



1150060818



IQ
T/UNICAMP V673d

Universidade Estadual de Campinas

Instituto de Química

**A DETERMINAÇÃO VOLTAMÉTRICA MULTISEQUENCIAL DE Pb,
Cd, Zn E Cu EM AMOSTRAS COMPLEXAS USANDO UM SISTEMA
TERNÁRIO HOMOGÊNEO DE SOLVENTES**

Raimundo Kennedy Vieira

Tese de Doutorado

Orientador: Prof. Dr. João Carlos de Andrade

Agosto 2004

UNIDADE	I Q
Nº CHAMADA	I/UNICAMP
	V673d
V	EX
TOMBO BC	60818
PROC.	16-117-04
C	<input type="checkbox"/>
D	<input checked="" type="checkbox"/>
PREÇO	11,00
DATA	18-11-04
Nº CPD	

Bib Id 332450

**FICHA CATALOGRÁFICA ELABORADA PELA
BIBLIOTECA DO INSTITUTO DE QUÍMICA
UNICAMP**

V673d Vieira, Raimundo Kennedy.
A determinação voltamétrica multisequencial de Pb, Cd, Zn e Cu em amostras complexas usando um sistema ternário homogêneo de solventes / Raimundo Kennedy Vieira. -- Campinas, SP: [s.n], 2004.

Orientador: João Carlos de Andrade

Tese (Doutorado) – Universidade
Estadual de Campinas, Instituto de Química.

1. ASV. 2. Voltametria. 3. Split-plot. 4. Sistema ternário. I. de Andrade, João Carlos.
II. Universidade Estadual de Campinas. III. Título.

Aos meus filhos,

Neto, Talitha, Aline e Alice,

À minha Mãe, Maria Vieira

À minha esposa, Adalena

e meus irmãos, Fátima, Welton e Paz,

*“Só faremos melhor aquilo que repetidamente insistirmos em melhorar.
A busca da excelência não deve ser um objetivo e sim um hábito”.*

Aristóteles (384-322 a.C.)

Agradecimentos

Ao Prof. João Carlos de Andrade, pela orientação, apoio nos momentos mais difíceis e principalmente pela sincera amizade e estímulo.

Aos Profs. Drs. Mônica Ferreira de Abreu, Roy Edward Bruns, Marco Aurélio Zezzi Arruda, pela amizade, apoio e estímulo.

À Profa. Dra. Suzanne Rath, pelo apoio.

À Universidade Federal do Amazonas, pela oportunidade cedida nestes quatro anos de afastamento.

Ao Instituto de Química da Unicamp, pela oportunidade e apoio cedido.

À Capes pelo apoio financeiro.

Aos colegas de laboratório e do Instituto: Alex, Aline Coscione, Aline Lopes, André, Araceli, Audrey, Cláudio, César, Eduardo, Gyda, João Alexandre, Joselito, Janaina, Jeruza, Marcel, Madson, Sidney e Terezinha.

Aos funcionários, Iveraldo (desenho); Marcelo e Bispo (eletrônica), André, Bel, Rodrigo e Celi (Pós).

Um agradecimento póstumo ao amigo Prof. Aleixo.

Curriculum Vitae Resumido

Raimundo Kennedy Vieira

Nascimento: 15.02.71

Naturalidade: Manacapuru - AM

Nacionalidade: Brasileiro

Formação Acadêmica

Doutorado

Curso: Doutorado em Química

Área: Química Analítica

Instituição: Universidade Estadual de Campinas - UNICAMP

Cidade: Campinas- SP

Início: 09/2000

Mestrado

Curso: Mestrado em Eng. Química

Instituição: Universidade Federal de São Carlos

Cidade: São Carlos- SP

Período: 1994-1996

Título da Dissertação: **Estudo do Cascadeamento de Sólidos em Tambor Rotativo.**

Data de Defesa: 13 de agosto de 1996

Graduação

Curso: Engenharia Química

Instituição: Universidade Federal Rural do Rio de Janeiro

Cidade: Itaguaí - RJ

Período: 1991-1994

Data da Colação de Grau: 26 de fevereiro de 1994.

Bolsas Recebidas

1) Bolsa de Iniciação Científica - CNPq/UFRRJ/UFES

Área: Síntese Orgânica

Período: 90-91

2) Bolsa de Iniciação Científica - CNPq/UFRRJ/UFES

Área: Síntese Orgânica

Período: 92-93

3) Bolsa de Monitoria

Área: Disciplina de Química Orgânica

Período: Junho-Dezembro/90

Produção Científica

Artigos completos publicados em periódicos

BORTOLOTI, J. A.; ANDRADE, J. C.; BRUNS, R.; VIEIRA, R. K.; Split-plot Design Optimization for Trace Determination of Lead by Anodic Stripping Voltammetry in a Homogeneous Ternary Solvent System. **Chemometric And Intelligent Laboratory Systems.** , v.70, p.113 - 121, 2004.

Trabalhos completos publicados em anais de evento

VIEIRA, R. K.; SILVEIRA, A. M.; Estudo do cascadeamento de sólidos em tambor rotativo In: XXIV Congresso Brasileiro de Sistemas Particulados, 1996, Uberlândia - MG. **Anais do XXIV Congresso Brasileiro de Sistemas Particulados.** Uberlândia: Universidade Federal de Uberlândia, 1997. v.2. p.755 - 759

VIEIRA, R. K.; SILVEIRA, A. M.; Solid Transport In Rotary Dryer In: Inter-American Drying Conference, 1997, Itu-Sp. **Proc. Of Iadc.** Campinas-Sp: Grafica Paes, 1997. V.A. P.247 - 254

VIEIRA, R. K.; SILVEIRA, A. M.; Nota Sobre Cascadeamento de Sólidos em Secador Tipo Tambor Rotativo In: Anais do XXIII - **Congresso Brasileiro de Sistemas Particulados,** 1995

Trabalhos resumidos publicados em anais de evento

VIEIRA, R. K.; ANDRADE, J. C.; ALEIXO, L. M.; BRUNS, R. E.; BORTOLOTI, J. A.; Otimização multivariada da determinação de Pb (II) por ASV em um sistema ternário homogêneo de solventes In: **XLIII Congresso Brasileiro de Química,** 2003, Ouro Preto - MG. **Livro de Resumos (Resumo E02-026).** , 2003.

BORTOLOTI, J. A.; BRUNS, R. E.; ANDRADE, J. C.; VIEIRA, R. K.; Determinação de Chumbo por ASV em Sistema Ternário Homogêneo de solventes pelo método Split-Plot In: 12o **Encontro Nacional de Química Analítica,** 2003, SÃO LUIZ - MA.

Experiência Profissional

UNIVERSIDADE DO AMAZONAS

Cargo: Professor Substituto

Período: Set/96 - Jan/97

Disciplina: Físico-Química

UNIVERSIDADE DO AMAZONAS

Cargo: Professor Efetivo

Período: Set/99 até a presente data

Departamento: Hidráulica e Saneamento /FT

Resumo

A voltametria de redissolução anódica (ASV), tem sido muito utilizada na determinação de chumbo, cádmio, zinco e cobre em amostras simples, pelo seu baixo custo, simplicidade e baixos limites de detecção. Entretanto, a aplicação da ASV em amostras complexas é vista com restrições, devido aos efeitos de matriz, a sobreposição de picos e a formação de compostos intermetálicos. Na tentativa de minimizar esses problemas e ampliar a aplicabilidade da ASV como técnica analítica, resolveu-se verificar o comportamento voltamétrico desses elementos em um sistema ternário homogêneo de solventes (HTSS) composto por N,N-DMF/etanol/água. Os estudos foram iniciados focalizando-se o chumbo que sob o ponto de vista analítico, é o elemento mais problemático dos quatro. Assim, foram realizados estudos envolvendo um planejamento “split-plot” para encontrar as melhores condições voltamétricas para a determinação desse metal em um HTSS. Com base nesses resultados, fez-se a otimização do sistema químico para a determinação simultânea de Pb, Cd, Zn e Cu. A composição otimizada do sistema de solventes para esse fim foi: 36% m/m DMF, 52% m/m etanol e 12% m/m água (a fase aquosa inclui as alíquotas das amostras ou padrões e o eletrólito de suporte composto por ácido clorídrico $8,8 \times 10^{-3} \text{ mol L}^{-1}$ e acetato de amônio $0,1 \text{ mol L}^{-1}$). Notou-se que esse procedimento reduz a ação dos interferentes mais comuns, se comparado com métodos descritos na literatura. As equações das curvas analíticas observadas foram: $I_{\text{Pb}} = 3,06 + 0,81 [\text{Pb}]$, ($r^2 = 0,999$); $I_{\text{Cd}} = 7,41 + 0,97 [\text{Cd}]$, ($r^2 = 0,999$); $I_{\text{Zn}} = 1,43 + 1,13 [\text{Zn}]$, ($r^2 = 0,999$); $I_{\text{Cu}} = 0,97 + 0,89 [\text{Cu}]$, ($r^2 = 0,999$); em todos os casos I é corrente em nA e $[\]$ é a concentração da espécie em $\mu\text{g L}^{-1}$, com faixas lineares de 2 a $7000 \mu\text{g L}^{-1}$ para Pb, de 2 a $7000 \mu\text{g L}^{-1}$ para Cd, de 2 a $3000 \mu\text{g L}^{-1}$ para Zn e de 2 a $4000 \mu\text{g L}^{-1}$ para Cu. Os limites de detecção estimados (LD) foram: $0,50 \mu\text{g L}^{-1}$ para Zn, $0,99 \mu\text{g L}^{-1}$ para Cd, $0,77 \mu\text{g L}^{-1}$ para o Pb e $0,99 \mu\text{g L}^{-1}$ para o Cu. O LD e Faixa Linear foram melhores que aqueles obtidos por outros autores em soluções aquosas otimizadas. A determinação seqüencial multicomponente de Pb, Cd, Zn e Cu foi aplicada com sucesso a amostras biológicas e ambientais, certificadas e de referência.

Abstract

Anodic Stripping Voltammetry (ASV) has been much used for the determination of lead, cadmium, zinc and copper in simple samples due to its low cost, simplicity and low detection limits. However, the application of the ASV in complex samples has been considered to have restrictions, due to the matrix effect, the overlapping of peaks and the formation of intermetallic compounds. In an attempt to minimize these problems and to extend the applicability of the ASV as an analytical technique, it was decided to verify the voltammetric behavior of these elements in a homogeneous ternary solvent system (HTSS) composed of N,N-DMF/ethanol/water. The studies initially focused on lead that, from an analytical point of view, is the element most problematical of the four. Thus, a split-plot design was carried out to find the best voltammetric conditions for the determination of this metal in HTSS. Based on these results, the chemical system was optimized for the simultaneous determination of Pb, Cd, Zn and Cu. The optimized composition of the solvent system was: 36% m/m DMF, 52% m/m ethanol and 12% m/m water (the aqueous phase includes the aliquot of the sample or the standards and the supporting electrolyte composed of $8.8 \cdot 10^{-3} \text{ mol L}^{-1}$ hydrochloric acid and 0.1 mol L^{-1} ammonium acetate). This procedure reduces the action of the most common interfering compounds when compared with methods described in the literature. The equations of the observed calibration plots are: $I_{\text{Pb}} = 3.06 + 0.81 [\text{Pb}]$, ($r^2 = 0.999$); $I_{\text{Cd}} = 7.41 + 0.97 [\text{Cd}]$, ($r^2 = 0.999$); $I_{\text{Zn}} = 1.43 + 1.13 [\text{Zn}]$, ($r^2 = 0.999$); $I_{\text{Cu}} = 0.97 + 0.89 [\text{Cu}]$, ($r^2 = 0.999$); in all cases, I is the value for current in nA and $[\]$ is the concentration of the species in $\mu\text{g L}^{-1}$, with linear ranges of 2 to 7000 $\mu\text{g L}^{-1}$ for Pb, of 2 to 7000 $\mu\text{g L}^{-1}$ for Cd, of 2 to 3000 $\mu\text{g L}^{-1}$ for the 4000 Zn and of 2 a 4000 $\mu\text{g L}^{-1}$ for Cu. The estimated detection limits are: 0.50 $\mu\text{g L}^{-1}$ for Zn, 0.99 $\mu\text{g L}^{-1}$ for Cd, 0.77 $\mu\text{g L}^{-1}$ for Pb and 0.99 $\mu\text{g L}^{-1}$ for Cu. The detection limits and linear ranges are better than those reported by other authors in optimized aqueous solutions. The multicomponent sequential determination of Pb, Cd, Zn and Cu was successfully applied to certified and reference biological and environmental samples.

SÍMBOLOS E ABREVIACÕES

Símbolos gregos

α : Parâmetros das equações dos modelos para variáveis de processo.

β : Parâmetros das variáveis de mistura e dos modelos combinados (variáveis de mistura x variáveis de processo).

$\epsilon_{(ijk)}$ = Erro “sub-plot”, obtido pela interações replicata x “sub-plot” e replicata x “main-plot” x “sub-plot”.

μ : Média global para um modelo “split-plot”.

σ^2 : variância.

Símbolos e abreviações.

AAS : Espectrometria de absorção atômica, do inglês, *Atomic Absorption Spectroscopy*.

AdSV : Voltametria Adsorptiva de Redissolução, do inglês, *Adsorptive Stripping Voltammetry*.

ANOVA : Um acrônimo de *Analysis of Variance*. (Análise de Variância).

ASV : Voltametria de Redissolução Anódica, do inglês, *Anodic Stripping Voltammetry*)

DC : Corrente contínua ,do inglês, *Direct Current*.

DME : Eletrodo gotejante de mercúrio, do inglês, *Dropping Mercury Electrode*.

DMF : Abreviatura de N,N-dimetilformamida.

$E_{1/2}$: Potencial de meia-onda.

E_d : Potencial de acumulação.

E_p : Potencial de pico.

FAAS : absorção atômica por atomização por chama, do inglês, *Flame Atomic Absorption Spectroscopy*.

HMDE : Eletrodo de mercúrio de gota pendente, do inglês *Hanging Mercury Drop Electrode*)

HTSS : Sistema ternário homogêneo de solventes, do inglês, *Homogeneous Ternary Solvent System*.

I : Corrente.

I_s : Corrente amostral de pulso.

I_p : Corrente de pico.

ICP-OES : Espectrometria de emissão óptica por plasma acoplado indutivamente, do inglês, *Inductively Coupled Plasma – Optical Emission Spectrometry*.

m : grau do polinômio para o modelo a ser ajustado.

M : representativo de um metal qualquer.

M^{n+} : representativo de cátion metálico qualquer.

“main-plot”: unidade principal do “split-plot”

MQ : média quadrática.

MT : Metalotioneína, proteína de baixa massa molar

ne^- : número de elétrons.

p : número de componentes na mistura.

q : número de parâmetros das variáveis de processo.

R_i : Efeito da i -ésima replicata, $i=1,2,\dots, r$ ($r = 2$ se forma feitas duplicatas);

RDS : Estimativa do desvio padrão relativo, do inglês, *Relative Standard Deviation*.

RX : Interação replicata – “sub-plot”.

RZ : Interação replicata – “main-plot”.

SCE : Eletrodo de calomelano saturado, do inglês, *Saturated Calomel Electrode*.

“split-plot”: planejamento experimental onde se executam experimentos com restrição à aleatorização.

SQ : somas quadráticas.

“sub-plot”: sub-unidades do split-plot.

SWV : Voltametria de onda quadrática, do inglês, *Square Wave Voltammetry*.

t : tempo.

t_a : Tempo de acumulação.

t_e : Tempo de equilíbrio.

x : Relativo as variáveis de mistura.

X_k = efeito do k-ésimo tratamento “sub-plot”; $k=1,2,\dots,m$ (m é o número total de misturas)

XLOF : Falta de ajuste relativo ao “sub-plot”.

XREG : Regressão relativa ao “sub-plot”.

z : Relativo as variáveis de processo .

Z_j : Efeito do j-ésimo tratamento “main-plot”; $j=1,2,\dots,p$ ($p = 4$ para um fatorial 2^2 , 8 para um fatorial 2^3 etc.).

ZX_{jk} = interação de tratamentos “main-plot” por “sub-plot”.

ZLOF : Falta de ajuste relativo ao “main-plot”.

ZREG : Regressão relativa ao “main-plot”.

Y: Variável resposta.

Y_{ijkl} : é a observação na subunidade k que pertence a j-ésimo unidade inteira (“main”) na i-ésima replicata.

$\hat{}$: Indica que o termo é estimado.

ÍNDICE

Capa	I
Ficha Catalográfica	II
Banca Examinadora	III
Dedicatória	V
Pensamento	VII
Agradecimento	IX
Curriculum vitae resumido	XI
Resumo	XV
Abstract	XVII
Símbolos e abreviações	XIX
Índice	XXV
Índice de figuras	XXXI
Índice de tabelas	XXXVII
Capítulo I – Introdução	1
1.1 Apresentação	1
1.2 Objetivo	3
Capítulo II – Considerações gerais	4
2.1 Aspectos importantes de Pb, Cd, Zn e Cu	4
2.1.1 Chumbo	4
2.1.2 Cádmio	5
2.1.3 Zinco	6
2.1.4 Cobre	7
2.2 Um breve resumo sobre voltametria	9
2.3 A voltametria de Redissolução Anódica	14
2.4 Sistemas não-aquosos em voltametria	19
Capítulo III – Planejamento Experimental	21
3.1 Planejamento “split-plot”	25
3.2 Análise de variância	27
3.3 Gráficos de probabilidade acumulada	29
3.4 Testando as hipóteses relativas aos modelos combinados	32

Capítulo IV – Parte Experimental	34
4.1 Soluções e reagentes	34
4.2 Instrumental	34
4.3 Limpeza do material	35
4.4 O Planejamento experimental “split-plot”	36
4.4.1 O Planejamento das variáveis de processo	36
4.4.2 O Planejamento das variáveis de mistura	38
4.4.3 Procedimento de execução do planejamento “split-plot”	40
4.5 Otimização do HTSS para Pb, Cd, Zn e Cu	40
4.6 Estudo de seletividade do método	42
4.6.1 Estudo da seletividade para o chumbo	43
4.6.2 Estudo da seletividade para Pb, Cd, Zn e Cu	44
4.6.3 Estudo da influência do alumínio	44
4.7 Estudo sobre os potenciais de acumulação	45
4.8 Procedimento para obtenção das figuras de mérito	45
4.9 Abertura de Amostras	46
4.9 Extração	47
Capítulo V – Resultados e Discussões	49
5.1 Resultados do planejamento “split-plot”	49
5.2 Otimização do Método	60
5.3 Otimização dos parâmetros voltamétricos	64
5.4 Resultados do estudo de seletividade para o chumbo	65
5.5 Resultados do estudo da seletividade para Pb, Cd, Zn E Cu	70
5.6 Resultados do estudo da influência do alumínio	70
5.7 Resultados do Estudo sobre os potenciais de acumulação	72
5.8 Comparando a seletividade do HTSS com outros métodos	74
5.9 Figuras de mérito	75
5.10 O tratamento de dados em voltametria	79
5.10.1 Método da curva analítica	79
5.10.2 Método da adição de analito	80
5.11 Determinação de Pb e Cd, sem extração	82
5.12 Determinação de Pb, Cd, Zn E Cu, com extração	84

Capítulo V – Conclusões	87
Capítulo VI – Referências Bibliográficas	89
Apêndice	97

ÍNDICE DE FIGURAS

FIGURA 1 - Polarogramas de corrente contínua típicos: (A) Polarograma de uma solução $0,5 \times 10^{-3} \text{ mol L}^{-1}$ de Cd^{2+} em $\text{HCl } 1,0 \text{ mol L}^{-1}$. (B) Polarograma de uma solução de $\text{HCl } 1,0 \text{ mol L}^{-1}$.	11
FIGURA 2 - Variação da corrente faradaica e corrente capacitiva com o tempo, em técnicas de pulso	12
FIGURA 3 - Representação esquemática da aplicação de potencial em função do tempo em polarografia de pulso diferencial. A corrente é amostrada em S_1 e S_2 e a diferença entre elas é que é registrada: $I = IS_2 - IS_1$	13
FIGURA 4 - Etapas envolvidas na voltametria de redissolução anódica. (a) programação E vs t mostrando o tempo de acumulação (t_a); e potenciais de acumulação E_a , para Cd^{2+} e Pb^{2+} , tempo de equilíbrio (t_e). Etapa de redissolução. (b) Voltamograma obtido na etapa da redissolução para Cd^{2+} e Pb^{2+}	15
FIGURA 5 - Diagrama esquemático de uma célula para voltametria de redissolução	18
FIGURA 6 - Ilustração dos “Simplex-Lattice”(a) e “Simplex-Centroid” (b)	23
FIGURA 7 - O planejamento “split-plot”. a) as variáveis de processo representadas pelas arestas do cubo e em seus vértices as combinações de misturas.; b) as composições de mistura representadas pelas arestas do triângulo e em seus vértices as variáveis de processo (54).	25
FIGURA 8 - Esquematização dos pontos do planejamento de mistura, referente à parcela “sub-plot” do planejamento “split-plot”, conforme apresentados na Tabela 3	39
FIGURA 9 - Esquematização dos pontos do planejamento de misturas apresentados na Tabela 4	42
FIGURA 10 - Gráfico dos valores preditos pela Equação 25 contra os valores experimentais	51

- FIGURA 11 - Gráfico de probabilidade normal dos valores de teste t, listados na Tabela 9 54
- FIGURA 12 – Curvas de nível para os modelos cúbicos especiais expressos pelas Equações 26, 27, 28 e 29, que representam as respostas de corrente de pico estimada para as composições de solventes para cada arranjo “main-plot” das condições de processo. 58
- FIGURA 13 - Curvas de nível para os modelos quadrático expressos pelas Equações 34, 35, 36 e 37. As figuras menores são a expansão das regiões de interesse para: a) Pb, b) Cd, c) Zn e d) Cu. As medidas foram realizadas pela composição: 36 % m/m de DMF; 52 %m/m de Etanol e 12 % m/m de fase aquosa 63
- FIGURA 14 - Curva de corrente de pico contra tempo de acumulação para o chumbo, chumbo na concentração de $25 \mu\text{g L}^{-1}$, realizada no polarógrafo da Metrohm 65
- FIGURA 15 - Gráfico de probabilidade normal de todos os efeitos, enfatizando aqueles que são significativos 68
- FIGURA 16 - Voltamograma de ASV para os íons que apresentaram sinal voltamétrico no estudo de interferentes: $25 \mu\text{g L}^{-1}$ de Zn^{2+} , Cd^{2+} , Pb^{2+} , Cu^{2+} e Ni^{2+} 69
- FIGURA 17 – Fator de interferência do alumínio no chumbo contra a concentração de alumínio em $\mu\text{g L}^{-1}$, com uma concentração fixa de chumbo de $4 \mu\text{g L}^{-1}$ 71
- FIGURA 18 - Voltamograma de ASV para Zn Cd, Pb e Cu (seqüência de formação de pico no sentido anódico) em concentrações iguais de $50 \mu\text{g L}^{-1}$; tendo-se variação do potencial de acumulação (E_a) de -0,1 V e -0,4 V, com velocidade de varredura de 16mV s^{-1} , obtida no polarógrafo Metrohm. 72
- FIGURA 19 - Voltamograma de ASV para Zn Cd, Pb e Cu (seqüência de formação de pico no sentido anódico) em concentrações iguais de $50 \mu\text{g L}^{-1}$; tendo-se variação do potencial de acumulação (E_a) de -0,5 V e -0,8 V, com velocidade de

varredura de 16 mV s ⁻¹ , obtida em um polarógrafo da Metrohm	72
FIGURA 20 - Voltamograma de ASV para Zn Cd, Pb e Cu (seqüência de formação de pico no sentido anódico) em concentrações iguais de 50 µg L ⁻¹ ; tendo-se variação do potencial de acumulação (E _a) de 1,0 V e 1,2 V, com velocidade de varredura de 16 mV s ⁻¹ , obtida em um polarógrafo da Metrohm.	73
FIGURA 21 - Curva analítica da corrente de pico contra concentração de Zn ²⁺ para o HTSS	76
FIGURA 22 - Curva analítica da corrente de pico contra concentração de Cd ²⁺ , para o HTSS	76
FIGURA 23 - Curva analítica da corrente de pico contra concentração de Pb ²⁺ , para o HTSS.	77
FIGURA 24 - Curva da analítica corrente de pico contra concentração de Cu ²⁺ , para o HTSS	77
FIGURA 25 - Esquematização de processo de obtenção de curva de adição de padrão utilizada em voltametria (65).	82
Figura 26 - Voltamograma de ASV da análise da amostra certificada “pepperbush”; com potencial de acumulação (E _a) de -1,2 V, velocidade de varredura de 16 mV s ⁻¹ , obtida no polarógrafo Radiometer.	86

ÍNDICE DE TABELAS

TABELA 1. Análise de Variância para o “split-plot”	28
TABELA 2. Delineamento experimental planejamento fatorial 2^2 para as variáveis de processo, referente à parcela “main-plot” do planejamento “split-plot”	38
TABELA 3. Delineamento experimental do planejamento de mistura, referente à parcela “sub-plot” do planejamento “split-plot” em proporções massa/massa.	39
TABELA 4. Delineamento experimental do planejamento de misturas para otimização da determinação simultânea de Pb, Cd, Zn e Cu; em proporção massa/massa	41
TABELA 5. Delineamento experimental planejamento fatorial 2^5 , do estudo multivariado da seletividade do chumbo	44
TABELA 6. Programa de aquecimento usado para abertura de amostras	47
TABELA 7. Determinações experimentais do chumbo para os 40 experimentos em duplicata do planejamento “split-plot” para duas variáveis de processo e três variáveis de mistura. As respostas analíticas são dadas em valores das correntes absoluta dos picos, em nA.	50
TABELA 8. ANOVA do “split-plot” para o modelo combinado bilinear-cúbico especial	52
TABELA 9. Parâmetros, erros padrão estimados e razões de teste t para o modelo combinado biner-cúbico especial, calculados pelas Equações 18, 21 e 22, respectivamente.	55
TABELA 10. Respostas do Planejamento de Misturas sobre o ponto ótimo de Pb^{2+} , Cd^{2+} , Zn^{2+} e Cu^{2+}	61
TABELA 11. ANOVA para o modelo quadrático para o chumbo, Equação 34	60
TABELA 12. ANOVA para o modelo quadrático para o cádmio, Equação 35	62
TABELA 13. ANOVA para o modelo quadrático para o zinco, Equação 36	62
TABELA 14. ANOVA para o modelo quadrático para o cobre, Equação 37	62

TABELA 15. Resultados dos experimentos com interferentes utilizando o método unifatorial, para o chumbo	66
TABELA 16. Resultados do planejamento fatorial completo 2^5	67
TABELA 17. Métodos utilizados para minimizar interferentes em amostras reais	76
TABELA 18. Potenciais de picos de Zn, Cd, Pb e Ni, no HTSS versus potenciais de picos para solução aquosa	74
TABELA 19. Limites de detecção, faixas lineares e % e estimativas de esvio padrão relativo de métodos citados na literatura usando ASV em HMDE em determinação simultânea; e do método proposto, (MP), utilizando um tempo de acumulação de 5 min, amplitude de pulso de -50 mV, velocidade de rotação de 500 min^{-1} e velocidade de varredura de 16 mV s^{-1} .	78
TABELA 20. Resultados das amostras analisadas para determinação de Pb^{2+} e Cd^{2+} pelo método proposto	83
TABELA 21. Resultados das amostras analisadas para Pb^{2+} , Cd^{2+} , Zn^{2+} , e Cu^{2+} pelo método proposto, com extração.	85

I INTRODUÇÃO

1.1 Apresentação

O grande avanço tecnológico obtido nas últimas décadas, na indústria, na biologia e agricultura, dentre outros, ocasionou a necessidade de um maior controle de qualidade de produtos e serviços. Neste contexto, o estudo da toxidez de alguns elementos mostrou a importância do problema analítico para concentrações reduzidas ($\leq \mu\text{g L}^{-1}$). Além da exigência em se determinar metais tóxicos em baixas concentrações, a rapidez e abrangência destas informações é de extrema relevância.

A importância da determinação simultânea de elementos como Pb, Cd, Zn e Cu em solos, plantas, fertilizantes, medicamentos, alimentos e bebidas, dentre outras amostras, é de grande interesse, seja pela alta toxicidade dos íons Pb^{2+} e Cd^{2+} , devido às propriedades tóxicas e cumulativas destas espécies químicas; seja pela importância de Cu^{2+} e Zn^{2+} no crescimento e desenvolvimento de muitos organismos vivos (1), apesar de que, quando absorvidos em excesso, também apresentam ações tóxicas.

Devido a isso, tornou-se necessária à busca pelo desenvolvimento e/ou aprimoramento de técnicas suficientemente sensíveis e rápidas que permitissem a determinação simultânea dos referidos elementos em variados tipos de amostras. Muitas técnicas foram desenvolvidas para medir estes íons de modo simultâneo em níveis de concentrações muito baixas. A Voltametria de Redissolução Anódica (ASV do inglês, *Anodic Stripping Voltammetry*) destaca-se na determinação de elementos traços como zinco, cádmio, chumbo e cobre por ser uma técnica eletroanalítica sensível, precisa, econômica e que apresenta curto tempo na realização das determinações, se comparadas às outras técnicas (2). Outra grande vantagem desta técnica consiste na possibilidade da medida ser realizada diretamente na amostra, além de tornar possível a análise de materiais coloridos ou amostras contendo partículas sólidas dispersas (3,4).

I INTRODUÇÃO

No entanto, apesar dessas vantagens, a aplicação da ASV em amostras complexas é vista com restrições, devido aos efeitos de matriz, a sobreposição de picos e a formação de compostos intermetálicos. Estas dificuldades poderiam ser contornadas pela melhoria da seletividade do método e aplicação do método da curva analítica. Uma possível forma de melhorar a seletividade da técnica seria a aplicação de ASV em meio não-aquoso. Nesses casos, provavelmente ocorrerá uma diminuição da mobilidade dos íons solvatados, devido à diminuição do coeficiente de difusão (5). Essa dificuldade de deslocamento dos íons, prejudicará a detectabilidade do método, mas também afetará o transporte dos interferentes, minimizando seu efeito. A escolha de uma composição de mistura que privilegie os íons de interesse, irá torná-lo menos sensível a ação de interferentes. A eventual piora da detectabilidade causada pela troca de meio poderia ser compensada pelo aumento do tempo de acumulação.

