidade e tamanho de partículas, geralmente recomenda-se a utilização de agentes tixotrópicos. O Triton X-100 frequentemente é usado, porém sua capacidade é dependente das características

da amostra e das propriedades das partículas. Na literatura encontram-se dados relativos à utilização deste em concentrações que variam de 0,05 a 1% v/v.

O ácido nítrico é o diluente mais utilizado para obtenção de suspensões não só por atuar como um meio propriamente dito para suspensão, mas também como extrator de analitos metálicos. Além de agente oxidante pode ser considerado um agente modificador, pois auxilia no processo de mineralização das amostras durante as etapas do programa de aquecimento do tubo de grafite, minimizando assim os efeitos de matriz e a formação de resíduos carbonáceos dentro do atomizador. Isso melhora a precisão das análises e favorece a estabilidade da suspensão (Krug e Rocha, 2016).

Para a homogeneização das suspensões optou-se por variar diferentes tempos de agitação, de 0 a 30 minutos, em banho ultrassônico. Destaca-se a agitação ultrassônica na etapa de amostragem, que também proporciona extração parcial ou total de muitos analitos da fase sólida para fase líquida (Krug e Rocha, 2016). A proporção de massa de amostra e volume de diluente baseou-se nas referências para a digestão ácida em forno micro-ondas (He *et al.*, 2015; Zumbado *et al.*, 2019), fixando-se a mesma em 1,4 % m/v.

A partir dos diferentes ensaios realizados de acordo com a Tabela 3, foram feitas as determinações de chumbo por GF AAS, obtendo-se valores de absorvância média, para as medidas realizadas em triplicata. Na Tabela 4 estão representadas a matriz X e a matriz Y, as quais foram utilizadas para os cálculos dos coeficientes do modelo do planejamento fatorial.

Tabela 4 – Matriz X e matriz Y referentes ao planejamento Box Behnken realizado para preparar suspensões de tabaco. Resposta observada: absorvância média (n = 3).

Matriz X										Matriz Y
X ₀	X ₁	X ₂	X ₃	X ₁ X ₁	X ₂ X ₂	X ₃ X ₃	X ₁ X ₂	X ₁ X ₃	X ₂ X ₃	Absorvância (s)
1	-1	-1	0	1	1	0	1	0	0	0,0635 ± 0,0080
1	1	-1	0	1	1	0	-1	0	0	0,3976 ± 0,0207
1	-1	1	0	1	1	0	-1	0	0	0,2306 ± 0,0203
1	1	1	0	1	1	0	1	0	0	0,2952 ± 0,0255
1	-1	0	-1	1	0	1	0	1	0	0,2227 ± 0,0192
1	1	0	-1	1	0	1	0	-1	0	0,3504 ± 0,0080
1	-1	0	1	1	0	1	0	-1	0	0,1642 ± 0,0189
1	1	0	1	1	0	1	0	1	0	0,3398 ± 0,0226
1	0	-1	-1	0	1	1	0	0	1	0,3603 ± 0,0119
1	0	1	-1	0	1	1	0	0	-1	0,2223 ± 0,0179
1	0	-1	1	0	1	1	0	0	-1	0,4149 ± 0,0363
1	0	1	1	0	1	1	0	0	1	0,3122 ± 0,0203
1	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0,3023 ± 0,0108
1	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0,3952 ± 0,0277
1	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0,3431 ± 0,0332

Fonte: Elaborado pelo próprio autor (2019).

Com auxílio do *software* Excel foi possível determinar os coeficientes de cada fator e da interação entre eles, além das respectivas variâncias e significância com 95% de confiança, através dos produtos matriciais descritos nas Equações 1, 2 e 3.

$$b = (X^T X)^{-1} (X^T Y) \quad (\text{Equação 1})$$

$$v_{(b)} = \sqrt{(X^T X)^{-1} \alpha^2} \quad (\text{Equação 2})$$

$$IC = b \pm t v_{(b)} \quad (\text{Equação 3})$$

onde b é a matriz dos estimadores do modelo, X é a matriz X, X^T é a matriz transposta de X, $(X^T X)^{-1}$ é a matriz inversa do produto matricial da matriz transposta de X pela matriz X, Y é

a matriz Y , $v_{(b)}$ é a matriz das incertezas dos estimadores, α^2 é a variância dos erros, IC é o intervalo de confiança dos efeitos e t é o parâmetro da distribuição de Student.

Na Tabela 5, a seguir, estão os valores dos coeficientes do modelo com seus respectivos intervalos de confiança a um nível de 95 % de significância.

Tabela 5 – Coeficientes e intervalo de confiança dos estimadores do modelo do planejamento Box Behnken a 95% de significância ($t_{(2;0,025)} = 4,303$).

Estimadores	Intervalo de confiança	
	$b - tv_{(b)}$	$b + tv_{(b)}$
b_0	0,3468	0,2312 0,4625
b_1	0,0878	0,0169 0,1586
b_2	-0,0220	- 0,0928 0,0488
b_3	0,0094	- 0,0614 0,0803
b_{11}	-0,0791	- 0,1834 0,0251
b_{22}	-0,0210	- 0,1252 0,0833
b_{33}	0,0016	- 0,1027 0,1058
b_{12}	-0,0674	- 0,1676 0,0328
b_{13}	0,0120	- 0,0882 0,1121
b_{23}	0,0088	- 0,0913 0,1090

Fonte: Elaborado pelo próprio autor (2019).

A partir da Tabela 5 foi possível verificar que apenas o estimador do modelo relacionado à concentração de HNO_3 se mostrou significativo para o modelo, uma vez que não contém o zero em seu intervalo de confiança. O estimador relativo à concentração de Triton X-100 apresentou influência negativa, apesar de não ser significativo, enquanto que o tempo de sonicação foi positivo. Dessa forma, esses fatores foram fixados no nível baixo e médio, respectivamente. Em seguida, aplicou-se a análise de variância (ANOVA) para o modelo estudado, onde verificou-se que não houve evidências de falta de ajuste a 95% de confiança, dado que os valores de $F_{calculado}$ foram menores que o $F_{tabelado}$, Tabela 6. Sendo assim, construiu-se as superfícies de resposta para o modelo (Figura 9), evidenciando que o mesmo foi altamente significativo, podendo assim ser utilizado para fins de previsão.

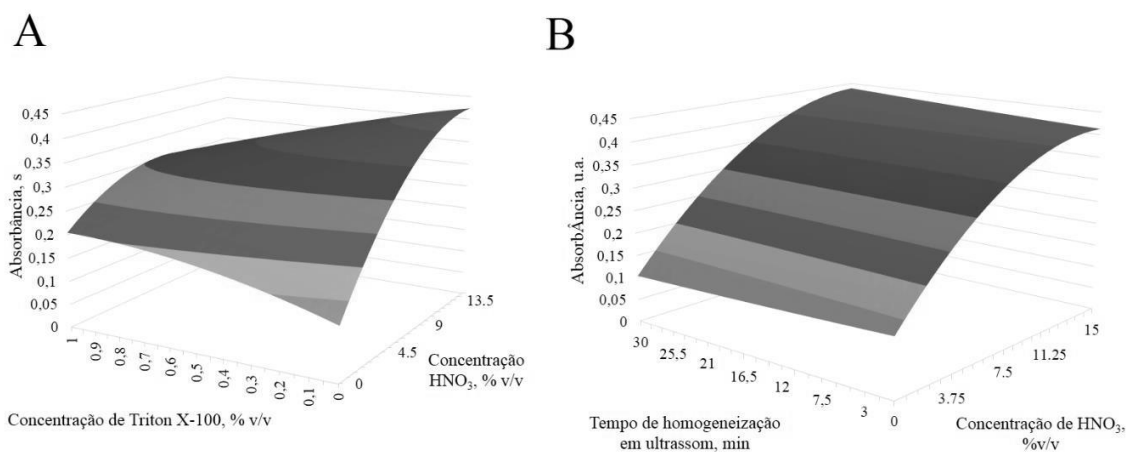
Tabela 6 – Valores estatísticos para análise de variância do modelo de preparo de suspensão para determinação de chumbo em tabaco por GF AAS. Falta de ajuste: $F_{crítico} = 19,16$; significância: $F_{crítico} = 0,287$.

	Falta de Ajuste	Significância	% Máxima Explicada	% Máxima de Variação Explicável
<i>F_{calculado}</i>	2,845	2,66	82,7%	96,7%

Fonte: Elaborado pelo próprio autor (2019).

De acordo com a Figura 9, observa-se que em ambas as superfícies de resposta existe uma tendência de aumento significativo do sinal analítico com o aumento da concentração de ácido nítrico. Na Figura 9A essa tendência é apontada em concentrações mínimas de Triton X-100, enquanto na Figura 9B o tempo de sonicação exerceu pouca ou nenhuma influência sobre o aumento do sinal analítico. Logo, a condição de preparo das suspensões para determinação de Pb em amostras de tabaco por GF AAS foi definida com razão da massa de amostras e volume de solução diluente de 1,4% m/v, concentração da solução diluente de HNO₃ de 15% v/v e 15 minutos de sonicação em banho ultrassom, sem a necessidade de se utilizar o Triton X-100.

Figura 9 – Superfícies de resposta obtida para o planejamento Box Behnken 3^3 para otimização de preparo de suspensões de tabaco com: (A) variável X_3 (tempo em banho ultrassônico) fixada no nível médio (15 min de agitação); (B) variável X_2 (concentração de Triton X-100) fixada no nível inferior (sem adição de surfactante).



Fonte: Elaborado pelo próprio autor (2019).

Dessa forma, a Figura 10 apresenta o aspecto visual de uma suspensão de tabaco de uma das amostras, obtida após o processo de preparo baseado nas condições experimentais otimizadas pelo planejamento do tipo Box Behnken, 3^3 .

Figura 10 – Aspecto visual da suspensão de tabaco de uma das amostras após o procedimento de preparo.



Fonte: Elaborado pelo próprio autor (2019).

4.2. OTIMIZAÇÃO INSTRUMENTAL PARA DETERMINAÇÃO DE CHUMBO NAS AMOSTRAS DE SUSPENSÃO DE TABACO

Pode-se considerar que a primeira etapa da otimização instrumental para o desenvolvimento de métodos por GF AAS é a avaliação da necessidade de utilização de modificadores químicos. Os modificadores químicos são empregados com finalidade de reduzir, ou mesmo eliminar, interferências provocadas pela matriz ou concomitantes presentes na amostra. A função do modificador químico é transformar o analito em uma forma química mais estável e/ou converter os concomitantes em formas químicas mais voláteis, permitindo que temperaturas mais elevadas sejam empregadas durante a pirólise promovendo a separação analito-matriz, sem com isso, afetar a atomização do analito de interesse (Welz e Sperling, 1998; Oliveira *et al.*, 2006).

A verificação da necessidade de utilização do modificador químico foi através da variação dos sinais de absorbâncias para as amostras na forma de suspensão analisadas em diferentes temperaturas de pirólise com e sem a adição do modificador químico seguindo, inicialmente, o programa de aquecimento indicado pelo *software* do equipamento e disposto na Tabela 7. Foi preparada uma amostra de estudo para que a mesma fosse representativa para a matriz de interesse. Dessa forma, essa amostra “mistura” consistiu em pesar aproximadamente 500 mg de cada amostra previamente pulverizada e com o tamanho de partícula pré-definido (mediante a peneiramento). A amostra “mistura” foi utilizada para preparar as suspensões em meio ácido conforme o procedimento otimizado e descrito anteriormente.

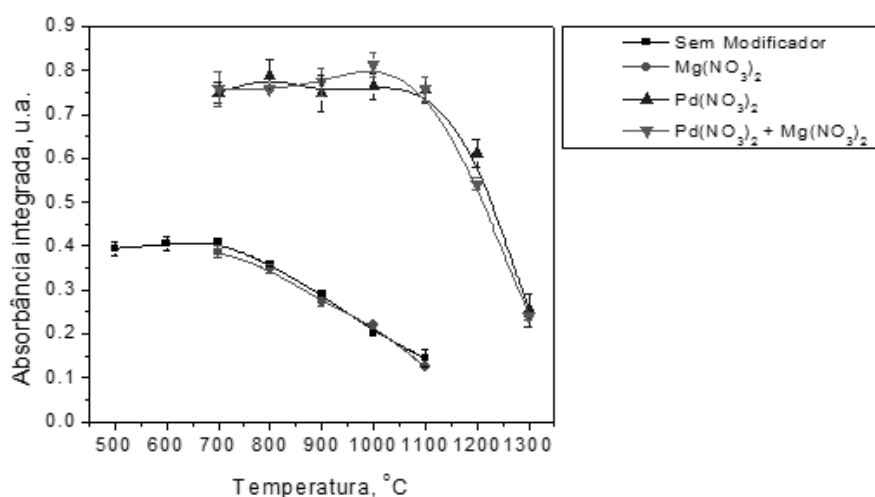
Tabela 7 – Programa de aquecimento fornecido pelo *software* SOLAAR para determinação de Pb por GF AAS.

Etapa	Temperatura (°C)	Tempo (s)	Rampa de Aquecimento (°C/s)	Vazão de Gás, Ar (L/min)
Secagem	100	30	10	0,2
Pirólise	800	20	150	0,2
Atomização	1200	3	0	-
Limpeza	2500	3	0	0,2

Fonte: Adaptado de (Solaar Software Control).

Foram avaliados individualmente os modificadores nitrato de paládio e nitrato de magnésio, além da mistura de ambos. E, de acordo com os dados obtidos na Gráfico 2, fica evidente que o $\text{Pd}(\text{NO}_3)_2$, quando presente, exerce maior influência como modificador químico para as amostras na forma de suspensões. Além disso, quando misturado à amostra o $\text{Mg}(\text{NO}_3)_2$, em conjunto com o $\text{Pd}(\text{NO}_3)_2$, foram obtidos valores de absorvância ligeiramente superiores para temperaturas de pirólise variando de 900 a 1100 °C. Desta forma, a mistura de nitrato de paládio e nitrato de magnésio foi escolhida para o prosseguimento dos testes.

Gráfico 2 – Curvas de pirólise em função de diferentes modificadores químicos para determinação de chumbo em suspensões de tabaco, em meio ácido, por GF AAS utilizando o programa de aquecimento disposto na Tabela 7.



Fonte: Elaborado pelo próprio autor (2019).

Na literatura são descritos alguns estudos envolvendo o planejamento de experimentos para otimização de modificadores químicos e diferentes amostras (Arambarri *et al.*, 2000; De Amorim *et al.*, 2006; Álvarez e Carrillo, 2012). Dessa forma, foi realizado um planejamento fatorial 3^2 com triplicata no ponto central para otimização das massas de modificadores químicos utilizados na suspensão de tabaco. Na Tabela 8 estão dispostas as matrizes e a ordem de realização dos experimentos.

Tabela 8 – Planejamento fatorial 3^2 com triplicata no ponto central para otimização da massa de modificadores químicos empregados para determinação de chumbo por GF AAS em amostras de suspensão de tabaco. Parâmetros: X_1 – massa de $Mg(NO_3)_2$ variando de 1 μg (nível -1) a 9 μg (nível +1); X_2 – massa de $Pd(NO_3)_2$ variando de 1 μg (nível -1) a 9 μg (nível +1).

Matriz X						Matriz Y	
X_0	X_1	X_2	X_1X_1	X_2X_2	X_1X_2	Ordem	Absorbância (s)
1	-1	-1	1	1	1	11°	0,4293 \pm 0,0180
1	-1	0	1	0	0	4°	0,3650 \pm 0,0166
1	-1	1	1	1	-1	1°	0,3995 \pm 0,0249
1	0	-1	0	1	0	10°	0,4576 \pm 0,0293
1	0	0	0	0	0	3°	0,2908 \pm 0,0122
1	0	1	0	1	0	2°	0,3729 \pm 0,0080
1	1	-1	1	1	-1	5°	0,4724 \pm 0,0192
1	1	0	1	0	0	9°	0,3243 \pm 0,0192
1	1	1	1	1	1	8°	0,4189 \pm 0,0107
1	0	0	0	0	0	7°	0,3266 \pm 0,0334
1	0	0	0	0	0	6°	0,3091 \pm 0,0144

Fonte: Elaborado pelo próprio autor (2019).

De maneira similar ao planejamento Box Behnken foi possível determinar os coeficientes de cada fator e da interação entre eles, além das respectivas variâncias e significância com 95% de confiança, através dos produtos matriciais descritos nas Equações 1, 2 e 3, como mostrado na Tabela 9.

Tabela 9 – Coeficientes e intervalo de confiança dos coeficientes do modelo a 95% de significância ($t_{(2;0,025)} = 4,303$).

Coeficientes		Intervalo de confiança	
		$b - tv_{(b)}$	$b + tv_{(b)}$
b_0	0,4414	0,1148	0,7681
b_1	0,0011	-0,2588	0,2611
b_2	-0,0278	-0,2878	0,2322
b_{11}	-0,0280	-0,4281	0,3720
b_{22}	-0,0868	-0,4869	0,3132
b_{12}	0,0266	-0,2918	0,3450

Fonte: Elaborado pelo próprio autor (2019).

A partir da Tabela 9 verificou-se que nenhum dos dois fatores avaliados mostraram-se significativos, porém aplicou-se a análise de variância (ANOVA) para o modelo avaliado. Verificou-se que não houve evidências de falta de ajuste a 95% de confiança, dado que os valores de $F_{calculado}$ foram menores que o $F_{tabelado}$, conforme disposto na Tabela 10.

Tabela 10 – Valores estatísticos para análise de variância do modelo de avaliação das massas de modificadores químicos para determinação de chumbo por GF AAS em suspensões de tabaco. Falta de ajuste: $F_{critico} = 19,16$; significância: $F_{critico} = 0,198$.

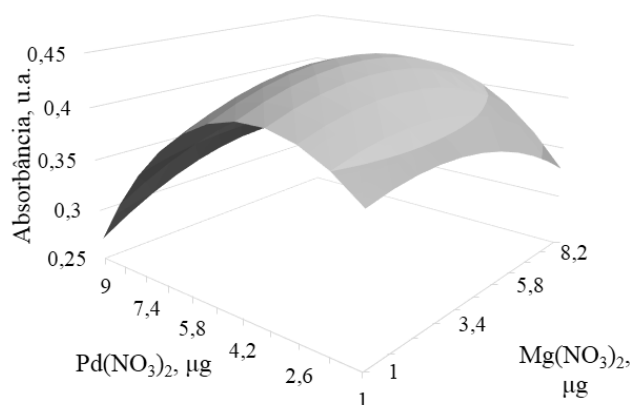
	Falta de Ajuste	Significância	% Máxima Explicada	% Máxima de Variação Explicável
$F_{calculado}$	2,351	7,77	99,3%	99,8%

Fonte: Elaborado pelo próprio autor (2019).

Com base na superfície de resposta disposta na Figura 11, as massas dos modificadores químicos foram fixadas próximas ao ponto central, 4,5 μg de $\text{Pd}(\text{NO}_3)_2$ e 4,5 μg de $\text{Mg}(\text{NO}_3)_2$. Dessa forma, preparou-se uma solução com concentração de 0,9 g L^{-1} de $\text{Pd}(\text{NO}_3)_2$ e de $\text{Mg}(\text{NO}_3)_2$ e, para cada alíquota injetada (20 μL) foram adicionados 5 μL de solução modificadora. A partir desse ponto, com objetivo de avaliar as melhores condições

do programa de aquecimento utilizado para a quantificação de chumbo em amostras de suspensão de tabaco, foi realizada a construção e análise das curvas de pirólise e atomização em função do sinal analítico obtido.

Figura 11 – Superfície de resposta para o planejamento fatorial 3^2 para otimização das massas de modificador químico para determinação de Pb por GF AAS.

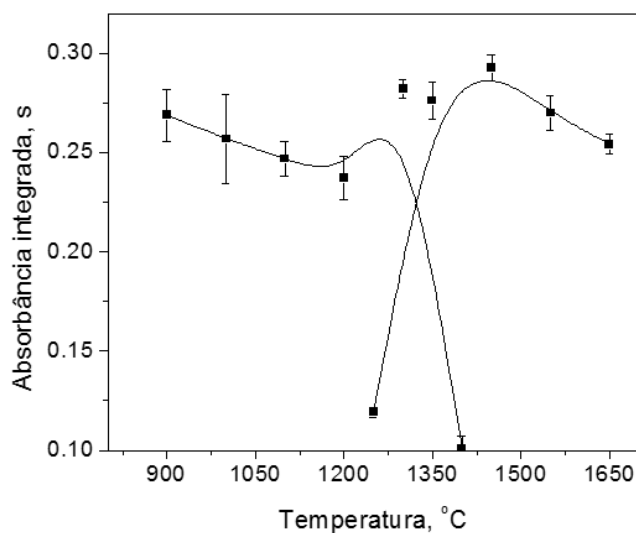


Fonte: Elaborado pelo próprio autor (2019).

Os estudos das temperaturas de pirólise e atomização foram realizados em uma faixa de temperatura de 900 a 1650 °C, variando-se a temperatura em intervalos de 100 °C. Inicialmente variou-se a temperatura entre 900 e 1400 °C a fim verificar a temperatura ótima de pirólise, ponto com maior sinal analítico. A pirólise é uma importante etapa, considerada até mesmo como uma forma de pré-tratamento da amostra *in situ*, e é empregada para eliminar componentes orgânicos e inorgânicos da matriz sem que ocorra perdas significativas do analito. Uma vez fixada a temperatura de pirólise, procedeu-se de maneira similar para otimização da temperatura de atomização.

Uma vez que toda a alíquota introduzida no forno de grafite é atomizada, um sinal dependente do tempo em forma de pico é gerado e sua área (absorbância integrada) é proporcional à massa de analito na solução de medição (Welz e Sperling, 1998). Na Gráfico 3 é possível verificar que para as curvas de pirólise e atomização de chumbo para as suspensões de tabaco a temperatura de pirólise e atomização podem ser definidas como 1250 e 1450 °C, respectivamente.

Gráfico 3 – Curvas de pirólise e atomização para a determinação de chumbo por GF AAS em amostras de suspensão de tabaco. Temperatura de pirólise variando de 900 a 1400 °C e temperatura de atomização variando de 1250 a 1650 °C. Modificador químico: 4,5 µg de $\text{Pd}(\text{NO}_3)_2$ e 4,5 µg de $\text{Mg}(\text{NO}_3)_2$.

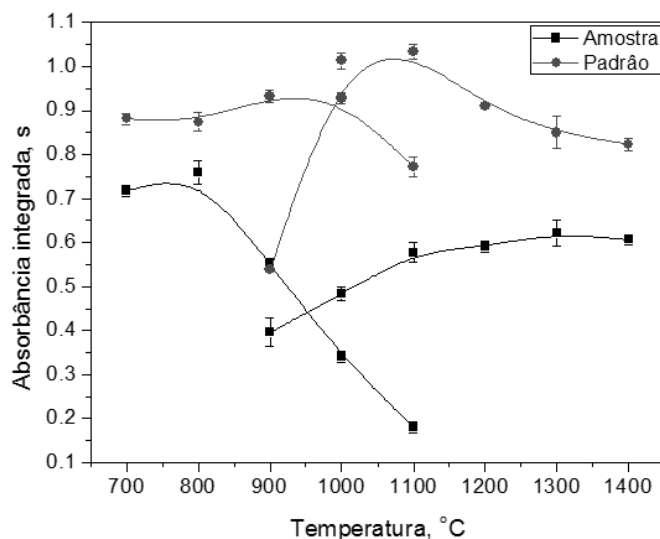


Fonte: Elaborado pelo próprio autor (2019).

Durante a otimização das condições experimentais de preparo das suspensões analíticas, a manutenção do forno micro-onda foi finalizada. Iniciou-se então a otimização das condições de preparo de amostra através da digestão ácida assistida por radiação micro-ondas que será melhor descrita no próximo Capítulo. Foram, então, realizadas comparações das condições instrumentais de análise obtidas para as amostras de suspensões e de digestão total.

Para isso, de maneira semelhante ao descrito para a suspensão de tabaco, foram otimizadas as temperaturas de pirólise e atomização para as amostras digeridas em meio ácido e utilizou-se $\text{Mg}(\text{NO}_3)_2$ como modificador químico, que mostrou-se mais adequado em um teste prévio (não mostrado). As curvas de pirólise e atomização para as amostras digeridas estão dispostas no Gráfico 4 a seguir.

Gráfico 4 – Curvas de pirólise e atomização para determinação de chumbo por GF AAS em amostras de tabaco digeridas em meio ácido com aquecimento por radiação micro-ondas. Temperatura de pirólise variando de 700 a 1100 °C e temperatura de atomização variando de 900 a 1400 °C. Modificador químico: 3,0 µg de Mg(NO₃)₂.



Fonte: Elaborado pelo próprio autor (2019).

Para as amostras de tabaco digeridas em micro-ondas, foi possível obter uma condição de compromisso considerando-se as curvas de pirólise e atomização de uma solução padrão avaliada sob as mesmas condições. As temperaturas ótimas de pirólise e de atomização foram definidas como 800 e 1200 °C, respectivamente.

Ao final do processo de otimização das temperaturas de pirólise e atomização obteve-se os programas de aquecimento do forno de grafite para as suspensões analíticas e para as soluções digeridas como descrito na Tabela 11. Destaca-se que o sistema operacional do espectrômetro disponível no Departamento de Química apresenta uma câmera de vídeo ajustada no caminho óptico permitindo acompanhamento simultâneo das etapas do programa de aquecimento e, além disso, não foram observados comportamentos anômalos como, por exemplo, projeção ou respingos de amostras devido as rampas de aquecimento.

Contudo, durante a etapa de validação do método analítico, o corretor de fundo do espectrômetro de absorção atômica, lâmpada de deutério, apresentou defeito inviabilizando a conclusão desta etapa.

Tabela 11 – Programa de aquecimento otimizado para determinação de Pb em amostras de suspensão e amostras digeridas de tabaco por GF AAS.

Etapa	Temperatura (°C)	Tempo (s)	Rampa de Aquecimento (°C/s)	Fluxo de Gás, Ar (L/min)
Secagem	100	30	10	0,2
Pirólise	1250 ^a , 800 ^b	25	150	0,2
Atomização	1450 ^a , 1200 ^b	3	0	-
Limpeza	2500	3	0	0,2

^a Suspensões de tabaco; ^b soluções digeridas em micro-ondas.

Fonte: Elaborado pelo próprio autor (2019).

Os resultados até então obtidos se mostram interessantes e justificam dados disponíveis na literatura. Conforme esperado, a temperatura de pirólise requerida para a suspensão de tabaco é significativamente superior que para a solução digerida, uma vez que a própria matriz das amostras desempenha papel semelhante ao modificador químico evitando as perdas dos analitos durante a execução do programa de aquecimento. Enquanto que, na solução digerida, a matriz é decomposta previamente no forno micro-ondas com auxílio do reagente ácido e, dessa forma, torna-se necessária uma temperatura de pirólise menor para eliminação dos componentes orgânicos e inorgânicos residuais.

5. CONCLUSÕES PARCIAIS E PERSPECTIVAS

Foi possível otimizar um método de preparo de suspensões visando a determinação de chumbo em amostras de tabaco utilizando a espectrometria de absorção atômica com forno de grafite. As condições instrumentais foram também estudadas e comparadas com as condições obtidas para soluções das mesmas amostras digeridas em micro-ondas.

Verificou-se diferenças, já esperadas, entre as temperaturas de pirólise e atomização dos dois métodos de preparo de amostras. As temperaturas de pirólise foram 1250 e 800 °C, enquanto as temperaturas de atomização foram 1450 e 1200 °C para as amostras de tabaco em suspensão e digeridas, respectivamente.

Infelizmente, no decorrer do desenvolvimento do trabalho o espectrômetro de absorção atômica disponível apresentou problemas técnicos requerendo manutenção. O equipamento, ainda no ano de 2019, apresentou falhas também no sistema de resfriamento do forno de grafite. Dessa forma, tornou-se inviável a conclusão desses estudos. Nesse contexto, vale ressaltar que a determinação de Pb, um elemento que apresenta linha de ressonância abaixo de 300 nm, requer o funcionamento da lâmpada de deutério para garantir medidas livres de absorção molecular. Por isso, os problemas técnicos manifestados em ambos, sistema de correção de fundo e no *chiller*, impediram a finalização desse estudo, a qual se torna uma perspectiva futura para esta parte do trabalho.

6. PRODUÇÃO TÉCNICA

□ Essa parte da tese foi apresentada no XXXII Encontro Regional da Sociedade Brasileira de Química de Minas Gerais (XXXII ERSBQ-MG) realizado na cidade de Juiz de Fora, Minas Gerais, entre os dias 9 e 11 de novembro de 2018. O trabalho intitulado “Diferentes estratégias para o preparo de amostra e otimização instrumental na determinação de chumbo em tabaco por GF AAS” foi apresentado de forma oral, como *Flash Presentation*, na seção de Química Analítica.

**CAPÍTULO 3 – OTIMIZAÇÃO DAS CONDIÇÕES EXPERIMENTAIS DE
PREPARO DE AMOSTRAS POR DIGESTÃO ASSISTIDA POR RADIAÇÃO
MICRO-ONDAS E INSTRUMENTAIS PARA DETERMINAÇÃO DE CROMO
UTILIZANDO A ESPECTROMETRIA DE ABSORÇÃO ATÔMICA COM FORNO
DE GRAFITE**

7. PARTE EXPERIMENTAL

7.1. REAGENTES E SOLUÇÕES

Adicionalmente aos reagentes e soluções descritos no item 3.1, do Capítulo 2, foi utilizado ácido clorídrico (HCl 37% m/m, Vetec P.A.) na etapa de tratamento das amostras. As curvas analíticas foram preparadas a partir de diluição das soluções padrão estoque 1000 mg L⁻¹ de Cr (Qhemis High Purity) em meio de ácido nítrico 2% v/v.

