UNIVERSIDADE ESTADUAL DE CAMPINAS
INSTITUTO DE QUÍMICA
DEPARTAMENTO DE QUÍMICA ANALÍTICA

ESTUDO COMPARATIVO DE SISTEMAS DE ANÁLISES QUÍMICAS EM FLUXO EMPREGANDO FIA COM MULTICOMUTAÇÃO E AMOSTRAGEM BINÁRIA, FIA COM AMOSTRAGEM SANDUÍCHE, FLUXO MONOSSEGMENTADO E INJEÇÃO SEQUENCIAL

JONAS ALVES VIEIRA

Orientador: Prof. Dr. IVO MILTON RAIMUNDO JÚNIOR
Co-Orientador: Prof. Dr. BOAVENTURA FREIRE DOS REIS

Tese apresentada ao Instituto de Química, Departamento de Química Analítica, da Universidade Estadual de Campinas, para obtenção do título de Doutorado em Ciência.

CAMPINAS
Estado de São Paulo – Brasil
Março - 2001

UNICAMP
BIBLIOTECA CENTRAL

Aos meus pais, Gessi e Manoel

Pelo carinho, apoio e assim por

Tudo que já fizeram por mim.

À Ana Rosa, pelo amor, apoio, compreensão, principalmente nos momentos de maiores dificuldades.

Agradeço em especial aos Profs. Drs. Ivo Milton Raimundo Jr, Boaventura Freire Dos Reis e Jarbas J. R. Rohwedder, pelas Orientações, apoio, incentivos, amizade e Principalmente pela confiança depositada Durante todos estes anos de convívio.

AGRADECIMENTOS

- **Ao Instituto de Química da UNICAMP, pela formação e apoio oferecido para o desenvolvimento desta tese.**
- **Ao Centro de Energia Nuclear na Agricultura da USP de Piracicaba, pela oportunidade oferecida para o desenvolvimento de uma parte experimental dos trabalhos descritos nesta tese.**
- **Aos colegas e técnicos dos laboratórios de Instrumentação e Automação em Química Analítica e Ambiental, do Departamento de Química Analítica da UNICAMP, pela amizade e colaboração direta ou indireta sempre que precisei.**
- **Aos colegas e técnicos do Laboratório Henrique Bergamin Filho CENA-USP, pelo apoio e amizade durante todos estes anos de convivência.**
- **À FAPESP e CNPq pelo apoio financeiro.**

Obrigado!

RESUMO

Título: **Estudo comparativo de sistemas de análises químicas em fluxo empregando FIA com multicomutação e amostragem binária, FIA com amostragem sanduíche, fluxo momossegmentado e injeção sequencial**

Autor : **Jonas Alves Vieira**
Orientador : **Prof. Dr. Ivo Milton Raimundo Junior**
Co-Orientador : **Prof. Dr. Boaventura Freire dos Reis**

palavras-chaves: *Análise em Fluxo, Automação, Instrumentação*

Nesta tese descreve-se a realização de estudos comparativos entre os sistemas de análise em fluxo monossegmentado (MSFA), com multicomutação e amostragem binária (FIA-MBS), com amostragem sanduíche (FIA-SWS) e injeção sequencial (SIA). Os desempenhos desses sistemas foram avaliados com base em parâmetros analíticos, tais como precisão, exatidão, limite de detecção, faixa de resposta linear, consumo de reagentes e amostras. Foram efetuadas determinações espectrofotométricas de ferro em águas de rio, níquel em ligas de aço, sulfato em digeridos de plantas, soro sanguíneo e fígado bovino e determinação potenciométrica de cloreto em vinho e leite. Em cada determinação de ferro, o consumo de reagente foi de 0,15 mg de o-fenantrolina, 0,45 mg de hidroxilamina e 1,25 mg de acetato de sódio. A frequência analítica foi de 60 determinações por hora, com precisão de 1,1 % (n = 9). Para o níquel, em cada determinação o consumo foi de 4,0 mg de trietanolamina, 6,0 mg de persulfato de potássio e 0,6 mg de DMG. A frequência analítica foi de 40 determinações por hora nos sistemas MSFA, FIA-MBS e FIA-SWS e de 30 no SIA, com precisão de 0,7 % para MSFA, 1,6 % para FIA-MBS, 1,8 % para FIA-SWS e 3,1 % para SIA (n = 10). Para o sulfato, em cada determinação o consumo de cloreto de bário foi de 3,4 mg, frequência analítica de 80 determinações por hora nos sistemas MSFA, FIA-MBS e FIA-SWS e de 65 no sistema SIA, precisão de 1,0 % para MSFA, 2,0 % para FIA-MBS, 2,7 % para FIA-SWS e 3,2 % para SIA (n = 10). A determinação de cloreto foi efetuada em MSFA, empregando titulação potenciométrica com solução de nitrato de prata, eletrodo de sulfeto de prata como indicador e Ag/AgCl como referência. Foi obtida uma exatidão de 6,5 % e uma frequência de 9 titulações por hora. Os sistemas apresentaram exatidão similares e os resultados obtidos não apresentaram diferenças significativas a um nível de 95 % de confiança quando comparados com os métodos de referência. A sensibilidade dos sistemas aumentou na ordem SIA, FIA-SWS, FIA-MBS e MSFA.

ABSTRACT

Title: **Comparative studies among flow analysis systems employing FIA with multicommutation and binary sampling, FIA with sandwich sampling, monosegmented flow and sequential injection**

Author : **Jonas Alves Vieira**
Supervisors : **Prof. Dr. Ivo Milton Raimundo Júnior**
Prof. Dr. Boaventura freire dos Reis

Keywords: *Flow Analysis, Automation, Instrumentation*

This work describes comparative studies among different flow analysis systems, such as Monosegmented Flow (MSFA), FIA with multicommutation and binary sampling (FIA-MBS), FIA with sandwich sampling (FIA-SWS) and Sequential Injection (SIA). The performance of the sampling approaches was evaluated regarding the precision, accuracy, detection limit, linear range, and sample and reagent consumption. Spectrophotometric determination of iron in water, nickel in metallic alloys, turbidimetric determination of sulphate in plant, blood serum and bovine liver digests, and potentiometric determination of chloride in milk and wine were performed in order to compare the sampling approaches. For iron determination, reagent consumptions were 0.15 mg of o-phenantroline, 0.45 mg of hydroxylamine and 1.25 mg of sodium acetate per determination. An analytical frequency of 60 samples per hour and a precision of 1.1 % (expressed as the rsd of 9 determinations) were obtained. For nickel, reagent consumptions were 4.0 mg of triethanolamine, 6.0 mg of potassium persulphate and 0.6 mg of DMG per determination. An analytical frequency of 40 samples per hour was obtained with MSFA, FIA-MBS and FIA-SWS system, while 30 samples were processed per hour by using the SIA system. The precision, expressed as the rsd of 10 measurements, was 0.7 % for MSFA, 1.6 % for FIA-MBS, 1.8 % for FIA-SWS and 3.1 % for SIA. For sulphate the consumption of barium chloride was 3.4 mg per determination. Analytical frequencies of 80 samples per hour were provided by MSFA, FIA-MBS and FIA-SWS systems, while a value of 65 sample per hour was obtained for SIA. The precision (n = 10) was 1.0 % for MSFA, 2.0 % for FIA-MBS, 2.7 % for FIA-SWS and 3.2 % for SIA. The potentiometric titration was carried out using the MSFA system. Chloride was titrated with a silver nitrate standard solution, employing a silver sulphide indicator electrode and Ag/AgCl reference electrode. The titration end point was detected with an accuracy of 6.5 % and an analytical frequency of nine titrations per hour. The systems provided similar accuracy and no significant differences were found at 95 % confidence level when the results obtained with the proposed systems were compared with those obtained by reference methods.

CURRICULUM VITAE
Maio de 2001

1 DADOS PESSOAIS
Nome: Jonas Alves vieira
Filiação: Manoel Alves da Cruz e Gessi Vieira Alves
RG: 1956473 SSP-GO
CPF: 342261251-34
Endereço residencial: Rua 4, qd. 03, Lt 10
Conj. Pq. dos Eucalíptos Goiânia - Go
74683-765 Goiânia, GO - Brasil
Telefone: (62) 207-3669
E-mail: jalveira@bol.com.br

2 FORMAÇÃO ACADÊMICA/TITULAÇÃO
1996 - 2001 Doutor em Ciências, área de concentra, Química Analítica. Universidade Estadual de Campinas, Instituto de Química, Departamento de Química Analítica.
Título: Estudo comparativo de Sistemas de Aálise Químicas em Fluxo empregando FIA com Multicomutação e Amostragem Binária, FIA com Amostragem Sanduíche, Fluxo Momossegmentado e Injeção Sequencial.

3 IDIOMAS
Compreende: Inglês (razoavelmente)
Fala: Inglês (pouco)
Lê: Inglês (razoavelmente)
Escreve: Inglês (razoavelmente)

3. ÁREAS DE ATUAÇÃO
1 Química Analítica, Instrumentação Analítica.

3. PRODUÇÃO CIENTÍFICA, TECNOLÓGICA E ARTISTICA/CULTURAL
3.1. PRODUÇÃO BIBLIOGRÁFICA
3.1.1 Trabalhos resumidos em eventos
1 Vieira, J.A., Reis, B.F., Kronka, E.A.M., Paim, A.P.S., Giné, M.F. 1997. MULTICOMMUTATION IN FLOW ANALYSIS. PART 6. BINARY SAMPLING OF WIDE CONCENTRATION RANGE TURBIDIMETRIC DETERMINATION OF SULPHATE IN PLANT DIGESTS In Anais da VII International Conference on Flow Analysis, VII International Conference on Flow Analysis, Piracicaba São Paulo Brasil, 1997.

2 Vieira, J.A., Raimundo Jr., I.M., Reis, B.F., Zagatto, E.A.G., Lima, J.L.F.C. 1997. SAMPLING STRATEGIES INJECTION ANALISYS: EXPLOITING THE MONOSEGMENTED-FLOW APPROACH, In Anais da VII International Conference on Flow Analysis, VII International Conference on Flow Analysis, Piracicaba São Paulo Brasil, 1997.

3 Vieira, J.A., Reis, B.F. 1996. MULTICOMUTAÇÃO EM ANÁLISE QUÍMICA POR INJEÇÃO EM FLUXO. DETERMINAÇÃO SIMULTÂNEA DE NITRATO E NITRITO EMPREGANDO O PROCESSO DE AMOSTRAGEM BINÁRIA, In Anais da 19ª Reunião Anual da Sociedade Brasileira de Química, 19ª Reunião Anual da Sociedade Brasileira de Química, Poços de Caldas, MG. 1996.

4 Vieira, J.A., Reis, B.F., Kronka, E.A.M., Bergamin, F° H. 1995. DESENVOLVIMENTO DE UM MÉTODO AUTOMATIZADO PARA DETERMINAÇÃO DE SULFATO POR TURBIDIMETRIA EMPREGANDO AMOSTRAGEM BINÁRIA EM SISTEMA DE

INJEÇÃO EM FLUXO DE LINHA ÚNICA, In Anais do VIII Encontro Nacional de Química Analítica. VIII Encontro Nacional de Química Analítica, Belo Horizonte Mg, 1995.

5 Reis, B.F., Vieira, J.A., Kronka, E.A.M., Gervásio, A.P., Blanco, T. 1995. DETERMINAÇÃO ESPECTROFOTOMÉTRICA DE FOSFATO EM ÁGUAS NATURAIS EMPREGANDO A TÉCNICA DE PARADA DE FLUXO ASSOCIADA À MULTICOMUTAÇÃO, In Anais do VIII Encontro Nacional de Química Analítica. VIII Encontro Nacional de Química Analítica, Belo Horizonte Mg, 1995.

6 Vieira, J.A., Reis, B.F. 1995. DETERMINAÇÃO DE AMÔNIO EM EXTRATOS DE SOLO EMPREGANDO UM SISTEMA DE INJEÇÃO EM FLUXO. In Anais da 18ª Reunião Anual da Sociedade Brasileira de Química, 18ª Reunião Anual da Sociedade Brasileira de Química, Caxambu, Mg. 1995.

3.1.2 Artigos completos publicados em periódicos

1 Vieira, J.A., Raimundo Jr., I.M., Reis, B.F. 1997. TURBIDIMETRIC DETERMINATION OF SULPHATE EMPLOYING GRAVITY FLOW-BASED SYSTEMS, Anal. Chim. Acta, 21035 (2001) 01 - 07. UNICAMP/CAMPINAS/SP

2 Vieira, J.A., Raimundo Jr., I.M., Reis, B.F., Zagatto, E.A.G., Lima, J.L.F.C. 1997. SAMPLING STRATEGIES INJECTION ANALISYS: EXPLOITING THE MONOSEGMENTED-FLOW APPROACH, Anal. Chim. Acta, 366 (1998) 257 - 262. UNICAMP/CAMPINAS/SP

3 Vieira, J.A., Reis, B.F., Kronka, E.A.M., Paim, A.P.S., Giné, M.F. 1997. MULTICOMMUTATION IN FLOW ANALYSIS. PART 6. BINARY SAMPLING OF WIDE CONCENTRATION RANGE TURBIDIMETRIC DETERMINATION OF SULPHATE IN PLANT DIGESTS, Anal. Chim. Acta, 366 (1998) 251 - 255. USP/SÃO CARLOS/SP

4 Reis, B.F., Vieira, J.A., Kronka, E.A.M., Gervásio, A.P., Blanco, T. 1995. DETERMINAÇÃO ESPECTROFOTOMÉTRICA DE FOSFATO EM ÁGUAS NATURAIS EMPREGANDO A TÉCNICA DE PARADA DE FLUXO ASSOCIADA A MULTICOMUTAÇÃO, Química Nova, 20 (1997) 372 - 376. USP/SÃO CARLOS/SP

5 Vieira, J.A., Reis, B.F., Krug, F.J., Giné, M.F. 1997. DEVELOPMENT OF A FLOW INJECTION SYSTEM WITH TWO ANALYTYCAL PATHS FOR AMMONIUM DETERMINATION IN SOIL EXTRACTS BY CONDUCTOMETRY, J. Braz. Chim. Soc., 08 (1997) 01 - 06. USP/SÃO CARLOS/SP.

4. ESTÁGIO

1 Estágio realizado no Laboratório de Química Física, na Faculdade de Farmácia da Universidade do Porto-Portugal, no período de 03/041999 - 26/08/1999. Onde foi desenvolvido trabalho na área de "estudo de processos de titulação em sistema em fluxo com detecção potenciométrica".

5. CURSOS

1 Tecnologia em manutenção e montagem de microcomputadores, com duração de 60 horas-aulas. ESCOLA SENAI MÁIO DEDINI, Rua Dom Pedro II, 1474-Piracicaba-SP.

2 Técnicas Nucleares Aplicadas à Química Analítica, durante o VIII Encontro Nacional de Química Analítica, Departamento de de Química - ICEx - UFMG, de 03 a 06 de setembro de 1995, em Belorizonte -MG.

3 Atualização intitulado: "ESPETROMETRIA DE PLASMA", no CENTRO DE ENERGIA NUCLEAR NA AGRICULTURA - CENA/USP, São Paulo, (Piracicaba) de 16 a 18 de novembro de 1994.

ÍNDICE

Página

CAPÍTULO I ---------- 01
I. DESENVOLVIMENTO E EVOLUÇÃO DE SISTEMAS EM FLUXO ---------- 01
I.1.Introdução ---------- 01
I.2. Sistema em Fluxo Contínuo Multissegmentado (CFA) ---------- 03
I.3. Sistema de Análise por Injeção em Fluxo (FIA) ---------- 03
I.3.1. Descrição do sistema FIA com amostragem sanduíche (FIA-SWS) ---------- 05
I.3.2. Descrição do sistema FIA com multicomutação e amostragem binária (FIA-MBS) ---------- 06
I.3.3. Sistema em fluxo (MSFA) ---------- 07
I.3.4. Sistema de Análise por Injeção Sequencial (SIA) ---------- 08
I.4. Uma breve comparação entre sistemas em fluxo monossegmentado e não segmentados ---------- 10
I.4.1. Dispositivos utilizados na inserção das soluções no percurso analítico --------- 11
I.5. Objetivos ---------- 12

CAPÍTULO II ---------- 13
II. DESENVOLVIMENTO E CONSTRUÇÃO DOS MÓDULOS DE ANÁLISES EM FLUXO ---------- 13
II.1. Desenvolvimento e construção de um novo módulo de análise ---------- 15
II.2. Descrição do funcionamento do módulo de análise para cada sistema em estudo ---- 18
II.3. Descrição do programa computacional ---------- 20
II.4. Módulo de análise para efetuar a propulsão de fluído a pressão constante ---------- 25
II.5. Descrição do funcionamento de cada sistema ---------- 27
II.6. Descrição do programa computacional ---------- 28
II.7. Módulo de análise para determinação potenciométrica ---------- 29
II.8. Equipamentos e acessórios ---------- 31

CAPÍTULO III ---- 33
III. DETERMINAÇÃO ESPECTROFOTOMÉTRICA DE FERRO ---- 33
III.1. Introdução ---- 33
III.2. Reagentes e soluções ---- 34
III.3. Procedimentos ---- 34
III.4. Resultados e discussões ---- 36
III.4.1. Implementação de diferentes estratégias de amostragens no módulo de análise SIA ---- 37
III.4.2. Efeito dos volumes dos reagentes ---- 39
III.5. Comparação do desempenho dos sistemas ---- 40

CAPÍTULO IV ---- 43
IV. DETERMINAÇÃO ESPECTROFOTOMÉTRICA DE NÍQUEL ---- 43
IV.1. Introdução ---- 43
IV.2. Reagentes e soluções ---- 44
IV.3. Procedimentos ---- 45
IV.4. Resultados e discussão ---- 47
IV.4.1. Avaliação da concentração e do volume do reagente DMG ---- 47
IV.4.2. Efeito do volume da solução persulfato ---- 49
IV.4.3. Supressão da interferência de ferro ---- 50
IV.4.4. Comparação do desempenho dos sistemas ---- 53

CAPÍTULO V ---- 57
V. DETERMINAÇÃO ESPECTROFOTOMÉTRICA DE SULFATO USANDO AÇÃO GRAVITACIONAL PARA MOVIMENTAÇÃO DAS SOLUÇÕES ---- 57
V.1. Introdução ---- 57
V.2. Reagentes e soluções ---- 58
V.3. Procedimentos ---- 59
V.4. Resultados e Discussões ---- 61
V.4.1. Efeito do volume do reagente cloreto de bário ---- 63

V.4.2. Efeito da concentração do reagente cloreto de bário ---------- 65
V.4.3. Desempenho dos sistemas ---------- 66

CAPÍTULO VI ---------- 71
VI. DETERMINAÇÃO POTENCIOMÉTRICA DE CLORETO EM AMOSTRAS DE VINHOS E LEITES ---------- 71
VI.1. Introdução ---------- 71
VI.2. Reagentes e soluções ---------- 73
VI.3. Construção e recondicionamento de eletrodos ---------- 73
VI.4. Procedimentos ---------- 74
VI.5. Resultados e discussões ---------- 77
VII. CONCLUSÕES ---------- 87
VIII. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS ---------- 91

LISTA DE FIGURAS

Página

Figura I.1. Classificação dos sistemas em fluxo recomendada pela IUPAC ---------- 02
Figura I.2. Modelo do processo de amostragem sanduíche ---------- 05
Figura I.3. Modelo do processo de amostragem binária ---------- 06
Figura I.4. Modelo do processo de amostragem MSFA ---------- 07
Figura I.5. Modelo do processo de amostragem no sistema SIA ---------- 09
Figura II.1. Diagrama de fluxo do módulo de análise SIA ---------- 14
Figura II.2. Diagrama de fluxo do módulo de análise constituído com duas válvulas solenóide, de três e seis portas ---------- 17
Figura II.3. Diagrama de fluxo do módulo de análise constituído de quatro válvulas solenóide ---------- 18
Figura II.4. Fluxograma do programa computacional ---------- 21
Figura II.5. Representação dos dispositivos de acondicionamento das variáveis de entrada, para controle do sistema via programa computacional ---------- 22
Figura II.6. Representação dos dispositivos de acondicionamento das variáveis de entrada, para controle do sistema via programa computacional ---------- 25
Figura II.7. Diagrama de fluxo do módulo de análise à pressão constante ---------- 26
Figura II.8. Diagrama de fluxo do módulo de análise para titulação potenciométrica --- 29
Figura III.1. Diagrama de bloco do módulo de análise representado na Figura II.1 ------ 35
Figura III.2. Sinal obtido em função da variação do volume da amostra empregando o sistema FIA-SWS ---------- 37
Figura III.3. Resultados obtidos empregando diferentes estratégias de amostragens no módulo de análise SIA ---------- 38
Figura III.4. Resultados obtidos com diferentes técnicas de amostragens ---------- 40
Figura III.5. Avaliação do desempenho dos sistemas ---------- 41
Figura IV.1. Diagrama de bloco do diagrama de análise representado na Figura II.3 ---- 46
Figura IV.2. Efeito da concentração de DMG ---------- 48
Figura IV.3. Efeito do volume de DMG 1,0 % (m/v) ---------- 48

Figura IV.4. Efeito do volume de persulfato de potássio 5,0 % (m/v) ---------- 49
Figura IV.5. Efeito da concentração de trietanolamina na eliminação de interferência de ferro ---------- 51
Figura IV.6. Efeito do volume de trietanolamina na eliminação de interferência de ferro 6,0 % (v/v) ---------- 51
Figura IV.7. Avaliação da sensibilidade dos sistemas ---------- 55
Figura V.1. Diagrama de bloco do módulo de análise representado na Figura II.7 ------ 60
Figura V.2. Efeito do volume de cloreto de bário ---------- 64
Figura V.3. Efeito da concentração de cloreto de $BaCl_2$ ---------- 65
Figura V.4. Avaliação do desempenho dos sistemas ---------- 67
Figura VI.1. Diagrama de bloco do módulo de análise representado na Figura II.8 ------ 75
Figura VI.2. Representação gráfica das estimativas de aproximação do ponto final em uma titulação ---------- 76
Figura VI.3. Características de resposta de titulação em diferentes intervalos de concentração de titulante e amostra ---------- 79
Figura VI.4. Verificação do comportamento de resposta do sistema em condições de concentrações extremas entre titulado e titulante ---------- 80
Figura VI.5. Representação gráfica dos resultados descritos na Tabela VI.4., referente à comparação do processo de titulação entre os sistemas MSFA e SIA ---------- 84

LISTA DE TABELAS

Página

Tabela III.1. Determinação de ferro em amostras de águas naturais ---------- 42
Tabela IV.1. Estudo da interferência de ferro na determinação de Níquel com dimetilglioxima ---------- 53
Tabela IV.2. Comparação dos parâmetros nos processos de amostragens resultados ----- 54
Tabela IV.3. Comparação dos resultados obtidos nos sistemas propostos em relação ao método de referência ---------- 56
Tabela V.1. Vazão em diferentes pontos do percurso analítico ---------- 62
Tabela V.2. Efeito da vazão em função dos diâmetros dos tubos após o detector ---------- 62
Tabela V.3. Comparação dos parâmetros de avaliação nos processos de amostragens ---- 67
Tabela V.4. Comparação de resultados obtidos pelos sistemas propostos, sistema FIA usual e ICP-AES ---------- 68
Tabela VI.1. Avaliação de resultados de titulações de Cl^- 1,0 x 10^{-3} mol L^{-1} com diferente soluções do titulante Ag^+, empregando sistema MSFA ---------- 78
Tabela VI.2. Verificação do comportamento de resposta em sistema MSFA, titulando-se Cl^- com Ag^+, em diferentes intervalos de concentrações -------- 81
Tabela VI.3. Critério de finalização do processo de titulação pela diferença em percentagem entre as duas últimas estimativas do ponto final ---------- 82
Tabela VI.4. Comparação dos resultados obtidos em sistemas MSFA e SIA ---------- 83
Tabela VI.5. Resultados de titulação de Cl^- com Ag^+ em diferentes concentrações em (mol L^{-1}) ---------- 85
Tabela VI.6. Determinação de Cl^- em mg L^{-1} em amostras de vinho usando solução de Ag^+ 1,0 x 10^{-2} mol L^{-1} e de leite usando solução de Ag^+ 8,56 x 10^{-2} mol L^{-1} ---------- 87
Tabela VII.1. Parâmetros de comparação entre os diferentes sistemas avaliados ---------- 88

CAPÍTULO I

I. DESENVOLVIMENTO E EVOLUÇÃO DOS SISTEMAS EM FLUXO

I.1. Introdução

O aperfeiçoamento de técnicas e métodos de análise, visando a obtenção de melhores resultados e, assim, a minimização da intervenção humana na manipulação de soluções e, consequentemente, diminuição de erros resultantes de diferentes fontes, tem sido um dos principais objetivos de pesquisas nas últimas décadas. Deste modo, tem se tornado possível o desenvolvimento de metodologias para a análise de amostras complexas e diversificadas, com maior eficiência na precisão e exatidão das medidas. Essas características levaram os pesquisadores a buscarem alternativas e, com isso, diferentes procedimentos foram desenvolvidos ao longo dos anos. No campo da instrumentação ocorreu uma evolução significativa, a partir do avanço científico que assegurou o acesso às novas tecnologias, possibilitando responder de forma satisfatória às exigências atuais, relativas às complexidades dos fenômenos químicos, ou mesmo para questões sem resposta no passado, por falta de mecanismos adequados para solucioná-las.

Pelo fato da grande maioria das separações e conversões químicas serem efetuadas em meio aquoso, o conceito de sistema em fluxo contínuo segmentado (CFA)[1] surgiu como uma opção viável às análises químicas. Posteriormente, apesar das afirmações relativas à necessidade de segmentação da zona de amostra (solução resultante da mistura entre amostra e reagentes) com bolhas de ar, no início dos anos 70 começaram a ser desenvolvidos sistemas em fluxo sem a referida segmentação das amostras[2], cuja tendência foi confirmada definitivamente com o desenvolvimento de uma nova metodologia denominada Análise por Injeção em Fluxo (FIA)[3].

De um modo geral, desde as primeiras contribuições, os sistemas em fluxo têm experimentado uma grande evolução e diversificação, tanto com relação às configurações estruturais como no tocante a automação de análises químicas. Neste aspecto, os sistemas em fluxo vêm sendo destacados como uma alternativa eficiente para análises químicas, nos mais

diferentes ramos da ciência e, principalmente, em química analítica, merecendo especial atenção por serem de fácil desenvolvimento e economicamente viáveis.

As diferentes denominações de análise química via inserção e processamento de amostras em fluxo, podem ser agrupadas genericamente sob o tema sistemas em fluxo. De um modo geral, esses sistemas podem ser classificados quanto ao processo de amostragem, contínuo ou discreto, e quanto à característica do fluxo, segmentado, não-segmentado ou monossegmentado. A título de ilustração, a classificação recomendada pela IUPAC[4] encontra-se resumida na Figura I.1.

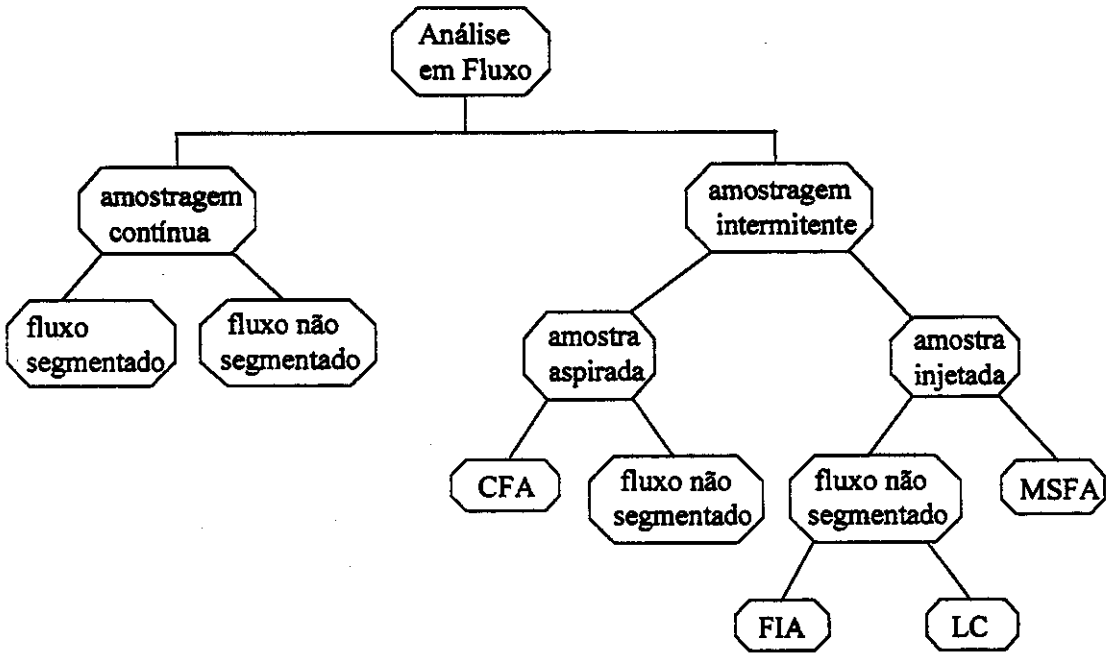

Figura I.1. *Classificação dos sistemas em fluxo recomendada pela IUPAC*[4].

