

Universidade Federal do Rio Grande do Sul  
Instituto de Química  
Bacharelado em Química Industrial

Jhulia Laise Boff

**Desenvolvimento de um método alternativo para extração assistida por ultrassom de Cr(VI) de couro curtido com base na norma ISO 17075:2007**

Porto Alegre  
2023

Jhulia Laise Boff

**Desenvolvimento de um método alternativo para extração assistida por ultrassom de Cr(VI) de couro curtido com base na norma ISO 17075:2007**

Trabalho de Conclusão de Curso  
apresentado como requisito parcial à  
obtenção do título de Bacharela em Química  
Industrial do Instituto de Química da  
Universidade Federal do Rio Grande do Sul.

Orientadora:

Prof<sup>a</sup>. Dr<sup>a</sup>. Juliana Severo Fagundes Pereira

Porto Alegre

2023

### CIP - Catalogação na Publicação

Boff, Jhulia Laise

Desenvolvimento de um método alternativo para extração assistida por ultrassom de Cr(VI) de couro curtido com base na norma ISO 17075:2007 / Jhulia Laise Boff. -- 2023.

48 f.

Orientadora: Juliana Severo Fagundes Pereira.

Trabalho de conclusão de curso (Graduação) -- Universidade Federal do Rio Grande do Sul, Instituto de Química, Curso de Química Industrial, Porto Alegre, BR-RS, 2023.

1. Couro. 2. Cromo (VI). 3. Ultrassom. 4. Espectrofotometria UV-Vis. I. Pereira, Juliana Severo Fagundes, orient. II. Título.

## **FOLHA DE APROVAÇÃO**

Jhulia Laise Boff

**Desenvolvimento de um método alternativo para extração assistida por ultrassom de Cr(VI) de couro curtido com base na norma ISO 17075:2007**

Trabalho de Conclusão de Curso apresentado como requisito parcial à obtenção do título de Bacharela em Química Industrial do Instituto de Química da Universidade Federal do Rio Grande do Sul.

Orientadora:

Prof<sup>a</sup>. Dr<sup>a</sup>. Juliana Severo Fagundes Pereira

**Aprovada em:** Porto Alegre, 10 de abril de 2023.

BANCA EXAMINADORA:

---

Juliana Severo Fagundes Pereira, Dr<sup>a</sup>.  
Universidade Federal do Rio Grande do Sul

---

Matheus Felipe Pedrotti, Dr.  
Instituto Federal do Rio Grande do Sul, Campus Feliz

---

Eliana Weber de Menezes, Dr<sup>a</sup>.  
Universidade Federal do Rio Grande do Sul

## **AGRADECIMENTOS**

À minha orientadora do trabalho de conclusão de curso, professora Juliana Severo Fagundes Pereira, pela paciência, disponibilidade e colaboração na realização do trabalho. Também, pelos ensinamentos durante os quatro anos de iniciação científica. À minha amiga e colega, Catiele Haubert, pelo auxílio e parceria. Aos meus pais, Adriana e Sérgio, pelo apoio e incentivo aos estudos. À minha avó, Lorena, pelo incentivo e carinho. À todos que de alguma forma contribuíram para a minha formação e desenvolvimento desse trabalho.

## RESUMO

O couro é a pele animal que passa por processos químicos e físicos para confecção de diversos produtos. Um dos processos mais importantes e ainda muito utilizado para obter o couro é o curtimento mineral com sais de cromo. Dado que o cromo hexavalente é reconhecido como potente carcinógeno humano, se faz necessário à sua determinação em produtos de couro, e para isso é utilizada a norma ABNT NBR 16600 (ISO 17075:2007). O procedimento empregado na norma envolve uma etapa de extração através de agitador mecânico, com tempo aproximado de 3 horas, onde em seguida, a determinação de Cr(VI) é feita por espectrofotometria na região do visível após formação de um complexo com o reagente 1,5-difenilcarbazida. Tendo em vista que o método recomendado pela referida norma é bastante moroso, este trabalho visa propor um método de extração de cromo hexavalente assistido por ultrassom. Os testes foram realizados conforme a norma, apenas substituindo o equipamento de extração, onde diferentes tempos foram avaliados. O tempo de extração com banho de ultrassom foi otimizado em 1 hora, apresentando resultado de  $28,76 \pm 2,12 \text{ mg kg}^{-1}$  de Cr(VI) para a amostra utilizada nos ensaios de otimização. Este valor foi similar (teste t, nível de confiança de 95%) em relação ao resultado encontrado pela norma ( $29,34 \pm 1,54 \text{ mg kg}^{-1}$ ) e a concordância com o método oficial foi de 98%. Também foi feito ensaio de recuperação do analito utilizando o método proposto e recuperação de 97% foi obtida. Os limites de detecção (LD) e quantificação (LQ) para a extração assistida por ultrassom, seguida da determinação espectrofotométrica foram de 1 e  $3 \text{ mg kg}^{-1}$ , respectivamente. O método proposto foi aplicado para diferentes amostras e resultados concordantes com o método oficial foram encontrados. Desta forma, o método de extração assistida por ultrassom pode ser uma alternativa ao método oficial quando há necessidade de obter informação sobre a concentração de Cr(VI) de forma mais rápida.

**Palavras-chave:** Couro. Cromo (VI). Ultrassom. Espectrofotometria UV-Vis.

## ABSTRACT

Leather is animal skin that undergoes chemical and physical processes to make various products. One of the most important and still widely used processes to obtain leather is mineral tanning with chromium salts. Since hexavalent chromium is recognized as a potent human carcinogen, its determination in leather products is necessary, and for this purpose the ABNT NBR 16600 standard (ISO 17075:2007) is used. The procedure employed in the standard involves an extraction step using a mechanical stirrer, with an approximate time of 3 hours, where then the determination of Cr(VI) is performed by spectrophotometry in the visible region after formation of a complex with the reagent 1,5-diphenylcarbazide. Considering that the official method is time-consuming, this work aims to propose an alternative method for ultrasound-assisted extraction of hexavalent chromium. The tests were carried out according to the official method, only replacing the extraction procedure, where variable extraction times were evaluated. The extraction time with ultrasonic bath was optimized in 1 hour, presenting a result of  $28.76 \pm 2.12 \text{ mg kg}^{-1}$  of Cr(VI) for the sample used in the optimization steps. This value was similar (t test, 95% confidence level) with the result found by the official method ( $29.34 \pm 1.54 \text{ mg kg}^{-1}$ ) and an agreement of 98% was obtained. Recovery test by analyte addition was also performed and the recovery was 97%. The limits of detection (LOD) and quantification (LOQ) for the ultrasound assisted extraction and spectrophotometric determination were 1 and 3  $\text{mg kg}^{-1}$ , respectively. The proposed method was applied to other samples and results in agreement with the reference method were found. In this way, the proposed method can be an alternative to the official method when there is a need to obtain faster information about the Cr(VI) concentration.

**Keywords:** Leather. Chromium (VI). Ultrasound. UV-Vis Spectrophotometry.

## LISTA DE ILUSTRAÇÕES

Figura 1 - Processo de cavitação acústica: formação, crescimento e colapso das bolhas em um líquido irradiado com ultrassom de alta intensidade.....	18
Figura 2 – Esquema do banho de ultrassom.....	19
Figura 3 – Esquema de um espectrofotômetro de varredura com feixe duplo.....	21
Figura 4 – Reação da 1,5-difenilcarbazida com cromo hexavalente para formação do complexo de coloração violeta .....	22
Figura 5 – Amostra de couro cortada .....	23
Figura 6 – Extração em agitador mecânico .....	25
Figura 7 – Filtração a vácuo em membrana filtrante após etapa de extração.....	25
Figura 8 – Extração assistida por ultrassom.....	26
Figura 9 – Curva de calibração do cromo (VI).....	27
Figura 10 – Etapa de retirada de cor com dispositivo de vácuo .....	27
Figura 11 – Reação do cromo (VI) com DPC na amostra .....	28
Figura 12 – Teste com folha de alumínio antes e após uso do ultrassom para identificar área de maior incidência do ultrassom.....	31
Figura 13 – Gráfico comparativo da concentração de Cr(VI) <i>versus</i> os tempos no US à 41 °C e no agitador mecânico em temperatura ambiente por 180 min .....	33
Figura 14 – Gráfico comparativo da concentração de Cr(VI) durante 60 min pelo método proposto à 41 °C e pelo método oficial em temperatura ambiente.....	34
Figura 15 – Gráfico de concentração da formação do complexo do Cr(VI) com a difenilcarbizida <i>versus</i> o tempo de reação .....	37
Figura 16 – Reação do Cr(VI) com a difenilcarbizida nos tempos de 0, 1, 3, 5 e 15 min.....	37
Figura 17 – Gráfico de concentração do Cr(VI) <i>versus</i> o tempo.....	39



## LISTA DE TABELAS

Tabela 1 – Dados obtidos na determinação de Cr(VI) na amostra 1 de couro reproduzindo procedimento da norma ISO 17075 .....	29
Tabela 2 – Dados da determinação de Cr(VI) na amostra 1 de couro em diferentes tempos através da extração com ultrassom à 41 °C (n ≥ 3) .....	31
Tabela 3 – Dados de concentração de Cr(VI) para três amostras diferentes pelo método oficial e método proposto (n = 2) .....	34
Tabela 4 – Dados de concentração da formação do complexo do Cr(VI) com a DPC no intervalo de tempo de 1 até 15 min (n = 2) .....	35
Tabela 5 – Dados de concentração de Cr(VI) no decorrer de 15 minutos até 3 horas (n = 2) .....	37
Tabela 6 – Comparação do tempo decorrido das etapas da análise de Cr(VI) do método oficial e do método proposto para n = 8 .....	39
Tabela 7 – Estimativa dos valores dos equipamentos na análise de Cr(VI) .....	40
Tabela 8 – Estimativa dos valores dos reagentes na análise de Cr(VI) .....	41

## **LISTA DE ABREVIATURAS E SIGLAS**

ABNT – Associação Brasileira de Normas Técnicas  
ACGIH – Conferência Americana de Higienistas Industriais Governamentais  
ANOVA – Análise da Variância  
CV – Coeficiente de variação  
DPC – Difenilcarbazida  
DPR – Desvio padrão relativo  
ER – Erro relativo  
IARC - Agência Internacional de Pesquisa sobre o Câncer  
ISO – Organização Internacional para Padronização  
LD – Limite de Detecção  
LQ – Limite de Quantificação  
NBR – Norma Técnica Brasileira  
TLV-STEL – Limite de Exposição de Curta Duração  
TLV-TWA – Limite de Exposição Média Ponderada pelo Tempo  
US – Ultrassom  
UV – Ultravioleta