7.2. INSTRUMENTAÇÃO E MATERIAIS

As digestões das amostras foram realizadas empregando digestor de micro-ondas SpeedWave 4 (Berghof, Germany) equipado com gerador de micro-ondas com potência de 1450 W e controle de temperatura e pressão. Foram utilizados 12 frascos de alta pressão (DAP-30) e 12 frascos de baixa pressão (DAP-60), ambos de Teflon-PTFE (politetrafluoretileno). Os frascos recebem essa denominação de fábrica e suportam pressões máximas de 60 bar (DAP-30) e 30 bar (DAP-60).

7.3. ESPECTROSCOPIA DE ENERGIA DISPERSIVA

As amostras de tabaco foram caracterizadas através de uma análise de *screening* (varredura analítica) utilizando a espectroscopia de energia dispersiva (EDS, do inglês *Energy Dispersive X-Ray Spectroscopy*) com aumento óptico de 1500x (Bruker Nano GmbH, modelo Quantax 70, Germany).

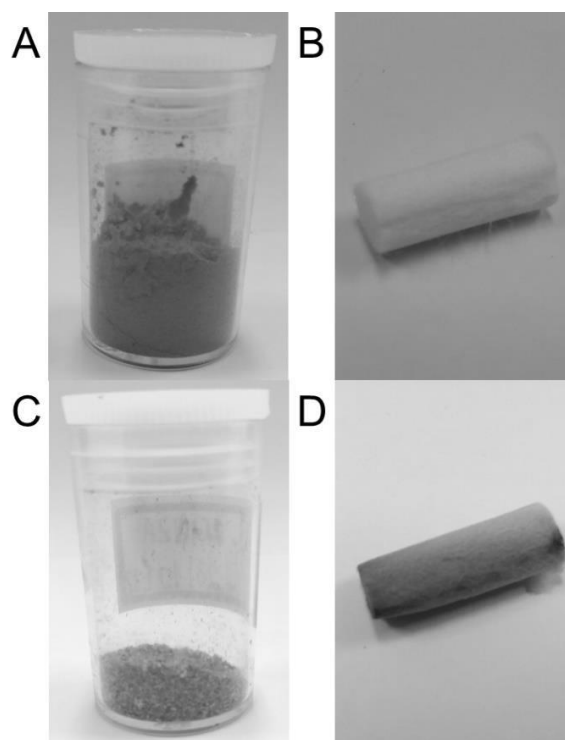
7.4. PREPARO DE AMOSTRAS

7.4.1. Pré-tratamento das Amostras

As amostras de cigarro adquiridas foram divididas em duas partes, uma para a realização dos experimentos envolvendo a parte pré-queima e outra para a parte pós-queima,

conforme mostrado na Figura 12. Nesse sentido, os cigarros foram fracionados separando-se o papel, o filtro (codificados como FV-1 a FV-12, para filtros pré-queima; e, FU-1 a FU-12, para filtros pós-queima), o tabaco, já mencionados anteriormente, e as cinzas (codificadas como C-1 a C-12).

Figura 12 – Amostras pré-queima (A) tabaco e (B) filtro de acetato de celulose, e amostras pós-queima (C) cinzas e (D) filtro de acetato de celulose.



Fonte: Elaborado pelo próprio autor (2019).

Para obtenção das frações definidas como pós-queima, os cigarros passaram por um processo simulado de queima envolvendo condições simuladas e pré-definidas como: volume de tragada, duração da tragada e intervalo de tempo entre as tragadas. Estes parâmetros são regulados pela Organização Internacional da Padronização (ISO 3308:2012, do inglês *International Organization for Standardization*) (ISO, 2012), e estão definidos na Tabela 12.

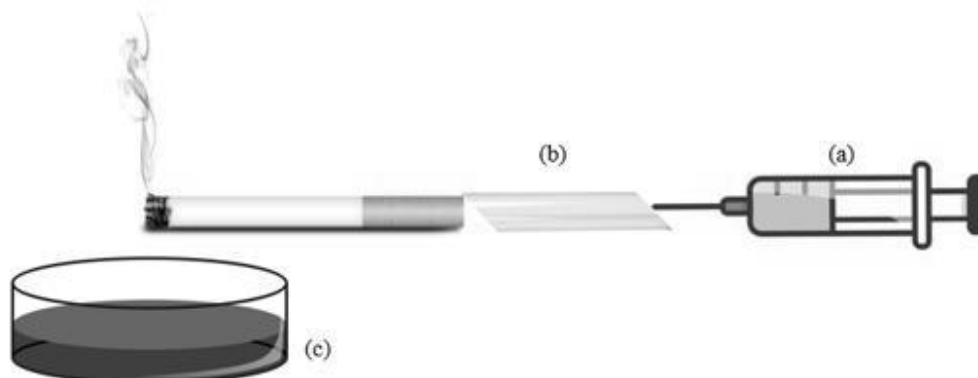
Tabela 12 – Parâmetros de queima simulada de cigarros utilizados para obtenção das frações pós-queima (filtro, cinzas).

Volume de tragada (mL)	Tempo de duração (s)	Intervalo entre tragadas (s)
35	2	60

Fonte: Elaborado pelo próprio autor (2019).

Tais parâmetros foram reproduzidos utilizando um arranjo instrumental como ilustrado na Figura 13.

Figura 13 – Arranjo instrumental construído para obtenção das frações pós-queima: (a) seringa de 60 mL; (b) duto condutor; e, (c) placa de Petri.



Fonte: Elaborado pelo próprio autor (2019).

Para as amostras de tabaco e cinzas, foram preparadas amostras misturas (como mencionado no Capítulo anterior) a fim de realizar as etapas de otimização instrumental. As demais amostras, em função da dificuldade de se obter misturas homogêneas, optou-se por realizar o tratamento diretamente sobre uma amostra escolhida de forma randômica.

7.4.2. Digestão Ácida Assistida por Radiação Micro-ondas

As amostras de tabaco foram digeridas mediante digestão ácida e radiação micro-ondas adaptando-se métodos empregados na literatura com o método sugerido pelo *software* operacional do digestor (He *et al.*, 2015; Zumbado *et al.*, 2019); o programa de aquecimento

utilizado está disposto na Tabela 13. Foram pesados aproximadamente 150 mg de amostra seca diretamente no frasco DAP-30 e adicionou-se 6 mL de HNO₃ 65% v/v, previamente destilado. As amostras digeridas foram avolumadas para 10,00 mL em balões volumétricos e transferidas para tubos de polipropileno, do tipo Falcon, previamente limpos e estocadas em temperatura ambiente.

Tabela 13 – Programa de aquecimento do forno micro-ondas empregado para digestão ácida de amostras de tabaco e cinzas.

Temperatura (°C)	Tempo de Alcance - Rampa (min)	Tempo de Residência (min)	Potência (W)
140	5	5	1305
180	4	10	1305
200	4	10	1305

Fonte: Adaptado de (He *et al.*, 2015; Zumbado *et al.*, 2019; Berghof SpeedWave 4).

As amostras de filtro pré-queima e pós-queima foram preparadas seguindo o programa de aquecimento disposto na Tabela 14 a seguir. Este programa é uma adaptação do método desenvolvido por Mimura *et al.* (2017), utilizado para digestão de filtros de acetato de celulose (Mimura *et al.*, 2017). Os filtros dos cigarros foram pesados diretamente nos frascos DAP-60, obtendo-se as massas médias de 100 e 110 mg para os filtros pré-queima e pós-queima, respectivamente. Adicionou-se 6 mL de água régia (AR) (HCl : HNO₃, 3 : 1 v/v) diluída (AR : H₂O, 1 : 2 v/v). As amostras digeridas foram avolumadas para 10,00 mL em balões volumétricos e transferidas para tubos de polipropileno previamente limpos.

Tabela 14 – Programa de aquecimento do forno micro-ondas utilizado para digestão ácida de amostras de filtro.

Temperatura (°C)	Tempo de Alcance - Rampa (min)	Tempo de Residência (min)	Potência (W)
150	4	14	1160

Fonte: Adaptado de (Mimura *et al.*, 2017).

As amostras de cinzas foram digeridas seguindo o programa de aquecimento disposto na Tabela 13. Utilizou-se frascos DAP-30, onde foram pesados aproximadamente 50 mg de amostra e adicionou-se 6 mL de ácido nítrico diluído (HNO_3 : H_2O , 1 : 1 v/v). As amostras digeridas foram avolumadas para 10,00 mL em balões volumétricos e transferidas para tubos de polipropileno previamente limpos.

7.5. ESPECTROMETRIA DE ABSORÇÃO ATÔMICA COM FORNO DE GRAFITE

Foi utilizado o espectrômetro de absorção atômica, disponível no Departamento de Química, equipado com lâmpadas de cátodo oco de cromo operando com corrente máxima de 6 mA, fenda espectral de 0,5 nm e comprimento de onda de 357,9 nm.

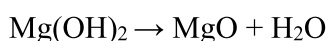
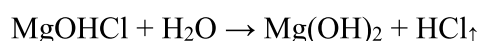
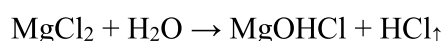
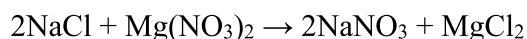
Realizou-se testes verificando a necessidade de utilização de modificadores químicos bem como a otimização das temperaturas de pirólise e de atomização para todas as diferentes amostras.

8. RESULTADOS E DISCUSSÕES

8.1. OTIMIZAÇÃO INSTRUMENTAL PARA DETERMINAÇÃO DE CROMO EM AMOSTRAS DE TABACO, FILTRO E CINZAS

Uma vez apresentada a falha técnica no sistema de correção de fundo, baseado no uso de uma lâmpada de deutério, optou-se por realizar as otimizações instrumentais do cromo para as amostras. Para determinações de cromo por GF AAS a utilização de correção de fundo por fonte contínua por vezes se mostra desnecessária. Isso se deve ao fato de que em comprimentos de onda acima de 320 nm o deutério apresenta perdas significativas do efeito de correção. Para comprimentos de onda maiores, pode ser necessária a utilização de lâmpadas halógenas (fonte contínua) (Welz e Sperling, 1998).

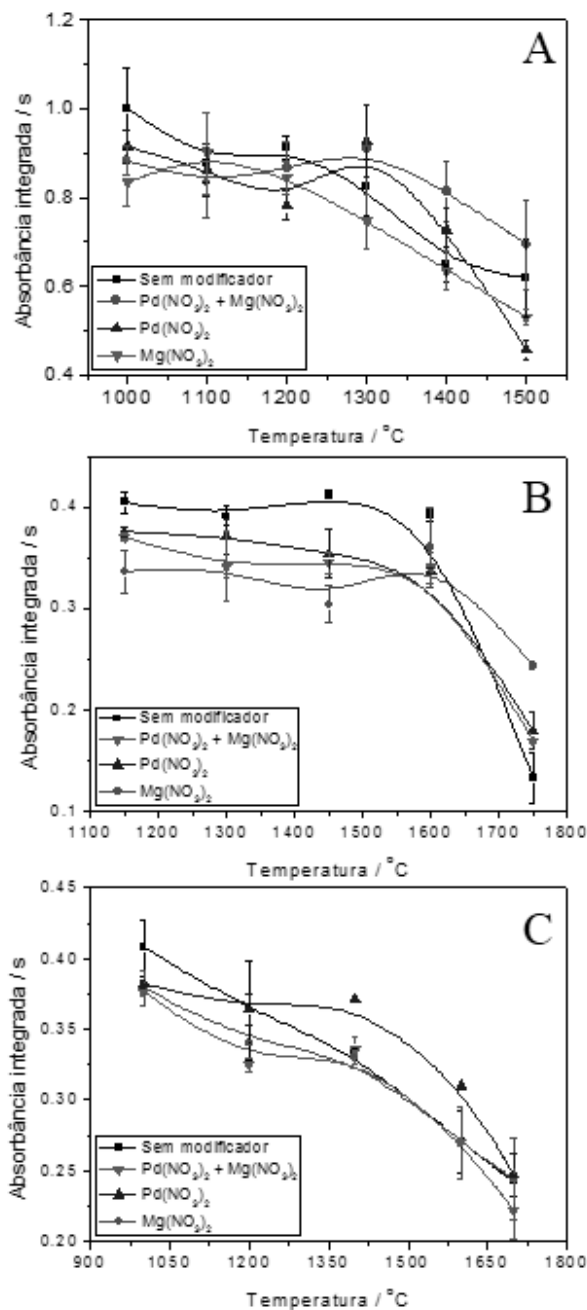
O uso de modificador químico por vezes pode também ser considerado desnecessário em função do comportamento refratário do cromo; entretanto, baixas temperaturas de pirólise podem afetar na eliminação de matrizes complexas (Minami *et al.*, 1994; Bolzan, 2007). O emprego de modificadores como o nitrato de magnésio, $Mg(NO_3)_2$, são reportados na literatura para a determinação de cromo em diferentes tipos de matrizes permitindo estabilizar termicamente o analito durante a etapa de pirólise, eliminando a matriz sem perdas de analito (Cabrera-Vique e Bouzas, 2009; Dobrowolski *et al.*, 2012). De modo geral, acredita-se que o $Mg(NO_3)_2$ promova reações químicas durante a etapa de pirólise favorecendo a eliminação de cloretos da matriz e permite ainda que o analito fique adsorvido nas redes cristalinas de óxidos de magnésio, aumentando assim sua estabilidade térmica. Além disso, o aumento da estabilidade térmica dos analitos está associado à formação de substâncias intermetálicas em decorrência da utilização de $Pd(NO_3)_2$.



De maneira semelhante ao método desenvolvido para avaliação de chumbo, modificadores tradicionais como o $Mg(NO_3)_2$ e o $Pd(NO_3)_2$ foram avaliados tanto para

soluções de amostras digeridas, quanto para soluções padrão em diferentes temperaturas, buscando condições de compromisso, ou seja, maior razão de sinal analítico entre as duas soluções. Os resultados para as amostras de tabaco, filtro e cinzas são mostrados no Gráfico 5.

Gráfico 5 – Curvas de pirólise avaliando da eficiência de diferentes modificadores químicos para estabilização térmica de soluções digeridas de: (A) tabaco; (B) filtro; e, (C) cinzas.



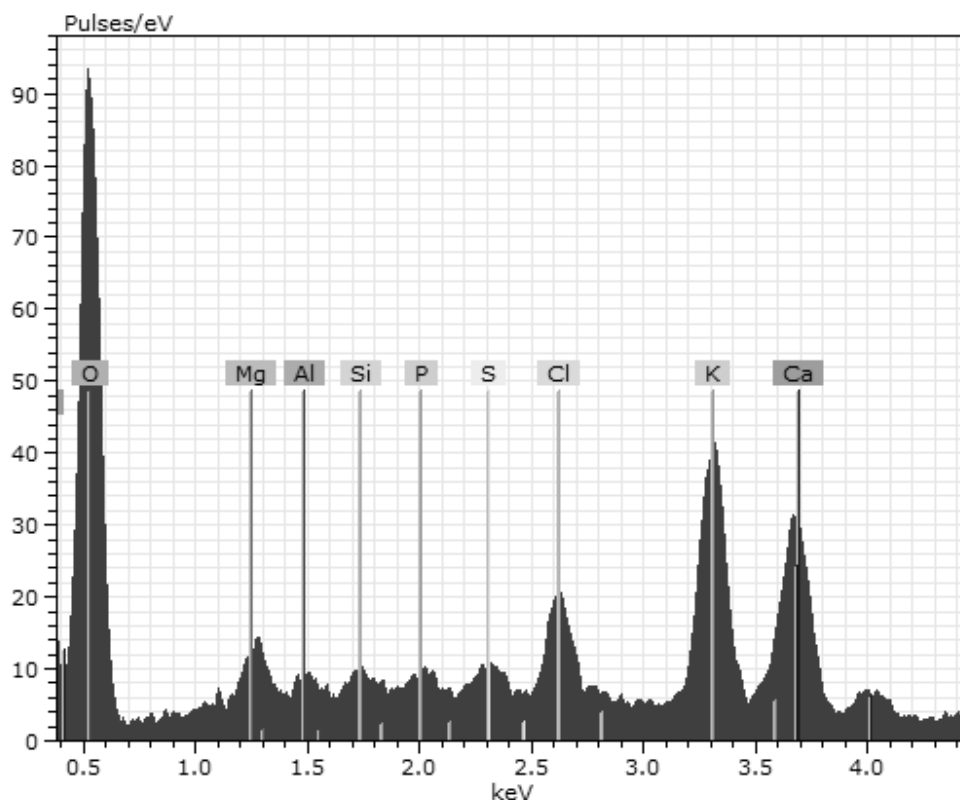
Fonte: Elaborado pelo próprio autor (2019).

Tendo em vista os resultados obtidos, pode-se concluir que ocorre diferente interação entre o analito, a matriz, o modificador químico e a superfície do tubo de grafite para as

diferentes amostras. Para a amostra de tabaco, Gráfico 5A, apesar das temperaturas próximas foi observada maior eficiência da mistura de modificadores, $\text{Pd}(\text{NO}_3)_2$ e $\text{Mg}(\text{NO}_3)_2$, para estabilização térmica do cromo, sendo definida essa mistura numa razão de massa de 3 μg de $\text{Pd}(\text{NO}_3)_2$ e 3 μg de $\text{Mg}(\text{NO}_3)_2$ no volume de injeção.

A amostra de filtro, Gráfico 5B, apresentou perfil diferente das demais, não requerendo a utilização de modificadores químicos. De maneira geral, acredita-se que a matriz da solução digerida apresentou características químicas que possibilitaram empregar programas de aquecimento sem a utilização de modificadores químicos como, por exemplo, a presença de magnésio no tabaco como evidenciado pela varredura analítica realizada através das análises por EDS disposta na Figura 14. Tais concentrações possivelmente poderiam ser retidas nos filtros. Além disso, o processo de digestão das amostras foi realizado empregando soluções diluídas de água régia, de forma que a matriz apresenta características distintas das outras amostras. Portanto, nas demais etapas do desenvolvimento dos métodos analíticos as amostras de filtro foram avaliadas sem a adição de modificadores. Já para melhor estabilização do cromo nas amostras de cinzas, Gráfico 5C, apenas o $\text{Pd}(\text{NO}_3)_2$, 3 μg na solução de injeção, se mostrou mais efetivo.

Figura 14 – Varredura analítica realizada por espectroscopia de energia dispersiva em uma das amostras de tabaco. Condições: aumento óptico de 1500x, fonte de energia primária de 15 keV, detector XFlash 430 com espessura de 0,45 mm e 2048 canais.



Fonte: Elaborado pelo próprio autor (2021).

Dessa forma, a otimização das temperaturas de pirólise e atomização foi realizada utilizando a mistura de modificadores $\text{Pd}(\text{NO}_3)_2$ e $\text{Mg}(\text{NO}_3)_2$ para as amostras de tabaco, $\text{Pd}(\text{NO}_3)_2$ para as amostras de cinzas e sem a utilização de modificadores químicos para as amostras de cinzas.

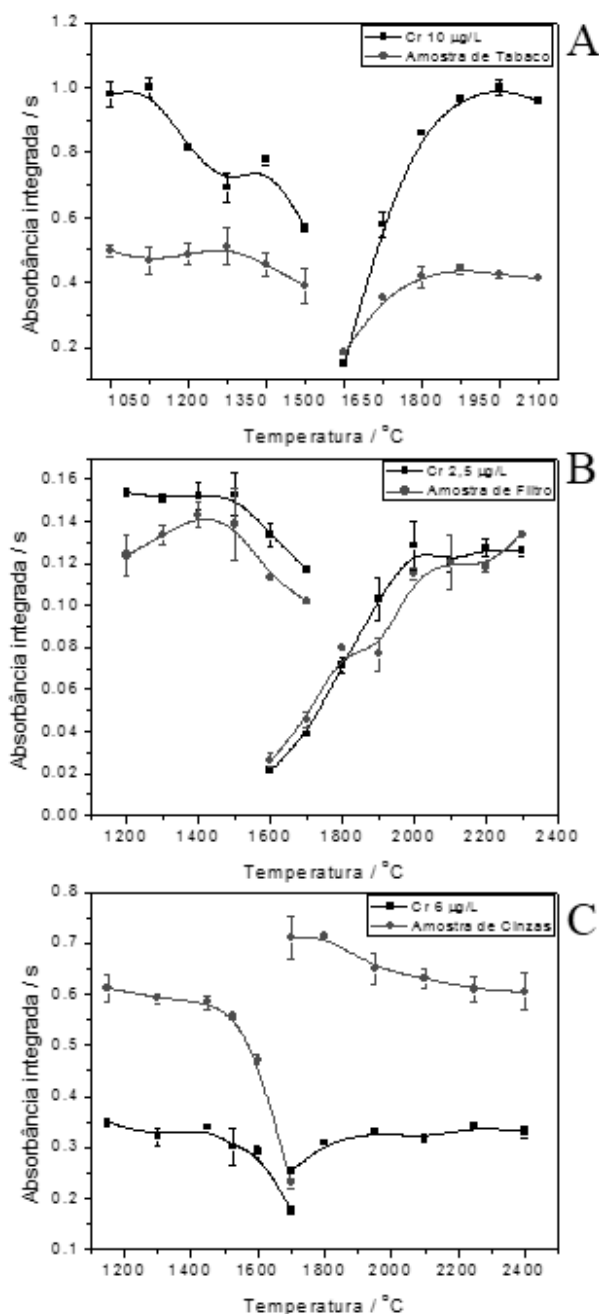
Em determinações de cromo por GF AAS pode-se enfrentar problemas como: perda de analito antes da atomização, resultando queda de sensibilidade em matrizes mais complexas, efeitos de memória, difícil correção do sinal de fundo com fonte contínua e problemas de contaminação durante a etapa de preparo de amostra (Thomaidis e Piperaki, 2000; Bolzan, 2007). A baixa sensibilidade observada pode estar relacionada à formação de carbetos, visto que o cromo é um metal refratário que tende a formá-los em atomizadores de grafite requerendo altas temperaturas de atomização (Barbosa *et al.*, 2004). Dessa forma, um

melhor desempenho analítico, ou seja, temperaturas de pirólise mais altas e maior sensibilidade, é obtido utilizando forno de grafite com revestimento pirolítico (Slavin, 1988; Tsalev *et al.*, 2000).

Para atomização eletrotérmica o volume de amostra, 25 μL quando empregado modificador e 20 μL sem a utilização do mesmo, foi inserido sobre o atomizador e um programa de aquecimento foi seguido sob etapas subsequentes de forma que o solvente e a matriz da amostra sejam eliminados antes do fenômeno de atomização, isto é, secagem e pirólise, respectivamente. Dentre essas, a pirólise é uma etapa importante; considerada como pré-tratamento da amostra e empregada para eliminar componentes orgânicos e inorgânicos da matriz sem que ocorra perdas do analito. Uma vez que toda a alíquota introduzida no forno de grafite é atomizada, um sinal dependente do tempo em forma de pico é gerado e sua área (absorbância integrada) é proporcional à massa do analito na solução de medição (Welz e Sperling, 1998).

Com objetivo de avaliar as melhores condições do programa de aquecimento utilizado para a quantificação de cromo nas amostras, foi realizada a construção e avaliação de curvas de pirólise e atomização em função do sinal analítico obtido para cada amostra. Os estudos foram realizados em uma faixa de temperatura de 1000 a 1700 $^{\circ}\text{C}$ para pirólise. Uma vez encontradas e definidas as temperaturas de pirólise para os diferentes tipos de amostras, procedimento semelhante foi seguido variando-se a temperatura de atomização, avaliada para a faixa de 1600 a 2400 $^{\circ}\text{C}$ a fim de se observar em qual temperatura seria possível obter a melhor sensibilidade. As curvas de pirólise e atomização para amostras de tabaco, filtro e cinzas estão dispostas no Gráfico 6.

Gráfico 6 – Curvas de pirólise e atomização para: (A) amostra de tabaco (digerida em micro-ondas) e solução padrão de Cr 10,0 $\mu\text{g L}^{-1}$; (B) amostra de filtro (digerida em micro-ondas) e solução padrão de Cr 2,5 $\mu\text{g L}^{-1}$; (C) amostra de cinzas de cigarro (digerida em micro-ondas) e solução padrão de Cr 6,0 $\mu\text{g L}^{-1}$. Modificadores químicos: (A) 3 μg de $\text{Pd}(\text{NO}_3)_2$ e 3 μg de $\text{Mg}(\text{NO}_3)_2$; (B) sem modificador químico; e, (C) 3 μg de $\text{Pd}(\text{NO}_3)_2$.



Fonte: Elaborado pelo próprio autor (2019).

Para determinação das temperaturas ótimas de pirólise e atomização avaliou-se os sinais de resposta analítica, absorvância integrada, considerando-se ainda o perfil dos picos de absorvância do cromo dispostos na Figura 15, que apresentam uma cauda típica de processos de atomização de compostos refratários. Perfis não simétricos podem indicar a coexistência de diferentes mecanismos de atomização, o que pode influenciar diretamente na sensibilidade analítica. Há de se preocupar também com a vida útil do tubo de grafite, onde mesmo utilizando tubos de grafite com revestimento pirolítico, altas temperaturas de atomização empregadas podem acelerar o processo natural de deterioração dos mesmos. Considerando estes fatores, as temperaturas ótimas de pirólise e atomização para as amostras de tabaco, filtro e cinzas foram: 1300 e 1900 °C; 1500 e 2100 °C; e, 1450 e 1950 °C, respectivamente. Na Tabela 15 encontram-se os programas de aquecimento otimizados para determinação de Cr nas diferentes amostras.

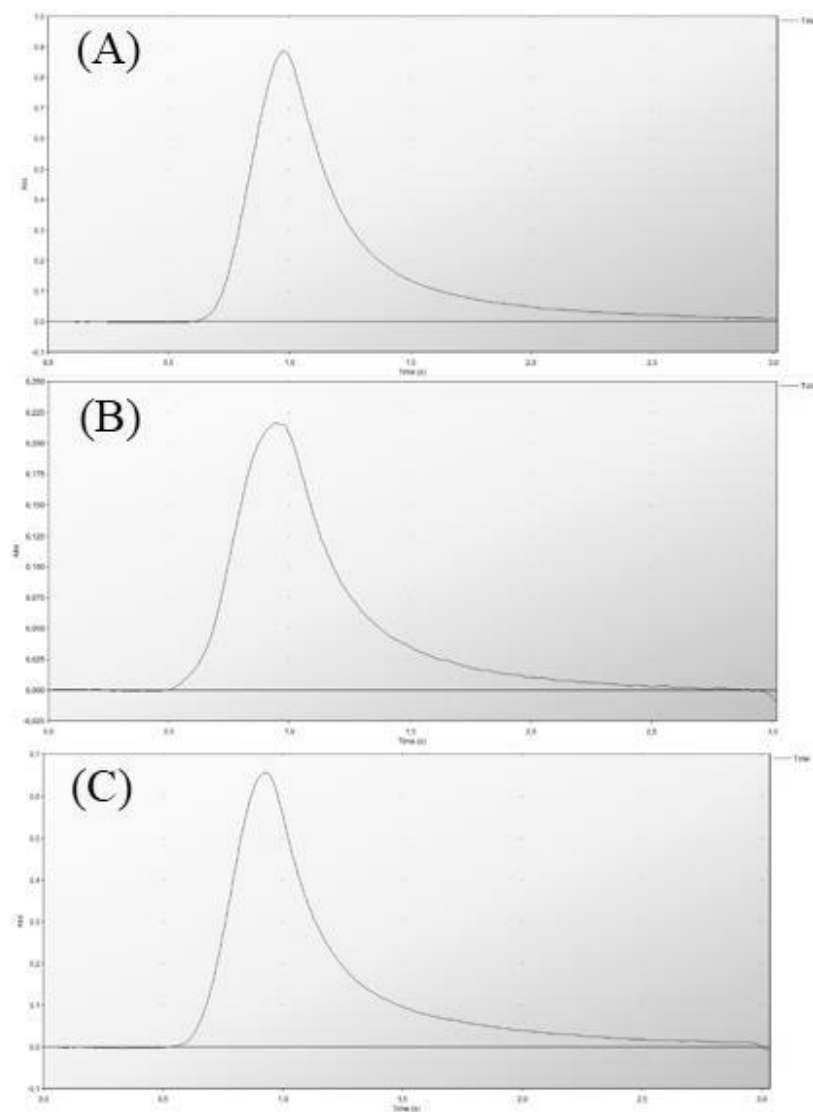
Tabela 15 – Programa de aquecimento estabelecido para determinação de Cr por GF AAS em amostras de tabaco, filtro e cinzas de cigarro.

Etapas	Temperatura (°C)	Tempo (s)	Rampa de Aquecimento (°C/s)	Vazão de Gás, Ar (L/min)
Secagem	100	30	10	0,2
Pirólise	1300 ^a , 1500 ^b , 1450 ^c	25	125	0,2
Atomização	1900 ^a , 2100 ^b , 1950 ^c	3	0	-
Limpeza	2500	3	0	0,2

^a Amostra de tabaco; ^b Amostra de filtro; ^c Amostra de cinzas.

Fonte: Elaborado pelo próprio autor (2019).

Figura 15 – Picos de absorvância obtidos para o cromo após os programas de aquecimento dispostos na Tabela 15. Amostras digeridas em micro-ondas de (A) tabaco, (B) filtro e (C) cinzas de cigarro.



Fonte: Elaborado pelo próprio autor (2019).