Da classificação descrita na Figura I.1, nesta tese foram discutidos os modelos de sistemas de dois grupos considerados fundamentais em química analítica, os segmentados com bolhas de ar e os não segmentados. Dentre os diferentes sistemas, foram estudados aqueles de maior destaque na atualidade, como o sistema em Fluxo Monossegmentado (MSFA)[5], Análise por Injeção em Fluxo com multicomutação e amostragem binária (FIA-MBS)[6], Análise por Injeção em Fluxo com amostragem sanduíche (FIA-SWS)[7] e Análise por Injeção Sequencial (SIA)[8]. Como ilustração, uma breve descrição do desenvolvimento e evolução dos sistemas em fluxo encontra-se descrita nos itens a seguir.

I.2. Sistemas em Fluxo Contínuo Multissegmentado (CFA)

Os sistemas em fluxo multissegmentado[1,9], durante muito tempo, foram comercializados pela empresa Technicon com a denominação de auto-analisador. Nestes sistemas, as amostras eram aspiradas sequencialmente, sendo multisegmentadas com bolhas de ar. A segmentação tinha a função de acondicionar a mistura das soluções da amostra e dos reagentes em pequenos volumes no percurso analítico, com o objetivo de facilitar a mistura entre as mesmas, isolando-as também da solução transportadora, evitando, assim, excessiva dispersão e efeito de memória, bem como intercontaminação entre as amostras. Este recurso permitia que a zona de amostra pudesse ser mantida no reator, se necessário, por um longo intervalo de tempo, para garantir que o estado de equilíbrio da reação fosse alcançado, uma vez que a leitura era efetuada após atingir este equilíbrio. As bolhas de ar eram removidas do percurso analítico nas proximidades do detector por um dispositivo adequado, desenvolvido para tal função.

Até o início dos anos oitenta os auto-analisadores foram amplamente empregados em processos de análise química[10]. Em função da tecnologia empregada, os custos de aquisição e de manutenção dos mesmos eram considerados elevados, visto que possuíam estrutura complexa. Portanto, os mesmos apresentavam características analíticas em geral desfavoráveis à sua implementação em pequenos laboratórios, comparativamente aos sistemas em fluxo desenvolvidos posteriormente.

Ao longo dos anos 70 e 80, os auto-analisadores foram sendo gradativamente substituídos por outros sistemas em fluxo. Atualmente, é raro encontrar um sistema em fluxo contínuo multissegmentado em funcionamento. Entretanto, ainda predomina sua importância histórica, uma vez que o mesmo é considerado o antecessor dos diferentes modelos de sistemas em fluxo existentes na atualidade.

I.3. Sistemas de Análise por Injeção em Fluxo (FIA)

O conceito de fluxo transportador não segmentado[11] foi proposto em 1958, tornando-se um procedimento comum em cromatografia líquida[12,13]. Este conceito, embora com outro objetivo, teve um grande impulso na década de 70, recebendo a denominação de análise por

injeção em fluxo (FIA)[14,3,15], a qual foi desenvolvida tendo como base seu antecessor, sistema em fluxo contínuo multisegmentado[1]. Nesta metodologia, as amostras passaram a ser processadas individualmente (amostragem discreta), o que possibilita efetuar medidas em estado não estacionário, evitando problemas relativos a intercontaminações entre as soluções das amostras, o que era uma das principais preocupações relativas aos sistemas multissegmentados.

Dentre outras vantagens, representou um avanço em relação ao seu precursor, pois, além de mais simples, possibilitou sua implementação com tecnologia barata, empregando equipamentos de uso comum em laboratórios de química e, em consequência, diminuindo os custos de aquisição e de manutenção dos sistemas de análises químicas. Também possibilitou que a leitura do sinal fosse efetuada sem que a reação química alcançasse as condições de equilíbrio e homogeneização, uma vez que os parâmetros de controle do processo (intervalo de tempo de amostragem, volume da solução da amostra, vazão, diâmetros dos tubos e comprimento do percurso analítico) são mantidos constantes[16]. Assim, a dispersão da zona de amostra pode ser controlada em função das características hidrodinâmicas do módulo de análise, que durante o transporte das soluções reagentes gera um gradiente de concentração constante em cada ponto do percurso analítico, ou seja, o grau de mistura das soluções reagentes é mantido constante entre diferentes determinações, propiciando boa precisão nas medidas.

No decorrer dos anos, os sistemas em fluxo não segmentados foram evoluindo, tornando-se ferramentas de fundamental importância nas determinações de um grande número de espécies químicas. Estes sistemas têm sido acoplados a praticamente todos os sistemas de detecção, atendendo a demanda em diferentes circunstâncias de análise, envolvendo reações rápidas ou lentas, vários níveis de concentrações, etc.

Com base na variedade de acessórios utilizados na implementação desses sistemas, e nas modificações permitidas pelas suas estruturas básicas, foram desenvolvidos sistemas diversos, tais como sistema de zonas coalescentes[17], reamostragem[18] e fluxo fechado[19], zonas divididas[20], cinética diferencial[21].Também, métodos de calibração multivariada[22] têm sido usados em conjunto com sistemas não segmentados para determinação simultânea de diferentes espécies químicas; FIA com amostragem sanduíche[7], desenvolvido visando a realização de multideterminações, tanto empregando detecção fotométrica como

potenciométrica; sistema FIA com multicomutação e amostragem binária[6], desenvolvido com base no funcionamento de válvulas solenóides de três vias, sendo que esse recurso ampliou significativamente a flexibilidade relativa às variáveis de otimização no processo de amostragem e, principalmente, com relação ao processo de mistura entre as soluções reagentes.

Dos diversos sistemas FIA mencionados, os dois últimos merecem destaque. Tanto o sistema FIA com amostragem sanduíche como aquele com multicomutação e amostragem binária são implementados em módulos de análise de linha única, que se destacam pela simplicidade e flexibilidade relativamente ao processo de amostragem, sendo que ambos oferecem a possibilidade de determinar diferentes analitos em condições diversas, mantendo-se a estrutura do módulo constante.

I.3.1. Descrição do sistema FIA com amostragem sanduíche (FIA-SWS)

Neste sistema, a amostragem das soluções no percurso analítico é efetuada inserindo-se as soluções na ordem reagente, amostra e reagente, como representado na Figura I.2.

Figura I.2. *Modelo do processo de amostragem sanduíche. Cs, R, A = soluções transportadora, reagente, amostra e reagente, respectivamente.*

O módulo de análise para este sistema é implementado com válvulas, sendo que no primeiro trabalho foi usado uma válvula rotatória de oito portas com a delimitação do volume de amostra efetuado por alça de amostragem[5,23], cuja comutação das mesmas é controlada via programa computacional. Essa estratégia de amostragem tem sido aplicada na automação de diferentes métodos de análises químicas, com detecção tanto espectrofotométrica[23,24,25] como potenciométrica[26,27].

I.3.2. Descrição do sistema FIA com multicomutação e amostragem binária (FIA-MBS)

Comutação é a denominação da mudança de posição da parte interna de um injetor proporcional, manual ou automático, ou a mudança entre portas de uma válvula, para efetuar a inserção das soluções de amostra e reagentes no percurso analítico. Amostragem binária é o conceito designado ao processo de amostragem onde a zona de amostra é constituída de várias alíquotas da solução de amostra, intercaladas com alíquotas de solução de reagente, sendo que o processo de mistura entre as soluções ocorre em função do contato mútuo entre duas interfaces de soluções diferentes e, por isso, a denominação de binária, conforme representado na Figura I.3.

Usualmente, o módulo de análise para implementar este sistema é constituído por válvulas solenóides[28], sendo o processo de amostragem controlado por programa computacional. A inserção das soluções no percurso analítico é efetuada acionando-se as válvulas em uma sequência que possibilite a inserção das soluções individualmente em uma dada ordem pré-definida. Empregando-se esta estratégia, uma fração do percurso analítico é preenchido com alíquotas da solução da amostra separadas por alíquotas da solução do reagente. Durante o transporte para o detector a mistura entre as soluções processa-se rapidamente, devido às várias interfaces de contato das alíquotas das soluções reagentes, agilizando o desenvolvimento da reação química.

Figura I.3. *Modelo do processo de amostragem binária. Cs, R, A = soluções transportadora, reagente e amostra, respectivamente.*

Este conceito propiciou o desenvolvimento de vários trabalhos de análise química, sendo que o mesmo vem sendo aplicado na automação de diferentes metodologias, tais como titulações empregando detecção fotométrica[29], espectrofotométrica[30,31] e potenciométrica[32], entre outros. É importante destacar que nestas, bem como em outras aplicações, foram efetuadas determinações de diferentes analitos em diferentes matrizes, o que demonstra uma boa flexibilidade propiciada pela estrutura deste módulo de análise.

I.3.3. Sistema em fluxo monossegmentado

O termo monossegmentado originou-se do próprio conceito do processo de amostragem, uma vez que a mistura das soluções era inserida e mantida no percurso analítico separada da solução transportadora por duas bolhas de ar, com a zona da amostra formando um único segmento, conforme representado na Figura I.4.

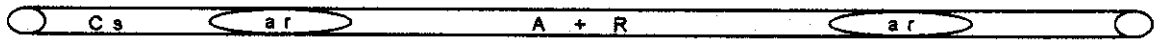

Figura I.4. *Modelo do processo de amostragem no sistema MSFA. Cs, R, A = soluções transportadora, reagente e amostra, respectivamente.*

O sistema monossegmentado (MSFA)[5] foi desenvolvido unificando tanto as vantagens relatadas no processo FIA, isto é, equipamento de baixo custo, alta frequência de amostragem, leitura em estado não estacionário, como as do CFA, baixa dispersão, baixo limite de detecção e adequado às reações lentas. Este procedimento minimiza significativamente a dispersão da zona da amostra na solução transportadora, sendo de grande interesse nas determinações de analitos em baixas concentrações, além de possibilitar uma ampla flexibilidade na alteração das variáveis de otimização, podendo ser uma alternativa viável à determinação de analitos em diferentes níveis de concentrações. Se por um lado a dispersão da zona de amostra é mínima, permitindo determinações a baixos limites de concentração, por outro, quando a concentração é elevada, a diluição em linha pode ser promovida e controlada[33], tornando possível a adequação dos níveis de concentração à faixa de resposta do detector. Neste sistema, além da dispersão ser mínima, a mistura das soluções reagentes é homogênea, possibilitando diluições da zona de amostra inserindo-se no monossegmento volume do reagente em excesso ou uma outra solução, desde que seja inerte à reação.

O módulo de análise, baseado no conceito de MSFA, pode ser implementado empregando o injetor proporcional[5] de comutação manual ou com válvula solenóide, com comutação controlada por programa computacional[23,34]. Convencionalmente, as bolhas de ar podem ser removidas nas proximidades do detector, antes de passarem pelo mesmo. Esta etapa tem sido efetuada empregando-se um desborbulhador ou uma câmara com membrana permeável a gás[5].

Como os demais sistemas, os sistemas MSFA, ao longo do tempo, vêm sendo aperfeiçoados, tendo sido eliminadas ou minimizadas algumas limitações, tal como a eliminação da necessidade de retirar as bolhas de ar do percurso analítico antes de sua passagem pelo detector[35]. A remoção das bolhas de ar dos analisadores tinham a finalidade de preservar o registrador potenciométrico, se porventura empregado, tanto de sinais espúrios como de esforço mecânico. No entanto, foi constatado que a não remoção das bolhas de ar propiciava um aumento na frequência de amostragem, uma vez que resulta em uma diminuição na dispersão longitudinal da amostra. Com este objetivo, vários trabalhos foram propostos, como um sistema com um detector de bolhas de ar que possibilitava efetuar a leitura somente durante a passagem da zona de amostra na cela de fluxo, no espaço da zona de amostra entre as duas bolhas de ar[36]. Também foi observado que pequenas bolhas de ar não comprometiam a estabilidade da chama em espectrometria de absorção atômica[37,38] e que a passagem das bolhas de ar através da cela possibilitava o registro do sinal espectrofotométrico com precisão e sem dano aparente ao registrador potenciométrico[39,40]

Este sistema tem sido amplamente aplicado em análises químicas, empregando espectrofotometria[41-47], potenciometria[48-50], condutimetria[51] e volumetria[52]. Também merece destaque a viabilidade dos sistemas MSFA serem usados para análise de amostras tanto em estado líquido[42,45] como gasoso[50,51], realizando extração líquido-líquido[38,39,53,54].

I.3.4. Sistema de Análise por Injeção Sequencial (SIA)

Em 1990 foi proposto um novo conceito de sistema em fluxo, denominado análise por injeção sequencial (SIA)[8]. Esta denominação foi feita em função da forma como o processo de amostragem é efetuado, uma vez que as soluções são inseridas no percurso analítico de forma sequencial, conforme representado na Figura I.5.

Conceitualmente, sua operação é mais simples que os demais sistemas, sendo o processamento das soluções controlado por programa computacional. O sistema requer para sua implementação o emprego de válvula multiportas, permitindo modificações nas variáveis operacionais, sem a necessidade de modificar a configuração do módulo de análise[55]. Em princípio, apresenta como desvantagens em comparação com os sistemas FIA e MSFA, baixa

freqüência de amostragem e dificuldades de se implementar procedimentos analíticos que empregam várias soluções de reagentes.

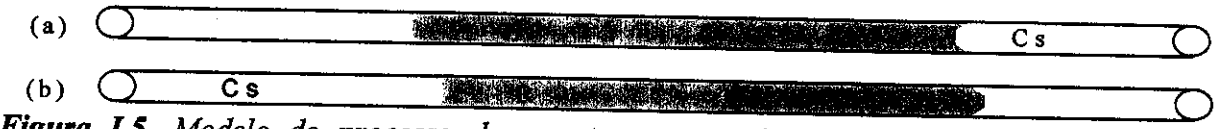

Figura I.5. *Modelo do processo de amostragem no sistema SIA. Cs, R, A = soluções transportadora, reagente e amostra, respectivamente. (a) bombeamento da aspiração das soluções reagentes da esquerda para a direita, (b) bombeamento da mistura das soluções da direita para a esquerda.*

O módulo de análise do sistema SIA possui estrutura e conceito distinto dos demais. Usualmente, o mesmo tem sido implementado com válvulas eletromecânicas, que em geral são de 6, 8 ou 10 portas, designadas à inserção das soluções no percurso analítico[56,57]. A comutação das portas da válvula para a inserção das alíquotas da amostra e do reagente é efetuada e controlada por microcomputador, em sequência previamente estabelecida. Primeiramente, as alíquotas de cada solução eram aspiradas sequencialmente para uma bobina receptora, conectada à porta central da válvula. Em seguida, a válvula era girada para que a porta de acesso à bobina de reação conectada ao detector, fosse interligada com a porta central, permitindo a passagem da zona de amostra para a bobina de reação. Automaticamente, o sentido de rotação da bomba peristáltica é invertido, passando a deslocar a zona da amostra em direção ao detector, para que o produto formado seja quantificado. Inicialmente, a alíquota da solução da amostra tem somente uma interface de contato com a alíquota da solução do reagente, a partir da qual é formada a zona de mistura. A inversão do sentido de bombeamento, de certa forma, contribui para melhorar a condição de mistura das soluções, favorecendo o desenvolvimento da reação. Entretanto, propicia também um aumento na dispersão da zona de amostra, podendo influenciar a sensibilidade. Convém salientar que o deslocamento da válvula de admissão das soluções de uma porta para outra deve ser feito com a bomba desligada, o que impõe que se empregue uma bomba com opção de controle por microcomputador, para que possa favorecer o procedimento da análise.

Como os demais sistemas em fluxo, suas aplicações têm sido amplas na determinação de vários analitos em diferentes métodos de análises químicas, empregando espetrofotometria[56-58], condutimetria[59], quimioluminescência[60-62], amperometria[63], potenciometria[64], fluorimetria[65], etc.

I.4. Uma breve comparação entre sistemas em fluxo monossegmentado e não segmentados

Em sistemas em fluxo, um dos fatores considerados críticos ocorre quando em um lote de amostras o analito a ser determinado encontra-se em diferentes concentrações, principalmente para situações de concentrações muito reduzidas ou elevadas. Isto requer alterações nas variáveis de otimização com frequência ou, então, pré-tratamento manual, tornando a análise morosa e tediosa. Em situação de alta concentração, a diluição se faz necessária, e quando a concentração se encontra abaixo do limite de detecção, devem ser usados mecanismos para elevar a quantidade do analito. Portanto, os dois extremos requerem a realização de pré-tratamento das soluções em linha, para que a concentração do produto formado possibilite ao sistema, operar dentro de uma faixa de sensibilidade adequada ao detector.

Nos sistemas não segmentados, a dispersão da zona de amostra devido ao contato com a solução transportadora é uma característica intrínseca deste processo, a qual tem sido usada, quando necessário, para promover diluições de amostras em linha[15]. Essa diluição pode ser efetuada empregando diferentes recursos, como a diminuição do volume de solução a ser inserido ou o aumento do percurso analítico [66], módulo de análise com bifurcação de fluxo[67], adição de fluído diluente por confluência[68], diluição aparente com relação à concentração da amostra injetada, pelo coeficiente de dispersão [69], câmara de diluição [70], diluição em cascata[71], reamostragem [72], ou zonas coalescentes [73], etc. Essas são alternativas criadas com o objetivo de solucionar os problemas propiciados em função de altas concentrações comuns em sistemas em fluxo.

Por outro lado, quando a concentração do analito é baixa, o efeito da dispersão deve ser minimizado. Neste caso, as alternativas são mais restritas. Normalmente, esse problema pode ser minimizado aguardando a reação se completar, para que se possa aumentar a quantidade de produto formado e, por conseguinte, melhorar o limite de detecção, sendo que, para reações lentas, um dos recursos usados para esta finalidade tem sido a técnica de parada de fluxo (stopped flow)[74] ou multicomutação com trapeamento de multizona[75]. Este efeito também pode ser minimizado aumentando o volume da amostra ou diminuindo o percurso analítico, os quais, entretanto, são alternativas paliativas. A solução mais eficiente para este

problema tem sido a pré-concentração do analito[76-78]. Entre outras limitações, essas alternativas resultam em uma diminuição acentuada na frequência analítica.

No sistema monossegmentado, os problemas relativos às concentrações extremas (mínima e máxima) do analito podem ser minimizados através das alterações nas variáveis de otimização, possibilitando melhores adequações às diferentes condições de concentração das espécies químicas a serem determinadas. A princípio, em função da baixa dispersão, principal caraterística do mesmo, possibilita determinações de analitos em concentrações, significativamente menores em relação aos sistemas não segmentados. Para situações em que a reação é lenta, além da grande facilidade em promover a mistura entre as soluções reagentes, o tempo de residência pode ser aumentado sem que a frequência analítica seja afetada de forma acentuada. Este problema pode ser solucionado, ou minimizado, aumentando-se o percurso analítico, de forma que no mesmo possam ser mantidas várias zonas de amostras. A influência na frequência de análise é observada somente no início das medidas, em função do intervalo de tempo necessário para primeira zona de amostra chegar ao detector, a partir da qual a frequência de análise se normaliza, pois as demais leituras são realizadas em intervalos de tempo constante e significativamente menores em relação ao da primeira leitura.

Quando o analito se encontra em altas concentrações, as diluições apropriadas podem ser efetuadas inserindo-se uma solução inerte à reação na zona de amostra ou mesmo a solução reagente em excesso. Dependendo da concentração, as duas opções são suficientes para promover diluições do analito ou do produto formado e, desta forma, ajustar a sensibilidade à capacidade de resposta adequada ao detector empregado. Neste aspecto, observa-se que o sistema monossegmentado oferece uma maior versatilidade em relação aos sistemas não segmentados. No tocante às aplicações relativas às determinações de espécies químicas, os sistemas não segmentados e monossegmentado são semelhantes.

I.4.1. Dispositivos utilizados na inserção das soluções no percurso analítico

Atualmente, de um modo geral, tanto para sistemas monossegmentados como não segmentados, os dispositivos utilizados para efetuar a inserção das soluções no percurso analítico são semelhantes. Estes dispositivos eram bem simples e evoluíram de forma significativa, juntamente com os sistemas em fluxo. Inicialmente, a inserção das soluções

reagentes era efetuada com seringa hipodérmica e, mais tarde, foi empregado o injetor proporcional e a válvula rotatória. Atualmente, além desses dispositivos, encontram-se no mercado diferentes válvulas para esta finalidade, como por exemplo rotatória, eletromecânica, solenóide, etc[75,79-82]. Entre os diferentes modelos de válvulas, as solenóides têm sido usadas com frequência, uma vez que diminuem o consumo de soluções, pois possibilitam efetuar amostragem discreta, sendo inseridos somente os volumes necessários para a reação, sendo que durante o intervalo de leitura pode ser inserida somente a solução transportadora. Portanto, é importante na economia de reagentes de alto custo ou de difícil acesso, bem como em situações em que a quantidade de amostra for muito limitada, além dos aspectos econômicos e de minimização de resíduos.

I.5. Objetivos

A proposta deste trabalho tem como objetivo a realização de estudos comparativos entre diferentes sistema de amostragem (FIA-SWS, MSFA, SIA e FIA-MBS), bem como o desenvolvimento dos módulos de análises e dos respectivos programas computacionais, visando a implementação dos mesmos em uma única estrutura. A comparação do desempenho dos sistemas propostos foi feita com base em aplicações dos sistemas para determinações de espécies químicas em diferentes matrizes. As determinações foram realizadas empregando detecção espectrofotométrica, turbidimétrica e potenciométrica. As avaliações foram realizadas observando-se várias características de análises como frequência analítica, precisão, exatidão, sensibilidade e limite de detecção, destacando-se as vantagens referentes a cada processo.

CAPÍTULO II

II. DESENVOLVIMENTO E CONSTRUÇÃO DOS MÓDULOS DE ANÁLISES EM FLUXO

Na realização dos estudos entre os diferentes sistemas, devido às configurações dos módulos de análise serem específicas a cada processo de amostragem, a maior dificuldade foi observada com relação à padronização dos critérios de otimização das condições de trabalho.

Após avaliações prévias em diferentes configurações, concluiu-se que, entre os referidos sistemas, o módulo básico de análise para o sistema SIA apresentava uma maior flexibilidade. Essa característica oferecia quesitos que possibilitavam implementações de diferentes sistemas em fluxo, mantendo a mesma estrutura, sendo necessário alterar somente as variáveis de otimização para adequar as condições requeridas em cada procedimento. Portanto, inicialmente, verificou-se a possibilidade de se implementar os sistemas em estudo no módulo de análise cujo diagrama encontra-se representado na Figura II.1. Também foi de fundamental importância como aprendizado em relação ao sistema SIA, uma vez que foi a primeira experiência prática com este sistema em fluxo.

Inicialmente, o módulo de análise foi constituído de uma válvula (modelo E8 Valco) de oito portas de funcionamento eletromecânico, controlada com um programa computacional escrito em QuickBasic 4.5, que controlava a comutação das portas da válvula e o funcionamento da bomba peristáltica. As soluções eram aspiradas dos respectivos recipientes para a bobina receptora (B1) conforme cada processo de amostragem implementado e, em seguida, invertia-se o sentido de rotação da bomba, bombeando-se a zona de amostra, a qual passava pela bobina de reação (B2) e pelo detector, sendo, finalmente, recolhida no recipiente de descarte.

A partir destas investigações iniciais, principalmente com base em sua aplicação na análise de amostras reais, ficou comprovado que os sistemas MSFA, FIA-MBS, FIA-SWS e SIA poderiam ser implementados em um único módulo de análise. Entretanto, durante as otimizações das condições de trabalho, constatou-se que este módulo de análise, tanto ao nível de programa computacional como em relação a estrutura do mesmo, apresentava algumas

limitações, inviabilizando um melhor desempenho nas implementações dos sistemas em estudo.

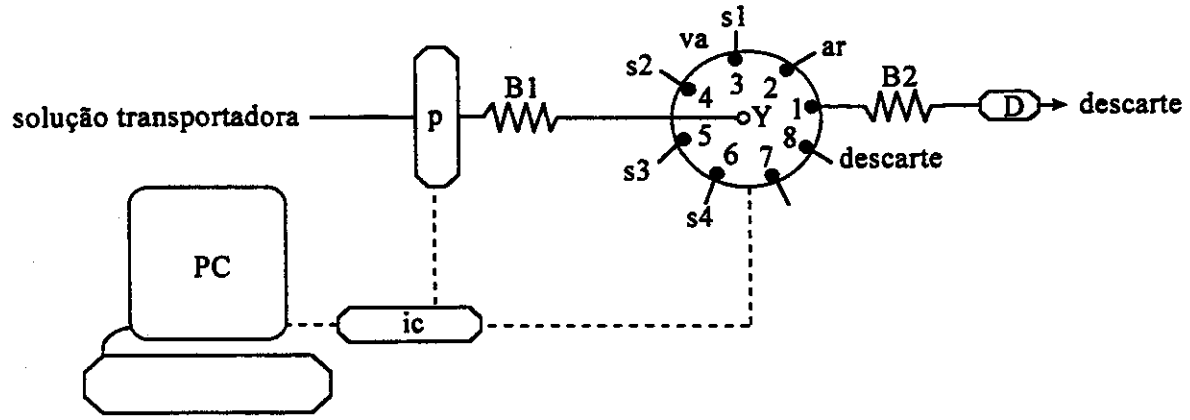

Figura II.1. *Diagrama de fluxo do módulo de análise SIA. Implementação dos sistemas SIA, FIA-SWS, MSFA e FIA-MBS. PC = microcomputador; ic = interface eletrônica; Y = porta central da válvula; p = bomba peristáltica; s1 - s4 = soluções reagentes; D = detector (espectrofotométrico); B1 = bobina receptora das soluções, construída com tubo de teflon de diâmetro interno de 0,8 mm; B2 = bobina de reação, construída com tubo de teflon de diâmetro interno de 0,8 mm, quando usado sistemas não segmentado e com diâmetro interno 1,6 mm, para o sistema monossegmentado.*

A maior limitação foi observada em função da válvula utilizada que, apesar de ser constituída de um conjunto de portas com comutação individual, seu movimento rotatório, além de lento, era realizado somente em um sentido. Esse fator propiciava uma diminuição na frequência de amostragem, principalmente quando era necessário a inserção de várias soluções ou quando os volumes das mesmas referentes a uma determinação deveriam ser inseridos em mais de uma etapa. Além desses inconvenientes, o intervalo de tempo mínimo que a válvula poderia permanecer ligada garantindo uma boa precisão na delimitação dos volumes a serem inseridos no percurso analítico era significativamente elevado, sendo da ordem de 0,5 s, inviabilizando a inserção de pequenos volumes de solução e, portanto, dificultando a implementação do sistema FIA-MBS, cuja principal característica baseia-se na inserção de pequenos volumes, formando uma "string" com alíquotas das soluções de reagentes e amostra no percurso analítico. Alem disso, durante as inserções das soluções na bobina receptora, era também observado com frequência o surgimento de bolhas de ar, geradas pelo fato das portas

serem interligadas à porta central. Assim, durante a inserção das soluções, as portas que se encontravam sem solução e, portanto, com ar, contribuíam na formação de bolhas, que intercalavam entre as soluções reagentes, interferindo na mistura e homogeneização das mesmas. Para solucionar este problema, foi necessário manter as portas não empregadas no processo de amostragem, com alguma solução, normalmente solução transportadora. Essa deficiência dificultava a implementação do sistema MSFA, uma vez que para o mesmo era necessário pelo menos uma porta livre de solução, designada às inserções de bolhas de ar responsáveis pelo acondicionamento da zona de amostra, separando-a da solução transportadora, característica principal deste sistema.