## SUMÁRIO

<b>1 INTRODUÇÃO</b> .....	<b>11</b>
<b>2 OBJETIVO</b> .....	<b>13</b>
<b>3 REVISÃO BIBLIOGRÁFICA</b> .....	<b>14</b>
3.1 CROMO HEXAVALENTE .....	14
3.2 COURO.....	15
3.3 SONOQUÍMICA .....	17
3.4 ESPECTROFOTOMETRIA UV-VISÍVEL.....	20
<b>4 METODOLOGIA</b> .....	<b>23</b>
4.1 PRÉ-ENVELHECIMENTO TÉRMICO DO COURO.....	23
4.2 PREPARO DE SOLUÇÕES .....	23
4.3 EXTRAÇÃO ATRAVÉS DE AGITADOR MECÂNICO .....	24
4.4 EXTRAÇÃO ASSISTIDA POR ULTRASSOM .....	25
4.5 DETERMINAÇÃO DE CROMO (VI) .....	26
4.6 DETERMINAÇÃO DA MATÉRIA VOLÁTIL .....	29
4.7 TESTE DE FORMAÇÃO E ESTABILIDADE DO COMPLEXO DE CROMO (VI) COM A 1,5-DIFENILCARBAZIDA .....	29
<b>5 RESULTADOS E DISCUSSÕES</b> .....	<b>30</b>
5.1 EXTRAÇÃO DE CROMO (VI) CONFORME NORMA ISO 17075:2007.....	30
5.2 EXTRAÇÃO DE CROMO (VI) ASSISTIDA POR ULTRASSOM .....	30
5.3 VALIDAÇÃO DO MÉTODO.....	34
5.4 TESTE DO TEMPO DE FORMAÇÃO E ESTABILIDADE DO COMPLEXO DO CROMO (VI) COM A DPC .....	36
5.5 AVALIAÇÃO DO TEMPO DE ANÁLISE .....	39
<b>6 ANÁLISE DE CUSTOS</b> .....	<b>41</b>
<b>7 CONCLUSÃO</b> .....	<b>43</b>
<b>REFERÊNCIAS</b> .....	<b>44</b>

## 1 INTRODUÇÃO

O couro, como produto final, é obtido a partir da pele animal que passa pelo processo químico de curtimento, geralmente com sais de cromo trivalente, que confere as principais características do couro, como estabilidade, resistência a decomposição, resistência hidrotérmica e outras. Apesar de ser usado o cromo trivalente no curtimento, durante o processo de obtenção do couro, existe a possibilidade de oxidação desse para seu estado hexavalente. Alguns fatores que podem provocar essa formação são: neutralizações com sais de amônio, utilização de amoníaco no tingimento, utilização de gorduras de origem animal, exposição a radiação ultravioleta (UV), calor e umidade, dentre outros (CTIC, 2015).

Tendo em consideração que o cromo hexavalente possui elevado potencial cancerígeno, além de causar outros danos a saúde humana, principalmente problemas respiratórios pela exposição à ele, foi aprovada uma norma internacional para determinação de Cr(VI) em couro pela Organização Internacional para Padronização (ISO) por meio da norma 17075:2007. A norma compreende um procedimento, iniciando pelo preparo da amostra, no qual o couro é picado de acordo com a norma ISO 4044:2017 e posteriormente é feito um pré-envelhecimento em estufa por  $24 \pm 1$  h conforme a norma ISO 10195:2018. Em seguida, é feita uma extração, com a adição da amostra na solução de hidrogenofosfato de potássio degasada, e então esta é colocada sob agitação mecânica por aproximadamente 3 h. Após esse tempo, é feita a filtração a vácuo através de membrana filtrante e verificação do pH, o qual deve se manter na faixa de 7,5 a 8,0. O extrato da filtração tem coloração de acordo com cada amostra a ser analisada, assim passa por um cartucho com dispositivo de vácuo, a fim de retirar a cor previamente à análise por espectrofotometria na região do visível. Dessa forma, é realizada a determinação de Cr(VI) pela reação da solução resultando com a 1,5-difenilcarbazida (DPC) em espectrofotômetro UV-Visível no comprimento de onda de 540 nm, onde é determinada a absorbância da amostra.

Dentre as desvantagens deste método, desde o preparo da amostra até sua determinação, cabe destacar a morosidade, limitando o número de análises feitas em um determinado período de tempo. Logo, este trabalho propõe um método para a etapa de extração, baseado no ultrassom (US).

O ultrassom tem como base o fenômeno de cavitação acústica, onde ocorre a nucleação, crescimento e implosão de microbolhas no líquido. Esse rompimento gera alta temperatura e pressão na região, além de criar microjatos com alta velocidade que podem causar erosão de sólidos presentes, auxiliando a extração ou impregnação de um líquido em um sólido. Ainda, o ultrassom é um equipamento acessível, barato e de simples uso quando comparado a outros equipamentos utilizados para preparo de amostras.

## **2 OBJETIVO**

O trabalho tem como proposta o desenvolvimento de um método para extração de cromo (VI) assistido por ultrassom em amostras de couro, com base na norma adaptada da Associação Brasileira de Normas Técnicas (ABNT) pela Norma Técnica Brasileira (NBR) 16600 da norma internacional ISO 17075:2007. Para isso, foi avaliada uma nova forma de promover a extração do cromo (VI) em couro visando diminuir o tempo de extração convencional de, aproximadamente, 3 h, que é realizada em agitador mecânico. Além disso, foram estudadas pequenas modificações objetivando reduzir o tempo geral da análise.

### 3 REVISÃO BIBLIOGRÁFICA

#### 3.1 CROMO HEXAVALENTE

O elemento químico cromo é um metal prateado, lustroso e maleável, é resistente ao ataque de ácidos minerais não oxidantes e outros produtos químicos e, por isso é muito utilizado em ligas resistentes à corrosão. O cromo é um elemento natural encontrado em rochas, animais, plantas e solo, em combinação com outros elementos para formar diversos compostos (ADRIANO, 2001; ATSDR, 2012).

As formas mais comuns de ser encontrado é na forma metálica e nos estados de oxidação III e VI, sendo estas últimas de maior relevância para a biologia, ecologia e saúde (ADRIANO, 2001).

O cromo hexavalente raramente é encontrado na natureza e geralmente é oriundo de atividade antropogênica. É amplamente utilizado em pigmentos, galvanoplastia, conservantes de madeira e fungicidas, síntese química, curtimento de couro, inibição de corrosão, vidro, cerâmica, entres outros (OSHA, 2009; ERDEM; TUMEN, 2004).

A exposição ao Cr(VI) no local de trabalho pode causar diversos efeitos na saúde humana, um deles é o câncer de pulmão, além de outros efeitos não cancerígenos, como problemas respiratórios (irritação nasal e pulmonar, função pulmonar alterada), gastrointestinais (irritação, ulceração e lesões), reprodutivos e doenças hematológicas (microcítica, anemia hipocrômica) (OSHA, 2009; ATSDR, 2012).

A forma trivalente do metal é um nutriente essencial para o ser humano, atuando na manutenção do metabolismo da glicose, lipídeos e proteínas. O cromo metálico e os compostos de Cr(III) são classificados pela Agência Internacional de Pesquisa em Câncer (IARC) no Grupo 3: não classificável quanto a carcinogenicidade. Os compostos de Cr(VI) são classificados pela mesma agência como cancerígenos para o ser humano (Grupo 1) (CETESB, 2017; IARC, 1990; EPA, 1998; WHO, 2000).

No Brasil, quando não há limite de tolerância de exposição ocupacional, a legislação brasileira utiliza os valores da Conferência Americana de Higienistas Industriais Governamentais (ACGIH), ou aqueles que venham a ser estabelecidos em negociação coletiva de trabalho. De acordo com a ACGIH, o Limite de Exposição

Média Ponderada pelo Tempo (TLV-TWA), ao longo de uma jornada de trabalho normal de 8 horas diárias e 40 horas semanais, para cromo metálico é de  $0,5 \text{ mg m}^{-3}$ , para os compostos de Cr(III) é de  $0,003 \text{ mg m}^{-3}$  e para os compostos de Cr(VI) é de  $0,0002 \text{ mg m}^{-3}$ . E o Limite de Exposição de Curta Duração (TLV-STEL), durante o período de 15 minutos, para o Cr(VI) é de  $0,0005 \text{ mg m}^{-3}$  (ACGIH, 2018; SILVA; PEDROZO, 2001).

A contaminação ambiental decorrente do uso generalizado de cromo na indústria serve como uma fonte adicional de exposição humana. Além disso, a queima de combustíveis fósseis e a incineração de resíduos, são fontes de cromo no ar e na água (WHO, 1988; ADRIANO, 2001; ATSDR, 2012).

### 3.2 COURO

A pele animal é a matéria-prima do couro e é constituída, quimicamente, por aproximadamente 61% de água, 34% de proteínas fibrosas (colágeno, reticulina, elastina e queratina), 2% de lipídios, 1% de proteínas globulares, 1% de substâncias minerais e 1% de outras substâncias. Assim, o couro é a pele animal que passa por processos de limpeza, de estabilização e de acabamento. É utilizado para a confecção de diversos produtos, como calçados, peças de vestuário, revestimento de mobília e de estofados de automóveis. É de grande versatilidade, possui aspecto nobre e atraente, suavidade e maciez ao tato, e enorme variedade de tipos e cores, fazendo com que seja um artigo inigualável em beleza e insubstituível quanto o seu desempenho (CETESB, 2005; LEAL 2007).

O couro apresenta diversas propriedades como a elasticidade, a flexibilidade, a resistência mecânica, a capacidade de “respirar”, e se moldar a quem o utiliza ao longo do tempo, sendo que a principal particularidade é a capacidade de absorver 75% de umidade mantendo o aspecto seco, apropriado para estar em contato com corpo humano (CETESB, 2005; LEAL 2007).

O processo de produção do couro é dividido em três etapas principais, sendo eles a ribeira, curtimento e acabamento. Existem os seguintes tipos de curtumes: curtume integrado, que envolve todo o processo do obtenção do couro cru até a produção do couro totalmente acabado; curtume de “wet-blue” (chamado “wet-blue” devido ao aspecto úmido e azulado do couro) que envolve o processo de obtenção do couro cru até o curtimento ao cromo; curtume de semi-acabado que utiliza o “wet-



blue” como matéria-prima e o couro passa pelo processo de tingimento transformando-o em couro semi-acabado e curtume de acabamento que transforma o couro semi-acabado em acabado, pelos processos de estiramento, secagem e estoque (CETESB, 2005).