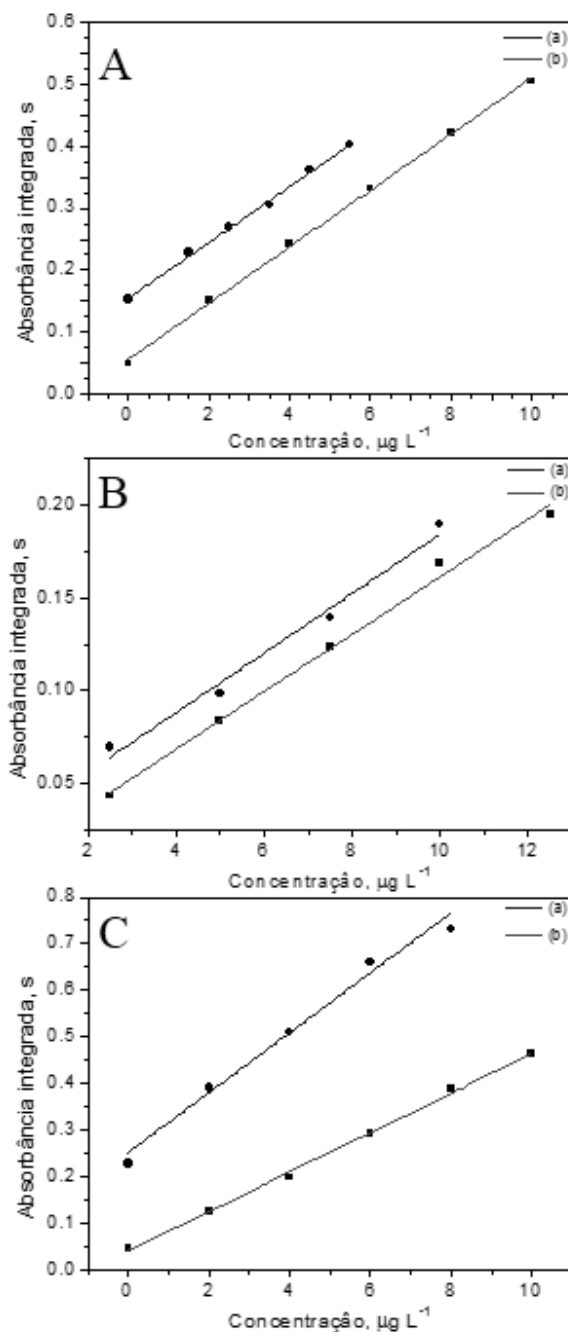
8.2. FIGURAS DE MÉRITO PARA DETERMINAÇÃO DE CROMO

8.2.1. Seletividade

A seletividade do método deve ser demonstrada por meio de sua capacidade de identificar ou quantificar o analito de interesse, inequivocamente, na presença de

componentes que podem estar presentes na amostra, como impurezas, diluentes e componentes da matriz (Brasil, 2017). Em determinações envolvendo a espectrometria de absorção atômica, a seletividade é muitas vezes avaliada comparando-se a calibração externa com calibração por adição de padrão verificando a existência de efeito de matriz significativo. Na Gráfico 7 é possível verificar a comparação das curvas e na Tabela 16 estão dispostas as equações das retas bem como o coeficiente de correlação para cada uma.

Gráfico 7 – Curvas de adição de padrão (●) e calibração externa de cromo (■) para amostras de: (A) tabaco; (B) filtro; e, (C) cinzas de cigarro. Curva externa variando na faixa de 2 a 10 $\mu\text{g L}^{-1}$ para amostras de tabaco e cinzas e de 2,5 a 12,5 $\mu\text{g L}^{-1}$ para amostras de filtro.



Fonte: Elaborado pelo próprio autor (2019).

Tabela 16 – Equações de reta para curvas de calibração externa e curva de adição de padrão para Cr.

	Curvas de calibração externa		Curvas de adição de padrão	
	Equação da reta	R ²	Equação da reta	R ²
Tabaco	$Y = 0,0456X + 0,0555$	0,9991	$Y = 0,0452X + 0,1547$	0,9978
Filtro	$Y = 0,0155X + 0,0062$	0,9948	$Y = 0,0154X + 0,0291$	0,9907
Cinzas	$Y = 0,0423X + 0,0398$	0,9978	$Y = 0,0637X + 0,2485$	0,9909

Fonte: Elaborado pelo próprio autor (2019).

Para as amostras de tabaco e de filtro foi observada boa concordância entre as curvas de adição de padrão e curva de calibração externa, demonstrando boa seletividade do método. Para a amostra de cinzas, uma concordância menor foi observada, na faixa de 66%. Essa divergência entre os coeficientes angulares evidencia a presença de ligeiro efeito de matriz sobre as amostras. De modo geral, as demais figuras de mérito foram também avaliadas.

8.2.2. Linearidade

A linearidade de um método deve ser demonstrada por meio de sua capacidade de obter respostas analíticas diretamente proporcionais à concentração do analito em uma amostra. Devido ao erro indeterminado, que sempre acompanha uma medida experimental, é necessário que se derive a melhor linha de tendência que represente essas medidas de um modelo. A análise de variância (ANOVA), tem por função conferir a validação deste modelo.

Para as determinações de cromo nos diferentes tipos de amostras, preparou-se curvas analíticas, com faixa de concentração de 2,0 a 10,0 $\mu\text{g L}^{-1}$ e de 2,5 a 12,5 $\mu\text{g L}^{-1}$, ambas a partir de solução padrão estoque de cromo 1000 mg L^{-1} . Para as determinações de cromo em amostras de tabaco e cinza a acidez foi ajustada para 2 % v/v com ácido nítrico, enquanto que para as amostras de filtro foi ajustada para 2 % v/v com água régia, uma vez que as amostras de filtro foram preparadas utilizando como solvente extrator, água régia diluída. Na Tabela 17 encontram-se os resultados estatísticos oriundos da análise de variância (ANOVA).

Tabela 17 – Resultados estatísticos para análise de regressão linear.

Pressupostos	Valores calculados	Valores críticos
Teste de Shapiro-Wilk	$W_{calc} = 0,916^a; 0,930^b; 0,969^c$	$W_{tab} = 0,881$
Teste de Cochran	$Q_{calc} = 0,648^a; 0,475^b; 0,464^c$	$Q_{tab} = 0,684$
Falta de ajuste	$F_{faj-calc} = 2,234^a; 2,332^b; 1,745^c$	$F_{faj-tab} = 3,709$
Regressão	$F_{reg-calc} = 3105^a; 1011^b; 1757^c$	$F_{reg-tab} = 4,667$
R² ajustado	$R^2 = 0,9955^a; R^2 = 0,9863^b; R^2 = 0,9921^c$ $Y = (0,0370 \pm 0,0007)X + (0,0542 \pm 0,0044)^a$	
Equação da reta	$Y = (0,0155 \pm 0,0005)X + (0,0062 \pm 0,0041)^b$ $Y = (0,0432 \pm 0,0010)X + (0,0330 \pm 0,0068)^c$	

^a Amostra de tabaco; ^b Amostra de filtro; ^c Amostra de cinzas.

Fonte: Elaborado pelo próprio autor (2019).

O teste de Shapiro-Wilk verifica a normalidade da distribuição dos resíduos e a 95 % de confiança não há evidências da não ocorrência de distribuição normal nas observações, visto que W_{calc} é maior que o W_{tab} para as três amostras. Através do teste de Cochran, verificou-se a homocedasticidade, isto é, a homogeneidade da variância dos resíduos. O teste de Cochran foi aplicado para os dados relativos à determinação de cromo nas diferentes amostras e verificou-se que não há diferença significativa nas variâncias, uma vez que os valores de Q_{calc} são menores que Q_{tab} .

Calculou-se então a análise de regressão linear onde, como os valores de F_{calc} apresentaram-se menores que os valores de F_{tab} , assume-se que não há falta de ajuste nos métodos. Dessa forma, avaliou-se também a significância da regressão observando que em ambos os métodos os valores de F_{calc} foram consideravelmente superiores aos valores de F_{tab} , demonstrando evidência estatística suficiente de existência de relação linear entre as variáveis analisadas. Como os valores de F_{calc} foram pelo menos dez vezes maiores que os valores de F_{tab} , pode-se considerar que a regressão é altamente significativa e útil para fins de previsão (Neto *et al.*, 2010).

8.2.3. Exatidão, Precisão e Frequência Analítica

A fim de avaliar a exatidão do método realizou-se testes de adição e recuperação de analito em dois níveis de fortificação. A recuperação está relacionada com a exatidão, pois reflete a quantidade de cromo, recuperado no processo, em relação à quantidade do mesmo presente inicialmente na amostra (Brasil, 2017).

O estudo de recuperação consistiu em “fortificar” as amostras de tabaco, ou seja, adicionar diferentes volumes, 11 μL e 15 μL , de solução padrão de Cr 100 mg L^{-1} para o nível baixo (110 $\mu\text{g L}^{-1}$) e para o nível mais alto (150 $\mu\text{g L}^{-1}$) nas soluções de leitura, respectivamente, e em seguida determinar a concentração do analito adicionado nas amostras. Para as amostras de filtro e de cinzas adicionou-se 20 μL e 40 μL de solução padrão de Cr 1 mg L^{-1} para o nível baixo (2 $\mu\text{g L}^{-1}$) e para o nível mais alto (4 $\mu\text{g L}^{-1}$), respectivamente. Ressalta-se que a solução padrão foi adicionada às amostras antes do processo de digestão e o branco amostral também foi preparado com um nível de fortificação (nível baixo).

A exatidão foi ainda avaliada através de uma amostra de material de referência certificado de folhas de tomate (SRM 1573a) que apresenta em sua composição concentração de cromo de $(1,99 \pm 0,06) \text{ mg kg}^{-1}$ (NIST, 1995). Os resultados obtidos para os valores de recuperação estão dispostos na Tabela 18.

Tabela 18 – Resultados de recuperação média de cromo em amostras de tabaco, filtro e cinzas de cigarro e em SRM de folhas de tomate.

	Tabaco	Filtro	Cinzas	SRM
Branco	84,8%	105,8%	103,2%	$(102,9 \pm 3,2)\%$
Amostra	$(82,5 \pm 0,7)\%$	$(106,8 \pm 10,6)\%$	$(102,4 \pm 7,7)\%$	

Fonte: Elaborado pelo próprio autor (2019).

Tendo em vista que os erros sistemáticos relativos para análises de elementos traço são superiores que os para elementos majoritários, pode-se considerar aceitáveis os valores obtidos de recuperação do analito em função de sua concentração, visto que em trabalhos disponíveis na literatura para amostras similares os valores de recuperação de cromo encontram-se na faixa de 90% (Viana *et al.*, 2011).

Foi avaliada ainda a precisão das medidas através de ensaios de repetibilidade, ou seja, foram realizadas 10 leituras consecutivas de cada uma das amostras calculando assim seu desvio padrão relativo. Para as amostras de tabaco esse valor foi de 3,3%, para as amostras de filtro de 3,6% e para as amostras de cinzas de 6,9%. Tais valores podem ser considerados adequados, uma vez que as injeções das soluções padrão e amostras foram realizadas de modo manual. Considerando-se o tempo requerido para a execução do programa de aquecimento e para a injeção manual, pode-se estimar a frequência analítica em aproximadamente 30 injeções por hora.

8.2.4. Sensibilidade Analítica e Limites de Detecção e Quantificação

A sensibilidade analítica pode ser expressa como a massa característica em GF AAS, que corresponde à massa de analito, em picogramas (pg), responsável por absorver 1% da radiação, ou seja, gerar uma absorbância igual a 0,0044 (Slavin, 1988). Segundo Sola-Larrañaga e Navarro-Blasco (2006), a massa característica calculada para análise de cromo em amostras de fórmulas infantis foi 4,8 pg (Sola-Larrañaga e Navarro-Blasco, 2006), enquanto Bruhn *et al.* (1999) encontraram 3 pg, para amostras de leite em pó desnatado (Bruhn *et al.*, 1999). Isto evidencia que mesmo em amostras com características semelhantes a sensibilidade analítica pode apresentar valores diferentes.

A massa característica de cromo calculada para as amostras de tabaco, de acordo com a Equação 4, foi de 1,88 pg, enquanto que para as amostras de filtro e cinzas foram 2,45 e 2,48 pg, respectivamente. Para o cromo, a massa característica esperada em atomizadores longitudinalmente aquecidos é de aproximadamente 3 pg (Welz e Sperling, 1998), o que nos remete à conclusão de que a sensibilidade analítica calculada encontra-se dentro do valor esperado e pode ser considerada adequada.

$$m_0 = \frac{C_{Padr\tilde{a}o} \times V_{Padr\tilde{a}o} \times 0,004}{Abs_{Padr\tilde{a}o}} \quad (\text{Equa\~{c}\~{a}o 4})$$

onde m_0 é a massa característica do elemento-traço determinado, $C_{Padr\tilde{a}o}$ é concentração da solução padrão utilizada para calibração do equipamento, $V_{Padr\tilde{a}o}$ é o volume de solução

padrão injetada no equipamento e $Abs_{Padrão}$ é a medida de absorção observada para a solução padrão.

Calculou-se, a partir do desvio padrão de 10 medidas consecutivas dos brancos analíticos: o limite de detecção, ou seja, a menor concentração do analito que pode ser detectada, mas não necessariamente quantificada sob as condições experimentais estabelecidas; e, o limite de quantificação, definido como a menor concentração de analito que pode ser quantificada na amostra, com exatidão e precisão aceitáveis. Os limites de detecção (LD) e quantificação (LQ), dispostos na Tabela 19, podem ser expressos pelas Equações 5 e 6, respectivamente:

$$LD = \frac{3,3 \times s}{a} \quad (\text{Equação 5})$$

$$LQ = \frac{10 \times s}{a} \quad (\text{Equação 6})$$

onde s é o desvio padrão do sinal de resposta e a o coeficiente angular da curva analítica (sensibilidade de calibração). Na Tabela 19 a seguir estão dispostos os valores de LD e LQ instrumentais e do método, que leva em consideração condições de preparo das amostras.

Tabela 19 – Limites de detecção e quantificação para determinação de cromo em amostras de tabaco, filtro e cinzas de cigarro.

	Instrumental ($\mu\text{g L}^{-1}$)		Método ($\mu\text{g g}^{-1}$)	
	LD	LQ	LD	LQ
Tabaco	0,134	0,406	0,009	0,027
Filtro	0,683	2,07	0,076	0,230
Cinza	0,404	1,22	0,081	0,245

Fonte: Elaborado pelo próprio autor (2019).

8.3. APLICAÇÃO DOS MÉTODOS ÀS AMOSTRAS COMERCIAIS DE “CIGARROS ILEGAIS”

Após a validação dos métodos e obtenção das figuras de mérito, foi possível aplicá-los às amostras adquiridas e os resultados para a determinação de cromo estão dispostos na Tabela 20:

Tabela 20 – Níveis de cromo em $\mu\text{g g}^{-1}$ para amostras de tabaco, filtro pré-queima, filtro pós-queima e cinzas de cigarro analisadas por GF AAS.

	Tabaco (T)	Filtro pré-queima (FV)	Filtro pós-queima (FU)	Cinzas (C)
1	(1,92 ± 0,01)	0,097*	0,109*	(6,54 ± 0,42)
2	(3,96 ± 0,20)	< LD	< LD	(6,95 ± 0,70)
3	(1,48 ± 0,11)	< LD	< LD	(5,47 ± 0,30)
4	(3,10 ± 0,28)	< LD	0,123*	(4,30 ± 0,41)
5	(2,46 ± 0,10)	0,082*	0,130*	(3,20 ± 0,13)
6	(5,92 ± 0,17)	0,226*	0,107*	(5,01 ± 0,16)
7	(3,84 ± 0,13)	< LD	0,080*	(4,60 ± 0,40)
8	(2,22 ± 0,03)	0,087*	< LD	(2,78 ± 0,32)
9	(3,05 ± 0,08)	< LD	< LD	(3,86 ± 0,34)
10	(5,56 ± 0,20)	< LD	(0,301 ± 0,006)	(5,25 ± 0,44)
11	(5,45 ± 0,45)	< LD	0,090*	(3,94 ± 0,39)
12	(4,40 ± 0,22)	< LD	0,204*	(5,23 ± 0,21)
Média	(3,61 ± 1,49)	-	(0,301 ± 0,006)	(4,76 ± 1,25)
Mínimo	(1,48 ± 0,11)	-	-	(2,78 ± 0,32)
Máximo	(5,92 ± 0,17)	-	-	(6,95 ± 0,70)

* Valores estimados, concentração abaixo do LQ.

Fonte: Elaborado pelo próprio autor (2019).

Observa-se que aplicando os métodos desenvolvidos para análise de amostras das partes componentes do cigarro, foi possível determinar o cromo evidenciando sua presença em grande parte das amostras, principalmente no tabaco e nas cinzas. Para as amostras de

tabaco os valores de concentração variaram de 1,48 a 5,92 $\mu\text{g g}^{-1}$ e para as amostras de cinza variaram de 2,78 a 6,95 $\mu\text{g g}^{-1}$. Destaca-se que apenas para a amostra de filtro FU-10 foi possível quantificar o cromo.

Os valores de cromo presentes nas amostras de tabaco avaliadas corroboram ainda com resultados reportados na literatura científica. Rubio Armendáriz *et al.* (2015) determinaram concentrações de cromo variando de 0,73 a 3,00 $\mu\text{g g}^{-1}$ para 33 diferentes marcas de cigarros comercializados na Espanha (Rubio Armendáriz *et al.*, 2015), enquanto Pinto *et al.* (2017) avaliaram 20 marcas diferentes obtendo uma faixa de concentração variando de 0,74 a 2,52 $\mu\text{g g}^{-1}$ (Pinto *et al.*, 2017) e Fresquez *et al.* (2013) avaliaram 50 diferentes marcas obtendo concentrações variando de 1,30 a 3,20 $\mu\text{g g}^{-1}$ (Fresquez *et al.*, 2013). Por outro lado, Verma *et al.* (2010) avaliaram 10 marcas diferentes de cigarros obtendo resultados variando entre 2,79 e 5,00 $\mu\text{g g}^{-1}$, porém para outros derivados do tabaco foram observadas concentrações próximas a 22 $\mu\text{g g}^{-1}$ (Verma *et al.*, 2010). Zumbado *et al.* (2019), Pappas *et al.* (2015) e Viana *et al.* (2011) também observaram faixas próximas variando de 0,45 a 4,77 $\mu\text{g g}^{-1}$, de 0,88 a 6,46 $\mu\text{g g}^{-1}$ e de 0,45 a 3,13 $\mu\text{g g}^{-1}$, respectivamente (Viana *et al.*, 2011; Pappas *et al.*, 2015; Zumbado *et al.*, 2019).

Para calcular os níveis de cromo nas amostras por unidade de cigarro, Tabela 21, pesou-se o tabaco presente em 10 unidades obtendo uma massa média de $(0,6500 \pm 0,0219)$ g. Foram pesadas também as massas de 10 filtros e as cinzas resultantes da queima simulada de 10 unidades de cigarros, obtendo-se massas médias de $(0,1141 \pm 0,0039)$ g e $(0,1145 \pm 0,0126)$ g, respectivamente.

Tabela 21 – Níveis de cromo em μg por unidade de cigarro em amostras de tabaco, filtro pós-queima e cinzas de cigarro.

	Tabaco (T)	Filtro pós-queima (FU)	Cinzas (C)	% de transferência de Cr do Tabaco para Cinzas
1	(1,25 \pm 0,00)	-	(0,75 \pm 0,05)	60,0
2	(2,57 \pm 0,13)	-	(0,80 \pm 0,08)	31,1
3	(0,96 \pm 0,07)	-	(0,63 \pm 0,03)	65,6
4	(2,01 \pm 0,18)	-	(0,49 \pm 0,05)	24,4
5	(1,60 \pm 0,06)	-	(0,37 \pm 0,01)	23,1
6	(3,85 \pm 0,11)	-	(0,57 \pm 0,02)	14,8
7	(2,50 \pm 0,09)	-	(0,53 \pm 0,05)	21,2
8	(1,44 \pm 0,02)	-	(0,32 \pm 0,04)	22,2
9	(1,98 \pm 0,05)	-	(0,44 \pm 0,04)	22,2
10	(3,61 \pm 0,13)	(0,034 \pm 0,001)	(0,60 \pm 0,05)	16,6
11	(3,54 \pm 0,29)	-	(0,45 \pm 0,04)	12,7
12	(2,86 \pm 0,14)	-	(0,60 \pm 0,02)	21,0
Média	(2,35 \pm 0,97)	(0,034 \pm 0,001)	(0,55 \pm 0,14)	(27,9 \pm 17,0)
Mínimo	(0,96 \pm 0,07)	-	(0,32 \pm 0,04)	12,7
Máximo	(3,85 \pm 0,11)	-	(0,80 \pm 0,08)	65,6

Fonte: Elaborado pelo próprio autor (2019).

Os valores de massa de cromo por unidade de cigarro variaram de 0,96 a 3,85 μg para o tabaco e de 0,32 a 0,80 μg para as cinzas. Estes resultados demonstram a importância do desenvolvimento de métodos capazes de determinar cromo e outros metais tóxicos em amostras de cigarro. Além de evidenciar os níveis de concentração aos quais os usuários ficam expostos ao utilizar tais produtos em seu cotidiano, também sugerem o potencial de contaminação que os resíduos de queima (fumaça, cinzas e filtros) representam para o meio ambiente. Estes resultados possibilitam ainda avaliar a distribuição do cromo no cigarro após sua queima, podendo estimar os níveis de Cr presente na fumaça através dos cálculos de balanço de massa.

De acordo com Torjussen *et al.* (2003), a principal fonte de contaminação do tabaco é o solo, fertilizantes ou os agrotóxicos utilizados no processo de produção (Torjussen *et al.*, 2003). Pressupondo que os metais tóxicos presentes nas amostras de cigarros são provenientes do tabaco, visto que os filtros pré-queima não apresentaram concentrações quantificáveis, a subdivisão destes metais tóxicos começa a partir da queima do cigarro. Portanto, uma fração desses metais após a queima fica presente nas cinzas, enquanto que outra transfere-se para fase gasosa. Para maior parte das amostras avaliadas a fração de Cr presente nas cinzas está na ordem de 13 a 31%, sendo que apenas as amostras C1 e C3 apresentaram maiores teores, representando 60 e 65% do cromo proveniente do tabaco. Os filtros não apresentaram valores significativos em relação às concentrações de tabaco. Dessa forma, pode-se inferir que a fração de cromo que não se encontra presente nas amostras de cinzas e filtros pós-queima, transfere-se para a fase gasosa, sendo parcialmente aspirada para os pulmões e também liberada pela ponta acesa do cigarro, misturando-se na fumaça passiva.

Logo, a fração de Cr que pode ser transferida para fumaça representa valores na ordem de 80% do cromo total presente no tabaco. Isso se torna um grande problema de saúde pública, uma vez que o tabaco é uma das drogas mais usadas no mundo e seu uso pode estar associado a mais de 16 cânceres em fumantes e não fumantes (Míguez *et al.*, 2017). Esses valores evidenciam a necessidade de estudos complementares para avaliação dos teores de Cr que realmente passam pelos filtros e chegam aos pulmões, bem como a realização de estudos de bioacessibilidade, que podem conferir informações mais apuradas dos reais riscos à saúde associados ao consumo de cigarros.

Considerando os resultados obtidos neste trabalho, pode-se considerar que a GF AAS é uma alternativa interessante em relação às técnicas de ICP-MS e ICP OES para monitoramento de cromo em amostras de cigarros. Esses resultados também são informações importantes que podem ser usadas para estabelecer critérios para controlar o acesso a cigarros ilícitos no cotidiano dos dependentes de tabaco. Resultados semelhantes foram observados por Stephens & Calder (2005), que compararam marcas genuínas com marcas falsificadas, observando que a concentração média de cromo é aproximadamente 1,5 vezes maior nas marcas falsificadas (Stephens *et al.*, 2005). He *et al.* (2015) determinaram a presença de cádmio e chumbo em cigarros de marcas ilícitas. Seus resultados sugerem que essas marcas tendem a ter maiores concentrações de metais tóxicos em sua composição, gerando maior

exposição dos consumidores a esses metais (He *et al.*, 2015). Os limites de detecção obtidos no presente trabalho, mostrados na Tabela 22, estão na mesma ordem de magnitude do que os reportados na literatura. Pequenas variações podem ser consideradas normais, pois diferentes métodos de preparação de amostras são usados nesses trabalhos.

Tabela 22 – Comparação do método desenvolvido por GF AAS com os métodos por ICP-MS e ICP OES disponíveis na literatura.

LD (ng g⁻¹)	Amostra	Técnica Instrumental	Referência
20,4	Tabaco	GF AAS	Este trabalho
88,0	Tabaco de charuto	ICP-MS Triplo Quadrupolo	(Pappas <i>et al.</i> , 2015)
160,0	Tabaco	ICP-MS	(Fresquez <i>et al.</i> , 2013)
200,0	Tabaco	ICP OES	(Rubio Armendáriz <i>et al.</i> , 2015)
39,0	Fumaça ativa e passiva de cigarros	ICP-MS	(Behera <i>et al.</i> , 2014)
6,0	Tabaco	ICP-MS	(Pinto <i>et al.</i> , 2017)

Fonte: Elaborado pelo próprio autor (2019).

9. CONCLUSÕES PARCIAIS

Pode-se concluir que com relação às otimizações das condições experimentais de preparo das amostras foi possível estabelecer diferentes métodos de preparo de amostras para as diferentes frações do cigarro. As amostras foram divididas em frações pré-queima (filtro, e tabaco) e pós-queima (cinzas e filtro) e, dessa forma, para as amostras de filtro pré e pós-queima e de cinza fez-se necessário realizar uma etapa de solubilização, onde foi escolhida a digestão assistida por radiação micro-ondas em função desta apresentar algumas vantagens analíticas como: curto período de tempo (minutos) necessário para realizar a decomposição das amostras, aquecimento direto e uniforme da mistura de amostra e reagentes, minimização da possibilidade de contaminação bem como da perda de elementos voláteis, além da disponibilidade do digestor no Departamento de Química.

Devido aos níveis de cromo observado nas amostras tornou-se necessário utilizar a espectrometria de absorção atômica no modo de atomização eletrotérmica (GF AAS) e, para isto, otimizou-se as temperaturas de pirólise e atomização para cada uma das amostras. Destaca-se ainda que nas condições instrumentais estabelecidas foram obtidas evidências de boa exatidão empregando curvas de calibração lineares e validadas através da análise de variância. Além disso, os métodos apresentaram boa sensibilidade, visto que os valores de massa característica calculados se aproximaram de valores reportados pela literatura. Foi possível quantificar a concentração de cromo com precisão em cada fração das amostras de doze marcas diferentes de cigarro comercializados ilegalmente.

Dessa forma, pode-se afirmar que os métodos desenvolvidos foram adequados para a determinação de cromo em amostras de tabaco, filtros e cinzas de cigarro usando a espectrometria de absorção atômica com forno de grafite. Os limites de quantificação variaram de 0,027 a 0,245 $\mu\text{g g}^{-1}$, e foi possível determinar a concentração de cromo em amostras de 12 marcas de cigarros ilícitos. Os níveis médios de cromo variaram de 1,48 a 6,95 $\mu\text{g g}^{-1}$.

A quantidade de cromo encontrada nas amostras estudadas sugere que o mercado de cigarros precisa de supervisão adequada para proteger a saúde e a segurança do consumidor, uma vez que todas as marcas ilícitas estão inseridas no mercado brasileiro e que os filtros

seguram apenas uma pequena parte do analito, que ao ser volatilizado e carregado pela fumaça pode chegar aos pulmões.

10. TRABALHOS PUBLICADOS

- O Capítulo 3 desta Tese, referente ao método desenvolvido para determinação de cromo nas amostras de cigarro ilegal foi publicado em Periódico Internacional, Journal of Analytical Toxicology, com Qualis A2 e fator de impacto 3,150.

Dados da publicação:

Thalles Pedrosa Lisboa, Aparecida Maria Simões Mimura, Júlio César José da Silva, Rafael Arromba de Sousa, *Chromium Levels in Tobacco, Filter and Ash of Illicit Brands Cigarettes Marketed in Brazil*, **Journal of Analytical Toxicology**, bkz106, <https://doi.org/10.1093/jat/bkz106>.

**CAPÍTULO 4 – OTIMIZAÇÃO DAS CONDIÇÕES INSTRUMENTAIS PARA
DETERMINAÇÃO DE CÁDMIO, COBRE E CHUMBO UTILIZANDO A
VOLTAMETRIA DE ONDA QUADRADA POR REDISSOLUÇÃO ANÓDICA**

11. PARTE EXPERIMENTAL

11.1. REAGENTES E SOLUÇÕES

Ácido clorídrico (HCl 37% m/m ultra puro, Vetec) foi utilizado para o preparo do eletrólito suporte empregado nas análises por voltametria de onda quadrada. As curvas analíticas foram preparadas a partir de diluição das soluções padrão estoque 1000 mg L⁻¹ de Cd, Pb, Cu e Hg (Qhemis High Purity) em meio de ácido nítrico 2% v/v.