II.1. Desenvolvimento e construção de um novo módulo de análise

Com o propósito de minimizar e/ou eliminar as limitações constatadas, foi desenvolvido um novo módulo de análise, semelhante ao mostrado na Figura II.1. O mesmo foi construído tendo como base o funcionamento de uma válvula solenóide de seis portas (NResearch 12 V, 100 mA), cujo tempo mínimo de comutação é aproximadamente 0,2 s. Portanto, a comutação das portas desta válvula, além de aleatória, pode ser efetuada em intervalo de tempo significativamente menor do que o da válvula Valco (eletromecânica), usual em sistema SIA. Deste modo, tornou-se possível a inserção de pequenos volumes das soluções reagentes, possibilitando a implementação do sistema FIA-MBS. Mesmo assim, para a adaptação desta válvula fez-se necessária a realização de pequenos ajustes nos conectores das portas da mesma. Devido ao fato do diâmetro interno da porta central da válvula e dos conectores originais serem grandes, foram construídos novos conectores com diâmetros apropriados, evitando, assim, um volume morto significativo nas portas da válvula, os quais poderiam contaminar as soluções seguintes ou influenciar na repetibilidade dos resultados por efeito de memória nas determinações seguintes.

Para o desenvolvimento deste módulo de análise foi necessária a construção de uma interface de potência com diferença de potencial de 12 V e corrente 1,0 A, necessária para o acionamento das portas da válvula. Foram realizados também os interfaceamentos da válvula e do espectrofotômetro através de uma interface PCL-711, instalada em um dos "slots" disponíveis na placa principal do microcomputador. Esta interface fornece dezesseis linhas de

entrada e dezesseis de saída de sinais digitais. A saída analógica do espectrofotômetro (Femto 432) possui fundo de escala de 0,1 V para uma unidade de absorbância. O conversor analógico/digital da interface PCL-711 possui fundo de escala variável de 5,0; 2,5; 1,25; 0,625 e 0,3125 V. A bomba peristáltica foi controlada através de uma interface serial RS232, permitindo controlar a velocidade e a direção de rotação da mesma. Foi escrito um programa computacional em Visual Basic 3.0, para controlar o funcionamento dos equipamentos e aquisição de dados.

De forma semelhante ao módulo de análise convencional para sistema SIA, a inserção das soluções era realizada aspirando-se as soluções dos respectivos recipientes para a bobina receptora (B1) e, após o processo de amostragem, era invertido o sentido de rotação da bomba peristáltica, bombeando-se a zona de amostra em direção ao detector.

Neste módulo de análise também foram implementados os sistemas FIA-SWS, MSFA, SIA e FIA-MBS, sendo que praticamente todos os problemas referentes ao funcionamento da válvula usada no módulo de análise anterior foram solucionados ou minimizados. Entretanto, percebeu-se que quando algumas das portas da válvula era mantida sem fluído, o problema do surgimento de bolhas de ar ainda persistia, tal como no módulo de análise anterior. Uma vez que as portas da válvula solenóide também são interligadas à porta central, de forma semelhante à válvula convencional por sistema SIA, ao inserir-se as soluções no percurso analítico, frações do ar alojado nas portas da válvula sem fluído eram inseridas juntamente com as soluções na bobina receptora, dificultando uma vez mais a implementação do sistema MSFA. As bolhas de ar, que surgiam de forma aleatória, normalmente intercalavam-se entre as soluções reagentes no percurso analítico, dificultando a mistura entre as mesmas, influenciando, assim, tanto a exatidão como a precisão das medidas. Visando eliminar este problema, efetuou-se uma pequena modificação no módulo de análise, conforme representado na Figura II.2. À porta central da válvula multiportas foi acoplada uma válvula solenóide de três vias, destinada à inserção das bolhas de ar. Assim, todos os canais da válvula multiporta poderiam ser mantidos com solução, evitando o surgimento indesejável de bolhas de ar. Após esta modificação, observou-se que este problema havia sido finalmente solucionado, tornando viável a implementação do sistema MSFA.

Com os problemas básicos de funcionamento da válvula solucionados, o novo módulo de análise estava pronto para implementação dos sistemas em estudo. Entretanto, ainda era

observado que devido às diferenças de configurações do módulo de análise requeridas por cada processo de amostragem, para efetuar a mudança de sistema, algumas modificações na estrutura básica ainda se faziam necessárias. Como exemplo, para mudar do sistema SIA para os demais, era necessário mudar a bomba de posição, alterando a configuração do percurso analítico. Para o sistema MSFA, além dessa modificação, a bobina de reação deveria ser substituída, em função da mesma ser construída com tubo de maior diâmetro, em relação aos demais sistemas.

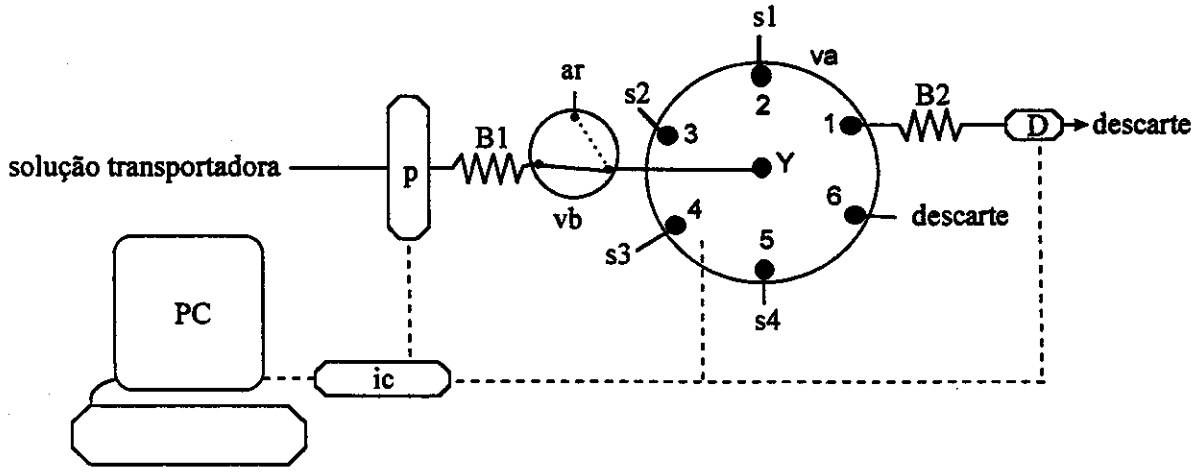

Figura II.2. *Diagrama de fluxo do módulo de análise constituído de duas válvulas solenóides de três (vb) e seis portas (va). PC = microcomputador; ic = interface eletrônica; p = bomba peristáltica; s1 - s4 = soluções reagentes; Y = porta central da válvula de seis portas; D = detector(espectrofotômetro); B1 = bobina receptora das soluções, construída com tubo de teflon de diâmetro interno de 0,8 mm; B2 = bobina de reação, construída com tubo de teflon de diâmetro interno de 0,8 mm, quando usado sistema não segmentado e com diâmetro interno de 1,6 mm, para o sistema monossegmentado.*

Para solucionar este problema foram efetuadas modificações mais acentuadas, o que resultou num módulo de análise com configuração híbrida, com uma estrutura mais ampla, contendo duas bobinas de reação, possibilitando, assim, implementar estes sistemas sem alterar a configuração do módulo de análise. Este módulo é mostrado na Figura II.3, onde o sistema em fluxo a ser empregado pode ser escolhido, simplesmente alterando-se as variáveis de entrada no programa computacional de controle para seu funcionamento. Na configuração representada na Figura II.3, inicialmente, a válvula vc era mantida ligada e a bomba

peristáltica ligada com rotação no sentido anti-horário, permitindo que alíquotas da soluções de amostra e reagentes fossem inseridas na bobina receptora B3.

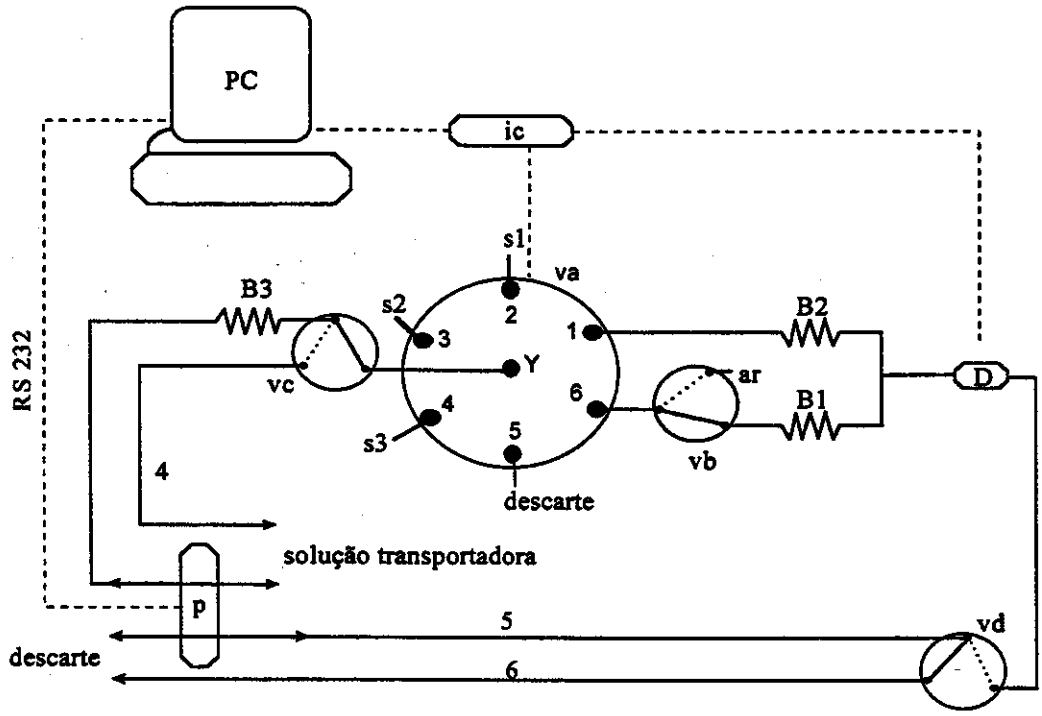

Figura II.3. Diagrama de fluxo do módulo de análise constituído de quatro válvulas solenóides. PC = microcomputador; ic = interface de comunicação; va = válvula solenóide de seis portas; vb, vc, vd = válvulas solenóides de três vias; Y = porta central da válvula de seis portas P = bomba peristáltica;s1-s4 = soluções reagentes; D = detector (espectrofotômetro). Nas válvulas vb, vc e vd os traços cheios representam os canais abertos quando as válvulas estão desligadas, permitindo a passagem de solução. B1 = bobina de reação, construída com tubo de teflon com diâmetro interno 1,6 mm, para o sistema monossegmentado; B2 = bobina de reação, construída com tubo de teflon de diâmetro interno de 0,8 mm, para sistemas não segmentado;B3 = bobina receptora das soluções, construída com tubo de teflon de diâmetro interno de 0,8 mm, para sistema SIA.

II.2. Descrição do funcionamento do módulo de análise para cada sistema em estudo

Sistema SIA: inicialmente, com o módulo de análise na configuração representada na Figura II.3, a rotação da bomba peristáltica no sentido anti-horário e a porta da válvula *va*, que permite o fluxo da solução da amostra, é comutada. Assim, uma alíquota da solução da amostra de volume $v = \varphi.\Delta t$ (φ = vazão, Δt = intervalo de tempo) é inserida na bobina

receptora B3. Em seguida, eram comutadas sequencialmente as outras portas de *va* que permitiam a inserção das soluções dos demais reagentes para B3, em uma sequência previamente definida, conforme a ordem de amostragem das soluções reagentes requerida para o desenvolvimento da reação química. Durante a etapa de amostragem das soluções, *vc* permitia a passagem das soluções para B3 sem que fosse comutada, enquanto a válvula *vd* era também mantida desligada para evitar o refluxo de solução do descarte através da cela de fluxo. Durante a amostragem, a solução transportadora que se encontrava retida no percurso analítico entre *vd* e *va* era mantida em repouso, sendo movimentadas as soluções reagentes, inseridas na bobina B3, deslocando a solução transportadora para o seu recipiente de origem.

Tendo completado a etapa de amostragem, o sentido de rotação da bomba era invertido e, no mesmo instante, *vd* era ligada juntamente com a porta (1) de *va*, permitindo a passagem de fluído para o reator B2. Assim, a solução transportadora era deslocada do seu recipiente passando por B3 e a zona de amostra era transportada de B3, passando através da porta (1) de *va*, B2, detector, sendo recolhida no descarte. Após a leitura do sinal, todo o processo era repetido para efetuar-se a próxima determinação.

Sistemas FIA-SWS e FIA-MBS: nestes sistemas, durante o processo de amostragem das soluções reagentes, a porta (1) de *va* era comutada juntamente com as demais portas designadas à amostragem das soluções, permitindo que o fluxo ocorresse através da bobina de reação B2. Ao iniciar-se o ciclo de amostragem, a válvula *vd* era mantida desligada, permitindo, assim, que o fluxo de fluído fosse direcionado livremente para o recipiente de descarte. Enquanto isso, *vc* era mantida comutada e a rotação da bomba promovida no sentido horário. Assim, a solução transportadora era mantida em circulação, sendo bombeada através de B3 até *vc*, passando pela mesma e retornando ao seu recipiente de origem. Enquanto isso, as portas da válvula *va*, definidas para as inserções das soluções reagentes, eram comutadas na sequência definida para o sistema FIA-MBS ou FIA-SWS, sendo inseridas em B2, através da porta (1) de *va*. Terminada a etapa de amostragem, desligava-se a válvula *vc*, restabelecendo o fluxo da solução transportadora através da bobina B3, porta central e porta (1) de *va*, fluindo pela bobina de reação B2, deslocando a zona de amostra em direção ao detector, sendo o resíduo descartado em seguida.

Sistema MSFA: o ciclo de amostragem era efetuado do mesmo modo que para os sistemas descritos no parágrafo anterior, com algumas pequenas modificações. O processo de

amostragem era iniciado ligando-se a válvula vb por um intervalo de tempo necessário para a inserção de uma bolha de ar na bobina B1, com volume previamente definido. Na sequência, eram inseridas nesta mesma bobina as soluções reagentes, conforme procedimento descrito no parágrafo anterior e, finalizando o processo de amostragem, *vb* era desligada, interrompendo o fluxo de solução, sendo inserida uma segunda bolha de ar com volume semelhante ao da anterior. Ao término do processo de amostragem, *vc* era desligada e a porta (6) de *va* ligada, permitindo o fluxo da solução transportadora pelo percurso analítico, deslocando a zona da amostra contida entre as duas bolhas de ar em B1 em direção ao detector.

II.3. Descrição do programa computacional

O programa computacional de controle e aquisição de dados foi escrito em Visual Basic 3.0, considerando a possibilidade de implementar os processos FIA-SWS, MSFA, SIA FIA-MBS, conforme já descrito. Neste programa, as opções para entrada ou alteração das variáveis de trabalho encontravam-se distribuídas em "menus" disponíveis na tela do monitor.

Na Figura II.4, encontra-se o fluxograma de funcionamento do programa computacional, o qual é constituído de um conjunto de sub-rotinas que permitem escolher a opção desejada, sinalizando os parâmetros de controle requisitados pelo microcomputador quando o programa é iniciado.

Uma vez fornecidas essas informações, o microcomputador efetua todas as etapas do procedimento analítico selecionado, sem assistência do operador, apresentando na tela um gráfico do sinal analítico em função do tempo, permitindo o acompanhamento visual do mesmo. No final de cada determinação, um arquivo dos dados obtidos em função do intervalo de tempo é gerado, podendo ser gravado para processamento posterior.

Na Figura II.5 encontra-se representada a janela principal do programa. A mesma é dividida em "menus", contendo as opções para entrada das respectivas variáveis, via teclado do microcomputador.

No "menu" **controle** são estipulados os intervalos de tempo de acionamento dos solenóides durante as inserções das respectivas soluções no modo de bombeamento;
vazão permite estipular o valor numérico que determina a velocidade de rotação da bomba no modo de bombeamento, sendo que o sinal algébrico do número define o sentido de rotação da

bomba, ou seja, se o sinal for negativo a bomba gira em um determinado sentido, se positivo a rotação ocorre em sentido contrário ao anterior;

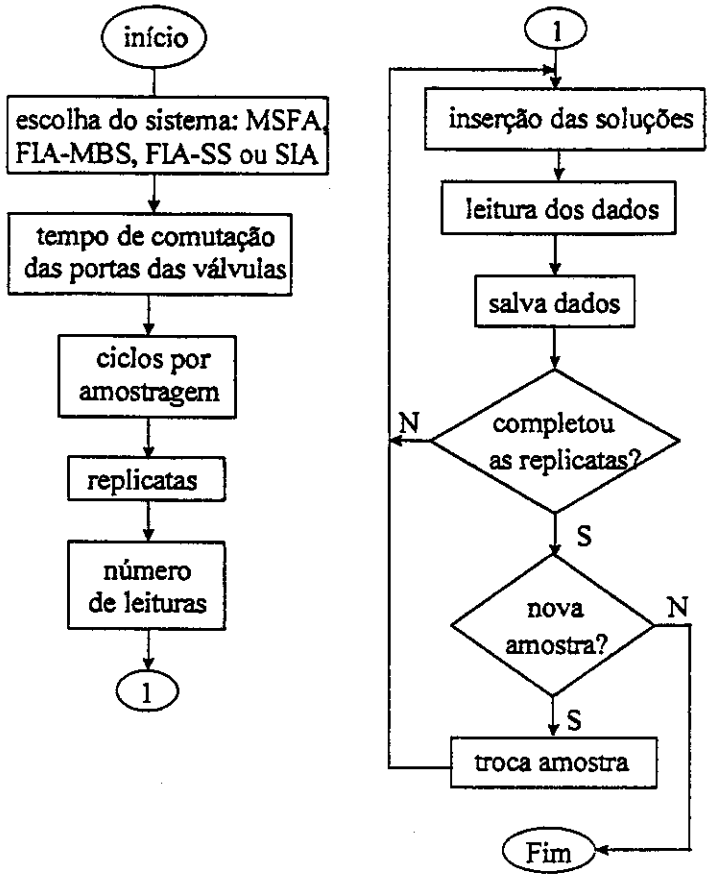

Figura II.4. Fluxograma do programa computacional.

(OFF e ON) representam funções que permitem comutar individualmente as respectivas portas da válvula, sendo que no mesmo instante a bomba inicia a rotação no sentido e velocidade previamente definidos. Essa é uma alternativa que permite o descarte de solução retida no percurso analítico, possibilitando efetuar limpeza do sistema após o uso ou mesmo lavar o percurso analítico com outra solução, preparando-o para o início de uma série de novas determinações com soluções diferentes, ou simplesmente para limpar os tubos do módulo ao encerrar um ciclo de análise.

No "menu" **amostragem** encontram-se as seguintes variáveis: **sequência** cada número da sequência mostrada nesta caixa representa uma porta da válvula, sendo que as mesmas são comutadas na ordem de distribuição da esquerda para a direita. Até o penúltimo, os números representam as portas da válvula designadas para a inserção das soluções na bobina receptora e

o último número representa a porta que permanecerá comutada durante o período de leitura, permitindo a passagem da mistura das soluções em direção ao detector. Por exemplo, na sequência 5413, os números 5, 4 e 1 representam as portas da válvula que são comutadas para inserção das soluções, obedecendo esta mesma ordem. O número 3 representa a porta da válvula que é mantida comutada durante o intervalo de leitura, permitindo que a zona de amostra, que se encontra na bobina receptora seja bombeada em direção ao detector;

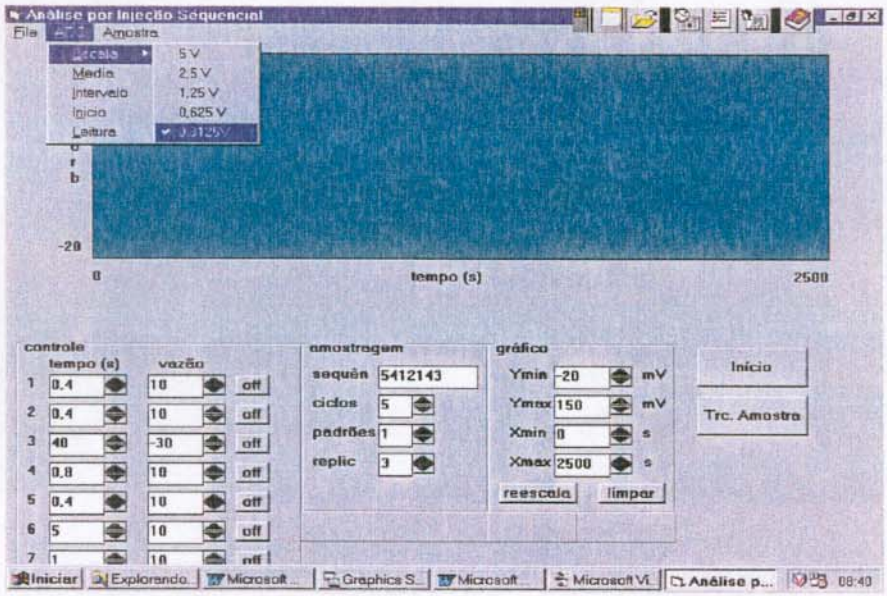

Figura II.5. *Representação dos dispositivos de acondicionamento das variáveis de entrada, para controle do sistema via programa computacional.*

ciclos o número representado nesta caixa indica quantas vezes a sequência será repetida para obter os volumes das soluções de amostra e reagentes necessários para efetuar uma determinação;

padrões indica o número de soluções padrão ou de amostras a serem analisados;

replic representa as replicatas, ou seja, o número de determinações estipulado para cada amostra.

No "menu" **gráfico** encontram-se destacadas as opções onde:

Ymin e Ymax representam os valores máximos e mínimos da ordenada, que é baseada no fundo de escala do espectrofotômetro em mV;

Xmin e Xmax representam a abscissa da tela onde era impresso os sinais resultantes de cada determinação, em segundos;

limpar é um comando que permite limpar o gráfico plotado nessa janela;

reescala atualiza os valores da ordenada e/ou abscissa, inseridos nas caixas Ymin, Ymax, Xmin, Xmax mostrados no gráfico;

início permite ao programa computacional iniciar o sistema a ser colocado em funcionamento, após o operador ter fornecido todas as variáveis necessárias, ou ter efetuado a troca de amostra ou de qualquer outra solução;

trc. Amostra é uma função opcional que permite efetuar a troca de amostra independentemente de ter sido realizada uma determinação. Quando é acionada, a válvula estipulada para a inserção da solução de amostra é comutada e a bomba peristáltica acionada, aspirando a solução do referido recipiente para a bobina receptora, durante um intervalo de tempo suficiente para que o volume da nova solução lave o tubo que antes se encontrava com a solução anterior ou sem nenhum fluído. Na sequência, a rotação da bomba é interrompida e essa porta da válvula é desligada, cessando a inserção dessa solução. Em seguida, automaticamente é comutada uma outra porta da válvula, a bomba é novamente acionada no outro sentido de rotação, descarta todo o volume da solução da amostra inserido durante um intervalo de tempo suficiente para limpar o percurso analítico com solução transportadora, deixando-o pronto para dar início à etapa de determinações relativa a essa amostra.

Outras opções relativas às variáveis de entrada podem ser observadas na Figura II.6, onde no "menu" **ADC** encontram-se destacadas as opções do fundo de escala do conversor A/D, permitindo escolher a escala desejada entre os valores 5,0; 2,5; 1,25; 0,625 e 0,3125 V;

média representa o número de leituras cuja média constitui cada ponto do gráfico do sinal impresso na tela;

intervalo representa o intervalo de tempo entre as leituras;

início é o intervalo de tempo aguardado antes de se iniciar a leitura dos sinais, durante o transporte da mistura das soluções até ao detector;

leitura refere-se ao intervalo de tempo suficiente para a zona de amostra passar pelo detector, cujo resultado é representado pelo gráfico correspondente, plotado na tela do microcomputador.

Outras variáveis indispensáveis para o controle do módulo de análise proposto encontram-se discriminadas no "menu" (amostra), que é constituído de dois submenus, como mostrado na Figura II.6.

No "menu" **Amostragem**, encontram-se os dispositivos:

válvula porta da válvula, representada numericamente, na qual é colocada a solução da amostra;

tempo encontra-se representado o intervalo de tempo de comutação da porta da válvula usada na inserção da solução de amostra, suficiente para que a limpeza do percurso analítico seja completada;

bomba seleciona o sentido e a velocidade de rotação da bomba durante a inserção da solução. Também, após a troca das soluções, essa função pode ser usada para efetuar o descarte da mistura entre as soluções anterior e atual.

No "menu" **descarte** encontram-se variáveis similares às anteriores, onde é estipulada a porta da válvula a ser comutada para efetuar o descarte de fluídos, não permitindo que a mistura das soluções passe pelo detector;

tempo determina o intervalo de tempo suficiente para garantir que o descarte seja completado, sem deixar resíduos da mistura das soluções no percurso analítico;

bomba é uma opção que permite alterar o sentido de rotação da bomba e, se necessário, a velocidade de rotação, podendo transportar as soluções para o descarte.

A aquisição dos dados referentes aos sinais gerados pelo detector foi efetuada através da saída analógica do espectrofotômetro, que se encontrava acoplada ao conversor analógico/digital da interface PCL-711. O conversor A/D possui 12 bits e tempo de conversão de 20 μs. Em vista desta alta velocidade de conversão, foi estipulado para cada ponto do sinal gerado na tela, uma média de 50 leituras. O sinal impresso na tela era semelhante aos sinais registrados nos registradores potenciométricos, ou seja, sinal analítico em função do tempo, permitindo ao pesquisador ter uma imagem em tempo real dos resultados obtidos.

Os arquivos podem ser gravados e, se necessário, importados para uma planilha de cálculo, para serem convenientemente tratados. Essa estrutura e programa computacional propiciaram a eliminação do registrador potenciométrico, simplificando significativamente a mão de obra do operador e diminuindo custos referentes à construção do módulo de análise.

Portanto, foi desenvolvido e construído um módulo de análise híbrido, com estrutura compacta e versátil. O mesmo possibilitou a implementação dos diferentes sistemas em fluxo em avaliação, sendo que a mudança de sistema era efetuada alterando-se somente as variáveis de entrada, para adequar o procedimento de amostragem requerido em cada processo. A

avaliação do funcionamento deste módulo de análise foi realizada implementando-se os sistemas FIA-SWS, MSFA, SIA e FIA-MBS e aplicando-os para determinação espectrofotométrica de níquel em amostras digeridas de ligas de aço, onde os resultados obtidos encontram-se discutidos no capítulo III.