A etapa de curtimento é extremamente importante pois é a parte do processo que confere as características do couro como estabilidade, que consiste na resistência à putrefação e à ação de micro-organismos e enzimas e modifica a estabilidade da estrutura frente à água quente. A parte da pele que mais interessa nesse estágio, o colágeno, é uma proteína de função estrutural, que apresenta locais que facilmente reagem, pois possui pontos ligantes, onde ocorrerá a fixação do cromo, recurtentes, corantes e óleos (FUCK, 2008; MANGINI; OLIVEIRA, 2022).

No curtimento mineral, o processo ao cromo é o mais utilizado, visto que é de fácil processamento, de fácil acesso, pelo tempo relativamente curto de processo e excelentes propriedades que confere ao couro. Mesmo existindo outras alternativas de curtimento, o curtimento com sais básicos de cromo, onde este se encontra no estado trivalente, está bem desenvolvido, assim conferindo características superiores ao produto final, principalmente alta estabilidade hidrotérmica. Apesar disso, são feitos esforços para substituir o cromo nesse processo, devido ao impacto ambiental negativo que é causado. Além disso deve ser considerado a oxidação do cromo trivalente, que é utilizado como curtente, para seu estado hexavalente, que possui potencial carcinogênico e, assim é importante avaliar os fatores que provocam essa formação a fim de melhorar o processo de curtimento (CETESB, 2005; FUCK, 2008).

Algumas práticas que levam a maior probabilidade de oxidação do Cr(III) à Cr(VI) são: realização de neutralizações com sais de amônio, utilização de amoníaco no tingimento, utilização de gorduras de origem animal, envelhecimento do couro pela exposição a radiação UV, calor e umidade após o término do processamento, dentre outros (CTIC, 2015).

Devido a possibilidade de causar câncer e danos a saúde quando em contato com o usuário, o cromo hexavalente é considerado uma substância de uso restritivo. Esse problema pode ser um empecilho para o uso do cromo no processo de curtimento e pode provocar a redução do consumo de produtos de couro. Afim de buscar melhorias nessa questão foi desenvolvida e aprovado o método internacional para determinação de cromo hexavalente em couro pela norma ISO 17075:2007. O

limite de detecção é de 3 mg de Cr(VI)/kg de couro seco. Ainda, é de grande importância para a comercialização dos produtos de couro se adequar as exigências ambientais e toxicológicas (CETESB, 2005; FUCK, 2008).

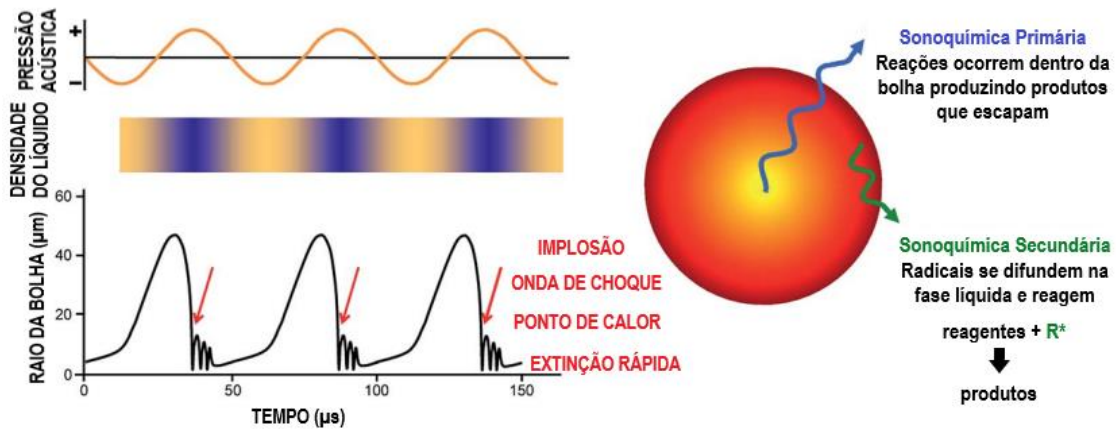
### 3.3 SONOQUÍMICA

A sonoquímica é consequência dos efeitos mecânicos do som nos líquidos e tem origem na cavitação acústica. O ultrassom é uma onda mecânica com frequência maior que 20 kHz. Os detalhes precisos de como o ultrassom age para produzir uma reação química ainda são desconhecidos, mas a cavitação ultrassônica está bem estabelecida como origem desse fenômeno (LORIMER; MASON, 2002).

O uso do ultrassom pode ser dividido em duas áreas: som de baixa amplitude (alta frequência); e ondas de alta energia (baixa frequência) conhecidos como ultrassom de potência, entre 20 e 100 kHz, e é utilizado para limpeza, soldagem de plásticos e sonoquímica (LORIMER; MASON, 2002).

O fenômeno de cavitação acústica envolve a nucleação, o crescimento e o colapso de microbolhas em líquidos, como mostrado na Figura 1. A vibração longitudinal das moléculas em um líquido gera uma série de compressões e rarefações, ou seja, áreas de alta e baixa pressão local. Se as moléculas de solvente forem separadas com força suficiente durante uma rarefação ou pela nucleação causada por partículas sólidas, cavidades serão formadas nos pontos onde a pressão no líquido cai bem abaixo de sua pressão de vapor, isso cria uma série de bolhas cheias de gás e vapor. A microbolha não se desfaz na etapa seguinte de compressão, e nos ciclos posteriores de rarefação, as microbolhas aumentarão de tamanho, expandindo 2 a 3 vezes do seu tamanho original. Isso se sucede até atingir seu diâmetro crítico e implodir no próximo ciclo de compressão. O comportamento das pequenas bolhas que define o processo pelo qual ocorre a reação química. Também, podem ocorrer bolhas grandes, que têm vida útil longa em relação à duração do ciclo acústico. Elas simplesmente oscilam radialmente com a onda sonora e não são responsáveis pelos efeitos químicos do ultrassom. Este comportamento é denominado "cavitação estável" (LEY; LOW, 1989; LORIMER; MASON, 2002).

Figura 1 - Processo de cavitação acústica: formação, crescimento e colapso das bolhas em um líquido irradiado com ultrassom de alta intensidade



Fonte: Adaptada de SUSLICK, 2014.

O colapso das microbolhas provoca significativas perturbações no meio por onde as ondas se propagam, o que resulta em um brusco aumento da temperatura e pressão nos pontos onde ocorrem as rupturas das bolhas, chamado de *hot-spots*, e também levam a formação de microjatos. Esses jatos atingem altas velocidades e causam a erosão de sólidos presentes no meio líquido, e possivelmente da parede do recipiente. Os efeitos provocados pelo ultrassom estão associados à migração de moléculas para as bolhas de cavitação e às elevadas temperaturas e pressões alcançadas no momento do colapso dessas microbolhas (LORIMER; MASON, 2002).

O calor intenso gerado eleva a temperatura do líquido ao redor da cavidade e cria um ponto quente local, porém a região é tão pequena que o calor se dissipa rapidamente, e a mudança macroscópica no uso do banho de ultrassom é entre 10 a 15°C, na maioria dos casos ocorre nos primeiros minutos de sonicação (LEY; LOW, 1989).

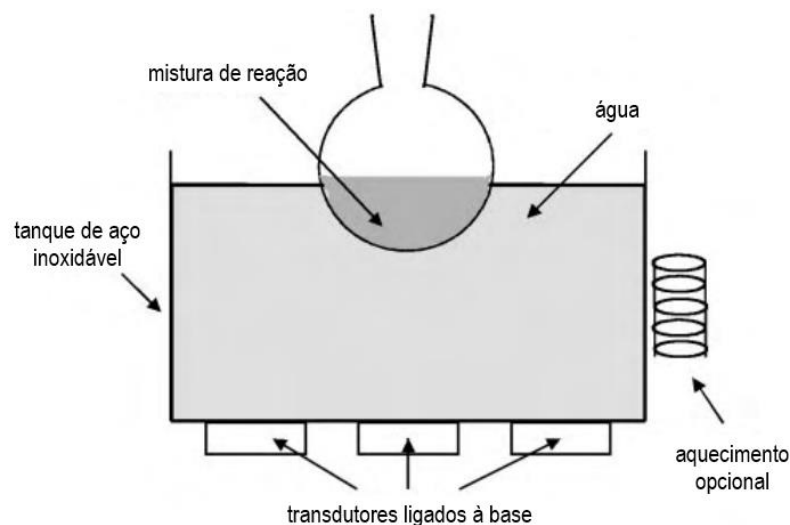
Quando a cavitação ocorre em um líquido próximo a uma superfície sólida, a implosão das bolhas difere da implosão em sistemas somente líquidos. Perto de uma superfície sólida, o colapso não é esférico, a assimetria do ambiente próximo da interface induz a deformação, e direciona jatos de líquidos em alta velocidade para a superfície. Dois mecanismos são propostos para os efeitos de cavitação perto dos sólidos: impacto de microjato e dano por onda de choque, que podem levar à (i) desagregação do material; (ii) aumento da reatividade pela geração de radicais

livres; (iii) diminuição do gradiente de concentração nas proximidades do material sólido, pela produção de microfluxo de matéria e/ou (iv) fusão do sólido, devido às temperaturas elevadas no momento do colapso das bolhas (SUSLICK,1990; SUSLICK *et al.*, 1999).

Devido a esses efeitos, o ultrassom pode ser utilizado para aprimorar processos que envolvam extração ou impregnação de um líquido em um sólido. Foi demonstrado que a extração por solvente de compostos orgânicos contidos no corpo de plantas e sementes é significativamente melhorada pelo uso de ultrassom de potência (LORIMER; MASON, 2002).

O banho de ultrassom é provavelmente o equipamento ultrassônico mais acessível, relativamente barato e utilizável em escala moderadamente grande. A construção de um banho de ultrassom é simples, geralmente consiste em um tanque de aço inoxidável com transdutores fixados em sua base, conforme esquema da Figura 2. Em todos os casos, o ultrassom é gerado pela expansão e contração de um transdutor composto por material piezoelétrico na presença de um campo elétrico flutuante, como o produzido por uma tensão de corrente alternada de alta frequência. O ultrassom é conduzido ao local de ação por propagação através de um volume de água. A frequência e a potência de um banho de ultrassom dependem do tipo e número de transdutores usados em sua construção, sendo que a energia sonora deve ser intensa o suficiente para penetrar nas paredes do vaso e causar cavitação na reação (LEY; LOW,1989).

Figura 2 – Esquema do banho de ultrassom



Fonte: Adaptada de LORIMER; MASON, 2002.