11.2. INSTRUMENTAÇÃO E MATERIAIS

Para realização de todas as medidas eletroquímicas, um potenciostato μ Autolab type III (EcoChemie, Holanda) interfaceado a um microcomputador foi usado. Uma célula eletroquímica, frasco acrílico com volume final de 5 mL, constituída por um eletrodo de trabalho de carbono vítreo (GCE) modificado com mercúrio, eletrodo de referência Ag/AgCl(sat), KCl(sat) e um fio de platina como eletrodo auxiliar foram utilizados nas análises. A agitação do sistema foi realizada através de um agitador magnético (IKA Lab Disc, IP65) em aproximadamente 1000 rpm. A aquisição e tratamento dos dados foram realizados pelos *softwares* NOVA 2.1.2 e OriginPro 8.0, respectivamente. Antes das medições relativas a cada amostra, a superfície do GCE foi polida em suspensão de alumina, enxaguada com água deionizada e depois sonicada em água deionizada, com auxílio de banho ultrassônico, para remover o excesso de alumina.

11.3. PREPARO DE AMOSTRAS

As amostras foram preparadas de acordo com os procedimentos descritos no Capítulo 3, item 7.3, ou seja, as amostras foram digeridas em meio ácido sob aquecimento micro-ondas.

11.4. VOLTAMETRIA DE ONDA QUADRADA

As análises eletroquímicas de Cu, Cd e Pb nas amostras digeridas foram realizadas de forma simultânea. Foram utilizados 2 mL de eletrólito suporte (HCl, 10 mmol L⁻¹), 20 µL de solução padrão estoque de mercúrio 1000 mg L⁻¹ e volumes variando de 50 a 200 µL de amostra digerida.

A modificação do eletrodo de carbono vítreo com mercúrio foi feita de modo *in situ*, isto é, a formação do filme de mercúrio na superfície do eletrodo foi feita simultaneamente com a eletrodeposição dos metais a serem determinados, devido a este modo permitir a realização de maior número de análises sem interrupções, aumentando assim a frequência analítica (Cypriano *et al.*, 2008).

Os parâmetros instrumentais utilizados foram adaptados de condições pré-estabelecidas e otimizadas pelo grupo de pesquisa NUPIS em estudos correlatos (Vinicius De Faria *et al.*, 2018).

12. RESULTADOS E DISCUSSÕES

12.1. OTIMIZAÇÃO DOS PARÂMETROS INSTRUMENTAIS DE ANÁLISE

Na voltametria de onda quadrada por redissolução anódica, a sensibilidade está diretamente relacionada com a etapa de pré-concentração, ou seja, à quantidade de analito presente na amostra e eletrodepositado na superfície do eletrodo de trabalho, bem como com os parâmetros relacionados à etapa de redissolução. Assim, a otimização de alguns parâmetros instrumentais como amplitude de pulso, frequência e incremento de potencial são de fundamental importância para se obter uma maior sensibilidade o método desenvolvido.

Como evidenciado pela Equação de Parry e Osteryoung, Equação 7, os parâmetros instrumentais otimizados neste trabalho afetam a corrente de pico para um processo termodinamicamente reversível e controlado por difusão (Souza *et al.*, 2003):

$$I_p = \left[\frac{n^2 F^2 A C}{4RT} \right] \times \left[\frac{D}{\pi t} \right]^{0,5} \times \Delta E \quad (\text{Equação 7})$$

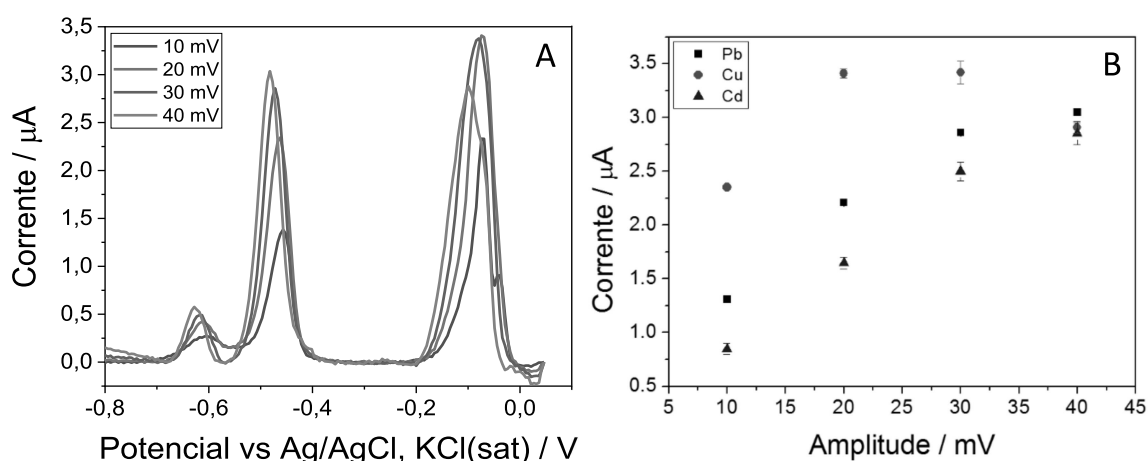
onde I_p é a corrente de pico, ΔE é a amplitude de pulso, A é a área do eletrodo, C é a concentração da espécie eletroativa, F é a constante de Faraday ($96485,3 \text{ s A mol}^{-1}$), D é o coeficiente de difusão, n o número de elétrons, π é uma constante adimensional (3,1415), t é o tempo de duração do pulso, R a constante dos gases e T a temperatura absoluta.

A seleção desses parâmetros foi baseada na intensidade do sinal analítico e na precisão das medições para determinação simultânea. As faixas estudadas foram de 10 a 40 mV para amplitude de pulso, 10 a 70 Hz para frequência e 1 a 6 mV para o incremento de potencial. As condições otimizadas para Cd, não mostradas, foram concordantes com as condições obtidas para a determinação de Cu e Pb. A otimização dos parâmetros instrumentais para determinação de Cd, Cu e Pb por voltametria de onda quadrada foi realizada com velocidade de varredura de 150 mV s^{-1} .

12.1.1. Amplitude de Pulso

Como evidenciado pela Equação 6, a corrente de pico (I_p) está diretamente relacionada com a amplitude de pulso (ΔE), ou seja, aumentando-se a amplitude, ocorre o aumento da corrente e, conseqüentemente, aumento de sensibilidade. Entretanto, um aumento elevado da amplitude pode ocasionar o alargamento do pico de oxidação e assim afetar a resolução deste. Para ambos os analitos avaliados foi observado que com o aumento de amplitude houve ganho de sinal analítico considerável, como mostrado no Gráfico 8.

Gráfico 8 – (A) Voltamogramas referentes ao estudo da otimização da amplitude de pulso para determinação de Cd, Cu e Pb. (B) Correlação entre a corrente e a amplitude de pulso para determinação de Cd, Cu e Pb em amostras de tabaco. Condições: velocidade de varredura de 150 mV s^{-1} e concentrações de Cu^{2+} de $45 \mu\text{g L}^{-1}$, Pb^{2+} e Cd^{2+} de $65 \mu\text{g L}^{-1}$.



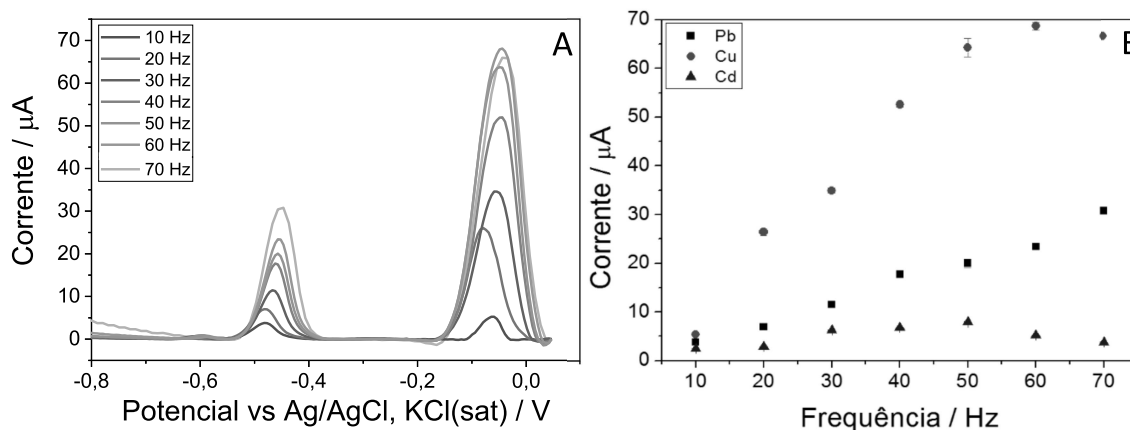
Fonte: Elaborado pelo próprio autor (2021).

Os sinais de todos os analitos aumentaram consideravelmente até 30 mV de amplitude e, a partir desse valor, há uma tendência natural dos valores se estabilizarem. Portanto, a amplitude de pulso de 30 mV foi fixada.

12.1.2. Frequência

O inverso do período (t), descrito na Equação 6, é a frequência de onda (f). Sendo assim, tem-se que a corrente de pico e o tempo de duração do pulso (período) são inversamente proporcionais, ou seja, quanto menor o período, maior a corrente de pico. Assim pode-se inferir que o aumento da frequência de onda, contribui diretamente para o ganho de sinal analítico, conforme mostrado no Gráfico 9 a seguir.

Gráfico 9 – (A) Voltamogramas referentes ao estudo da otimização da frequência da onda para determinação de Cd, Cu e Pb. (B) Correlação entre a corrente e a frequência de onda para determinação de Cd, Cu e Pb em amostras de tabaco. Condições: velocidade de varredura de 150 mV s^{-1} e concentrações de Cu de $45 \mu\text{g L}^{-1}$, Pb e Cd de $65 \mu\text{g L}^{-1}$ e amplitude fixada em 30 mV.



Fonte: Elaborado pelo próprio autor (2021).

A frequência, como observado no Gráfico 9, tende a estabilizar a partir de 50 Hz para todos os analitos. Dessa forma, essa frequência foi fixada e utilizada para as determinações nas amostras de tabaco, filtros e cinzas.

12.1.3. Incremento de Potencial

O incremento que é dado ao potencial inicial na etapa de varredura da análise até atingir o potencial final denomina-se incremento de potencial. Este parâmetro está

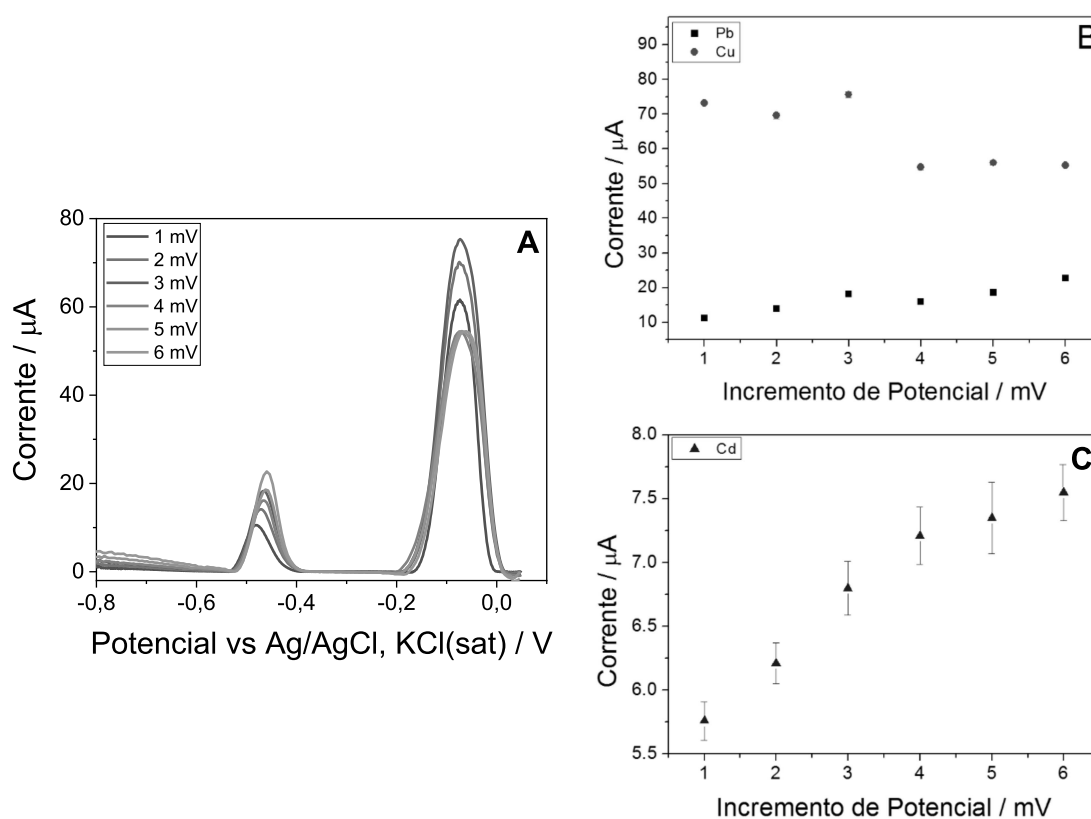
diretamente relacionado a velocidade de varredura, a qual nada mais é que o produto da frequência da onda pelo incremento de potencial. Sendo assim, mantendo-se a frequência fixa, conforme aumenta-se o incremento de potencial, maior será a velocidade de varredura. Dessa forma, quanto maior a velocidade de varredura em uma análise, maior será a corrente de pico conforme a equação de Randles-Sevcik, Equação 8 (Aristov e Habekost, 2015).

$$I_p = (2,69 \times 10^5) n^3 A C D^{\frac{1}{2}} v^{\frac{1}{2}} \quad (\text{Equação 8})$$

onde I_p é a corrente de pico, n o número de elétrons, A é a área do eletrodo, C é a concentração da espécie eletroativa, D é o coeficiente de difusão e v é a velocidade de varredura.

De maneira geral, o aumento da velocidade de varredura implica em uma corrente de pico maior, pois uma quantidade menor de espécies eletroativas é consumida neste processo, o que confere um pico bem definido. Como mostrado pelo Gráfico 10, a corrente de pico para Cu decai a partir de incrementos de potencial acima de 3 mV, enquanto que para o Pb, a partir desse valor de incremento ocorre uma estabilização da corrente de pico sem ganho significativo até pelo menos 6 mV. Como uma condição de compromisso entre os três analitos, visto que o Cd se comportou de maneira similar ao Pb, fixou-se em 3 mV o valor ótimo de incremento de potenciais.

Gráfico 10 – (A) Voltamogramas referentes ao estudo da otimização do incremento de potencial para determinação de Cd, Cu e Pb. (B) Correlação entre a corrente e o incremento de potencial para determinação de Cu e Pb em amostras de tabaco. (C) Correlação entre a corrente e o incremento de potencial para determinação de Cd em amostras de tabaco. Condições: concentrações de Cu de $45 \mu\text{g L}^{-1}$, Pb e Cd de $65 \mu\text{g L}^{-1}$, amplitude fixada em 30 mV e frequência em 50 Hz.



Fonte: Elaborado pelo próprio autor (2021).

Na Tabela 23 a seguir, estão dispostos os parâmetros instrumentais otimizados que foram utilizados para avaliação de Cd, Pb e Cu nas amostras de tabaco, filtros e cinzas. Inicialmente foi aplicado um potencial de +0,2 V (vs Ag/AgCl, KCl(sat)) por 20 segundos para promover a oxidação de qualquer material adsorvido sobre a superfície do GCE. Em seguida foi aplicado um potencial de -0,9 V (vs Ag/AgCl, KCl(sat)) a fim de possibilitar a redução eletroquímica e consequente eletrodeposição do mercúrio amalgamado aos analitos de interesse na superfície eletródica. Esta etapa, conhecida como etapa de pré-concentração foi realizada por um período de 240 segundos. Após esse período, fez-se uma etapa de

equilíbrio por 15 segundos, ou seja, o processo de agitação foi interrompido de maneira que o transporte de massa por convecção foi cessado. Por fim, foi realizada uma etapa de varredura de potencial aplicando uma onda quadrada com potencial controlado variando de -0,9 a +0,05 V (vs Ag/AgCl, KCl(sat)), nessa etapa conforme atinge-se os potenciais característicos de cada analito de interesse, os mesmos são oxidados da superfície do eletrodo de GCE gerando uma corrente elétrica (sinal analítico) diretamente proporcional a suas concentrações na solução analisada.

Tabela 23 – Parâmetros instrumentais otimizados para determinação de Cd, Pb e Cu por voltametria de onda quadrada com redissolução anódica em amostras de tabaco, filtro e cinzas de cigarro.

Parâmetros Instrumentais	Cd, Pb e Cu
Potencial de condicionamento	+0,2 V
Tempo de condicionamento	20 s
Potencial de deposição	-0,9V
Tempo de deposição	240 s
Tempo de equilíbrio	15 s
Frequência da onda	50 Hz
Amplitude da onda	30 mV
Incremento de potencial	3 mV
Potencial inicial	-0,9 V
Potencial final	+0,05 V

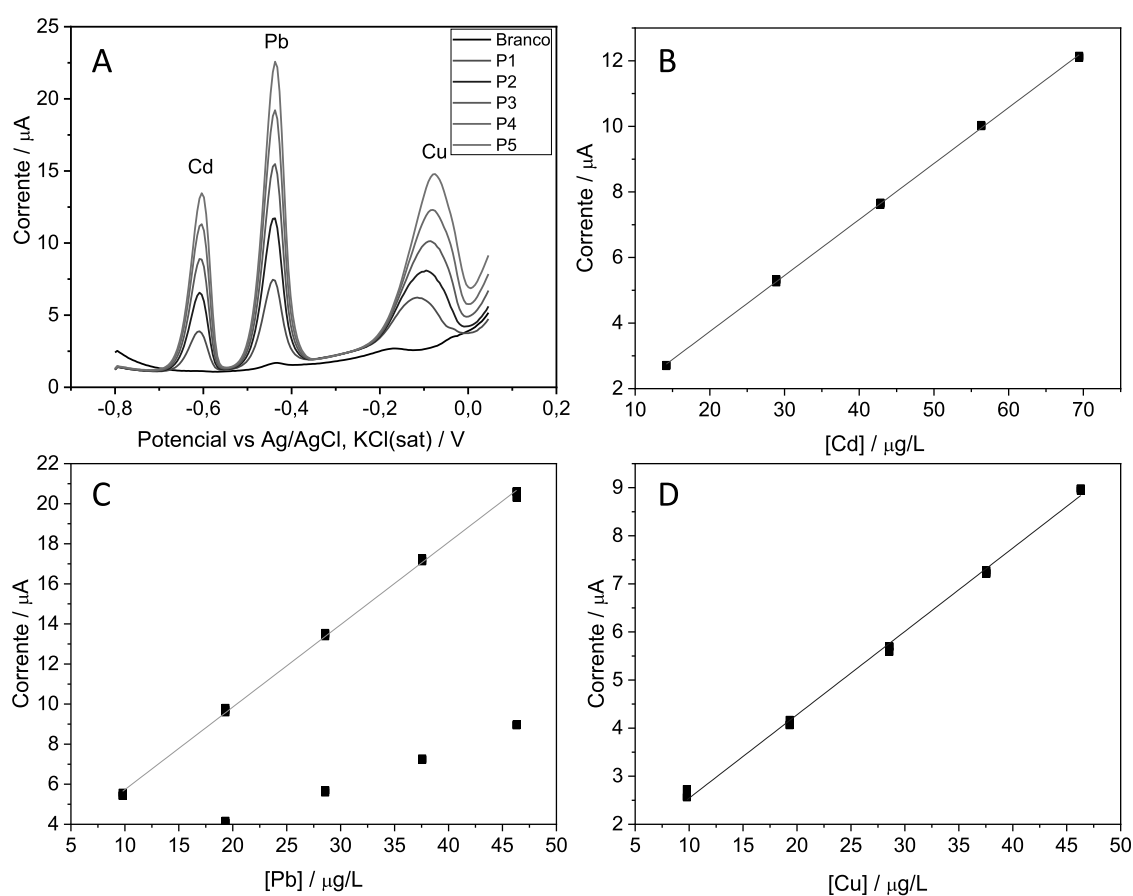
Fonte: Elaborado pelo próprio autor (2019).

12.2. LIMITES DE DETECÇÃO E QUANTIFICAÇÃO INSTRUMENTAIS

As determinações dos limites de detecção (LD) e quantificação (LQ) instrumentais para cada analito, mostrados na Tabela 24, foram feitas a partir de curvas analíticas (curva de calibração externa), sendo estas constituídas de 5 padrões com concentrações que variaram de 14,2 a 69,4 $\mu\text{g L}^{-1}$ para Cd e de 9,8 a 46,3 $\mu\text{g L}^{-1}$ para Cu e Pb, realizadas em triplicata a

fim de verificar o ajuste do modelo. A título de exemplo tem-se representado na Figura 16 o voltamograma referente a uma das curvas analíticas.

Figura 16 – (A) Voltamogramas referentes a uma das replicatas das curvas analíticas para Cd, Pb e Cu. Curvas de calibração externa para: (B) Cd; (C) Pb; e, (D) Cu. Condições instrumentais: amplitude 30 mV; incremento de potencial 3 mV; frequência 50 Hz; demais parâmetros conforme descrição na Tabela 20. Faixa de concentração: 14,2 a 69,4 $\mu\text{g/L}$ para Cd e de 9,8 a 46,3 $\mu\text{g/L}$ para Cu e Pb.



Fonte: Elaborado pelo próprio autor (2019).

Os valores de LD e LQ foram determinados empregando respectivamente as Equações 5 e 6, descritas anteriormente. Para os cálculos foram utilizados os parâmetros das equações de ajuste linear das determinações de Cd, Pb e Cu. Nesse sentido, (s) é o erro padrão do coeficiente linear e (a) é o coeficiente angular da curva.

Tabela 24 – Limites instrumentais de detecção e quantificação para Cd, Pb e Cu por voltametria de onda quadrada com redissolução anódica.

	LD ($\mu\text{g L}^{-1}$)	LQ ($\mu\text{g L}^{-1}$)
Cd	0,72	2,19
Pb	0,89	2,69
Cu	1,43	4,32

Fonte: Elaborado pelo próprio autor (2019).

Foi aplicada a análise de variância (ANOVA), a fim de conferir a validação destes modelos avaliando todos os pressupostos necessários. Observa-se a partir dos resultados, dispostos na Tabela 25, que a um nível de 95 % de confiança não há evidências de não normalidade na distribuição dos resíduos, assim como não há diferenças significativas nas variâncias. Os modelos mostraram-se altamente significativos, porém para os três analitos foi observada falta de ajuste. Desta forma, as curvas analíticas por calibração externa foram empregadas apenas para calcular os limites de detecção e quantificação. Para avaliação das demais figuras de mérito foi utilizada a calibração por adição de padrão.

Tabela 25 – Resultados estatísticos para análise de regressão linear das curvas de calibração externa para determinação de Cd, Pb e Cu por voltametria de onda quadrada com redissolução anódica.

Pressupostos	Valores calculados	Valores críticos
Teste de Shapiro-Wilk	$W_{calc} = 0,911^a; 0,955^b; 0,938^c$	$W_{tab} = 0,881$
Teste de Cochran	$Q_{calc} = 0,626^a; 0,481^b; 0,483^c$	$Q_{tab} = 0,684$
Falta de ajuste	$F_{faj-calc} = 10,4^a; 7,9^b; 14,2^c$	$F_{faj-tab} = 3,709$
Regressão	$F_{reg-calc} = 39700^a; 13349^b; 5191^c$	$F_{reg-tab} = 4,667$
R² ajustado	$R^2 = 0,9996^a; R^2 = 0,9990^b; R^2 = 0,9973^c$	
	$i (\mu\text{A}) = (0,1762 \pm 0,0009) C_{Cd} + (0,3378 \pm 0,0399)$	
Equação da reta	$i (\mu\text{A}) = (0,4115 \pm 0,0036) C_{Pb} + (1,6172 \pm 0,1108)$	
	$i (\mu\text{A}) = (0,1733 \pm 0,0024) C_{Cu} + (0,8110 \pm 0,0749)$	

^a Cd; ^b Pb; ^c Cu.

Fonte: Elaborado pelo próprio autor (2019).

12.3. FIGURAS DE MÉRITO PARA DETERMINAÇÃO DE CÁDMIO, CHUMBO E COBRE

As amostras foram fortificadas com soluções padrão de cada um dos analitos, sendo que as concentrações de Cd, Pb e Cu, nas soluções digeridas das amostras de cinza e filtro foi de $300 \mu\text{g L}^{-1}$. Dessa forma, na célula eletroquímica, quando diluídas, as amostras apresentaram concentrações em torno de $27 \mu\text{g L}^{-1}$. As amostras de tabaco foram fortificadas de modo similar, a fim da solução digerida apresentar concentrações de Cd, Pb e Cu próximas a $1000 \mu\text{g L}^{-1}$ e, quando diluídas na célula eletroquímica, as concentrações estivessem em torno de $24,2 \mu\text{g L}^{-1}$. As amostras foram preparadas conforme os procedimentos de digestão assistida por radiação micro-onda já descritos anteriormente e os valores de recuperação dos analitos estão descritos na Tabela 26. Utilizou-se ainda uma amostra certificada, folhas de tomate (NIST SRM 1573a), preparada sob as mesmas condições instrumentais que as amostras de cigarro para avaliar a exatidão do método.

Tabela 26 – Percentuais de recuperação obtidos para determinação de Cd, Pb e Cu por voltametria de onda quadrada nas amostras de tabaco, filtros, cinzas de cigarro e material de referência de folhas de tomate.

	Tabaco	Filtro	Cinzas	NIST SRM 1573a
Cd	80,4%	87,4%	104,9%	-
Pb	110,6%	81,5%	86,5%	-
Cu	88,2%	82,6%	81,2%	95,4%

Fonte: Elaborado pelo próprio autor (2019).

Para o cádmio os valores de recuperação variaram de 80,4 a 104,9% para tabaco e cinzas, respectivamente. O chumbo apresentou valores de recuperação entre 81,5 e 110,6% para filtro e tabaco, respectivamente. Já as recuperações envolvendo a determinação de cobre, variaram de 81,2 a 88,2% para as amostras de cinza e tabaco, respectivamente. Pode-se considerar que os valores de recuperação de analito obtidos encontram-se dentro de uma faixa de valores aceitáveis. Em trabalhos que descrevem validação de métodos analíticos menciona-se que quando as amostras são fortificadas na ordem de 100 a $1000 \mu\text{g L}^{-1}$, o

intervalo de recuperação aceitável está entre 80 e 110% (European Commission, 2002; Brasil, 2017).

12.4. APLICAÇÃO DO MÉTODO ÀS AMOSTRAS DE CIGARROS ILEGAIS

Avaliadas todas as figuras de mérito e otimizados os parâmetros instrumentais de análise, todas as amostras das partes constituintes dos cigarros ilegais foram analisadas para determinação de Cd, Pb e Cu. Trabalhou-se com curvas de adição de padrão a fim de evitar possíveis efeitos de matriz. A partir dos voltamogramas obtidos foram construídas curvas para cálculo das concentrações dos analitos em cada uma das amostras.

As curvas de adição de padrão foram ainda utilizadas para calcular os limites de detecção e quantificação do método, aplicando as Equações 8 e 9. Para o cálculo foram ainda consideradas as massas empregadas nos procedimentos de digestão assim como o volume final de diluição. Na Tabela 27 a seguir estão descritos os LD e LQ do método.

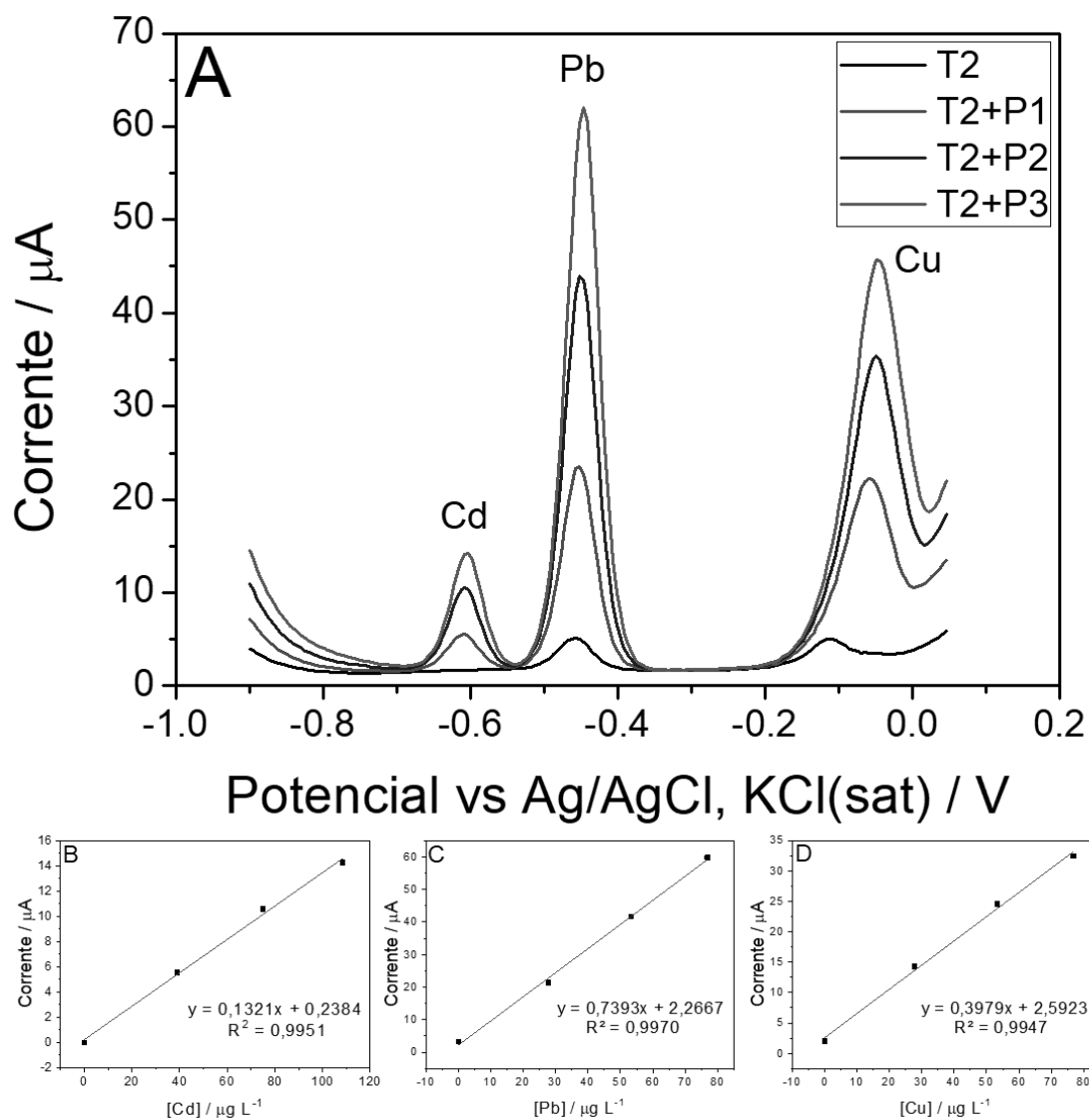
Tabela 27 – Limites de detecção e quantificação do método para Cd, Pb e Cu em amostras de tabaco, filtros e cinzas de cigarro.