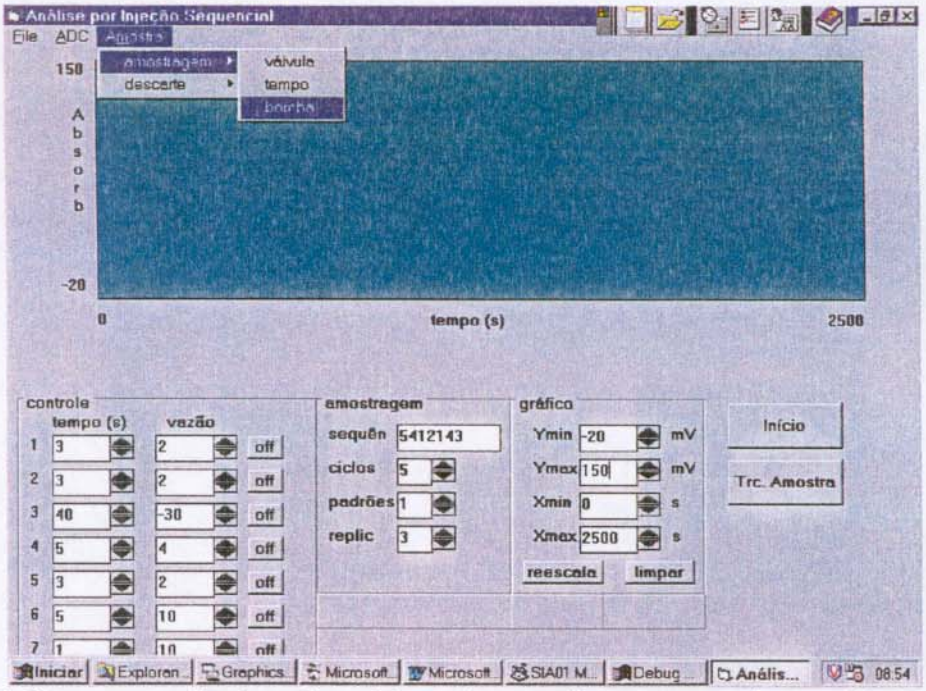

Figura II.6. *Representação dos dispositivos de acondicionamento das variáveis de entrada, para controle do sistema via programa computacional.*

II.4. Módulo de análise para efetuar a propulsão de fluído a pressão constante

Promovendo-se algumas modificações na configuração do módulo de análise representado na Figura II.3, a realização de análises efetuando-se a propulsão de fluidos à pressão constante foi promovida usando a ação gravitacional. Conforme representado na Figura II.7, as alterações mais acentuadas ocorreram em função da retirada da bomba peristáltica e, ao invés de recipientes convencionais para o acondicionamento das soluções reagentes, foram usados frascos de Mariotte.

Tendo como objetivo facilitar a compreensão relativa à configuração e funcionamento deste módulo de análise, faz-se necessária uma breve explanação em função da estrutura do mesmo, bem como de cada um dos processos de amostragem relativos aos sistemas empregados.

Semelhante ao módulo de análise anterior (Figura II.3), por empregar sistemas que requerem bobinas de reações construídas com tubos de diferentes diâmetros, tornou-se necessário que o módulo de análise fosse constituído por duas bobinas. Uma construída com tubo de diâmetro interno 0,8 mm designada aos sistemas não segmentados e outra com tubo de 1,6 mm para o sistema monossegmentado. A válvula *vb* foi acoplada à porta central de *va* com o objetivo de viabilizar a implementação do sistema SIA no módulo de análise, pois assim foi possível reproduzir o processamento das soluções característico deste sistema, sendo a zona de amostra movimentada em dois sentidos no percurso analítico. A função da válvula *vc* foi simplesmente para melhor adequar a inserção de bolhas de ar, quando empregado o sistema MSFA. Este dispositivo foi necessário para evitar a inserção das bolhas de ar por uma das portas da válvula *va*, com o propósito de evitar surgimento de bolhas de ar indevidas, conforme já discutido.

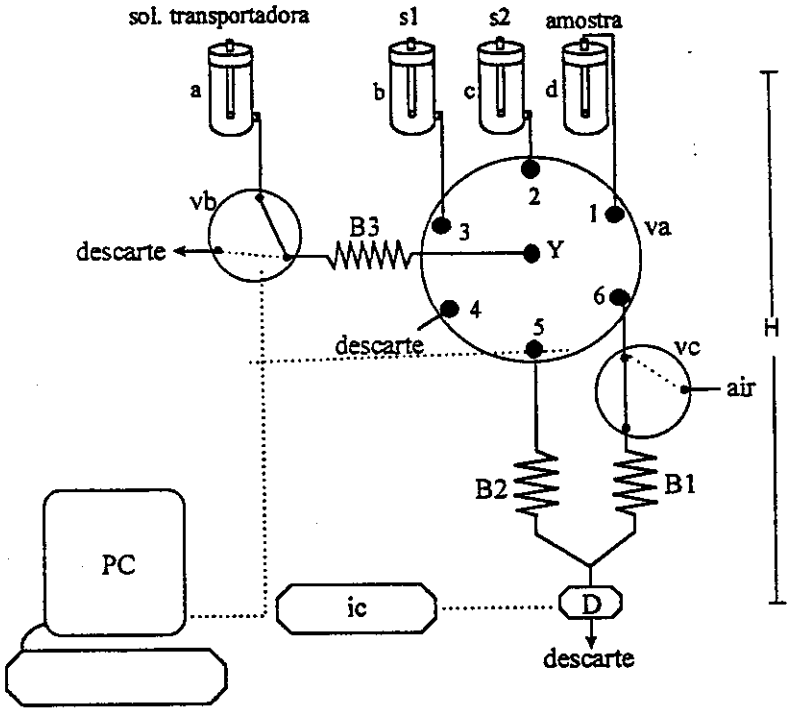

Figura II.7. Diagrama de fluxo do módulo de análise para a propulsão dos fluídos à pressão constante. pc = microcomputador; ic = interface eletrônica; a, b e c = tubos de Mariotte e d = recipiente da solução da amostra;s1 e s2 = soluções reagentes; va, vb e vc, válvulas solenóides de seis e de três vias; Y = porta central da válvula; B1 = bobina de reação, d.i = 1,6 mm, designada ao sistema MSFA; B2 = bobina de reação, d.i. = 0,8 mm, designada aos sistemas SIA, FIA-MBS e FIA-SWS; D = detector; H = altura entre os recipientes das soluções e o detector. Nas válvulas vb e vc os traços cheios representam os canais abertos quando as válvulas estão desligadas, permitindo a passagem de solução.

Também neste módulo de análise teve-se como objetivo a implementação de diferentes processos de amostragem, com a mudança de sistema sendo feita via alterações nas variáveis de entrada, mantendo-se a estrutura do mesmo constante.

As soluções dos reagentes são acondicionadas em frascos de Mariotte, de onde alíquotas das mesmas são inseridas no percurso analítico, sendo movimentadas pela ação da gravidade, em função da altura entre os mesmos e os demais compartimentos do módulo de análise. Estes recipientes são os mais adequados a este modelo de sistema, uma vez que suas configurações contribuem para que a pressão interna seja mantida constante, independentemente da variação de volume da solução no frasco. Esta característica é fundamental para a manutenção da vazão constante em cada ponto do percurso analítico e, consequentemente, no controle da vazão das soluções. Os demais equipamentos foram os mesmos empregados na configuração do módulo de análise anterior.

II.5. Descrição do funcionamento de cada sistema

Sistema SIA: na configuração representada na Figura II.7, a inserção das soluções era efetuada mantendo-se ***vb*** ligada para o descarte, vedando o fluxo da solução transportadora que se encontrava no recipiente ***a***. Comutando-se as respectivas portas de ***va***, na sequência definida pelo operador, era efetuada a inserção das respectivas soluções reagentes na bobina B3. Durante a amostragem das soluções, era descartado por ***vb*** um volume de solução transportadora semelhante ao volume total da zona de amostra. Assim, era necessário que a capacidade de volume de B3 fosse suficientemente maior que o volume da zona de amostra, para evitar possível descarte das soluções reagentes durante o processo de amostragem. Em seguida, ***vb*** era desligada para liberar a solução transportadora, a qual fluía por B3, transportando a mistura das soluções reagentes através da porta central e porta (5) de ***va***, fluindo através de B2 em direção ao detector.

Sistemas FIA-SWS e FIA-MBS: nestes sistemas, durante o processamento de amostragem das soluções, ***vb*** era mantida ligada, vedando a passagem da solução transportadora, sendo que o outro canal de ***vb*** era mantido vedado com uma luva conectada à saída do descarte. Durante o processo de amostragem, a porta (5) de ***va*** era comutada juntamente com as demais portas designadas para as inserções das soluções reagentes,

permitindo que as mesmas fossem inseridas diretamente em B2. Após a amostragem das soluções, *vb* era desligada novamente juntamente com a porta (5) de *va*, liberando o fluxo da solução transportadora que se encontrava no recipiente **a**, a qual fluía por B3, através da porta central e porta (5) de *va*, fluindo através de B2 em direção ao detector.

Sistema MSFA: o procedimento de amostragem das soluções é semelhante ao descrito no item anterior. Entretanto, o mesmo era iniciado comutando-se a válvula *vc* por um intervalo de tempo necessário para a inserção de uma bolha de ar na bobina B1, com volume previamente definido. Na sequência, eram inseridas nesta mesma bobina as soluções reagentes, conforme procedimento descrito no parágrafo anterior e, finalizando o processo de amostragem, *vc* era novamente comutada interrompendo o fluxo de solução, inserindo uma segunda bolha de ar com volume semelhante ao da anterior. Ao término do processo de amostragem, *vb* era desligada juntamente com a porta (6) de *va*, permitindo que o fluxo da solução transportadora, contida no recipiente (a), fluísse pela bobina B3, através da porta central e porta (6) de *va*, deslocando a zona da amostra contida em B1 entre as duas bolhas de ar em direção ao detector.

II.6. Descrição do programa computacional

O programa computacional foi mantido semelhante ao anterior, com exceção do sub-programa de controle do funcionamento da bomba peristáltica, pelo fato da mesma não ser usada neste módulo de análise. Por isso, inicialmente era efetuada a escolha do sistema a ser utilizado, o controle de comutação das válvulas com base nas variáveis de entrada (sequência de amostragem) e, finalmente, aquisição dos dados obtidos.

A avaliação do funcionamento deste módulo de análise foi realizada implementando os sistemas FIA-SWS, MSFA, SIA e FIA-MBS. Os mesmos foram aplicados para a determinação turbidimétrica de sulfato em digeridos de plantas, fígado bovino e soro sanguíneo.

II.7. Módulo de análise para determinação potenciométrica

A versatilidade do módulo de análise, cujo diagrama de fluxo encontra-se representado na Figura II.3, também foi avaliada empregando-se titulação potenciométrica. Assim, ao módulo de análise foi acoplado um detector potenciométrico conforme representado na Figura II.8. As modificações mais acentuadas com relação à configuração original foram relativas ao sistema de detecção e ao programa computacional, sendo que foi desenvolvido um novo programa designado ao controle das variáveis referentes ao processo de titulação, bem como para efetuar aquisição dos dados.

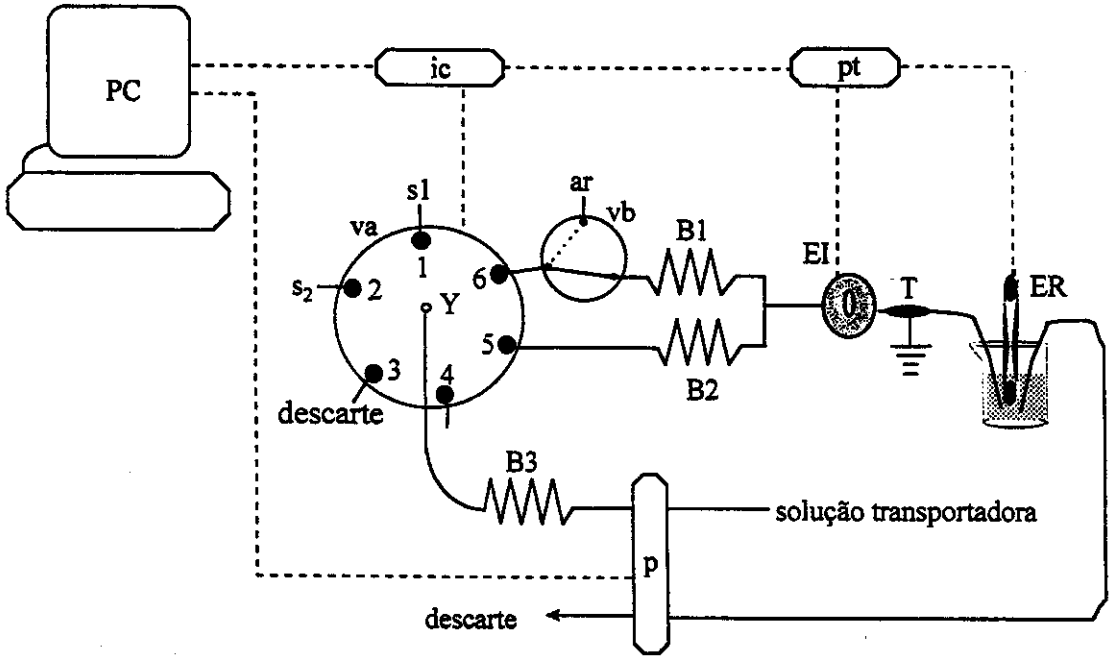

Figura II.8. *Diagrama de fluxo do módulo de análise para titulação potenciométrica. PC = microcomputador; ic = interface eletrônica; s1 e s2 = soluções titulada e titulante; p = bomba peristáltica; EI = eletrodo tubular de Ag_2S (indicador); ER = eletrodo de dupla junção Ag/AgCl (referência); T = terra; Pt = potenciômetro; Y = porta central da válvula; B3 = bobina receptora das soluções, tubo com diâmetro interno de 0,8 mm; B1 = bobina de reação, tubo com diâmetro interno 1,6 mm para sistema MSFA; B2 = bobina de reação, tubo com diâmetro interno de 0,8 mm, para os sistemas em fluxo não segmentados.*

Neste sistema, o detector foi constituído de um eletrodo de íon seletivo Ag/Ag_2S (indicador) e um de referência Ag/AgCl de dupla junção. Devido à diferença de potencial elétrico gerada em função do movimento das cargas dos íons durante o transporte da zona da

amostra, a solução era mantida em contato com um fio terra para uma melhor estabilização do sinal. Os constituintes do sistema de detecção, foram conectados no percurso analítico na sequência eletrodo indicador, fio terra soldado em uma agulha de seringa acoplada ao tubo entre os dois eletrodos e, por último, o eletrodo de referência. Preferencialmente, os eletrodos eram posicionados o mais próximo possível, facilitando o contato elétrico e, com isso, evitando instabilidade na leitura da diferença de potencial, resultante da variação da concentração da espécie de interesse.

Como mostrado na Figura II.8, o eletrodo indicador (Ag/Ag_2S) era conectado diretamente no tubo do percurso analítico e o de referência (Ag/AgCl) colocado dentro de um bequer de 50 mL, imerso na solução transportadora. A solução do percurso analítico era descartada dentro deste bequer, com a extremidade do tubo imersa para estabelecer o contato elétrico entre os eletrodos. Para manter o volume de solução no bequer constante, um segundo tubo era inserido dentro do mesmo, retirando a solução a uma vazão igual à do fluido transportador.

A titulação era realizada efetuando-se três medidas, em uma primeira etapa, que constituíam o primeiro referencial da variação de potencial. Inicialmente, para a primeira medida, era inserida somente solução do titulado no percurso analítico, a segunda leitura era resultante da inserção da solução de titulante e, completando a etapa inicial do processo de titulação, eram inseridos volumes iguais de ambas as soluções.

Na etapa seguinte, tomando como referência a maior variação de potencial relativa às três leituras anteriores, era calculado o valor do incremento para alterar a proporção entre os volumes das soluções titulada e titulante, definindo assim, os volumes das mesmas a serem inseridos no percurso analítico para efetuar a medida seguinte. Portanto, o volume do incremento era alterado para cada determinação até atingir o ponto final da titulação. A tomada de decisão para promover a alteração na proporção entre os volumes das soluções e, por conseguinte, ocorrer as aproximações do ponto de equivalência, tinha como referência a variação de potencial relativa à leitura anterior. Desta forma, a tentativa seguinte era sempre efetuada injetando-se volumes das soluções de titulante e titulado em uma nova proporção. O volume do primeiro era incrementado (ou decrementado) em uma quantidade igual à média da diferença entre os volumes das amostragens anteriores. Deste modo, com base no critério de interrupção previamente definido como variável de entrada, as estimativas (medidas em

segundo) eram calculadas sucessivamente até atingir a aproximação estipulada, interrompendo o processo de titulação.

Este módulo de análise foi proposto visando a implementação dos sistemas FIA-SWS, MSFA, SIA e FIA-MBS para determinação potenciométrica de cloreto em amostras de leite e vinho.

II.8. Equipamentos e acessórios

Na construção dos módulos de análise empregando-se detecção espectrofotométrica, usou-se um espectrofotômetro Femto 432 com cubeta de fluxo de 180 μL e passo óptico de 13 mm. As inserções das soluções no percurso analítico foram efetuadas empregando-se válvulas de oito portas (modelo E8 Valco), válvulas solenóides de seis portas (modelo Nresearch 225T091, Aloje, MA, E.U.A) e, de três vias (Nresearch 225T031, Aloje, MA, E.U.A). A movimentação das soluções foram realizadas usando-se uma bomba peristáltica (Ismatec IPC8), equipada com tubos de "Tygon" para bombeamento das soluções ou, então, a ação gravitacional. O percurso analítico e as bobinas de reação foram construídos usando-se tubos de PTFE com diâmetros interno de 0,8 e 1,6 mm, em função das necessidades requeridas por cada sistema implementado nos respectivos módulos. Um microcomputador PC-Pentium 100 MHz, equipado com uma interface (PCL-711S, Advantech) e programas computacionais específicos, em Quik Basic 4.5 e Visual Básico 3.0, foram necessários para estabelecer a comunicação entre o microcomputador e os constituintes dos módulos de análise, permitindo, também, efetuar a aquisição de dados.

No módulo de análise desenvolvido visando a realização de titulação potenciométrica, foram usados os mesmos equipamentos descritos acima, com exceção do espectrofotômetro, pois, como detector foi usado um potenciômetro (Crison, MicronpH 2002) para registrar a variação de potencial em função do produto formado. O sistema de detecção foi constituído empregando-se como referência um eletrodo de dupla junção de Ag/AgCl e como indicador eletrodo de Ag_2S de configuração tubular, construído conforme descrito no item VI.3.1.

CAPÍTULO III

III. DETERMINAÇÃO ESPECTROFOTOMÉTRICA DE FERRO

III.1. Introdução

O ferro é o quarto elemento químico em abundância na crosta terrestre, o segundo entre os metais. Sua predominância pode ser observada em diferentes meios tais como solo, águas, organismos de seres vivos, etc, além de ser constituinte de vários metais como hematita, magnetita, limonita, etc[83]. Seus principais números de oxidação são (II) e (III). Em meio aquoso, devido a uma maior estabilidade, predomina o estado (II), em quanto que no estado (III) é ligeiramente oxidante e menos estável. Solubiliza a frio em ácido diluído e não oxidante, formando íons Fe^{2+} e a quente, na presença de ar, ocorre a formação do íon Fe^{3+} em pequena quantidade, entretanto em ácidos oxidantes a maior predominância é do íon Fe^{3+}.

Entre os metais, o ferro é um dos mais empregados na indústria e, entre outras aplicações, sua fusão com outros metais em ligas dá origem a aços de diferentes tipos, destacando-se os aços especiais, como aço ferramenta, resistentes a corrosão, além de possuir uma alta resistência térmica. Normalmente, este tipo de aço é constituído da mistura de ferro com molibdênio, crômio, tungstênio, vanádio, carbono, etc. Os íons ferrosos formam muitos complexos, sendo a hemoglobina (pigmento vermelho do sangue) considerado o mais importante devido sua função no organismo do ser humano. O mesmo é o maior responsável pelo transporte de oxigênio dos pulmões para outros órgãos, bem como de CO_2 dos tecidos para os pulmões[83] e, portanto, benéfico à saúde.

Dentre os diversos reagentes que podem ser empregados na sua identificação e quantificação, a o-fenantrolina é um dos mais recomendados[84]. Trata-se de uma base orgânica, que reage com íons Fe (II) na faixa de pH 2 a 9, formando o complexo $[Fe\ (o\text{-fenantrolina})_3]^{2+}$ de coloração vermelha. Entretanto, quando o ferro encontra-se em estado trivalente essa reação não é favorecida e portanto, forma complexo em menor quantidade. Porém, esse fator pode ser contornado empregando redutor para reduzir Fe (III) ao estado bivalente[85], possibilitando a determinação de ferro total. Os redutores mais apropriados são ácido ascórbico e cloreto de hidroxilamina[86].

Neste capítulo encontra-se discutida a determinação espectrofotométrica deste analito em amostras de águas, empregando o redutor cloreto de hidroxilamina e como reagente colorimétrico a o-fenantrolina.

III.2. Reagentes e soluções

As soluções de reagentes foram preparadas ou diluídas com água deionizada. Foram usadas soluções de acetato de sódio 1,0 mol L^{-1}, cloreto de hidroxilamina 5,0% (m/v); o-fenantrolina 0,5% (m/v); ácido sulfúrico 0,05 mol L^{-1} e Fe (II) (solução estoque) na concentração de 1000,0 mg L^{-1}, preparada a partir de sulfato ferroso amoniacal. As soluções de trabalho foram obtidas a partir de diluições apropriadas da solução estoque em ácido sulfúrico 0,05 mol L^{-1}, uma vez que este ácido havia sido adicionado às amostra para preservação das mesmas.

III.3. Procedimentos

A configuração do módulo de análise proposto foi desenvolvida conforme diagrama representado na Figura III.1. Os procedimentos de amostragem referentes aos sistemas implementados encontram-se discutidos no capítulo II. Os recipientes de acondicionamento das soluções foram conectados às portas da válvula, que por sua vez foi acoplada em uma das extremidades do percurso analítico.

A interface de comunicação possibilitou uma interação entre o microcomputador e a válvula, controlando o tempo de comutação das portas, delimitando os volumes das respectivas soluções a serem inseridos no percurso analítico, bem como o sentido e a velocidade de rotação da bomba peristáltica. O controle foi efetuado via programa computacional, com base nas variáveis de entrada. Nesta aplicação, independentemente do sistema implementado, as soluções de amostra e reagentes eram aspiradas dos seus respectivos recipientes para uma bobina receptora e, em seguida, invertia-se o sentido de rotação da bomba, bombeando-se a zona de amostra em direção ao detector, onde o produto da reação era monitorado e, finalmente, descartado.

A condição básica para o funcionamento dos sistemas era que fosse estipulado uma porta da válvula para cada solução a ser inserida no percurso analítico. As soluções eram aspiradas para a bobina receptora a uma vazão de 0,8 mL min^{-1}, após a inserção de todas as soluções, invertia-se a direção de bombeamento deslocando a mistura das soluções de amostra e reagentes em direção ao detector a uma vazão de 2,6 mL min^{-1}.

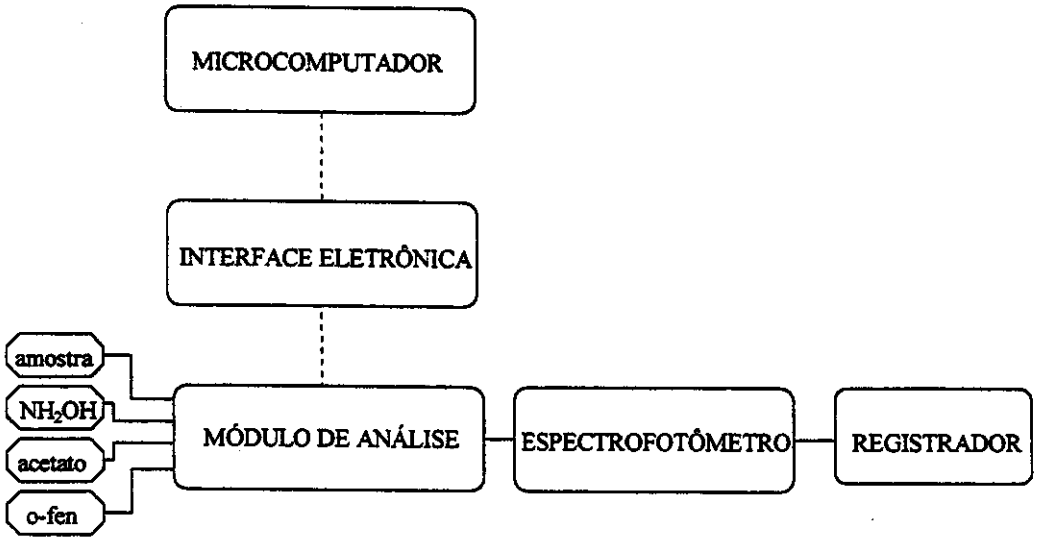

Figura III.1. *Diagrama de blocos do módulo de análise representado na Figura II.1, proposto para a implementação dos sistemas FIA-SWS, MSFA, SIA e FIA-MBS.*

As determinações foram realizadas mantendo-se constante os volumes das soluções reagentes nos diferentes sistemas, sendo os mesmos inseridos na bobina receptora, conforme procedimento de amostragem requerido em cada sistema. Os sinais gerados pelo espetrofotômetro eram monitorados por um registrador potenciométrico.

No sistema SIA a inserção das soluções no percurso analítico foi efetuada na sequência amostra, acetato de sódio, redutor e reagente cromogênico. Para o sistema FIA-MBS, os volumes das soluções referentes a cada determinação foram inseridos na mesma sequência de distribuição descrita para o sistema SIA, porém, divididos em dois ciclos de amostragem, com o objetivo de intercalar as soluções de amostra e reagente em pequenos volumes e, consequentemente, melhorar a mistura entre as mesmas. No sistema FIA-SWS, a amostragem das soluções foi efetuada aspirando-se reagente cromogênico, redutor, acetato, amostra, acetato de sódio, redutor e reagente cromogênico, ou seja, o volume da amostra foi inserido

em um único volume entre duas sequências de soluções reagentes. No sistema MSFA, a amostragem foi efetuada inserindo-se primeiramente uma bolha de ar com volume previamente definido (60 μL) e, em seguida, as soluções reagentes na sequência amostra, acetato, redutor, reagente cromogênico e, finalmente, a segunda bolha de ar, semelhante à anterior. Os volumes das respectivas soluções foram mantidos constantes nos diferentes sistemas, e a distribuição das mesmas na zona de amostra foi sempre efetuada em uma sequência de forma que a amostra pudesse ser primeiramente tamponada e o analito reduzido antes de entrar em contato com o reagente cromogênico.

III.4. Resultados e discussão

Como descrito no capítulo II, nos sistemas em fluxo não segmentados a sensibilidade é dependente da dispersão mútua entre as soluções de amostra e reagentes, uma vez que a dispersão é o principal fator responsável pela mistura das soluções no percurso analítico[8,84]. Além disso, dependendo do analito a ser determinado, a sensibilidade pode ser dependente também da sequência de inserção das soluções. Neste trabalho, inicialmente foram efetuados testes visando avaliar preliminarmente o módulo de análise empregando o sistema FIA-SWS para observar o perfil do sinal, uma vez que neste sistema o volume da amostra pode se tornar um fator preponderante. Por isso, foram realizados estudos buscando uma melhor sequência de inserção das soluções no percurso analítico, observando-se a sensibilidade e o perfil do sinal, tanto com relação à mistura entre as soluções reagentes como em função das variações no volume de amostra, conforme mostrado na Figura III.2.

Os testes foram realizados mantendo-se constante os volumes dos reagentes e variando-se o volume da amostra (Fe II). Observa-se que quanto maior o volume da amostra, menor a probabilidade do centro da mesma misturar-se com a solução reagente. Por outro lado, a predominância de solução reagente nas duas extremidades de um grande volume da amostra, resultou em dois sinais de diferentes magnitudes. Para a porção da amostra que atingiu primeiro o detector, o sinal foi melhor definido, com uma área menor e com uma maior altura. O segundo sinal, referente à porção da amostra mantida por um maior intervalo de tempo em contato com a solução transportadora, resultando em uma maior dispersão, apresentou uma área maior e menor sensibilidade relativamente ao primeiro. Mesmo assim,

havendo interesse, este recurso pode ser empregado para efetuar-se determinação de dois analitos em um único volume de amostra (multideterminação). A condição básica é que os diferentes produtos formados absorvam em comprimentos de onda na mesma região, possibilitando que a leitura dos mesmos possa ser efetuada no mesmo comprimento de onda. Por outro lado, como pode ser verificado na Figura III.2 ao inserir-se volumes cada vez menores de amostra entre as duas sequências de alíquotas de reagentes e ajustando-se para as melhores proporções, obteve-se uma boa mistura, resultando em um único sinal com ótima sensibilidade, demonstrando, assim, uma mistura eficiente entre as soluções reagentes. Observa-se também que a partir da condição ótima continuando a diminuição do volume da amostra começa a ocorrer perda de sensibilidade em função da dispersão do produto resultante.