A mistura de solventes que devem propiciar este efeito deverá ser constituída por solventes polares, miscíveis entre si e com capacidade para dissolver o eletrólito de suporte. Como a N,N-dimetilformamida (DMF) e o etanol são solventes polares já bastante usados em sistemas não-aquosos (5,6) e, por serem bons solventes para espécies orgânicas e inorgânicas (7), escolheu-se os componentes: DMF, etanol e água. A água está presente neste sistema para dissolver o eletrólito de suporte. Este tipo de mistura é denominado de Sistema Ternário Homogêneo de Solventes (HTSS, do inglês, *Homogeneous Ternary Solvent System*) e foi desenvolvido por Andrade et al. (8), que utilizaram este sistema na determinação de Mo(VI) por Voltametria Adsorptiva de Redissolução (AdSV, do inglês, *Adsorptive Stripping Voltammetry*). O método mostrou-se extremamente sensível, no entanto bastante susceptível às mudanças no pH de mistura (como em um sistema não-aquoso a concentração dos íons H^+ não apresentam uma relação direta, com a medida realizada com um pHmetro neste tipo de soluções, resolveu-se, neste trabalho, usar o termo pH nominal ou pH da mistura para referir-se a esta medida).

A estratégia a ser aplicada na escolha da melhor composição de mistura deverá ser abrangente o suficiente para incorporar os efeitos causados, tanto pelas proporções de solventes na mistura, como pelas eventuais flutuações do pH na determinação dos íons de interesse.

1.2 Objetivos

Este trabalho tem por objetivos:

1. Otimizar as condições de determinação de chumbo em um sistema ternário homogêneo de solventes, através da utilização de um planejamento “split-plot” e das curvas de níveis obtidas a partir da modelagem dos dados.
2. Otimizar as composições de mistura de um HTSS para determinação multisequencial de chumbo, cádmio, zinco e cobre, aplicando-se para isto um planejamento de misturas “simplex-centroid”.
3. Estudar a seletividade do método nas condições otimizadas, por estratégias univariada e multivariada.
4. Determinação de chumbo, cádmio, zinco e cobre em amostras biológicas e agroambientais.

II CONSIDERAÇÕES GERAIS

2.1 Aspectos importantes de Pb, Cd, Zn e Cu

Inicia-se este capítulo com um breve resumo sobre a ocorrência, principais usos, toxicidade e análise química dos elementos Pb, Cd, Zn e Cu.

2.1.1 Chumbo

O chumbo é geralmente encontrado na natureza na forma do mineral galena, no qual ocorre como sulfeto (PbS). É também encontrado em cerussita (carbonato), anglesita (sulfato) e também em muitos outros minérios ligado a outros metais (9). A abundância de chumbo na crosta terrestre é de $0,014 \text{ g kg}^{-1}$ (10). O principal uso do chumbo é na fabricação de baterias. Outros usos incluem soldas, rolamentos, blindagem de cabo, munição, tubulação e pigmentos (11). Apesar de suas várias aplicações, os riscos ambientais representados pela manipulação deste elemento tornaram-se especialmente importante em áreas altamente urbanizadas (12).

Uma vez presente no meio ambiente, o chumbo pode ser transportado no ecossistema, pelo ar, pela precipitação de produtos da atmosfera em solos e águas e incorporados por plantas e animais. O chumbo absorvido é acumulado nos ossos, dentes, tecidos moles (principalmente fígado e rins) e sangue. As duas principais rotas de exposição humana ao chumbo advêm da atmosfera e da alimentação, cuja intensidade e duração podem provocar problemas neurológicos, renais, imunológicos, reprodutores e cancerígenos (9).

Os níveis de tolerância para os principais efeitos sobre a saúde estão relacionados ao sangue. A predominância dos efeitos depende da intensidade e

duração da exposição. Em adultos para níveis acima de $80 \mu\text{g dL}^{-1}$ o chumbo pode ocasionar cólicas gastrintestinais, encefalopatia aguada e anemia. Em crianças a tolerância é menor e afeta principalmente o sistema nervoso central, a níveis até inferiores a $30 \mu\text{g dL}^{-1}$, podendo afetar o comportamento cognitivo e comportamental no sangue. A excreção de chumbo é realizada pela urina e fezes e, em menor quantidade, pelo suor, cabelos, unhas e leite. A principal forma de promover a desintoxicação através da remoção do chumbo do corpo usando agentes quelantes. (9)

São várias as técnicas para determinar chumbo em amostras biológicas, descritos na literatura. A espectrometria de absorção atômica (AAS, do inglês, *Atomic Absorption Spectroscopy*) é a técnica mais popular para determinação em rotina. As técnicas de espectrometria de absorção atômica por atomização eletrotérmica (ETAAS, do inglês, *Electrothermal Atomic Absorption Spectroscopy*), devido a sua boa detectabilidade e gasto mínimo de amostras, são as mais usadas. Outras técnicas como espectrometria de emissão óptica por plasma acoplado indutivamente (ICP-OES do inglês, *Inductively Coupled Plasma –Optical Emission Spectrometry*) e absorção atômica por atomização por chama (FAAS, do inglês, *Flame Atomic Absorption Spectroscopy*) são limitadas pelo alto limite de detecção para este elemento. A ASV é a técnica mais sensível para a determinação de Pb em amostras biológicas (9). Em geral, as amostras podem ser abertas usando digestão via seca ou via úmida. Geralmente as técnicas de digestão via úmida são mais aceitas para análises de traços (9).

2.1.2 Cádmio

A concentração de cádmio na crosta terrestre é de $1,1 \times 10^{-4} \text{ g kg}^{-1}$ (10). Devido a este grau de abundância, sua concentração distribuída no ambiente é relativamente baixa, exceto onde é concentrada devido a atividade humana. O cádmio não é

considerado um poluente natural, e em água sua concentração normalmente é menor que $1 \mu\text{g L}^{-1}$. Em solos geralmente contém menos que 1mg kg^{-1} . Os principais compostos de cádmio estão na forma de acetatos, cloretos, nitratos, óxidos, sulfatos e sulfeto. O cádmio ocorre como um constituinte de minérios de chumbo e zinco, que pode ser extraído como co-produto desses metais. É usado na eletrodeposição de metal para evitar a corrosão, como pigmento, como constituinte de baterias alcalinas e aplicado na fabricação do PVC como estabilizante térmico (13,14).

O metabolismo e distribuição de cádmio no tecido têm sido extensivamente estudados tanto em seres humanos quanto em animais. Os principais órgãos em que o cádmio se acumula, em humanos, são os rins, fígado, pulmão e pâncreas. Cádmio é tóxico e cumulativo, seu tempo de meia vida biológica é de 30 anos. A sua toxicidade pode ser manifestada por uma variedade de síndromes e efeitos, incluindo disfunção renal, hipertensão, lesão hepática e danos aos pulmões após exposição por inalação, dentre outros.

A espectrometria de absorção atômica é a técnica mais utilizada na determinação de cádmio em vários meios. O Na é o maior interferente para esta técnica. Outras técnicas analíticas incluem métodos eletroquímicos, ASV, polarografia de pulso e ativação por nêutrons, dentre outros (9).

2.1.3 Zinco

O zinco é o 24º elemento mais abundante na crosta terrestre, sua concentração média é da ordem de $0,07 \text{g kg}^{-1}$. Os principais minérios de zinco são encontrados como sulfetos esfarelita, wurtzita, smithsonita (ZnCO_3) e hemimorfita ($\text{Zn}_4\text{Si}_2\text{O}_7$). O zinco é empregado, sobretudo, como revestimento protetor de metais para prevenção de corrosão e também na produção de tintas, vidros, pneus, entre outros. Este elemento é considerado essencial no metabolismo de plantas, animais e seres

humanos, sendo que a sua deficiência é reconhecida como causa de muitas doenças, as quais se manifestam comumente na forma de imaturidade sexual, diminuição da fertilidade, alteração no desenvolvimento de ossos, anemia e problemas associados com a integridade da pele. Existem apenas duas situações que podem fazer com que zinco se transforme num elemento tóxico. O primeiro quando excede a concentração de 1000 mg L^{-1} e o segundo quando inalado na forma de óxido. Em ambos os casos verifica-se sintomas como diarreia, vômitos e febre, quadro de fácil recuperação que não provoca danos permanentes, isto porque o zinco não apresenta efeito cumulativo. Geralmente, a maioria dos sintomas desaparece dentro de dois dias (9,15-17).

As medidas de desintoxicação são praticamente inexistentes para o zinco, devido a sua baixa toxicidade e ao metabolismo e absorção bastante regulados.

O método escolhido para análises clínicas de zinco é a AAS. A concentração de zinco no soro e na maioria dos tecidos de interesse é suficientemente alta, com isto a detectabilidade do método analítico não é um problema e a técnica FAAS é bastante popular.

2.1.4 Cobre

O cobre é vastamente distribuído na natureza como sulfetos, arsenitos, cloretos e carbonatos. A concentração de cobre na crosta terrestre é geralmente estimada em $0,05 \text{ g kg}^{-1}$. Os principais usos do cobre são a produção de fios condutores de eletricidade e de ligas latão e bronze. Soluções de cobre são usadas em vários processos industriais como eletrodeposição, produção de têxteis, e como catalisador em vários processos químicos. É utilizado na agricultura como fungicida (18).

O cobre é essencial e geralmente considerado um elemento traço, e ocasionalmente encontrado como suplemento alimentar devido à elevada quantidade que o corpo necessita deste elemento. Uma dieta simples contendo pelo menos 10 mg

é recomendada. No entanto, o consumo excessivo de alimentos contendo alto teor de cobre provoca um elevado acúmulo nos tecidos, especialmente no fígado, que apresenta uma capacidade de armazená-lo sem provocar intoxicação, capacidade essa que varia com as espécies (19,20). A administração oral de cobre acima de 15 mg causa náuseas, vômitos, diarreia e cólica intestinal. O cobre em pó, como vapor, ou “spray” causa congestão na membrana nasal. Vários danos ao pulmão por severa intoxicação tem sido atribuídos a exposição a “sprays” de sulfato de cobre (9).

Para obter significativa remoção de cobre, são usados agentes que tem a propriedade de se ligar fortemente ao cobre com o requerimento adicional de não serem tóxicos e facilmente distribuídos em varias partes do corpo.

A AAS é, freqüentemente, a mais usada para estimar o cobre em diversas amostras. Outras técnicas disponíveis incluem polarografia e ASV.

Devido à relevância toxicológica do cádmio e chumbo e das potenciais fontes de intoxicação destes metais do ambiente, da importância agrônômica de cobre e zinco e mesmo possível toxicidade, torna-se necessária à busca pelo desenvolvimento e/ou aprimoramento de técnicas suficientemente sensíveis e rápidas que permitam a determinação simultânea dos referidos elementos em variados tipos de amostras agroambientais. Técnicas de análise simultânea têm sido usadas baseadas em cromatografia (21-23), tendo sistemas de detecção com: espectrometria, ASV ou Potenciometria de Redissolução Anódica. Embora algumas técnicas cromatográficas tenham sido usadas com sucesso, elas são tediosas, caras e os passos de separação envolvidos, usualmente, consomem muito tempo (2). Além disso, estas técnicas não são convenientes para análise de rotina com grande quantidade de amostras, onde a rapidez da análise é imprescindível. Técnicas alternativas para determinação multielementar de diversos elementos têm sido bastante usadas, como espectrometria de fluorescência de raios X (24), espectrometria atômica (25) e técnicas eletroquímicas. Estas técnicas têm diversas vantagens sobre a cromatografia, como

rapidez, o tempo reduzido de tratamento de amostra e a remoção de interferentes, que são pouco requeridos em muitos casos (2).

Devido a sua capacidade de realizar análise seqüencial multielementar e possibilidade de dispor informações de todos os elementos analisados ao mesmo tempo (isto possibilita a detecção de um erro de análise em tempo real), a ASV pode oferecer uma alternativa viável para a determinação simultânea de Pb^{2+} , Cd^{2+} , Zn^{2+} e Cu^{2+} . Além disso, a ASV é uma técnica eletroanalítica sensível, precisa, econômica e é bastante utilizada na análise de íons metálicos em nível de traço em uma variedade de matrizes agroambientais (26-32). Outra grande vantagem desta técnica consiste na possibilidade da medida ser realizada diretamente na amostra, além de torna possível à análise de materiais coloridos ou amostras contendo partículas sólidas dispersas (3,4).

2.2 Um breve resumo sobre voltametria

A invenção da polarografia em 1922 pelo Professor Heyrovsky representou uma qualitativa mudança nas técnicas eletroanalíticas que neste estágio, eram restritas a potenciometria e eletrólise com corrente controlada (33). Assim, foi criada a voltametria, que compreende um grupo de métodos onde as informações qualitativas e quantitativas de uma espécie química são obtidas a partir das medidas de corrente em função de um potencial aplicado sob forma de varredura. O avanço dessas técnicas ocorreu principalmente pela introdução do eletrodo renovável de mercúrio e pela seletividade obtida pelo controle do potencial no eletrodo (34). Heyrovsky e Kuceras utilizaram um eletrodo gotejante de mercúrio, DME (do inglês, Dropping Mercury Electrode), como eletrodo de trabalho e como eletrodo de referência um eletrodo calomelano saturado. Portanto, a primeira voltametria desenvolvida e usada foi a

polarografia (35), caracterizada, dentre as técnicas voltamétrica, pela utilização de um DME como eletrodo de trabalho.

Na Polarografia de Corrente Contínua, técnica que ficou conhecida como polarografia clássica ou polarografia DC (do inglês, *Direct Current*), o potencial é aplicado à célula eletrolítica na forma de uma rampa linear que varia lentamente com o tempo. A corrente é obtida através do eletrodo DME em consequência dos processos de oxidação/redução da espécie química de interesse. A corrente é medida e registrada como função do potencial, continuamente durante o tempo de vida de cada gota, gerando um gráfico que é comumente chamado de polarograma, como mostrado na Figura 1 (36).

A Figura 1, para a determinação de Cd^{2+} , apresenta alguns conceitos importantes que serão utilizados ao longo deste estudo.

1. Corrente residual ($E > 0$): Na Figura 1, esta compreendida entre os potenciais 0 V e -0,5 V e é composta por duas componentes, uma faradaica e outra capacitiva. A faradaica é ocasionada pela oxidação ou redução das impurezas presentes no eletrólito de suporte ($HCl\ 1\ mol\ L^{-1}$), em outros reagentes utilizados e, também, devido ao oxigênio dissolvido. Essa corrente pode ser reduzida ou mesmo eliminada usando-se reagentes mais puros e removendo-se o oxigênio pela passagem de um gás inerte. A outra componente, a corrente capacitiva, surge devido a fenômenos relacionados à dupla camada elétrica. Como nessa técnica usa-se varredura de potencial, a cada etapa de potencial aplicado, o eletrodo apresentará um carregamento. Se o eletrodo é carregado positivamente esta passa a atrair ânions do eletrólito de suporte para as proximidades da gota. Caso contrário, quando é carregado negativamente (maioria dos casos), ocorre a atração dos cátions do eletrólito de suporte. Portanto, a principal componente da corrente residual, é a corrente capacitiva. Quanto maior esta corrente, menor é a detectabilidade da técnica.

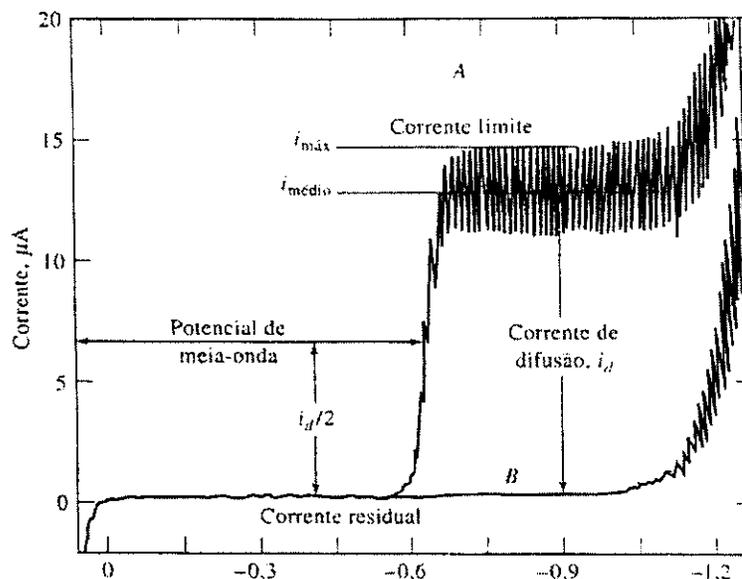


Figura 1. Polarogramas de corrente contínua típicos: (A) Polarograma de uma solução $0,5 \times 10^{-3} \text{ mol L}^{-1}$ de Cd^{2+} em $\text{HCl } 1,0 \text{ mol L}^{-1}$. (B) Polarograma de uma solução de $\text{HCl } 1,0 \text{ mol L}^{-1}$ (36).

2. Corrente Limite - esta corrente, como pode ser vista na Figura 1, ocorre no intervalo de potencial $-0,7 \text{ V} < E < -1 \text{ V}$ e é independente do potencial. Neste intervalo o Cd^{2+} é reduzido rapidamente quando chega a superfície do eletrodo.

3. Corrente de Difusão - é obtida pela diferença entre a corrente limite e corrente residual. Nesta região de aproximadamente $-0,6 \text{ V}$, o aumento da corrente ocorre em função da redução do cádmio junto à superfície do DME. A corrente depende de duas forças: a **força difusiva**, proporcional ao gradiente de concentração da(s) espécie(s) na superfície do eletrodo e uma **força elétrica**, proporcional à diferença de potencial entre a superfície do eletrodo e a solução (corrente de migração). A corrente de migração é devida à movimentação de espécies carregadas sob efeito de um campo elétrico, que pode ser minimizado pela adição de um eletrólito de suporte com concentração 100 vezes maior que a concentração do analito. A grande quantidade de íons do sal inerte, em excesso, faz com que os íons da espécie eletroativa cheguem à superfície do eletrodo apenas por difusão.

4. **Potencial de meia-onda, $E_{1/2}$** – é característico da espécie eletroativa e reflete a facilidade de redução ou oxidação de um dado eletrólito. Por isto é útil na análise qualitativa de amostras desconhecidas.

Uma das principais limitações desta técnica é a sua detectabilidade, pois não consegue determinar espécies com concentrações abaixo de 10^{-4} a 10^{-5} mol L⁻¹. Isso ocorre devido à corrente capacitiva, um dos principais componentes da corrente residual.

A pesquisa científica direcionou-se em reduzir essa corrente para que a detectabilidade da técnica pudesse ser melhorada.

O desenvolvimento de técnicas eletroanalíticas deveu-se, principalmente, à viabilização da instrumentação eletroquímica, alcançada com o avanço tecnológico resultante da evolução da informática. O interfaceamento com equipamentos eletroquímicos para o controle digital da perturbação imposta ao eletrodo de trabalho levou a uma considerável discriminação entre a corrente faradaica e a capacitiva. Deste avanço surgiram às técnicas de pulso, que foram desenvolvidas inicialmente para o eletrodo gotejante de mercúrio (DME), tendo o objetivo de sincronizar os pulsos de potencial com o crescimento da gota e reduzir a contribuição da corrente capacitiva. Depois de aplicar um pulso de potencial, a corrente capacitiva extingue-se mais rapidamente do que a faradaica (Figura 2); assim, a corrente é medida no fim do pulso.

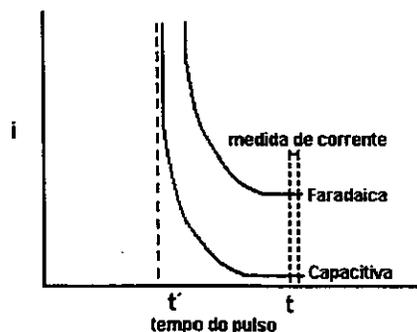


Figura 2. Variação da corrente faradaica e corrente capacitiva com o tempo, em técnicas de pulso.

Com o desenvolvimento dos eletrodos de mercúrio de gota pendente (HMDE, do inglês *Hanging Mercury Drop Electrode*) por Kemula, todos os avanços desenvolvidos para a polarografia foram introduzidos à voltametria (34).

Na **voltametria de pulso diferencial**, pulsos de igual amplitude são aplicados superpostos em uma rampa linear de potencial, a corrente é medida antes do pulso ser aplicado e no final do pulso (Figura 3).

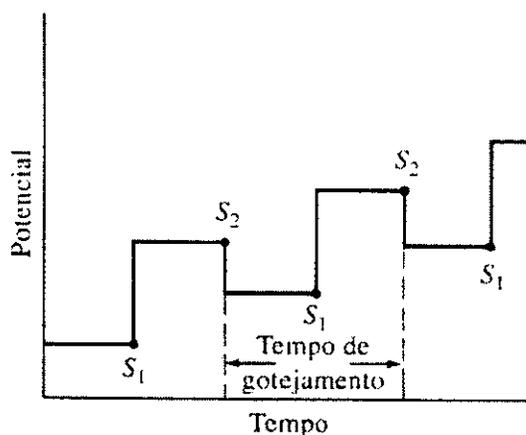


Figura 3. Representação esquemática da aplicação de potencial em função do tempo em polarografia de pulso diferencial. A corrente é amostrada em S_1 e S_2 e a diferença entre elas é que é registrada: $I = I_{S_2} - I_{S_1}$ (36).

Estas correntes são subtraídas, já que a primeira é a contribuição da corrente capacitiva e a segunda é a contribuição da corrente faradaica e, então, graficadas contra o potencial da rampa linear, gerando um voltamograma de pulso diferencial, com a forma de uma curva gaussiana (Figura 4b).

Uma outra técnica bastante rápida e sensível é a voltametria de onda quadrática SWV (do inglês, *Square Wave Voltammetry*), desenvolvida por Barker em 1953 (37). A SWV é um tipo de voltametria de pulso em que o eletrodo de trabalho, HMDE, é perturbado pela aplicação de uma programação de potenciais na forma de onda simétrica sobreposta em uma rampa de potencial com variação lenta. Devido à velocidade da medida, é possível e prático aumentar a precisão das análises fazendo

uma média dos sinais obtidos em várias varreduras voltamétricas. Os limites de detecção de onda quadrática relatados são da ordem de 10^{-7} a 10^{-8} mol L⁻¹ (36).

2.3 A voltametria de Redissolução Anódica

Na química analítica atual é necessário obter determinações com limites abaixo de 10^{-8} mol L⁻¹, o que não se consegue apenas utilizando-se medidas voltamétricas usuais. Quando a concentração atinge valores da ordem de 10^{-8} mol L⁻¹ cria-se um problema semelhante àquele que havia na polarografia clássica: a corrente faradaica torna-se muito baixa e fica encoberta pela corrente de fundo, chegando-se ao limite da técnica. Esse tipo de limitação levou ao desenvolvimento das técnicas de redissolução, em a espécie química de interesse é primeiramente acumulada na superfície do eletrodo, por eletrolise ou adsorção, e posteriormente redissolvida a solução através da aplicação de um potencial sob forma de varredura. Assim, pode-se analisar soluções com concentrações tão baixas quanto 10^{-11} mol L⁻¹ (34). A vantagem é que a etapa de pré-concentração pode ser feita no próprio eletrodo de trabalho, sendo, sob este aspecto, bastante fácil e conveniente a sua utilização. A pré-concentração é muita usada na ASV para determinação de metais pesados, uma vez que vários deles podem ter seus íons eletrodepositados no microeletrodo de mercúrio.

A ASV pode ser esquematizada em basicamente três etapas, como pode exemplificado na Figura 4.

A **etapa de eletrodeposição** é feita aplicando-se um potencial de acumulação (E_d) (Figura 4a) durante um determinado tempo e sob agitação constante, para concentrar a espécie química na forma reduzida na superfície do eletrodo, a partir de um volume relativamente grande da solução sobre um volume muito menor do microeletrodo. O tempo de acumulação (t_a) é escolhido em função da espécie eletroativa, ficando geralmente entre 30 s e 5 min. Tempos muito longos devem ser

II CONSIDERAÇÕES GERAIS

evitados, pois podem produzir sinais fora da região de proporcionalidade entre a corrente e a concentração.

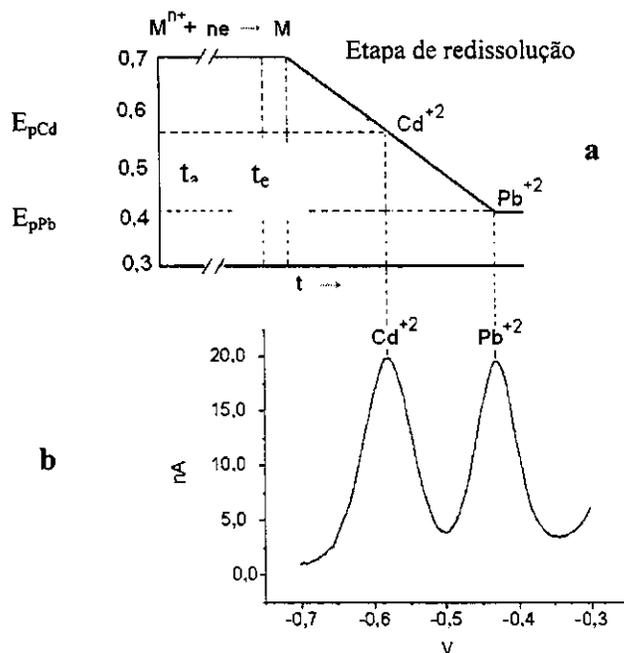
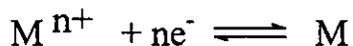


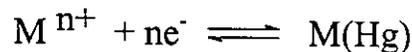
Figura 4 - Etapas envolvidas na voltametria de redissolução anódica. (a) Programação E vs t mostrando o tempo de acumulação (t_a); potenciais de acumulação E_d , para Cd^{2+} e Pb^{2+} , tempo de equilíbrio (t_e) e etapa de redissolução. (b) Voltamograma obtido na etapa da redissolução para Cd^{2+} e Pb^{2+} .

A agitação faz com que o transporte de massa por convecção mantenha a concentração da espécie eletroativa, junto à superfície do eletrodo, igual à do resto da solução, permitindo um depósito maior do metal em um dado tempo de acumulação do que se o processo de transporte de massa fosse difusional. Essa agitação deve ser feita à velocidade constante e controlada com precisão, para que os dados obtidos sejam repetitivos.

Nesta etapa, ocorrerá a redução do íon metálico e conseqüentemente a sua acumulação sobre a superfície do eletrodo. Para eletrodos sólidos, o eletrodo deve ser de espécie distinta dos íons estudados:



No caso de eletrodos de mercúrio:



A possibilidade de formação de a malgama entre o metal sendo reduzido e a gota de mercúrio depende principalmente da solubilidade do metal no mercúrio.

Deixa-se a solução em repouso para o sistema entrar em equilíbrio (**tempo de equilíbrio**, t_r). No eletrodo de gota de mercúrio esse equilíbrio é atingido após a concentração do metal uniformizar-se pela sua difusão na gota. Isto requer cerca de 10 a 20 segundos.

Na **etapa de varredura** procede-se à varredura de potencial para valores mais positivos (anódicos), e a espécie química é redissolvida retornando à solução, devido à sua reoxidação. Ao ocorrer a reoxidação do analito a corrente variará e haverá a formação de um pico no potencial de pico, E_p . A corrente de pico obtida (I_p) é proporcional à concentração do analito. O metal ou metais depositados se redissolverão quando os seus potenciais de pico forem atingidos (Figura 4b):



As técnicas voltamétricas mais comuns escolhidas nesta etapa são a de corrente contínua (DC), chamada aqui de voltametria de varredura linear (LSV, do inglês, "*Linear Stripping Voltammetry*"), a voltametria de pulso diferencial e a voltametria de onda quadrada. A voltametria de varredura linear é mais rápida do que a de pulso diferencial (pode-se usar varreduras de até 1 V s^{-1}) mas, por não discriminar a corrente capacitiva, não é adequada para concentrações abaixo de $20 - 30 \mu\text{g L}^{-1}$. Abaixo de $20 \mu\text{g L}^{-1}$ pode-se usar a técnica de pulso diferencial, que é mais sensível por discriminar a corrente capacitiva. Se a voltametria de onda quadrada for disponível, ela pode ser usada, resultando em varreduras rápidas com boa detectabilidade.

A ASV, apesar de ser uma técnica muito sensível e conveniente para a análise de traços, é praticamente restrita a metais que apresentam solubilidade no mercúrio, sendo aplicável a cerca de 30 elementos. Pode também ser aplicada a alguns compostos iônicos e a algumas substâncias orgânicas, que formam compostos pouco solúveis com o mercúrio e ficam depositados junto à superfície do eletrodo (34).

As medidas de ASV são realizadas em um célula eletroquímica geralmente feita de vidro, quartzo ou teflon, com volume de 10 a 200 mL (34). As células são compostas por três eletrodos (trabalho, referência e auxiliar), um agitador (magnético ou mecânico) e um sistema de purga, como pode ser visualizado na Figura 5.

O **eletrodo de trabalho** é o eletrodo em que a reação de interesse ocorre. Esses eletrodos podem ser feitos de ouro, carbono ou platina, usados para determinar espécies em uma faixa potencial não coberta pelo eletrodo de mercúrio. No entanto, os eletrodos mais usados são os HMDE, e os eletrodos de filme de mercúrio (MFE, do inglês, *mercury film electrode*). A atuação do eletrodo de mercúrio é marcadamente na região catódica, em potenciais que podem variar de +0,3 V a -2,3 V versus o eletrodo de calomelano saturado (SCE, do inglês, *Saturated Calomel Electrode*). Dependendo do meio utilizado, esta faixa é limitada pela região de oxidação e redução do mercúrio. Os eletrodos de mercúrio são mais vantajosos na determinação de metais, pois muito deles formam amálgamas, produzindo sinais mais reprodutíveis do que os depósitos metálicos formados na superfície de eletrodos sólidos.

Os eletrodos estacionários de gota de mercúrio são usados para concentrações acima de $1 \mu\text{g L}^{-1}$ e os de filme de mercúrio para concentrações abaixo de $1 \mu\text{g L}^{-1}$. O eletrodo de filme de mercúrio é mais sensível que o de gota, pois ele tem um volume bem menor, mas para concentrações acima de $1 \mu\text{g L}^{-1}$ ele pode formar compostos intermetálicos, o que produz interferências nas determinações.

Mais recentemente têm sido desenvolvidos novos tipos de eletrodos de trabalho para serem usados em voltametria, tais como os eletrodos quimicamente modificados

e os ultra-microeletrodos. Embora em boa parte ainda estejam em estágio de pesquisa, apresentam um grande potencial para ampliar o campo de utilização da técnica voltamétrica (35).