	LD ($\mu\text{g g}^{-1}$)			LQ ($\mu\text{g g}^{-1}$)		
	Cd	Pb	Cu	Cd	Pb	Cu
Tabaco	0,91	0,21	0,15	2,76	0,63	0,44
Filtro	1,35	0,29	0,54	4,08	0,89	1,64
Cinzas	1,72	1,33	2,07	5,21	4,03	6,27

Fonte: Elaborado pelo próprio autor (2019).

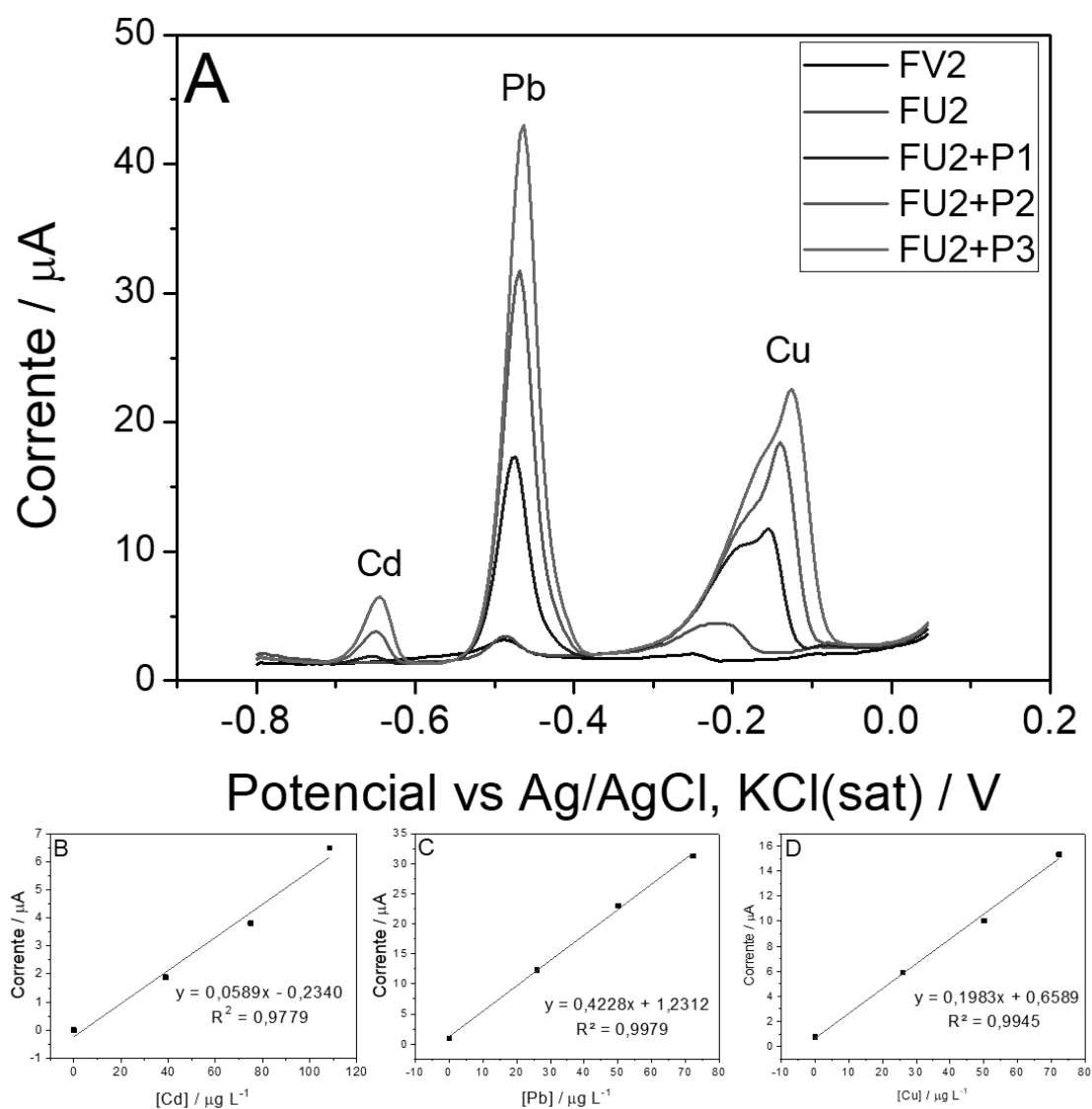
Nas Figuras 17, 18 e 19, estão representados alguns dos voltamogramas obtidos a partir das análises efetuadas para tabaco, filtro e cinzas, com suas respectivas curvas de adição de padrão. Ressalta-se que mesmo não obtendo sinal analítico acima dos limites de detecção para o Cd nas amostras, as curvas de adição de padrão foram construídas a fim de demonstrar a capacidade do método de avaliar de forma simultânea os três elementos sem interferência.

Figura 17 – (A) Voltamogramas referentes a uma das réplicas da determinação de Cd, Pb e Cu na amostra de tabaco. (B) Curva de adição de padrão para Pb. (C) Curva de adição de padrão para Cu. (D) Curva de adição de padrão para Cd. Faixa de concentração dos padrões de Pb e Cu de 27,8 a 76,9 $\mu\text{g L}^{-1}$ e Cd de 39,0 a 108,4 $\mu\text{g L}^{-1}$. Condições analíticas vide Tabela 23, página 112.



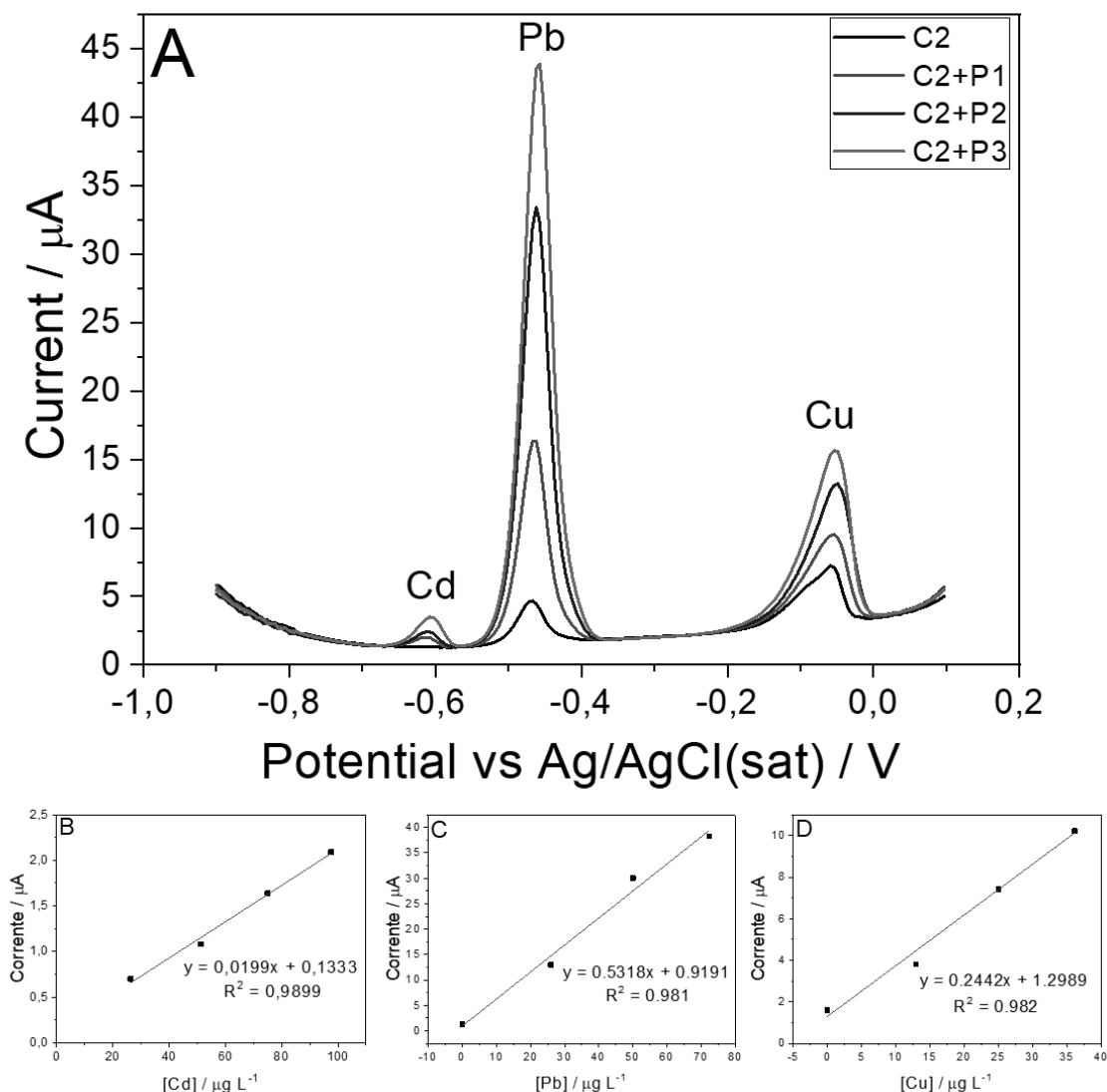
Fonte: Elaborado pelo próprio autor (2019).

Figura 18 – (A) Voltamogramas referentes a uma das réplicas da determinação de Cd, Pb e Cu na amostra de filtro. (B) Curva de adição de padrão para Pb. (C) Curva de adição de padrão para Cu. (D) Curva de adição de padrão para Cd. Faixa de concentração dos padrões de Pb e Cu 26,9 a 72,3 $\mu\text{g L}^{-1}$ e Cd de 39,0 a 108,4 $\mu\text{g L}^{-1}$. Condições analíticas vide Tabela 23, página 112.



Fonte: Elaborado pelo próprio autor (2019).

Figura 19 – (A) Voltamogramas referentes a uma das réplicas da determinação de Cd, Pb e Cu na amostra de cinzas de cigarro. (B) Curva de adição de padrão para Pb. (C) Curva de adição de padrão para Cu. (D) Curva de adição de padrão para Cd. Faixa de concentração dos padrões de Pb de 27,1 a 96,8 $\mu\text{g L}^{-1}$, Cu de 13,6 a 48,4 $\mu\text{g L}^{-1}$ e Cd de 39,0 a 108,4 $\mu\text{g L}^{-1}$. Condições analíticas vide Tabela 23, página 112.



Fonte: Elaborado pelo próprio autor (2019).

O método otimizado por voltametria de onda quadrada foi aplicado às amostras relativas a doze marcas de cigarros, comercializados ilegalmente. Foi possível quantificar Pb e Cu com precisões aceitáveis, porém para o Cd não foram obtidos sinais analíticos que

permitissem sua quantificação em nenhuma amostra. Destaca-se ainda que valores reportados pela literatura para concentração de Cd em amostras semelhantes variam de 0,28 a 1,70 $\mu\text{g g}^{-1}$ (Verma *et al.*, 2010; Viana *et al.*, 2011; Fresquez *et al.*, 2013; Pappas *et al.*, 2015; Rubio Armendáriz *et al.*, 2015; Pinto *et al.*, 2017; Zumbado *et al.*, 2019), valores abaixo do limite de detecção (2,76 $\mu\text{g g}^{-1}$) obtido para o método baseado na voltametria de onda quadrada. Para as amostras de filtro pré-queima, todos os resultados permaneceram abaixo do LD, os resultados obtidos para as demais amostras estão dispostos na Tabela 28 a seguir.

Tabela 28 – Resultados para determinação de chumbo e cobre em $\mu\text{g g}^{-1}$ para amostras de tabaco, filtro pré-queima, filtro pós-queima e cinzas de cigarro.

	Tabaco (T)		Filtro pós-queima (FU)		Cinzas (C)	
	Pb	Cu	Pb	Cu	Pb	Cu
1	(8,54 ± 0,83)	(18,0 ± 1,67)	(3,33 ± 0,13)	(3,56 ± 0,22)	3,87 ¹	(11,4 ± 0,85)
2	(5,13 ± 0,74)	(11,8 ± 1,28)	(1,22 ± 0,17)	(7,29 ± 0,61)	< LD	(20,4 ± 1,83)
3	(2,89 ± 0,61)	(42,6 ± 4,11)	(0,92 ± 0,09)	(1,76 ± 0,22)	- ²	- ²
4	(7,67 ± 1,28)	(15,9 ± 1,73)	< LD	< LD	(42,4 ± 4,23)	(54,4 ± 3,28)
5	(4,26 ± 0,66)	(11,9 ± 1,18)	(1,08 ± 0,10)	< LD	(13,9 ± 1,63)	(42,0 ± 1,59)
6	(11,2 ± 1,08)	(24,6 ± 3,40)	< LD	< LD	3,73 ¹	(23,7 ± 1,79)
7	(5,87 ± 0,72)	(13,7 ± 1,24)	< LD	(1,95 ± 0,21)	(19,9 ± 1,08)	(50,2 ± 6,37)
8	(15,3 ± 2,20)	(66,6 ± 7,49)	< LD	< LD	(32,2 ± 3,18)	(50,4 ± 4,36)
9	(10,7 ± 1,09)	(12,2 ± 0,94)	< LD	< LD	(42,5 ± 6,03)	< LD
10	(5,95 ± 1,13)	(18,6 ± 2,40)	< LD	< LD	(23,3 ± 3,90)	(65,0 ± 5,67)
11	(2,70 ± 0,68)	(11,2 ± 1,12)	< LD	< LD	(7,73 ± 0,77)	< LD
12	(4,85 ± 1,20)	(11,9 ± 1,05)	0,38 ¹	< LD	(24,2 ± 2,37)	(14,6 ± 1,10)
Média	(7,09 ± 3,77)	(21,6 ± 16,7)	(1,64 ± 1,13)	(3,64 ± 2,56)	(25,8 ± 12,6)	(36,9 ± 19,6)
Mínimo	(2,70 ± 0,68)	(11,2 ± 1,12)	(0,92 ± 0,09)	(1,76 ± 0,22)	(7,73 ± 0,77)	(11,4 ± 0,85)
Máximo	(15,3 ± 2,20)	(66,6 ± 7,49)	(3,33 ± 0,13)	(7,29 ± 0,61)	(42,5 ± 6,03)	(65,0 ± 5,67)

¹ Valores estimados, concentração abaixo do LQ. ² Volume insuficiente de amostra para as análises.

Fonte: Elaborado pelo próprio autor (2019).

Destaca-se que foi possível quantificar cobre em todas as amostras de tabaco com concentrações variando de 11,2 a 66,6 $\mu\text{g g}^{-1}$. Tais valores estão na mesma ordem de grandeza que os resultados descritos por Verma *et al.* (2010), que avaliaram a presença de cobre em cigarros e derivados. Para os cigarros as concentrações variando na faixa de 9,01 a 19,2 $\mu\text{g g}^{-1}$, entretanto para alguns derivados do tabaco foram obtidos valores próximos a 61,5 $\mu\text{g g}^{-1}$ (Verma *et al.*, 2010). Enquanto, Pelit *et al.* (2013) relataram concentrações variando na faixa de 9,8 a 102 $\mu\text{g g}^{-1}$ para amostras de folha de tabaco (Pelit *et al.*, 2013). Em apenas três amostras de cinzas não foi verificada a presença de Cu, sendo que as concentrações nessas amostras variaram de 11,4 a 65,0 $\mu\text{g g}^{-1}$. Nas amostras 1, 2, 3 e 7 foi possível verificar ainda a presença do Cu em seus filtros pós-queima, com concentração variando entre 1,95 a 7,29 $\mu\text{g g}^{-1}$.

O chumbo, de forma semelhante ao cobre, foi quantificado em todas as amostras de tabaco, porém com concentração variando entre 2,89 a 15,3 $\mu\text{g g}^{-1}$, ou seja, variando em uma faixa menor. Porém, resultados similares também são descritos na literatura. Verma *et al.* (2010) relataram a presença de chumbo em cigarros variando na faixa de 0,79 a 5,79 $\mu\text{g g}^{-1}$, enquanto que alguns derivados do tabaco podem apresentar concentrações de até 13,0 $\mu\text{g g}^{-1}$ (Verma *et al.*, 2010). Enquanto que Rubio Armendáriz *et al.* (2015), relataram concentrações variando de 0,27 a 3,60 $\mu\text{g g}^{-1}$ (Rubio Armendáriz *et al.*, 2015) De modo geral, as amostras 1 e 6 apresentaram valores de concentração abaixo do limite de quantificação, de forma que os níveis de Pb devem ser considerados estimativas da concentração. Para as demais amostras de cinza o Pb foi quantificado e suas concentrações variaram de 7,73 a 42,5 $\mu\text{g g}^{-1}$. As amostras 1, 2, 3 e 5 de filtros pós-queima apresentaram sinais analíticos quantificáveis de Pb com concentração variando de 0,92 a 3,33 $\mu\text{g g}^{-1}$, enquanto que a amostra 12 teve seu valor de concentração estimado.

Na Tabela 29 estão dispostos os resultados da concentração de chumbo por unidade de cigarro. Estes resultados possibilitam avaliar a distribuição do chumbo e cobre no cigarro após sua queima, podendo estimar os níveis destes metais presentes na fumaça através dos cálculos de balanço de massa, evidenciando o grau de exposição dos dependentes do tabaco aos metais tóxicos, além de mostrar que os resíduos gerados por esse hábito representam graves problemas ambientais.

Tabela 29 – Concentração de chumbo e cobre em μg por unidade de cigarro em amostras de tabaco, filtro pós-queima e cinzas de cigarro.

	Tabaco (T)		Filtro pós-queima (FU)		Cinzas (C)	
	Pb	Cu	Pb	Cu	Pb	Cu
1	(5,55 \pm 0,54)	(11,7 \pm 1,12)	(0,38 \pm 0,01)	(0,41 \pm 0,02)	0,443 ¹	(1,30 \pm 0,10)
2	(3,33 \pm 0,48)	(7,66 \pm 0,83)	(0,14 \pm 0,02)	(0,83 \pm 0,07)	< LD	(2,33 \pm 0,21)
3	(1,88 \pm 0,42)	(27,6 \pm 3,21)	(0,10 \pm 0,01)	(0,20 \pm 0,02)	- ²	- ²
4	(4,98 \pm 0,83)	(10,3 \pm 1,16)	< LD	< LD	(4,85 \pm 0,48)	(6,22 \pm 0,38)
5	(2,77 \pm 0,43)	(7,72 \pm 0,80)	(0,12 \pm 0,01)	< LD	(1,59 \pm 0,19)	(4,81 \pm 0,18)
6	(7,30 \pm 0,70)	(15,9 \pm 2,23)	< LD	< LD	0,427*	(2,71 \pm 0,20)
7	(3,81 \pm 0,47)	(8,89 \pm 0,80)	< LD	(0,22 \pm 0,02)	(2,27 \pm 0,12)	(5,75 \pm 0,73)
8	(9,92 \pm 1,43)	(43,1 \pm 4,91)	< LD	< LD	(3,69 \pm 0,36)	(5,77 \pm 0,50)
9	(6,98 \pm 0,71)	(7,85 \pm 0,61)	< LD	< LD	(4,86 \pm 0,69)	< LD
10	(3,87 \pm 0,73)	(12,1 \pm 1,65)	< LD	< LD	(2,67 \pm 0,45)	(7,45 \pm 0,65)
11	(1,76 \pm 0,44)	(7,24 \pm 0,73)	< LD	< LD	(0,89 \pm 0,09)	< LD
12	(3,15 \pm 0,78)	(7,69 \pm 0,68)	0,044 ¹	< LD	(2,77 \pm 0,27)	(1,67 \pm 0,12)
Média	(4,61 \pm 2,44)	(14,0 \pm 10,8)	(0,19 \pm 0,13)	(0,42 \pm 0,29)	(2,95 \pm 1,44)	(4,22 \pm 2,25)
Mínimo	(1,76 \pm 0,44)	(7,24 \pm 0,73)	(0,10 \pm 0,01)	(0,20 \pm 0,02)	(0,89 \pm 0,09)	(1,30 \pm 0,10)
Máximo	(9,92 \pm 1,43)	(43,1 \pm 4,91)	(0,38 \pm 0,01)	(0,83 \pm 0,07)	(4,85 \pm 0,48)	(7,45 \pm 0,65)

¹ Valores estimados, concentração abaixo do LQ. ² Volume insuficiente de amostra para as análises.

Fonte: Elaborado pelo próprio autor (2019).

O conteúdo de cobre nas amostras avaliadas variou de 0,20 a 0,83 μg /cigarro, de 1,30 a 7,45 μg /cigarro e de 7,24 a 43,1 μg /cigarro para o filtro pós-queima, cinzas e tabaco, respectivamente. Observa-se que a retenção de cobre nos filtros de cigarro é mínima em relação ao total determinado no tabaco, enquanto nas cinzas não se observa uma tendência de transferência de cobre do tabaco, de modo que os resultados variaram de 11 a 65%.

Quanto aos níveis de chumbo nas amostras avaliadas, a variação foi de 0,10 a 0,38 μg /cigarro, de 0,89 a 4,86 μg /cigarro e de 1,76 a 9,92 μg /cigarro para pós-queima, cinzas e tabaco, respectivamente. Da mesma forma, a retenção de chumbo nos filtros é insignificante. Nas cinzas, a predominância de transferência do chumbo do tabaco foi acima de 40%.

As concentrações médias de Cu e Pb no tabaco para as amostras de cigarros ilegais foram 21,6 e 7,09 $\mu\text{g g}^{-1}$, respectivamente. Esses resultados são comparáveis aos descritos por Stephens *et al.* (2005), que compararam marcas falsificadas e genuínas, obtendo concentrações médias de 16,7 e 13,0 $\mu\text{g g}^{-1}$ para Cu e 4,1 e 0,7 $\mu\text{g g}^{-1}$ para Pb, respectivamente (Stephens *et al.*, 2005). He *et al.* (2015), analisaram cigarros falsificados, obtendo concentrações médias de Pb de 5,13 $\mu\text{g g}^{-1}$ (He *et al.*, 2015). Esses valores estão de acordo com os obtidos no presente trabalho, considerando-se os desvios obtidos entre as amostras e sugerem que marcas ilegais geralmente apresentam maiores concentrações desses elementos tóxicos em comparação com marcas genuínas. Como diferencial do presente trabalho, as demais partes constituintes dos cigarros também foram avaliadas para verificar a distribuição desses metais após a queima do cigarro. Além disso, este estudo demonstra que, mesmo após a queima, os cigarros constituem resíduos ambientais devido à presença de metais acumulativos. Assim, é importante destacar que altas taxas de elementos tóxicos, como chumbo e cobre, podem permanecer na fumaça expelida pelos cigarros e causar danos ao sistema respiratório dos dependentes de tabaco.

13. CONCLUSÕES PARCIAIS

Uma vez apresentada a falha técnica nos sistemas de correção de fundo e resfriamento do forno de grafite do espectrômetro de absorção atômica, as soluções previamente preparadas mediante digestão ácida assistida por radiação micro-ondas foram utilizadas para o desenvolvimento de um método baseado na voltametria de onda quadrada com redissolução anódica com objetivo de quantificar os elementos de interesse, que eram cádmio, chumbo e cobre, principalmente.

Dessa forma, foram otimizadas as condições instrumentais para análise de cádmio, chumbo e cobre por voltametria de onda quadrada. Os métodos desenvolvidos apresentaram boa exatidão empregando curvas de adição de padrão com percentuais de recuperação variando de 80,4 a 110,6% para as amostras estudadas e 95,4% para a amostra certificada. Os limites de quantificação variaram para o Pb na faixa de 0,63 a 4,03 $\mu\text{g g}^{-1}$, enquanto que para o Cu variaram de 0,44 a 6,27 $\mu\text{g g}^{-1}$.

As concentrações de cádmio permaneceram abaixo dos limites de detecção e quantificação, de forma que técnicas mais sensíveis podem ser utilizadas para uma outra investigação, visto que há relatos na literatura da presença deste metal em amostras com características similares. Dessa forma, foi estabelecida uma parceria com a professora Dra. Tatiana Dillenbourg Saint'Pierre, da Pontifícia Universidade Católica do Rio de Janeiro, a fim de desenvolver metodologias para determinação de metais tóxicos nas amostras aqui mencionadas utilizando a Espectrometria de Massas com Plasma Indutivamente Acoplado.

Além disso, destaca-se que foi possível quantificar chumbo e cobre em cada fração das amostras de doze marcas diferentes de cigarro. As concentrações de Pb variaram de 0,10 a 9,92 $\mu\text{g/cigarro}$ para as amostras de tabaco, filtros pós-queima e cinzas. Com relação ao Cu variaram de 0,10 a 43,1 $\mu\text{g/cigarro}$ para as mesmas amostras.

De forma semelhante aos resultados obtidos para o cromo nas amostras avaliadas, há um indicativo de que os produtos inseridos ilegalmente no mercado nacional apresentam qualidade duvidosa colocando em risco a saúde de consumidores e podem ser considerados graves problemas ambientais em função do potencial contaminante dos resíduos gerados pelos processos de combustão desses produtos.

14. TRABALHOS PUBLICADOS

□ O Capítulo 4 desta Tese, referente ao método desenvolvido para determinação de cádmio, chumbo e cobre nas amostras de cigarro ilegal usando a voltametria de onda quadrada foi publicado em Periódico Internacional, *Microchemical Journal*, com Qualis A3 e fator de impacto 3,206.

Dados da publicação:

Thalles Pedrosa Lisboa, Lucas Vinicius de Faria, Maria Auxiliadora Costa Matos, Renato Camargo Matos, Rafael Arromba de Sousa, *Simultaneous determination of cadmium, lead, and copper in the constituent parts of the illegal cigarettes by Square Wave Anodic Stripping Voltammetry*, **Microchemical Journal**, Volume 150, 2019, ISSN 0026-265X, <https://doi.org/10.1016/j.microc.2019.104183>.

CAPÍTULO 5 – OTIMIZAÇÃO DAS CONDIÇÕES DE COLETA DAS FRAÇÕES GASOSAS DOS CIGARROS PARA DETERMINAÇÃO DE CÁDMIO, COBRE E CHUMBO EM AMOSTRAS DE FUMAÇA UTILIZANDO A VOLTAMETRIA DE ONDA QUADRADA COM REDISSOLUÇÃO ANÓDICA E ASPECTOS SOBRE A BIOACESSIBILIDADE PULMONAR

15. PARTE EXPERIMENTAL

15.1. REAGENTES E SOLUÇÕES

Ácido nítrico (HNO_3 65% m/m, Sciavicco Comércio e Indústria Ltda P.A.) foi utilizado para o preparo das soluções extratoras da fumaça. Sais Padrão Analítico (P.A.) de $\text{MgCl}_2 \cdot 6\text{H}_2\text{O}$ (Sigma-Aldrich), NaCl (Synth), KCl (Neon), Na_2HPO_4 (Sigma-Aldrich), Na_2SO_4 (Synth), $\text{CaCl}_2 \cdot 2\text{H}_2\text{O}$ (Sigma-Aldrich), $\text{CH}_3\text{COONa} \cdot 3\text{H}_2\text{O}$ (Sigma-Aldrich), NaHCO_3 (Synth) e citrato de sódio dihidratado (Synth) foram utilizados para o preparo da solução de Gamble (LPS, líquido pulmonar simulado).