Apesar das vantagens em utilizar um aparelho simples, existem reservas em relação ao empregar este método, já que a energia dissipada no banho não é facilmente quantificável porque depende do tamanho do banho, tipo e espessura do recipiente utilizado na reação e da posição desse recipiente no banho, com o número de frascos expostos simultaneamente e com a posição do transdutor. Além disso, o controle de temperatura pode ser dificultado e a maioria dos banhos aquece durante a operação, que pode levar a resultados inconsistentes quando trabalhado em outras temperaturas (LORIMER; MASON, 2002; KRUG *et al.*, 2019).

Nem todos os banhos operam com a mesma frequência e potência e dependem do fabricante, além disso, a distribuição da intensidade ultrassônica no interior não é homogênea e pode variar com a quantidade de líquido contido na cavidade, que pode afetar os resultados, principalmente quando se tenta reproduzir trabalhos na literatura (LORIMER; MASON, 2002; KRUG *et al.*, 2019).

### 3.4 ESPECTROFOTOMETRIA UV-VISÍVEL

A análise colorimétrica estuda a variação de cor de um sistema de acordo com a mudança de concentração de algum componente. Essa coloração se dá pela formação de um composto com a adição de um reagente apropriado ou inerente da espécie a ser analisada. Para isso, é empregada a espectroscopia que estuda as interações da radiação com a matéria e é baseada na medida da quantidade de radiação produzida ou absorvida pelas moléculas ou pelas espécies de interesse. Cada espécie molecular é capaz de absorver suas próprias frequências características da radiação eletromagnética. Os métodos podem ser classificados de acordo com a região do espectro eletromagnético envolvida na medida (JEFFERY, *et al.*, 1989; SKOOG *et al.*, 2006).

No caso da espectroscopia na região do ultravioleta e visível, as transições que resultam em absorção de radiação eletromagnética nessa região do espectro envolvem transições entre diferentes níveis energéticos das espécies químicas. Quando uma molécula absorve energia, um elétron é promovido de um orbital ocupado (estado fundamental) para um orbital desocupado de maior energia potencial (estado excitado) (PAVIA *et al.*, 2010; SKOOG *et al.*, 2006).

A lei de absorção, conhecida como lei de Beer-Lambert expressa quantitativamente como a absorção da luz depende da concentração das moléculas

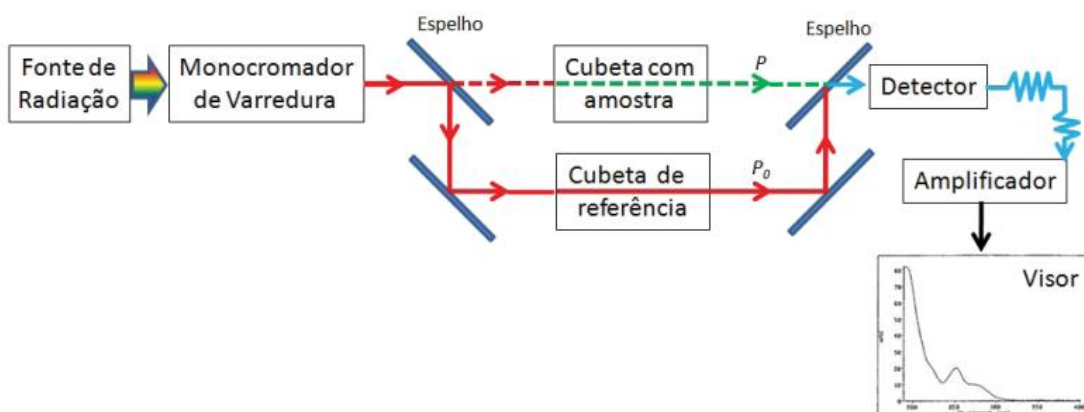
e da extensão do caminho sobre o qual isso ocorre. Assim, determina que a absorbância é diretamente proporcional à concentração de uma espécie absorvente,  $c$ , e ao caminho óptico,  $b$ , do meio absorvente, como expresso na equação abaixo, onde,  $a$  é a absorvidade (JEFFERY, *et al.*, 1989; SKOOG *et al.*, 2006).

$$A = \log\left(\frac{P_0}{P}\right) = abc$$

É necessário considerar que a solução a ser estudada está contida em um tipo de recipiente (cubeta), assim podem ocorrer perdas nas paredes das células por reflexão ou espalhamento e a luz pode ser espalhada em todas as direções devido a presença de partículas na solução.

O instrumento utilizado para essas medidas é o espectrofotômetro UV-Visível, que é composto de uma fonte de luz, um monocromador e um detector, mostrado na Figura 3. A fonte de luz é, em geral, uma lâmpada de deutério que emite radiação eletromagnética na região ultravioleta do espectro. Uma segunda fonte de luz, uma lâmpada de tungstênio, é usada para comprimentos de onda na região visível. O monocromador é uma rede de difração e sua função é separar o feixe de luz nos comprimentos de onda dos componentes. Um sistema de fendas focaliza o comprimento de onda desejado na cela da amostra. A luz que atravessa a cela de amostra chega ao detector, que registra a intensidade da luz transmitida (PAVIA *et al.*, 2010).

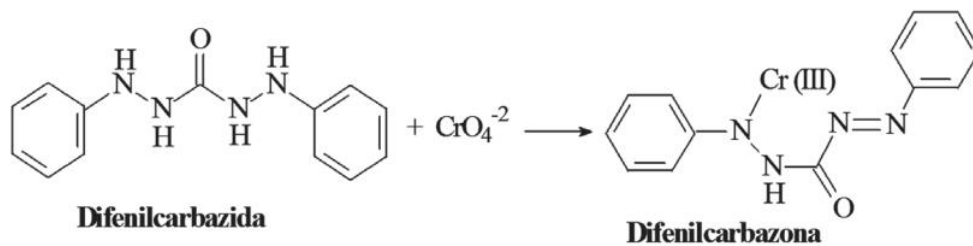
Figura 3 – Esquema de um espectrofotômetro de varredura com feixe duplo



Fonte: PASSOS.

Na determinação do cromo hexavalente é usado um composto orgânico como agente complexante, a 1,5-difenilcarbazida, para a formação de um complexo de coloração violeta. A reação ocorre em meio ácido, no qual o cromo está na forma de cromato e, assim, é reduzido e complexado pela difenilcarbazida e apresenta estequiometria de 2:3 (Cr(VI):DPC), como pode ser visto na Figura 4 (SILVA, 2018).

Figura 4 – Reação da 1,5-difenilcarbazida com cromo hexavalente para formação do complexo de coloração violeta



Fonte: HERRERA *et al.*, 2013.

A reação ocorre de forma rápida, seletiva e a difenilcarbazida reage com poucos metais em condições ácidas e complexos de outros metais apresentam coloração diferente da do Cr(VI), minimizando possíveis interferências durante a determinação (SILVA, 2018).

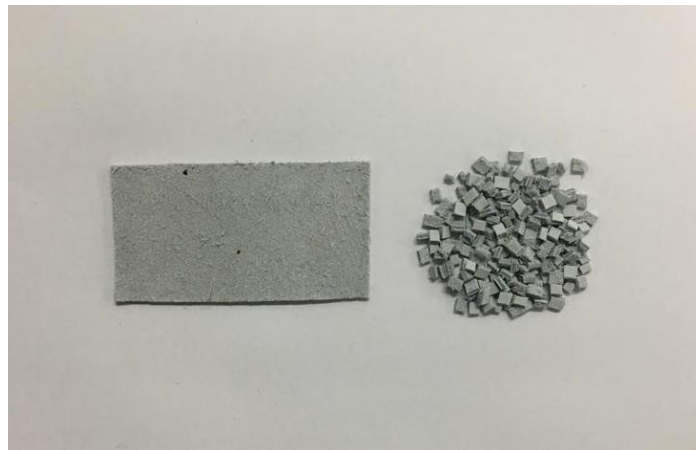
## 4 METODOLOGIA

A metodologia seguida tem base na norma ABNT NBR 16600, que é uma norma adaptada da ISO 17075:2007. Esta foi elaborada pelo *Technical Committee of International Union of Leather Technologists and Chemists Societies (ISO/TC IULTCS)*.

### 4.1 PRÉ-ENVELHECIMENTO TÉRMICO DO COURO

O preparo da amostra foi de acordo com a norma ISO 10195:2018 de pré-envelhecimento térmico do couro. Assim, a amostra de couro foi cortada no tamanho de 3 a 5 mm, conforme Figura 5, de acordo com a norma ISO 4044:2017 e foi pesada em balança analítica (Shimadzu). A norma recomenda que sejam pesadas massas de aproximadamente 2 g. O frasco contendo a amostra foi colocado na estufa (Solab) a  $80 \pm 2$  °C e umidade relativa menor que 10%, por  $24 \pm 1$  h. Após, a amostra foi mantida em dessecador por  $2 \text{ h} \pm 15 \text{ min}$ .

Figura 5 – Amostra de couro cortada



Fonte: A autora, 2023.

### 4.2 PREPARO DE SOLUÇÕES

Para o preparo da solução de extração foi pesado aproximadamente 22,8 g de fosfato de potássio bibásico trihidratado ( $\text{K}_2\text{HPO}_4 \cdot 3\text{H}_2\text{O}$ ) (Neon) e dissolvido em 1000 mL de água ultrapura. O pH foi ajustado para  $8,0 \pm 0,1$  com ácido fosfórico 70% (Química Moderna) e então a solução foi degasada com nitrogênio por 25



minutos e reservada em temperatura de conservação. A solução tem validade de 7 dias.

Para a solução de DPC foi dissolvida 1,0 g de 1,5-difenilcarbazida ( $\text{CO}(\text{NHNHC}_6\text{H}_5)$ ) (Sigma-Aldrich) em 100,0 mL de acetona ( $(\text{CH}_3)_2\text{CO}$ ) (Química Moderna) e acidificada com uma gota de ácido acético glacial ( $\text{CH}_3\text{COOH}$ ) (Neon). A solução foi armazenada em frasco âmbar e possui prazo de validade de 14 dias a 4 °C.

A solução padrão de cromo (VI) de  $1 \mu\text{g mL}^{-1}$  foi preparada a partir da solução 1000  $\text{mg L}^{-1}$  comercial (SpecSol) para um balão volumétrico de 100,0 mL e avolumado com solução de extração, com validade de 7 dias.

#### 4.3 EXTRAÇÃO ATRAVÉS DE AGITADOR MECÂNICO

A solução para extração do cromo (VI) do couro é uma solução aquosa de sal na faixa de  $\text{pH } 8,0 \pm 0,1$ . Para a extração, em um erlenmeyer de 250 mL com tampa foi pipetado 100,0 mL da solução de extração e esta foi degasada com gás nitrogênio por 5 min para deslocar o oxigênio do frasco. O couro, após pesagem e pré-envelhecimento, foi adicionado e o frasco fechado. O erlenmeyer foi agitado manualmente de forma que não ficasse couro nas paredes do recipiente. O couro em suspensão foi mantido sob agitação mecânica (agitador mecânico Destec) por  $3 \text{ h} \pm 5 \text{ min}$  a fim de extrair o cromo (VI), como mostrado na Figura 6. Após, a solução foi filtrada através de uma membrana filtrante, com filtro (Sartorius) de poliamida com tamanho de poro de  $0,45 \mu\text{m}$ , para um béquer, conforme Figura 7. Foi feita a verificação do pH, que deve estar entre 7,5 e 8,0.