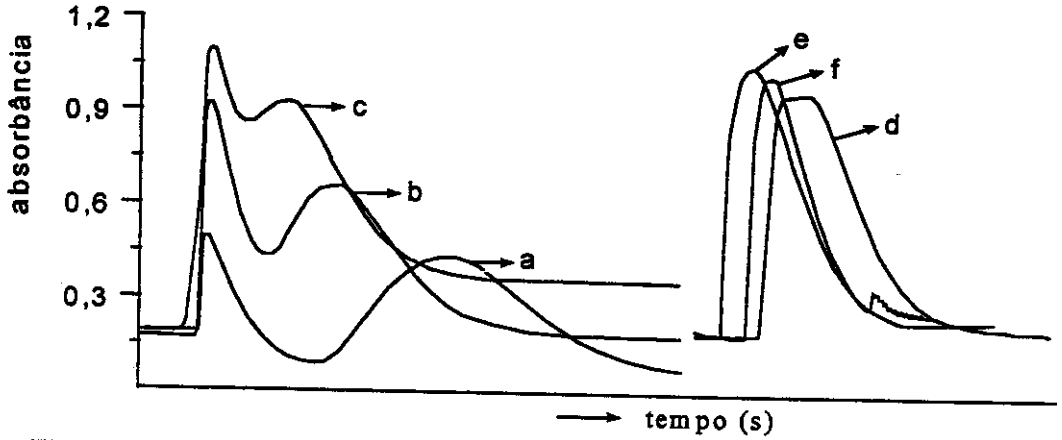

Figura III.2. *Sinal obtido em função da variação do volume da amostra empregando o sistema FIA-SWS. Solução padrão de Fe (II) 3,0 mg L^{-1}; volume total de reagente 210 µL de o-fenantrolina 0,5 % (m/v); 32 µL de NH_2OH 5,0 % (m/v); 107 µL de acetato 1,0 mol L^{-1}; volumes de amostra: (a) 1200 µL ; (b) 600 µL; (c) 400 µL; (d) 267 µL; (e) 200 µL; e (f) 133 µL.* [1].

III.4.1. Implementação de diferentes estratégias de amostragem no módulo de análise SIA

Após verificar o comportamento de resposta do módulo de análise empregando o sistema FIA-SWS, verificou-se o funcionamento do mesmo empregando diferentes estratégias de amostragem, sendo que os estudos foram realizados empregando-se os sistemas FIA-SWS, MSFA, SIA e FIA-MBS, conforme resultados representados na Figura III.3.

Inicialmente, os estudos foram efetuados variando-se proporcionalmente os volumes de amostra e reagentes, ou seja, manteve-se constante a razão entre os volumes das soluções reagentes, aumentando-os a cada determinação seguinte. Nestas condições, observou-se que o sistema FIA-SWS propiciou uma maior sensibilidade. Estes resultados, a princípio, surpreenderam, uma vez que previa-se maior sensibilidade para os sistemas MSFA ou FIA-MBS.

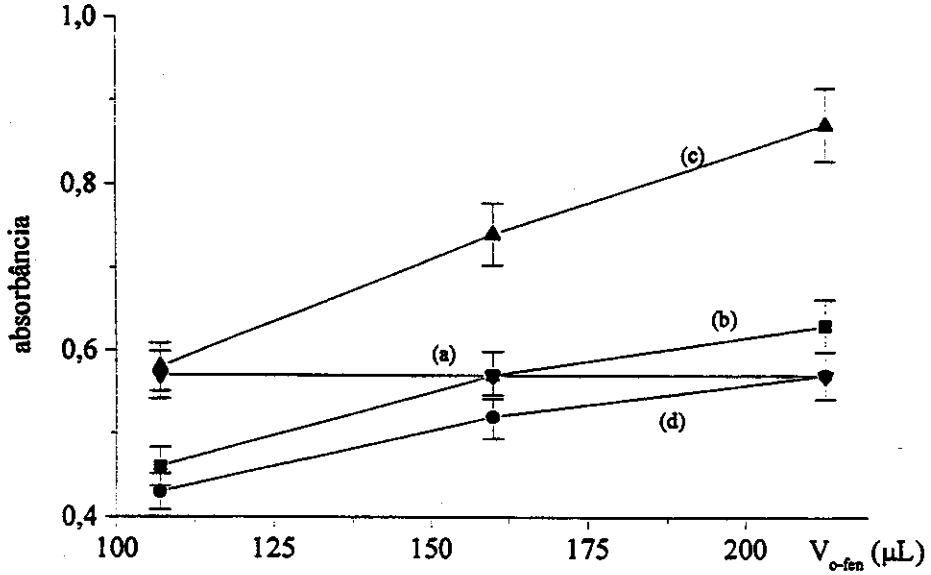

Figura III.3. *Resultados obtidos empregando-se diferentes estratégias de amostragens no módulo de análise SIA. Soluções: 65; 128; e 170 µL de Fe(II) 8,0 mg L^{-1}; 21; 32; e 43 µL de hidroxilamina 10,0 %; 107; 160; e 213 µL de o-fenantrolina 0,5 %; 107; 160 e 213 µL de acetato de sódio 1,0 mol L^{-1}, solução carregadora, ácido sulfúrico 0,05 mol L^{-1}. Os gráficos (a), (b), (c) e (d) correspondem aos sistemas MSFA, FIA-MBS, FIA-SWS e SIA, respectivamente.*

Com relação ao sistema MSFA, o gráfico da Figura III.3 manteve-se constante, o que demonstra uma boa mistura e homogeneização entre as soluções, independente das diferentes proporções de volumes das mesmas. A diferença de sensibilidade relativa ao sistema FIA-SWS possivelmente tenha ocorrido em função de diluição do produto formado, decorrente do volume de uma ou mais soluções em excesso. Diferentemente dos demais sistemas, no sistema MSFA a zona de amostra é mantida no percurso analítico praticamente como se estivesse em um tubo de ensaio. Por isso, uma proporção inadequada entre os volumes de amostra e reagentes pode resultar na diluição do produto formado.

Nos sistemas FIA-MBS, acredita-se que a menor sensibilidade observada também tenha sido em decorrência da proporção inadequada entre os volumes dos reagentes. Entretanto, observou-se que os gráficos destes sistemas apresentaram comportamento semelhante, sendo o aumento na sensibilidade propiciado em função do aumento nos volumes das respectivas soluções.

III.4.2. Efeito dos volumes dos reagentes

Com relação às concentrações dos reagentes, ao realizar-se testes prévios, constatou-se que as concentrações adequadas seriam 1,0 %, 0,5 % e 7,0 % cloreto de hidroxilamina, o-fenantrolina e acetato de sódio, respectivamente.

Dando continuidade a otimização das condições de trabalho, novos testes foram realizados buscando melhorar a sensibilidade em cada sistema, em função das proporções dos volumes dos reagentes e amostra. Manteve-se constante o volume de amostra e variou-se os volumes dos reagentes (Figura III.4). Nestas condições, verificou-se que ajustando as melhores condições para cada processo de amostragem, o sistema MSFA propiciou uma maior sensibilidade, comprovando que as condições experimentadas anteriormente (Figura III.3) realmente não eram adequadas.

Certamente o acréscimo na magnitude do sinal obtido no sistema MSFA ocorreu em função da minimização da dispersão propiciada pela separação da zona de amostra pelas bolhas de ar e pela diminuição na diluição devido ao excesso de solução de reagente na zona de amostra. Ao contrário do sistema MSFA, a menor sensibilidade no sistema SIA foi observada em função da amostragem e do processamento das soluções no percurso analítico e devido ao contato da zona de amostra com a solução transportadora.

Em função do funcionamento da válvula Valco (usual em módulo de análise para sistema SIA), descrito no capítulo II, não foi possível implementar o conceito do sistema FIA-MBS de forma apropriada, uma vez que a mesma não possibilitava a inserção de alíquotas das soluções em pequenos volumes, interferindo na principal característica desse processo de amostragem. Portanto, neste módulo de análise, a amostragem das soluções foi efetuada formando uma "string" com apenas duas sequências das soluções reagentes, o que pode ter

influenciado para a obtenção de uma sensibilidade ligeiramente menor do que a observada para o sistema FIA-SWS.

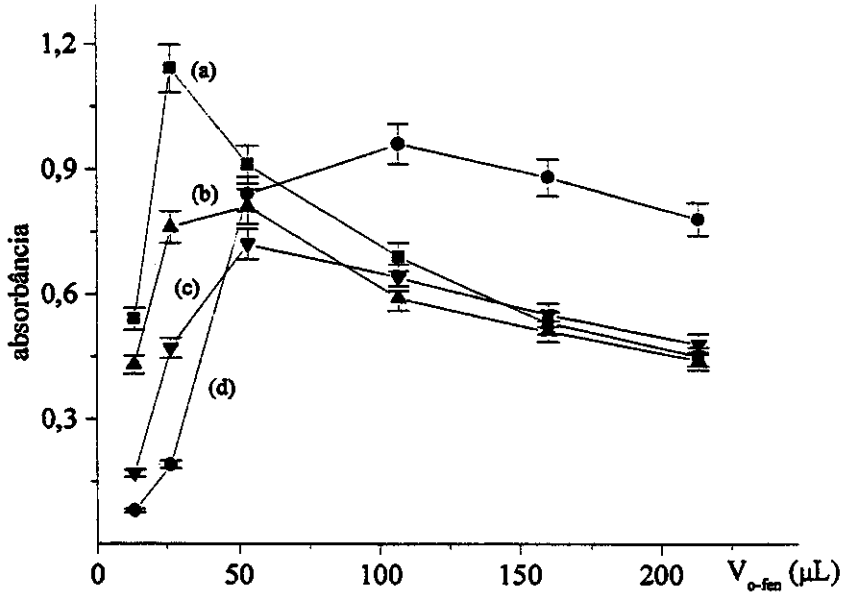

Figura III.4. *Resultados obtidos com diferentes técnicas de amostragens. Soluções: 170,0 µL Fe II 8,0 mg L^{-1}; 3,0; 5,0; 11,0; 21,0; 32,0 e 43,0 µL de NH_2OH 5,0 %; 13,0; 27,0; 53,0; 107,0; 160,0 e 213,0 µL de acetato; o-fenantrolina 13,0; 27,0; 53,0; 107,0; 160,0 e 213,0 µL de o-fenantrolina 0,5 %. Os gráficos (a), (b), (c) e (d) são correspondentes aos sistemas MSFA, FIA-MBS, FIA-SWS e SIA, respectivamente.*

Como pode ser observado na Figura III.4, na faixa do volume de reagente o-fenantrolina entre 13,0 e 53,0 µL os resultados no sistema MSFA apresentaram uma maior sensibilidade em relação aos demais sistemas. A maior sensibilidade foi obtida em torno de 27,0 µL do reagente o-fenantrolina, indicando, assim, melhor proporção entre as soluções reagentes, bem como boa eficiência na mistura das mesmas. O decréscimo acentuado observado à direita do ponto máximo pode ser atribuído ao efeito de diluição do produto formado, dispersão ou ineficiência na mistura das soluções.

III.5. Comparação dos desempenhos dos sistemas

Após a otimização dos parâmetros discutidos nos itens precedentes, um conjunto de soluções de referência foi processado, visando avaliar o desempenho do módulo de análise

com base em cada sistema implementado. Manteve-se constante os volumes das respectivas soluções facilitando, assim, a comparação dos resultados obtidos nos diferentes processos de amostragens.

Nas curvas representadas na Figura III.5, cada sistema propiciou uma ampla faixa de resposta linear, demonstrando também que em termos de sensibilidade o melhor resultado foi obtido quando empregado o sistema MSFA, enquanto que o pior desempenho foi observado para o sistema SIA. A sensibilidade do sistema SIA foi aproximadamente 50 % menor quando comparada à do sistema MSFA, evidenciando dois efeitos favoráveis ao melhor desempenho deste último, isto é, boa mistura entre as soluções e, principalmente, a minimização da dispersão da zona de amostra. Outro fator importante é que entre os sistemas não segmentados, ficou demonstrado que o processamento das soluções no percurso analítico influencia de forma significativa na dispersão da zona de amostra.

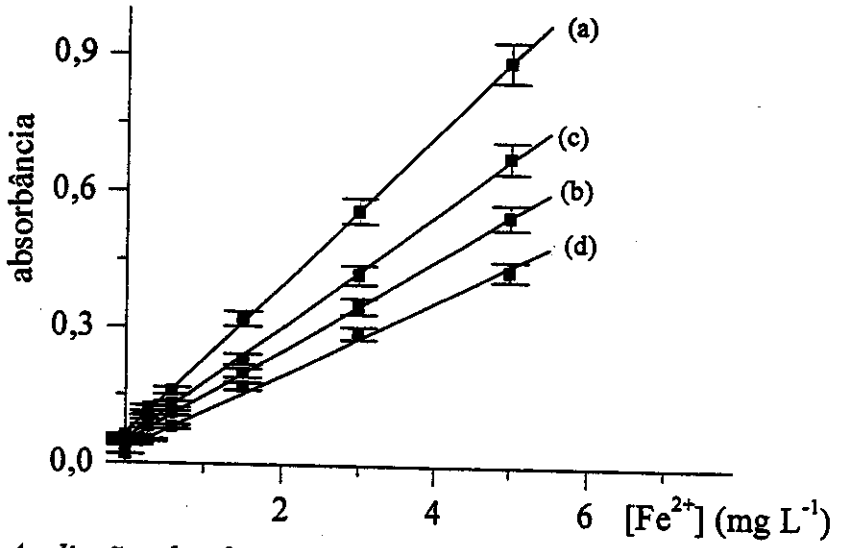

Figura III.5. *Avaliação do desempenho dos sistemas. As curvas (a), (b), (c) e (d) correspondentes aos sistemas MSFA, FIA-MBS, FIA-SWS e SIA, respectivamente. Soluções: 160 µL de solução padrão; 11 µL de NH_2OH 5,0 %; 27 µL de acetato 1,0 mol L^{-1}; 26 µL de o-fenantrolina 0,5 %. Equações correspondentes a cada curva analítica:*
*(a) - MSFA = 0,06534 + 0,16519*X*
*(b) - FIA-MBS = 0,04672 + 0,10093*X*
*(c) - FIA-SWS = 0,05277 + 0,12437*X*
*(d) - SIA = 0,03082 + 0,08222*X*

Os resultados obtidos com soluções de referência apresentaram uma ampla faixa de resposta linear e uma boa precisão, demonstrando que as condições de trabalho foram bem definidas. Portanto, o módulo de análise do sistema de injeção em fluxo proposto possibilitou a implementação de várias técnicas de amostragens, sendo observada também uma grande diferença de sensibilidade entre cada técnica. Essas características são fundamentais para a determinação de analitos em diferentes concentrações.

A viabilidade deste módulo de análise foi avaliada realizando-se a determinação de ferro total em amostras de águas naturais. Em função dos baixos níveis de concentração do analito nas matrizes as determinações foram realizadas empregando somente o sistema monossegmentado. Obteve-se uma frequência analítica em torno de 60 determinações por hora, precisão de 1,1 % (n = 9) para uma solução de 1,0 mg L^{-1} e os resultados não diferiram do método de referência a um nível de 95,0 % de confiança. Em cada determinação o consumo de reagentes foi de 0,15 mg de o-fenantrolina, 0,45 mg de hidroxilamina e 1,25 mg de acetato. Na Tabela III.1 encontram-se os resultados referentes às determinações de ferro em amostras de água, empregando sistema MSFA e ICP-AES.

Tabela III.1. Determinação de ferro em amostras de águas naturais.

	Método proposto	Método de referência
Amostra	MSFA (mg L^{-1})	ICP-AES (mg L^{-1})
01	0,125 ± 0,018	0,156 ± 0,002
02	0,710 ± 0,017	0,867 ± 0,001
03	0,101 ± 0,018	0,132 ± 0,001
04	0,664 ± 0,012	0,715 ± 0,002
05	1,649 ± 0,016	1,714 ± 0,001
06	1,649 ± 0,017	1,714 ± 0,001
07	0,107 ± 0,035	0,111 ± 0,006

Médias ± estimativa do desvio padrão referente a três repetições.

CAPÍTULO IV

IV. DETERMINAÇÃO ESPECTROFOTOMÉTRICA DE NÍQUEL

IV.1. Introdução

O níquel é encontrado na natureza na forma de NiS, $NiAs_2$, NiSb, entre outros. Seu estado de oxidação pode variar de (-I) a (+IV), sendo o (+II) de maior importância. Dissolve-se em ácido diluído formando Ni^{2+}. No estado (II) forma um grande número de compostos incluindo os haletos, óxidos, sulfetos etc. À temperatura ambiente não é atacado pelo ar nem pela água, por isso é frequentemente usado no revestimento protetor de outros metais. Também se destaca como um importante constituinte em ligas de aço, juntamente com cobre e alumínio, aumentando tanto a tenacidade como a resistência a reações químicas. Ligas de aço com diferentes composições destas espécies resulta em diferentes propriedades físicas e químicas designadas para diferentes fins industriais[87].

Dentre os reagentes que podem ser usados na sua identificação e quantificação, a dimetilglioxima em meio alcalino ou levemente ácido é o mais recomendado[88]. Esse reagente em contato com o íon Ni^{2+}, forma um complexo de coloração vermelha que absorve em comprimento de onda em torno de 460 nm[89,90].

Entre as várias técnicas empregadas na determinação de níquel, como ICP-AES, absorção atômica, gravimetria, a espectrofotometria de absorção molecular é uma das mais utilizadas, principalmente devido às facilidades de implementação, praticidade e custos.

Com base nestas características, tem sido publicados vários trabalhos para a determinação de níquel empregando sistemas em fluxo. Assim sendo, Fu-Sheng e colaboradores[91] desenvolveram um método espectrofotométrico para determinação de níquel usando o reagente 2-(5-bromo- 2-piridilazo)-5-dimetilaminofenol em pH 5 - 6 e realizando as medidas em 520 nm. Um sistema de análise por injeção em fluxo[92] em linha única, para a determinação espectrofotométrica simultânea de níquel e cobalto usando o reagente 2-hidroxibenzaldehido tiosemicarbzona também foi descrito. As determinações eram baseadas na obtenção de um sinal duplo resultante da absorbância dos dois produtos formados, sendo usado um volume de amostra suficiente para não permitir a chegada dos reagentes no centro

da zona de amostra. O sistema possibilitou uma linearidade para determinação de Ni em uma faixa de concentração de 2,5 – 30,0 μg mL^{-1}, empregando um comprimento de onda de 400 nm, com frequência de amostragem de 40 amostras por hora. Com base no processo FIA-MBS foi desenvolvido um sistema de análise por injeção em fluxo[93] para determinação de níquel, ferro e cromo em ligas de aço, usando o método da dimetilglioxima para a determinação do Ni. Este sistema propiciou determinações em uma faixa de concentração linear de 5,0 – 50,0 mg L^{-1} mg L^{-1}, 60 determinações por hora, desvio padrão relativo de 1 % referente a 10 repetições de amostra na concentração de 35,0 mg L^{-1}.

Com o propósito de avaliar os sistemas em estudo, neste capítulo foi efetuada a determinação espectrofotométrica de níquel em amostras digeridas de ligas de aço usando o reagente dimetilglioxima. Os experimentos foram realizados considerando-se tanto o módulo de análise desenvolvido, como também a necessidade de processamento de várias soluções, realizando pré-tramento da amostra no percurso analítico, tal como oxidação, tamponamento e eliminação de interferentes. Nesta determinação foi necessário o processamento de quatro soluções, o que oferece maior dificuldade na mistura das mesmas, um fator considerado crítico em análise empregando sistemas em fluxo.

IV.2. Reagentes e soluções

As soluções reagentes utilizadas foram preparadas ou diluídas com água deionizada. Foram usadas as seguintes soluções: solução composta da mistura dos ácidos clorídrico 0,5 mol L^{-1} e nítrico 0,1 mol L^{-1}, trietanolamina 6,0 % (v/v) em hidróxido de sódio 1,0 mol L^{-1}; persulfato de potássio 5,0 % (m/v), dimetilglioxima 1,0 % (m/v) em hidróxido de sódio 0,25 mol L^{-1}, solução estoque 1000 mg L^{-1} de Ni^{2+}, preparada a partir de níquel metálico, solução estoque 1000 mg L^{-1} de Fe^{3+}, preparada a partir de ferro metálico.

As soluções de trabalho foram obtidas a partir de diluições adequadas da solução estoque de Ni, sendo adicionado um volume da solução estoque de Fe, para resultar em uma concentração final de 200,0 mg L^{-1} de ferro. O volume dos balões volumétricos eram completados com a solução composta dos ácidos clorídrico 0,5 mol L^{-1} e nítrico 0,1 mol L^{-1}.

As soluções das amostras foram solubilizadas por digestão com água régia, conforme procedimento descrito na literatura[93].

IV.3. Procedimentos

O diagrama de blocos do módulo de análise empregado nesta aplicação encontra-se representado na Figura IV.1. O programa computacional e o procedimento de amostragem em cada sistema encontram-se relatados no capítulo II. Nesta aplicação, para um melhor favorecimento da reação, independentemente do processo de amostragem, as soluções reagentes eram inseridas no percurso analítico, mantendo-se a seguinte ordem: amostra, trietanolamina, persulfato de potássio e dimetilglioxima, pois o método de análise química requer dois pré-tratamentos da amostra antes de entrar em contato com o reagente cromogênico. Portanto, à solução de amostra, primeiramente era adicionada à solução de trietanolamina para eliminar interferência de ferro, persulfato para efetuar a oxidação do Ni^{2+} e por último, o reagente cromogênico (dimetilglioxima), que formava um complexo com o analito resultando no produto final.

A flexibilidade na estrutura do módulo de análise foi propiciada em função do funcionamento das válvulas solenóides utilizadas, que possibilitou a implementação dos diferentes processos de amostragens, mantendo-se a estrutura do mesmo constante (conforme relatado no capítulo II). Finalmente, visando avaliar o desempenho de cada sistema, foi realizada a determinação de níquel em amostras digeridas de ligas de aço, cujos procedimentos de amostragem encontram-se descritos a seguir.

No sistema SIA as soluções eram aspiradas dos respectivos recipientes para uma bobina receptora em volumes únicos, na sequência amostra, trietanolamina, persulfato e dimetilglioxima. Posteriormente, o sentido de rotação da bomba era invertido e a mistura das soluções bombeadas em direção ao detector.

No sistema FIA-SWS as soluções eram inseridas na sequência dimetilglioxima, persulfato, trietanolamina, amostra, trietanolamina, persulfato, dimetilglioxima. Desta forma, a solução de amostra primeiro era misturada com a trietanolamina e persulfato antes de entrar em contato com a dimetilglioxima. No sistema FIA-MBS os volumes totais das soluções eram inseridos em pequenas alíquotas na sequência dimetilglioxima, persulfato, trietanolamina, amostra, trietanolamina, persulfato. Assim, foi possível efetuar o processo de amostragem sem comprometer a sequência de distribuição das soluções requeridas no processo de análise. Esta

sequência era repetida de acordo com o número de ciclos estipulado para completar o volume total de cada solução, referente a uma determinação.

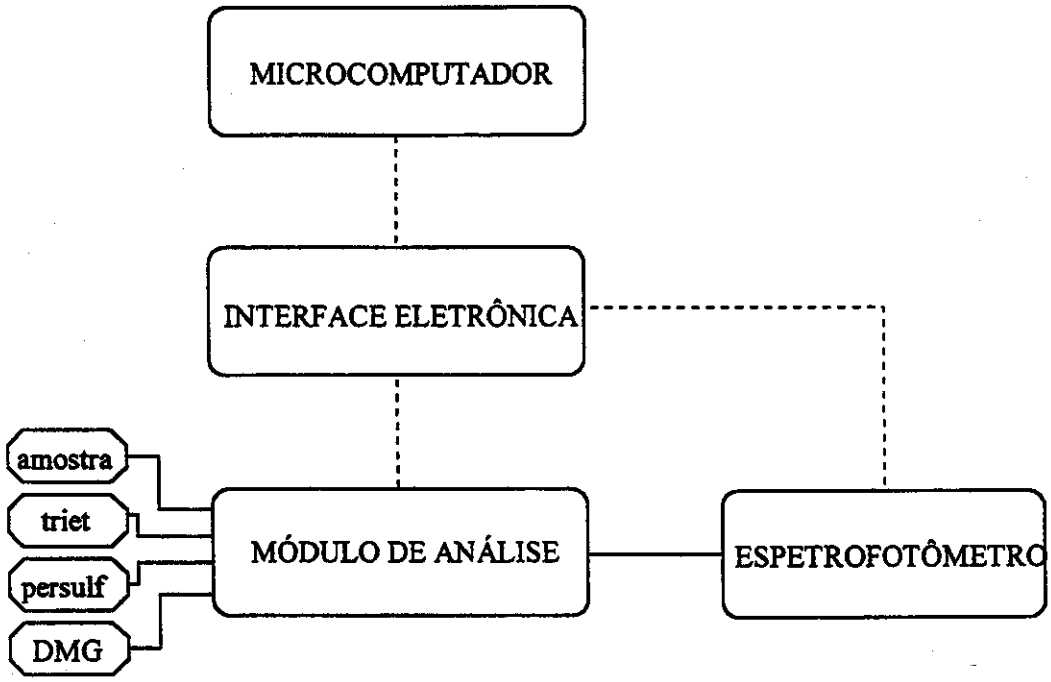

Figura IV.1. *Diagrama de blocos do diagrama de fluxo representado na Figura II.3, proposto para a implementação dos sistemas FIA-SWS, MSFA, SIA e FIA-MBS. Soluções: triet = trietanolamina; persulf = persulfato; DMG = dimetilglioxima.*

No sistema MSFA as alíquotas das soluções eram inseridas no percurso analítico do módulo de análise entre duas bolhas de ar. Ou seja, inicialmente era inserida uma bolha de ar com volume previamente definido, as alíquotas das soluções de amostra, trietanolamina, persulfato, dimetilglioxima e, finalmente, uma segunda bolha de ar com volume igual ao da anterior. Em seguida, a zona de amostra acondicionada entre as duas bolhas de ar era bombeada em direção ao detector.

Em resumo, no sistema SIA o processamento das soluções era realizado em dois estágios, sendo necessário que a rotação da bomba fosse efetuada em dois sentidos, no primeiro aspirava-se as soluções dos respectivos recipientes para a bobina receptora e no segundo a zona de amostra era bombeada em direção ao detector. Nos demais sistemas, a análise era realizada em um único estágio. A rotação da bomba era efetuada somente em um sentido e as soluções eram aspiradas para uma bobina que funcionava como receptora durante

a inserção das mesmas no percurso analítico e como reator durante o transporte da zona de amostra para o detector.

IV.4. Resultados e discussão

Com base no funcionamento de cada sistema implementado no módulo de análise, deu-se início à otimização das condições de trabalho visando a aplicação de cada sistema para a determinação de níquel em amostras de ligas de aço.

A otimização das variáveis compreendendo comprimento da bobina de reação, vazão de bombeamento, concentração dos reagentes e volumes das alíquotas das soluções referentes a cada determinação foram inicialmente investigadas empregando o sistema FIA-SWS, uma vez que este sistema pode ser conceitualmente considerado como intermediário entre os sistemas SIA e FIA-MBS. Assim, as variáveis otimizadas para este sistema poderiam ser facilmente ajustadas para a realização dos experimentos nos demais sistemas, inclusive no MSFA.

Os estudos buscando otimizar as condições de trabalho foram efetuados usando uma vazão de bombeamento durante a amostragem das soluções de 0,3 mL min^{-1} e durante a leitura do sinal 0,5 mL min^{-1}, sendo que os testes foram realizados conforme descrito a seguir.

IV.4.1. Avaliação da concentração e do volume do reagente DMG

Primeiramente observou-se que, variando-se a concentração de dimetilglioxima de 0,0 a 2,0 % (m/v), não houve variação significativa na sensibilidade para concentrações acima de 0,5 %, como pode ser visto na Figura IV.2. Entretanto, visando evitar possíveis deficiências de reagente, no caso do analito ser encontrado em concentrações mais elevadas, foi selecionado a concentração de 1,0 % para a realização dos experimentos seguintes.