15.2. INSTRUMENTAÇÃO E MATERIAIS

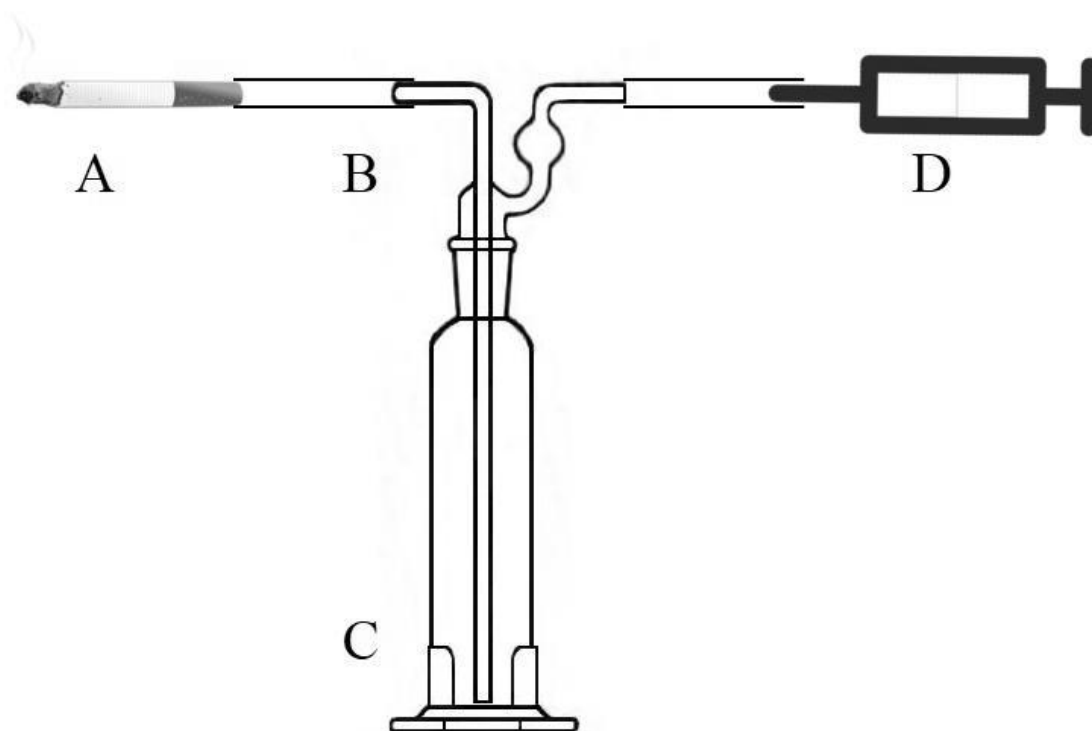
Toda a instrumentação e materiais utilizados foram idênticos ao descrito no item 11.2 do Capítulo 4 desta Tese.

15.3. PREPARO DE AMOSTRAS

15.3.1. Coleta das Frações Gasosas

As amostras de frações gasosas dos cigarros ilegais foram coletadas seguindo o protocolo de queima simulada com os parâmetros dispostos na Tabela 12 e o arranjo instrumental, disposto na Figura 20. Tal arranjo foi construindo baseando-se em sistemas semelhantes descritos na literatura, como o relatado por Pelit *et al.* (2013) (Pelit *et al.*, 2013). Foi utilizado um frasco Drechsel de 125 mL, uma seringa de 60 mL e tubos de silicone atóxico para conexão entre as partes do arranjo.

Figura 20 – Arranjo instrumental utilizado para coleta das frações gasosas dos cigarros ilegais. (A) Cigarro sofrendo processo de queima simulada conforme Tabela 12; (B) duto conector de silicone atóxico; (C) frasco Drechsel de 125 mL; e, (D) seringa de 60 mL.



Fonte: Elaborado pelo próprio autor (2019).

15.3.2. Solução Extratora: HNO_3 10% v/v

Os analitos (Cd, Cu e Pb) presentes na fase gasosa foram coletados em uma solução de ácido nítrico 10% v/v conforme sugerido por Pelit *et al.* (2013) e Wright (2015) (Pelit *et al.*, 2013; Wright, 2015). A fumaça obtida a partir da queima simulada dos cigarros ilegais utilizando o arranjo mostrado na Figura 17, foi borbulhada em 10 mL de solução ácida. Após o processo de queima, as soluções foram acondicionadas em frascos de polipropileno previamente descontaminados.

15.3.3. Solução Extratora: Solução de Gamble

Foi preparada a solução de Gamble, líquido pulmonar simulado, utilizando as concentrações iônicas dispostas na Tabela 2 para avaliação da fração bioacessível de Cd, Cu e Pb nas amostras de fumaça dos cigarros ilegais (Coufalík *et al.*, 2016). O pH da solução foi controlado para 7,4 utilizando soluções de NaOH e HCl 1 mol L⁻¹ conforme a necessidade. A fumaça obtida a partir da queima simulada dos cigarros ilegais utilizando o arranjo mostrado na Figura 20 (Pelit *et al.*, 2013), foi borbulhada em 10 mL de solução de Gamble. Após o processo de queima, as soluções foram filtradas através de filtros de 0,45 µm de PTFE (Agilent Technologies, EUA) de acordo com o indicado por Takaya *et al.* (2006) e acondicionadas em frascos de polipropileno previamente limpos (Takaya *et al.*, 2006).

15.4. VOLTAMETRIA DE ONDA QUADRADA

As análises e suas condições instrumentais utilizadas são idênticas ao descrito no item 11.4 e Tabela 23 do Capítulo 4 desta Tese.

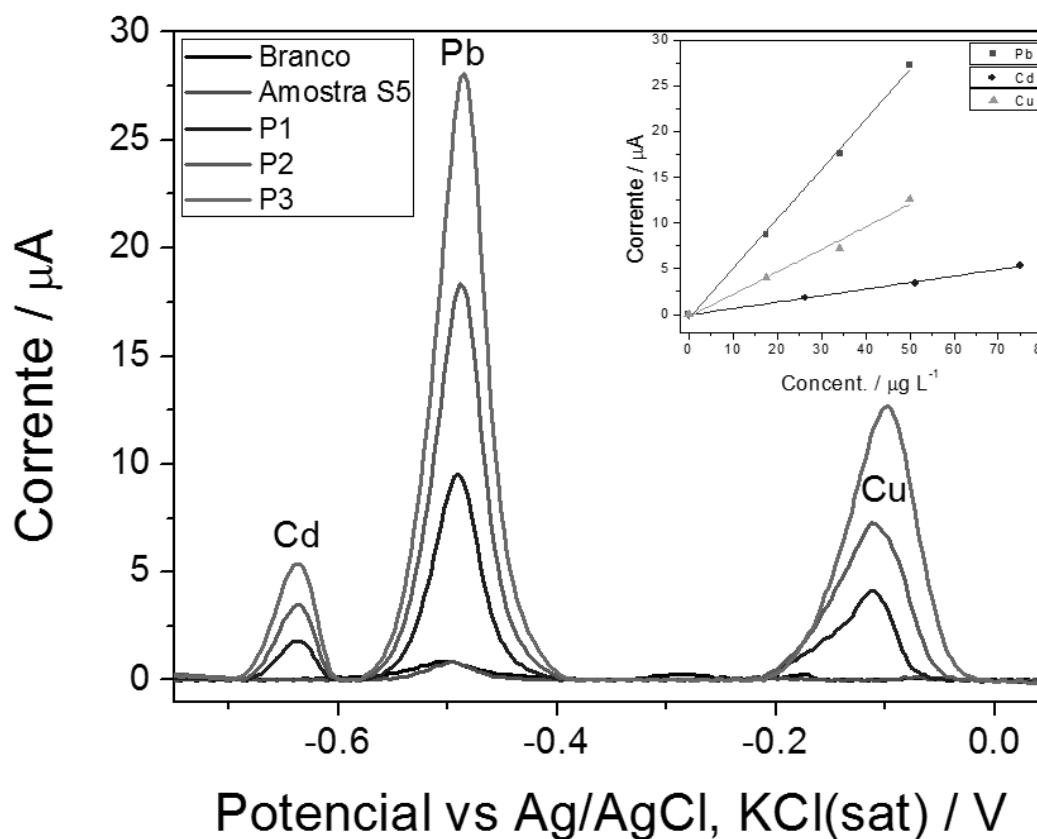
16. RESULTADOS E DISCUSSÕES

16.1. DETERMINAÇÃO DE CÁDMIO, CHUMBO E COBRE TOTAIS EM AMOSTRAS DE FUMAÇA DE CIGARROS ILEGAIS

O uso de parâmetros de queima simulada é bem estabelecido pela literatura científica e amplamente utilizado para determinações de compostos orgânicos e inorgânicos na fumaça de cigarros (ISO, 2012; Behera *et al.*, 2014; Uchiyama *et al.*, 2015). Diferentes maneiras de coleta da fração gasosa também são relatadas, não havendo um consenso entre a coleta por um sistema em fluxo, como o utilizado, ou um sistema em câmara, onde a fumaça é aprisionada e adsorvida sobre a superfície da câmara (Kalcher *et al.*, 1993; Pappas *et al.*, 2006; Miranda *et al.*, 2012; Pelit *et al.*, 2013; Behera *et al.*, 2014). Diferentes soluções extratoras também são descritas, Wright (2015) e Pelit *et al.* (2013) utilizaram soluções diluídas de HNO₃ com concentrações de 10% v/v e 1 mol L⁻¹, respectivamente (Pelit *et al.*, 2013; Wright, 2015). Em contrapartida Miranda *et al.* (2012) e Kalcher *et al.* (1993) utilizaram condições mais complexas com uma mistura de metanol, HNO₃ e Triton X-100 e uma solução 12% v/v de HClO₄, respectivamente (Kalcher *et al.*, 1993; Miranda *et al.*, 2012). Neste trabalho, optou-se por realizar as coletas das frações gasosas seguindo um sistema em fluxo, adaptado do descrito por Pelit *et al.* (2013) como descrito pela Figura 20 com as frações gasosas sendo borbulhadas em solução de HNO₃ 10% v/v (Pelit *et al.*, 2013; Wright, 2015).

O método otimizado por voltametria de onda quadrada foi aplicado às amostras referentes às doze marcas de cigarros comercializados ilegalmente. Trabalhou-se com curvas de adição de padrão a fim de evitar possíveis efeitos de matriz. Na Figura 21, está representado um dos voltamogramas obtidos a partir das análises efetuadas para as amostras de fumaça extraídas em HNO₃ 10% v/v, com suas respectivas curvas de adição de padrão. Ressalta-se que mesmo não obtendo sinal analítico acima dos limites de detecção para o Cd nas amostras, as curvas de adição de padrão foram construídas a fim de demonstrar a capacidade do método de avaliar, de forma simultânea, os três elementos sem interferência.

Figura 21 – Voltamogramas referentes a uma das réplicas das determinações de Cd, Pb e Cu em uma das amostras de fumaça extraída em HNO₃ 10% v/v. Curvas de adição de padrão de Pb, Cd e Cu inseridas. Faixa de concentração dos padrões de Pb e Cu: 17,5 a 50,0 $\mu\text{g L}^{-1}$; Cd: 26,3 a 75,0 $\mu\text{g L}^{-1}$. Condições analíticas vide Tabela 23, página 112.



Fonte: Elaborado pelo próprio autor (2020).

A partir dos voltamogramas obtidos foram construídas curvas para cálculo das concentrações dos analitos em cada uma das amostras. Foi possível quantificar Pb e Cu com precisões aceitáveis para algumas amostras, porém para o Cd não foram obtidos sinais analíticos que permitissem sua quantificação em nenhuma amostra. Na Tabela 30 a seguir estão dispostos os resultados obtidos.

Tabela 30 – Concentração de chumbo e cobre em amostras de fumaça de cigarro extraídas em solução de HNO₃ 10% v/v.

Amostra	Concentração em µg L ⁻¹		Concentração em µg/cigarro		% de transferência do Tabaco para Fumaça	
	Pb	Cu	Pb	Cu	Pb	Cu
1	< LD	(40,0 ± 2,1)	< LD	(0,40 ± 0,02)	-	3,4
2	< LD	(147 ± 9)	< LD	(1,47 ± 0,09)	-	19,2
3	< LD	(27,6 ± 3,2)	< LD	(0,28 ± 0,03)	-	1,0
4	(21,9 ± 3,2)	(47,8 ± 3,30)	(0,22 ± 0,03)	(0,48 ± 0,03)	4,4	4,7
5	(31,9 ± 2,1)	(48,5 ± 4,2)	(0,32 ± 0,02)	(0,49 ± 0,04)	11,6	6,3
6	(43,1 ± 3,7)	(54,3 ± 2,4)	(0,43 ± 0,04)	(0,54 ± 0,02)	5,9	3,4
7	1,39 ¹	< LD	< LQ	< LD	-	-
8	(22,0 ± 1,8)	(78,5 ± 8,9)	(0,22 ± 0,02)	(0,79 ± 0,09)	2,2	1,8
9	<LD	(5,32 ± 0,82)	< LD	(0,05 ± 0,01)	-	0,6
10	(14,5 ± 0,8)	(57,2 ± 2,3)	(0,15 ± 0,01)	(0,57 ± 0,02)	3,9	4,7
11	(9,18 ± 1,1)	(40,7 ± 3,2)	(0,09 ± 0,01)	(0,41 ± 0,03)	5,1	5,7
12	(11,9 ± 0,9)	< LD	(0,12 ± 0,01)	< LD	3,8	-
Média	(22,9 ± 14,1)	(55,0 ± 63,0)	(0,22 ± 0,12)	(0,55 ± 0,38)	(5,3 ± 3,0)	(5,1 ± 5,3)
Mínimo	(14,5 ± 0,8)	(5,32 ± 0,82)	(0,09 ± 0,01)	(0,05 ± 0,01)	2,2	0,6
Máximo	(43,1 ± 3,7)	(147 ± 9)	(0,43 ± 0,04)	(1,47 ± 0,09)	11,6	19,2

¹ Valores estimados, concentração abaixo do LQ.

Fonte: Elaborado pelo próprio autor (2020).

Os valores de Cu nas amostras de fumaça de cigarro ilegais variaram de 0,05 a 1,47 µg por unidade de cigarro, enquanto que os valores de Pb variaram de 0,09 a 0,43 µg por unidade de cigarro. De modo geral, Behera *et al.* (2014) avaliaram a presença de metais tóxicos na fumaça ativa e passiva observando concentrações de Cu na faixa de 1,1 a 1,2 µg/cigarro e de 1,4 a 2,1 µg/cigarro, respectivamente. Com relação ao Pb, foram observadas concentrações variando na faixa de 0,125 a 0,164 µg/cigarro e de 0,405 a 0,742 µg/cigarro para as mesmas amostras, respectivamente (Behera *et al.*, 2014). Além disso, é importante

observar que de acordo com os resultados apresentados na Tabela 29, as amostras 6 e 8 apresentaram as maiores concentrações de chumbo em tabaco 7,30 e 9,92 µg/cigarro, respectivamente. As amostras de fumaça, referentes a essas marcas, apresentaram também as maiores concentrações de Pb. As amostras 10 e 12 apresentaram concentrações próximas tanto para o tabaco (3,87 e 3,15 µg/cigarro, respectivamente) quanto para a fumaça (0,15 e 0,12 µg/cigarro, respectivamente). Para o cobre, não foi possível estabelecer as mesmas correlações, porém é importante salientar que os mecanismos pelos quais os metais são vaporizados e carregados pela fumaça são complexos e diferentes entre si.

A porcentagem de transferência de chumbo do tabaco para a fumaça ativa variou de 2,2 a 11,6%, enquanto que para o cobre os valores foram menores que 6,3% com exceção da amostra 2, onde a porcentagem de transferência foi de 19,2%. Uma vez que os valores médios de Pb e Cu, observados por Behera *et al.* (2014) para as frações de fumaça ativa e passiva de diferentes marcas populares de cigarros foram concordantes com os resultados obtidos nesse trabalho (Behera *et al.*, 2014), pode-se afirmar que há evidências de que a utilização da solução extratora de HNO₃ 10% v/v promoveu a extração dos metais estudados de forma promissora nas amostras gasosas dos cigarros ilegais avaliados.

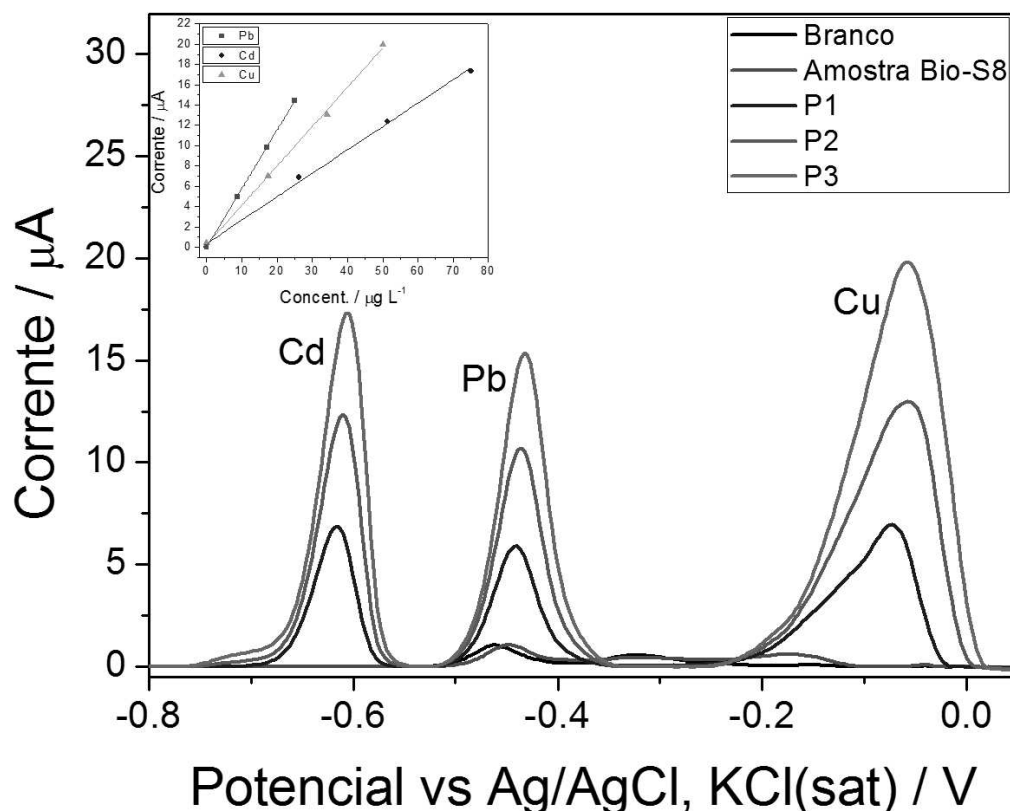
Foi utilizada apenas uma unidade de cigarro para queima simulada, borbulhando sua fumaça na solução extratora. Alternativamente, a utilização de um número maior de unidades permitiria uma pré-concentração dos metais avaliados na solução extratora e, dessa forma, o Cd poderia, provavelmente, ser quantificado. Porém, com o aumento do número de unidades de cigarros sofrendo o processo de queima simulada, a carga de compostos orgânicos extraídos também seria pré-concentrada e possíveis interferências nas análises seriam observadas. Para evitar essas interferências, processos de decomposição tornar-se-iam necessários. Uma vez que parte dos elementos avaliados apresentam caráter volátil, a utilização de sistemas fechados de decomposição seria imprescindível. O forno digestor micro-ondas disponível no Departamento de Química da UFJF, no momento da execução desta etapa do projeto, requeria manutenção, inviabilizando assim os processos de pré-concentração com o aumento do número de cigarros queimados.

16.2. DETERMINAÇÃO DE CÁDMIO, CHUMBO E COBRE BIOACESSÍVEIS EM AMOSTRAS DE FUMAÇA DE CIGARROS ILEGAIS

Como mencionado anteriormente, a literatura considera que os estudos de bioacessibilidade podem ser realizados considerando diferentes soluções extratoras, o fluido lisossômico artificial e a solução de Gamble. De maneira geral, estudos de bioacessibilidade aplicados para avaliação da solubilidade de compostos metálicos em ambiente de fluido pulmonar tem sido realizados em amostras de poeira atmosférica, aerossóis urbanos, materiais particulados e outras amostras ambientais (Takaya *et al.*, 2006; Julien *et al.*, 2011; Cruz *et al.*, 2015; Coufalík *et al.*, 2016), de forma que até onde é sabido nenhum trabalho é reportado na literatura para amostras de fumaça de cigarros.

Utilizando o arranjo instrumental da Figura 20 e os parâmetros de queima simulada de cigarros da Tabela 12, a fumaça dos cigarros ilegais foi borbulhada sobre a solução de Gamble, preparada com composição iônica de acordo com a Tabela 2. Foi aplicado o método otimizado por voltametria de onda quadrada às frações bioacessíveis da fumaça das amostras de cigarros comercializados ilegalmente. Para evitar possíveis efeitos de matriz, as determinações foram conduzidas com curvas de adição de padrão. O voltamograma obtido a partir das análises da fração bioacessível em solução de Gamble, com suas respectivas curvas de adição de padrão, está representado na Figura 22. Ressalta-se que mesmo não obtendo sinal analítico acima dos limites de detecção para o Cd e para o Pb nas amostras, as curvas de adição de padrão foram construídas a fim de demonstrar a capacidade do método de avaliar de forma simultânea os três elementos sem interferência.

Figura 22 – Voltamogramas referentes a uma das réplicas das determinações de Cd, Pb e Cu na fração bioacessível de fumaça extraída em solução de Gamble. Curvas de adição de padrão de Pb, Cd e Cu inseridas. Faixa de concentração dos padrões de Cu: 17,5 a 50,0 $\mu\text{g L}^{-1}$; Pb: 8,8 a 25,0 $\mu\text{g L}^{-1}$; e, Cd: 6,9 a 17,4 $\mu\text{g L}^{-1}$. Condições analíticas vide Tabela 23, página 112.



Fonte: Elaborado pelo próprio autor (2020).

A partir dos voltamogramas obtidos foram construídas curvas para cálculo das concentrações dos analitos em cada uma das frações bioacessíveis. Foi possível quantificar Cu com precisões aceitáveis para algumas amostras, porém para o Cd e Pb não foram obtidos sinais analíticos que permitissem sua quantificação em nenhuma amostra. Na Tabela 31 a seguir estão dispostos os resultados obtidos.

Tabela 31 – Concentração de cobre em amostras da fração bioacessível dos metais na fumaça de cigarro extraídas em solução de Gamble.

Amostra	Concentração em $\mu\text{g L}^{-1}$	Concentração em $\mu\text{g/cigarro}$
1	$(34,0 \pm 2,5)$	$(0,34 \pm 0,02)$
2	$(66,5 \pm 4,2)$	$(0,67 \pm 0,04)$
3	< LD	< LD
4	$(14,3 \pm 1,3)$	$(0,14 \pm 0,01)$
5	$(53,4 \pm 4,1)$	$(0,53 \pm 0,04)$
6	$(8,72 \pm 0,89)$	$(0,09 \pm 0,01)$
7	< LD	< LD
8	$(14,8 \pm 1,0)$	$(0,15 \pm 0,01)$
9	< LD	< LD
10	2,08 ¹	< LQ
11	$(30,3 \pm 1,7)$	$(0,30 \pm 0,02)$
12	< LD	< LD
Média	$(28,0 \pm 22,6)$	$(0,28 \pm 0,23)$
Mínimo	$(8,72 \pm 0,89)$	$(0,09 \pm 0,01)$
Máximo	$(66,5 \pm 4,2)$	$(0,67 \pm 0,04)$

¹ Valores estimados, concentração abaixo do LQ.

Fonte: Elaborado pelo próprio autor (2020).

De maneira geral, os valores bioacessíveis de cobre nas amostras de fumaça de cigarros comercializados ilegalmente variaram de 0,09 a 0,67 $\mu\text{g/cigarro}$. A amostra 2, que apresentou maior valor de concentração na solução extratora de HNO_3 10% v/v, 1,47 $\mu\text{g/cigarro}$, apresentou também a maior concentração de cobre na fração bioacessível. As amostras 7 e 12 apresentaram concentrações abaixo do LD, assim como as amostras 3 e 9, porém as últimas exibiram concentrações quantificáveis na solução extratora de HNO_3 10% v/v, enquanto que a amostra 10 apresentou valores de concentração abaixo do LQ. As demais amostras apresentaram concentrações quantificáveis de cobre na solução Gamble, porém os dados se mostraram sem correlações diretas evidenciando que ocorrem diferenças de sorção entre as soluções extratoras e que esta também é afetada pela matriz da fumaça. A título de

exemplo, as amostras 1 e 11 apresentaram concentrações de cobre próximas para a solução extratora ácida, 0,40 e 0,41 $\mu\text{g}/\text{cigarro}$, respectivamente, e para a fração bioacessível, 0,34 e 0,30 $\mu\text{g}/\text{cigarro}$, respectivamente. Por outro lado, as amostras 4, 6 e 8 apresentaram concentrações na faixa de 0,48 a 0,79 $\mu\text{g}/\text{cigarro}$ para a extração ácida e concentrações na faixa de 0,09 a 0,15 $\mu\text{g}/\text{cigarro}$ para a fração bioacessível.

Como mencionado anteriormente, o balanço de massa das concentrações obtidas na Tabela 29 permite estimar as concentrações totais de cobre na fumaça dos cigarros (ativa e passiva). A partir desses valores e das concentrações na solução de Gamble, pode-se calcular as frações bioacessíveis de cobre na fumaça ativa dos cigarros avaliados. Tais resultados estão dispostos na Tabela 32 a seguir.

Tabela 32 – Fração bioacessível de cobre em amostras de fumaça ativa de cigarros ilegais extraída em solução de Gamble, líquido pulmonar simulado.

Amostra	Concentração solução HNO₃ 10% v/v ($\mu\text{g}/\text{cigarro}$)	Concentração solução de Gamble ($\mu\text{g}/\text{cigarro}$)	Fração bioacessível (%)
1	(0,40 \pm 0,02)	(0,34 \pm 0,02)	(85 \pm 5)
2	(1,47 \pm 0,09)	(0,67 \pm 0,04)	(46 \pm 3)
3	(0,28 \pm 0,03)	< LD	-
4	(0,48 \pm 0,030)	(0,14 \pm 0,01)	(29 \pm 2)
5	(0,49 \pm 0,04)	(0,53 \pm 0,04)	(108 \pm 8)
6	(0,54 \pm 0,02)	(0,09 \pm 0,01)	(17 \pm 2)
7	< LD	< LD	-
8	(0,79 \pm 0,09)	(0,15 \pm 0,01)	(19 \pm 1)
9	(0,05 \pm 0,01)	< LD	-
10	(0,57 \pm 0,02)	< LQ	-
11	(0,41 \pm 0,03)	(0,30 \pm 0,02)	(73 \pm 5)
12	< LD	< LD	-
Média	(0,55 \pm 0,38)	(0,28 \pm 0,23)	(54 \pm 35)
Mínimo	(0,05 \pm 0,01)	(0,09 \pm 0,01)	(17 \pm 2)
Máximo	(1,47 \pm 0,09)	(0,67 \pm 0,04)	(108 \pm 8)

Fonte: Elaborado pelo próprio autor (2020).

A literatura científica contempla alguns estudos que envolvem a avaliação da fração bioacessível de compostos presentes no cigarro como o acetaldeído e a nicotina (Seeman *et al.*, 2002; Seeman e Carchman, 2008), porém não foram encontrados estudos sobre a fração bioacessível de cobre em líquido pulmonar simulados. Dessa forma, estudos que utilizam a solução de Gamble como líquido pulmonar simulado para avaliar a fração bioacessível de cobre foram considerados. Huang *et al.* (2016) determinaram que 30% do cobre presente em aerossóis de neblina (material particulado PM_{2,5}) do sudeste asiático foi solúvel em líquido pulmonar simulado, enquanto que para o aerossol urbano sem neblina esse valor chegou a 37% (Huang *et al.*, 2016). De maneira semelhante, Silva *et al.* (2015) avaliaram a fração bioacessível de metais pesados em material particulado (PM₁₀) e determinaram que para o cobre, os valores variaram de 18 a 40% (Da Silva *et al.*, 2015).

Os procedimentos pelos quais são avaliadas as frações bioacessíveis de metais em material particulado utilizando líquidos pulmonares simulados, são diferentes da metodologia empregada nesta tese, porém evidenciam que tais soluções são rotineiramente empregadas para esse tipo de avaliação em um consenso científico internacional.

17. CONCLUSÕES PARCIAIS

O arranjo instrumental utilizando o frasco Drechsel e a seringa permitiu coletar com sucesso as frações de fumaça ativa das doze marcas de cigarros comercializados ilegalmente. Essas amostras gasosas foram borbulhadas sobre uma solução de HNO_3 10% v/v, cujo objetivo inicial foi avaliar a fração total de metais tóxicos presentes na fumaça, e em solução de Gamble, uma solução iônica de composição definida cujo objetivo visa obter as frações bioacessíveis de metais tóxicos presentes na fumaça.

De maneira geral, a solução de ácido nítrico diluído não mostrou eficiência adequada para absorção dos metais presentes na fumaça ativa e, dessa forma, não forneceu uma estimativa confiável sobre os níveis totais destes metais. Isso se torna evidente quando consideramos as concentrações médias estimadas pelo balanço de massa, mesmo fornecendo os valores somados de fumaça ativa e passiva, e também em função dos resultados obtidos utilizando a solução de Gamble, uma vez que foi possível quantificar cobre em um número maior de amostras.

Uma etapa de pré-concentração dos extratos foi considerada, porém ao final do processo de queima simulada, os extratos apresentavam-se com alta carga de matéria orgânica (alteração da cor da solução inicial). Sem a presença de um sistema de digestão fechado, para decomposição das amostras, optou-se por não implementar a fim de evitar maiores interferências nas análises voltamétricas.

Os resultados obtidos indicam que a fração de cobre nas amostras de cigarros, disponível para absorção nos pulmões varia de 0,09 a 0,67 $\mu\text{g}/\text{cigarro}$. Esses valores confirmam a necessidade de estudos mais abrangentes, uma vez que os efeitos adversos causados pela inalação de metais não são bem conhecidos. Pode-se também sugerir que políticas sócio-educativas de combate ao consumo e de controle de produtos de qualidade contestada sejam desenvolvidas e implementadas.

18. CONCLUSÕES FINAIS

Neste trabalho de tese foram otimizadas as condições instrumentais para determinação de chumbo por GF AAS avaliando diferentes estratégias de preparo de amostras para as amostras de tabaco. Após a otimização das condições de preparo de amostras, as condições instrumentais de análise (temperaturas de pirólise e atomização e a necessidade de utilização de modificador químico da matriz) foram otimizadas para análise direta, suspensões, e para soluções digeridas por radiação micro-ondas.