Figura 6 – Extração em agitador mecânico



Fonte: A autora, 2023.

Figura 7 – Filtração a vácuo em membrana filtrante após etapa de extração



Fonte: A autora, 2023.

#### 4.4 EXTRAÇÃO ASSISTIDA POR ULTRASSOM

Para o método proposto, a etapa de extração do cromo (VI) foi modificada utilizando um banho de ultrassom (Ultronique, Modelo Q21/40A) com frequência de 40 kHz, como mostrado na Figura 8. Porém, todos os parâmetros do procedimento padrão e o tempo de 180 min de extração foram mantidos. Os testes iniciais com banho de ultrassom foram feitos no mesmo tempo do agitador mecânico (180 min) e a partir disso, o tempo foi diminuído para tempos menores, tais como: 120, 110, 100, 90, 75, 60, 45 e 30 min.

Figura 8 – Extração assistida por ultrassom



Fonte: A autora, 2023.

#### 4.5 DETERMINAÇÃO DE CROMO (VI)

Para determinação do cromo (VI) no espectrofotômetro UV-Visível foi feita uma curva de calibração nos pontos de 0,020; 0,040; 0,120; 0,200; 0,280; 0,400 e 0,600  $\text{mg L}^{-1}$ . As soluções foram preparadas a partir da solução padrão  $1 \mu\text{g mL}^{-1}$  em balão volumétrico de 25,00 mL. A solução padrão foi pipetada para um balão volumétrico de 25,00 mL, foi adicionado 500  $\mu\text{L}$  de ácido fosfórico 70%, 500  $\mu\text{L}$  de solução de difenilcarbazida e o mesmo foi avolumado com a solução de extração. As soluções foram agitadas e mantidas em repouso por  $15 \pm 5$  min, como pode ser visto na Figura 9. A absorbância foi medida a 540 nm em espectrofotômetro UV-Visível (Shimadzu) contra a solução branco. O branco foi feito contendo todos os reagentes citados acima, com exceção da solução padrão de Cr. A partir desses dados foi construído o gráfico da concentração de cromo (VI) ( $\text{mg L}^{-1}$ ) *versus* a absorbância.

Figura 9 – Curva de calibração do cromo (VI)



Fonte: A autora, 2023.

Com a finalidade de retirar a cor da solução obtida do item 4.3 e 4.4 após a extração do Cr(VI) das amostras, foi utilizado um cartucho Strata™-X 33 µm (Polymeric Reversed Phase, Phenomenex). Este cartucho necessita de um pré-tratamento, que foi feito da seguinte maneira: o cartucho foi lavado com 5 mL de metanol grau HPLC (Dinâmica), 5 mL de água destilada e 10 mL da solução extratora.

A partir da solução extraída e filtrada, foram transferidos 10,00 mL através do cartucho com dispositivo de vácuo. O eluído foi coletado em um balão volumétrico de 25,00 mL e avolumado com a solução extratora, conforme Figura 10.

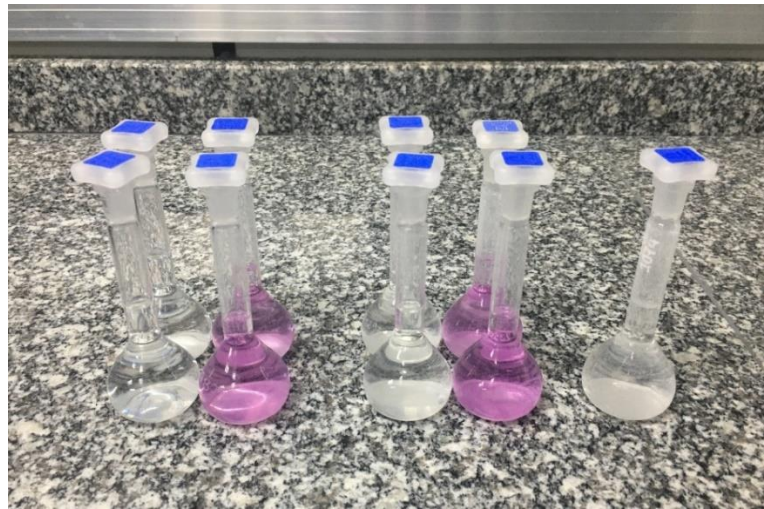
Figura 10 – Etapa de retirada de cor com dispositivo de vácuo



Fonte: A autora, 2023.

A partir dessa solução, foi pipetado um volume de 10,00 mL para um balão volumétrico de 25,00 mL, 500  $\mu$ L de ácido fosfórico e 500  $\mu$ L de difenilcarbazida, avolumado com a solução extratora e misturado. Assim, deixado repousar por  $15 \pm 5$  min para formação do complexo violeta, como apresentado na Figura 11. A absorbância da solução foi medida em uma cubeta de 1 cm contra a solução branco a 540 nm no espectrofotômetro UV-Visível.

Figura 11 – Reação do cromo (VI) com DPC na amostra



Fonte: A autora, 2023.

A validação do método proposto foi feita através da comparação dos resultados obtidos após extração assistida com ultrassom e determinação por espectrofotometria com os valores obtidos pelo método oficial da norma ISO 17075 (comparação de médias) e através de ensaio de recuperação. Para determinação da taxa de recuperação pelo método proposto foi repetido o procedimento da mesma forma como a amostra analisada, do preparo da amostra até a remoção da cor e coleta do eluído em balão volumétrico de 25,00 mL. A partir dessa solução foi feita adição de 10,00 mL da amostra, 500  $\mu$ L de ácido fosfórico e 500  $\mu$ L de difenilcarbazida, porém com adição de 2,5 mL da solução padrão de Cr(VI)  $1 \mu\text{L mL}^{-1}$  em um balão volumétrico de 25,00 mL e feita a medida da absorção no espectrofotômetro UV-Visível contra a solução branco.

#### 4.6 DETERMINAÇÃO DA MATÉRIA VOLÁTIL

Os resultados da concentração de Cr(VI) calculados são baseados na matéria seca. Para isso, é feita a determinação da matéria volátil, de acordo com a norma ABNT NBR ISO 4684:2014, no analisador de umidade (Ohaus), pesando-se 3 g de massa da amostra em duplicata, sem diferirem mais do que 0,2 % entre si.

#### 4.7 TESTE DE FORMAÇÃO E ESTABILIDADE DO COMPLEXO DE CROMO (VI) COM A 1,5-DIFENILCARBAZIDA

Para avaliar o tempo de formação e estabilidade do complexo de cromo (VI) com a 1,5-difenilcarbazida foi utilizada uma amostra de couro com concentração de analito conhecida, amostra denominada 1. O procedimento do preparo da amostra até a remoção da cor da solução extraída foi realizado conforme o método oficial. Da mesma maneira, foi pipetado um volume de 10,00 mL da amostra para um balão volumétrico de 25,00 mL, 500 µL de ácido fosfórico e 500 µL de difenilcarbazida, e o volume foi completado com a solução extratora. A partir da adição da DPC no balão volumétrico contendo a amostra foi feita a medida no espectrofotômetro UV-Visível, a cada 2 min, no intervalo de 1 até 15 min.

Posteriormente, de acordo com o método oficial, as leituras foram feitas a cada 5 min entre os tempos de 15 e 60 min, e em seguida a cada 30 min até 180 min.

## 5 RESULTADOS E DISCUSSÕES

### 5.1 EXTRAÇÃO DE CROMO (VI) CONFORME NORMA ISO 17075:2007

Na Tabela 1 são mostrados os dados obtidos de concentração de Cr(VI) seguindo o método oficial da norma ISO 17075 na amostra de couro denominada 1. Para os cálculos foi considerada a matéria não volátil de 98,5%. Posteriormente, esses dados foram usados para comparar com os resultados obtidos para o método proposto usando o banho de ultrassom.

Tabela 1 – Dados obtidos na determinação de Cr(VI) na amostra 1 de couro reproduzindo procedimento da norma ISO 17075

<b>Amostra</b>	<b>Concentração de Cr(VI) (mg kg<sup>-1</sup>)</b>
1	29,76
1	31,31
1	28,46
1	27,82
<b>Média</b>	29,34
<b>Desvio padrão</b>	1,54

Fonte: A autora, 2023.

### 5.2 EXTRAÇÃO DE CROMO (VI) ASSISTIDA POR ULTRASSOM

Devido a distribuição irregular das ondas ultrassônicas no banho de ultrassom, inicialmente, foi realizado um teste com folha de alumínio para verificar a região de maior incidência. Desta forma, a folha de papel alumínio foi colocada sob a superfície da água do banho de ultrassom e foi sonicada por um período de tempo, com a intenção de observar o rompimento da mesma, como pode ser observado na Figura 12.

Figura 12 – Teste com folha de alumínio antes e após uso do ultrassom para identificar área de maior incidência do ultrassom



Fonte: A autora, 2023.

Conforme observado na Figura 12 acima, a região à direita do banho de ultrassom foi escolhida para posicionamento dos frascos, uma vez que apresentou maior incidência de ondas ultrassônicas.

A fim de observar o comportamento da temperatura no processo de extração com ultrassom, foram feitas medidas antes e depois dessa etapa, na solução extratora e no banho de ultrassom. A solução extratora apresentou temperatura inicial de 23 °C e após 60 min no banho de ultrassom, a temperatura foi 41 °C, variando 18 °C. A temperatura da água do banho de ultrassom foi de 27 °C para 42 °C, aumentando a temperatura em 15 °C. Esses valores se repetiram para todos os tempos avaliados. Já, para a extração com agitador mecânico, a temperatura da solução foi de 23 °C para 25 °C, aumentando apenas 2 °C. Esse aumento de temperatura constatado no banho de ultrassom era esperado, uma vez que o efeito de cavitação acústica e colapso das microbolhas ocorrem em altas temperaturas, acarretando em um aumento da temperatura pelo calor dissipado.