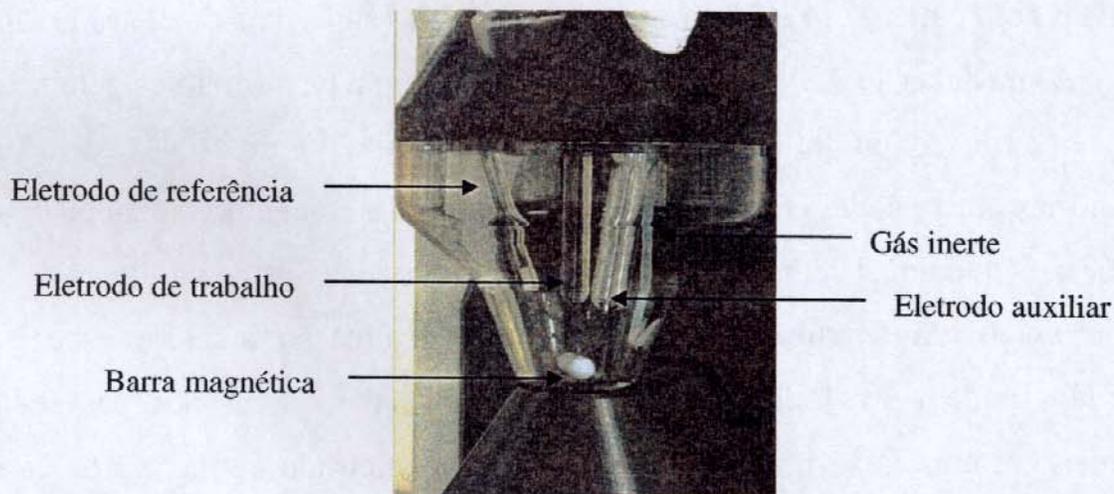


Figura 5. Foto de uma célula para voltametria de redissolução.

O **eletrodo de referência** também é conhecido como eletrodo não polarizado ou não polarizável. Este eletrodo, cujo potencial é constante, deve ser usado como padrão da referência contra os potenciais dos outros eletrodos que podem ser medidos na célula voltamétrica. Este eletrodo deve apresentar um potencial estável e não deve apresentar sinal voltamétrico na faixa de potencial estudado. Os eletrodos de Ag/AgCl e calomelano são geralmente escolhidos para referência (34,38).

Os **eletrodos auxiliares** são utilizados para manter o seu potencial constante durante as medidas. É constituído por material condutor e quimicamente inerte com uma razoável área superficial. Os mais empregados são a platina e o grafite (38).

O **eletrólito de suporte**, que tem por função minimizar o efeito de migração causada pelo campo elétrico, deve ser um sal inorgânico, um ácido mineral, ou uma base. Sistemas tamponantes como citrato-ácido cítrico ou acetado-ácido acético são usados como eletrólito de suporte quando o controle de pH se faz necessário. O

eletrólito de suporte ideal deveria promover picos bem definidos e separados para as espécies estudadas, facilitando as suas determinações simultâneas. A concentração do eletrólito de suporte é usualmente de $0,1 \text{ mol L}^{-1}$ (34).

2.4 Sistemas não-aquosos em voltametria

Cada vez mais, misturas de solventes aquosos-orgânicos e de solventes não aquosos tem sido usados para estudo de processos eletroquímicos e na realização de determinações eletroanalíticas (39). A aplicação de sistemas não-aquosos em voltametria apresenta uma vasta abrangência. Os usos mais comuns de solventes não-aquosos em voltametria são: 1) No estudo do transporte de íons na interface água/solvente orgânico, em sistemas bifásicos (40); 2) No estudo do comportamento voltamétrico de íons (41,42), em meio não-aquoso; 3) Na determinação de compostos orgânicos (43); 4) em misturas binárias quando tem um agente complexante não solúvel em água, como é o caso da grande maioria das determinações feitas por Voltametria Adsorção de Redissolução (8).

Dentre os solventes mais utilizados tem-se N,N-dimetilformamida, que há muito tempo vem sendo utilizada como solvente não aquoso em estudos eletroanalíticos (44), assim como o etanol, que é bastante usado como solvente não aquoso em eletroquímica (5). Esses solventes são bastante usados (6,45) por serem bons solventes para espécies orgânicas e inorgânicas.

O uso de sistemas não-aquosos, geralmente, se restringe a misturas binárias. Com respeito a misturas ternárias, um trabalho pioneiro foi apresentado por Andrade et al. (8), que desenvolveram um HTSS composto por DMF/etanol/água para determinação de Mo(VI) por AdSV. O método mostrou-se extremamente sensível, no entanto bastante susceptível a mudanças no pH de mistura (pH nominal).

A escolha da melhor composição de mistura para um HTSS na determinação seqüencial multicomponente de Pb, Cd, Zn e Cu, através de um estudo físico-químico, exigiria um estudo específico sobre as propriedades físico-químicas de cada uma das possíveis composições de mistura, o que inviabilizaria a busca por uma composição ótima para a determinação desses quatro elementos. Para tornar esta tarefa exeqüível esse estudo poderia ser feito de modo planejado e aplicando-se todas as ferramentas estatísticas disponíveis. Assim, a escolha da melhor composição de mistura exigiria um planejamento experimental contendo, além das componentes de mistura (DMF, etanol e água), a inclusão de outras duas variáveis: a concentração de ácido e concentração do eletrólito de suporte, que seriam os principais responsáveis pelo pH nominal e fariam parte da fase aquosa no HTSS.

III PLANEJAMENTO EXPERIMENTAL

Existem duas formas de abordar as situações em há um grande conjunto de variáveis para ser estudado. Pode-se utilizar um planejamento univariado ou multivariado na otimização do sistema. No planejamento univariado, cada fator é otimizado separadamente. Os experimentos são feitos mantendo-se todas as variáveis constantes e variando-se somente o valor desta variável. Após isto os níveis dos outros fatores são variados da mesma maneira, um de cada vez, até que o melhor resultado seja obtido. Este procedimento nem sempre funciona porque o valor otimizado de um fator depende pode depender dos valores dos outros fatores (46,47).

Já os planejamentos multivariados têm maior aplicabilidade, menor custo e maior precisão(46,48,49). Além disto, as interações entre fatores somente podem ser descobertos usando-se estratégias multivariadas.

Em geral existem dois tipos de variáveis ou fatores para serem otimizados. São elas variáveis de mistura e variáveis de processo. Variáveis de **mistura** são fatores cujas propriedades dependem da proporção de seus componentes e não de suas concentrações, como usualmente acontece em química analítica. A quantidade de cada componente do sistema deve ser tratada como uma variável (variável de mistura), que não é independente das demais, pois a soma de suas proporções deve ser de um, o que, em termos matemáticos, pode ser descrito como mostra a Equação (1) (50):

$$0 \leq x_i \leq 1, \quad \sum_{i=1}^q x_i = 1 \quad (1)$$

onde q é o número de componentes da mistura e x_i proporção do i -ésimo componente. Neste caso, como as variáveis não são independentes, o espaço experimental (“simplex”), terá dimensão de uma unidade a menos do que o número de componentes q usados na formulação, ou seja, igual a $(q - 1)$. Esta restrição é consequência da Equação (1).

O propósito geral de um experimento com misturas é tornar possível, por meio de superfícies de resposta, a estimativa das propriedades de um sistema multicomponente, a partir de um número limitado de observações. Essas observações são obtidas de combinações pré-selecionadas dos componentes na tentativa de determinar quais delas otimizam a resposta.

O planejamento experimental é o início de qualquer estudo estatístico, ou pelo menos deveria ser. Para que um modelo possa representar um conjunto de variáveis, deve-se realizar um conjunto de experimentos abrangendo toda a área de interesse.

Evidentemente a maneira como o delineamento experimental é disposto irá depender do conhecimento químico sobre as propriedades e características dos componentes da mistura. Pode ocorrer, é claro, que o primeiro objetivo do planejamento seja exatamente o conhecimento sobre comportamento das blendas. Neste caso o mais recomendável é aplicar um planejamento no qual os pontos estão posicionados uniformemente sobre o “simplex”. Este tipo de planejamento foi desenvolvido por Scheffé (51) e é denominado por “Simplex-Lattice”. Consiste de um arranjo simétrico de pontos que são referidos como $\{q, m\}$, onde q é o número de componentes na mistura e m é o grau do polinômio a ser ajustado. As proporções assumidas por cada componente dão um número de ponto igual a $m + 1$ simetricamente espaçados de 0 a 1. Então todas as possíveis combinações dos componentes podem ser consideradas, utilizando-se as proporções da Equação (2) para cada componente (52). Para um sistema com 3 componentes ($q = 3$), a figura geométrica para todas as possíveis misturas é um triângulo equilátero. Suponha que cada componente possa assumir os valores 0, $1/3$, $2/3$ e 1, onde $m = 3$, sendo $i = 1, 2$ e 3, na Equação (2).

$$x_i = 0, \frac{1}{m}, \frac{2}{m}, \dots, 1 \quad (2)$$

Desta forma calcula-se o “Simplex-Lattice”, que consiste de um arranjo de dez pontos nos vértices, lados e centro do triângulo (Figura 6a).

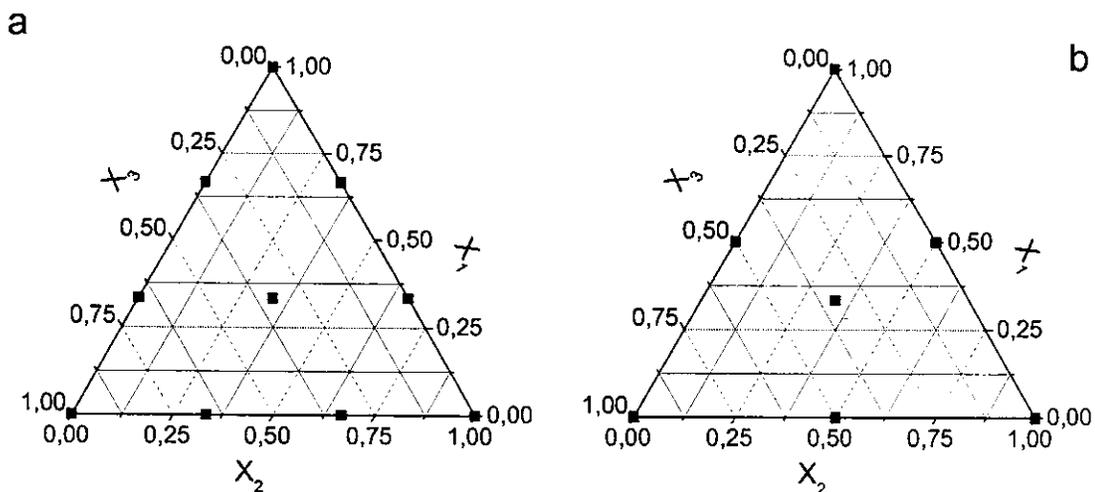


Figura 6 - Ilustração dos “Simplex-Lattice”(a) e “Simplex-Centroid” (b).

O total de ensaios no “Simplex-Lattice” é definido pelo número de componentes q e pelo grau do polinômio m .

Um outro delineamento experimental, denominado “Simplex-Centroid” (Figura 6b), envolve observações consistindo de todos os subconjuntos dos q componentes, mas somente nas misturas onde esses componentes aparecem em iguais proporções, e são utilizadas um total de $(2^q - 1)$ observações.

Os planejamentos de misturas devem ser desenvolvidos de modo a possibilitar o teste do maior número de modelos possíveis com o máximo de complexidade e mínimo de ensaios. Assim, quando se decide fazer um planejamento deve-se ter em mente a maior ordem do polinômio que poderá se ajustado pelos dados a serem obtidos. Uma vez realizado o experimento, há a necessidade de ser correlacionar os resultados obtidos a um modelo matemático de modo a tornar possível a previsão do comportamento do sistema como um todo.

A caracterização e o modelamento das propriedades físicas e químicas dos sistemas de misturas é um procedimento inerentemente multivariado, no qual as restrições experimentais impostas tornam necessário adaptar os métodos do planejamento fatorial e da análise de superfícies de resposta aos problemas específicos destes sistemas (52).

Os modelos mais usados para modelar misturas podem ser:

$$\text{Linear: } \hat{y} = \beta_1 x_1 + \beta_2 x_2 + \beta_3 x_3 \quad (3)$$

$$\text{Quadrático: } \hat{y} = \beta_1 x_1 + \beta_2 x_2 + \beta_3 x_3 + \beta_{12} x_1 x_2 + \beta_{13} x_1 x_3 + \beta_{23} x_2 x_3 \quad (4)$$

Cúbico especial:

$$\hat{y} = \beta_1 x_1 + \beta_2 x_2 + \beta_3 x_3 + \beta_{12} x_1 x_2 + \beta_{13} x_1 x_3 + \beta_{23} x_2 x_3 + \beta_{123} x_1 x_2 x_3 \quad (5)$$

Variáveis de **processo** são fatores que não fazem parte da mistura, mas seus níveis quando variados, podem afetar as propriedades da mistura, são independentes e podem variar sem restrições (50), como pH e a concentração do eletrólito de suporte.

O planejamento fatorial é o mais básico usado em otimização multivariada e permite a determinação de efeitos principais mais efeitos de interação entre as variáveis do processo.

Os modelos mais usados para duas variáveis de processo, são:

$$\text{Linear: } \hat{y} = \alpha_0 + \alpha_1 z_1 + \alpha_2 z_2 \quad (6)$$

$$\text{Bilinear: } \hat{y} = \alpha_0 + \alpha_1 z_1 + \alpha_2 z_2 + \alpha_{12} z_1 z_2 \quad (7)$$

onde: α ; são os parâmetros do modelo (os efeitos) e z ; são as variáveis de processo.

As aplicações multivariadas que otimizam somente os valores de variáveis (fatores) de processos ou somente os valores de variáveis de misturas estão ficando relativamente comuns em laboratórios de química e engenharia química. Mas, estudos ajustando os dois tipos de fatores simultaneamente são bastante raros, especialmente em estudos químicos. Em química, aparentemente, a única aplicação de

planejamentos “split-plot” encontrada na literatura é a otimização de um procedimento catalítico para a determinação de Cr(VI) (53).

Se existirem efeitos de interação entre variáveis de processo e as variáveis de mistura, as condições de otimização dificilmente serão descobertas usando procedimentos restritos a um tipo de variável. Por isto, métodos gerais tratando os dois tipos de variáveis são importantes e os planejamentos experimentais envolvendo ensaios em que todas as variáveis do processo e de mistura ajustados simultaneamente são necessários para achar as condições otimizadas para sistemas complexos (54).

3.1 Planejamento “split-plot”

No planejamento “split-plot”, ao contrário do que acontece em planejamentos convencionais, nos quais normalmente todos os experimentos são realizados de forma aleatória, os experimentos encontram-se naturalmente agrupados em blocos, os “sub-plots”, como mostrado na Figura 6.

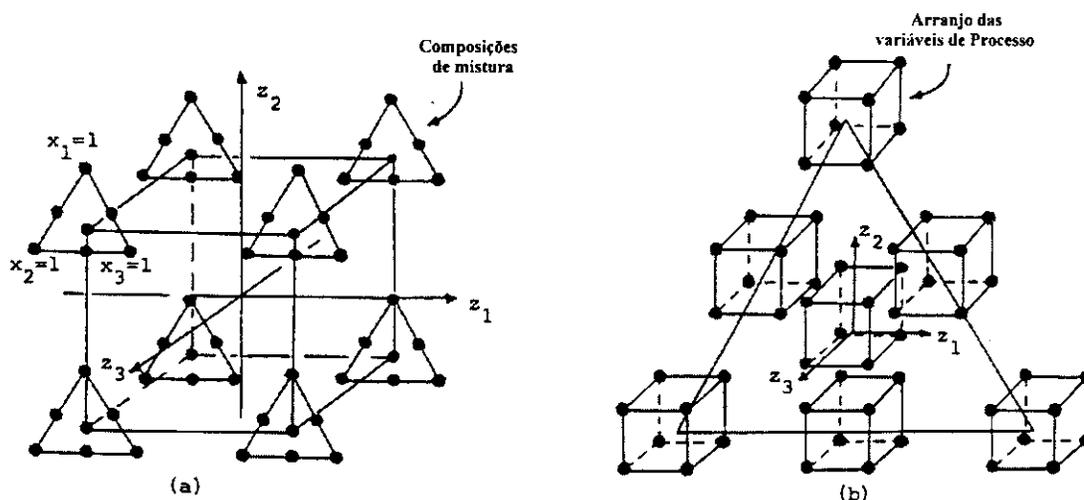


Figura 7. O planejamento “split-plot”. a) as variáveis de processo representadas pelas arestas do cubo e em seus vértices as combinações de misturas.; b) as composições de mistura representadas pelas arestas do triângulo e em seus vértices as variáveis de processo (54).

A existência dessa organização interna, em blocos, do planejamento “split-plot” pode ser empregada em planejamentos onde existam dificuldades operacionais. Se a mudança de nível de uma das classes de variáveis estudadas for difícil de realizar, os experimentos podem ser realizados em blocos (como variação de temperatura, por exemplo), pois os níveis de uma das classes de variáveis de interesse podem ser fixadas para a realização de todos os experimentos de cada “sub-plot” e alteradas posteriormente para a realização do próximo conjunto de experimentos. Este procedimento, conhecido como “split-plot”, pode introduzir uma grande simplificação na rotina de trabalho, reduzindo tempo e custos. No entanto, alterações no procedimento adotado para a realização dos experimentos, como a descrita anteriormente, alteram também as fontes de variação a serem consideradas no modelamento, resultando em análises estatísticas bem mais complicadas do que as encontradas em conjuntos de experimentos completamente aleatórios.

Um modelo que envolve variáveis de processo e mistura simultaneamente pode ser obtido pela multiplicação do modelo do fatorial pelo modelo de mistura. Por exemplo o modelo combinado bilinear-cúbico especial é obtido pela multiplicação das Equação (7) pela Equação (5), teremos:

$$\hat{y} = \sum_{i=1}^3 \beta_i (\alpha_0 + \alpha_1 z_1 + \alpha_2 z_2 + \alpha_{12} z_1 z_2) x_i + \sum_{i < j} \sum_{i < j} \beta_{ij} (\alpha_0 + \alpha_1 z_1 + \alpha_2 z_2 + \alpha_{12} z_1 z_2) x_i x_j + \beta_{123} (\alpha_0 + \alpha_1 z_1 + \alpha_2 z_2 + \alpha_{12} z_1 z_2) x_1 x_2 x_3 \quad (8)$$

onde os termos cruzados em x_i e z_j representam efeitos de interação entre variáveis de processo e de mistura.

3.2 Análise de variância

Os experimentos realizados de forma totalmente aleatória exigem uma ANOVA convencional, pois possuem apenas uma fonte de erro. Quando descrito no contexto do procedimento “split-plot”, o erro envolvendo a combinação de variáveis de processo é o erro “main-plot” e o erro presente entre as combinações de mistura (ou unidades “sub-plot”) é o erro “sub-plot”. Esta situação corresponde à Figura 7a. Quando os papéis das composições de misturas e variáveis de processos são trocados, como na Figura 7b, as composições de mistura são consideradas tratamentos de “main-plot” e as condições de processo são “sub-plot”. O fato é que o efeito “main-plot” é calculado pela média total das unidades. Na Figura 7a a unidade composta das medidas de um triângulo, como estas medidas não foram executadas de forma totalmente aleatória, uma vez que as condições de processo onde elas se encontram são fixadas, a variância da soma dos erros contém uma contribuição positiva que depende das correlações entre estes erros. Esta contribuição aumenta a variância do efeito “main-plot” em relação à situação em que todas as medidas são feitas aleatoriamente. Por outro lado, os efeitos “sub-plot” são calculados por diferenças e a contribuição devido à correlação entre os erros é negativa, diminuindo a variância do efeito “sub-plot” e resultando em maior precisão para estes efeitos.

Vale notar que o ganho de precisão representado pelo erro “sub-plot” ocorre justamente pelo sacrifício da precisão no erro “main-plot”.

O modelo convencional de análise de variância (54) usado aqui é

$$y_{ijkl} = \mu + R_i + Z_j + RZ_{ij} + X_k + ZX_{jk} + \varepsilon_{l(ijk)} \quad (9)$$

onde, Y_{ijk} é a observação na subunidade k que pertence a j -ésimo unidade inteira (“main”) na i -ésima replicata.

μ = média global;

R_i = efeito da i -ésima replicata, $i=1,2,\dots, r$ ($r = 2$ se forma feitas duplicatas);
 Z_j = efeito do j -ésimo tratamento “main-plot”; $j = 1,2,\dots, p$ ($p = 4$ para um fatorial 2^2 , 8 para um fatorial 2^3 etc.);
 X_k = efeito do k -ésimo tratamento “sub-plot”; $k=1,2,\dots,m$ (m é o número total de misturas);
 RZ_{ij} = efeitos de interação replicata “main-plot” , alguns autores (49,55) definem este termo como o erro “main-plot”
 ZX_{jk} = interação de tratamentos “main-plot” por “sub-plot”
 $\varepsilon_{(ijk)}$ = erro “sub-plot”, obtido pelas interações replicata x “sub-plot” e replicata x “main-plot” x “sub-plot” (54).

Os resultados obtidos para um modelo “split-plot” estão sumarizados na Tabela 1, que é conhecida por Tabela de Análise de Variância (ou simplesmente ANOVA, um acrônimo de *Analysis of Variance*). Dividindo as somas quadráticas (SQ) pelos seus respectivos números de graus de liberdade, têm-se as chamadas médias quadráticas (MQ), que são mostradas na ultima coluna da tabela. As equações relativas as SQ são apresentadas nas Equações 10 a 16.

TABELA 1. Análise de Variância para o “split-plot”.

Fonte	GL	MQ
Replicatas (R)	$(r - 1)$	$SQR/(r - 1)$
“main-plot” (Z)	$(p - 1)$	$SQZ/(p-1)$
Interação (RZ)	$(r - 1)(p - 1)$	$SQRZ/[(r - 1).(p - 1)]$
“sub-plot” (X)	$(m - 1)$	$SQX/(m-1)$
Interação ZX	$(p - 1)(m - 1)$	$SQZX/[(p - 1).(m-1)]$
ε (RX, RZX)	$P(r - 1)(m-1)$	$SQ\varepsilon/[p (r-1)(m-1)]$
Total	$(n - 1)$	$SQT/(n - 1)$

$$SQR = \left[(y_1 - \bar{y}_{...})^2 + (y_2 - \bar{y}_{...})^2 + \dots + (y_r - \bar{y}_{...})^2 \right]_{(m.p)} \quad (10)$$

$$SQZ = \left[(y_1 - \bar{y}_{...})^2 + (y_2 - \bar{y}_{...})^2 + \dots + (y_p - \bar{y}_{...})^2 \right]_{(r.m)} \quad (11)$$

$$SQRZ = \left[\sum_i^r \sum_j^p (\bar{y}_{ij} - \bar{y}_i - \bar{y}_j + \bar{y}_{...})^2 \right]_{.m} \quad (12)$$

$$SQX = \left[(y_1 - \bar{y}_{...})^2 + (y_2 - \bar{y}_{...})^2 + \dots + (y_m - \bar{y}_{...})^2 \right]_{(r.p)} \quad (13)$$

$$SQZX = \left[\sum_j^p \sum_k^m (\bar{y}_{jk} - \bar{y}_j - \bar{y}_k + \bar{y}_{...})^2 \right]_{.r} \quad (14)$$

$$SQ\epsilon = SQT - (SQR + SQZ + SQX + SQRZ + SQXZ) \quad (15)$$

$$SQT = \sum_i^r \sum_j^p \sum_k^m (\bar{y}_{ijk} - \bar{y}_{...})^2 \quad (16)$$

3.3 Gráficos de probabilidade acumulada

Uma possível técnica para distinguir efeitos significativos de ruídos nos parâmetros calculados para o modelo por meio de regressão é o gráfico de probabilidade acumulada.

Na realização de experimentos espera-se que ocorram distribuições normais para todos os resultados devido aos erros aleatórios. Assim, quando se cria um modelo matemático para descrever a região experimental de interesse, no modelo poderão surgir parâmetros que simplesmente estão associados aos erros aleatórios. Desta forma, se os erros tem uma distribuição normal, os parâmetros do modelo, cujos valores populacionais são verdadeiramente zero, devem seguir a mesma distribuição. Portanto, estes parâmetros, se lançados num gráfico em papel de

probabilidade normal, devem seguir uma reta centrada em zero. Os efeitos significativos superam a dispersão por erro aleatório e não se incluem na reta que contém os parâmetros, pois não fazem parte da mesma distribuição.

O teste t pode ser calculado a partir da relação(54):

$$t = b_k^1 / s.e. (b_k^1) \quad (17)$$

onde s.e (b_k^1) representa a estimativa do erro padrão deste parâmetro.

Como não há um método para calcular o número exato de graus de liberdade para o teste t, pode-se aplica o gráfico de probabilidade acumulada para determinar quais os efeitos significativos, conforme sugerido por Bortoloti et al (56).

No método “split-plot” existe duas distribuições de erros: a “main-plot” e a “sub-plot”. Além disto para se distinguir de forma correta os parâmetros significativos dos não-significativos os mesmos devem estar normalizados, ou seja, possuir pesos adequados. Uma estimativa da variância associada aos valores dos parâmetros do modelo pode ser dada por (54):

$$\text{Var}(Y) = U_1 U_1' \sigma_R^2 + U_2 U_2' \sigma_{RZ}^2 + I_{80} \sigma_e^2 = V \quad (18)$$

Onde as matrizes U_1 e U_2 são definidas a partir da forma geral para o modelo combinado,

$$Y = X\beta + U_1 R + U_2 RZ + \varepsilon \quad (19)$$

Onde

Y é um vetor de dimensão $N \times 1$ de observações.

X é uma matriz de dimensão $N \times p$ de constantes fixadas de classe p .

β é um vetor de dimensão p de parâmetros desconhecidos (β_k^0 e β_k^1 's)

U_1 é uma matriz de dimensão $N \times r$ de 0's e 1's.

U_2 é uma matriz de dimensão $N \times rp$ de 0's e 1's.

R é um vetor de dimensão $r \times 1$ de variáveis independentes randômicas com média zero e variância σ_R^2 .

RZ é um vetor de dimensão $rp \times 1$ de variáveis independentes randômicas com média zero e variância σ_{RZ}^2 .

ε é um vetor de dimensão $N \times 1$ de erros independentes randômicos com média zero e variância σ_e^2 .

Por exemplo, lista-se os valores de Y como na ordem listada na Tabela 7 (p.50) onde as 40 observações na replicadata 1 são seguidas pelas 40 observações na replicata 2, então se terá a matrix U_1 80×2 e a matriz U_2 80×8 em V , são,

$$U_1 = \begin{bmatrix} 1_{40} & 0 \\ 0 & 1_{40} \end{bmatrix} = 1_{40} \otimes I_2,$$

$$U_2 = \begin{bmatrix} 1_{10} & 0 & 0 & 0 & 0 & 0 & 0 & 0 \\ 0 & 1_{10} & 0 & 0 & 0 & 0 & 0 & 0 \\ & & \cdot & & & & & \\ & & & \cdot & & & & \\ & & & & \cdot & & & \\ 0 & 0 & 0 & 0 & 0 & 0 & 0 & 1_{10} \end{bmatrix} = 1_{10} \otimes I_8$$

onde 1_w é vetor coluna de ordem W , I_w é a matriz identidade de ordem W , e \otimes é um operador produto de Kronecker. As matrizes 80×80 $U_1 U_1'$ e $U_2 U_2'$ em V da Equação 18 são,

$$U_1 U_1' = J_{40} \otimes I_2, \quad U_2 U_2' = J_{10} \otimes I_8$$

onde JW é a matriz ($W \times W$) com todos os elementos iguais a um. A matriz V (80×80) é, portanto,

$$V = \{ J_{40} \otimes I_2 \} \sigma_R^2 + \{ J_{10} \otimes I_8 \} \sigma_{RZ}^2 + I_{80} \sigma_e^2 \quad (20)$$

A matriz de covariância, \hat{V} , é obtida pela substituição dos $\hat{\sigma}_R^2$, $\hat{\sigma}_{RZ}^2$ e $\hat{\sigma}_e^2$ na Equação 20.

Os coeficientes β dos modelos podem ser estimados utilizando o método dos mínimos quadrados, por meio da equação matricial,

$$\beta = (\mathbf{X}^t\mathbf{X})^{-1}\mathbf{X}^t\mathbf{Y} \quad (21)$$

As estimativas de variância e covariância da matriz dos elementos β podem ser obtidos pela substituição das estimativas de $\hat{\sigma}_R^2$, $\hat{\sigma}_{RZ}^2$ e $\hat{\sigma}_e^2$ em \mathbf{V} e computando.

$$\text{Cov}(\beta) = (\mathbf{X}^t\mathbf{X})^{-1}\mathbf{X}^t\mathbf{V}\mathbf{X}(\mathbf{X}^t\mathbf{X})^{-1} \quad (22)$$

3.4 Testando as hipóteses relativas aos modelos combinados.

A análise de um experimento “split-plot” geralmente é realizada do seguinte modo. O modelo é expresso forma convencional (Equação 9) e este produz a ANOVA. Os testes F são então realizados sobre os tratamentos “main-plot”, “sub-plot” e interação “main-plot” x “sub-plot”, para determinar que fatores significativos afetam a variável resposta. Os efeitos significativos são interpretados pela comparação entre os tratamentos “main-plot” e “sub-plot”.

Uma maneira mais segura de avaliar a qualidade do ajuste dos modelos é fazer o teste da falta de ajuste. Alguns ensaios a mais do que aqueles necessários para estimar o modelo são planejados e servirão para testar o ajuste. Estes ensaios são chamados pontos de reavaliação. Desta maneira, o número total de conjuntos experimentais n é maior do que o número de parâmetros p no modelo, de modo que a soma dos quadrados do desvio é composta da soma dos quadrados da falta de ajuste e da soma dos quadrados devido as replicatas. A soma dos quadrados devido às observações em replicatas (chamada de S. Q. Erro Puro) pode ser calculada a partir das replicatas e então subtraída da soma dos quadrados do desvio para obter a soma dos quadrados da falta de ajuste (S. Q. Falta de Ajuste).

Devido às fontes de erro serem distintas em um planejamento “split-plot”, há sempre uma dificuldade em se estabelecer quais são os graus de liberdade para se testar a falta de ajuste do modelo. Para modelos com arranjo similar aos que serão

aplicados neste trabalho, Cornell (54) desenvolveu a seguinte equação para a Falta de Ajuste:

$$F = \frac{(XLOF + ZXLOF)}{(v_{XLOF} + v_{ZXLOF})} \times \frac{1}{\text{Sub - plot - error}} \quad (23)$$

Assim, neste trabalho os modelos aplicados para simular os dados obtidos do planejamento “split-plot”, terão sua falta de ajuste testada pela Equação 23.