Diferenças significativas nas condições de análise foram observadas em função da complexidade de cada matriz, para a solução digerida a temperatura de pirólise foi fixada em 800 °C e a de atomização em 1200 °C com utilização de $Mg(NO_3)_2$ como modificador químico. Já para as amostras de suspensão de tabaco as temperaturas de pirólise e atomização foram 1250 e 1450 °C, respectivamente, requerendo uma mistura de $Pd(NO_3)_2$ e $Mg(NO_3)_2$ como modificadores químicos. Por razões técnicas, não foi possível concluir essa parte do projeto, entretanto com a manutenção do espectrômetro de absorção atômica e as condições instrumentais previamente otimizadas, será viável aplicar o método a esse tipo de amostra.

Utilizando a espectrometria de absorção atômica foram desenvolvidos métodos para determinação de cromo em amostras de tabaco, filtros pré e pós-queima e cinzas. As figuras de mérito dos métodos foram comparáveis a métodos reportados na literatura com limites de detecção na ordem de 20 a 81 ng g⁻¹. Os métodos apresentaram ainda precisão (RSD < 7%) e exatidão (97,6%) adequados. Uma amostra de referência (NIST SRM 1573a) foi avaliada obtendo-se uma recuperação média de 102,9% para o analito, confirmando a boa exatidão do método. Foi possível quantificar o teor total de cromo em uma amostra de filtro pós-queima com concentração média de 0,034 µg/cigarro e para as 12 amostras de cinzas e de tabaco com concentrações médias variando de 0,32 a 0,80 µg/cigarro e 0,96 a 3,85 µg/cigarro, respectivamente.

A quantidade de cromo encontrada nas amostras estudadas sugere que o mercado de cigarros precisa de supervisão adequada para proteger a saúde e a segurança do consumidor, uma vez que todas as marcas ilícitas estão inseridas no mercado brasileiro e apresentaram concentrações consideravelmente altas de cromo por unidade de cigarro. Em função dos problemas técnicos apresentados pelo espectrômetro de absorção atômica, não foi possível

desenvolver e aplicar um método para determinação de cromo nas amostras de fumaça, bem como avaliar a fração bioacessível do mesmo presente nessas amostras. Por outro lado, os resultados obtidos para essa parte do projeto podem ser considerados relevantes e foram publicados no periódico *Journal of Analytical Toxicology*.

Considerando a impossibilidade circunstancial de explorar mais os métodos espectrométricos, métodos eletroquímicos baseados na voltametria de onda quadrada foram otimizados e aplicados para a determinação simultânea de cobre, cádmio e chumbo nas amostras de filtros pré e pós-queima, cinzas e tabaco, digeridas por radiação micro-ondas. As figuras de mérito do método eletroquímico se mostraram adequadas com limites de detecção na ordem de 0,72, 0,89 e 1,43 $\mu\text{g L}^{-1}$. A precisão, avaliada através do desvio padrão relativo das medidas dos picos das amostras analisadas em triplicata, com $\text{RSD} < 11\%$ se mostrou adequada para os níveis de concentração estudados. Os ensaios de adição e recuperação com valores variando de 80 a 111% demonstraram também boa exatidão, confirmada pela recuperação de 95% para o cobre numa amostra de referência de folhas de tomates (NIST SRM 1573a). As concentrações de cádmio permaneceram abaixo dos limites de detecção, porém foi possível quantificar chumbo e cobre nas amostras.

Para o cobre, as concentrações variaram de 0,22 a 0,83 $\mu\text{g/cigarro}$, 1,30 a 7,45 $\mu\text{g/cigarro}$ e 7,24 a 43,1 $\mu\text{g/cigarro}$ para as amostras de filtro pós-queima, cinzas e tabaco, respectivamente. Enquanto para o chumbo, as concentrações variaram de 0,12 a 0,38 $\mu\text{g/cigarro}$, 0,89 a 4,86 $\mu\text{g/cigarro}$ e 1,76 a 9,92 $\mu\text{g/cigarro}$ para as mesmas amostras. Em relação às amostras investigadas, foram observadas altas taxas de transferência de cobre e chumbo para cinzas, enquanto os filtros tiveram baixa absorção após queima simulada. Isso sugere que quantidades significativas desses metais, transportadas pela fumaça, podem atingir as vias aéreas dos fumantes. Dessa forma, além de uma preocupação recorrente à saúde, os resíduos gerados pelo hábito do tabagismo podem ser considerados como problemas ambientais a nível global. Além disso, como a descrição de metais tóxicos em amostras de cigarros utilizando métodos eletroquímicos não é relatada pela literatura, os resultados descritos nessa tese, referente a essa parte, puderam ser publicados no periódico *Microchemical Journal*.

O sistema construído para coleta das amostras se mostrou adequado para a execução do procedimento. As amostras gasosas foram coletadas em solução de HNO_3 10% v/v e

solução de Gamble, uma solução que simula o líquido pulmonar expelido pelas células alveolares.

O método baseado na voltametria de onda quadrada foi utilizado para avaliação dos níveis de cádmio, chumbo e cobre nas amostras de fumaça extraídas em solução ácida e em líquido pulmonar simulado. As concentrações de cádmio permaneceram abaixo dos limites de detecção para ambos os processos de extração desses metais da fumaça. Utilizando a solução ácida foi possível quantificar o cobre e o chumbo em quatro amostras, com concentrações variando entre 0,05 e 1,47 $\mu\text{g}/\text{cigarro}$ e 0,12 e 0,43 $\mu\text{g}/\text{cigarro}$, respectivamente. Para a solução de Gamble foi possível quantificar apenas os níveis de cobre em 7 das amostras de fumaça e os níveis de concentração variaram de 0,09 a 0,67 $\mu\text{g}/\text{cigarro}$.

Considerando que os resultados obtidos para a solução de Gamble permitiram a quantificação de cobre em sete amostras e utilizando a solução de ácido nítrico apenas quatro, pode-se considerar que a solução ácida não forneceu estimativas aceitáveis sobre os níveis totais de metais tóxicos na fumaça ativa dos cigarros. A literatura científica relata estudos de bioacessibilidade de compostos orgânicos como a nicotina, também presentes na fumaça de cigarros. Entretanto, para metais tóxicos esse tipo de estudo é comumente relatado para amostras ambientais, como materiais particulados, aerossóis urbanos, poeira atmosférica, entre outros. Os resultados obtidos indicam que até 0,67 μg de cobre fica disponível para absorção nos pulmões por cigarro fumado. Esses valores revelam dados preocupantes para a saúde dos dependentes do tabaco, uma vez que os efeitos da acumulação de metais no sistema respiratório ainda são pouco conhecidos e, também, porque no cigarro existem outros elementos que não foram investigados nesse trabalho.

19. PERSPECTIVAS

Frente às dificuldades técnicas encontradas durante a execução do trabalho com os equipamentos disponíveis no Departamento de Química da UFJF, tem-se como perspectiva a finalização de algumas partes do trabalho e elaboração de outros projetos derivados deste. Destacam-se:

- a) Avaliação das figuras de mérito e aplicação do método desenvolvido para para determinação de chumbo em suspensões de amostras de tabaco por GF AAS;
- b) Otimizar as condições instrumentais para determinação de outros metais tóxicos em suspensões de tabaco por GF AAS;
- c) Otimizar as condições instrumentais e determinar outros metais tóxicos nas amostras digeridas por radiação micro-ondas empregando as técnicas instrumentais F AAS e GF AAS;
- d) Considerando que para materiais particulados, a bioacessibilidade é avaliada deixando o material em contato com o líquido pulmonar simulado por períodos de 24 horas e que o rapé, um tipo de mistura de folhas de tabaco finamente particulada, é consumido de forma direta, tem-se como perspectiva avaliar os processos de bioacessibilidade empregando métodos utilizados para amostras de material particulado;
- e) Avaliar o emprego de outras soluções sorventes ou sistema de filtro para estimar a concentração de metais tóxicos na fumaça ativa por técnicas voltamétricas e espectrométricas;
- f) Desenvolver um sistema de captação da fumaça passiva e avaliar a presença de metais tóxicos empregando técnicas voltamétricas e espectrométricas;
- g) Comparar cigarros comercializados de forma ilegal com os legalizados;
- h) Estudar outras amostras derivadas de tabaco, como cigarros de palha, charutos, fumos de corda, entre outros;
- i) Desenvolver métodos e aplicar para amostras de essências de cigarros eletrônicos.

REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

ALMEIDA, R. F. Plantas hiperacumuladoras de metais pesados do solos solos. **Revista de Biotecnologia & Ciência**, v. 1, n. 2, p. 19, 2012.

ÁLVAREZ, M. A.; CARRILLO, G. Simultaneous determination of arsenic, cadmium, copper, chromium, nickel, lead and thallium in total digested sediment samples and available fractions by electrothermal atomization atomic absorption spectroscopy (ET AAS). **Talanta**, v. 97, p. 505-512, 2012.

ARAMBARRI, I.; GARCIA, R.; MILLÁN, E. Optimisation of tin determination in –HF extracts from sediments by electrothermal atomic absorption spectrometry using experimental design. **Analyst**, v. 125, n. 11, p. 2084-2088, 2000.

ARISTOV, N.; HABEKOST, A. Cyclic Voltammetry - A Versatile Electrochemical Method Investigating Electron Transfer Processes. **World Journal of Chemical Education**, v. 3, n. 5, p. 115-119, 2015.

ATAFAR, Z. et al. Effect of fertilizer application on soil heavy metal concentration. **Environmental monitoring and assessment**, v. 160, p. 83-9, 2009.

AZEVEDO, F. A. d.; CHASIN, A. A. d. M. **Metais: Gerenciamento de Toxicidade**. São Paulo, Rio de Janeiro, Ribeirão Preto e Belo Horizonte: Editora Atheneu, 2003.

AZEVEDO, G. C. **Desenvolvimento de dispositivo analítico usando impressão 3D para análises voltamétricas em microvolumes**. 2019. (Doutorado em Química). Departamento de Química, Universidade Federal de Juiz de Fora, Juiz de Fora.

BAIRD, C.; CANN, M. **Environmental Chemistry**. W. H. Freeman, 2012.

BARBOSA, F. et al. Evaluation of electrodeposited tungsten chemical modifier for direct determination of chromium in urine by ETAAS. **Microchemical Journal**, v. 78, n. 1, p. 7-13, 2004.

BARRETO, I. F. Tabaco: a construção das políticas de controle sobre seu consumo no Brasil. **História, Ciências, Saúde-Manguinhos**, v. 25, p. 797-815, 2018.

BEHERA, S. N.; XIAN, H.; BALASUBRAMANIAN, R. Human health risk associated with exposure to toxic elements in mainstream and sidestream cigarette smoke. **Science of The Total Environment**, v. 472, p. 947-956, 2014.

BIZOÑ, A. et al. The influence of the intensity of smoking and years of work in the metallurgy on pro-oxidant/antioxidant balance in the blood of smelters. **Toxicology and Industrial Health**, v. 29, n. 2, p. 12, 2011.

BIZZI, C. A. et al. Microwave-Assisted Oxidation of Organic Matter Using Diluted HNO₃ under O₂ Pressure: Rationalization of the Temperature Gradient Effect for Acid Regeneration. **Journal of the Brazilian Chemical Society**, v. 28, n. 9, p. 8, 2017.

BIZZI, C. A. et al. Effect of simultaneous cooling on microwave-assisted wet digestion of biological samples with diluted nitric acid and O₂ pressure. **Analytica Chimica Acta**, v. 837, p. 16-22, 2014.

BOLZAN, R. C. **Determinação de Arsênio e Cromo em Insumos Farmacêuticos contendo Enxofre por Espectrometria de Absorção Atômica com Forno de Grafite e Análise Direta de Amostras Sólidas**. 2007. (Doutorado). Departamento de química, Universidade Federal de Santa Maria, Santa Maria.

BOONYAPOOKANA, B. et al. Phytoaccumulation of Lead by Sunflower (*Helianthus annuus*), Tobacco (*Nicotiana tabacum*), and Vetiver (*Vetiveria zizanioides*). **Journal of environmental science and health. Part A, Toxic/hazardous substances & environmental engineering**, v. 40, p. 117-37, 2005.

BORGERDING, M.; KLUS, H. Analysis of complex mixtures – Cigarette smoke. **Experimental and Toxicologic Pathology**, v. 57, p. 43-73, 2005.

BOTHWELL, P. W. LUNG CANCER AND TOBACCO MOSAIC VIRUS. **The Lancet**, v. 275, n. 7125, p. 657-658, 1960.

BRASIL. **A Anvisa e o controle dos produtos derivados do tabaco**, SANITÁRIA, A. N. D. V., Brasília, Ministério da Saúde, 2007.

BRASIL. **Resolução Nº 14. Dispõe sobre os limites máximos de alcatrão, nicotina e monóxido de carbono nos cigarros e a restrição do uso de aditivos nos produtos fumígenos derivados do tabaco, e dá outras providências**, SANITÁRIA, A. N. D. V., Brasília, Ministério da Saúde, 2012.

BRASIL. **Dispõe sobre a validação de métodos analíticos e dá outras providências**, Ministério da Saúde, Agência Nacional de Vigilância Sanitária, 2017.

BRASIL. Tabagismo - História do cigarro. Câmara dos Deputados, 2019. Disponível em: <
<https://www.camara.leg.br/radio/programas/257253-tabagismo---historia-do-cigarro-----08--49---> >.

BRASIL. **Produção de fumo e derivados, CÂNCER**, I. N. D., Brasil, Ministério da Saúde, 2020a.

BRASIL. **Registro de Produto Fumígeno - Dados Cadastrais Relação de Marcas de Cigarros**, SANITÁRIA, A. N. D. V., Brasília, Ministério da Saúde, 2020b.

BRUHN, C. G. et al. Study of chemical modifiers for the determination of chromium in biological materials by tungsten coil electrothermal atomic absorption spectrometry. **Fresenius' Journal of Analytical Chemistry**, v. 364, n. 3, p. 273-278, 1999.

CABRERA-VIQUE, C.; BOUZAS, P. R. Chromium and manganese levels in convenience and fast foods: In vitro study of the dialyzable fraction. **Food Chemistry**, v. 117, n. 4, p. 757-763, 2009.

CAL-PRIETO, M. J. et al. Slurry sampling for direct analysis of solid materials by electrothermal atomic absorption spectrometry (ETAAS). A literature review from 1990 to 2000. **Talanta**, v. 56, n. 1, p. 1-51, 2002.

CARVALHO, M. C. **O cigarro**. São Paulo: Publifolha, 2001.

CASTILHO, I. N. B. et al. Comparison of three different sample preparation procedures for the determination of traffic-related elements in airborne particulate matter collected on glass fiber filters. **Talanta**, v. 88, p. 689-695, 2012.

ÇAY, M.; NAZIROĞLU, M.; KÖYLÜ, H. Selenium and Vitamin E Modulates Cigarette Smoke Exposure-Induced Oxidative Stress in Blood of Rats. **Biological Trace Element Research**, v. 131, n. 1, p. 62-70, 2009.

CHRISTEN, A. G. The Clinical Effects of Tobacco on Oral Tissue. **The Journal of the American Dental Association**, v. 81, n. 6, p. 1378-1382, 1970.

CODEX. **Recommended Methods for Analysis and Sampling**, CODEX STAN 234, COMMISSION, C. A., WHO Food Standards Programme, 1999.

COLOMBO, C.; MONHEMIUS, A. J.; PLANT, J. A. Platinum, palladium and rhodium release from vehicle exhaust catalysts and road dust exposed to simulated lung fluids. **Ecotoxicology and Environmental Safety**, v. 71, n. 3, p. 722-730, 2008.

COUFALÍK, P. et al. Determination of the bioaccessible fraction of metals in urban aerosol using simulated lung fluids. **Atmospheric Environment**, v. 140, p. 469-475, 2016.

COUNTS, M. E. et al. Smoke composition and predicting relationships for international commercial cigarettes smoked with three machine-smoking conditions. **Regulatory Toxicology and Pharmacology**, v. 41, n. 3, p. 185-227, 2005.

CRUZ, N. et al. Testing single extraction methods and in vitro tests to assess the geochemical reactivity and human bioaccessibility of silver in urban soils amended with silver nanoparticles. **Chemosphere**, v. 135, p. 304-311, 2015.

CYPRIANO, J. C.; MATOS, M. A. C.; MATOS, R. C. Ultrasound-assisted treatment of palm oil samples for the determination of copper and lead by stripping chronopotentiometry. **Microchemical Journal**, v. 90, n. 1, p. 26-30, 2008.

DA SILVA, L. I. D. et al. Evaluation of bioaccessible heavy metal fractions in PM10 from the metropolitan region of Rio de Janeiro city, Brazil, using a simulated lung fluid. **Microchemical Journal**, v. 118, p. 266-271, 2015.

DANIELS, C. B.; ORGEIG, S. Pulmonary Surfactant: The Key to the Evolution of Air Breathing. **Physiology**, v. 18, n. 4, p. 151-157, 2003.

DE AMORIM, F. R. et al. Comparative study of conventional and multivariate methods for aluminum determination in soft drinks by graphite furnace atomic absorption spectrometry. **Microchemical Journal**, v. 82, n. 2, p. 168-173, 2006.

DHAWARE, D. et al. Determination of Toxic Metals in Indian Smokeless Tobacco Products. **TheScientificWorldJournal**, v. 9, p. 1140-7, 2009.

DOBROWOLSKI, R.; PAWLOWSKA-KAPUSTA, I.; DOBRZYNSKA, J. Chromium determination in food by slurry sampling graphite furnace atomic absorption spectrometry using classical and permanent modifiers. **Food chemistry.**, v. 132, n. 1, p. 597-602, 2012.

ELSON, L. A.; BETTS, T. E. Buffering capacity of the smoke of different tobaccos in relation to lung cancer risks. **Cancer Letters**, v. 1, p. 285-290, 1975.

ESTRANHO, R. M. **Qual é a origem do cigarro e do ato de fumar?** Super Interessante. São Paulo: Editora Abril 2018.

EUROPEAN COMMISSION. **Commission Decision of 12 August 2002 implementing Council Directive 96/23/EC concerning the performance of analytical methods and the interpretation of results**, Official Journal of the European Communities, 2002.

EVANS, H. et al. Atomic spectrometry update: Review of advances in atomic spectrometry and related techniques. **J. Anal. At. Spectrom.**, v. 32, 2017.

FAOSTAT. Food and Agriculture Organization of the United Nations, 2017.

FIGUEIREDO, A. d. **Programa de diversificação de lavouras de tabaco nas encostas da Serra Geral, atividades e potencialidades**. 2008. (Trabalho de Conclusão de Curso de Engenharia Agrônoma). Centro de Ciências Agrárias, Universidade Federal de Santa Catarina, Florianópolis.

FLORES, É. M. d. M. **Microwave-Assisted Sample Preparation for Trace Element Determination**. Amsterdam: Elsevier, 2014.

FRESQUEZ, M. R.; PAPPAS, R. S.; WATSON, C. H. Establishment of Toxic Metal Reference Range in Tobacco from US Cigarettes. **Journal of Analytical Toxicology**, v. 37, n. 5, p. 298-304, 2013.

FROIS, C. **Família brasileiras que cultivam tabaco sofrem de overdose de nicotina**. Revista Galileu. Rio de Janeiro: Editora Globo 2015.

GALAŻYN-SIDORCZUK, M.; BRZÓSKA, M. M.; MONIUSZKO-JAKONIUK, J. Estimation of Polish cigarettes contamination with cadmium and lead, and exposure to these metals via smoking. **Environmental Monitoring and Assessment**, v. 137, n. 1, p. 481-493, 2008.

GERHARDT, K. E. et al. Phytoremediation and rhizoremediation of organic soil contaminants: Potential and challenges. **Plant Science**, v. 176, n. 1, p. 20-30, 2009.

GRAD, G. F. et al. Motivations for smoking in hospitalized patients. **Revista da Associação Médica Brasileira**, v. 65, p. 603-610, 2019.

HARRIS, D. C. **Análise Química Quantitativa** Ninth LTC, 2017.

HE, Y. et al. Investigation of lead and cadmium in counterfeit cigarettes seized in the United States. **Food and Chemical Toxicology**, v. 81, p. 40-45, 2015.

HUANG, X. et al. Risk assessment of bioaccessible trace elements in smoke haze aerosols versus urban aerosols using simulated lung fluids. **Atmospheric Environment**, v. 125, p. 505-511, 2016.

INCA. **Dados e números da prevalência do tabagismo**, TABACO, Instituto Nacional do Câncer, Ministério da Saúde, 2021.

ISO. **Routine analytical cigarette-smoking machine definitions and standards conditions**, Fifth edition, International Organization for Standardization, 2012.

JOHNSTON, W. D.; BALLANTYNE, A. J. Prognostic effect of tobacco and alcohol use in patients with oral tongue cancer. **The American Journal of Surgery**, v. 134, n. 4, p. 444-447, 1977.

JOOSSENS, L. et al. The Impact of Eliminating the Global Illicit Cigarette Trade on Health and Revenue. **Addiction (Abingdon, England)**, v. 105, p. 1640-9, 2010.

JR., A. C. G. et al. **Heavy Metal Contamination in Brazilian Agricultural Soils due to Application of Fertilizers**. HERNANDEZ-SORIANO, M. C.: Environmental Risk Assessment of Soil Contamination 2014.

JULIEN, C. et al. Development of an in vitro method to estimate lung bioaccessibility of metals from atmospheric particles. **Journal of Environmental Monitoring**, v. 13, n. 3, p. 621-630, 2011.

JUNG, M. C.; THORNTON, I.; CHON, H. T. Arsenic, Cadmium, Copper, Lead, and Zinc Concentrations in Cigarettes Produced in Korea and the United Kingdom. **Environmental Technology**, v. 19, n. 2, p. 237-241, 1998.

KALCHER, K.; KERN, W.; PIETSCH, R. Cadmium and lead in the smoke of a filter cigarette. **Science of The Total Environment**, v. 128, n. 1, p. 21-35, 1993.

KREYBERG, L. Tobacco dosage and lung cancer in the light of experimental carcinogenesis. **European Journal of Cancer (1965)**, v. 1, n. 3, p. 329, 1965.

KRUG, F. J.; ROCHA, F. R. P. **Métodos de preparo de amostras para análise elementar**. São Paulo: EDIT-SBQ, 2016.

LIMA, R. M. G. d. **Avaliação da solubilidade em líquido pulmonar simulado dos metais presentes no rejeito gerado por uma indústria metalúrgica de zinco**. 2012. (Doutor em Ciências). Departamento de Química Analítica, Universidade Federal do Rio de Janeiro, Rio de Janeiro.

LISBOA, T. P. et al. Chromium Levels in Tobacco, Filter and Ash of Illicit Brands Cigarettes Marketed in Brazil. **Journal of Analytical Toxicology**, 2020.

LIU, C.; G. MCADAM, K.; A. PERFETTI, T. Some Recent Topics in Cigarette Smoke Science. **Mini-Reviews in Organic Chemistry**, v. 8, n. 4, p. 349-359, 2011.

LIU, C.; WOODCOCK, D. Observing the Peripheral Burning of Cigarettes by an Infrared Technique. **Beiträge zur Tabakforschung International/Contributions to Tobacco Research**, v. 20, n. 4, p. 257-264, 2014.

LOURDES, Â. M. F. d. O. et al. Ultrasound-assisted extractio of Na, K, Cr, Pb and Zn in NPK fertilizers and determination by F AAS and F AES. **Atomic Spectroscopy**, v. 37, p. 5, 2016.

MÍGUEZ, M. C.; PEREIRA, B.; FIGUEIREDO, B. Tobacco consumption and spontaneous quitting at the first trimester of pregnancy. **Addictive Behaviors**, v. 64, p. 111-117, 2017.

MILLER-IHLI, N. J. Slurry sampling for graphite furnace atomic absorption spectrometry. **Fresenius' Journal of Analytical Chemistry**, v. 337, n. 3, p. 271-274, 1990.

MILNEROWICZ, H.; ŚCISKALSKA, M.; DUL, M. Pro-inflammatory effects of metals in persons and animals exposed to tobacco smoke. **Journal of Trace Elements in Medicine and Biology**, v. 29, p. 1-10, 2015.

MIMURA, A. M. S.; FERREIRA, C. C. M.; SILVA, J. C. J. Fast and feasible sample preparation methods for extraction of trace elements from deposited particulate matter samples. **Analytical Methods**, v. 9, n. 3, p. 490-499, 2017.

MINAMI, H. et al. Direct Determination of Chromium in Biological Materials by Solid-Sampling Atomic Absorption Spectrometry: Application of Three-Point Estimation-Standard Addition Method. **Microchemical Journal**, v. 49, n. 2, p. 126-135, 1994.

MIRANDA, K. et al. Determination of Cd levels in smoke condensate of Brazilian and Paraguayan cigarettes by Thermospray Flame Furnace Atomic Absorption Spectrometry (TS-FF-AAS). **Microchemical Journal**, v. 100, p. 27-30, 2012.

MIRCESKI, V. et al. Square-Wave Voltammetry: A Review on the Recent Progress. **Electroanalysis**, v. 25, n. 11, p. 2411-2422, 2013.

MIRRA, A. P.; CARVALHO, A. P. d. The importance of legislative measures on tobacco control in Brazil. **Revista da Associação Médica Brasileira**, v. 63, p. 917-921, 2017.

MIRRA, A. P. et al. Tabagismo: parte I. **Revista da Associação Médica Brasileira**, v. 56, p. 134-134, 2010.

MKETO, N.; NOMNGONGO, P. N.; NGILA, J. C. An innovative microwave-assisted digestion method with diluted hydrogen peroxide for rapid extraction of trace elements in coal samples followed by inductively coupled plasma-mass spectrometry. **Microchemical Journal**, v. 124, p. 201-208, 2016.

MOHAMMADI, S. et al. Tween 80 coated alumina: An alternative support for solid phase extraction of copper, nickel, cobalt and cadmium prior to flame atomic absorption spectrometric determination. **Arabian Journal of Chemistry**, v. 65, 2012.

MUKHTAR, A.; LIMBECK, A. Recent developments in assessment of bio-accessible trace metal fractions in airborne particulate matter: A review. **Analytica Chimica Acta**, v. 774, p. 11-25, 2013.

MULLER, E. I. et al. Microwave-assisted wet digestion with H₂O₂ at high temperature and pressure using single reaction chamber for elemental determination in milk powder by ICP-OES and ICP-MS. **Talanta**, v. 156-157, p. 232-238, 2016.

NAGAO, A. et al. Measurement of Air Flow Outside a Burning Cigarette during a Puff using Particle Image Velocimetry. **Beiträge zur Tabakforschung / Contributions to Tobacco Research**, v. 21, p. 216-222, 2014.

NETO, B. B.; SCARMINIO, I. S.; BRUNS, R. E. **Como Fazer Experimentos: Pesquisa e Desenvolvimento na Ciência e na Indústria**. Quarta edição. Bookman, 2010.

NIST. **Certificate of Analysis, Standard Reference Material 1573a, tomato leaves**, National Institute of Standards & Technology, 1995.

NÓBREGA, J. A. et al. Microwave-assisted digestion of organic samples: how simple can it become? **Talanta**, v. 98, p. 272-276, 2012.

OLIVEIRA, A. P. d.; GOMES NETO, J. A.; FERREIRA, M. M. C. Uso da análise exploratória de dados na avaliação de modificadores químicos para determinação direta e simultânea de metais em álcool combustível por GFAAS. **Eclética Química**, v. 31, p. 7-12, 2006.

OLIVEIRA, E. d. Sample preparation for atomic spectroscopy: evolution and future trends. **Journal of the Brazilian Chemical Society**, v. 14, p. 174-182, 2003.

OLIVEIRA, F. d.; COSTA, M. C. F. **Cultivo de Fumo (Nicotiana tabacum L.)**, TÉCNICAS, S. B. D. R., São Paulo, Universidade de São Paulo, 2012.

OMS. **Tabaco: mortífero em todas sus formas**, Geneva, World Health Organization, 2006.

OMS. **Classificação Estatística Internacional de Doenças e Problemas Relacionadas à Saúde**, Volume 1, Décima Revisão, Geneva, World Health Organization, 2008.

OMS. **WHO Report on the global tobacco epidemic. Enforcing bans on tobacco advertising, promotion and sponsorship**, Geneva, World Health Organization, 2013.

OMS. **WHO Global Report on Trends in Prevalence of Tobacco Smoking 2000-2025**, Second Edition, Geneva, World Health Organization, 2018.

ÖZCAN, M.; AKMAN, S. Investigation of the effect of some inorganic salts on the determination of tin in graphite furnace atomic absorption spectrometry. **Spectrochimica Acta Part B: Atomic Spectroscopy**, v. 55, n. 5, p. 509-515, 2000.

PALISOC, S. T.; VALEZA, N. C.; NATIVIDAD, M. T. Fabrication of an effective gold nanoparticle/graphene/Nafion® modified glassy carbon electrode for high sensitive detection of trace Cd²⁺, Pb²⁺ and Cu²⁺ in tobacco and tobacco products. **International Journal of Electrochemical Science**, v. 12, n. 5, p. 13, 2017.

PANTINI, D.; PINSKY, I.; MONTEIRO, A. **Publicidade no Tabaco e no Ponto de Venda**. São Paulo: INPAD - Instituto Nacional de Ciência e Tecnologia para Políticas Públicas do Álcool e Outras Drogas, 2011.

PAPPAS, R. S. et al. Determination of Toxic Metals in Little Cigar Tobacco with 'Triple Quad' ICP-MS. **Journal of Analytical Toxicology**, v. 39, n. 5, p. 347-352, 2015.