O método proposto foi otimizado com a mesma amostra usada no método oficial, para fins de comparação. A fim de encontrar a melhor condição de tempo de extração utilizando o US, inicialmente, foi adotado o mesmo tempo recomendado pelo método oficial, ou seja, todas as etapas foram realizadas exatamente iguais ao que é descrito na norma ISO 17075, modificando apenas o equipamento usado para extração. Nesse caso, foi feita a troca do agitador mecânico pelo banho de ultrassom. Os testes foram feitos começando a partir de 3 h, com base nisso foi-se diminuindo o tempo. Os tempos testados foram de 180, 120, 110, 100, 90, 75, 60, 45 e 30 min. Os dados obtidos nesses tempos estudados estão na Tabela 2 e Figura 13.

Tabela 2 – Dados da determinação de Cr(VI) na amostra 1 de couro em diferentes tempos através da extração com ultrassom à 41 °C (n ≥ 3)

<b>Tempo (minutos)</b>	<b>Concentração de Cr(VI) (mg kg<sup>-1</sup>)</b>
30	22,91 ± 1,99
45	22,47 ± 1,35
60	28,76 ± 2,12
75	27,34 ± 0,25
90	31,25 ± 2,99
100	28,62 ± 2,03
110	31,40 ± 2,49
120	34,55 ± 0,45
180	33,80 ± 1,36

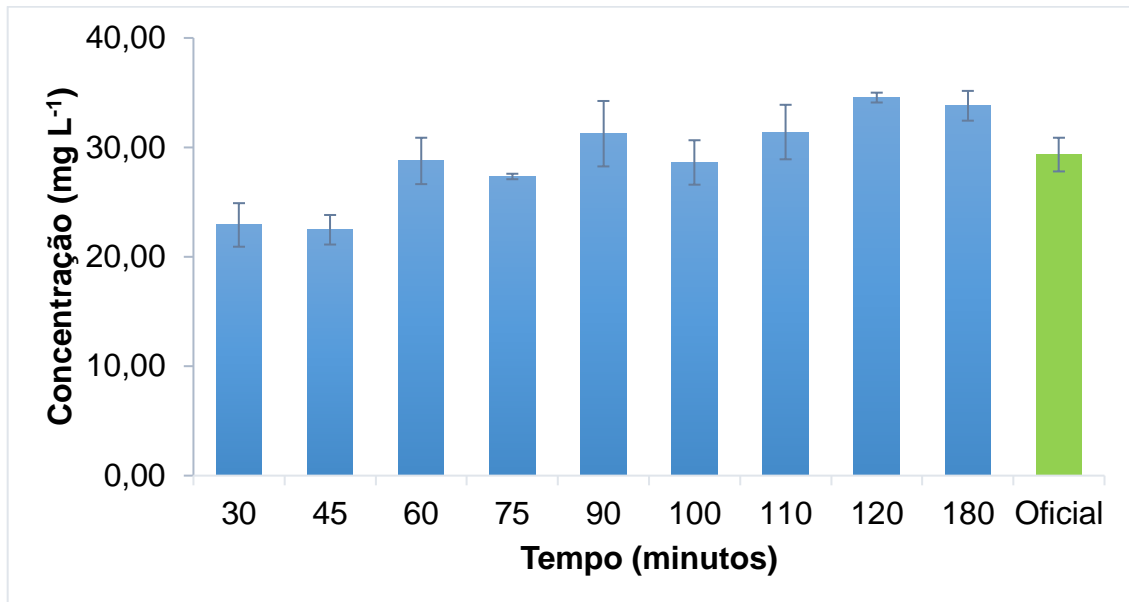
Fonte: A autora, 2023.

Como foi observado, para 120 e 180 min os valores encontrados estavam adequados comparados ao método oficial, abaixo de 120 min optou-se por utilizar intervalos de tempo menores a fim de avaliar o comportamento da extração.

De acordo com os resultados obtidos para cada tempo estudado foi feito o teste Q com a finalidade de descartar os valores inadequados antes de calcular as médias e desvio padrão. Algumas determinações apresentaram discrepância entre as replicatas, um dos fatores é próprio da amostra de couro, devido a heterogeneidade da amostra. Outro fator é distribuição irregular do ultrassom no

banho, apesar de ter-se escolhido o local de maior incidência para realização dos testes.

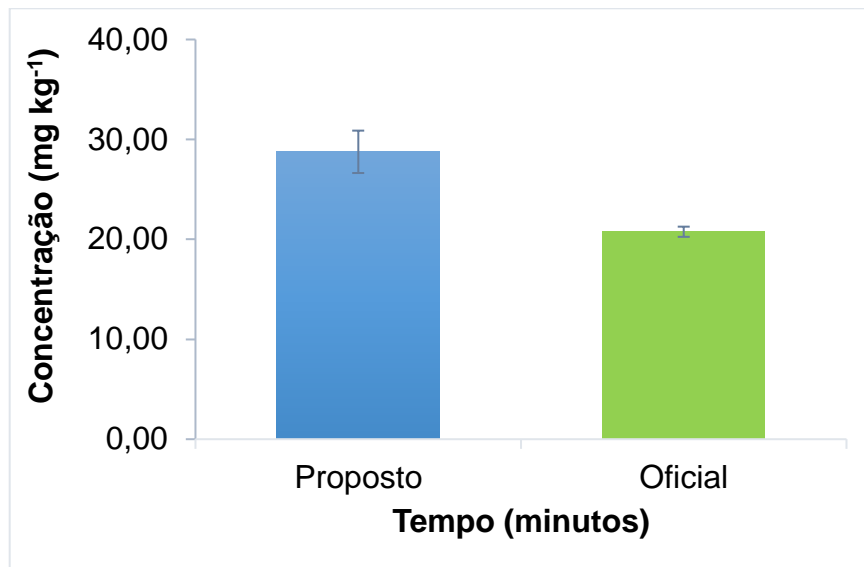
Figura 13 – Gráfico comparativo da concentração de Cr(VI) *versus* os tempos no US à 41 °C e no agitador mecânico em temperatura ambiente por 180 min



Fonte: A autora, 2023.

O tratamento dos dados foi feito utilizando o programa GraphPad Prism 9. Os valores encontrados para cada tempo foram analisados pelo teste de Análise da Variância (ANOVA) a fim de observar se existe diferença significativa entre as médias obtidas. Para os tempos de 30 min e 45 min houve diferença significativa em relação ao resultado obtido pelo método oficial, indicando que provavelmente são tempos insuficientes para extração adequada do cromo (VI). Porém, a partir de 1 h os valores se mostraram apropriados. Além disso, foi realizado o test t (Student, com intervalo de confiança de 95%) comparando o resultado obtido pelo método oficial com o encontrado após extração com US por 1 h, e os mesmos não mostraram diferença significativa (Figura 13).

Figura 14 – Gráfico comparativo da concentração de Cr(VI) durante 60 min pelo método proposto à 41 °C e pelo método oficial em temperatura ambiente



Fonte: A autora, 2023.

Também, foi testado o tempo de 1 h no método oficial, através de agitador mecânico em temperatura ambiente, e o resultado obtido foi de  $20,76 \pm 0,51 \text{ mg kg}^{-1}$ , sendo significativamente inferior ao valor obtido quando aplicado 3 h de agitação ( $29,34 \pm 1,54 \text{ mg kg}^{-1}$ ), como pode ser visto na Figura 14. Conclui-se que o método oficial não é eficiente para tempos menores de extração, enquanto que a extração assistida por US se mostrou adequada.

### 5.3 VALIDAÇÃO DO MÉTODO

Como modo de avaliar a exatidão do método, calculou-se o erro relativo (ER), considerando como verdadeiro o resultado encontrado pelo método oficial ( $X_v$ ) e o valor obtido ( $X_{lab}$ ) pela extração assistida com ultrassom, de acordo com a equação abaixo.

$$ER (\%) = \frac{X_{lab} - X_v}{X_v} \times 100\%$$

O erro relativo encontrado foi de 1,98%, apresentando boa concordância com o método oficial.

Para avaliar a precisão foi calculado o coeficiente de variação (CV), também chamado de desvio padrão relativo (DPR), de acordo com a seguinte equação.

$$CV (\%) = DPR = \frac{DP}{CMD} \times 100\%$$

sendo, DP o desvio padrão e CMD a concentração média determinada.

A precisão calculada foi de 7,37%, que é adequada com os critérios de aceitação do DPR (INMETRO, 2020).

O ensaio de recuperação do analito foi realizado pela adição do mesmo na amostra, na concentração de 100 ppb do padrão de Cr(VI)  $1 \mu\text{g mL}^{-1}$  e calculado pela equação abaixo.

$$\text{Recuperação (\%)} = \frac{(C1 - C2)}{C3} \times 100\%$$

sendo, C1 a concentração do analito na amostra fortificada, C2 a concentração do analito na amostra não fortificada e C3 a concentração do analito adicionado à amostra fortificada.

A análise da amostra fortificada com uma quantidade conhecida de Cr(VI), apresentou taxa recuperação, de 97% ( $61,43 \text{ mg kg}^{-1}$ ).

Com a intenção de avaliar a aplicabilidade do método proposto para outras amostras com diferentes concentrações e Cr(VI), outras 3 amostras foram escolhidas e o Cr(VI) foi extraído pelo método proposto e pelo método oficial. Os resultados obtidos estão apresentados na Tabela 3.

Tabela 3 – Dados de concentração de Cr(VI) para três amostras diferentes pelo método oficial e método proposto (n = 2)

<b>Amostra</b>	<b>Método oficial (<math>\text{mg kg}^{-1}</math>)</b>	<b>Método proposto (<math>\text{mg kg}^{-1}</math>)</b>
1	$12,22 \pm 1,13$	$11,76 \pm 1,34$
2	< 3	< 2,92
3	< 3	< 2,92

Fonte: A autora, 2023.

A partir dos valores encontrados, realizou-se o teste t comparando os dois métodos para a primeira amostra e foi constatado que há confiabilidade no intervalo de 95%, logo o método empregando o US durante 1 h como alternativa na extração do cromo (VI) mostrou reprodutibilidade. As amostras 2 e 3 ficaram abaixo dos limites de detecção (LD) e de quantificação (LQ) de ambos métodos.

Os LDs e LQs foram calculados pela soma da média com o valor oriundo da multiplicação de um fator de 3 ou 10 vezes o desvio padrão obtido após dez determinações do branco, respectivamente. O valor obtido para o LD foi de  $1 \text{ mg kg}^{-1}$  e  $3 \text{ mg kg}^{-1}$  para o LQ, abaixo do limite de detecção expresso pela norma ISO 17075 que é de  $3 \text{ mg kg}^{-1}$ .