IV PARTE EXPERIMENTAL

4.1 Solução e reagentes

Os experimentos foram efetuados empregando-se água destilada e deionizada e reagentes de pureza analítica. As soluções foram armazenadas em recipientes de polietileno de alta densidade.

As soluções padrão de 1000 mg L⁻¹ de Zn²⁺, Cd²⁺, Pb²⁺ e Cu²⁺ foram preparadas, pela diluição de ampolas padronizadas Tritisol®Merck a 1000 mL em água. As soluções de trabalho foram preparadas de soluções estoques de acordo com a necessidade.

As soluções de Al³⁺, BO₃⁻³, Ca²⁺, Co²⁺, Cr³⁺, Cr(VI)[dicromato], Fe³⁺, K⁺, Mg²⁺, Mn²⁺, Mo(VI)[molibdato], Na⁺, Ni²⁺, P(V)[fostato] e S(VI)[sulfato], utilizadas nos estudos de interferentes, foram obtidas a partir de soluções padrões comerciais, depois das diluições apropriadas

O acetato de amônio utilizado foi da marca Nuclear e o ácido clorídrico da marca Merck.

O etanol utilizado foi bi-destilado na planta piloto deste Instituto e tratado com hidróxido de potássio para eliminar os possíveis aldeídos presentes. A DMF utilizada foi da marca Nuclear. O ácido nítrico utilizado na abertura de amostras foi da marca Merck, destilado em equipamento “sub-boiling”.

4.2 Instrumental

Nesse trabalho foram utilizados dois polarógrafos. Um polarógrafo Radiometer, no qual foram realizados o estudo de planejamento “split-plot” e determinação de algumas amostras. O segundo polarógrafo utilizado foi da Metrohm no qual os demais

ensaios foram realizados, a citar: a otimização do HTSS para os elementos chumbo, cádmio, zinco e cobre; estudo da seletividade do método; estudo dos potenciais de acumulação; e na análise de algumas amostras. A seguir são apresentadas as especificações técnicas desses dois equipamentos.

O Polarógrafo Radiometer Copenhagen modelo POL 150 é acoplado a um *stand* polarógrafo Radiometer Copenhagen modelo MDE 150, constituído por três eletrodos: o HMDE como eletrodo de trabalho; o eletrodo de Ag/AgCl, KCl_(sat) como eletrodo de referência e um fio de platina como eletrodo auxiliar. O polarógrafo é acoplado a um microcomputador, e o programa Trace Master versão X9737-2.03 foi utilizado para o registro das medidas.

O Potenciostato-galvanostato AUTOLAB® PGSTAT 30 (ECO CHEMIE – Holanda) é conectado a um stand 663 VA (Metrohm – Suíça) equipado com três eletrodos: o HMDE como eletrodo de trabalho (área: 0,52 mm²); o eletrodo de Ag/AgCl, KCl_(sat) como eletrodo de referência e um eletrodo de grafite pirolítico como eletrodo auxiliar.

Os pH foram determinados em um pHmetro Metrohm 691, com eletrodo de vidro conjugado.

4.3 Limpeza do material

Toda vidraria utilizada foi lavada com ácido nítrico concentrado, quando necessário. Esta vidraria foi, então, mergulhada em HNO₃ 10 % v/v por no mínimo 24 horas e, posteriormente, lavada com água deionizada. O tratamento com HNO₃ 10% (v/v) foi realizado para promover a descontaminação dos íons metálicos, eventualmente adsorvidos a superfície da vidraria, através da troca destes íons metálicos por íons H⁺.

Pelo mesmo motivo, antes da análise por ASV, os eletrodos, o bastão agitador (quando utilizado o polarógrafo Metrohm), a barra magnética (no polarógrafo da Radiometer) e a mangueira utilizada para borbulhar nitrogênio na solução e célula voltamétrica foram lavados com HNO₃ 10% (v/v). Sempre, após estes tratamentos as células voltamétricas foram lavadas exaustivamente com água deionizada.

Os recipientes de polietileno usados para o armazenamento das soluções de referência foram lavados de forma semelhante à utilizada para a lavagem de vidraria.

4.4 O planejamento experimental “split-plot”

Os estudos foram iniciados focalizando-se o chumbo que, sob o ponto de vista analítico, é o elemento mais problemático dos quatro. Assim, foram realizados estudos envolvendo um planejamento “split-plot” para encontrar as melhores condições voltamétricas para a determinação desse metal em um HTSS. Como a modelagem de um planejamento “split-plot” envolve a combinação de modelos de variáveis de processo com modelos de variáveis de mistura, assim também deve ocorrer com o planejamento “split-plot”, que será uma combinação de um planejamento de mistura e um planejamento envolvendo as variáveis de processo.

4.4.1 O planejamento das variáveis de processo

Devido à particularidade de se determinar Pb, Cd, Zn e Cu em um HTSS, não se tinha idéia de que tipo eletrólito de suporte poder-se-ia usar. Por isto, resolveu-se tomar como base o trabalho apresentado por Buldini et al. (26) que realizaram a determinação simultânea de Pb, Cd, Zn e Cu em um sistema aquoso, utilizando como eletrólito de suporte o acetato de amônio. Este eletrólito tem por característica o tamponamento tanto em meio ácido como em meio básico. Assim, nesse trabalho,

resolveu-se adotar as mesmas condições utilizadas por Buldini et al. (26) para fixar o nível baixo das variáveis de processo, que foram pH 6 e concentração de acetato de amônio de $0,1 \text{ mol kg}^{-1}$. Em um sistema ternário o termo pH fica prejudicado devido à dissociação do hidrogênio não ser a mesma que em fase aquosa. Além disso, o ajuste de um pH de mistura, exigiria quantidades distintas de ácido ou base para fixar um determinado pH em todas possíveis composições de mistura. Para contornar este problema, resolveu-se utilizar como variáveis de processo a concentração de acetato de amônio e concentração de ácido clorídrico.

O nível alto da concentração de acetato de amônio foi fixado em $0,3 \text{ mol kg}^{-1}$. Escolheu este nível, por ser a máxima concentração de acetato de amônio, solúvel no HTSS, quando se tem a mínima proporção de água na mistura.

Os níveis de HCl foram fixados em nível - de $8,8 \times 10^{-3} \text{ mol kg}^{-1}$ e nível + de $2,1 \times 10^{-1} \text{ mol kg}^{-1}$. Foram aplicadas essas concentrações de HCl para se obter uma ampla faixa de pH.

As duas variáveis de processo, representadas por concentrações de acetato de amônio, (variável z_1 – eletrólito de suporte) e de ácido clorídrico (variável z_2) estão inseridas no componente água (X_3), do planejamento de mistura. As concentrações destes reagentes nas soluções aquosas variam de acordo com a composição da mistura, porém as concentrações de acetato e de ácido permaneceram constantes em cada ponto do planejamento investigado.

Os níveis de variação destas variáveis são: z_1 (nível - : $0,1 \text{ mol kg}^{-1}$; nível + : $0,3 \text{ mol kg}^{-1}$) e, z_2 (nível - : $8,8 \times 10^{-3} \text{ mol kg}^{-1}$; nível + : $2,1 \times 10^{-1} \text{ mol kg}^{-1}$).

Essas variáveis, como apresentado na Tabela 2, são estudadas através de um planejamento fatorial completo 2^2 , em variáveis escalonadas, com a seguinte codificação:

$$z_1 = \frac{z_{\text{ACETATO}} - 0.2}{0.01}; z_2 = \frac{z_{\text{HCl}} - 0.1094}{0.1006}$$

TABELA 2. Delineamento experimental planejamento fatorial 2^2 para as variáveis de processo, referente à parcela “main-plot” do planejamento “split-plot”.

“main-plot”	z_1	z_2	$z_{\text{acetato}} / \text{mol kg}^{-1}$	$z_{\text{HCl}} / \text{mol kg}^{-1}$
1	-1	-1	0,1	$8,8 \times 10^{-3}$
2	+1	-1	0,3	$8,8 \times 10^{-3}$
3	-1	+1	0,1	$2,1 \times 10^{-1}$
4	+1	+1	0,3	$2,1 \times 10^{-1}$

4.4.2 O planejamento das variáveis de mistura

O planejamento de mistura do trabalho de Andrade et al. (8) aplicado a um HTSS, foi ajustado por um modelo cúbico especial que exige um número de ensaios maior que seis. Visando realizar este planejamento minimizando os gastos e o tempo de execução, resolveu-se que o planejamento de mistura teria 10 pontos.

O planejamento mistura foi realizado, então, envolvendo os componentes N,N-DMF, (variável x_1), etanol, (variável x_2) e água (variável x_3). Para se obter a melhor composição de mistura para HTSS, visando a determinação de chumbo, o delineamento experimental foi elaborado de modo similar a um planejamento simplex-centróide (8), onde foram consideradas as combinações de solventes mostradas na Tabela 3.

O delineamento experimental apresentado na Tabela 3 e Figura 8 é um planejamento simplex-centróide com restrição. Esta restrição é ocasionada pela limitação da solubilidade do acetato de amônio no nível alto de concentração. Em ensaios preliminares, observou-se que, ao adicionar ao HTSS, concentrações de acetato de amônio suficientes para se obter uma concentração de $0,3 \text{ mol L}^{-1}$ no HTSS, para proporções menores que 25% m/m água, na mistura, começa a haver formação de precipitado. Por este motivo restringiu-se a concentração de água mínima no HTSS, a 25% m/m.

TABELA 3. Delineamento experimental do planejamento de mistura, referente à parcela “sub-plot” do planejamento “split-plot” em proporções massa/massa.

“sub-plot”	Frações dos solventes		
	DMF (x_1)	Etanol (x_2)	Água (x_3)
1	0,750	0	0,250
2	0	0,750	0,250
3	0,050	0	0,950
4	0,400	0	0,600
5	0	0,400	0,600
6	0,375	0,375	0,250
7	0,200	0,200	0,600
8	0,113	0,113	0,775
9	0,144	0,431	0,425
10	0,431	0,144	0,425

Na Figura 8 são projetadas as proporções massa/massa apresentadas na Tabela 3.

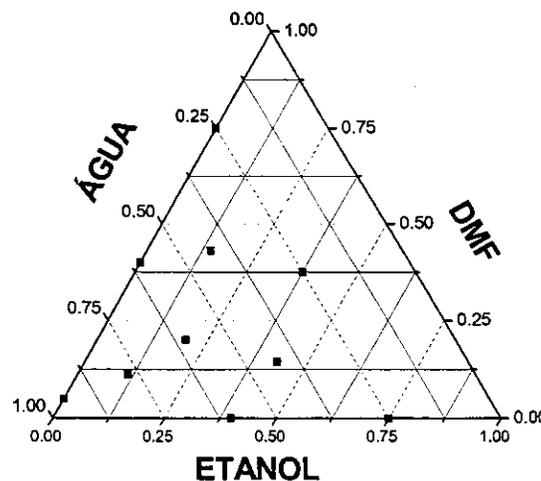


Figura 8 – Esquematização dos pontos do planejamento de mistura, referente à parcela “sub-plot” do planejamento “split-plot”, conforme apresentados na Tabela 3.

4.4.3 Procedimento de execução do planejamento “split-plot”

Na execução do planejamento “split-plot” será adotado o arranjo apresentado na Figura 7a. Este arranjo torna mais fácil a realização dos ensaios uma vez que a blocagem permitirá que todas as composições de mistura sejam feitas no mesmo dia.

No procedimento experimental os componentes das misturas foram adicionados, um-a-um, nos frascos de vidro (80 mL frascos de vidro “snap-cap”), respeitando suas proporções em massa para cada ponto do planejamento experimental. A massa final das composições foi fixada em $(20,0 \pm 0,1)$ g. Cada mistura, correspondente a um ponto do planejamento, foi lida em duplicata, sendo as duplicatas feitas em dias diferentes e de forma aleatória.

As medidas voltamétricas foram realizadas usando-se alíquotas de 10,0 mL das misturas na célula voltamétrica contendo $25 \mu\text{g L}^{-1}$ de Pb^{2+} , no polarógrafo Radiometer. O potencial foi variado entre -1200 a $+100$ mV, com tempo de acumulação de 120 s e um tempo de equilíbrio de 20 s. A amplitude de pulso foi de -50 mV e velocidade de rotação foi de 400 rpm. A velocidade de varredura foi de 5 mV s^{-1} . Todas as varreduras foram corrigidas contra o branco correspondente.

Após a realização de um bloco de variáveis de mistura, fixava-se o ponto seguinte das variáveis de processo e repetia-se todo o procedimento e, assim sucessivamente até que todo o planejamento inclusive as replicatas fosse concluído.

4.5 Otimização do HTSS para Pb, Cd, Zn e Cu

A partir dos resultados obtidos para o planejamento “split-plot”, que visava obter as melhores condições voltamétricas para determinação do chumbo, resolveu-se realizar um aprofundamento do estudo para encontrar a melhor composição de

mistura para determinação simultânea de Zn, Cu, Cd e Pb, pois o sistema permite a leitura dos sinais dessas espécies em solução.

Para a otimização do HTSS, foi realizado um planejamento de mistura dos componentes DMF, (variável x_1), etanol, (variável x_2) e água (variável x_3). A concentração do eletrólito de suporte foi mantida constante em $0,1 \text{ mol kg}^{-1}$ de acetato de amônio e $8,8 \times 10^{-3} \text{ mol kg}^{-1}$ de ácido clorídrico na mistura. As proporções de cada mistura foram feitas em % m/m, com massa total de 20,0 g. O delineamento experimental deste planejamento é apresentado na Tabela 4.

TABELA 4. Delineamento experimental do planejamento de misturas para otimização da determinação simultânea de Pb, Cd, Zn e Cu; em proporção massa/massa.

Ensaio	Frações dos solventes		
	x_1	x_2	x_3
1	0,40	0,35	0,25
2	0,50	0,40	0,10
3	0,65	0,25	0,10
4	0,35	0,55	0,10
5	0,48	0,27	0,25
6	0,32	0,43	0,25
7	0,45	0,37	0,18

Na Figura 9 são plotadas as proporções massa/massa apresentadas na Tabela 4.

O delineamento experimental apresentado pela Figura 9 seria uma continuação do planejamento apresentado na Figura 8, cobrindo a região que fora restrita naquele planejamento. Vale ressaltar que a restrição imposta àquele planejamento, pelo nível alto da concentração de acetato, aqui não faz sentido, pois a concentração de acetato é fixada em $0,1 \text{ mol kg}^{-1}$. Os limites do planejamento de mistura, apresentados na Figura 9, são devido às restrições experimentais, como: mínima quantidade de água para realizar as medidas e máximas quantidades de DMF e etanol que não interferem nas medidas.

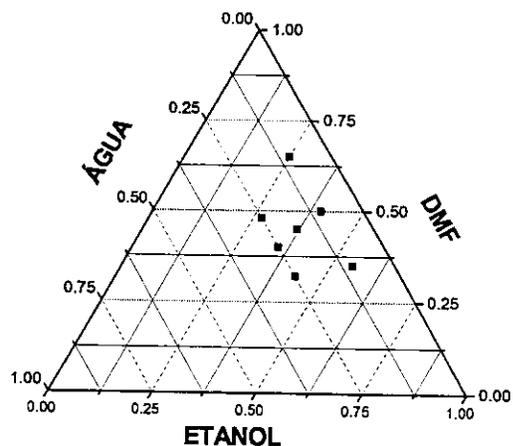


Figura 9 – Esquemática dos pontos do planejamento de misturas apresentados na Tabela 4.

Neste planejamento, o procedimento experimental foi similar ao realizado na execução do planejamento “split-plot”, exceção feita a uso do polarógrafo Metrohm. As medidas voltamétricas foram feitas usando-se alíquotas de 20,0 mL das misturas na célula voltamétrica contendo $10 \mu\text{g L}^{-1}$ de Pb^{2+} . O potencial foi variado entre -1200 a 0 mV, com tempo de purga de 300 s, tempo de acumulação de 300 s e um tempo de equilíbrio de 20 s. a amplitude de pulso foi de -50 mV e o velocidade de rotação foi de 500 rpm; A velocidade de varredura foi de 16 mV s^{-1} . Todas as varreduras foram corrigidas contra o branco correspondente.

4.6 Estudo de seletividade do método

Para as condições otimizadas do HTSS para Pb, Cd, Zn e Cu, verificou-se inicialmente a ação de interferência de íons sobre o chumbo e depois sobre os demais íons em conjunto.

Neste planejamento o procedimento experimental foi similar a o realizado no estudo de otimização do HTSS para os quatro íons de interesse. As medidas

voltamétricas foram feitas usando-se alíquotas de 20,0 mL das misturas na célula voltamétrica contendo $10 \mu\text{g L}^{-1}$ de Pb^{2+} , no polarógrafo Metrohm. O potencial foi variado entre -1200 e 0 mV, com tempo de purga de 300 s, tempo de acumulação de 300 s e um tempo de equilíbrio de 20 s. A amplitude de pulso foi de -50 mV e a velocidade de rotação foi de 500 rpm; a velocidade de varredura foi de 16 mV s^{-1} . Todas as corridas foram corrigidas contra o branco correspondente.

4.6.1 Estudo de seletividade para o chumbo

Neste estudo foram utilizadas duas estratégias de análise de seletividade, a primeira foi um estudo unifatorial, onde cada íon interferente foi estudado separadamente e, a segunda um estudo multivariado utilizando um planejamento fatorial 2^5 , em que o efeito de cada íon e as interações entre eles foram analisados.

No estudo unifatorial de interferentes, os íons Al^{3+} , BO_3^{-3} , Ca^{2+} , Cd^{2+} , Co^{2+} , Cr^{3+} , Cr(VI)[dicromato] , Cu^{2+} , Fe^{3+} , K^+ , Mg^{2+} , Mo(VI)[molibdato] , Na^+ , Ni^{2+} , P(V)[fosfato] , S(VI)[sulfato] e Zn^{2+} foram estudados um de cada vez. Foram adicionadas concentrações crescentes dos interferentes até 20 mg L^{-1} . A concentração de Pb^{2+} foi fixada em $10 \mu\text{g L}^{-1}$. Tanto o íon Pb^{2+} quanto os interferentes foram adicionados diretamente na célula voltamétrica, através de alíquotas das soluções de referência.

A partir dos resultados obtidos do estudo univariado, fez-se um planejamento fatorial completo 2^5 para verificar a influência que os íons Cr(VI)[dicromato] , Cu^{2+} , Mo(VI)[molibdato] , Al^{3+} e Mn^{2+} poderia exercer conjuntamente sobre o Pb^{2+} . Os níveis das variáveis foram estabelecidos em função do grau de interferência que estes íons causavam ao chumbo. A Tabela 5 apresenta os níveis que foram aplicados a essas variáveis. A concentração de Pb^{2+} foi mantida em $10 \mu\text{g L}^{-1}$.

TABELA 5. Delineamento experimental planejamento fatorial 2^5 , do estudo multivariado da seletividade do chumbo.

Íon Interferente	Nível ($\mu\text{g L}^{-1}$)		
	-	+	0
Cu²⁺	0	100	50
Al³⁺	0	100	50
Cr(VI)	0	100	50
Mn²⁺	0	200	100
Mo(VI)	0	300	150

4.6.2 Estudo da seletividade de Zn, Cu, Cd e Pb

No estudo da seletividade de Zn, Cu, Cd e Pb foi aplicado uma estratégia univariada para estudar, separadamente, ação interferente de cada um dos íons Al^{3+} , BO_3^{-3} , Ca^{2+} , Co^{2+} , Cr^{3+} , Cr(VI) [dicromato], Fe^{3+} , K^+ , Mg^{2+} , Mo(VI) [molibdato] (VI), Na^+ , Ni^{2+} , P(V) [fosfato] e S(VI) [sulfato]. Foram adicionadas concentrações crescentes dos interferentes até 20 g L^{-1} . As concentrações de Pb^{2+} , Cd^{2+} , Zn^{2+} e Cu^{2+} foram fixadas em $10 \mu\text{g L}^{-1}$. Tanto os interferentes quando os íons em estudo foram adicionados diretamente na célula voltamétrica, através de alíquotas das soluções de referência.

4.6.3 Estudo da influência do alumínio

Do estudo da seletividade verificou-se que Pb e Cd sofriam a ação interferente de um mesmo conjunto de íons. Dentre estes interferentes o único que apresenta, em plantas, proporções suficientes para interferir na concentração do cádmio e chumbo é o alumínio. Assim, resolveu-se estudar o comportamento da corrente de pico dos íons Pb^{2+} e Cd^{2+} com adição crescente do íon Al^{3+} na célula voltamétrica.

Neste estudo, fixou-se a concentração de Cd^{2+} e Pb^{2+} em $4 \mu\text{g L}^{-1}$ na célula voltamétrica, com 20 mL de HTSS e fizeram-se adições crescentes de concentrações

de Al^{3+} de 0 a $2500 \mu\text{g L}^{-1}$. Os valores das concentrações tanto de Pb^{2+} , quando de Al^{3+} foram baseados, nas concentrações médias que estes íons teriam na célula após a diluição decorrente do processo de abertura de amostras.

4.7 Estudo sobre os potenciais de acumulação.

Os ensaios de varredura dos potenciais dos íons estudados foram realizados para fornecer informações sobre as faixas de potenciais que poderiam ser utilizadas para determinação em conjunto ou individual de cada íons estudados.

Os estudos foram realizados aplicando-se os potenciais, antes e depois dos potenciais de pico dos íons de interesse. Fizeram-se as varreduras de potenciais a partir de seis potenciais de acumulação: -0,1; -0,3; -0,5; -0,8; -1,0 e -1,3 V. As varreduras desse estudo foram feitas em uma mesma célula com a mesma mistura, com as mesmas concentrações.

As medidas voltamétricas foram feitas usando-se alíquotas de 20,0 mL das misturas na célula voltamétrica, com tempo de purga de 300s. A velocidade de varredura foi de 16 mV s^{-1} .

4.8 Procedimento para obtenção das figuras de mérito

A curva analítica, para a determinação **faixa linear**, foi obtida adicionando-se 20 mL do HTSS a célula voltamétrica e, em seguida adicionou-se múltiplas alíquotas de $20 \mu\text{L}$ das soluções de concentrações conhecidas, contendo os quatro íons de interesse, avaliando-se uma faixa de concentração de 1 a $8.000 \mu\text{g L}^{-1}$, para cada um dos íons. Devido à extensão da faixa de concentração, foi necessário utilizar três soluções de trabalho e estudar a

linearidade do método em três faixas de concentrações distintas, a citar: de 1 a 32 $\mu\text{g L}^{-1}$; de 5 a 500 $\mu\text{g L}^{-1}$ e de 250 a 8.000 $\mu\text{g L}^{-1}$.

O HTSS no potencial de oxidação para o chumbo, apresenta uma pequena variação de corrente pico devido ao oxigênio dissolvido, isto não prejudica a determinação quantitativa do chumbo, mas inviabiliza a obtenção dos desvios do branco, pois esta variação irá depender a eficácia da desaeração e pode variar de medida a medida. Devido a isto, para estimar o limite de detecção forma utilizou-se o desvio padrão da curva analítica como desvios padrão do branco, e utilizou-se a faixa de concentração de 1 a 32 $\mu\text{g L}^{-1}$, para estimar o **limite de detecção**.

Para se obter o a **estimativa do desvio padrão relativo** (RDS, do inglês, *Relative Standard Deviation*), adicionou-se à célula voltamétrica alíquotas de solução concentrações conhecidas suficientes pra se obter a concentração de 21 $\mu\text{g L}^{-1}$ dos íons de interesse. Este procedimento foi realizado em quintuplicata e os resultados foram comparados com a curva analítica na faixa de concentração de 1 a 32 $\mu\text{g L}^{-1}$.

As **inclinações** forma obtidas a partir das mesmas curvas analíticas utilizadas para estimar os limites de detecção e % RDS.

4.9 Abertura de amostras

As amostras certificadas rim de porco (“pig kidney”), grama do centeio (“rye grass”), arbusto da pimenta (“pepperbush”) e de referência (400 mg) foram decompostas usando-se um forno microondas DGT 100 Plus com o programa de aquecimento apresentado na Tabela 6. Para a abertura utilizou-se 7 mL de ácido nítrico (sub-destilado) e 3 mL de água oxigenada (P.A.). Após a abertura, as amostras

foram aquecidas até a secura, para retirada do ácido e água oxigenada residuais. A seguir, os resíduos são redissolvidos com 15 mL do HTSS e filtrados quantitativamente. O material utilizado na mineralização e o resíduo retido no filtro foram lavados com outros 8 mL da solução do HTSS. O filtrado foi recolhido em balão volumétrico de 25,0 mL e o volume completado com solução do HTSS.

A amostra certificada de sedimento de lago (“pond sediment”) (500 mg) foi decomposta usando-se um forno microondas MDS-2000 da CEM com o seguinte programa de abertura: 10 min, 413 Pa e 100% de potência, conforme sugerido pela Agência de Proteção ambiental dos Estados Unidos (US-EPA, do inglês, United States Environmental Protection Agency) (59). Para a abertura utilizou-se 10 mL de ácido nítrico (sub-destilado).

TABELA 6. Programa de aquecimento usado para abertura de amostras.

Amostra	Passo	Potência (W)	Tempo (min)
“pig kidney” ^a	1	400	6
	2	790	3
	3	320	4
	4	0	3
	1	230	2
	2	430	3
rye grass, “pepperbush” ^e referência ^b	3	600	5
	4	850	5

^a Programa similar ao utilizado por Opydo (57).

^b Programa similar ao utilizado por Pereira (58).

4.10 Extração

Para eliminar os interferentes devido ao efeito de matriz, utilizou-se um procedimento de extração similar sugerido pela Agencia Ambiental do Japão (60).

Após a abertura de amostra ajustou-se o volume a 100,0 mL com água destilada usando-se um balão volumétrico. Transferiu-se a solução para um béquer de 200 mL e adicionou-se 20 mL de uma solução de 50% m/v de citrato de amônio. O pH da solução foi ajustado para 9,5 com a adição de hidróxido de amônio concentrado. A solução foi então transferida para um funil de separação de 250 mL.

Em seguida, adicionou-se ao balão de separação, 20 mL de uma solução de 1% m/v de dietilditiocarbamato de sódio e 20 mL de metilisobutilcetona (MIC). Agitou-se o balão vigorosamente por 2 min e deixou em repouso por 10 min. Na sequência adicionou-se a fase aquosa a um béquer de 100 mL. A fase orgânica foi armazenada em um outro béquer de 100 mL. Retornou-se a fase aquosa ao funil de separação e adicionou-se 10 mL de MIC, agitou-se a mistura por 2 min e deixou-se em repouso por mais 10 min. Descartou-se a fase aquosa e a fase orgânica foi adicionada ao béquer com a fase orgânica da separação anterior.

Esta solução foi aquecida em uma chapa de aquecimento (aproximadamente 70°) até a secura. Em seguida, adicionou-se aproximadamente 10 mL de ácido nítrico e aqueceu-se até a secura. Depois, adicionou-se novamente 10 mL de ácido nítrico e 5 mL de água oxigenada, deixou-se reagir por 2 h. Essa solução foi aquecida em uma chapa de aquecimento (aproximadamente 90° C) até a secura. Dissolve-se o resíduo com o HTSS e completa-se o volume em um balão volumétrico de 25,0 mL.

V. RESULTADOS E DISCUSSÕES

5.1 Resultados do planejamento “split-plot”

Os resultados esperados desse estudo estatístico eram encontrar a melhor condição, tanto de variável de processo quanto de variável de mistura que levasse a uma determinação do íon Pb^{2+} com maior resistência a interferentes quando comparado ao sistema aquoso. Esta expectativa era baseada na mudança de solvatação dos íons que esse sistema promoveria. Com a substituição do sistema aquoso por um sistema de solventes era esperado a diminuição da corrente migratória dos íons devido à diminuição do coeficiente de difusão, o que levaria a uma perda da detectabilidade do método. Isto porque os íons Pb^{2+} teriam maior dificuldade em chegar até a superfície do eletrodo. No entanto, esta dificuldade também afetaria aos demais íons, incluindo os interferentes. A idéia era, através deste sistema, promover uma espécie de “peneira química” em que apenas os íons de interesse teriam acesso à superfície do eletrodo de trabalho.

Um estudo físico-químico para se obter a melhor condição voltamétrica para o HTSS foi descartada pela dificuldade que se teria na realização desse estudo, pois, cada possível composição de mistura exigiria um estudo completo sobre suas propriedades físico-químicas e isto demandaria muito tempo. A estratégia adotada foi utilizar a otimização multivariada para alcançar este objetivo. A medida de corrente de pico foi escolhida como variável resposta por indicar de forma indireta a quantidade de íons que chegam à superfície do eletrodo.

Os resultados obtidos para o planejamento “split-plot” são apresentados nas Tabela 7.

TABELA 7. Determinações experimentais do chumbo para os 40 experimentos em duplicata do planejamento “split-plot” para duas variáveis de processo e três variáveis de mistura. As respostas analíticas são dadas em valores das correntes absoluta dos picos, em nA.

Número da Formulação ^a	$z_1 = -1$		$z_1 = +1$		$z_1 = -1$		$z_1 = +1$	
	$z_2 = -1$	$z_2 = +1$	$z_2 = -1$	$z_2 = +1$	$z_2 = -1$	$z_2 = +1$	$z_2 = -1$	$z_2 = +1$
	R ₁ ^b	R ₂	R ₁	R ₂	R ₁	R ₂	R ₁	R ₂
1	43	45	0	0	0	0	0	0
2	0	0	0	0	0	0	0	0
3	98	70	85	105	97	122	89	90
4	61	62	39	57	67	40	49	42
5	39	61	46	51	37	36	7	10
6	81	114	51	36	76	64	74	28
7	33	35	49	38	47	42	49	31
8	68	69	75	96	54	63	26	22
9	35	29	29	32	44	40	15	17
10	39	34	28	43	43	56	38	40

a) Número da formulação da Tabela 3, p. 39.

b) Número de replicata.

Na Tabela 7, observa-se que em algumas composições de mistura, há uma certa variação entre as replicatas. Parte desta flutuação é decorrente da mudança de temperatura e corrente elétrica da linha, que podem ocorrer de um dia para outro. Outra causa é devido à própria composição das misturas, pois como se podem observar as composições de 1 a 5 são misturas binárias que podem estar gerando instabilidade ao sinal. Outra possível causa poderia ser adição da alíquota de 10 µL da solução de concentração conhecida do analito. Sempre haverá erros na aplicação desta pequena quantidade de solução. Resolveu aplicar esta alíquota por dois motivos: primeiro, para evitar possível contaminação entre uma medida e outra, sempre se tinha que medir o valor da corrente do branco para cada composição de mistura; segundo, porque a quantidade a ser adicionada de solução de referência não deveria interferir na composição da mistura.