PAPPAS, R. S. et al. Cadmium, lead, and thallium in mainstream tobacco smoke particulate. **Food and Chemical Toxicology**, v. 44, n. 5, p. 714-723, 2006.

PEDROSO, A. N. V.; ALVES, E. S. Anatomia foliar comparativa das cultivares de *Nicotiana tabacum* L. (Solanaceae) sensível e tolerante ao ozônio. **Acta Botanica Brasilica**, v. 22, p. 21-28, 2008.

PELFRÊNE, A. et al. Bioaccessibility of trace elements as affected by soil parameters in smelter-contaminated agricultural soils: A statistical modeling approach. **Environmental Pollution**, v. 160, p. 130-138, 2012.

PELIT, F.; DEMIRDOGEN, R. E.; HENDEN, E. Investigation of heavy metal content of Turkish tobacco leaves, cigarette butt, ash, and smoke. **Environmental monitoring and assessment**, v. 185, 2013.

PÉREZ-BERNAL, J. L. et al. Trace-metal distribution of cigarette ashes as marker of tobacco brands. **Forensic Science International**, v. 204, n. 1, p. 119-125, 2011.

PINTO, E. et al. Metals transfer from tobacco to cigarette smoke: Evidences in smokers' lung tissue. **Journal of Hazardous Materials**, v. 325, p. 31-35, 2017.

PMI. Cultivo do tabaco. Portugal, 2010. Disponível em: <http://www.pmi.com/pt_pt/our_products/growing_tobacco/pages/growing_tobacco.aspx>.

RIQUINHO, D. L.; HENNINGTON, É. A. Sistema integrado de produção de tabaco: saúde, trabalho e condições de vida de trabalhadores rurais no Sul do Brasil. **Cadernos de Saúde Pública**, v. 32, n. 12, p. 10, 2016.

ROMERO, L. C.; SILVA, V. L. d. C. e. 23 Anos de Controle do Tabaco no Brasil: a Atualidade do Programa Nacional de Combate ao Fumo de 1988. **Revista Brasileira de Cancerologia**, v. 57, n. 3, p. 10, 2011.

ROSEMBERG, J. **Tabagismo: Sério problema de saúde pública**. 2ª Edição. São Paulo: Editora Almed, 1987.

ROSEMBERG, J.; ROSEMBERG, A. M. A.; MOREAS, M. A. d. **Nicotina: Droga Universal, Câncer**, São Paulo, Secretaria Estadual de Saúde, 2003.

RUBIO ARMENDÁRIZ, C. et al. Heavy metals in cigarettes for sale in Spain. **Environmental Research**, v. 143, p. 162-169, 2015.

SCACCIA, S.; MECOZZI, R. Trace Cd, Co, and Pb elements distribution during Sulcis coal pyrolysis: GFAAS determination with slurry sampling technique. **Microchemical Journal**, v. 100, p. 48-54, 2012.

SEEMAN, J. I.; CARCHMAN, R. A. The possible role of ammonia toxicity on the exposure, deposition, retention, and the bioavailability of nicotine during smoking. **Food and Chemical Toxicology**, v. 46, n. 6, p. 1863-1881, 2008.

SEEMAN, J. I.; DIXON, M.; HAUSSMANN, H.-J. Acetaldehyde in Mainstream Tobacco Smoke: Formation and Occurrence in Smoke and Bioavailability in the Smoker. **Chemical Research in Toxicology**, v. 15, n. 11, p. 1331-1350, 2002.

SHALTOUT, A. A. et al. Method development for the determination of Cd, Cu, Ni and Pb in PM_{2.5} particles sampled in industrial and urban areas of Greater Cairo, Egypt, using high-resolution continuum source graphite furnace atomic absorption spectrometry. **Microchemical Journal**, v. 113, p. 4-9, 2014.

SILVA, C. P. d.; VOIGT, C. L.; CAMPOS, S. X. d. Determinação de Íons Metálicos em Cigarros Contrabandeados no Brasil. **Revista Virtual de Química**, v. 6, n. 5, p. 11, 2014.

SILVA, J. B. B. d. Comportamento da atomização eletrotérmica de ouro, prata, bismuto, cádmio, chumbo e estanho em soluções aquosas e em etanol, a partir de diferentes superfícies atomizadoras. **Química Nova**, v. 27, p. 528-535, 2004.

SILVA, L. X. d. **Análise do complexo agroindustrial fumageiro sul-brasileiro sob o enfoque da economia dos custos de transação**. 2002. (Doutorado). Faculdade de Ciências Econômicas, Universidade Federal do Rio Grande do Sul, Porto Alegre.

SILVA, S. T. d. et al. Combate ao Tabagismo no Brasil: a importância estratégica das ações governamentais. **Ciência & Saúde Coletiva**, v. 19, p. 539-552, 2014.

SKOOG, D. A. et al. **Fundamentos de Química Analítica**. Tradução da 8ª edição norte-americana. São Paulo: Thomson, 2010.

SLAVIN, W. Graphite furnace AAS for biological materials. **Science of The Total Environment**, v. 71, n. 1, p. 17-35, 1988.

SÓGOR, C.; GÁSPÁR, A.; POSTA, J. Flame Atomic Absorption Spectrometric Determination of Total Chromium and Cr(VI) in Cigarette Ash and Smoke using Flow Injection/Hydraulic High-Pressure Sample Introduction. **Microchemical Journal**, v. 58, n. 3, p. 251-255, 1998.

SOLA-LARRAÑAGA, C.; NAVARRO-BLASCO, I. Chromium content in different kinds of Spanish infant formulae and estimation of dietary intake by infants fed on reconstituted powder formulae. **Food Additives & Contaminants**, v. 23, n. 11, p. 1157-1168, 2006.

SOUZA, D. d.; MACHADO, S. A. S.; AVACA, L. A. Voltametria de onda quadrada. Primeira parte: aspectos teóricos. **Química Nova**, v. 26, p. 81-89, 2003.

SOUZA, R. O. M. A. d.; MIRANDA, L. S. d. M. e. Irradiação de micro-ondas aplicada à síntese orgânica: uma história de sucesso no Brasil. **Química Nova**, v. 34, p. 497-506, 2011.

SOUZA, V. d. et al. Contaminação por chumbo, riscos, limites legais e alternativas de remediação. **Revista Destaques Acadêmicos**, v. 7, n. 4, p. 15, 2015.

SOUZACRUZ. Contrabando. Rio de Janeiro, 2001a. Disponível em: <http://www.souzacruz.com.br/group/sites/SOU_AG6LVH.nsf/vwPagesWebLive/DO9YDBCE?opendocument>.

SOUZACRUZ. O tabaco na história. Rio de Janeiro, 2001b. Disponível em: <http://www.souzacruz.com.br/group/sites/SOU_AG6LVH.nsf/vwPagesWebLive/DO9YDBCK>.

SOUZACRUZ. Tabaco. Rio de Janeiro, 2001c. Disponível em: <http://www.souzacruz.com.br/group/sites/SOU_AG6LVH.nsf/vwPagesWebLive/DO9YAEUN>.

STEPHENS, W. E.; CALDER, A.; NEWTON, J. Source and Health Implications of High Toxic Metal Concentrations in Illicit Tobacco Products. **Environmental Science & Technology**, v. 39, n. 2, p. 479-488, 2005.

TAEBUNPAKUL, S. et al. Determination of total arsenic and arsenic speciation in tobacco products: from tobacco leaf and cigarette smoke. **Journal of Analytical Atomic Spectrometry**, v. 26, n. 8, p. 1633-1640, 2011.

TAKAYA, M. et al. Dissolution of Functional Materials and Rare Earth Oxides into Pseudo Alveolar Fluid. **Industrial Health**, v. 44, n. 4, p. 639-644, 2006.

THIELEN, A.; KLUS, H.; MÜLLER, L. Tobacco smoke: Unraveling a controversial subject. **Experimental and Toxicologic Pathology**, v. 60, n. 2, p. 141-156, 2008.

THOMAIDIS, N. S.; PIPERAKI, E. A. Effect of chemical modifiers on the kinetic parameters characterizing the electrothermal atomization of chromium. **Spectrochimica Acta Part B: Atomic Spectroscopy**, v. 55, n. 6, p. 611-627, 2000.

TORJUSSEN, W.; ZACHARIASEN, H.; ANDERSEN, I. Cigarette smoking and nickel exposure. **Journal of Environmental Monitoring**, v. 5, n. 2, p. 198-201, 2003.

TSALEV, D. L. et al. Permanent modification in electrothermal atomic absorption spectrometry — advances, anticipations and reality. **Spectrochimica Acta Part B: Atomic Spectroscopy**, v. 55, n. 5, p. 473-490, 2000.

UCHIYAMA, S. et al. Determination of nicotine, tar, volatile organic compounds and carbonyls in mainstream cigarette smoke using a glass filter and a sorbent cartridge followed by the two-phase/one-pot elution method with carbon disulfide and methanol. **Journal of Chromatography A**, v. 1426, p. 48-55, 2015.

ÜNAL, Ü.; SOMER, G. A new and very simple procedure for the differential pulse polarographic determination of ultra trace quantities of tungsten using catalytic hydrogen wave and application to tobacco sample. **Journal of Electroanalytical Chemistry**, v. 687, p. 64-70, 2012.

VERMA, S.; YADAV, S.; SINGH, I. Trace metal concentration in different Indian tobacco products and related health implications. **Food and Chemical Toxicology**, v. 48, n. 8, p. 2291-2297, 2010.

VIANA, G. F. d. S.; GARCIA, K. S.; MENEZES-FILHO, J. A. Assessment of carcinogenic heavy metal levels in Brazilian cigarettes. **Environmental Monitoring and Assessment**, v. 181, n. 1, p. 255-265, 2011.

VIGNOLI-SILVA, M.; MENTZ, L. A. O gênero *Nicotiana* L. (Solanaceae) no Rio Grande do Sul, Brasil. **Iheringia. Série Botânica.**, v. 60, n. 2, p. 23, 2005.

VINICIUS DE FARIA, L. et al. Experimental design for metal extraction from facial cosmetics samples and determination by square wave voltammetry. **Analytical Methods**, v. 10, n. 44, p. 5327-5334, 2018.

WELNA, M.; BORKOWSKA-BURNECKA, J.; POPKO, M. Ultrasound- and microwave-assisted extractions followed by hydride generation inductively coupled plasma optical emission spectrometry for lead determination in geological samples. **Talanta**, v. 144, p. 953-959, 2015.

WELZ, B.; SPERLING, M. **Atomic Absorption Spectrometry**. 3rd, Completely Revised Wiley VCH, 1998.

WRIGHT, C. Standardized methods for the regulation of cigarette-smoke constituents. **TrAC Trends in Analytical Chemistry**, v. 66, p. 118-127, 2015.

WYNDER, E. L.; GRAHAM, E. A.; CRONINGER, A. B. Experimental Production of Carcinoma with Cigarette Tar. **Cancer Research**, v. 13, n. 12, p. 855-864, 1953.

YILMAZ, E. et al. Bovine serum albumin-Cu(II) hybrid nanoflowers: An effective adsorbent for solid phase extraction and slurry sampling flame atomic absorption spectrometric analysis of cadmium and lead in water, hair, food and cigarette samples. **Analytica Chimica Acta**, v. 906, p. 110-117, 2016.

YU, Y. et al. Novel in vitro method for measuring the mass fraction of bioaccessible atmospheric polycyclic aromatic hydrocarbons using simulated human lung fluids. **Environmental Pollution**, v. 242, p. 1633-1641, 2018.

ZEITTOUNI, C. d. F.; BERTON, R. S.; ABREU, C. A. d. Fitoextração de cádmio e zinco de um latossolo vermelho-amarelo contaminado com metais pesados. **Bragantia**, v. 66, p. 649-657, 2007.

ZHONG, L. et al. Aggregation and dissolution of engineering nano Ag and ZnO pretreated with natural organic matters in the simulated lung biological fluids. **Chemosphere**, v. 225, p. 668-677, 2019.

ZUMBADO, M. et al. Differential exposure to 33 toxic elements through cigarette smoking, based on the type of tobacco and rolling paper used. **Environmental Research**, v. 169, p. 368-376, 2019.

APÊNDICE 1 – PRODUÇÃO BIBLIOGRÁFICA

Trabalhos apresentados em Eventos no período de vigência do projeto de doutorado, 2016-2021:

1. Guimaraes, A.P.N.; **Lisboa, T.P.**; Sousa, R.A. Teor bioacessível de Mn em amostras de suplemento alimentar contendo whey protein. *19º Encontro Nacional de Química Analítica e 7º Congresso Iberoamericano de Química Analítica*, 2018, Caldas Novas - GO.
2. **Farias, D.M.**; de Faria, L.V.; Lisboa, T.P.; Matos, R.C. Quantificação de zinco em suplementos proteicos usando eletrodo de carbono vitreo modificado com bismuto. *XXXII Encontro Regional da Sociedade Brasileira de Química de Minas Gerais*, 2018, Juiz de Fora - MG.
3. **de Faria, L.V.**; Lisboa, T.P.; Sousa, R.A.; Matos, M.A.C.; Matos, R.C.; Munoz, R.A.A.. Quantification of dipyrone in drugs using amperometry with a graphene-modified electrode and flame atomic emission spectrometry. *19º Encontro Nacional de Química Analítica e 7º Congresso Iberoamericano de Química Analítica*, 2018, Caldas Novas-GO.
4. **Lisboa, T.P.**; Sousa, R.A.. Diferentes estratégias para o preparo de amostra e otimização instrumental na determinação de chumbo em tabaco por GF AAS. *XXXII Encontro Regional da Sociedade Brasileira de Química de Minas Gerais*, 2018, Juiz de Fora - MG.
5. Lisboa, T.P.; **Guimaraes, A.P.N.**; Silva, F.F.; SOUSA, Sousa, R.A.. Determination of Cr in food supplements samples by GF ASS after acid digestion. *14th Rio Symposium on Atomic Spectrometry*, 2017, Vitória - ES.

Artigos publicados e aceitos para publicação em periódicos científicos no período de vigência do projeto de doutorado, 2016-2021:

1. Faria, L.V.; Farias, D.M.; Lisboa, T.P.; Matos, M.A.C; Munoz, R.A.A.; Matos, R.C. Batch injection analysis with amperometric detection for fluoroquinolones determination in urine, pharmaceutical formulations and milk samples using a reduced graphene oxide modified glassy carbon electrode. **Analytical and Bioanalytical Chemistry**, 2021.

2. Faria, L.V.; Lisboa, T.P.; Campos, N.S.; Alves, G.F.; Matos, M.A.C; Munoz, R.A.A.; Matos, R.C.. Electrochemical methods for the determination of antibiotic residues in milk: a critical review. **Analytica Chimica Acta**, 2021.

3. Faria, L.V.; Lisboa, T.P.; Matias, T.A.; Sousa, R.A.; Matos, M.A.C; Munoz, R.A.A.; Matos, R.C.. Use of reduced graphene oxide for sensitive determination of sulfanilamide in synthetic biological fluids and environmental samples by batch injection analysis. **Journal of Electroanalytical Chemistry**, 2021.

4. Lisboa, T.P.; Lemos, L.C.S.; Calzavara, F.C; Barbosa, B.S.; Baia, G.E.; Farias, D.M.; de Faria, L.V.; Matos, M.A.C.; Silva, J.C.J.; de Oliveira, M.A.L.. Ecofriendly and low-cost sample preparation methods for magnesium determination in beer by flame atomic absorption spectrometry. **Eclética Química Journal**, 2021.

5. Silva, L.P.; Campos, N.S.; Lisboa, T.P.; de Faria, L.V.; Matos, M.A.C.; Matos, R.C.; Sousa, R.A.. *Simultaneous determination of cadmium, lead, and copper in chocolate samples by Square Wave Anodic Stripping Voltammetry*. **Food Additives and Contaminants Part A-Chemistry Analysis Control Exposure & Risk Assessment**, 2021. [<http://dx.doi.org/10.1080/19440049.2020.1857443>]

6. de Faria, L.V.; Lisboa, T.P.; Farias, D.M.; Alves, G.F.; Matos, M.A.C.; Munoz, R.A.A.; Matos, R.C.. *Electrochemical study of different sensors for simple and fast quantification of*

ciprofloxacin in pharmaceutical formulations and bovine milk. **Electroanalysis**, v. 32, p. 1-8, 2020. [<http://dx.doi.org/10.1002/elan.202060211>]

7. Alves, G.F.; Farias, D.M.; de Faria, L.V.; Lisboa, T.P.; Matos, M.A.C.; Matos, R.C.. *Disposable pencil graphite electrode for ciprofloxacin determination in pharmaceutical formulations by square wave voltammetry*. **Electroanalysis**, 2020. [<http://dx.doi.org/10.1002/elan.202060432>]

8. Lisboa, T.P.; Sousa, R.A.. *Sodium and potassium content in sport supplements based on Whey Protein*. **Revista do Instituto de Laticínios Cândido Tostes**, v. 75, p. 34-44, 2020. [<http://dx.doi.org/10.14295/2238-6416.v75i1.776>]

9. Farias, D.M.; de Faria, L.V.; Lisboa, T.P.; Matos, M.A.C.; Munoz, R.A.A.; Matos, R.C.. *Determination of levofloxacin in pharmaceutical formulation and urine at reduced graphene oxide and carbon nanotube modified electrodes*. **Journal of Solid State Electrochemistry**, v. 24, p. 1165–1173 2020. [<https://doi.org/10.1007/s10008-020-04589-z>]

10. Lisboa, T.P.; Flores, L.S.; Correa, C.C.; Sousa, R.A.. *Evaluation of chromium and manganese content in sports supplements using Graphite Furnace Atomic Absorption Spectrometry*. **Revista de Nutrição**, v. 33, 2020. [<https://doi.org/10.1590/1678-9865202033e190141>]

11. Lisboa, T.P.; Mimura, A.M.S.; da Silva, J.C.J.; Sousa, R.A.. *Chromium Levels in Tobacco, Filter and Ash of Illicit Brands Cigarettes Marketed in Brazil*. **Journal of Analytical Toxicology**, p. 1-7, 2020. [<http://dx.doi.org/10.1093/jat/bkz106>]

12. de Faria, L.V.; Lisboa, T.P.; Farias, D.M.; Araujo, F.M.; Machado, M.M.; Sousa, R.A.; Matos, M.A.C.; Munoz, R.A.A.; Matos, R.C.. *Direct analysis of ascorbic acid in food beverage samples by flow injection analysis using reduced graphene oxide sensor*. **Food Chemistry**, v. 00, p. 126509, 2020. [<http://dx.doi.org/10.1016/j.foodchem.2020.126509>]

13. Nogueira, F.S.; Araujo, F.M.; de Faria, L.V.; Lisboa, T.P.; Azevedo, G.C.; Dornellas, R.M.; Matos, M.A.C.; Matos, R.C.. *Simultaneous determination of strobilurin fungicides residues in bean samples by HPLC-UV-AD using boron-doped diamond electrode*. **Talanta**, p. 120957, 2020. [<http://dx.doi.org/10.1016/j.talanta.2020.120957>]
14. Lisboa, T.P.; de Faria, L.V.; Matos, M.A.C.; Matos, R.C.; Sousa, R.A.. *Simultaneous determination of cadmium, lead, and copper in the constituent parts of the illegal cigarettes by Square Wave Anodic Stripping Voltammetry*. **Microchemical Journal**, v. 150, p. 104183, 2019. [<http://dx.doi.org/10.1016/j.microc.2019.104183>]
15. de Faria, L.V.; Lisboa, T.P.; Azevedo, G.C.; Sousa, R.A.; Matos, M.A.C.; Munoz, R.A.A.; Matos, R.C.. *Chemically-reduced Graphene Oxide Sensor for Dipyrone Quantification in Pharmaceutical Samples Using Amperometric Detection*. **Electroanalysis**, v. 31, p. 1, 2019. [<http://dx.doi.org/10.1002/elan.201800784>]
16. de Faria, L.V.; Lima, A.P.; Araujo, F.M.; Lisboa, T.P.; Matos, M.A.C.; Munoz, R.A.A.; Matos, R.C.. *High-throughput amperometric determination of tetracycline residues in milk and quality control of pharmaceutical formulations: flow-injection versus batch-injection analysis*. **Analytical Methods**, v.11, p.5328-5336, 2019. [<http://dx.doi.org/10.1039/c9ay01759c>]
17. de Faria, L.V.; Lisboa, T.P.; Carvalho, G.S.; Sousa, R.A.; Matos, M.A.C.; Matos, R.C.. *Experimental design for metals extraction from facial cosmetic samples and determination by square wave voltammetry*. **Analytical Methods**, v. 10, p. 5327-5334, 2018. [<http://dx.doi.org/10.1039/c8ay01696h>]
18. Oliveira, M.A.L.; Porto, B.L.C.; Bastos, C.A.; Sabarense, C.M.; Vaz, F.A.S; Neves, L.N.O.; Duarte, L.M.; Campos, N.S.; Chellini, P.R.; Silva, P.H.F.; Sousa, R.A.; Marques, R.; Sato, R.T.; Grazul, R.M.; Lisboa, T.P.; Mendes, T.O.; Rios, V.C.. *Analysis of amino acids, proteins, carbohydrates and lipids in food by capillary electromigration methods: a review*. **Analytical Methods**, v. 8, p. 3649-3680, 2016. [<http://dx.doi.org/10.1039/c5ay02736e>]

Artigos submetidos para publicação em periódicos científicos no período de vigência do projeto de doutorado, 2016-2021:

1. de Faria, L.V.; Alves, G.F.; Lisboa, T.P.; Matos, M.A.C.; Munoz, R.A.A.; Matos, R.C.. *Simple and fast evaluation of diuron herbicide in food beverages samples using reduced graphene oxide sensor.* **Microchemical Journal.**

2. de Faria, L.V.; Alves, G.F.; Lisboa, T.P.; Matos, M.A.C.; Munoz, R.A.A.; Matos, R.C.. *Chloramphenicol monitoring in milk samples by differential pulse voltammetry using glassy carbon electrode modified with reduced graphene oxide.* **Electroanalysis.**

3. Lisboa, T.P.; de Faria, L.V.; Alves, G.F.; Matos, M.A.C.; Matos, R.C.. *A low cost screen-printed carbon electrode for sulfanilamide determination in milk, biological fluids, environmental and pharmaceutical samples.* **Journal of Electroanalytical Chemistry.**

Article

Chromium Levels in Tobacco, Filter and Ash of Illicit Brands Cigarettes Marketed in Brazil

Thalles Pedrosa Lisboa^{1,*}, Aparecida Maria Simões Mimura²,
Julio Cesar Jose da Silva¹ and Rafael Arromba de Sousa¹

¹Grupo Baccan de Química Analítica, Departamento de Química, Universidade Federal de Juiz de Fora, Juiz de Fora, MG, Brazil, and ²Colegiado de Licenciatura em Química, Universidade Federal do Vale do São Francisco, Campus Serra da Capivara, São Raimundo Nonato, PI, Brazil.

*To whom correspondence should be addressed. Email: thallespl_jf@hotmail.com

Abstract

Smoking is a public health problem and an important source of exposure to toxic metals. This work describes an efficient analytical method comparable to the ones based on atomic emission techniques for the determination of chromium in different constituent parts of cigarette samples (tobacco, filters and ashes) using electrothermal vaporization–atomic absorption spectrometry. The method was evaluated using 12 samples, and the results showed recovery values between 83 and 107%. The accuracy was also evaluated using a reference sample of tomato leaves (NIST SRM 1573a), which proved the efficiency of the method. The limits of detection of the developed method were 20.4, 75.8 and 80.7 ng g⁻¹ for tobacco, filter and cigarette ash samples, respectively. The average chromium values found for the analyzed samples were in the range of 0.96 to 3.85 and from 0.32 to 0.80 µg/cigarette for tobacco and ashes, respectively. For most pre-burn and postburn filter samples, the values of chromium concentration remained below limits of detection. The developed method presented adequate results about precision and accuracy, demonstrating its applicability in the determination of chromium in cigarette samples.

Introduction

Smoking is a public health problem, being related to more than 50 diseases and causing a large number of premature deaths worldwide. The World Health Organization (WHO) estimates that 27% of the world's population is dependent on tobacco (21 and 38), which is worrying and suggests the importance of knowing the quantities of chemical substances carried into the lungs. Besides, smoking is an important source of exposure to toxic metals such as chromium (36), systematically studied in this work.

The toxic metals present in tobacco are partitioned into the different parts of the cigarette and the knowledge of the percentage release of these metals during the burning of the cigarette allows estimating the average consumption of these contaminants. Another point that must be considered is the potential of environmental contamination by residues, as the ash and filters that are usually disposed of without any care (12).

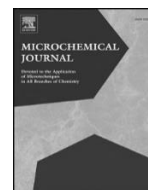
The tobacco plant, *Nicotiana tabacum* L., is known for absorbing metallic elements from its culture environment and accumulating them in its leaves, justifying the presence of these elements in the cigarette (12, 32 and 36). Thus, metal hyperaccumulation may be aggravated by environmental contamination of soil, water and air. However, several other factors such as climatic variation, plant variety, tobacco handling and treatment and the use of fertilizers of contested quality may also influence the hyperaccumulation process (18, 28 and 31). The exaggerated use of fertilizers is believed to be the main responsible cause for the contamination and accumulation of heavy metals in tobacco plants (32 and 34).

During the cigarette burning, there is a division of the accumulated metals between mainstream smoke (that is inhaled in to the lungs during the puffs), sidestream smoke (that released by the burning end



Contents lists available at ScienceDirect

Microchemical Journal

journal homepage: www.elsevier.com/locate/micro

Simultaneous determination of cadmium, lead, and copper in the constituent parts of the illegal cigarettes by Square Wave Anodic Stripping Voltammetry

Thalles Pedrosa Lisboa^{a,1}, Lucas Vinicius de Faria^b, Maria Auxiliadora Costa Matos^b, Renato Camargo Matos^b, Rafael Arromba de Sousa^{a,*}

^a BACCAN (Grupo Baccan de Química Analítica), Departamento de Química, Instituto de Ciências Exatas, Universidade Federal de Juiz de Fora, 36036-330 Juiz de Fora, MG, Brazil

^b NUPIS (Núcleo de Instrumentação e Separações Analíticas), Departamento de Química, Instituto de Ciências Exatas, Universidade Federal de Juiz de Fora, 36036-900 Juiz de Fora, MG, Brazil

ARTICLE INFO

Keywords:

Cadmium Lead
Copper
Square Wave Anodic Stripping Voltammetry
Cigarettes

ABSTRACT

Smoking is a present-day disease that affects a significant part of the world population and the search for analytical data regarding toxic elements in cigarettes is still an issue of analytical interest. This work describes an efficient, fast, and reliable analytical methodology for the determination of Cd, Pb and Cu in different constituent parts of cigarettes (filters, ashes, and tobacco) samples using Square Wave Anodic Stripping Voltammetry. The electrochemical system consisted of a cell with three electrodes: work – mercury film modified glassy carbon electrode, reference – Ag/AgCl(sat) and auxiliary – platinum, using as supporting electrolyte hydrochloric acid 10 mmolL⁻¹. The results obtained after the previous digestion of the samples in a microwave oven confirmed the efficiency of the procedure. The method was validated using 11 samples and the results showed recovery values between 80 and 111%. The accuracy was also evaluated by means of a matching reference sample of tomato leaves to prove the reliability of the method. The detection limits were 0.72, 0.89 and 1.43 µgL⁻¹ for Cd, Pb and Cu, respectively. Regarding the analytical results, the cadmium contents remained below the detection limits, while the average values found for lead were in the range 0.21, 2.84 and 4.86 µg/cigarette for the post burning filter, ashes, and tobacco, respectively. The average values found of copper were in the range 0.49, 4.22 and 12.8 µg/cigarette for the post-burning filter, ashes, and tobacco, respectively.

1. Introduction

The World Health Organization (WHO) estimates that there are about 1.1 billion smokers in the world, which represents approximately 27% of the world's population [1]. Smoking is a public health problem and the main avoidable cause of developing several diseases and premature deaths worldwide [2].

Smoking accounts for more than 50 diseases, corresponding to 30% of deaths from various cancers, 90% of lung cancer deaths, 25% of deaths from coronary heart disease, 85% of deaths from chronic lung diseases and 25% of deaths due to stroke, besides severely deteriorating the reproductive system, contributing to abortions, premature births and sudden death [3,4].

The tobacco plant, *Nicotiana tabacum* L., is known for absorbing metallic elements from its culture environment and accumulating them in its leaves, as demonstrated by Galażyn-Sidorczuk et al. [5]. The

concentrations of Cd and Pb were determined in cigarettes, indicating mainly of the tobacco, 91%, and 79%, respectively [5–8]. Besides the hyperaccumulation can be exacerbated by environmental pollution of soil, water, and air. But several other factors, such as climate change, variety of plant, handling and tobacco treatment, changing of fertilizer quality can also influence the hyperaccumulation level [9–11]. It is believed that the exaggerated use of fertilizers has a huge contribution to both contamination and accumulation of metals in tobacco plants [6,12].

Consequently, smoking is an important source of human exposure to toxic metals, such as cadmium, lead, and copper [7]. The toxic metals present in tobacco are partitioned in the different phases of the

E-mail addresses: thallespl_jf@hotmail.com (T.P. Lisboa), rafael.arromba@ufjf.edu.br (R.A. de souza).

<https://doi.org/10.1016/j.microc.2019.104183>

Received 19 July 2019; Received in revised form 13 August 2019; Accepted 14 August 2019

Available online 14 August 2019

0026-265X/ © 2019 Elsevier B.V. All rights reserved.

¹ Corresponding authors.