#### 5.4 TESTE DO TEMPO DE FORMAÇÃO E ESTABILIDADE DO COMPLEXO DO CROMO (VI) COM A DPC

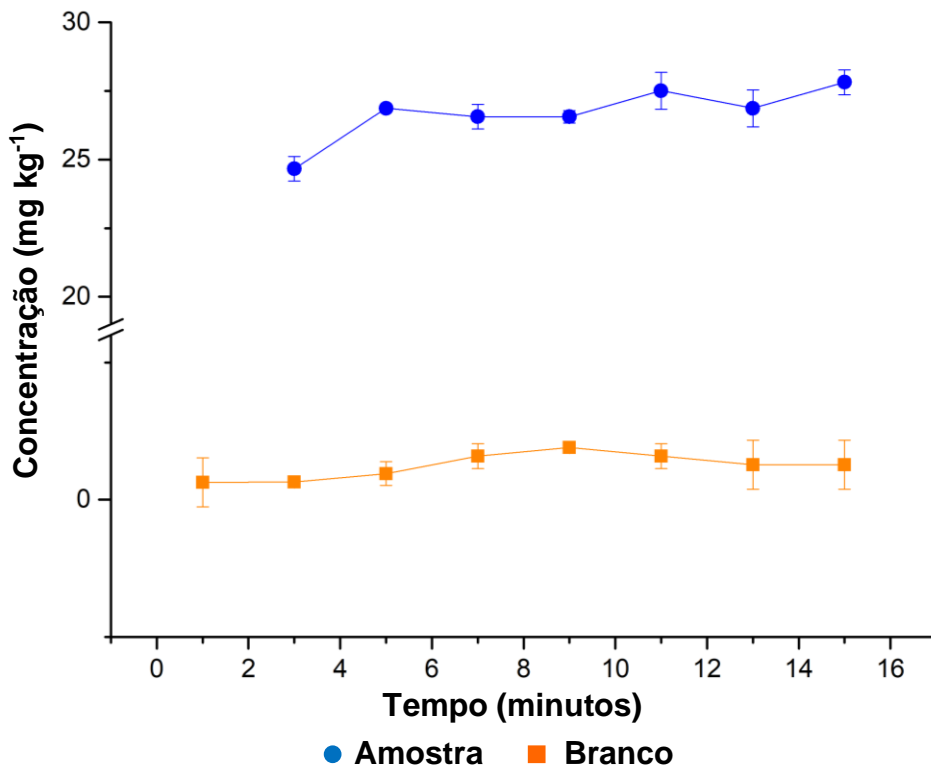
O tempo estabelecido de formação do complexo do cromo (VI) com a difenilcarbazida é de  $15 \pm 5$  min de acordo com o método oficial. Com o objetivo de reduzir o tempo de espera para leitura das amostras, também foi investigado o tempo de reação a cada 2 min no intervalo de 1 min até 15 min, usando o método oficial. Os dados obtidos estão na Tabela 4 e Figura 15 abaixo.

Tabela 4 – Dados de concentração da formação do complexo do Cr(VI) com a DPC no intervalo de tempo de 1 até 15 min (n = 2)

<b>Tempo (minutos)</b>	<b>Concentração (<math>\text{mg kg}^{-1}</math>)</b>
1	$16,12 \pm 1,12$
3	$24,66 \pm 0,45$
5	$26,87 \pm 0,01$
7	$26,56 \pm 0,45$
9	$26,56 \pm 0,23$
11	$27,51 \pm 0,67$
13	$26,87 \pm 0,67$
15	$27,82 \pm 0,45$

Fonte: A autora, 2023.

Figura 15 – Gráfico de concentração da formação do complexo do Cr(VI) com a difenilcarbizada *versus* o tempo de reação



Fonte: A autora, 2023.

Pela verificação com o teste ANOVA entre as concentrações obtidas nesses tempos de reação, foi possível observar que os tempos de 1 min e 3 min apresentam diferença significativa em relação aos tempos maiores. Dessa forma, no tempo de 5 min já é possível fazer a leitura da concentração de Cr(VI) nas amostras. Na Figura 16, pode-se observar visualmente a evolução da intensidade da coloração do complexo ao longo do tempo de reação.

Figura 16 – Reação do Cr(VI) com a difenilcarbizada nos tempos de 0, 1, 3, 5 e 15 min



Fonte: A autora, 2023.

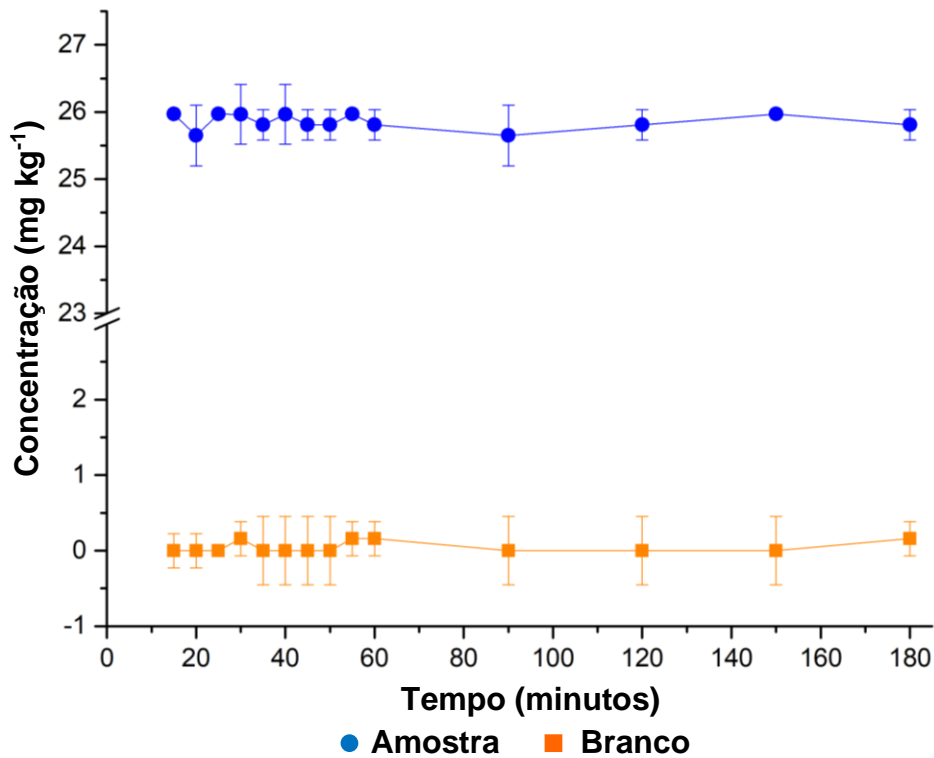
Após verificar o tempo de reação, foi analisado o tempo de estabilidade do complexo formado ao longo do tempo, a cada 5 min entre 15 min e 60 min e depois com intervalos maiores de 30 min até 180 min, através do método oficial. Os dados encontrados estão na Tabela 5 e Figura 17 abaixo.

Tabela 5 – Dados de concentração de Cr(VI) no decorrer de 15 minutos até 3 horas (n = 2)

<b>Tempo (minutos)</b>	<b>Concentração (mg kg<sup>-1</sup>)</b>
15	25,97 ± 0,01
20	25,65 ± 0,45
25	25,97 ± 0,01
30	25,97 ± 0,45
35	25,81 ± 0,23
40	25,97 ± 0,45
45	25,81 ± 0,23
50	25,81 ± 0,23
55	25,97 ± 0,01
60	25,81 ± 0,23
90	25,65 ± 0,45
120	25,81 ± 0,23
150	25,97 ± 0,01
180	25,81 ± 0,23

Fonte: A autora, 2023.

Figura 17 – Gráfico de concentração do Cr(VI) versus o tempo



Fonte: A autora, 2023.

Também pela realização do teste ANOVA foi possível estabelecer que nesse período de tempo de 3 h o complexo se mantém estável, portanto, considera-se possível realizar as leituras nesse amplo intervalo de tempo. Contudo, tempos ainda maiores poderiam ter sido avaliados e possivelmente seriam adequados.

### 5.5 AVALIAÇÃO DO TEMPO DE ANÁLISE

É indicado pela norma que a solução extratora deve ser conservada sob refrigeração, porém a extração necessita ocorrer em temperatura ambiente, nesse sentido o frasco de hidrogenofosfato é mantido por 2 h fora da geladeira até atingir a temperatura ambiente, antes de ser realizada a extração. Então, foi avaliado usar a solução extratora diretamente na temperatura de conservação a  $4 \pm 3$  °C previamente à etapa de extração. Os resultados obtidos foram de  $27,64 \pm 1,94$  mg kg<sup>-1</sup>, condizente com os valores alcançados pelo método oficial. Dessa forma, tem-se a possibilidade de usar a solução de forma imediata sem a necessidade de esperar alcançar a temperatura ambiente.



O tempo estabelecido pela norma para reação do cromo (VI) com a difenilcarbazida é de  $15 \pm 5$  min, contudo como visto nos resultados obtidos, o tempo de 5 min é suficiente para formação do complexo violeta na determinação do analito. Após a reação, o complexo permanece estável por pelo menos 3 h, sem limitação no tempo de leitura das amostras.

Analisando o tempo de extração, com a redução de 3 h para 1 h, no ultrassom é possível realizar 3 vezes os números de amostras no mesmo período de tempo. Além disso, os fatores relacionados ao tempo citado acima interferem na diminuição do tempo do procedimento no geral, como pode ser observado na Tabela 6. Em conclusão, é possível um aumento considerável no número de amostras que podem ser realizadas.

Tabela 6 – Comparação do tempo decorrido das etapas da análise de Cr(VI) do método oficial e do método proposto para  $n = 8$

Etapa da análise	Método oficial	Método proposto
	Tempo (minutos)	
Tempo de arrefecimento da solução extratora (1 L)	90	0
Extração do Cr(VI)	180	60
Remoção da cor (filtração por SPE)	60	60
Reação do Cr(VI) com a DPC	15	5
Leitura das amostras	15	15
<b>Total</b>	<b>360</b>	<b>140</b>

Fonte: A autora, 2023.

## 6 ANÁLISE DE CUSTOS

Como forma de avaliação dos custos, foi levado em consideração que os processos da análise de cromo hexavalente comparando a método oficial e método proposto são realizados nas mesmas condições, logo os reagentes e maioria dos equipamentos são os mesmos como mostrado na Tabela 7 e 8. A mudança do agitador mecânico pelo banho de ultrassom é um gasto inicial de implementação, dependendo do tamanho do equipamento. A mesma quantidade de amostras pode ser feita nos dois, por exemplo um agitador com 10 posições, no valor de R\$ 11.930,52 (Dsyslab) e o ultrassom de 20 L (com medidas internas de 15 cm de altura, 50 cm de largura e 30 cm de comprimento) no valor de R\$ 6.183,00 (Prolab), possuem a mesma capacidade.