No processo de modelagem dos dados apresentados na Tabela 7, foram realizados ajustes para os possíveis modelos obtidos pela combinação dos modelos de

variáveis de processos, Equações (7) e (8), com os modelos de misturas dados pelas equações (4), (5) e (6), respectivamente.

O modelo que apresentou melhor ajuste foi o combinado bilinear (processos)-cúbico especial (misturas) quando aplicado aos dados do íon Pb^{2+} .

A Figura 10 contém um gráfico de valores experimentais contra valores preditos da Equação 25.

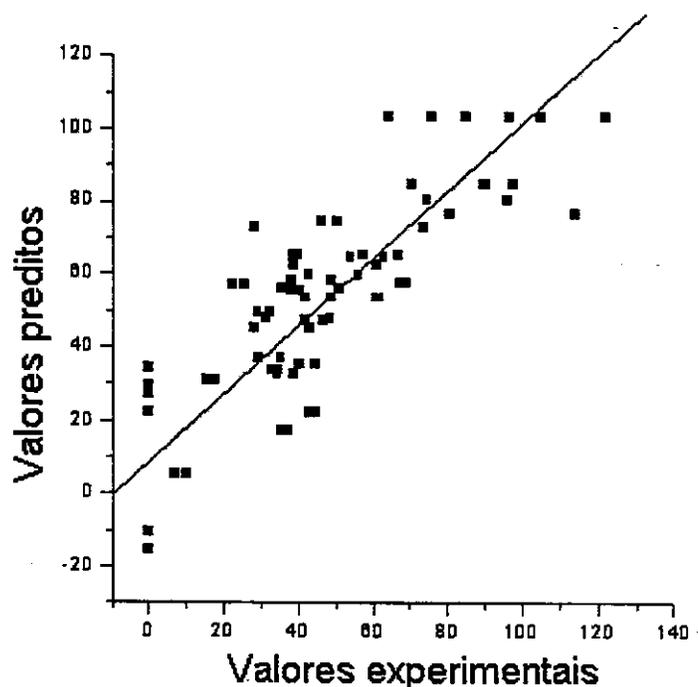


Figura 10 - Gráfico dos valores preditos pela Equação 25 contra os valores experimentais.

Os pontos são aleatoriamente distribuídos sobre a linha representando o ajuste exato, mostrando a não evidência de falta de ajuste para o modelo bilinear-cúbico especial.

A Tabela 8 contém os resultados de ANOVA para este modelo.

TABELA 8. ANOVA do “split-plot” para o modelo combinado bilinear- cúbico especial.

Modelo	Fonte de variação	GL	SQ	MQ
	Reps (R)	1	2,65	2,65
	“main-plot” (Z)	3	4110,78	1370,26
Bilinear	ZREG	3	4110,78	1370,26
	ZLOF	0	-	-
	Erro (RZ)	3	400,42	133,47
	“sub-plot” (X)	9	52770,00	5863,40
Cúbico Especial	XREG	6	52682,00	598,66
	XLOF	3	88,00	29,33
	“Main-plot”× “sub-plot” int.	27	10513,44	389,39
	ZXREG	18	7760,44	431,14
	ZXLOF	9	2753,00	305,89
	Erro “sub-plot”	36	3830,59	106,41
	Total	79	71627,50	

A partir da ANOVA (Tabela 8) desse modelo podem-se obter informações importantes sobre o comportamento do HTSS.

Quando se aplica o teste F aos tratamentos “main-plot” (parte do planejamento relativo aos variáveis de processo) verifica-se que a razão entre a média quadrática (MQ) do “main-plot” (Z) pelo erro “main-plot” é de $1370,26/133,47 = 10,27$ é maior que o valor de $F_{3,3}$ tabelado de 9,28 num nível de 95% de confiança. Isto indica que as variáveis de processo (acetato de amônio e ácido clorídrico) são relevantes na composição do modelo.

Ao aplicar o teste F ao tratamento “sub-plot” (porção do planejamento relativo as variáveis de mistura) verifica-se que a razão da média quadrática (MQ) do tratamento “sub-plot” (X) pelo erro “sub-plot” é $5863,40 / 106,41 = 55,10$ é muito maior que o valor de $F_{9, 15, 0.05}$ tabelado de 2,59. Isto quer dizer que não só as variáveis de mistura são relevantes, como também apresentam maior peso na composição do

modelo, justificando o maior número de experimentos na investigação das variáveis de misturas.

A interação “main-plot” x “sub-plot” ZX é estatisticamente significativa, pois a razão da média quadrática com o erro “sub-plot” $389,39 / 106,41 = 3,66$ é maior que o valor crítico de $F_{27,36,0.05}$ de 1,81. Essa informação mostra que há interação entre as variáveis de processo e de mistura, e que esta interação é relevante na composição do modelo. Isto justifica o uso de uma modelagem multivariada envolvendo variáveis de mistura e processos, pois a apenas desta forma seria possível obter informações relativas a este tipo de interação.

O valor de F, para testar a falta de ajuste para o modelo, é determinado pela razão entre efeitos “sub-plot”, a interação ZX e o erro “sub-plot”, de acordo com a Equação 24:

$$F = \frac{(XLOF + ZXLOF)}{(v_{XLOF} + v_{ZXLOF})} \times \frac{1}{\text{Sub-plot-error}} = \frac{(88 + 2753)}{12} \frac{1}{106,41} = 2,22 \quad (24)$$

O valor do F calculado a nível de 95 % de confiança é de 2,22 é levemente maior que o valor de $F_{12,36,0.05} = 2,04$ tabelado, indicando uma pequena falta de ajuste. Os outros modelos apresentam uma falta de ajuste muito maior.

Como o objetivo deste experimento era indicar a melhor composição da mistura e das variáveis de processo, resolveu continuar o estudo desconsiderando esta pequena falta de ajuste.

Os coeficientes do modelo, seus erros padrão e valores de teste t são apresentados na Tabela 9.

A Figura 11 ilustra os valores do teste t, ordenados em um gráfico de probabilidade normal (55).

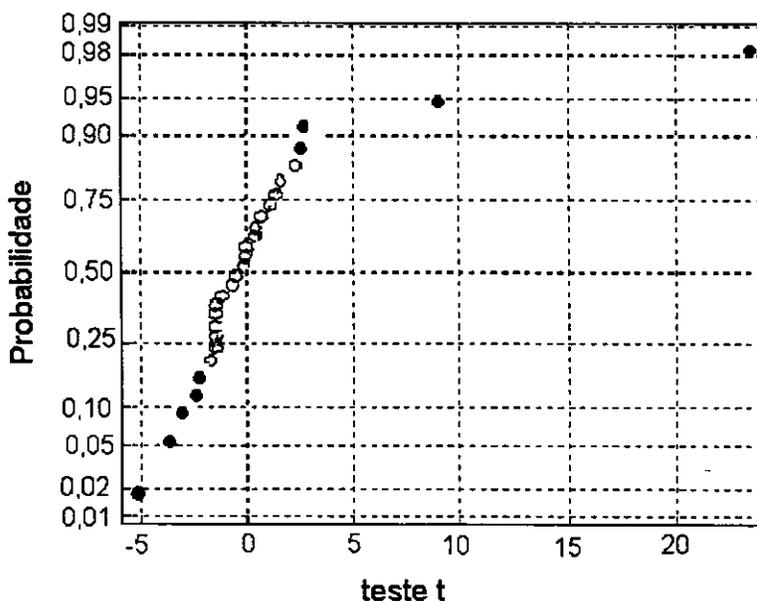


Figura 11. Gráfico de probabilidade normal dos valores de teste t na Tabela 9.

Todos os efeitos centrais do gráfico se ajustam muito bem a uma reta cuja interseção com a probabilidade acumulada de 50% ocorre praticamente sobre o ponto zero do eixo das abscissas, confirmando que realmente faz sentido considerar esses pontos como vindos de uma população normal de média zero.

Apenas os valores de teste t (representados por esferas sólidas na Figura 11) colocados fora da linha vertical são considerados significativos. Assim, o modelo combinado bilinear-cúbico especial com os termos significativos, indicados pelo teste t, pode ser expresso da seguinte forma,

$$\begin{aligned}
 \hat{y} = & 98,59x_3 + 800,86x_1x_2 - 68,24x_2x_3 - 1481,58x_1x_2x_3 - 201,79x_1x_2z_1 \\
 & (\pm 4,03) \quad (\pm 100,02) \quad (\pm 20,06) \quad (\pm 310,57) \quad (\pm 89,10) \\
 & + 293,97x_1x_2x_3z_1 - 38,28x_2x_3z_2 + 86,58x_1x_2x_3z_2 - 6,73x_3z_1z_2 \\
 & (\pm 264,81) \quad (\pm 15,10) \quad (\pm 106,13) \quad (\pm 2,77)
 \end{aligned} \tag{25}$$

TABELA 9. Parâmetros, erros padrão estimados e razões de teste t para o modelo combinado binear-cúbico especial, calculados pelas Equações 18, 21 e 22, respectivamente.

Variáveis	Parâmetros	Erros padrão	Teste t
X ₁	-17,46	11,54	-1,51
X ₂	-12,58	10,84	-1,16
X ₃	99,38	4,25	23,41
X ₁ X ₂	786,59	87,43	9,00
X ₁ X ₃	-2,63	37,25	-0,07
X ₂ X ₃	-81,58	33,28	-2,45
X ₁ X ₂ X ₃	-1433,00	278,16	-5,15
X ₁ Z ₁	-16,88	11,44	-1,48
X ₂ Z ₁	13,03	11,13	1,17
X ₃ Z ₁	-2,96	4,45	-0,67
X ₁ X ₂ Z ₁	-270,42	86,88	-3,11
X ₁ X ₃ Z ₁	15,73	36,39	0,43
X ₂ X ₃ Z ₁	-50,22	34,61	-1,45
X ₁ X ₂ X ₃ Z ₁	715,55	279,16	2,56
X ₁ Z ₂	-16,55	11,25	-1,47
X ₂ Z ₂	31,47	10,77	2,92
X ₃ Z ₂	-0,70	4,36	-0,16
X ₁ X ₂ Z ₂	-148,16	86,61	-1,71
X ₁ X ₃ Z ₂	14,61	36,04	0,41
X ₂ X ₃ Z ₂	-119,91	33,09	-3,62
X ₁ X ₂ X ₃ Z ₂	633,91	276,29	2,29
X ₁ Z ₁ Z ₂	18,10	11,25	1,61
X ₂ Z ₁ Z ₂	7,61	10,77	0,71
X ₃ Z ₁ Z ₂	-9,89	4,36	-2,27
X ₁ X ₂ Z ₁ Z ₂	122,63	86,61	1,42
X ₁ X ₃ Z ₁ Z ₂	-2,21	36,039	-0,06
X ₂ X ₃ Z ₁ Z ₂	-17,20	33,089	-0,52
X ₁ X ₂ X ₃ Z ₁ Z ₂	-411,49	276,29	-1,49

A presença dos termos cruzados xz (na Equação (25)), significante no modelo, mostra que a superfície de resposta da variável de mistura depende do nível das concentrações de acetato e de ácido, o que confirma os dados já apresentados pela ANOVA. Para explicitar a relevância dos termos cruzados xz, fez-se o ajuste dos mínimos quadrados para os dados de mistura para cada arranjo de condições de “main-plot”. Isto resultou nos seguintes modelos de misturas:

$$z_1 = z_2 = -1$$

$$\hat{y} = 34,07x_1 - 49,47x_2 + 93,15x_3 + 1327,8x_1x_2 - 35,18x_1x_3 + 71,35x_2x_3 - 3193,95x_1x_2x_3 \quad (26)$$

$$z_1 = +1, z_2 = -1$$

$$\hat{y} = -35,89x_1 - 38,63x_2 + 107,01x_3 + 541,7x_1x_2 + 0,7x_1x_3 + 5,31x_2x_3 - 939,87x_1x_2x_3 \quad (27)$$

$$z_1 = -1, z_2 = +1$$

$$\hat{y} = -35,23x_1 - 1,75x_2 + 111,53x_3 + 786,22x_1x_2 - 1,54x_1x_3 - 134,07x_2x_3 - 1103,15x_1x_2x_3 \quad (28)$$

$$z_1 = z_2 = +1$$

$$\hat{y} = -32,79x_1 + 39,53x_2 + 85,83x_3 + 490,64x_1x_2 + 25,5x_1x_3 - 268,91x_2x_3 - 495,03x_1x_2x_3 \quad (29)$$

Essas equações podem ser comparadas com equações calculadas para cada um dos quatro níveis de processos usando a Equação (25). Substituindo os valores apropriados z_1 e z_2 na Equação (25), obtém-se as seguintes equações:

$$z_1 = z_2 = -1$$

$$\hat{y} = 89,49x_3 + 1057,01x_1x_2 + 38,33x_2x_3 - 2782,46x_1x_2x_3 \quad (30)$$

$$z_1 = +1, z_2 = -1$$

$$\hat{y} = 109,27x_3 + 516,17x_1x_2 + 38,33x_2x_3 - 1351,36x_1x_2x_3 \quad (31)$$

$$z_1 = -1, z_2 = +1$$

$$\hat{y} = +109,27x_3 + 1057,01x_1x_2 - 201,49x_2x_3 - 1514,64x_1x_2x_3 \quad (32)$$

$$z_1 = z_2 = +1$$

$$\hat{y} = 89,49x_3 + 516,17x_1x_2 - 201,49x_2x_3 - 83,54x_1x_2x_3 \quad (33)$$

Os coeficientes destas equações são consistentes com aqueles nas Equações (26) – (29) obtidos pela regressão linear dos dados nos “main-plot” individuais.

Ambos os arranjos de equações tem mais coeficientes positivos para os “main-plot” $z_1 = +1, z_2 = -1$ e $z_1 = -1, z_2 = +1$. Isto deve-se ao termo $x_3z_1z_2$ significativo na Equação (25). Os coeficientes mais positivos x_1x_2 ocorrem nas equações para os quadrantes $z_1 = z_2 = -1$ e $z_1 = -1, z_2 = +1$. Este comportamento pode ser creditado ao termo cruzado $x_1x_2z_1$ significativo na Equação (25). Ambos os arranjos de equações tem coeficientes positivos x_2x_3 para os quadrantes $z_1 = z_2 = -1$ e $z_1 = +1, z_2 = -1$ e coeficientes negativos para os quadrantes $z_1 = -1, z_2 = +1$ e $z_1 = z_2 = +1$. O termo negativo $x_2x_3z_2$, que é significativo, na Equação (25), causa variações com contribuições positivas quando $z_2 = -1$ e negativas apenas quando $z_2 = +1$. Finalmente os valores relativos aos coeficientes dos $x_1x_2x_3$ nas Equações (30)-(33) são os mesmos que nas Equações (26)-(29). Isto ocorre devido os termos $x_1x_2x_3z_1$ e $x_1x_2x_3z_2$ na Equação (25).

Assim, existe significância estatística para os termos cruzados xz na Equação (25), e pode-se esperar diferentes condições de otimização para cada quadrante “main-plot”. Os dados obtidos das Equações (26)-(29) são apresentados na Figura 12.

De acordo com a Figura 12, a mistura de solvente mais apropriada depende da concentração do eletrólito de suporte e do ácido. Entre os pontos no quadrante (- -) da Figura 12 e Tabela 7, o maior sinal analítico para Pb^{2+} é observado para o sistema ternário homogêneo de solventes dado por 40% m/m de DMF, 35% m/m de etanol e 25% m/m de água, correspondente a mistura de 8,0 g de DMF, 7,0 g de etanol e 5,0 g de água. A região em torno deste ponto apresenta uma clara tendência ao aumento do sinal voltamétrico com a diminuição da proporção de água na mistura. Para os outros três quadrantes do planejamento “split-plot”, quando uma ou ambas concentrações de eletrólito de suporte e de ácido são altas, uma solução aquosa praticamente pura teria uma resposta analítica máxima. A maior resposta medida mostrada na Tabela 7 ocorre para o quadrante (- +), 0,1 mol kg^{-1} acetato de amônio e $2,1 \times 10^{-1}$ mol kg^{-1} HCl, e a 1,0 g DMF e 19,0 g solução aquosa. A resposta analítica máxima prevista pelas Equações (26)-(29) cai no mesmo quadrante com uma solução muito similar a esta.

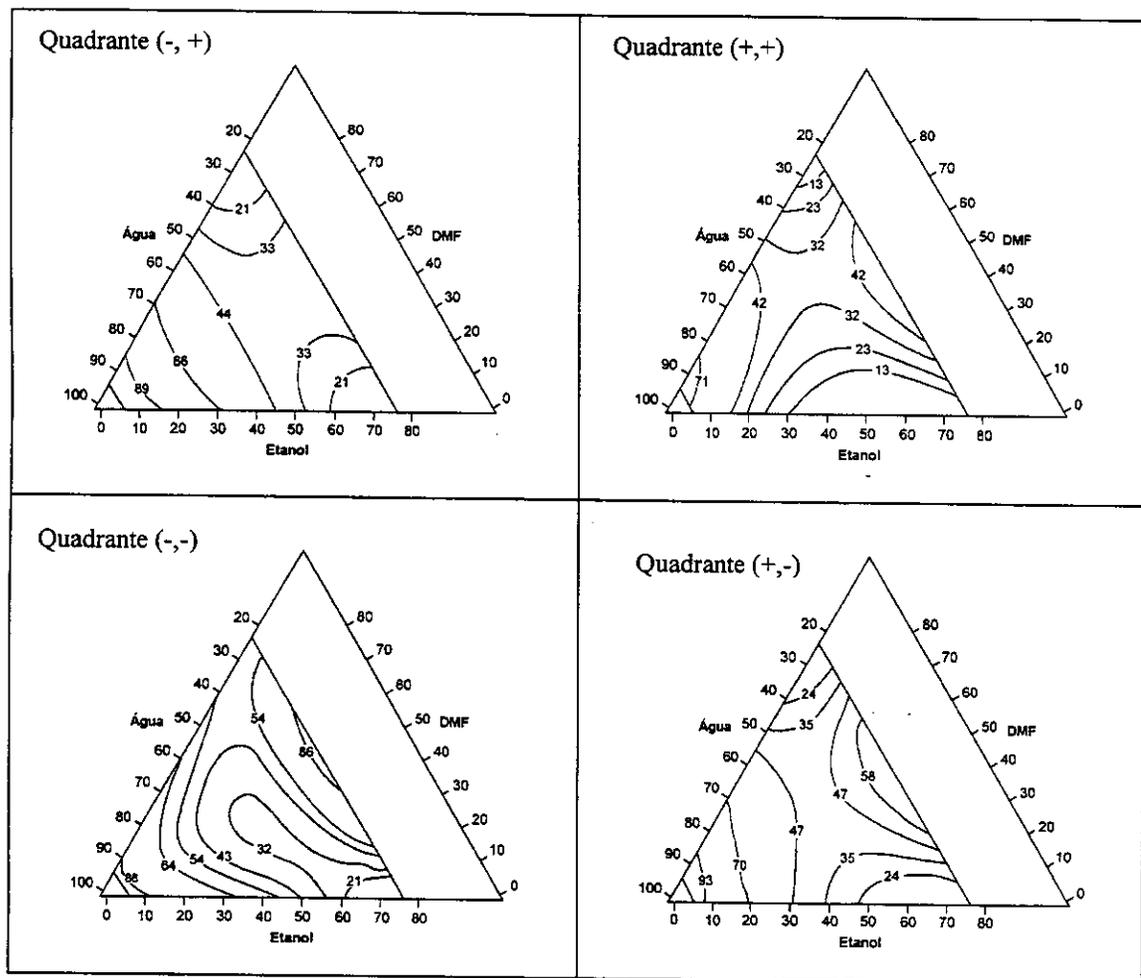


Figura 12. Curvas de nível para os modelos cúbicos especiais expressos pelas Equações 26, 27, 28 e 29, que representam as respostas de corrente de pico estimada para as composições de solventes para cada arranjo “main-plot” das condições de processo.

Ainda analisando-se a Figura 12, perceber-se que, além da tendência de aumento do sinal voltamétrico com o aumento da proporção de água no HTSS, existe uma segunda região, onde se observa uma tendência de aumento do sinal voltamétrico. Essa região é a mesma em todos os quadrantes, e sempre próxima da composição com 37,5 % m/m de DMF, 37,5 % m/m e 25 % de água (esta região das curvas de nível será referida aqui, como região central), indicando que nesta região deve estar ocorrendo uma solvatação dos íons Pb^{2+} , que possibilita o aumento do sinal

analítico. Quando se observa cada quadrante em particular, percebe-se que o aumento do sinal voltamétrico, sofre a influência não apenas das composições de mistura, mas também das variáveis de processo. Pois, quanto maior é a concentração de ácido [quadrantes (- , +) e (+ , +)], menor é o aumento do sinal analítico na região central. Tendência inversa ocorre quanto menor é a concentração de ácido [quadrantes (+ , -) e (- , -)]. Deve concluir que o aumento da concentração de ácido, nos limites deste planejamento, prejudica a solvatação dos íons, onde a proporção de água no sistema é mínima (região central). O inverso é observado na região com maior proporção de água, e evidenciando que a ação prejudicial do ácido é apenas preponderante para o HTSS (mais especificamente na região central), e não para a região com maior proporção de água. Nessa região, a diminuição do pH do sistema só aumenta o sinal voltamétrico. A influência da concentração de acetato não é tão evidente quanto a influência do ácido, isto devido as duas funções que o acetato exerce no sistema, como tampão e como eletrólito de suporte. Analisando-se cada um destas funções, pode-se ter uma idéia mais clara sobre a influência do acetato no HTSS. Nos níveis alta de concentração de ácido [quadrantes (- , +) e (+ , +)], o aumento da concentração de acetato aumenta o sinal analítico na região central. No entanto, na região com maior proporção de água ocorre o inverso, indicando que a ação tamponante é preponderante, nestes quadrantes. Pois, uma diminuição do pH do sistema estaria favorecendo a região com maior proporção de água, e prejudicando a região central, como já abordando anteriormente. Quando se analisa a ação do acetato nos níveis baixos da concentração de ácido [quadrantes (- , -) e (+ , -)], observa-se que a diminuição da concentração de acetato, afeta negativamente a região com menor proporção de água. Isto indica que nestes quadrantes, a ação preponderante do acetato é como eletrólito de suporte pois, em termos de pH do sistema, a diminuição da concentração de acetato deveria diminuí-lo, isto tenderia a favorecer o aumento do sinal nesta região e não sua diminuição. Com respeito a região central, ocorre o

inverso, evidenciando que para essa região o aumento da concentração do eletrólito de suporte prejudica a solvatação do íon Pb^{2+} . De tudo isto que foi argumentado, tira-se duas constatações importantes, a primeira é que para a determinação de chumbo, em um HTSS, o melhor quadrante é o (-, -), e deve-se aprofundar o estudo na região central. A segunda constatação é que as informações levantadas, apenas poderiam ser obtidas através de um estudo, que levasse em conta tanto as variáveis de mistura quanto as variáveis de processo.

Como já mencionado anteriormente esperava-se que o planejamento “split-plot” para o chumbo indicasse uma região de mistura (incluindo as coordenadas de processo) que apresentassem a menor perda de sinal voltamétrico em relação ao obtido em sistema aquoso puro. Com isto, o tempo de acumulação na etapa de acumulação do metal na gota de mercúrio poderia ser aumentado, não apenas compensando a perda de sinal voltamétrico em relação ao sistema aquoso, como melhorando a detectabilidade da medida. Isto pode ocorrer porque o limite do tempo de acumulação devido à total cobertura da gota pela espécie de interesse, que no sistema aquoso é restritivo, em sistema não-aquoso é mínimo.

5.2 Otimização do método.

Para dar continuidade a esse estudo, resolveu-se partir dos resultados apresentados na Figura 12 [quadrante (-,-)], em que há uma indicação que, para um HTSS, quanto menor a quantidade de água maior o sinal analítico para o chumbo. A região em que ocorreria este aumento do sinal cai exatamente na região de restrição inicial do planejamento “split-plot”. Vale ressaltar que naquela ocasião a restrição foi imposta pela máxima concentração do eletrólito de suporte, o que não é o caso aqui, pois o quadrante (-,-) foi realizado com uma concentração de $0,1 \text{ mol kg}^{-1}$ de acetato de amônio e $8,8 \times 10^{-3} \text{ mol kg}^{-1}$ de ácido clorídrico. Os resultados obtidos do

planejamento de mistura, como apresentados na Tabela 4 e Figura 9, para obter as melhores composições de mistura para determinar simultaneamente os íons Pb^{2+} , Cd^{2+} , Zn^{2+} e Cu^{2+} , são apresentados na Tabela 10.

TABELA 10 - Respostas do Planejamento de Misturas sobre o ponto ótimo de Pb^{2+} , Cd^{2+} , Zn^{2+} e Cu^{2+} .

Medidas	Corrente de Pico (nA)							
	R_1^a	R_2	R_1	R_2	R_1	R_2	R_1	R_2
	Zn		Cd		Pb		Cu	
1	5	7	8	10	5	6	6	8
2	6	4	8	7	8	6	11	12
3	3	3	7	6	6	6	13	15
4	8	6	8	9	8	9	10	13
5	6	6	10	10	5	6	9	7
6	6	7	10	17	7	7	8	9
7	5	7	8	9	6	6	9	10

a) Número de replicata.

Os resultados apresentados na Tabela 10 foram testados em vários modelos de mistura. Os modelos que melhor se ajustaram a esses dados foram modelos quadráticos. Esses modelos são;

$$\hat{y}_{Pb} = 11,08 x_1 + 23,82 x_2 + 28,83 x_3 - 32,47 x_1x_2 - 43,85 x_1x_3 - 59,84 x_2x_3 \quad (34)$$

$$\hat{y}_{Cd} = 16,46 x_1 + 19,29 x_2 + 72,77 x_3 - 46,05 x_1x_2 - 121,22 x_1x_3 - 28,44 x_2x_3 \quad (35)$$

$$\hat{y}_{Zn} = -10,49 x_1 + 12,36 x_2 - 43,45 x_3 + 8,82 x_1x_2 + 122,57 x_1x_3 + 39,80 x_2x_3 \quad (36)$$

$$\hat{y}_{Cu} = 30,59 x_1 + 25,27 x_2 - 28,66 x_3 - 59,87 x_1x_2 - 8,30 x_1x_3 + 33,07 x_2x_3 \quad (37)$$

As ANOVA para esses modelos são apresentadas nas Tabelas 11, 12, 13 e 14.

TABELA 11 - ANOVA para o modelo quadrático para o chumbo, Equação 34.

Fonte de Variação	Soma Quadrática	Grau de Liberdade	Média Quadrática	Teste F calculado	Teste F tabelado
Regressão	14,2833	5	2,8567		
Resíduos	3,2555	8	0,4069	7,12	3,69
Falta de Ajuste	0,6139	1	0,6139		
Erro Puro	2,6416	7	0,3774	1,63	5,59
Total	17,5388	13			

TABELA 12 - ANOVA para o modelo quadrático para o cádmio, Equação 35.

Fonte de Variação	Soma Quadrática	Grau de Liberdade	Média Quadrática	Teste F calculado	Teste F tabelado
Regressão	52,16	5	10,43		
Resíduos	34,20	8	4,28	2,44	3,69
Falta de Ajuste	9,14	1	9,14		
Erro Puro	25,06	7	3,58	2,55	5,59
Total	86,36	13			

TABELA 13 - ANOVA para o modelo quadrático para o zinco, Equação 36.

Fonte de Variação	Soma Quadrática	Grau de Liberdade	Média Quadrática	Teste F calculado	Teste F tabelado
Regressão	29,11	5	5,82		
Resíduos	4,82	8	0,60	9,67	3,69
Falta de Ajuste	0,30	1	0,30		
Erro Puro	4,52	7	0,65	0,46	5,59
Total	33,93	13			

TABELA 14 - ANOVA para o modelo quadrático para o cobre, Equação 37.

Fonte de Variação	Soma Quadrática	Grau de Liberdade	Média Quadrática	Teste F calculado	Teste F tabelado
Regressão	69,15	5	13,83		
Resíduos	16,27	8	2,03	6,80	3,69
Falta de Ajuste	3,18	1	3,18		
Erro Puro	13,09	7	1,87	1,70	5,59
Total	85,41	13			

Das Tabela (11, 13 e 14) pode-se verificar os modelos correspondentes a estas análises de variâncias, apresentam significância em nível de 95 % para a regressão e, não há indicação de falta de ajuste a um nível de 95% de confiança. Porém o F calculado é pouco maior que o tabelado, inclusive a ANOVA para o modelo quadrático para o cádmio (Tabela 12) não apresenta significância para a regressão e mostra evidência de falta de ajuste para o modelo. Isto ocorre devido a pouca variação observada entre os valores de corrente de pico para todos os íons estudados.

As curvas de nível para esses os modelo são apresentadas na Figura 13.

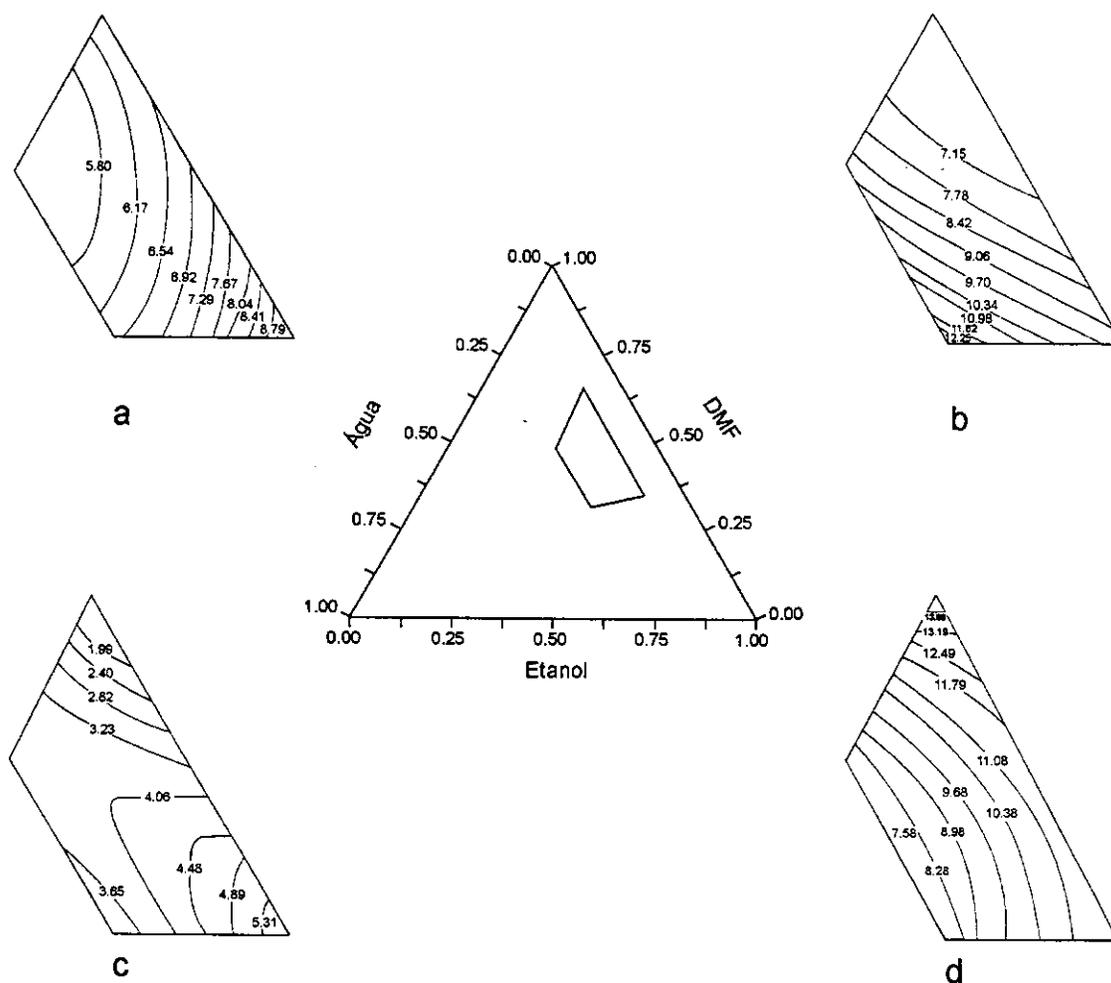


Figura 13 – Curvas de nível para os modelos quadráticos expressos pelas Equações 34, 35, 36 e 37. As figuras menores são a expansão das regiões de interesse para: a) Pb, b) Cd, c) Zn e d) Cu. As medidas foram realizadas pela composição: 36 % m/m de DMF; 52 %m/m de Etanol e 12 % m/m de fase aquosa.