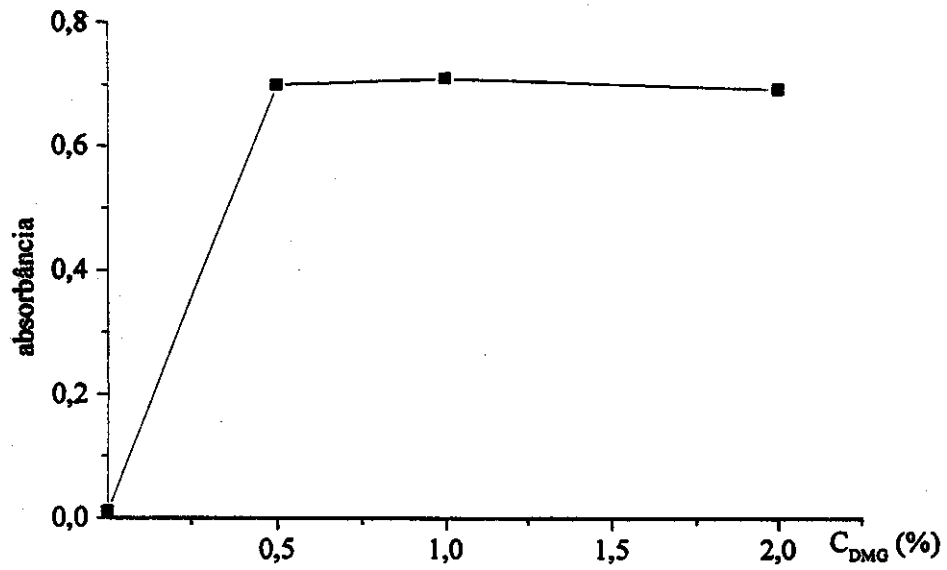

Figura IV.2. Efeito da concentração de DMG. Soluções: 30 μL de Ni 120 mg L^{-1}, 60 μL de trietanolamina 6,0 % (v/v), 120 μL de persulfato 5,0 % (m/v), 60 μL de DMG.

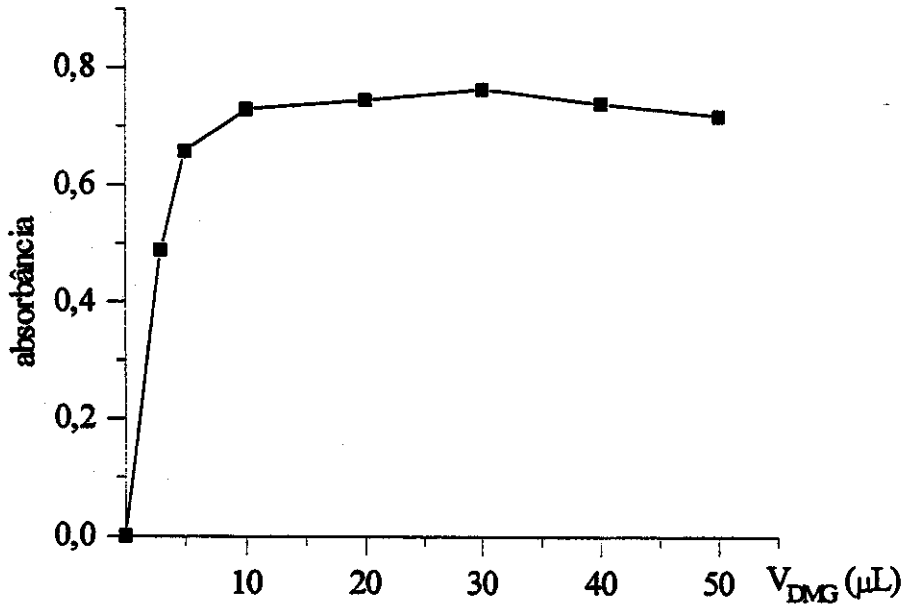

Figura IV.3. Efeito do volume de DMG 1,0 % (m/v). Soluções: 30 μL de solução de Ni 120 mg L^{-1}; 60 μL de trietanolamina 6,0 % (v/v); 120 μL de persulfato 5,0 % (m/v).

Os efeitos dos volumes das alíquotas inseridas foram avaliados utilizando-se uma solução com concentração de 120 mgL^{-1} de Ni. Conforme mostrado na Figura IV.3, a partir de 15 μL, não foi observada variação significativa na sensibilidade do sinal analítico, demonstrando que estas condições eram favoráveis à análise.

IV.4.2. Efeito do volume da solução de persulfato

Sabe-se que o desempenho da cinética da reação de dimetilglioxima com níquel é dependente principalmente da concentração de persulfato. Por isso, tendo em vista que em temperaturas em torno de 25,0 °C, a concentração máxima obtida para este reagente é de aproximadamente 5,0 %, procurou-se identificar qual deveria ser o menor volume para se obter as melhores condições de trabalho. Conforme representado na Figura IV.4, com o reagente na concentração de 5,0 %, foi observado que a partir de 90 μL praticamente não houve variação na sensibilidade do sinal analítico obtido. Entretanto, para não se trabalhar próximo ao volume mínimo de melhor sensibilidade, foi usado 120 μL para realização dos experimentos.

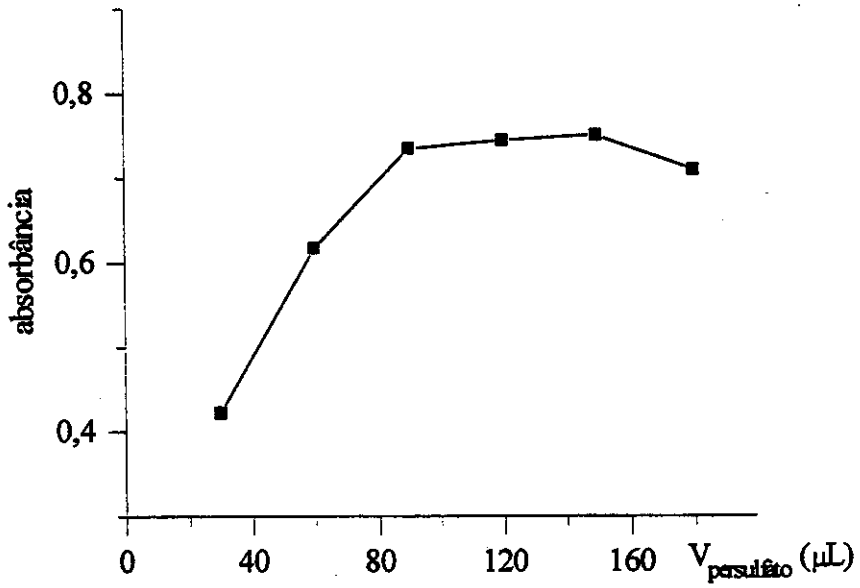

Figura IV.4. *Efeito do volume da solução de persulfato 5,0 % (m/v). Soluções: 30 μL de solução padrão de Ni 120 mg L^{-1}; 60 μL de trietanolamina 6,0 % (v/v); 60 μL dimetilglioxima 1,0 % (m/v).*

Em resumo, todos os estudos seguintes foram efetuados mantendo-se constantes os volumes das soluções em 30 μL de solução de referência (amostra), 60 μL de trietanolamina 6,0 % (v/v), 120 μL de persulfato 5,0 % (m/v) e 60 μL de dimetilglioxima 1,0 % (m/v) e vazão de 0,3 mL min^{-1} durante a amostragem das soluções e 0,5 mL min^{-1} durante a leitura do sinal.

Para o sistema FIA-MBS a amostragem do volume total de cada solução era efetuada em cinco ciclos.

IV.4.3. Supressão da interferência de ferro

O ferro é o principal constituinte das amostras analisadas (ligas de aço), podendo formar complexo com dimetilglioxima, que apresenta uma banda de absorção coincidente com a do complexo resultante deste reagente com Ni^{2+}. Esta interferência pode ser corrigida por dois procedimentos, separando-se o íon interferente ou adicionando-se ao meio reacional solução de reagente que preferencialmente forma complexo com ferro (mascarante), sem interagir com níquel. Dentre essa duas possibilidades, optou-se pela adição de reagente mascarante, por ser mais favorável à análise empregando sistema em fluxo. Neste contexto, empregando-se o sistema FIA-SWS, a minimização da interferência de ferro foi avaliada com relação à concentração e volume de trietanolamina, conforme representado na Figura IV.5 e na Figura IV.6 respectivamente. Para as duas condições, os testes foram efetuados em duas séries, uma com a solução padrão na ausência de ferro (curva ***(a)***, referência) e a outra contendo ferro na concentração de 600 mg L^{-1} (curva ***(b)***). Como representado na Figura IV.5, a partir de 60 µL de trietanolamina na concentração de 6,0 % parece ter sido suficiente para mascarar o interferente. Com relação a concentração do mascarante, o melhor resultado foi observado para a concentração de 6,0 % (v/v). Devido a grande viscosidade desta solução, não foi possível efetuar teste usando concentrações mais elevada, uma vez que esta característica dificultava de forma significativa o deslocamento da zona de amostra no percurso analítico.

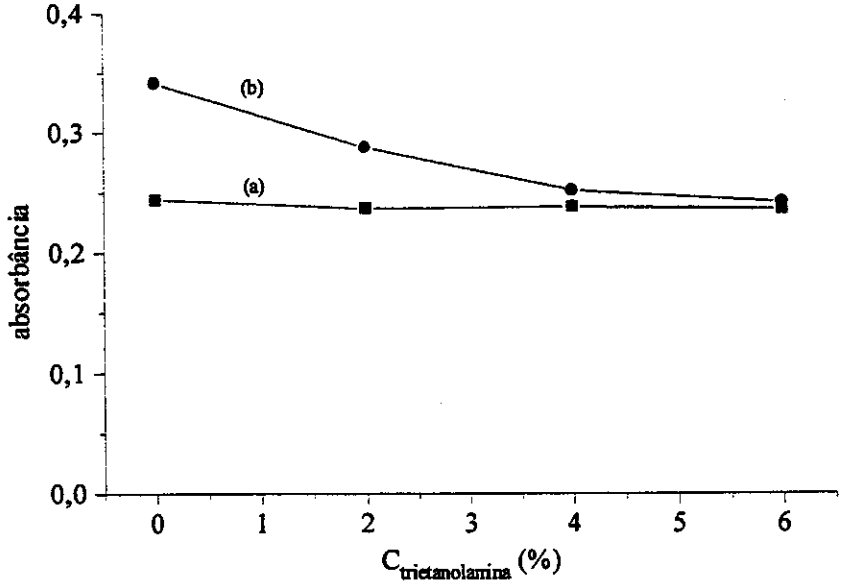

Figura IV.5. *Efeito da concentração de trietanolamina na eliminação de interferência de ferro. Soluções: 30 μL de solução padrão de Ni, 200 mg L^{-1}; 60 μL de trietanolamina; 120 μL de persulfato 5,0 % (m/v); 60 μL de dimetilglioxima, 1,0 % (m/v). (a) = resultados obtidos na ausência de ferro (referência), (b) = resultados obtidos com solução contendo 600 mg L^{-1} de ferro.*

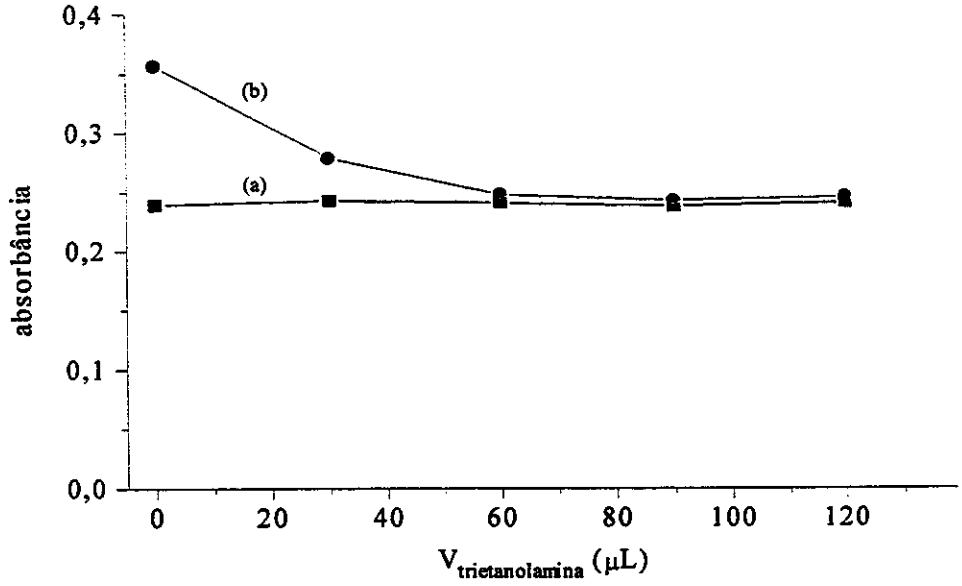

Figura IV.6. *Efeito do volume de trietanolamina 6,0 % (v/v) na eliminação de interferência de ferro. Soluções: 30 μL de solução padrão de Ni, 20 mg L^{-1}; 120 μL de persulfato 5,0 % (m/v); 60 μL de dimetilglioxima 1,0 % (m/v). (a) = resultados obtidos na ausência de ferro (referência), (b) = resultados obtidos com solução contendo 600 mg L^{-1} de ferro.*

Na sequência verificou-se a eficiência na supressão do interferente nos diferentes processos de amostragem propostos, mantendo-se a concentração de trietanolamina constante em 6,0 % e variando-se a concentração de ferro de 0 - 800 mg L^{-1}. Como mostrado na Tabela IV.1, os resultados demonstraram uma boa eficiência do mascarante na eliminação do interferente exceto para o sistema SIA e FIA-SWS. Além disso, parece que o processamento das soluções no percurso analítico pode influenciar também na minimização de interferência, pois foi observada uma diferença acentuada na margem de erro entre os diferentes sistemas. Uma maior eficiência foi notada para os sistemas MSFA, FIA-MBS enquanto que para os sistema SIA s FIA-SWS, a eliminação do interferente foi menos eficiente. Acredita-se que o principal motivo tenha sido a deficiência na mistura entre as soluções, o que pode ter sido resultado da má distribuição do mascarante na zona da amostra.

Os resultados obtidos empregando o sistema MSFA, além de demonstrarem uma boa eficiência na eliminação da interferência, apresentaram estimativa de desvio padrão menores que os obtidos no sistema SIA e FIA-SWS, o que reforça a suposição da deficiência de mistura nos mesmos, uma vez que o processo MSFA vem se destacando como o mais eficiente para a mistura e homogeneização das soluções.

Tabela IV.1. Estudo da interferência de ferro na determinação de níquel com dimetilglioxima.

Sistema	Fe (mgL^{-1})	Sinal (A)	erro %
MSFA	000	0,724 ± 0,010	-
	100	0,734± 0,034	1,3
	200	0,717 ± 0,031	-1,0
	400	0,742 ± 0,023	2,5
	600	0,751 ± 0,023	3,7
	800	0,789 ± 0,040	9,0
FIA-MBS	000	0,376 ± 0,020	
	100	0,386± 0,023	2,6
	200	0,372 ± 0,041	-1,2
	400	0,387 ± 0,034	2,9
	600	0,401 ± 0,005	6,6
	800	0,393 ± 0,013	4,5
FIA-SWS	000	0,340 ± 0,012	-
	100	0,378± 0,032	11,0
	200	0,385 ± 0,023	13,2
	400	0,401 ± 0,011	17,9
	600	0,423 ± 0,021	24,4
	800	0,453 ± 0,013	33,3
SIA	000	0,211 ± 0,023	-
	100	0,223 ± 0,025	5,6
	200	0,254± 0,041	20,4
	400	0,262 ± 0,021	24,2
	600	0,315 ± 0,055	49,2
	800	0,335 ± 0,034	58,7

Média ± estimativa do desvio padrão de três determinações. Resultados obtidos empregando solução padrão de Ni (40 mgL^{-1}) e trietanolamina 6,0 % (v/v)

IV.4.4. Comparação do desempenho dos sistemas

Após a otimização dos parâmetros discutidos nos itens precedentes, um conjunto de soluções padrão foi processado, visando avaliar o desempenho do módulo de análise com base em cada sistema implementado. Independentemente do sistema usado, os experimentos foram realizados empregando-se 30 µL de amostra, 60 µL de trietanolamina 5,0 %, 120 µL de

persulfato e 60 μL de dimetilglioxima. Manteve-se constantes os volumes das respectivas soluções, facilitando, assim, a comparação dos resultados obtidos nos diferentes processos de amostragens.

As curvas representadas na Figura IV.7 demonstram que, em termos de sensibilidade, o melhor resultado foi obtido quando empregado o processo MSFA, enquanto que o pior desempenho foi observado para o sistema SIA, com uma sensibilidade 78 % menor quando comparada com a obtida no MSFA. Outro fator importante é que entre os sistemas não segmentados ficou demonstrado claramente que o processamento das soluções no percurso analítico influencia a dispersão da zona de amostra.

Como mostrado na Tabela IV.2, a frequência analítica diferiu somente com relação ao sistema SIA, sendo menor em comparação com as obtidas nos demais sistemas. Essa diferença é próprio do conceito SIA que, por ter um ciclo analítico de dois estágios, proporcionava uma menor velocidade analítica em comparação com os demais processos implementados em apenas um estágio.

Tabela IV.2. Comparação dos parâmetros nos processos de amostragens.

Sistema	Determinações (hora)	Precisão d.p.r (%)	limite de detecção mg L^{-1}
MSFA	40	0,70	1,0
FIA-MBS	40	1,60	2,5
FIA-SWS	40	1,80	2,7
SIA	30	3,05	3,3

Precisão expressa como a estimativa do desvio padrão relativo de 10 determinações, empregando-se uma solução 40 mg L^{-1} de níquel. O limite de detecção (L.D.), foi calculado usando a fórmula: L.D. = (3 x dp) / α, sendo dp = desvio padrão e , α = coeficiente angular da reta.

A precisão obtida com o sistema SIA também foi relativamente menor, provavelmente devido à ineficiência na mistura entre as soluções reagentes, uma vez que eram processadas quatro soluções, inseridas sequencialmente no percurso analítico em uma única alíquota. Por isso, o conceito básico de amostragem deste sistema pode ter dificultado a mistura entre as soluções, principalmente com relação a trietanolamina que é uma solução de viscosidade relativamente alta. Com relação ao limite de detecção, observa-se a ordem MSFA, FIA-MBS,

FIA-SWS e SIA, conforme destacado na Tabela IV.2. Este efeito era esperado considerando-se a sensibilidade e o desvio padrão dos outros procedimentos.

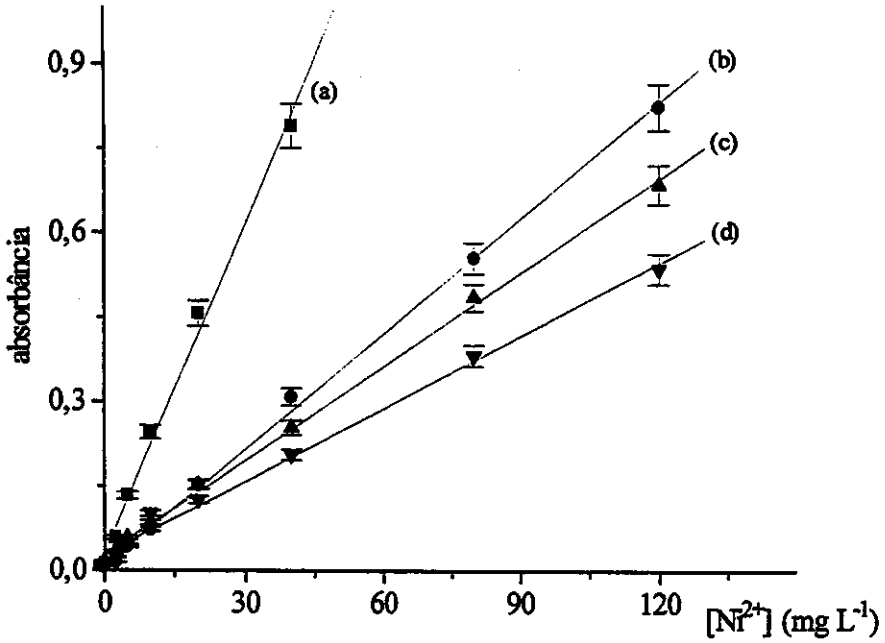

Figura IV.7. *Avaliação do sensibilidade dos sistemas. As curvas (a), (b), (c) e (d) correspondem aos sistemas MSFA, FIA-MBS, FIA-SWS e SIA, respectivamente. Volume das alíquotas de soluções inseridas foram: 30 µL de solução padrão; 60,0 µL de trietenolamina 6,0 % (v/v); 120 µL de persulfato 5,0 % (m/v); 60 µL de dimetilglioxima 1,0 % (m/v). Equações correspondentes a cada curva:*
*(a) - MSFA = 0,02954 + 0,01957*X*
*(b) - FIA-MBS = 0,0094 + 0,00684*X*
*(c) - FIA-SWS = 0,02776 + 0,00557*X*
*(d) - SIA = 0,02815 + 0,00432*X.*

Tendo completado a otimização dos parâmetros dos sistemas, um conjunto de amostras digeridas de ligas de aço foi analisado, sendo os resultados mostrados na Tabela IV.3. Os resultados obtidos com os sistemas propostos foram comparados com os obtidos em ICP-AES, sendo que não foram encontradas diferenças significativas a um nível de 95 % de confiança quando se aplicou o teste-*t* pareado.

Embora com relação aos sistemas SIA e FIA-SWS, tenha sido observado uma ligeira deficiência na eliminação de interferência de ferro para concentrações acima de 400 mg L^{-1} (tabela IV.1), na determinação do analito nas amostras, não foi observada interferência significativa. Acredita-se que o principal motivo provavelmente tenha sido porque, após o

processo de digestão e diluição das amostra, a concentração final de ferro tenha ficado abaixo de 400 mg L^{-1} e, portanto, sendo eliminado com eficiência por todos os processo de amostragens empregados.

Tabela IV.3. Comparação dos resultados obtidos nos sistemas propostos em relação ao método de referência. Concentrações em (mg L^{-1}).

Amostra	ICP-AES	SIA	MSFA	FIA-MBS	FIA-SWS
1	5,09 ± 0,03	5,41 ± 0,14	5,12 ± 0,12	5,18 ± 0,13	5,24 ± 0,15
2	4,83 ± 0,07	4,93 ± 0,24	4,44 ± 0,19	4,23 ± 0,05	5,22 ± 0,12
3	7,15 ± 0,08	7,48 ± 0,14	7,44 ± 0,12	6,90 ± 0,12	6,90 ± 0,19
4	6,24 ± 0,10	5,73 ± 0,46	6,69 ± 0,23	6,47 ± 0,15	6,83 ± 0,13
5	8,36 ± 0,06	7,35 ± 0,21	8,27 ± 0,20	8,59 ± 0,18	8,53 ± 0,08
6	9,12 ± 0,08	8,55 ± 0,34	9,39 ± 0,20	9,07 ± 0,21	9,99 ± 0,28
7	7,03 ± 0,21	7,37 ± 0,51	6,90 ± 0,69	7,15 ± 0,23	6,93 ± 0,29
8	5,86 ± 0,22	5,75 ± 0,42	6,18 ± 0,45	6,43 ± 0,47	5,63 ± 0,17
9	4,80 ± 0,04	3,59 ± 0,32	4,62 ± 0,10	4,55 ± 0,10	4,52 ± 0,09
10	10,71 ± 0,08	8,85 ± 0,33	9,84 ± 0,29	10,02 ± 0,23	9,72 ± 0,36
11	5,76 ± 0,18	5,78 ± 0,39	5,46 ± 0,31	5,85 ± 0,27	5,63 ± 0,46
12	4,69 ± 0,03	5,46 ± 0,44	4,85 ± 0,13	4,83 ± 0,13	4,80 ± 0,22

Média ± estimativa do desvio padrão de três repetições

CAPÍTULO V

V. DETERMINAÇÃO TURBIDIMÉTRICA DE SULFATO USANDO AÇÃO GRAVITACIONAL PARA MOVIMENTAÇÃO DAS SOLUÇÕES

V.1. Introdução

O enxofre é comumente encontrado na natureza em rochas sedimentares e argilosas, nas proximidades de crateras de vulcões e em águas naturais, ocorrendo quase que exclusivamente na forma de sulfatos[94], embora em valores de pH inferior a 4 a concentração de íons HSO_4^- pode ser significativa. A contribuição das formas HS^- ou H_2S dissolvidas, que podem ocorrer em condições redutoras, é desprezível[95].

O enxofre é amplamente usado na indústria química, principalmente na fabricação de ácido sulfúrico, fertilizantes, inseticidas, explosivos, borracha e na preparação de polpa de madeira para a fabricação de papel. Quando na forma de sulfato de bário também é encontrado na natureza como minério, associado à prata, chumbo, cobre e manganês, dentre outros metais. O sulfato de bário, por sua vez, é empregado na indústria química para propiciar a coloração em papéis e tecidos e também na fabricação de cosméticos, pigmento de tintas, etc.

Ainda, o íon sulfato é um macro nutriente essencial para as plantas, podendo ser acumulado como reserva, bem como metabolizado para constituir cadeias de aminoácidos, hormônios de plantas, proteínas, enzimas, entre outros compostos orgânicos[96].

Com base no funcionamento do módulo de análise proposto [Figura II.7 (capítulo II)], bem como na determinação turbidimétrica de sulfato, investigou-se a possibilidade de se usar a ação gravitacional para promover a movimentação de fluidos em sistemas em fluxo.

O primeiro estudo da reação turbidimétrica[97] foi realizado em 1927, sendo avaliada a possibilidade de efetuar a determinação turbidimétrica de sulfato. Na época, foi considerado um fenômeno químico complexo, difícil de ser contornado em procedimentos manuais. A partir dos anos 60, a turbidimetria tornou-se eficaz para a determinação de espécies químicas, entre os quais o sulfato. Sua adaptação em sistemas em fluxo teve início em 1968, quando foi utilizado o método de cloranilato de bário, para automatizar a determinação de sulfato em amostras de águas, empregando sistema em fluxo contínuo segmentado ("AutoAnalyzer")[98].

Posteriormente, foi efetuada a determinação turbidimétrica de sulfato, em amostras digeridas de plantas, usando o reagente cloreto de bário[99]. Ainda na década de 70, esse método foi adaptado ao sistema FIA[100] para determinação de sulfato em amostras de águas e digeridos de plantas. Com a evolução dos sistemas em fluxo, o mesmo foi adaptado aos sistemas FIA-MBS e SIA[28,101].

Em sistemas em fluxo, uma das preocupações nas determinações de analitos por turbidimetria tem sido com relação à cinética de nucleação. Quando a precipitação ocorre de forma brusca ou heterogênea torna-se inviável porque, além da possibilidade do precipitado obstruir o percurso analítico, pode também influenciar na repetibilidade dos resultados e, portanto, impossibilitar a realização da análise. A condição favorável é que inicialmente seja formado um grande número de núcleos homogêneos e que o surgimento de precipitado ocorra por crescimento destes núcleos, após um intervalo de tempo significativo, para que a medida possa ser efetuada antes do crescimento excessivo do precipitado[102].

Uma alternativa importante que contribui para uma nucleação e crescimento do precipitado uniforme baseia-se na adição de surfactantes ao meio reacional[103], contribuindo para que o tamanho das partículas seja o mais uniforme possível (precipitados) e, deste modo, melhorando a precisão das medidas.

Portanto, as determinações turbidimétricas requerem condições uniformes de nucleação, a fim de se obter resultados reprodutíveis[104]. Por isso, são especialmente importantes as condições de mistura das soluções, para favorecer a formação dos núcleos o mais uniforme possível no intervalo de tempo entre a inserção das soluções e a leitura do sinal.

V.2. Reagentes e soluções

As soluções reagentes utilizadas foram preparadas ou diluídas usando-se água deionizada. Foram preparadas as soluções de EDTA 0,3% (m/v) em NaOH 0,2 mol L^{-1} e $BaCl_2$ 5,0 % (m/v) contendo tween 80 0,1% (v/v) como estabilizador. Solução estoque de sulfato 1000 mg L^{-1} foi preparada a partir de sulfato de amônio, sendo as soluções de trabalho obtidas por diluições adequadas da solução estoque em ácido perclórico 0,25 mol L^{-1}.

As soluções das amostras foram solubilizadas por digestão nitro-perclórica, conforme procedimento descrito na literatura[99].