Tabela 7 – Estimativa dos valores dos equipamentos na análise de Cr(VI)

<b>Equipamentos</b>	<b>Preço (R\$)</b>
Estufa	1.799,00
Banho de ultrassom (20 L)	6.183,00
Espectrofotômetro UV-Vis	12.582,75
Manifold à vácuo para 12 colunas	4.282,60
Analisador de umidade	6.617,13
<b>Total</b>	<b>31.464,48</b>

Tabela 8 – Estimativa dos valores dos reagentes na análise de Cr(VI)

<b>Reagentes</b>	<b>Quantidade</b>	<b>Preço (R\$)</b>
Fosfato de potássio bibásico trihidratado PA	1 kg	150,00
Ácido fosfórico 85% PA	1 L	100,00
1,5-difenilcarbazida 98% PA	100 g	1.386,00
Acetona PA	1 L	54,80
Ácido acético glacial PA	1 L	62,48
Padrão Cr(VI) 1000 mg L <sup>-1</sup>	500 mL	274,68
Filtro poliamida poro 0,45 µm	100 unidades	406,81
Cartucho Strata	20 unidades	1.925,00
Álcool Metílico HPLC	4 L	180,00
	<b>Total</b>	<b>4.539,77</b>

## 7 CONCLUSÃO

O método proposto para extração de cromo (VI) em couro através de ultrassom, com tempo de 1 h, apresentou resultados satisfatórios e concordantes, com taxa de recuperação apropriada e semelhante ao esperado no método oficial, se mostrando viável para esse fim. Visando uma resposta mais rápida, essa metodologia pode ser aplicada em alternativa a norma, em caso de urgência ou de acordo com a demanda.

Os resultados dos testes de formação do complexo de cromo (VI) com a 1,5-difenilcarbazida também foram adequados, com tempo de reação de 5 min antes da leitura em espectrofotômetro UV-Visível. E, posterior estabilidade do complexo para determinação, de pelo menos 3 h.

Outros parâmetros podem vir a ser avaliados, como diminuição da massa de amostra e volume de solução, uso de adsorventes na etapa de retirada de cor que seja mais acessível, variação na frequência e potência do ultrassom e temperatura do banho de ultrassom para maior redução no tempo de extração.

## REFERÊNCIAS

- ACGIH. **Chromium and Inorganic Compounds**. Cincinnati. 2018. Disponível em: <<https://www.acgih.org/chromium-and-inorganic-compounds/>>. Acesso em: 26 mar. 2023.
- ADRIANO, D. C. **Trace Elements in Terrestrial Environments: Biogeochemistry, Bioavailability, and Risks of Metals**. 2. Ed. Nova Iorque: Springer, 2001, 867 p.
- ASSOCIAÇÃO BRASILEIRA DE NORMAS TÉCNICAS. **NBR 16600: Couro – Ensaio Químico – Determinação do teor de cromo (VI) (ISO 17075:2007, MOD)**. Rio de Janeiro. 2017.
- ATSDR. **Toxicological profile for Chromium**. Atlanta: Department of Health and Human Services, Public Health Service, 2012. Disponível em: <<https://wwwn.cdc.gov/TSP/ToxProfiles/ToxProfiles.aspx?id=62&tid=17>>. Acesso em: 10 mar. 2023.
- BARROS, B. M. **Crômio (VI) no Couro: Causas, Prevenção e Avaliação**. 2018. 121 f. Dissertação (Mestrado em Engenharia Química) – Instituto Superior de Engenharia do Porto, Porto, 2018.
- CETESB. **Ficha de Informação Toxicológica: Crômio e seus Compostos**. 2017. Disponível em: <<https://cetesb.sp.gov.br/laboratorios/wp-content/uploads/sites/24/2022/02/Cromio.pdf>>. Acesso em: 26 mar. 2023.
- CETESB. **Curtumes**. São Paulo, 2005. 76 p. Disponível em: <<https://www.crq4.org.br/downloads/curtumes.pdf>>. Acesso em: 10 mar. 2023.
- CTIC; AUSTRALIA. **Boas Práticas para o Setor de Curtumes**. 2015. 181 p. Disponível em: <[https://austra.pt/documentos/documentacao/manual\\_boas\\_praticas\\_curtumes.pdf](https://austra.pt/documentos/documentacao/manual_boas_praticas_curtumes.pdf)>. Acesso em: 10 mar. 2023.

DETTMER, A. **Recuperação do Cromo das Cinzas do Tratamento Térmico de Resíduos da Indústria Calçadista visando o Curtimento de Peles**. 2008. 111 f. Dissertação (Mestrado em Engenharia Química) – Universidade Federal do Rio Grande do Sul, Porto Alegre, 2008.

EPA. **Toxicological Review of Hexavalent Chromium**. U.S. Environmental Protection Agency. 1998. 70 p.

ERDEM, M.; TUMEN, F. **Chromium Removal from Aqueous Solution by the Ferrite Process**. Journal of Hazardous Materials. Elazığ, v. 109, 2004, p. 71-77.

FUCK, W. F. **Influência do Teor de Cromo e do Tipo de Óleo na Formação de Cromo Hexavalente no Couro**. 2008. 102 f. Dissertação (Mestrado em Engenharia Química) – Universidade Federal do Rio Grande do Sul, Porto Alegre, 2008.

HERRERA, G. M. D.; ORDOÑEZ, P. A. P.; ANAGUANO, A. H. **Estandarización de la difenilcarbazida como indicador y acomplejante em la identificación de cromo hexavalente – Cr(VI)**. Producción + Limpia. Colômbia, v. 8, n. 2, 2013, p. 9-20.

IARC. **Evaluation of Carcinogenic Risks to Humans: Chromium, Nickel and Welding**. Lyon: World Health Organization, v. 49, 1990. 677 p.

INMETRO. **Orientação sobre Validação de Métodos Analíticos**: Documento de Caráter Orientativo. 2020.

JEFFERY, G. H.; BASSETT, J.; MENDHAM, J.; DENNEY, R. C. **Vogel's: Textbook of Quantitative Chemical Analysis**. 5. ed. Londres: Longman Scientific & Technical, 1989. 855 p.

KRUG, F. J.; ROCHA, F. R. P. **Métodos de Preparo de Amostras para Análise Elementar**. 2. ed. São Paulo: Sociedade Brasileira de Química, 2019. 570 p.

LEAL, O. B. R. **Análise Técnica, Econômica e de Tendências da Indústria do Couro Brasileira e da sua Relação com a Indústria Química.** 2007. 175 f. Dissertação (Mestrado em Ciências) – Universidade Federal do Rio de Janeiro, Rio de Janeiro, 2007.

LEY, S.V.; LOW, C. M. R. **Ultrasound in Synthesis.** 1. ed. Berlim: Springer-Verlag, 1989. 133 p.

LORIMER, J. P.; MASON, T. J. **Applied Sonochemistry: The Uses of Power Ultrasound in Chemistry and Processing.** Weinheim: Wiley-VCH, 2002. 293 p.

LUCAS, A. V. **Ultrassom na Engenharia Química. Utilização Industrial, Pesquisas e Perspectivas para o Futuro.** 2015. 47 f. Monografia (Bacharelado) – Universidade de São Paulo, Lorena, 2015.

NDUNG’U, K. et al. **Ultrasonic extraction of hexavalent chromium in solid samples followed by automated analysis using a combination of supported liquid membrane extraction and UV detection in a flow system.** Analyst, Lund, v. 124, n. 9, 1999, p. 1367–1372.

OLIVEIRA, R. M.; MANGINI, L. F. K. **A Química de Transformação do Couro e quais seus Impactos Ambientais.** Disponível em: <<https://repositorio.uninter.com/bitstream/handle/1/950/RENATO%20MACHADO%20DE%20OLIVEIRA.pdf?sequence=1>>.

OSHA. **Hexavalent Chromium.** U.S. Department of Labor. 2009. 28 p.

PASSOS, E. A. **Aula 2: Espectrofotometria de Absorção Molecular na Região do UV-Vis.** Disponível em: <[https://cesad.ufs.br/ORBI/public/uploadCatalago/18025316022012Metodos\\_Instrumentais\\_de\\_Analise\\_-\\_Aula\\_02.pdf](https://cesad.ufs.br/ORBI/public/uploadCatalago/18025316022012Metodos_Instrumentais_de_Analise_-_Aula_02.pdf)>. Acesso em: 04 mar. 2023.

PAVIA, D. L.; LAMPMAN, G. M.; KRIZ, G.S.; VYVYAN, J. R. **Introdução à Espectroscopia.** 4. ed. Washington: Cengage Learning, 2010, 700 p.

SILVA, C. S.; PEDROZO, M. F. M. **Ecotoxicologia do cromo e seus compostos**. Salvador: Série Cadernos de Referência Ambiental, v. 5., 2001, 100 p.

SILVA, A. C. C. **Desenvolvimento de metodologia para quantificação de cromo (VI) empregando análise de imagens digitais**. 2018. 52 f. Trabalho de conclusão de curso (Bacharelado) – Universidade Federal Fluminense, Niterói, 2018.

SILVA, R. S. **Estudo da Reação de Epoxidação do Óleo de Tungue em Reatores Sonoquímicos**. 2019. 69 f. Dissertação (Mestrado em Engenharia Química) – Universidade Federal do Ceará, Fortaleza, 2019.

SKOOG, D. A.; WEST, D. M.; HOLLER, F. J. **Fundamentos de química analítica**. 8. ed. São Paulo: Cengage Learning, 2009, 999 p.

SUSLICK, K. S. **The Chemical Effects of Ultrasound**. Scientific American, v. 80, 1989, p. 80-86.

SUSLICK, K. S. **Mechanochemistry and sonochemistry: concluding remarks**. Faraday Discussions, v. 170, 2014, p. 411-422.

SUSLICK, K. S. **Sonochemistry**. Science, v. 247, 1990, p. 1439-1445.

SUSLICK, K. S. *et al.* **Acoustic Cavitation and its Chemical Consequences**. The Royal Society, Illinois, v. 357, 1999, p. 335-353.

TOMITÃO, I. M. **Síntese Rápida para Obtenção de Óxido de Estanho Utilizando Agitação Mecânica Associada a Sonoquímica**. 2018. 39 f. Dissertação (Mestrado em Química) – Universidade Federal da Grande Dourados, Dourados, 2018.

WOOD, R. J.; LEE, J. BUSSEMAKER, M. J. **A Parametric Review of Sonochemistry: Control and Augmentation of Sonochemical Activity in Aqueous Solutions**. Ultrasonics Sonochemistry, Surrey, v. 38, 2017, p. 351-370.



WHO. **Environmental Health Criteria 61: Chromium**. Geneva, 1988. 241 p.

WHO. **Chapter 6.4: Chromium**. 2. ed. Copenhagen: Air Quality Guidelines, 2000.