A partir da Figura 13 pode-se verificar que cada um dos íons estudados apresenta uma composição de mistura ótima, em regiões distintas. Assim, resolveu-se aplicar o ponto como de maior sinal analítico para o chumbo para determinar simultaneamente os íons Pb^{2+} , Cd^{2+} , Zn^{2+} e Cu^{2+} pois, dentre os íons estudados, é o que apresenta maior dificuldade de determinação em amostras complexas. De acordo com os resultados representados pela Equação 34 e Figura 13a, o melhor sinal voltamétrica para o Pb^{2+} no sistema ternário homogêneo de solvente é obtido na composição de mistura: 35% m/m de DMF, 55% m/m de etanol e 10% m/m de água, correspondente a mistura de 7,0 g de DMF, 11,0 g de etanol e 2,0 g de água (incluindo o tampão aquoso de ácido acético-acetato de amônio e as soluções de padrão de Pb^{2+}). No entanto, como este ponto fica em uma região de borda, resolveu-se utilizar o ponto 36 % m/m de DMF 52 %m/m de etanol e 12 % m/m de fase aquosa, nos estudos de otimização da determinação de Pb^{2+} , Cd^{2+} , Zn^{2+} e Cu^{2+} em um HTSS.

5.3 Otimização dos parâmetros voltamétricos

Após ser determinado ponto de mistura que será utilizado, fez-se a otimização dos parâmetros voltamétricos para o sistema no polarógrafo da Metrohm. Os parâmetros otimizados foram: Tempo de purga: 300 s; Amplitude do pulso: -50 mV/s; Tempo de equilíbrio: 20 s ; Duração do pulso 40 ms. Os tempos de acumulação foram estudados. Os resultados estão apresentados na Figura 14.

A partir destes resultados resolveu-se utilizar o tempo de acumulação de 300 segundos, por ser um tempo não muito longo e com bastante detectabilidade. No entanto, pode-se baixar ou aumentar o tempo dependendo das necessidades das medidas.

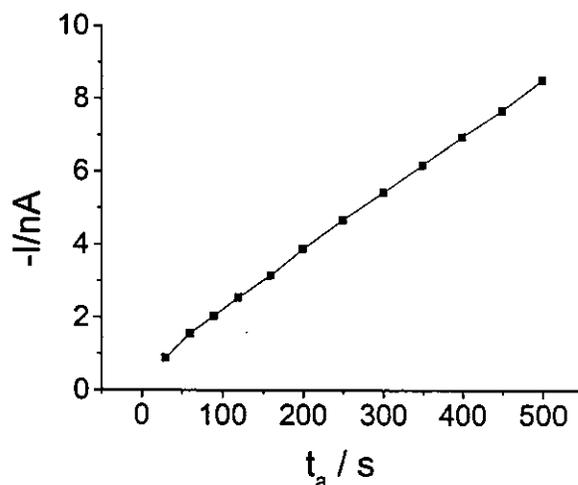


Figura 14 – Curva de corrente de pico contra tempo de acumulação para o chumbo. Com chumbo na concentração de $25 \mu\text{g L}^{-1}$, realizada no polarógrafo da Metrohm.

5.4 Resultados do estudo de seletividade para o chumbo

O estudo unifatorial foi importante na determinação dos níveis de concentração das espécies interferentes para o estudo multifatorial. Para uma caracterização quantitativa da seletividade do método, os graus de interferência foram expressos por um número denominado Fator de Interferência (61), definido de acordo com a equação:

$$F_I = \frac{I_I}{I_B} \quad (38)$$

onde: F_I é o Fator de Interferência; I_I é a corrente do pico com a presença de interferentes no sistema e I_B é a corrente do pico sem a presença de interferentes.

Este valor é adimensional e demonstra a ausência de interferência se for igual à unidade. Se for maior ou menor do que a unidade, ocorre interferência positiva ou negativa, respectivamente.

De todos os íons estudados no estudo unifatorial de interferentes (ver secção 4.6.1), apenas os íons mostrados na Tabela 15 produzem interferência quando em

proporção menor que 2000 vezes o valor da concentração do analito. O Mn^{2+} interfere diminuindo o sinal voltamétrico, a partir de 200 vezes a concentração do Pb^{2+} em um fator de interferência de 0,04 e em 1000 vezes a interferência é de apenas 9%. O Mo(VI)[molibdato] promove a total cobertura da gota a partir de 1000 vezes a concentração do chumbo. No entanto em concentrações menores o Mo(VI)[molibdato] apresenta interferência relativamente baixa, de apenas 5% a partir de 300 vezes a concentração do analito.

Apesar da interferência relativamente baixa destes dois íons (Mn^{2+} e Mo (VI)), resolveu-se incluí-los no estudo multivariado, apresentado no item seguinte, devido a possibilidade de suas ações interferente virem a ser potencializadas pela presença de outros íons interferentes.

TABELA 15 – Resultados dos experimentos com interferentes utilizando o método unifatorial, para o chumbo.

Pb ⁺² : X ^a	Mn ⁺²	Mo (VI)	Cu ⁺²	Al ⁺³	Cr (VI)
1:1	1,00	1,00	1,00	1,00	1,00
1:100	1,00	1,00	1,11	0,81	0,82
1:200	0,96	1,00	NR	0,68	NR
1:300	NR	0,95	NR	NR	NR
1:1000	0,91	∞ ^b	∞	0,62	0,45
1:2000	NR	∞	∞	0,57	0,36

^aX = representa as proporções dos interferentes, uma parte equivale a 10 µg L⁻¹ de Pb⁺²; ; ^b = gota totalmente recoberta pelo metal.; NR = ensaio não realizado

Outros dois interferentes que diminuem o sinal voltamétrico do Pb^{2+} são Al^{3+} e Cr(VI)[dicromato]. A partir da proporção 1:100 estes íons apresentam interferência de 19% para o alumínio e de 18% para o dicromato. Para 2000 vezes o grau de interferência aumenta para 43% e 54%, respectivamente. No entanto, mesmo nesta proporção o sinal analítico do chumbo se mantém. O Cu^{2+} apresenta aumento do sinal no chumbo, isto é devido à proximidade do seu potencial de meia-onda, o que faz

com que ocorra uma elevação do sinal do chumbo para concentrações de cobre 100 vezes superiores a do chumbo. A partir de 1000 vezes o pico do cobre encobre totalmente o pico do chumbo.

Os resultados obtidos para o estudo multivariado, são mostrados na Tabela 16.

TABELA 16 – Resultados do planejamento fatorial completo 2^5 .

Ensaio	Mn(II)	Mo (VI)	Cu (II)	Al (III)	Cr(VI)	F ₁
1	-1	-1	-1	-1	-1	1,00
2	1	-1	-1	-1	-1	0,97
3	-1	1	-1	-1	-1	0,96
4	1	1	-1	-1	-1	0,99
5	-1	-1	1	-1	-1	1,41
6	1	-1	1	-1	-1	1,34
7	-1	1	1	-1	-1	1,36
8	1	1	1	-1	-1	1,28
9	-1	-1	-1	1	-1	0,53
10	1	-1	-1	1	-1	0,54
11	-1	1	-1	1	-1	0,52
12	1	1	-1	1	-1	0,55
13	-1	-1	1	1	-1	0,95
14	1	-1	1	1	-1	1,06
15	-1	1	1	1	-1	0,88
16	1	1	1	1	-1	0,67
17	-1	-1	-1	-1	1	0,76
18	1	-1	-1	-1	1	0,60
19	-1	1	-1	-1	1	0,63
20	1	1	-1	-1	1	0,70
21	-1	-1	1	-1	1	1,04
22	1	-1	1	-1	1	0,97
23	-1	1	1	-1	1	1,12
24	1	1	1	-1	1	1,10
25	-1	-1	-1	1	1	0,44
26	1	-1	-1	1	1	0,63
27	-1	1	-1	1	1	0,50
28	1	1	-1	1	1	0,78
29	-1	-1	1	1	1	0,82
30	1	-1	1	1	1	0,83
31	-1	1	1	1	1	0,78
32	1	1	1	1	1	0,88

Os valores dos níveis + e - para cada um dos elementos estudados são apresentados na Tabela 5, p. (44).

O objetivo estudo foi verificar se as interferências observadas no estudo univariado, poderiam ser potencializadas pela presença concomitante de vários íons interferentes.

Estes dados são tratados estatisticamente utilizando-se, para tanto, um gráfico de probabilidade normal, como pode ser visto na Figura 15.

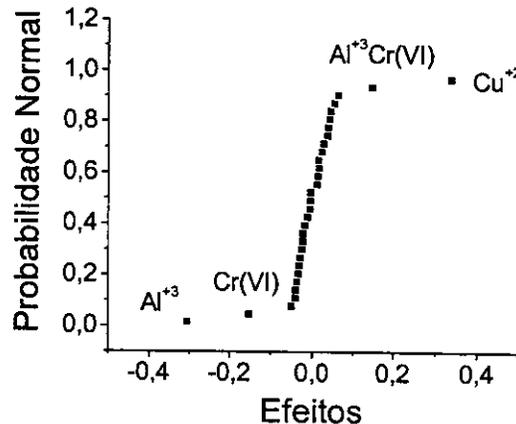


Figura 15. Gráfico de probabilidade normal de todos os efeitos, enfatizando aqueles que são significativos.

Assim sendo, a Figura 15 ilustra os efeitos ordenados em um gráfico de probabilidade normal (55). Todos os efeitos centrais do gráfico se ajustam muito bem a uma reta cuja interseção com a probabilidade acumulada de 50% ocorre praticamente sobre o ponto zero do eixo das abscissas, confirmando que realmente faz sentido considerar esses pontos como vindos de uma população normal de média zero. Assim, os efeitos que se situam ao longo da linha vertical são estatisticamente iguais a zero, enquanto os efeitos maiores, em módulo, estão colocados fora da linha. Estes efeitos são produzidas por Cu²⁺, Cr(VI)[dicromato], Al³⁺ e a interação Cr(VI)[dicromato]-Al³⁺. Deste estudo, pode-se verificar que a suposta ação interferente dos íons Mn²⁺ e Mo (VI), não foi confirmada, levando-se a crer que a diminuição do Fator de interferência observada no estudo univariado realmente estava dentro o intervalo de variação das medidas.

Durante a realização deste estudo sobre seletividade, verificou-se que os elementos representados na Figura 16 apresentaram o sinal voltamétrico para o sistema estudado.

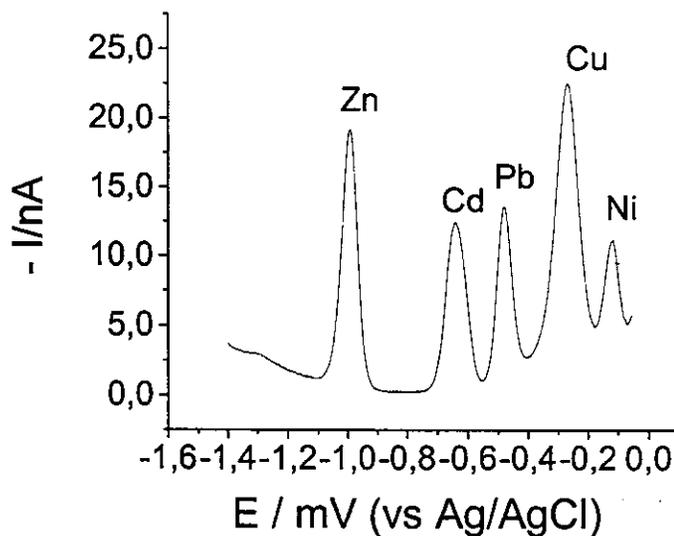


Figura 16 – Voltamograma de ASV para os íons que apresentaram sinal voltamétrico no estudo de interferentes: $25 \mu\text{g L}^{-1}$ de Zn^{2+} , Cd^{2+} , Pb^{2+} , Cu^{2+} e Ni^{2+} .

O sinal analítico observado para o níquel, na Figura 16, foi uma descoberta surpreendente nesse sistema, algo muito difícil de ser observado em ASV pois, devido à baixa solubilidade do níquel em mercúrio não há formação de amalgama em meio aquoso, inviabilizando a aplicação dessa técnica na determinação de níquel nesse meio.

Geralmente determina-se esse elemento por voltametria adsorptiva, e em que se adiciona um agente complexante, há formação de complexo com o íon Ni^{2+} e posterior adsorção do complexo na gota, seguida de uma varredura de potencial e leitura do sinal analítico detectado.

A determinação de níquel por ASV exige um estudo mais aprofundado, abrangendo as melhores condições voltamétricas, de mistura e de variáveis de processo. Portanto, esse estudo seria mais bem realizado em um trabalho direcionado

exclusivamente para sua otimização. Por isto resolveu-se continuar o estudo para determinação apenas de chumbo, cádmio, zinco e cobre.

5.5 Resultados do estudo de seletividade de Zn, Cu, Cd e Pb

O estudo unifatorial mostrou que os quatro íons não possuíam interferentes em comum, podendo dividi-los em dois grupos, chumbo e cádmio, zinco e cobre.

Pb e Cd - os interferentes são: Al^{3+} e $\text{Cr(VI)[dicromato]}(\text{VI})$, que interferem negativamente, diminuindo as intensidades de corrente, a partir de 100 vezes a concentração destes analitos. O cobre interfere positivamente no chumbo a partir de 100 vezes a concentração do chumbo devido a proximidade do potencial de pico.

Zn e Cu - os interferentes são: Fe^{3+} e Ni^{2+} que interferem negativamente no Zn^{2+} e no Cu^{2+} , a partir de 1000 e 100 vezes a concentração destes analitos, respectivamente. O Al^{3+} também interfere no Zn^{2+} a partir de 100 vezes a concentração do analito. O cobalto interfere negativamente no zinco a partir de uma proporção de 10 vezes a concentração do zinco e no cobre a partir de 100 vezes a concentração desse analito. O P(V)[fosfato] interfere negativamente no zinco a partir de 100 vezes a concentração do analito.

O Mo(VI)[molibdato] , não causa interferência até 1000 vezes a concentração dos íons de interesse, mas a partir desta proporção satura a gota.

5.6 Resultados do estudo da influência do alumínio

A partir do estudo de seletividade do método e devido à importância toxicológica e agrônômica das espécies estudadas, resolveu aplicar este método a amostras agroambientais. Com respeito à determinação de chumbo, verifica-se que, dentre as restrições da aplicação do método, apenas o Al^{3+} pode se apresentar

em proporções suficientes para interferir na concentração de Pb^{2+} , na maioria das amostras agroambientais. Assim sendo, estudou-se a influência do alumínio na determinação do chumbo, conforme descrito no item 4.6.3. A Figura 17 apresenta os resultados deste estudo.

Observa-se que há diminuição acentuada do pico do chumbo no intervalo de adição de Al^{3+} de 0 a $500 \mu g L^{-1}$. Desse ponto até a concentração de $2.500 \mu g L^{-1}$, ocorre uma estabilidade da interferência do Alumínio. Como, a partir $500 \mu g L^{-1}$ a interferência do Al^{3+} é praticamente constante, pode-se fazer a curva analítica com adição de $600 \mu g L^{-1}$ de Al^{3+} na célula e adicionar a mesma concentração a amostra, minimizando a interferência. Resolveu-se aplicar esta concentração, porque após a diluição, as quantidades de alumínio presente nas amostras de plantas, encontram-se, geralmente, na faixa de 300 a $1.500 \mu g L^{-1}$. Aplicando-se uma concentração de $600 \mu g L^{-1}$, estará se garantindo que a faixa de análise contemple a faixa em que a concentração de Al mantém sua interferência constante.

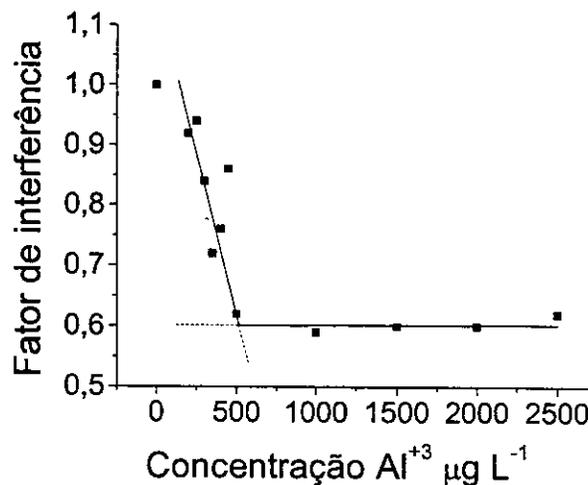


Figura 17 – Fator de interferência do alumínio no chumbo contra a concentração de alumínio em $\mu g L^{-1}$, com uma concentração fixa de chumbo de $4 \mu g L^{-1}$.

O mesmo estudo quando realizado para o cádmio apresentou comportamento semelhante.

5.7 Resultados do estudo sobre os potenciais de acumulação

Os potenciais de acumulação são aplicados antes e depois do potencial de pico para cada uma das espécies química de interesse. Os resultados destes ensaios são apresentados nas Figuras 18, 19 e 20.

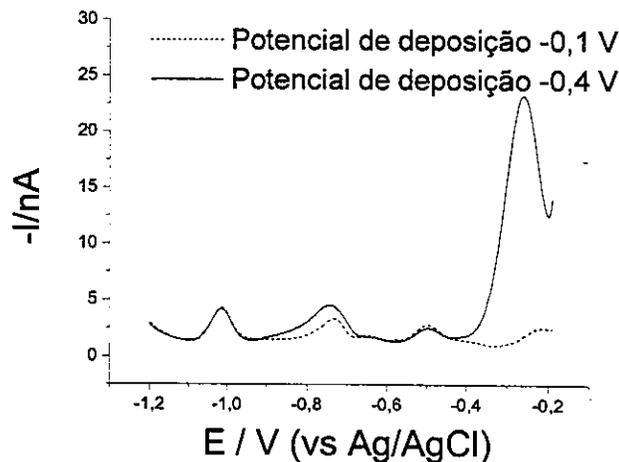


Figura 18 - Voltamograma de ASV para Zn Cd, Pb e Cu (seqüência de formação de pico no sentido anódico) em concentrações iguais de $50 \mu\text{g L}^{-1}$; tendo-se variação do potencial de acumulação (E_a) de -0,1 V e -0,4 V, com velocidade de varredura de 16 mV s^{-1} , obtida no polarógrafo Metrohm.

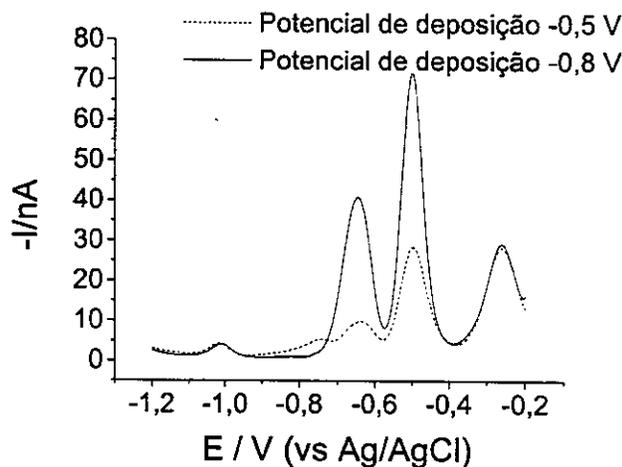


Figura 19 - Voltamograma de ASV para Zn Cd, Pb e Cu (seqüência de formação de pico no sentido anódico) em concentrações iguais de $50 \mu\text{g L}^{-1}$; tendo-se variação do potencial de acumulação (E_a) de -0,5 V e -0,8 V, com velocidade de varredura de 16 mV s^{-1} , obtida no polarógrafo Metrohm.

Observando-se a Figura 18, percebe-se que apenas a aplicação do potencial de acumulação de - 0,1 V, não é suficiente para promover a acumulação dos íons Cu^{2+} na superfície do eletrodo de trabalho. No entanto, com a aplicação do potencial de acumulação de 0,4 V, verifica-se a formação de pico relativo ao Cu^{2+} , viabilizando a determinação quantitativa deste elemento.

Da Figura 19, apenas quando o potencial de acumulação contempla o potencial de redução dos íons Cd^{2+} , Pb^{2+} e Cu^{2+} , ocorre a formação de pico com altura equivalente a concentração dos íons em solução.

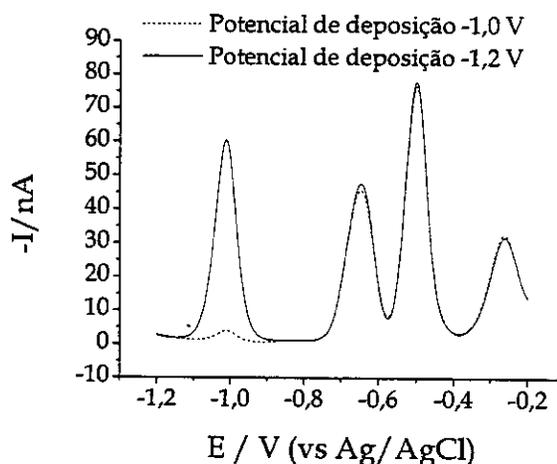


Figura 20 - Voltamograma de ASV para Zn Cd, Pb e Cu (seqüência de formação de pico no sentido anódico) em concentrações iguais de $50 \mu\text{g L}^{-1}$; tendo-se variação do potencial de acumulação (E_a) de -1,0 V e -1,2 V, com velocidade de varredura de 16 mV s^{-1} , obtida no polarógrafo Metrohm.

A Figura 20 apenas confirma as informações já comentadas sobre os demais íons indicando que, pelo menos um potencial de -1.2 V deve ser aplicado na etapa de acumulação para que seja possível a determinação simultânea destes quatro íons.

Devido a proximidade entre os potenciais de pico (potencial de oxidação) e os potenciais de acumulação (potencial de redução), pode-se dizer que não há evidências de formação de complexos entre os íons e os solventes do HTSS. Assim, o fenômeno

responsável pela determinação desses íons em ASV, no HTSS, é decorrente da eletrólise das espécies química.

5.8 Comparando a seletividade do HTSS com outros métodos.

A partir do estudo de seletividade, resolveu-se comparar a resistência a interferentes e a formação de compostos intermetálicos do método proposto com os dados apresentados por Wang (62). Nesse trabalho, o autor aborda os problemas relacionados a amostras reais em métodos que utilizam a ASV em meio aquoso e apresenta as estratégias aplicadas para minimizar esses problemas.

Parte dos dados divulgados pelo autor são reproduzidos na Tabela 17, conjuntamente com o efeito que cada situação abordada causa no método proposto.

TABELA 17 – Métodos utilizados para minimizar interferentes em amostras reais.

Elementos medidos	Interferência/problema	Solução (ref (62))	Solução (neste trabalho)
Medidas em meio saturado de cloreto	Alta corrente de fundo devido à formação de calomelanos	Evitar polarização anódica do eletrodo	NaCl não causa interferência ^a
Cu em água do mar	Reduzida detectabilidade devido à formação de CuCl ₂ no eletrodo	Acidificação da amostra	Cl ⁻ não causa interferência
Cu na presença de Mn	Pico do cobre é obscurecido pela corrente de redução do Mn	Troca de meio após a acumulação	Mn(II) não causa interferência ^b
Zn na presença de Ni	Formação de intermetálicos Ni-Zn	Uso do citrato para complexar Ni	Não causa interferência ^b

^a até 2000 vezes a concentração do analito; ^b até 1000 vezes a concentração do analito.

Da Tabela 17, pode-se verificar que o método proposto apresenta um ganho de seletividade quando comparado com as situações apresentadas, pois praticamente não

sofre qualquer tipo de efeito prejudicial, indicando outros tipos de matrizes de amostra em que este método pode vir a ser aplicado.

5.9 Figuras de Mérito

Neste item apresentam-se as figuras de mérito obtidas para o método, realizadas no polarógrafo da Metrohm e confirmadas no polarógrafo da Radiometer. Estes ensaios forma realizados sob condições otimizadas para o método. Inicia-se por apresentar os potenciais de pico dos íons, Tabela 18, juntamente com o potencial de pico a cada um dos íons estudados em sistemas aquosos (26).

TABELA 18 – Potenciais de picos de Zn, Cd, Pb e Ni, no HTSS versus potenciais de picos para solução aquosa (26).

Íons	HTSS	Solução aquosa
Zn ²⁺	-0,990 V	-1,250 V
Cd ²⁺	-0,620 V	-0,810 V
Pb ²⁺	-0,450 V	-0,640 V
Cu ²⁺	-0,200 V	-0,270 V

Os dados apresentados na Tabela 18 mostram que mesmo diminuindo a faixa de varredura do potencial, o que diminui o tempo de análise, o método mantém um espaçamento consistente entre os vários potenciais de pico, o que não prejudica na determinação simultânea dos elementos em estudo.

As curvas analíticas sob as quais foram estimadas as figuras de mérito para o método são apresentados nas Figuras 21, 22, 23 e 24.

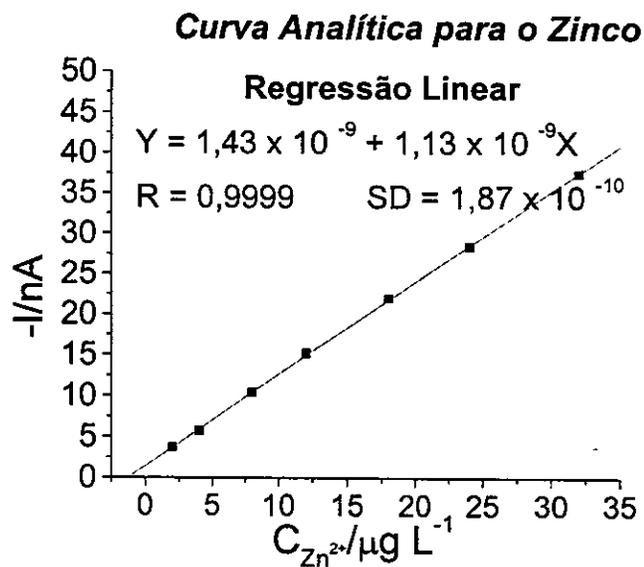


Figura 21 – Curva analítica da corrente de pico contra concentração de Zn^{2+} para o HTSS.

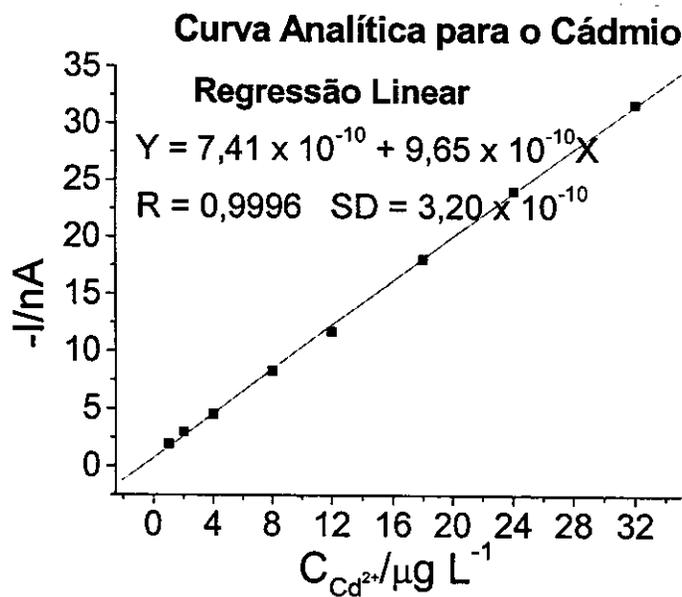


Figura 22 – Curva analítica da corrente de pico contra concentração de Cd^{2+} , para o HTSS.

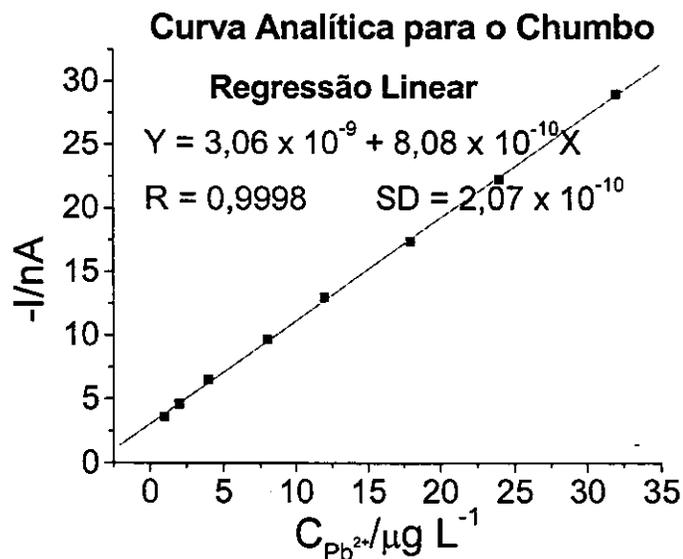


Figura 23 – Curva analítica da corrente de pico contra concentração de Pb^{2+} , para o HTSS.