V.3. Procedimentos

O diagrama de blocos do módulo de análise desenvolvido encontra-se representado na Figura IV.1 e o procedimento de amostragem referente aos sistemas implementados no módulo de análise encontra-se discutido no capítulo II. O desempenho de cada sistema foi observado aplicando-os para determinação turbidimétrica de sulfato em amostras digeridas de plantas, fígado bovino e soro sanguíneo.

Neste módulo de análise, as soluções foram impelidas por gravidade e, portanto, o microcomputador controlava somente a comutação das portas das válvulas e a saída analógica do espectrofotômetro conforme já descrito no procedimento do capítulo IV.

As soluções reagentes, com exceção da amostra, eram colocadas em tubos de Mariotte conectados às portas das válvulas, por onde eram inseridas no início do percurso analítico, de acordo com o processo de amostragem empregado.

O processo de amostragem em cada sistema foi realizado conforme descrito a seguir: no sistema **SIA**, as soluções eram inseridas no percurso analítico em um único ciclo de amostragem na sequência amostra e cloreto de bário. Posteriormente, tal como no modo convencional empregando bomba peristáltica, o sentido de movimentação da mistura das soluções era invertido e a zona de amostra era impelida a fluir em direção ao detector.

Nos demais, as alíquotas das soluções eram inseridas no percurso analítico e, fluindo em um único sentido, a zona de amostra era transportada em direção ao detector. No sistema **FIA-SWS**, o volume total de amostra referente a cada determinação era inserido entre duas alíquotas de volumes do reagente na sequência cloreto de bário, amostra e cloreto de bário. No sistema **FIA-MBS**, os volumes das soluções eram inseridos alternadamente em pequenas alíquotas na sequência amostra e cloreto de bário. O procedimento era repetido de acordo com o número de ciclos de comutação das portas da válvula, estipulado para completar o volume total de cada solução referente a uma determinação. No sistema **MSFA**, inicialmente, era inserida uma bolha de ar com volume previamente definido e, na sequência, as soluções reagentes, e a segunda bolha de ar.

Assim como nos sistemas que empregam bomba para promover a movimentação de fluídos, ou seja, à vazão constante, também nos sistemas à pressão constante o processamento das soluções no percurso analítico procede de forma semelhante. Neste caso, no sistema SIA a

movimentação das soluções foi realizada em dois estágios, conforme procedimento usual, onde no primeiro as soluções eram inseridas em uma bobina receptora e no segundo a zona da amostra era deslocada no sentido oposto ao anterior, passando pelo interior da válvula, bobina de reação e pelo detector. Nos demais sistemas, o processamento das soluções era realizada normalmente em um único estágio. É importante ressaltar que, ao contrário do SIA, nestes sistemas a zona de amostra não passava pelo interior da válvula, contribuindo na preservação da mesma, devido à formação de precipitado.

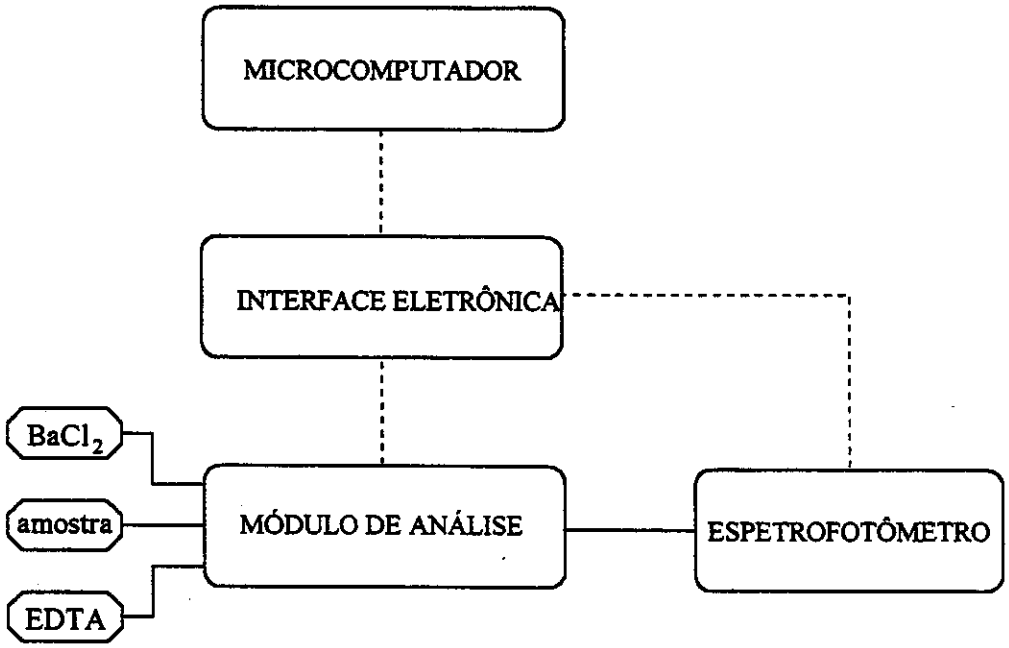

Figura V.1. *Diagrama de blocos do módulo de análise representado na Figura II.7, proposto para a implementação dos sistemas FIA-SWS, MSFA, SIA e FIA-MBS.*

V.4. Resultados e Discussão

Como pode ser observado no capítulo II, em sistemas em fluxo, a inserção e a propulsão dos fluídos no percurso analítico pode ser promovida à vazão ou à pressão constantes.

Em um módulo de análise para sistema à vazão constante, a movimentação das soluções é promovida empregando-se um dispositivo mecânico. Normalmente, têm sido utilizados alguns modelos de bomba, entre os quais a bomba peristáltica tem sido usada com frenquência. Para propulsão dos fluídos à pressão constante, a movimentação das soluções é normalmente efetuada pela ação gravitacional[105,106]. Por sua vez, esta opção tem sido pouco explorada, certamente devido às dificuldades no controle das vazões das soluções, em função dos pontos de confluência em sistemas multicanais[107]. Nos pontos de confluência pode ocorrer variação na pressão interna, propiciando flutuações nos volumes inseridos e, consequentemente, interferindo na precisão das medidas. Entretanto, os módulos de análise em fluxo monocanal, construídos com válvulas, possibilitam o processamento de várias soluções sem a existência de pontos de confluência ao longo do percurso analítico[6,28,82]. Para os sistemas implementados nestes módulos de análises, a amostragem das soluções é efetuada sequencialmente, comutando-se as portas da válvula em combinações definidas para inserir somente uma solução a cada instante[108]. Assim, a pressão em cada ponto do percurso analítico é mantida constante, minimizando possíveis flutuações nas vazões das soluções. Essas características favorecem a implementação de sistema usando a ação gravitacional, mesmo em procedimentos que requerem o processamento de várias soluções. Portanto, atualmente, com a diversificação dos módulos de análise e, principalmente, com o desenvolvimento da configuração monocanal, vem sendo observada uma maior tendência na utilização deste recurso[109].

A delimitação dos volumes das soluções reagentes a serem inseridos no percurso analítico foi efetuada em função do tempo e da vazão. É importante destacar que em sistemas à pressão constante, ou seja, usando ação gravitacional para movimentar soluções, a vazão varia sensivelmente com a altura (ΔH) entre os recipientes das soluções e o detector, bem como em relação ao recipiente usado para o descarte das soluções. Portanto, antes do início de qualquer análise, devem ser previamente definidas todas as variáveis de otimização das

condições de trabalho, principalmente a diferença de altura entre os dispositivos constituintes dos módulo de análise. Observou-se, que mantendo-se todas as condições constantes, ainda assim poderia haver diferença na vazão de uma porta da válvula para outra. Além disso, a razão entre os volumes das alíquotas das soluções da amostra e dos reagentes exerce efeito importante na mistura das soluções, podendo influenciar no desenvolvimento da reação. Portanto, todos estes parâmetros deveriam ser previamente investigados antes de iniciar uma análise.

Visando otimizar as condições de trabalho, primeiramente verificou-se o comportamento da vazão de cada solução, conforme resultados mostrados nas Tabelas V.1 e V.2.

Tabela V. 1. Vazão em diferentes pontos do percurso analítico (tubo d.i. = 0,8 mm).

	entrada da válvula	Saída da válvula	Após detector
Soluções		Vazões mL/min	
$BaCl_2$	3,2	1,3	1,2
EDTA	3,2	2,4	2,3
Amostra	3,2	2,2	2,2
ácido perclórico	3,2	1,5	1,4

Tabelas V.2. Efeito da vazão em função dos diâmetros dos tubos, após o detector.

	tubo com d.i. = 1,6 mm	Tubo com d.i. = 0,8 mm
Solução	Vazão mL/min	
$BaCl_2$	1,6	1,2
EDTA	2,8	2,3
Amostra	2,0	2,0
ácido perclórico	1,4	1,3

Observou-se que a estrutura interna da válvula usada influenciava significativamente a vazão das soluções. Foi observado que, nas mesmas condições, uma solução quando inserida em portas diferentes apresentava diferença significativa na vazão. Também foi verificado que

mantendo-se as condições do módulo de análise constantes, não houve variação na vazão, independentemente da variação do volume de solução no frasco de Mariotte. Os estudos foram realizados usando as vazões observadas após o detector, conforme descrito na Tabela V.1. Embora tenha existido uma diferença na vazão entre o percurso analítico com tubos de diâmetro interno de 1,6 para sistema MSFA e 0,8 para os sistema não segmentados, o volume de cada solução referente a uma determinação foi mantido constante independente do sistema utilizado. A diferença de vazão era compensada variando-se o intervalo de tempo que a válvula permanecia ligada nas duas condições.

Devido à formação de suspensão de sulfato de bário em linha, há uma grande probabilidade de adsorsão de partículas nas paredes internas dos tubos no percurso analítico bem como da cela de fluxo. Esse fator pode resultar em flutuações na linha de base prejudicando a interpretação dos resultados. Para evitar este problema, tem sido usado solução alcalina de EDTA, a qual deve ser inserida após cada leitura para solubilizar as partículas retidas e realizar a limpeza das paredes internas dos tubos e da cela de fluxo. No corrente trabalho, testes prévios mostraram que 200 μL da solução de EDTA 0,3 % eram suficientes para uma boa limpeza do percurso analítico, independentemente do processo de amostragem empregado.

V.4.1. Efeito do volume do reagente cloreto de bário

O efeito do volume de solução de cloreto de bário foi inicialmente investigado. Os testes foram realizados fixando-se o volume da solução de referência em 150 μL, na concentração de 75 mg L^{-1} para simular a solução de amostra e variando-se o volume de cloreto de bário de 12 a 117 μL, em incrementos de 20 μL. Conforme representado na Figura V.2, nos sistemas FIA-MBS e FIA-SWS, a partir de aproximadamente 45 μL do reagente, a sensibilidade era mantida constante, demonstrando que a quantidade de reagente inserida era suficiente para reagir com a amostra. Nos sistemas MSFA, SIA, o sinal tornava-se constante a partir de 70 μL. Tanto com relação à sensibilidade quanto ao perfil dos gráficos, pode ser observado que cada sistema apresentou uma característica própria, onde as maiores semelhanças foram observadas entre os resultados dos sistemas FIA-MBS e FIA-SWS.

UNICAMP
BIBLIOTECA CENTRAL

Portanto, a sensibilidade decresceu na seguinte ordem: MSFA; FIA-MBS e FIA-SWS (com sensibilidades bastante semelhantes), e finalmente, SIA. Essas diferenças na sensibilidade entre os sistemas foi propiciada em função dos diferentes procedimentos de amostragem, bem como do processamento das soluções no percurso analítico. A baixa sensibilidade inicial certamente foi devido à falta de reagente.

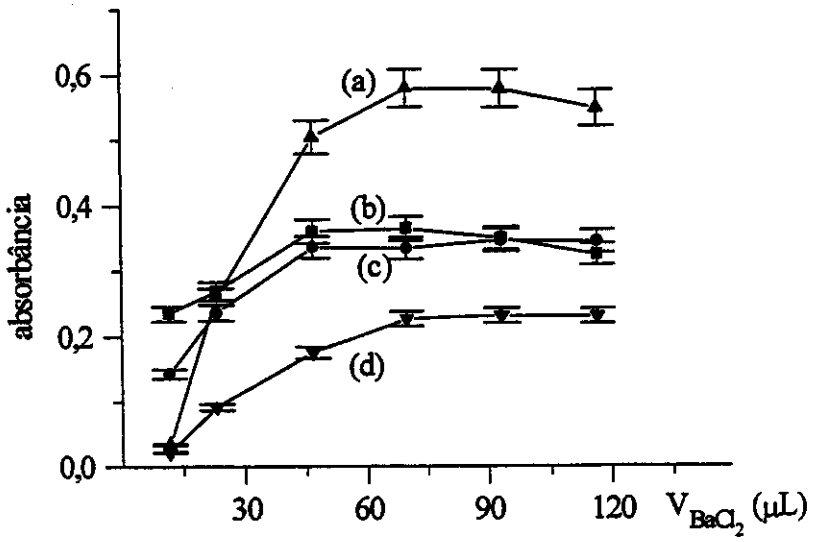

Figura V.2. Efeito do volume de cloreto de bário. Soluções: 150 µL da solução padrão 75 mg L^{-1}; cloreto de bário 5,0 % (m/v). Os gráficos (a), (b), (c), (d) correspondem aos sistemas MSFA, FIA-MBS, FIA-SWS e SIA, respectivamente.

Para os testes seguintes, independentemente do sistema empregado, manteve-se constante o volume do reagente em 75 µL, considerando-se que o mesmo era necessário para que a sensibilidade do sistema SIA não fosse prejudicada. Como o volume de amostra foi fixado em 150 µL, as determinações foram efetuadas mantendo-se a proporção de 1:2 entre as soluções de reagente e amostra, respectivamente.

Portanto, em resumo, as determinações de sulfato foram realizadas mantendo-se uma razão constante entre os volumes das soluções em 1:2, ou seja, usando 75 e 150 µL das soluções de reagente e amostra, respectivamente. Deve ser destacado que quando empregando o sistema FIA-MBS, a amostragem do volume de cada solução era efetuada em cinco ciclos.

V.4.2. Efeito da concentração do reagente cloreto de bário

O efeito da concentração do reagente foi investigado mantendo-se constante os volumes das soluções conforme descrito e variando-se a concentração de $BaCl_2$ em incrementos de 2 %, conforme representado na Figura V.3.

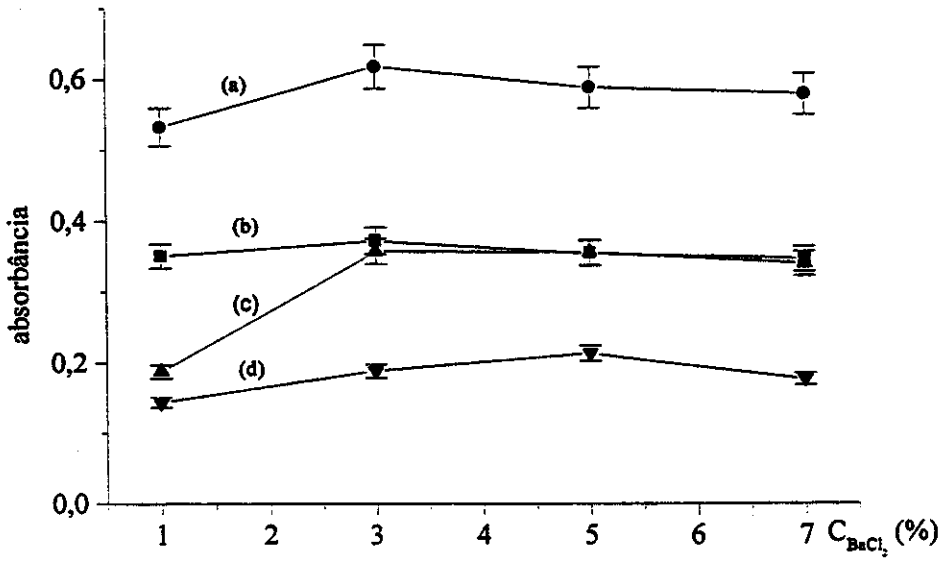

Figura V.3. *Efeito da concentração de $BaCl_2$. Os volumes das soluções de cloreto de bário e de amostra, foram mantidos em 75 e 150 µL, respectivamente; (a), (b), (c),* e *(d) = gráficos dos sistemas MSFA, FIA-MBS, FIA-SWS e SIA, respectivamente.*

Os gráficos da Figura V.3 apresentaram um comportamento semelhante aos da Figura V.2 sendo que nos sistemas MSFA, FIA-SWS e SIA observa-se um decréscimo na sensibilidade na região de menor concentração do reagente, certamente inadequada à quantidade de amostra. No sistema FIA-MBS o efeito foi semelhante, porém significativamente menor quando comparado com os demais sistemas. Acredita-se que o motivo dessa diferença tenha sido em função das características do processo de amostragem, uma vez que o reagente era distribuído em toda extensão do volume de amostra, favorecendo a mistura entre as duas soluções. É importante destacar que cada sistema apresenta uma distribuição própria das soluções no percurso analítico podendo, portanto, influenciar o perfil dos sinais. Por isso, nos sistemas MSFA, FIA-MBS e FIA-SWS, a sensibilidade manteve-se constante a partir da concentração de 3,0 % do reagente, enquanto que no sistema SIA a partir de 5,0 %. Em função dessa diferença nas condições de otimização, optou-se em trabalhar

usando o reagente na concentração de 5,0 %, considerando-a como intermediária às melhores condições obtidas em cada sistema.

V.4.3. Desempenho dos sistemas

Visando avaliar o desempenho dos sistemas implementados no módulo de análise proposto, inicialmente foi efetuada a determinação de sulfato em soluções de referência, cujas curvas analíticas encontram-se representadas na Figura V.4. Foi constatado que os sistemas não segmentados propiciaram uma boa linearidade para uma faixa de concentração entre 40 - 200 mg L^{-1}, enquanto que o monossegmentado apresentou uma resposta linear entre 20 - 125 mgL^{-1}. Mais uma vez nesses resultados, a exemplo das aplicações descritas nos capítulos anteriores, também fica clara a diferença de sensibilidade entre os sistemas, principalmente com relação ao MSFA.

Conforme resultados representados na Tabela V.3, as frequências de amostragem foram semelhantes, com exceção do sistema SIA, que foi aproximadamente 20 % menor, com uma estimativa do desvio padrão ligeiramente maior em comparação aos demais sistemas. Essas diferenças podem ser resultantes das caraterísticas do processamento das soluções neste sistema.

Com base na otimização das condições de trabalho, foi analisado um lote de 12 amostras digeridas de plantas, sangue bovino e soro sanguíneo, com o objetivo de avaliar o desempenho dos sistemas. As análises foram realizadas empregando-se os sistemas implementados no módulo de análise proposto, FIA convencional usado em análises de rotina no CENA e em ICP-AES. Os dados da Tabela V.4 representam as concentrações, em percentagem de enxofre na matéria seca, calculadas a partir das concentrações em (mg L^{-1}) de sulfato encontradas em solução.

Tabela V.3. Comparação dos parâmetros de avaliação dos processos de amostragens.

Sistema	Determinações (hora)	Precisão d.p.r (%)	limite de detecção (mg L^{-1})
MSFA	80	1,9	15
FIA-MBS	80	2,1	30
FIA-SWS	80	2,8	29
SAI	65	3,6	33

Estimativa do desvio padrão relativo de 6 determinações com uma solução de SO_4^{2-} 120 mg L^{-1}. O limite de detecção (L.D.), foi calculado usando a fórmula: L.D. = (3 x dp) / α, sendo dp = desvio padrão e , α = coeficiente angular da reta.

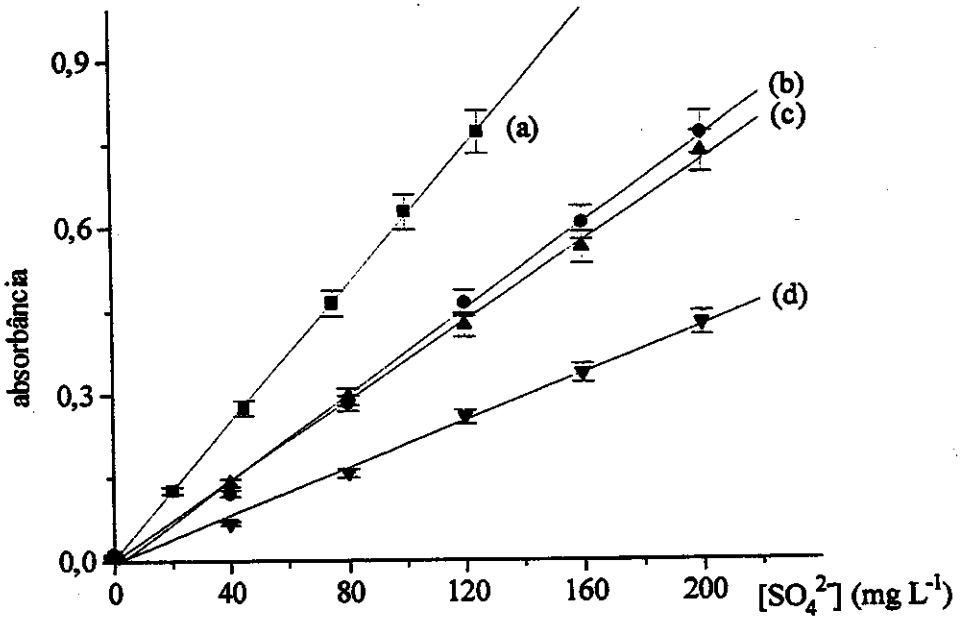

Figura V.4. *Avaliação do desempenho dos sistema. Soluções: 75 µL de solução padrão; 150 µL de cloreto de bário 5,0 % (m/v). As curvas (a), (b), (c) e (d) correspondem aos sistemas MSFA, FIA-MBS, FIA-SWS e SIA, respectivamente. Equações referente a cada cada gráfico:*
(a) - MSFA = 0,0034 +0,00616 X*
*(b) - FIA-MBS = -0,01105 + 0,00387*X*
*(c) - FIA-SWS = 0,00067 +0,00359*X*
*(d) - SIA = -0,00395 + 0,00213*X*

Tabelas V.4. *Comparação de resultados obtidos pelos sistemas propostos, sistema FIA usual e ICP-AES.*

Resultados em percentagem de enxofre (S) na matéria seca						
A*	FIA usual	ICP-AES	MSFA	FIA-MBS	FIA-SWS	SIA
01	0,204 ± 0,004	0,277 ± 0,015	0,202 ± 0,002	0240 ± 0,004	0,198 ± 0,006	0,193 ± 0,009
02	0,192 ± 0,005	0,212 ± 0,012	0,198 ± 0,003	0,210 ± 0,007	0,200 ± 0,004	0,195 ± 0,008
03	0,210 ± 0,006	0,287 ± 0,006	0,204 ± 0,003	0,203 ± 0,003	0,188 ± 0,003	0,207 ± 0,006
04	0,090 ± 0,007	0,098 ± 0,001	0,098 ± 0,002	0,094 ± 0,008	0,089 ± 0,003	0,080 ± 0,005
05	0,091 ± 0,004	0,101 ± 0,006	0,090 ± 0,003	0,089 ± 0,003	0,088 ± 0,002	0,084 ± 0,007
06	0,091 ± 0,003	0,093 ± 0,001	0,089 ± 0,004	0,091 ± 0,002	0,090 ± 0,004	0,094 ± 0,010
07	0,110 ± 0,012	0,093 ± 0,003	0,103 ± 0,005	0,098 ± 0,004	0,095 ± 0,005	0,083 ± 0,011
08	0,103 ± 0,020	0,116 ± 0,001	0,098 ± 0,007	0,081 ± 0,006	0,097 ± 0,004	0,090 ± 0,006
09	0,090 ± 0,009	0,101 ± 0,001	0,093 ± 0,006	0,088 ± 0,003	0,089 ± 0,008	0,080 ± 0,006
10	0,092 ± 0,007	0,094 ± 0,001	0,083 ± 0,003	0,088 ± 0,005	0,091 ± 0,003	0,086 ± 0,010
11	0,093 ± 0,011	0,093 ± 0,002	0,087 ± 0,004	0,092 ± 0,002	0,089 ± 0,004	0,098 ± 0,007
12	0,090 ± 0,008	0,097 ± 0,006	0,092 ± 0,003	0,093 ± 0,004	0,092 ± 0,004	0,087 ± 0,008

Média ± estimativa do desvio padrão referente a 3 determinações. A = amostras*

Ao término deste trabalho constatou-se que os sistemas propiciaram a obtenção de bons resultados. O consumo do reagente $BaCl_2$ foi de 3,4 mg em cada determinação, frequência analítica em torno de 80 determinações por hora e precisão de 1,2 % (n = 10). Aplicando-se o teste-*t* pareado não foram observadas diferenças significativa a um nível de 95 % de confiança quando comparados com sistema FIA convencional. Na comparação com o ICP-AES, para o sistema SIA não houve diferenças significativas a um nível 99 % de confiança enquanto que para os demais sistema esse limite foi de 95 %.

Portanto, o conjunto de resultados obtidos, de um modo geral, demonstrou a viabilidade do módulo de análise desenvolvido, tanto com relação a implementação de

diferentes sistemas em um único módulo, como em função do emprego da ação gravitacional para movimentação de soluções.

Além do mais, embora tenha sido aplicado somente para determinação turbidimétrica de sulfato, acredita-se que o módulo de análise proposto possa ser facilmente ajustado para determinação de outros analitos.

CAPÍTULO VI

VI. DETERMINAÇÃO POTENCIOMÉTRICA DE CLORETO EM AMOSTRAS DE VINHO E LEITE

VI.1. Introdução

A primeira tentativa de automação do processo de titulação potenciométrica foi proposta em 1914[110], quando foi efetuada a titulação do íon dicromato com íon ferroso. O titulador desenvolvido efetuava a titulação em batelada, onde primeiramente era definido o volume do titulante necessário para reagir com o titulado. Na década de 50 foi desenvolvido o primeiro titulador baseado no sistema em fluxo contínuo[111], voltado para determinação de mercaptanas em amostras de gasolina. O procedimento de titulação era realizado com as soluções de amostra e titulante confluindo em um recipiente onde se encontravam os eletrodos e um dispositivo para o descarte. A vazão de amostragem era mantida constante e a do titulante era variada até a obtenção do ponto final. Posteriormente, o processo de titulação também foi adaptado em sistema FIA, para determinação de ácido clorídrico com hidróxido de sódio, ou seja, para reação ácido-base[112]. Com base no desenvolvimento de sistemas em fluxo de um modo geral, o processo de titulação potenciométrica teve um avanço significativo nas últimas décadas[113]. Com o objetivo de aperfeiçoar sua automação, têm sido desenvolvidas várias alternativas tanto com relação aos detectores potenciométricos como os sistemas em fluxo de um modo geral. Atualmente, podem ser encontrados tanto sistemas em fluxo como eletrodos em diferentes modelos e configurações[114]. Recentemente, um novo modelo de titulador foi desenvolvido empregando detecção fotométrica em sistema em fluxo, com base no processo de aproximação sucessiva por amostragem binária[29]. Outro ponto de destaque dos detectores potenciométricos é que, assim como os sistemas em fluxo, podem ser construídos em laboratórios. Desta forma, além de diminuir os custos de implementação e manutenção, podem ser construídos em diferentes formatos, facilitando o acoplamento em estruturas específicas, possibilitando a determinação de várias espécies químicas por titulação, entre os quais o cloreto.

Geralmente, os compostos químicos formados por cloreto têm sido bastante utilizados na conservação de alguns alimentos estocados, como carne e derivados[115] e produtos derivados de leite[116], protegendo-os contra a ação de bactérias. Por isso, o mesmo encontra-se presente nos mais diferentes meios, como águas, solo e diferentes tipos de alimentos e bebidas. Assim, reações com outros elementos químicos podem resultar em diferentes compostos, inofensivos, úteis ou prejudiciais à saúde. Quando consumido em excesso, é cientificamente comprovado que o mesmo é prejudicial à saúde, sendo um dos problemas mais comuns a alteração da pressão arterial[115,117]. Também quando se encontra em excesso no leite constitui um indicativo de anormalidade no estado de saúde do animal[118]. Em vinhos, um teor de cloreto acima dos limites de tolerância é um referencial de que pode haver alguma fonte de contaminação.