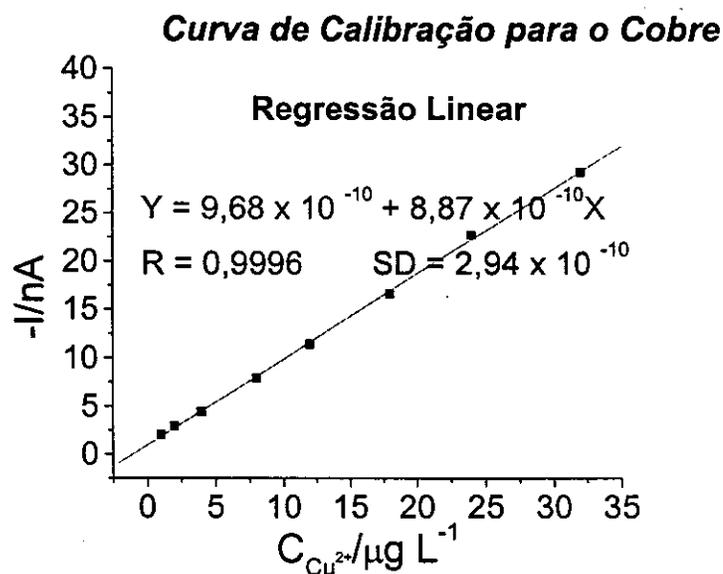


Figura 24 – Curva analítica da corrente de pico contra concentração de Cu^{2+} , para o HTSS.

Os valores estimados para os limites de detecção foram obtidos pelo cálculo dos resíduos do sinal conforme sugerido por Miller e Miller (63).

Os limite de detecção, faixas lineares, % de estimativas do desvio padrão relativo de métodos citados na literatura usando ASV em HMDE, em determinação

simultânea dos íons de interesse, em meio aquoso; e do método proposto, são apresentados na Tabela 19.

TABELA 19 – Limites de detecção, faixas lineares e % estimativas desvio padrão relativo de métodos citados na literatura usando ASV em HMDE em determinação simultânea; e do método proposto, (MP), utilizando um tempo de acumulação de 5 min, amplitude de pulso de -50 mV, velocidade de rotação de 500 min⁻¹ e velocidade de varredura de 16 mV s⁻¹.

Ref.	Metal	Limite de Detecção (µg L ⁻¹)	Faixa Linear (µg L ⁻¹)	Inclinação (µA µgL ⁻¹)	% RDS
2	Zn	14,7	100-400	0,009	13,6
	Cd	9,6	50-500	0,74	5,6
	Pb	16,6	50-500	0,030	13,2
	Cu	39	50-500	0,49	14
32	Zn	7,8	-	-	5,25 ^c
	Cd	1,4	-	-	5,25
	Pb	8,9	-	-	10
	Cu	6,4	-	-	12,8
64 ^a	Zn	20	-	-	-
	Cd	20	-	-	-
	Pb	40	-	-	-
	Cu	20	-	-	-
26	Zn	20	40-10000	-	-
	Cd	5	10-10000	-	-
	Pb	10	20-10000	-	-
	Cu	10	20-10000	-	-
Mp	Zn	0,50	2-3000	1,13 ^b	4,2 ^d
	Cd	0,99	2-7000	0,97 ^b	2,7
	Pb	0,77	2-7000	0,81 ^b	4,8
	Cu	0,99	2-4000	0,89 ^b	3,3

^a concentração em µg kg⁻¹; ^b unidade em nA µgL⁻¹; ^c Coeficiente de variação; ^d Para uma concentração de 21 µg kg⁻¹.

Como se pode verificar pela Tabela 19 nem todos os trabalhos apresentam todas as figuras de mérito especificadas nesse estudo, o que dificulta um pouco a comparação. No entanto, dentre os dados obtidos pode dizer que a faixa linear do método proposto apresenta um limite superior elevado o que possibilita análises sem a necessidade de diluições. Esta característica é importante por permitir a análise das

mais variadas amostras com diferentes níveis de concentração, tornando o método até um pouco mais simples por não requerer a necessidade de diluição em amostras mais concentradas. Também é o que apresenta menor limite de detecção o que é uma outra grande vantagem do método.

5.10 O Tratamento de dados em voltametria

O tratamento usual de dados em voltametria para fins de análises quantitativas consiste em medir-se a corrente de pico obtidas por onda quadrática ou pulso diferencial, como é o caso neste estudo. As correntes obtidas são então relacionadas às concentrações das soluções de referência da espécie eletroativa e à concentração dessa espécie na amostra de interesse (35). As duas maneiras mais comuns de se fazer serão discutidas a seguir.

5.10.1 Método da curva analítica

Nesse método, também chamado de curva analítica, mede-se a corrente voltamétrica de uma série de soluções de concentrações conhecidas da substância em estudo (analito) em composições que englobam aquelas que serão esperadas para a amostra. Feito isso, determina-se a equação da curva que melhor se ajusta aos pontos experimentais. Alternativamente, pode-se construir um gráfico de coordenadas cartesianas, colocando-se os valores de corrente (corrente de pico, I_p , é a corrente correspondente à altura máxima de pico) em função dos valores de concentração.

No lugar da I_p , pode-se usar ainda a área sob o pico, quando isto for conveniente. Vale ressaltar que tanto as condições de temperatura, como parâmetros instrumentais devem ser as mesmas para a curva analítica e para as medidas das

amostras. Esse método é o mais comum em química analítica. Entretanto, quando se trabalha com matrizes complexas freqüentemente ocorre o chamado efeito de matriz, ou seja, a determinação da concentração por interpolação da corrente da amostra lida na curva analítica leva a resultados errados, porque a curva analítica é feita usando-se soluções em condições de pureza, diferentes das condições da matriz, onde se desconhece a presença de diversas espécies, sendo que várias delas podem causar interferências. Nesse caso, pode-se usar o método da adição de analito.

5.10.2 Método da adição de analito

O método da adição de composto é usado com o objetivo de minimizar-se o problema de efeito de matriz. Não são poucos os autores que recorreram a este artifício em determinação seqüencial multielementar (2,32,64). Em uma matriz complexa, geralmente existem espécies que afetam as propriedades da substância a ser determinada (por exemplo, amostras contendo substâncias que alteraram a força iônica do meio ou que complexam-se com metais, mudando as características voltamétricas desses metais). A idéia é realizar as medidas experimentais nas mesmas condições ou mais próximas possíveis das condições da matriz. Este método baseia-se na avaliação do incremento da corrente voltamétrica quando se adiciona à solução da amostra uma quantidade conhecida da espécie eletroativa sob investigação.

Nesse procedimento, mede-se inicialmente a corrente voltamétrica da amostra, juntamente com o eletrólito de suporte e a corrente referente à espécie de interesse (analito). A seguir, adiciona-se à solução da amostra, uma alíquota de alguns microlitros de uma solução de concentração conhecida do analito, de tal modo que a variação do volume total seja desprezível. O volume adicionado é escolhido de tal forma a não ocorrer diluição apreciável da amostra, o que alteraria as suas condições originais, que apenas devem ser alteradas pela variação da concentração do analito.

Após a adição da solução de analito, mede-se a intensidade de corrente que será referente à soma da concentração do analito originalmente na amostra mais a concentração adicional da solução de analito adicionada. Geralmente faz-se a injeção de pelo menos três alíquotas da solução de concentração conhecida do analito, registrando-se a corrente de pico após cada adição.

Com os valores obtidos pelas medidas da amostra e das adições, constrói-se um gráfico, tendo no eixo das ordenadas as correntes de pico e no eixo das abscissas as concentrações do analito referentes às adições, sendo atribuído o valor zero a concentração original do analito na amostra. Da disposição dos pontos deve resultar uma reta. A extrapolação da reta ajustada irá apresentar na intercessão com o eixo das abscissas o valor negativo da concentração do analito na amostra (na solução da célula voltamétrica) (35), valor X na Figura 25.

Como as medidas com as soluções de referência são feitas em condições muito próximas das condições da amostra, o efeito de matriz é significativamente minimizado, ou seja, as interferências que afetam as medidas da corrente referente ao analito presente na amostra afetarão da mesma maneira as medidas das correntes referentes ao analito mais as alíquotas da solução de concentração conhecida sucessivamente adicionadas sobre a solução da amostra.

Nesse método haverá sempre a necessidade de se ter a idéia da quantidade que deve estar presente na amostra, para que a quantidade de analito a ser adicionado apresente uma linearidade mínima para que seja possível fazer o ajuste da curva. Devido a isso, apesar de ser um método bastante confiável, torna praticamente inviável sua aplicação em análise de rotina. Por esse motivo, neste trabalho apesar de eventuais dificuldades procurou-se evitar a utilização desse método.

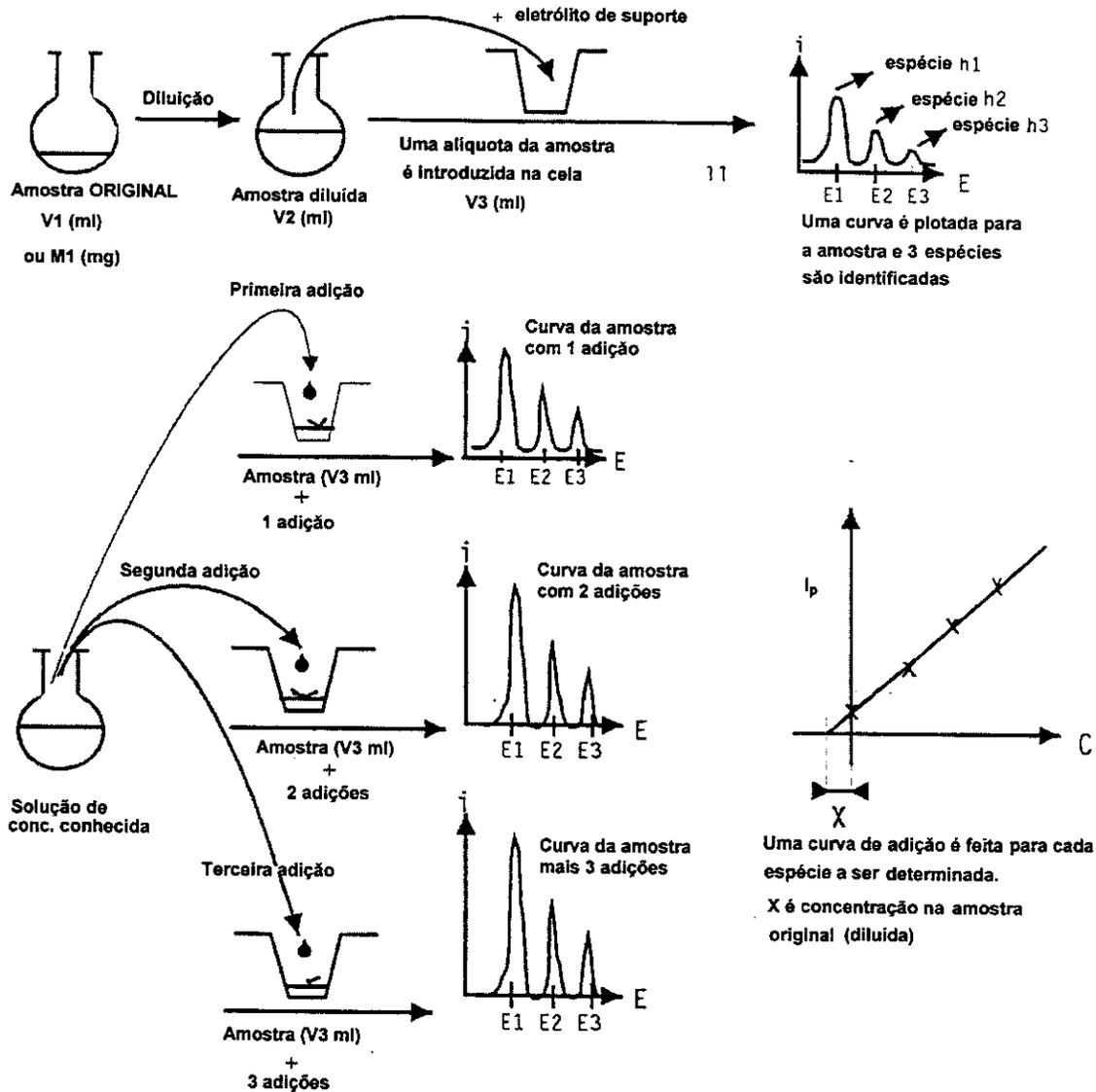


Figura 25. Esquematização de processo de obtenção de curva de adição de padrão utilizada em voltametria (65).

5.11 Determinação de Pb e Cd, sem extração

Com base no estudo de interferentes resolveu-se aplicar o método proposto à determinação conjunta de Pb^{2+} e Cd^{2+} , porque estes íons respondiam de forma similar à ação dos interferentes. Na análise de amostras de plantas, verificou-se que, dentre os interferentes testados, apenas o Al^{3+} estaria em proporção suficientemente alta para interferir na determinação direta destes íons. A ação prejudicial do Al^{3+} ao método

proposto foi contornada pela adição de $600 \mu\text{g L}^{-1}$ de Al^{3+} , tanto nas amostras como na curva analítica, levando a interferência de elemento ao platô mencionado no item 5.6. Contornada esta situação aplicou-se o método à determinação de Pb^{2+} e Cd^{2+} em três amostras de referência do programa interlaboratorial International Plant-Analytical Exchange Programme (IPE) (67,68) e em duas amostras certificadas, como pode ser visto na Tabela 20.

TABELA 20– Resultados das amostras analisadas para determinação de Pb^{2+} e Cd^{2+} pelo método proposto.

Amostras	Pb^{2+} (mg kg^{-1})		Cd^{2+} (mg kg^{-1})	
	ASV ^a	Valor de referência ^b	ASV ^a	Valor de referência ^b
IPE (plantas) [ano]				
100 [1998]	$1,19 \pm 0,06$	$1,21 \pm 0,15$	ND	$0,08 \pm 0,02$
949 [2001]	$1,02 \pm 0,01$	$0,96 \pm 0,09$	$0,38 \pm 0,01$	$0,42 \pm 0,03$
950 [2001]	$3,43 \pm 0,03$	$3,51 \pm 0,55$	$1,02 \pm 0,02$	$1,02 \pm 0,06$
Certificadas		Valor certificado		Valor certificado
pig kidney ^c CRM 186	ND	$0,306 \pm 0,012$	$2,74 \pm 0,34$	$2,54 \pm 0,09$
rye grass ^c CRM 281	$2,35 \pm 0,08$	$2,38 \pm 0,11$	ND	$0,12 \pm 0,004$

^a amostras analisadas em triplicata pelo método proposto; ^b Medianas e desvio absoluto para as amostras do programa IPE; ^c massa da amostra 250 mg; ND não detectado pelo método.

As médias das amostras não podem ser consideradas diferentes a um nível de 95% de confiança. A aplicação do método à amostra de “pig kidney” deveu-se a não obtenção de amostra certificada de plantas com concentração de cádmio suficiente para possibilitasse a validação do método.

5.12 Determinação de Zn, Cd, Pb e Cu com extração.

Do estudo de interferentes verificou-se que seria praticamente impossível a aplicação deste método à determinação direta e simultânea dos quatro íons de interesse, sem incluir uma etapa de extração após a digestão da amostra ou adição de analito.

Ambas as hipóteses apresentavam vantagens e desvantagens bastante interessantes. A desvantagem de se inserir uma etapa de extração será o aumento do tempo de análise, aumento do risco de contaminação e aumento da complexidade de se executar o método. A vantagem seria que, além da eliminação de alguns interferentes, o mesmo tratamento poderia ser aplicado a todas as amostras indistintamente. Para o método de adição de analito havia a desvantagem do método torna-se limitado a amostras com conhecida (ou pelo menos estimada) concentrações, também demandaria tempo, pois cada amostra teria sua própria “curva de analítica”. Outra desvantagem é que cada amostra teria um tratamento diferenciado dependendo da concentração esperada. A vantagem é que o método é bastante confiável e tornaria a execução do método proposto bastante simples.

Resolveu-se aplicar o método da extração pela padronização que pode ser aplicada ao método. O impacto que a inclusão de mais uma etapa produz no tempo de análise é plenamente compensado pela praticidade em se determinar todos os íons de interesse simultaneamente. Além disto se comparado com a técnica mais usada para determinar esses íons em nível de traços, a ETAAS, o tempo de análise ainda assim seria bem menor.

Para aplicação deste método utilizou-se uma amostra certificada de “pond sediment” R-38-’82(69) e outra de “pepperbush” R-18-’80 (70) e três amostra de referência do programa interlaboratorial da IPE (68,71). Os resultados são apresentados na Tabela 21.

TABELA 21 – Resultados das amostras analisadas para Pb²⁺, Cd²⁺, Zn²⁺, e Cu²⁺ pelo método proposto, com extração.

Amostras	Zn ²⁺ (mg kg ⁻¹)		Cd ²⁺ (mg kg ⁻¹)		Pb ²⁺ (mg kg ⁻¹)		Cu ²⁺ (mg kg ⁻¹)	
	ASV ^a	Valor de referência ^b						
157 [2001]	86,19±1,81	87,6±4,66	0,20±0,01	0,20±0,02	5,74±0,04	5,76±0,69	8,30±1,23	8,63±0,84
133 [2003]	49,3±0,6	48,0±2,1	0,24±0,01	0,26±0,02	0,96±0,05	0,92±0,06	6,61±0,46	6,58±0,40
885 [2003]	62,6±3,8	61,8±3,2	0,42±0,01	0,43±0,02	2,72±0,14	2,80±0,15	11,5±0,7	11,1±0,7
949 [2003]	108,2±0,6	107,0±5,3	0,43±0,01	0,42±0,02	0,96±0,01	0,95±0,08	7,15±0,27	6,75±0,38
Certificadas		Valor certificado		Valor certificado		Valor certificado		Valor certificado
pond sediment R-38-'82	338±14	343±17	0,82±0,05	0,82±0,06	111±7	105±6	208±12	210±12
pepperbush 5-18-'80	343±2	340±20	6,8±0,2	6,7±0,5	5,5±0,2	5,5±0,8	13,1±0,6	12±1

^a = amostras analisadas em triplicata pelo método proposto; ^b Medianas e desvio absoluto para as amostras do programa IPE.

As médias das amostras não podem ser consideradas diferentes a um nível de 95% de confiança. A Tabela 21, juntamente com a Tabela 20, mostram com clareza a versatilidade na aplicação do método em amostras biológicas e ambientais. A Figura 26, exemplifica o tipo de voltamograma obtido na análise de amostras reais, usando o HTSS.

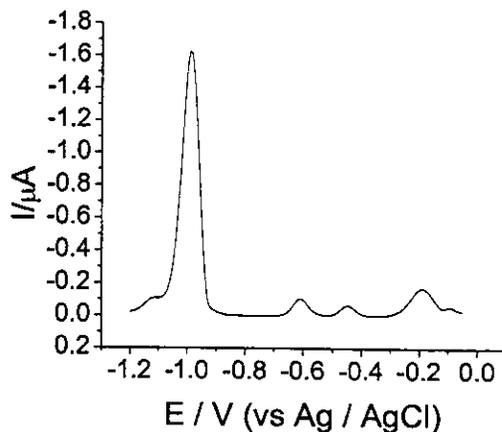


Figura 26 - Voltamograma de ASV da análise da amostra certificada “pepperbush”; com potencial de acumulação (E_a) de -1,2 V, velocidade de varredura de 16 mV s^{-1} , obtida no polarógrafo Radiometer.

Dependendo do tipo de amostras no qual se queira aplicar este método, ele pode ser bastante viável, seja pelo seu baixo limite de detecção, seja pelo tempo não muito longo quando comparado com o ETAAS. A vantagem sobre os ensaios realizados em ASV em meio aquoso, está na possibilidade de aplicar o método a várias amostras agroambientais. Quando o interesse é apenas a determinação de chumbo e cádmio o método torna-se bastante simples, porque o próprio HTSS pode ser preparado com pelo menos uma semana de antecedência a medida e o eletrólito de suporte pode ser preparado meses antes de se iniciar a análise. Por tudo isto se acredita que o desenvolvimento deste método possa vir a trazer luz ao estudo de sistemas não aquosos na determinação por ASV.

VI CONCLUSÕES

O planejamento “split-plot” permitiu a otimização das composições da mistura e variáveis de processo para o chumbo. Seu uso foi justificado pela constatação que há interação entre as variáveis de processo e de misturas em um HTSS, estas interações não seriam vistas, caso se tivesse feito apenas planejamento fatorial e estudo das variáveis de mistura, separadamente.

Com respeito à determinação de Pb^{2+} e Cd^{2+} , a otimização do método foi justificada, pela minimização da ação dos interferentes, uma vez que apenas o Al^{3+} afeta a determinação destes íons em amostras de plantas. Propiciando a determinação destes íons sem a necessidade de aplicação do método de adição de padrão. Podendo ainda ser aplicado a várias matrizes biológicas como sangue, urina e tecidos, como em amostras de alimentos como leite e bebidas em geral.

A inclusão de uma etapa de extração possibilitou a determinação multisequencial dos quatro íons de interesse, mostrando que esta etapa pode ser uma alternativa viável, na eliminação de interferentes, principalmente em amostras em que a extração ou separação dos interferentes é indispensável, por estes estarem em altas concentrações de interferentes (como é o caso de alumínio em amostras de sedimentos).

A faixa linear dinâmica é bastante longa (de 2 a 7000 $\mu g L^{-1}$ para Pb, de 2 a 7000 $\mu g L^{-1}$ para Cd, de 2 a 3000 $\mu g L^{-1}$ para Zn e de 2 a 4000 $\mu g L^{-1}$ para Cu), e o limite de detecção é baixo (0,50 $\mu g L^{-1}$ para Zn, 0,99 $\mu g L^{-1}$ para Cd, 0,77 $\mu g L^{-1}$ para o Pb e 0,99 $\mu g L^{-1}$ para o Cu), quando comparado aos métodos que aplicam a mesma técnica em determinações multisequenciais como Van Staden et al (2), Maxwell e Smyth (32), Wasiak (64), e Buldini (26). Este último, mesmo tendo um faixa linear dinâmica muito longa, apresenta limite de detecção maior que o do método proposto.

Devido extensão da faixa linear, dependendo do nível de concentração da amostra a ser analisada, pode-se simplesmente diminuir o tempo de acumulação em vez de se inserir uma etapa de diluição. Procedimento oposto pode ser utilizado quando há necessidade de se utilizar um limite de quantificação menor, sem que seja necessária a utilização de uma etapa de pré-concentração.

Outra importante contribuição advinda do método foi à descoberta da possibilidade de detecção do níquel por ASV em HTSS.

Os resultados obtidos vêm confirmar a validade do método otimizado dentro das limitações experimentais e mostrar a importância da implementação dos métodos estatísticos multivariados como ferramenta complementar da atividade de pesquisa em química analítica.

VII REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- 1 MERTZ, W; CORNATZER, W. E. **Newer Trace Elements in Nutrition**. New York: Marcel Dekker, Inc., 1971. 438p.
- 2 van STADEN, J.F.; MATOETOE, M. C. Simultaneous determination of copper, lead, cadmium and zinc using differential pulse anodic stripping voltammetry in a flow system.: **Analytica Chimica Acta**, v. 411, p. 201-207, 2000.
- 3 RUPP, E.B.; ZUMAN, P.; SESTAKOVA, I.; HORAK, V. Polarographic determination of some pesticides. Application to a study of their adsorption on lignin. **Journal of Agricultural and Food Chemistry**, v. 40, p. 2016-2021, 1992.
- 4 SILVA, F.; MOURA, C. Adsorption of environmentally important metal ions on solid particles. I. Anodic-stripping voltammetry in the presence of solid particles. **Analyst**, v. 119, p. 759-762, 1994.
- 5 KOLTHOFF, I. M.; LINGANE, I. J. **Polarography**, 2 ed. New York: Interscience Publishers, v.1, 1965. 420p.
- 6 BJELICA, L. J.; JOVANOVIĆ, L. S.; REHÁK, N. L. Some peculiarities observed in voltammetric studies of different glassy-carbon electrodes in nonaqueous media. **Electroanalysis**, v. 7, n.10, p. 990-996, 1995.
- 7 GADOMSKA, J.; STOJEK, Z. : Slow formation of an extra-viscous ionic layer at platinum microelectrodes during voltammetric oxidation of undiluted dimethylformamide. **Electroanalysis**, v.10 , p. 307-311, 1998.
- 8 ANDRADE, J. C.; ALMEIDA, A. M.; COSCIONE , A. R.; ALEIXO, L. M. Determination of molybdenum in steel by adsorptive stripping voltammetry in a homogeneous ternary solvent system. **Analyst**, v. 126, n. 6, p 892-896, 2001.
- 9 SEILER, H. G.; SIGEL, H.; SIGEL , A. **Handbook on Toxicity of Inorganic Compounds**. New York: Marcel Dekker, Inc. , 1988. 1068p.

- 10 EMSLEY, J. **The elements**. 2 ed. Oxford: Clarendon Press, 1991. 251p.
- 11 ULLMANN, F. **Encyclopedia of Industrial Chemistry**. Gerhartz, W. et al. (Ed.) Weinheim: VCH; v. A15, A16 e B5, 1985.
- 12 CARTER, D. E.; FERNANDO, Q. Chemical Toxicology: Part II. Metal Toxicity. **Journal of Chemical Education**, v. 56, n. 8, p 490-495, 1979.
- 13 WANG, C.; IMAHORI, T.; TANAKA, Y. ; SAKUTA, T. ; Takikawa, H.; MATSUO, H. Synthesis of fullerenes from carbon powder by using high power induction thermal power". **Thin Solid Films**, v. 390, p. 31-36, 2001.
- 14 MANAHAN, S. E. **Toxicological Chemistry a guide to substances in chemistry**, 2 ed. Chelsea: Lewis Publishers, Inc., 989 317 p.
- 15 TSALEV, D. L.; ZAPRIANOV, Z. K. **Atomic Absorption Spectrometry in Occupational and Environmental Health Practice**. v.1 Boca Raton: CRC Press Inc., v.3, 1984. 349p.
- 16 SNELL, F. D.; ETTRE, L. S. **Encyclopedia of Industrial Chemical Analysis**. New York: Interscience Publishers, 1970.
- 17 AYLETT, B. J. **The Chemistry of Zinc, Cadmium and Mercury**. New York: Pergamon Press, 1973. 142p.
- 18 RODELLA A. A. **Determinação espectrofotométrica automatizada de cobre e zinco em amostras de interesse agroindustrial por métodos cinéticos**. Tese de Doutorado. Universidade Estadual de Campinas, Instituto de Química, Campinas, SP : [s.n.], 1993. 147p.
- 19 ANDRIGHETTO, J. M. et al., **Nutrição Animal: Vol. 1 – As bases e os fundamentos da nutrição animal – Alimentos**. São Paulo: Livraria Nobel, 2002. 395p.
- 20 UNDERWOOD, E. J., **Trace Elements in Human and Animal Nutrition**. 4 ed. New York: Academic Press, Inc., 1977. 545p.
- 21 NAGOSA, Y.; MIZUYUKI, T. Determination of Cu(II) and Ni (II) as chelates with butyl xanthate by liquid chromatography with electrochemical and

- spectrophotometric detection. **Analytica Chimica Acta**, v. 331, p. 225-229, 1995.
- 22 LU, H.; MOU, S.; YAN, Y.; TONG, S.; RIVIELLO, J. M. On-line pretreatment and determination of Pb, Cu and Cd at the $\mu\text{g L}^{-1}$ in drinking water by chelation ion chromatography. **Journal of Chromatography A**, v. 800, p. 247-255, 1998.
- 23 CARDELLICCHIO, N.; CAVALLI, S.; RAGONE, P.; RIVIELLO, J. M. New strategies for determination of transition metals by complexation ion-exchange chromatography and post column reaction. **Journal of Chromatography A**, v. 847, p. 251-259, 1999.
- 24 LAU, O. W.; HO, S. Y. Simultaneous determination of traces of iron, cobalt, nickel, copper, mercury and lead in water by energy-dispersive x-ray-fluorescence spectrometry after preconcentration as their piperazino-1,4-bis(dithiocarbamate) complexes. **Analytica Chimica Acta**, v. 280, p. 269-277, 1993.
- 25 LIU, R. M.; LIU, D. J.; SUN, A. L. Simultaneous determination of multicomponents by flow-injection analysis - determination of copper and zinc in serum by using zincon as coloring reagent. **Talanta**, v. 40, p. 511-514, 1993.
- 26 BULDINI, P. L.; CAVALLI, S.; MEVOLI, A.; SHARMA, J. L.; Ion chromatographic and voltammetric determination of heavy and transition metal in honey; **Food Chemistry**, p. 73, 487-495, 2001.
- 27 ALVAREZ, J. R. E.; MONTERO, A. A.; JIMÉNEZ, N. H.; MUÑIZ, U. O.; PADILLA, A. R.; MOLINA, R. J.; VERA, S. Q. Nuclear and related analytical methods applied to the determination of Cr, Ni, Cu, Zn, Cd and Pb in a red ferralitic soil and sorghum samples. **Journal of Radioanalytical and Nuclear Chemistry**, v. 247, p. 479-486, 2001.
- 28 GHONEIM, M. M.; HASSANEIN, A. M.; HAMMAM, E.; BELTAGI, A. M. Simultaneous determination of Cd, Pb, Cu, Sb, Bi, Se, Zn, Mn, Ni, Co and Fe in water samples by differential pulse stripping voltammetry at hanging mercury drop electrode. **Fresenius: Journal of Analytical Chemistry**, v. 367, p. 378-383, 2000.

- 29 STOICA, A.; CAPOTA, P.; BAIULESCU, G. E. Determination of copper, cadmium, zinc and lead in Arges River in Romania during four seasons by inductively coupled plasma atomic emission spectrometry and anodic stripping voltammetry. **Analytical Letters**, v. 33, p. 3025-3035, 2000.
- 30 GUNKEL, P.; FABRE, B.; PRADO, G.; BALITEAU, J.Y. Ion chromatographic and voltammetric determination of heavy metals in soils. Comparison with atomic emission spectroscopy. **Analusis**, v. 27, p. 823-828, 1999.
- 31 ALVAREZ, E. A.; MOCHÓN, M. C.; SÁNCHEZ, J. C. J.; RODRÍGUEZ, M. T.; A voltammetry procedure with medium exchange for the speciation of heavy metals in wastewater of a sewage treatment plant. **Electroanalysis**, v. 10, p. 917-920, 1998.
- 32 MAXWELL, T. J.; SMYTH, W. F. A study of the stripping voltammetric behavior of selected metal chelates and its application to automated analysis of river waters. **Electroanalysis**, v. 8, p. 795-802, 1995.
- 33 ZUMAN, P. Polarography in solution of some problems in organic chemistry: recent applications. **Microchemical Journal** v. 72, p. 241-250, 2002.
- 34 WANG, J. **Stripping Analysis: Principles, Instrumentation, and Applications**". Deerfield Beach: VCH Publishers, Inc., 1985, 160p.
- 35 ALEIXO, L. M. **Voltametria: Conceitos e Técnicas**. Disponível em <<http://www.chemkeys.com>>. Acesso em: 08 jul. 2004.
- 36 SKOOG, D. A.; HOLLER, F.J.; NIEMAN, T. A. **Princípios de Análise**, Tradução Ignez Caracelli et al. 5 ed. Porto Alegre: Bookman, 2002. 836p.
- 37 SOUZA, D.; MACHADO, S. A. S.; AVACA, L. A. Voltametria de onda quadrada. Primeira parte: Aspectos Teóricos, **Química Nova**, v. 26, p. 81-89, 2003.
- 38 PLAMBECK J. A. **Electroanalytical Chemistry: Basic principles and applications**; New York: John Wiley & Sons, 1982. 404p.
- 39 MARCUS Y., **Ion Solvation**, Jesusalém: John Wiley & Sons Limited, 1985. p.306.

- 40 CHENG, Y. F.; SCHIFFRIN, D. J. A study of 2-heptanone and 2-octanone as solvents for two-phase electrochemistry 1: Simple ion transfers. **Journal of Electroanalytical Chemistry**, v. 409, p. 9-14, 1996
- 41 MORESSI, M. B.; ZÓN M. A.; FERNÁNDEZ, H. Electrochemical and spectroscopic studies of the TMPD/TMPD⁺ redox couple in non-aqueous binary solvent mixtures by using ultramicroelectrodes. Role of the preferential solvation phenomenon. **Electrochimica Acta**, v. 42, p. 303-314, 1997.
- 42 SWEENEY, B. K.; PETERS, D.G. Cyclic voltammetric study of the catalytic behavior of nickel (I) salen electrogenerated at a glassy carbon electrode in an ionic liquid (1-butyl-3-methylimidazolium tetrafluoroborate, BMIM+BF₄). **Electrochemistry Communications**. v. 3, p. 712-715. 2001
- 43 GERALDO, M. D. ; MONTENEGRO, M. I. Electroanalytical determination of styrene in acrylonitrile-butadiene-styrene copolymers”, **Electroanalysis**, v. 9, p. 877-879. 1997
- 44 MEITE, L. **Polarography techniques**, 2 ed. New York: Wiley, 1965. 752p.
- 45 AZNÁREZ, J.; VIDAL, J. C.; RABADÁN J. M., Anodic-stripping voltammetry of metal complexes in nonaqueous media after extraction determination of copper with salicylaldehyde. **Analyst**, v. 111, p. 619-624, 1986.
- 46 BOX, G. E. P.; HUNTER, W. G.; HUNTER, J. S. **Statistics for experimenters: An introduction to design, data analysis and model building**. New York: Wiley, 1978. 653p.
- 47 ANDERSON, R. L.; BANCROFT, T. A. **Statistical Theory in Research**, New York: McGraw-Hill, 1952. 399p.
- 48 BENÍCIO B.N., SCARMINIO I.S., BRUNS R.E.; **Planejamento e Otimização de Experimentos**, Campinas: Editora da Unicamp, 1995. 299p.
- 49 WOODING, W. M. The “split-plot” Design. **Journal of Quality. Technology**, v. 5 p 16-33, 1973.

- 50 KOWALSKI, S. M.; CORNELL, J. A.; VINING, G. G. Split-plot designs and estimation methods for mixture experiments with process variables. **Technometrics**, v. 44, p. 72-79, 2002.
- 51 SCHEFFÉ, H. The Simplex centroid design for experiments with mixtures. **Journal of the Royal Statistical Society Series B: Statistical Methodology**, v. 25, p. 235-263, 1963.
- 52 CORNELL, J. A. Experiments with mixtures: A Review. **Tecnhometrics**, v. 15 p. 437, 1973.
- 53 REIS, C; ANDRADE, J. C., BRUNS, R. E.; MORAN, R. C. C. P. Application of the "split-plot" experimental design for the optimization of a catalytic procedure for the determination of Cr(VI). **Analytica Chimica Acta.**, v. 369, p. 269-279, 1998.
54. CORNELL, J. A., Analyzing data from mixture experiments containing process variables: A "split-plot" Approach. **Journal of Quality Technology**, v. 20, p. 2-23, 1988.
- 55 MONTGOMERY, D. C. **Design and Analysis of Experiments**. Singapore: John Wiley & Sons, Inc., 1991, 293p.
56. BORTOLOTTI, J. A.; ANDRADE, J. C.; BRUNS, R.; VIEIRA, R. K.; Split-plot Design Optimization for Trace Determination of Lead by Anodic Stripping Voltammetry in a Homogeneous Ternary Solvent System. **Chemometric And Intelligent Laboratory Systems.** , v.70, p.113 - 121, 2004.
- 57 OPYDO, J. Determination of aluminium in tree samples by cathodic adsorptive stripping voltammetry. **Talanta**, v. 44, p. 1081-1086, 1997.
- 58 PEREIRA, M. G.; PEREIRA, E. R.; BERNDT H; ARRUDA M. A. Z. Determination of cadmium and lead at low levels by using preconcentration at fullerene coupled to thermospray flame furnace atomic absorption spectrometry. **Spectrochimica Acta Part B: Atomic Spectroscopy**, v. 59, p. 515-521, 2004.
- 59 Method 3051: SW 846 Manual – Disponível em: <<http://www.epa.gov/epaoswer/hazwaste/test/main.htm>>. Acesso em: 08 de jul. 2004.

- 60 MCLAREN, J. W.; BERMAN, S. S.; BOYKO, V.J.; RUSSELL, D. S. Simultaneous determination of major, minor, and trace elements in marine sediments by inductively coupled plasma atomic emission spectrometry. **Analytical Chemistry**, v. 53, p. 1802-1806, 1981.
- 61 ANDRADE, J. C.; ROCHA, J. C.; PASQUINI, C.; BACCAN, N.; Effect of on-line complex formation kinetics on the flow injection analysis signal: the spectrophotometric determination of chromium (VI). **Analyst**, 108, 621, 1983.
- 62 J. Wang, Anodic stripping voltammetry as an analytical tool. **Environmental Science and Technology**, v. 16, p. 104A - 109A, 1986.
- 63 MILLER, J.C.; MILLER, J.N. **Statistics for Analytical Chemistry**. 3 ed. New York: Ellis Horwood Limited, 1993. 233p.
- 64 WASIAK, W.; CISZEWSKA, W.; CISZEWSKI, A. Hair analysis. Part 1: Differential pulse anodic stripping voltammetric determination of lead, cadmium, zinc and copper in human hair samples of persons in permanent contact with a polluted workplace environment. **Analytica Chimica Acta**, v. 335, p. 201-207, 1996.
- 65 User's Manual: MDE 150 Polarographic Stand. Radiometer Copenhagen.
- 66 HORNG, C. J. Simultaneous determination of urinary zinc, cadmium, lead and copper concentrations in steel production workers by differential pulse anodic stripping voltammetry, **Analyst**, v. 121, p 1511-1514, 1996.
- 67 International Plant-Analytical Exchange Programme (IPE). Annual Report, Wageningen University, The Netherlands, 1998.
- 68 International Plant-Analytical Exchange Programme (IPE). Annual Report, Wageningen University, The Netherlands, 2001.
- 69 Research Report from the National Institute for Environmental Studies, Japan, No. 38, 1982.
- 70 Research Report from the National Institute for Environmental Studies, Japan, No. 18, 1980.

PROTOCOLO ANALÍTICO

Protocolo analítico desenvolvido para a determinação de Pb, Cd, Zn e Cu em amostras de plantas por voltametria de redissolução anódica

Este protocolo será dividido em duas partes. A primeira referisse a determinação de chumbo e cádmio e a segunda parte à determinação simultânea de chumbo, cádmio, zinco e cobre, com extração pós-abertura das amostras.

Primeira Parte

1.1 Preparo das soluções e dos padrões para a determinação de Pb^{2+} e Cd^{2+} , sem extração.

Solução aquosa do HTSS (com eletrólito de suporte). Em uma balança com precisão de pelo menos 0,1g, tarar um béquer de 300 mL. Em seguida transferir 50 g de água deionizada, adicionar 19,27 g de acetato de amônio, e agitar a solução com um bastão de vidro até completa homogeneização. Logo após, adicionar mais 1,7 mL de ácido clorídrico concentrado (12 mol L^{-1}) e completar a massa a 250 g com água deionizada. **A solução final terá 1 mol kg^{-1} de Acetato de amônio e $8,8 \times 10^{-2} \text{ mol kg}^{-1}$ de ácido clorídrico.**

Sistema Ternário Homogêneo de Solventes. A quantidade de HTSS dependerá da quantidade de amostras a ser investigada. No entanto, a proporção de mistura deverá ser de 52% m/m etanol, 36% m/m DMF e 12% m/m solução aquosa.

Solução de trabalho de Pb^{2+} 50,0 $\mu\text{g/mL}$. Com uma pipeta volumétrica ou automática, transferir 2,50 mL da solução padrão estoque de cádmio (1000 $\mu\text{g/mL}$) para um balão volumétrico de 50,0 mL e completar o volume com água deionizada.

Solução de trabalho de Cd^{2+} 50,0 mg L⁻¹. Com uma pipeta volumétrica ou automática, transferir 2,50 mL da solução padrão estoque de chumbo (1000 mg L⁻¹) para um balão volumétrico de 50,0 mL e completar o volume com água deionizada.

Solução de uso diário com 1,0 mg L⁻¹ de Pb^{2+} e Cd^{2+} . Com uma pipeta volumétrica ou automática, transferir 1,00 mL da solução de trabalho de chumbo (50 mg L⁻¹) e 1,0 mL da solução contendo cádmio (50 mg L⁻¹) para um balão volumétrico de 50,0 mL e completar o volume com água deionizada.

1.2. Abertura em microondas para a determinação de Pb^{2+} e Cd^{2+} , sem extração.

A massa utilizada de amostra é de aproximadamente 0,4 g. A abertura da amostra inicia-se com uma pré-digestão em que adiciona-se 7 mL de ácido nítrico e deixá-se em repouso por 16 h, 2 h antes de iniciar a digestão adiciona-se 3 mL de água oxigenada.

O programa de abertura, quando aplicado em um forno de microonda DGT 100 Plus, nas seguintes etapas: 2 min com 230 W, 3 min com 430 W, 5 min com 600 W e 5 min com 850 W.

Após a abertura as amostras são transferidas para béqueres de 80 mL com a menor quantidade de água possível, depois são levadas até a secura, para retirada do ácido e da água oxigenada residuais.

A seguir, os resíduos são redissolvidos com 10 mL do HTSS e filtrados quantitativamente. O material utilizado na mineralização e o resíduo retido no filtro são lavados com outros 11 mL da solução do HTSS. O filtrado deve ser recolhido em balão volumétrico de 25,0 mL e ter o seu volume completado com solução do HTSS.

1.3. Levantamento da curva analítica para a determinação de Pb^{2+} e Cd^{2+} , sem extração.

Na obtenção da curva analítica deve seguir rigorosamente a mesma sistemática adotada no preparo das amostras, **após a etapa de secagem e redissolução.**

Adicionar 10 mL de mistura HTSS a célula, 10 μ L de solução estoque (1000 mg/L) de Al^{3+} e os volumes listadas no Quadro 1.3.1. Cada aplicação de solução de trabalho deve ser feita para uma única quantidade de 10 mL adicionado a célula.

Quadro 1.3.1. Volumes da solução de preparo e uso diário de Pb^{2+} e Cd^{2+} utilizados na obtenção da curva analítica por corrida e as respectivas concentrações finais na célula de 10 mL.

Volume da solução 1 mg L ⁻¹ de Pb^{2+} e Cd^{2+} μ L	0	0	0	20	80	40	20
Concentração de Pb^{2+} e Cd^{2+} na célula (μ g L ⁻¹)	,0	,0	,0	2,0	8,0	4,0	2,0

Em seguida, mergulhar os eletrodos na célula voltamétrica e acionar o programa de leitura, o que é feito, no caso do equipamento Radiometer, clicando sobre a seta vermelha na barra de ferramentas na parte superior da tela. O programa acionado inclui as seguintes etapas: tempo de purga de 300 s, velocidade de rotação em 400 rpm., tempo de acumulação de 300 s, tempo de 0,5 s para o crescimento da gota, pulsos em intervalos de 40 ms com amplitude em -50 mV.

Durante a execução da etapa de varredura o programa começa a traçar um gráfico de corrente (i em nA) contra potencial (E em mV). O programa finaliza com a obtenção completa do voltamograma em um gráfico potencial (E = mV)

contra corrente ($i = nA$). Após a varredura o programa irá solicitar um nome para o gráfico, para que o mesmo seja salvo. Recomenda-se criar um nome que ajude na identificação amostra ou do ponto da curva analítica. Os potenciais de pico dos íons de interesse são apresentados no Quadro 1.3.2 e vistos durante a varredura de potencial. Esses potenciais serão usados para elaborar a curva analítica em cada um dos pontos apresentados no Quadro 3.1, para cada um dos íons de interesse.

Assim, colocam-se os resultados em um gráfico de corrente de pico (i_p) contra valores de concentração de um dos íons na célula voltamétrica e ajusta-se a curva, o que geralmente é feito utilizando-se o software Origin 5.0 ou superior. Dependendo do grau de impureza presente na célula, recomenda-se a subtração do branco. Este procedimento deve ser feito para todos os íons a serem determinados.

Segunda Parte

2.1 Preparo das soluções e dos padrões para a determinação simultânea de Pb^{2+} , Cd^{2+} , Zn^{2+} e Cu^{2+} , com extração.

Solução de 50% m/v de citrato de amônio. São dissolvidos 100,59 g de ácido cítrico em 95,74 mL de uma solução de amônia concentrada (15 mol L^{-1}) e o volume foi completado para 250,0 mL com água deionizada em um balão volumétrico.

Solução de 1% m/v de dietilditiocarbamato de sódio. São pesados 2,50 g de dietilditiocarbamato de sódio e dissolvidos com etanol para 250,0 mL em um balão volumétrico também com etanol.

Solução aquosa do HTSS (com eletrólito de suporte). Em uma balança com precisão de pelo menos 0,1g, tarar um béquer de 300 mL. Em seguida transferir 50 g de água deionizada, adicionar 19,27 g de acetato de amônio,

agitar a solução com um bastão de vidro até completa homogeneização. Logo após, adicionar mais 1,7 mL de ácido clorídrico concentrado (12 mol L^{-1}) e completar a massa de 250 g. A solução final terá 1 mol kg^{-1} de acetato de amônio e $8,8 \times 10^{-2} \text{ mol kg}^{-1}$ de ácido clorídrico.

Sistema Ternário Homogêneo de Solventes. A quantidade de HTSS dependerá da quantidade de amostras a ser investigada, no entanto, a proporção de mistura deverá ser de 52% m/m etanol, 36% m/m DMF e 12% m/m solução aquosa.

Solução de trabalho de Pb^{2+} $50,0 \text{ } \mu\text{g mL}^{-1}$. Com uma pipeta volumétrica ou automática, transferir 2,50 mL da solução padrão estoque de chumbo ($1000 \text{ } \mu\text{g/mL}$) para um balão volumétrico de 50,0 mL e completar o volume com água deionizada.

Solução de trabalho de Cd^{2+} $50,0 \text{ mg L}^{-1}$. Com uma pipeta volumétrica ou automática, transferir 2,5 mL da solução padrão estoque de cádmio (1000 mg L^{-1}) para um balão volumétrico de 50,0 mL e completar o volume com água deionizada.

Solução de trabalho de Zn^{2+} $100,0 \text{ mg L}^{-1}$. Com uma pipeta volumétrica ou automática, transferir 5,0 mL da solução padrão estoque de zinco (1000 mg L^{-1}) para um balão volumétrico de 50,0 mL e completar o volume com água deionizada.

Solução de trabalho de Cu^{2+} $10,0 \text{ mg L}^{-1}$. Com uma pipeta volumétrica ou automática, transferir 0,5 mL da solução padrão estoque de cobre (1000 mg L^{-1}) para um balão volumétrico de 50,0 mL e completar o volume com água deionizada.

Solução de uso diário com $1,0 \text{ mg L}^{-1}$ de Pb^{2+} , $1,0 \text{ mg L}^{-1}$ de Cd^{2+} , 100 mg L^{-1} de Zn^{2+} e 10 mg L^{-1} de Cu^{2+} . Com uma pipeta volumétrica ou automática, transferir 1,00 mL da solução de trabalho de chumbo (50 mg L^{-1}), 1,0 mL da solução contendo cádmio (50 mg L^{-1}), 5,0 mL de solução padrão de

zinco (1000 mg L^{-1}) e $0,5 \text{ mL}$ de solução padrão de cobre (1000 mg L^{-1}) para um balão volumétrico de $50,0 \text{ mL}$ e completar o volume com água deionizada.

2.2. Abertura em microondas para a determinação simultânea de Pb^{2+} , Cd^{2+} , Zn^{2+} e Cu^{2+} , com extração.

A massa utilizada de amostra é de aproximadamente $0,4 \text{ g}$. A abertura da amostra inicia-se com uma pré-digestão em que se adiciona 7 mL de ácido nítrico e deixá-se em repouso por 16 h , 2 h antes de iniciar a digestão adiciona-se 3 mL de água oxigenada.

O programa de abertura, quando aplicado a um forno de microondas DGT 100 Plus, com as seguintes etapas: 2 min com 230 W , 3 min com 430 W , 5 min com 600 W e 5 min com 850 W .

Após a abertura as amostras são transferidas para um béquer de 200 mL , usando-se aproximadamente 90 mL de água deionizada. Em seguida, são adicionados $20,00 \text{ mL}$ de uma solução de 50% (m/v) de citrato de amônio. O pH da solução deve ser ajustado para $9,5$ com a adição de uma solução de amônia concentrada (15 mol L^{-1}). Esta solução é transferida para um funil de separação de 250 mL .

Na seqüência, são adicionados $20,00 \text{ mL}$ de uma solução de dietilditiocarbamato de sódio 1% m/v e $20,00 \text{ mL}$ de metilisobutilcetona (MIC) ao funil de separação. A mistura deve ser agitada vigorosamente por 2 minutos e deixada em repouso por 10 minutos . Em seguida, a fase aquosa é despejada em um béquer de 200 mL . A fase orgânica é armazenada em um outro béquer de 100 mL . A fase aquosa é então retornada ao funil de separação e são adicionados $10,00 \text{ mL}$ de MIC, a mistura é novamente agitada por 2 minutos e deixada em repouso por mais 10 minutos . A fase aquosa é descartada e a fase orgânica adicionada ao béquer com a fase orgânica da separação anterior.

A fase orgânica deve ser aquecida em uma chapa de aquecimento (aproximadamente 70 °C) até secura. Em seguida, adiciona-se 10,00 mL de ácido nítrico e é aquecida até a secura. Novamente, são adicionados 10,00 mL de ácido nítrico e 5,00 mL de água oxigenada. Esta mistura reagia por 2 horas e após este tempo é aquecida até a secura. O resíduo é redissolvido com o HTSS e o volume completado em um balão volumétrico de 25,0 mL.

3.3. Levantamento da curva analítica para a determinação simultânea de Pb^{2+} , Cd^{2+} , Zn^{2+} e Cu^{2+} , com extração.

Na obtenção da curva analítica deve seguir rigorosamente a mesma sistemática adotada no preparo das amostras, **após a etapa de secagem e redissolução.**

Adicionar 10 mL de mistura HTSS a célula e, os volumes listadas no Quadro 2.3.1. Cada aplicação de solução de uso diário deve ser feita para uma única quantidade de 10 mL adicionado a célula, como indicado no Quadro a seguir.

Quadro 2.3.1. Volumes da solução de preparo e uso diário de Pb^{2+} e Cd^{2+} Zn^{2+} e Cu^{2+} utilizados na obtenção da curva analítica por corrida e, as respectivas concentrações finais na célula de 10 mL.

Volume da solução de uso diário de Pb^{2+} e Cd^{2+} Zn^{2+} e Cu^{2+} μL	0	0	0	20	80	40	20
Concentração de Pb^{2+} e Cd^{2+} na célula ($\mu g L^{-1}$)	,0	,0	,0	2,0	8,0	4,0	2,0
Concentração de Zn^{2+} na célula ($\mu g L^{-1}$)	00	00	00	200	800	400	200
Concentração de Cu^{2+} na célula ($\mu g L^{-1}$)	0	0	0	20	80	40	20

Em seguida, mergulhar os eletrodos na célula voltamétrica e acionar o programa de leitura, o que é feito, no caso do equipamento Radiometer, clicando sobre a seta vermelha na barra de ferramentas na parte superior da tela. O programa acionado inclui as seguintes etapas: tempo de purga de 300 s, velocidade de rotação em 400 rpm, tempo de eletrólise em 300 s, tempo de 0,5 s para o crescimento da gota, pulsos em intervalos de 40 ms com amplitude em - 50 mV.

Durante a execução da etapa de varredura o programa começa a traçar um gráfico de corrente (i em nA) contra potencial (E em mV). O programa finaliza com a obtenção completa do voltamograma em um gráfico potencial ($E = \text{mV}$) contra corrente ($i = \text{nA}$). Após a varredura o programa irá solicitar um nome para o gráfico, para que o mesmo seja salvo. Recomenda-se criar um nome que ajude na identificação amostra ou do ponto da curva analítica. Os potenciais de pico dos íons de interesse são apresentados no Quadro 2.3.1 e apresentados durante a varredura de potencial. Esses potenciais serão usados para elaborar a curva analítica em cada um dos pontos apresentados no Quadro 3.1, para cada um dos íons de interesse.

Assim, colocam-se os resultados em um gráfico de corrente (i) contra valores de concentração de um dos íons na célula voltamétrica e ajusta-se a curva, o que geralmente é feito utilizando-se o software Origin 5.0 ou superior. Dependendo do grau de impureza presente na célula, recomenda-se a subtração do branco. Este procedimento deve ser feito para todos os íons a serem determinados.

Deste item em diante pode-se aplicar os procedimentos a ambos os métodos.

3. Leitura das amostras

Efetua-se as leituras das amostras de forma similar aos pontos da curva analítica, ou seja, pipeta-se e transfere para a célula voltamétrica 10,0 mL do HTSS. Em seguida, caso se estiver determinando apenas os íons Pb^{2+} e Cd^{2+} , adiciona-se à amostra mais 6 μL de solução estoque (1000 mg/L) de Al^{3+} . No cada da determinação multisequencial de Pb^{2+} , Cd^{2+} , Zn^{2+} e Cu^{2+} , este procedimento é desnecessário.

Os potenciais de pico das espécies de interesse, são apresentadas no Quadro 3.1. O valor de corrente relativo a estes potenciais serão utilizados para determinar o valor de concentração da amostra, para cada um dos íons de interesse, de acordo com a curva analítica elaborada.

Quadro 3.1. Potenciais de picos dos íons de interesse no HTSS.

Íons	HSTS
Zn (II)	-0,990 V
Cd (II)	-0,620 V
Pb (II)	-0,450 V
Cu (II)	-0,200 V

4. Cálculos para a concentração em $\mu\text{g kg}^{-1}$ de planta.

A curva analítica fornece uma equação do tipo $[\text{Pb(II)}]/(\mu\text{g/L})$ contra o sinal analítico corrente $i/(nA)$, e pela equação obtém-se a concentração de chumbo na amostra $[A]$.

$$[\text{planta}] = ([A]*25)/(M)$$

onde: 25 é o volume final da amostra mineralizada com o HTSS; M é a massa da amostra e $[A]$ é a concentração de chumbo na célula obtida a partir da

curva analítica. O mesmo procedimento deve ser adotado para cada um dos outros íons estudados.

6. Cuidados operacionais obrigatórios

Procedimento obrigatórios antes de ligar o equipamento

Limpeza da célula voltamétrica: A célula voltamétrica deve ser limpa antes e nos intervalos entre as determinações efetuadas para obtenção da curva analítica ou leitura das amostras. Para tanto, procede-se a uma limpeza com água deionizada em abundância, seguida por uma lavagem com uma solução de HNO₃ 10%, e finalizando com lavagens sucessivas com água deionizada em abundância, efetuadas com uma pisseta. Usar novamente a célula somente após estar completamente seca.

Limpeza dos eletrodos: Lavar os eletrodos com água deionizada em abundância utilizando uma pisseta, e seca-los bem com lenços de papel, que devem ser descartados após o uso. Esta limpeza deve ser efetuada com extremo cuidado.

7. Descrição e utilização do Polarógrafo Radiometer

O Polarógrafo

Algumas das medidas voltamétricas foram efetuadas em um polarógrafo Radiometer modelo POL 150 acoplado a um *stand* polarógrafo Radiometer modelo MDE 150(ver Figura 7.1), constituído por três eletrodos: o HMDE como eletrodo de trabalho; o eletrodo de Ag/AgCl, KCl saturado como eletrodo de referência e um fio de platina como eletrodo auxiliar (ver Figura 5, p.23). O

polarógrafo é acoplado a um microcomputador, que possui como software o programa Trace Master versão X9737-2.03, que é utilizado para o registro e aquisição das medidas.

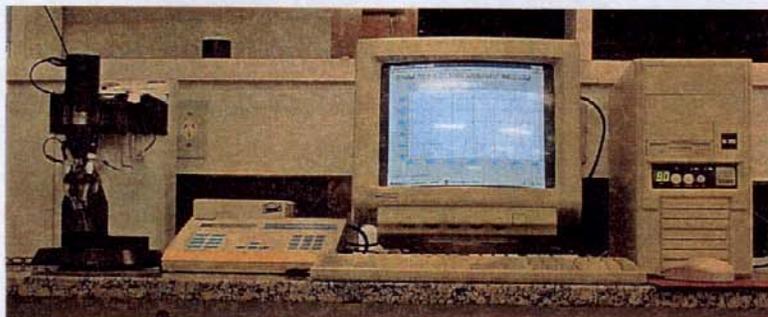


Figura 7.1. Foto do polarógrafo Radiometer utilizado neste trabalho.

A técnica empregada é a de voltametria de redissolução anódica de pulso diferencial, que está baseada na relação existente entre corrente e potencial, durante o processo de eletrólise, onde o potencial aplicado entre os eletrodos proporciona a redução ou oxidação de uma espécie química, ocorrendo todas essas etapas em uma célula eletroquímica composta pelo eletrodo de trabalho, onde ocorre à eletrólise, o eletrodo de referência, que mede o potencial referente ao eletrodo de trabalho e o eletrodo auxiliar. Os demais parâmetros são usuais e referem-se à amplitude de pulso e a velocidade de varredura, que foram mantidos em -50 mV e 5 mV s^{-1} , respectivamente.

Procedimento para ligar o polarógrafo

Ligando o polarógrafo.

Ligar o microcomputador, aguardando que todas as funções deste estejam ativas. Ligar a interface e o stand polarográfico, aguardando o OK para acionar o software Trace Master 5 para iniciar as determinações.

Ajuste da pressão de gás.

Abrir a válvula principal do gás nitrogênio, ajustar a pressão de saída do gás em 2,0 bar e a pressão do capilar de mercúrio em 0,6 bar. Ajustar manualmente o borbulhar de N₂ para desaere para que as bolhas saiam de modo contínuo e constante. Em seguida acesse o programa software Trace Master 5 que controla todas as ações e comandos do equipamento.

Utilização do software Trace Master 5

O Trace Master 5 é um programa da plataforma Windows, é iniciado via mouse com dois cliques sobre o seu ícone de apresentação. Assim que o programa é iniciado o operador deve 'abrir' o método com as condições ajustadas para a determinação do elemento de interesse, no caso o chumbo.

Definindo as condições do método:

Clique no ícone **Methods**, em seguida clique em **new**.

O programa irá apresentar uma janela com o título **Untitled 1**.

Clique novamente no ícone **Methods**, clicando em seguida em **save as**, irá aparecer uma janela onde o operador nomeará o método da forma mais prática possível, por exemplo: **PbAmos.blk**, a operação é concluída acionando-se a tecla **OK**.

As condições de operação do método são definidas para execução com o software, de acordo com as etapas a seguir:

Clique no ícone **Parameters**, clicando a seguir no ícone **Initial Data**. Ira aparecer uma janela em que o operador adicionara informações pertinentes ao método, a saber:

Title (informações a respeito do método de determinação) Ex:
(determinação de Pb(II) utilizando HTSS)

Chemical conditions (condições em que a determinação é efetuada) Ex:

(HTSS = DMF/etanol/Água)

Sample reference (Tipo de amostra a ser analisada) Ex: **(plantas)**

Operator (nome do operador) Ex: **(João)**

Os demais itens da janela não precisam ser preenchidos. Clique em **OK** e novamente clique **Parameters**, clicando a seguir em **Operations conditions**. Irá aparecer a janela onde quatro condições de operação serão inseridas para serem utilizadas na determinação, a saber:

Na janela **Operations conditions**, indique o eletrodo **MDE stand** e a técnica **ASV/CSV**. Em seguida clique no ícone **Cell parameters**. Nesta etapa serão ajustados os parâmetros de célula.

Na janela **Cell parameters** indique os seguintes parâmetros:

Em **Electrodes** indique : **Hanging Mercury Drop Electrode**.

Em **Number of drops** indique: **3**.

Em **Stirring rate (rpm)** indique: **400**.

Em **Purge time** indique: **300 s**.

Em **Electrolysis t.** indique: **300 s**.

Em **Waiting time** indique: **20 s**.

Em **Growth time** indique: **0.5 s**.

Clique em **OK** , o programa voltará a janela **Operations conditions**.

Clique novamente **OK** e salve o método.

Na janela **Signal parameters** indique os seguintes parâmetros:

Em **Technique** indique : **Differential pulse polarography**.

Em **Minimum current range** indique: **100 nA**.

Em **Maximum current range** indique: **1 mA**.

Em **E initial** indique: **-1200 mV**.

Em **E final** indique: **-100 mV**.

Em **Step duration** indique: **1 s**.

Em **Step amplitude** indique: **5 mV**.

Em **Pulse duration** indique: 40 ms.

Em **Pulse amplitude** indique: - 50 mV.

Clique em **OK**, o programa voltará à janela **Operations conditions**.

Clique novamente **OK** e, em seguida salve o método.

Verifique se todas as outras condições do equipamento estão em ordem.
Em caso afirmativo clique sobre o ícone seta vermelha cheia.

Caso já tenha iniciado a determinação e perceba que algo está errado clique no ícone “mão” e para parar imediatamente a análise, reiniciando o procedimento assim que o erro esteja corrigido.