A necessidade de monitoramento de cloreto em diferentes meios tem justificado o desenvolvimento de várias pesquisas e, principalmente, a busca de novas alternativas para determinação deste analito. Neste contexto, os sistemas em fluxo são considerados como uma importante alternativa, tanto devido à facilidade de implementação, como por propiciarem bons resultados em determinações potenciométricas de diferentes analitos[119]. Isso é devido à sua versatilidade e à facilidade de acoplamento dos eletrodos a sistemas em fluxo[120]. Neste enfoque, várias espécies químicas em diferentes matrizes têm sido determinadas potenciometricamente em sistemas em fluxo, entre os quais o cloreto, que tem sido determinado em amostras de chouriço[117], produtos de carne[115], leite, vinagre, cerveja e vinho[114,117].

Dos diferentes tipos de detectores destacados na literatura, atualmente os constituídos de eletrodos indicadores de configuração tubular são os mais utilizados em titulação potenciométrica em fluxo. Essa preferência é propiciada devido à flexibilidade do mesmo relativa a seu acoplamento em sistema em fluxo, em função da dimensão e geometria[120,121]. Os mesmos têm sido amplamente aplicados em análises químicas, inclusive na determinação de cloreto, usando o eletrodo de íon seletivo de Ag/Ag_2S[114].

No presente trabalho, o módulo de análise foi desenvolvido visando implementação de titulação em diferentes sistemas em fluxo. A viabilidade do mesmo foi avaliada aplicando a titulação potenciométrica para determinação de cloreto em amostras de leite e vinho, usando eletrodo tubular de íon seletivo de Ag/Ag_2S como indicador.

VI.2. Reagentes e soluções

As soluções foram preparadas ou diluídas com água deionizada. Usou-se as soluções de nitrato de prata e cloreto de sódio, ambas na faixa de concentrações entre $8,0 \times 10^{-4}$ - $3,0 \times 10^{-2}$ mol L^{-1}, nitrato de sódio $1,0 \times 10^{-1}$ mol L^{-1}, ácido nítrico (1 + 39) para determinação de cloreto em leite e (1 + 4) em vinho.

VI.3 Construção e condicionamento de eletrodos

Os eletrodos foram construídos e condicionados com base nos procedimentos da literatura[113,114], conforme descrição sucinta a seguir. Primeiramente preparou-se as membranas usadas na construção dos eletrodos convencionais e tubulares de sulfeto de prata. A mistura sensora usada na preparação das membranas era constituída de sulfeto de prata[122] que foi obtido adicionando-se vagarosamente, com agitação constante, igual volume de uma solução de sulfeto de sódio 0,10 mol L^{-1} a uma solução de nitrato de prata na mesma concentração.

O precipitado resultante (Ag_2S) foi filtrado a vácuo e lavado por várias vezes com água deionizada. Em seguida, foi mantido em uma estufa à temperatura de 100 °C, por um período de aproximadamente 24 horas. Após a secagem, o mesmo foi triturado e, assim, o material estava pronto para confeccionar as membranas ou para ser guardado (de preferência em dessecador e ao abrigo da luz). Com o objetivo de limitar a quantidade necessária para a obtenção de cada membrana, o material foi pesado em porções de 0,25 g. Cada porção foi prensada a uma pressão correspondente a 15 toneladas, transformando-a em uma membrana (pastilha), com as dimensões de 0,4 cm de diâmetro e 0,2 mm de espessura. Cada membrana era dividida em 4 partes iguais, possibilitando a construção de 4 eletrodos tubulares.

Na construção dos eletrodos, inicialmente soldou-se com solda de estanho uma lâmina de prata de tamanho apropriado à extremidade de um cabo elétrico blindado, na qual foi colada a pastilha de Ag_2S de prata com resina epóxi condutora de prata. Posteriormente, este conjunto foi colocado na cavidade de um pequeno cilindro de acrílico, sendo o espaço excedente da cavidade preenchido com resina epóxi não condutora. Após a secagem, no mesmo era perfurado um orifício perpendicular à membrana, com diâmetro aproximadamente igual ao do tubo usado no sistema em fluxo, de forma a permitir a passagem das soluções sem turbulência.

Finalmente, era efetuado o polimento da membrana com pó de óxido de alumínio e, em seguida, condicionada por um período de aproximadamente 2 horas em solução do íon Ag^+ na concentração de $1,0 \times 10^{-3}$ mol L^{-1}. Assim, o eletrodo estava pronto para ser testado e aplicado às determinações.

VI.4. Procedimentos

Conforme discutido no capítulo II, o processamento das soluções no módulo de análise proposto, representado na Figura II.8, (capítulo II) , baseia-se no funcionamento da válvula solenóide. Cada volume inserido era delimitado com base na vazão de bombeamento e no tempo de comutação da mesma. Após o fornecimento das variáveis de entrada, todo procedimento era efetuado e controlado por um microcomputador, via o programa computacional em Visual Basic 3.0, desenvolvido para efetuar o controle e aquisição de dados. A título de ilustração, um diagrama de blocos referente ao módulo de análise proposto encontra-se representado na Figura VI.1.

Como nos demais trabalhos, era efetuado o controle na comutação das válvulas e funcionamento da bomba peristáltica e monitoramento da saída analógica do potenciômetro via interface PCL-711S. Através do programa computacional eram calculadas as alterações proporcionais dos volumes das soluções de titulado e titulante para cada amostragem. Os sinais referentes à diferença de potencial resultante de cada mistura entre as soluções de amostra e titulante eram mostrados na tela do microcomputador, permitindo ao operador visualizar as aproximações do ponto de equivalência.

Neste módulo de análise, independentemente do sistema empregado, a leitura dos sinais era iniciada e concluída somente durante a passagem da zona de amostra pelo detector. A mesma era iniciada aos 42 s após o término da amostragem das soluções, sendo esse período necessário para a zona de amostra atingir ao detector. No sistema MSFA, a leitura era iniciada após a primeira bolha de ar ser descartada, com intervalo de leitura de 5 s, sendo concluída aos 47 s, antes da segunda bolha de ar passar pelo primeiro eletrodo (indicador). É importante destacar que a leitura não poderia ser efetuada durante a passagem das bolhas de ar pelo detector, nem quando localizadas entre os dois eletrodos, porque o ar constitui-se um isolante de corrente elétrica. Deste modo, quando uma bolha encontrava-se localizada entre o eletrodo

indicador e o de referência, o contato elétrico entre ambos era interrompido interferindo, desta forma, na leitura do sinal.

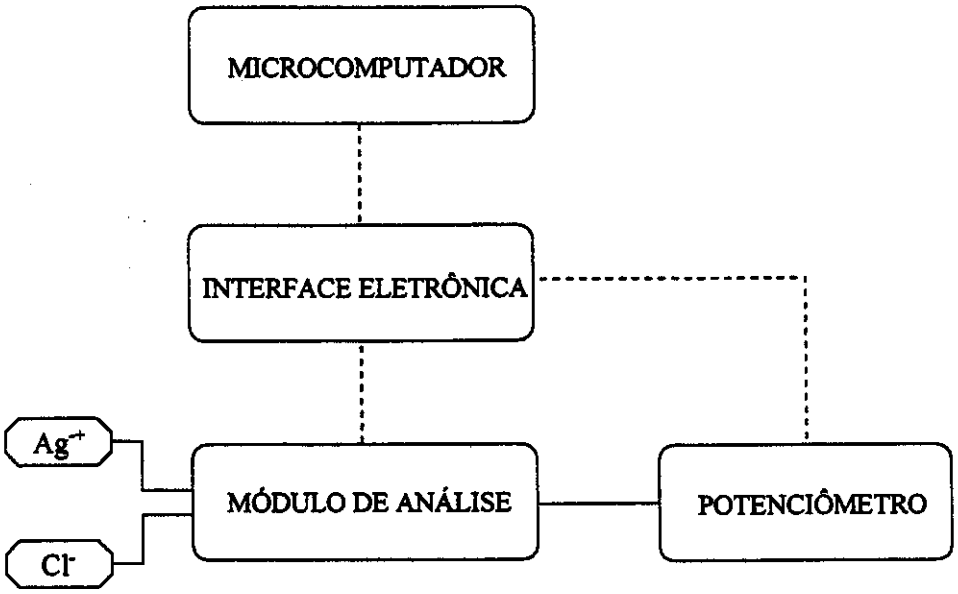

Figura VI.1. *Diagrama de blocos do módulo de análise representado na Figura II.8, proposto para a implementação de titulação nos sistemas FIA-SWS, MSFA, SIA .e FIA-MBS.*

As vazões de bombeamento durante a amostragem das soluções e leitura foram 1,93 e 1,43 mL min^{-1}, respectivamente. O volume total da zona de amostra (253,0 μL) era resultante do intervalo de tempo total (8 s) de comutação das portas da válvula para inserção das soluções de amostra e reagente no percurso analítico. No sistema monossegmentado, as soluções de Ag^{+} e Cl^{-} eram inseridas no percurso analítico entre duas bolhas de ar, enquanto que nos sistemas não segmentados o procedimento era semelhante, com exceção das bolhas de ar, que não eram usadas.

Para a realização do cálculo das estimativas de aproximações do ponto final, a inserção das soluções no percurso analítico era efetuada variando-se os volumes do titulado e titulante para cada leitura. Conforme representado na Figura VI.2, primeiramente eram efetuadas três medidas com o volume de cada solução definido como variável de entrada. Inicialmente, para a primeira medida era inserida somente solução de Cl^{-} no percurso analítico, a segunda era resultante da predominância total da solução de Ag^{+} e, completando a etapa inicial da

titulação, eram inseridos volumes iguais de ambas as soluções, ou seja, o volume total da zona de amostra era constituído de 50% de cada solução.

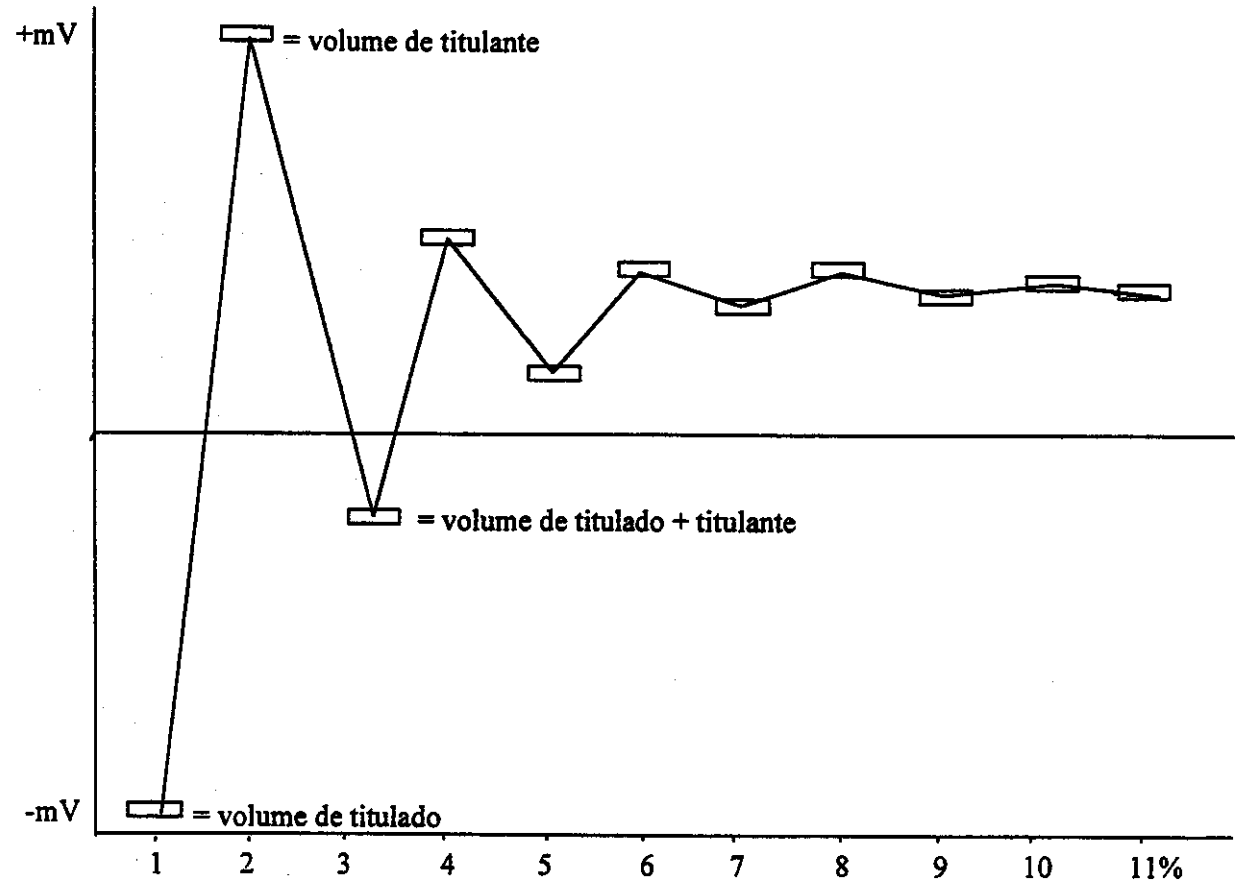

Figura VI.2. *Representação gráfica das estimativas de aproximação do ponto final em uma titulação.*

O processo de titulação proposto baseou-se na variação de potencial para realizar as aproximações do ponto final. A partir da terceira medida, em cada tentativa seguinte era tomada como referência a variação de potencial entre duas leituras imediatamente anteriores. Desta forma considerando-se que o ponto final da titulação encontrava-se entre os volumes que proporcionavam a maior variação de potencial, na tentativa seguinte a proporção entre os volumes de titulado e titulante era efetuada automaticamente. Ao volume da primeira, o titulante era incrementado (ou decrementado) em uma quantidade igual à média da diferença entre os volumes das amostragens anteriores. Por conseguinte, com base no critério de parada previamente definido como variável de entrada, as estimativas (em segundos) eram calculadas

sucessivamente até atingir a aproximação do ponto de equivalência estipulada, interrompendo a titulação.

VI.5. Resultados e discussão

Com as condições de trabalho previamente definidas, iniciou-se uma série de estudos buscando avaliar os sistemas implementados no módulo de análise proposto. Inicialmente foram avaliadas as condições de funcionamento, relativas à estrutura física do sistema, para que posteriormente, pudesse ser aplicado para titulação de espécies químicas em amostras.

As avaliações do processo de titulação proposto foram primeiramente efetuadas empregando-se o sistema (MSFA). Essa opção baseou-se nas características de funcionamento do mesmo, onde a mistura das soluções era homogênea e a dispersão minimizada, proporcionando um melhor controle da leitura dos sinais que era restrita a um curto intervalo de tempo (5 s), sendo o valor da diferença de potencial de cada medida resultante da média de 10 leituras.

Para os primeiros testes foram efetuadas titulações de solução padrão de cloreto na concentração de 1,0 x 10^{-3} mol L^{-1} com solução de prata nas concentrações de 1,0 x 10^{-3}, 2,0 x 10^{-3} e 1,0 x 10^{-2} mol L^{-1}. Em função do procedimento de titulação proposto, para as diferentes concentrações avaliadas (Tabela VI.1), foi observado que para cada condição, o ponto final convergia sempre para o mesmo ponto, proporcionando uma boa precisão. A exatidão foi da ordem de 6,5 % para concentração de titulado e titulante 1,0 x 10^{-3} mol L^{-1}, 14,6 % para titulado 1,0 x 10^{-3} mol L^{-1} e titulante 2,0 x 10^{-3} mol L^{-1} e 21,3 % para o titulado 1,0 x 10^{-3} mol L^{-1} e titulante 1,0 x 10^{-2} mol L^{-1}. Portanto, observa-se que ao aumentar a diferença entre as concentrações das soluções de titulado e titulante, diminui-se de forma significativa a exatidão das medidas. Acredita-se que esta característica foi propiciada pelo próprio modelo do processo de titulação proposto. Devido ao volume total da zona de amostra ser mantido constante, para uma grande diferença entre as concentrações de amostra e titulante ocorre uma limitação relativamente à necessidade de efetuar inserção de pequenos volumes da solução de maior concentração. Entretanto, para uma menor diferença de concentração entre as duas soluções observou-se uma boa aproximação entre os valores obtidos e esperados

(teóricos), o que demonstra um funcionamento adequado do sistema proposto nas condições experimentais. A figura IV.3 mostra as aproximações obtidas nestas titulações.

Tabela VI.1. Avaliação de resultados de titulações de Cl^- 1,0 x 10^{-3} mol L^{-1} com diferentes soluções do titulante (Ag^+), empregando sistema MSFA.

Ag (mol L^{-1})	1,0 x 10^{-3}			2,0 x 10^{-3}			1,0 x 10^{-2}		
E	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00
S	8,00	8,00	8,00	8,00	8,00	8,00	8,00	8,00	8,00
T	4,00	4,00	4,00	4,00	4,00	4,00	4,00	4,00	4,00
I	2,00	2,00	2,00	6,00	6,00	6,00	2,00	2,00	2,00
M	3,00	3,00	3,00	3,00	3,00	3,00	1,00	1,00	1,00
A	3,50	3,50	3,50	2,25	2,25	2,25	0,50	0,50	0,50
T	3,75	3,75	3,75	2,75	2,75	2,75	0,75	0,75	0,75
	3,875	3,875	3,875	2,875	2,875	2,875	0,88	0,88	0,88
	3,9375	3,9375	3,9375	2,8125	2,8125	2,8125	0,94	0,94	0,94
est-e	4,0023	4,0023	4,0023	2,667	2,667	2,667	0,727	0,727	0,727
erro%		- 6,5			14,6			21,3	

estimat = estimativas obtidas (tempo em (s) de aproximações do ponto de equivalência).
est-e = valor da estimativa esperada [tempo em (s)].
erro = valor obtido - valor teórico [estimat - est-e] x 100

Como discutido, foi observada uma limitação com relação à necessidade de inserir volumes muito reduzidos, em decorrência da estrutura da válvula, que não permitia comutações por tempo menor que 0,2 s para a inserção dos volumes requeridos pela estequiometria da reação, para que o ponto final aproximasse o máximo possível do ponto de equivalência.

Nos resultados descritos na Tabela VI.2, pode ser observada a diferença de resposta de titulação usando diferentes concentrações tanto do titulante como do titulado. Os gráficos da Figura VI.4, referentes às titulações de Cl^- 8,0 x 10^{-4}; 1,0 x 10^{-3}; 1,0 x 10^{-2}; 3,0 x 10^{-2} mol L^{-1} com Ag^+ 8,0 x 10^{-4}; 1,0 x 10^{-3}; 1,0 x 10^{-2}; 3,0 x 10^{-2} mol L^{-1}, destacam nitidamente os perfis de resposta para concentrações do titulante maior ou menor do que da amostra. Nas duas

situações, o volume do titulante tendia para o ponto de equivalência da titulação. Tratando-se de condição de concentração extrema, quando a concentração da amostra era maior que a do reagente, o volume do mesmo no ponto final ocupava praticamente todo o monossegmento (zona de amostra). Para a condição em que a concentração do titulante era maior que da amostra, o efeito era exatamente o contrário. Em termos de precisão e exatidão os resultados foram semelhantes aos descritos na Tabela VI.2. Mais uma vez as características de resposta demonstraram que os resultados obtidos foram coerentes com a estequiometria da reação e, portanto, o processo de titulação proposto demonstrou ser viável.

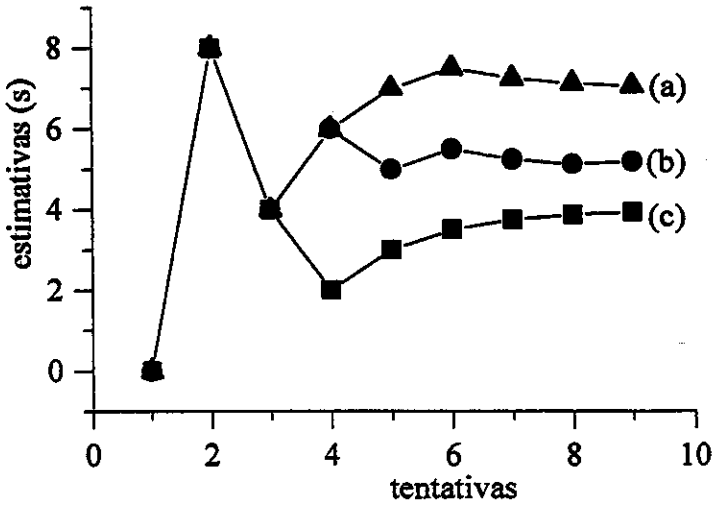

Figura VI.3. *Caraterísticas de resposta de titulação em diferentes intervalos de concentração de titulante e amostra. As estimativas = aproximações do ponto final em segundos. Gráficos: (a), titulação de Cl^- 1,0 x 10^{-2} mol L^{-1} com Ag^+ 1,0 x 10^{-3};mol L^{-1}; (b), Cl^- 2,0 x 10^{-3} mol L^{-1} com Ag^+ 1,0 x 10^{-3} mol L^{-1} ;(c), Cl^- 1,0 x 10^{-3} mol L^{-1} com Ag^+ 1,0 x 10^{-3} mol L^{-1}.*

Outro fator limitante na amostragem de pequenos volumes era resultante do funcionamento da bomba peristáltica, tendo em vista que entre a comutação de cada porta da válvula a rotação da bomba era interrompida e, em seguida, reiniciada. Esse procedimento gerava pequenas variações no intervalo de tempo tanto ao interromper-se quanto ao reiniciar-se a rotação da bomba. Além disso, pequenas variações nos volumes inseridos poderiam resultar também do efeito de pulsação devido aos espaços entre os roletes da bomba. Como o volume total era mantido constante, dependendo da diferença entre as concentrações das duas soluções, o ponto de equivalência poderia requerer um volume muito reduzido da solução mais

concentrada, difícil de ser delimitado com precisão devido aos fatores mencionados. Para essas condições tornava-se necessária efetuar a diluição da amostra.

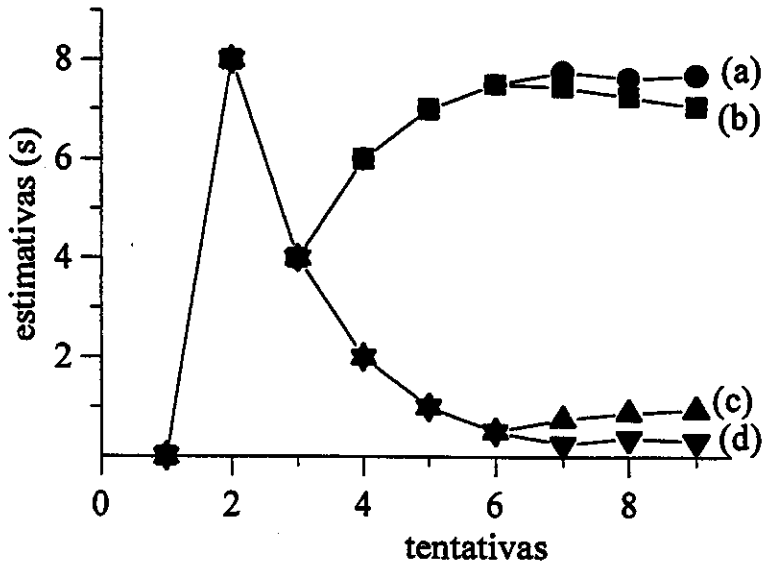

Figura VI.4. *Verificação do comportamento de resposta do sistema em condições de concentrações extremas entre titulado e titulante. As estimativas = aproximações do ponto final com base no tempo, em segundos. Gráficos: (a), resultante da titulação de Cl^- 3,0 x 10^{-2} mol L^{-1} com Ag^+ 8,0 x 10^{-4} mol L^{-1}; (b), titulação de Cl^- 1,0 x 10^{-2} mol L^{-1} com Ag^+ 1,0 x 10^{-3} mol L^{-1} ;(c), titulação de Cl^- 1,0 x 10^{-3} mol L^{-1} com Ag^+ 1,0 x 10^{-2} mol L^{-1};(d), titulação de Cl^- 8,0 x 10^{-4} mol L^{-1} com Ag^+ 3,0 x 10^{-2}mol L^{-1}.*

Verificou-se que para um volume total de 253 μL, resultante de um intervalo de tempo de 8 s (inserção de titulante + titulado), a diferença entre as concentrações das duas soluções poderia ser em torno de 40 vezes. Essa condição foi verificada para o intervalo de concentrações de 8,0 x 10^{-4} - 3,0 x 10^{-2} mol L^{-1}, conforme descrito na Tabela VI.2 e representado graficamente na Figura VI.4. Ou seja, a concentração do titulante poderia ser cerca de 40,0 vezes maior que a da amostra ou vice-versa. Para uma diferença de concentração maior certamente estaria fora dos limites do intervalo de tempo mínimo de comutação das portas da válvula. Entretanto, as concentrações limites poderiam variar para mais ou para menos, desde que a diferença entre ambas fosse menor ou igual a 40. No entanto, a diferença entre as concentrações das soluções de titulado e titulante poderia ser ampliada aumentando-se o volume total da zona de amostra, para que o volume mínimo

requerido no ponto final da titulação pudesse ser ampliado, possibilitando sua inserção no percurso analítico com boa precisão.

Tabela VI.2. Verificação do comportamento de resposta em sistema MSFA, titulando-se [Cl^-] com [Ag^+], em diferentes intervalos de concentrações.

Cl^- (mol L^{-1})	$1,0 \times 10^{-3}$	$2,0 \times 10^{-3}$	$1,0 \times 10^{-2}$	$3,0 \times 10^{-2}$		$1,0 \times 10^{-3}$	$1,0 \times 10^{-3}$	$8,0 \times 10^{-4}$
E	0,00	0,00	0,00	0,00		0,00	0,00	0,00
S	8,00	8,00	8,00	8,00		8,00	8,00	8,00
T	4,00	4,00	4,00	4,00		4,00	4,00	4,00
I	2,00	6,00	6,00	6,00		6,00	2,00	2,00
M	3,00	5,00	7,00	7,00		3,00	1,00	1,00
A	3,50	5,50	7,50	7,50		2,25	0.50	0,50
T	3,75	5,25	7,25	7,75		2,75	0,75	0,25
	3,875	5,125	7,125	7,625		2,875	0,875	0,375
	3,9375	5,1875	7,0625	7,6875		2,8125	0,9375	0,3125
	3,9687	5,1562	7,0725	7,71875		2,8438	0,9275	0,28125
	-	5,1406	-	7,70313		-	-	0,29687
Ag^+ (mol L^{-1})	$1,0 \times 10^{-3}$	$1,0 \times 10^{-3}$	$1,0 \times 10^{-3}$	$8,0 \times 10^{-4}$		$2,0 \times 10^{-3}$	$1,0 \times 10^{-2}$	$3,0 \times 10^{-2}$
est-e	4,000	5,333	7,273	7,792		2,667	0,727	0,208
erro %	- 3,13	- 19,2	+ 20,1	+ 8,9		+ 17,68	+ 20,1	+ 8,9

Média de três repetições, estimat = estimativas [tempo (s)] de aproximações do ponto de equivalência, est-e = valor da estimativa esperada.

Outro fator limitante foi observado com relação à reação de precipitação. Para amostras em altas concentrações eram observados problemas de entupimento dos tubos, do eletrodo tubular e, principalmente, das portas da válvula, devido à grande quantidade de precipitado formada. Constatou-se que para concentrações acima $3,0 \times 10^{-2}$ mol L^{-1}, dependendo das condições de análise, já poderia gerar problemas e, portanto, não era seguro.

Para finalização das titulações, foi criado um critério de interrupção de todo procedimento, com opção de gravar os resultados obtidos no final de cada titulação. A condição de parada foi criada tendo como base as características de convergência para o ponto de equivalência, o qual ocorria devido à variação na proporção dos volumes das duas soluções a cada leitura, conforme já descrito no procedimento. Desta forma, a diferença no valor da estimativa seguinte em relação às anterior tornava-se cada vez menor, à medida que se

aproximava do ponto de equivalência. Com base nesta característica, era estipulada como variável de entrada uma diferença em percentagem entre a penúltima e a última estimativa, conforme a exatidão desejada. Desta forma, quanto menor o valor em percentagem estipulado, maior o número de leituras realizadas e, consequentemente, menor a diferença entre as duas últimas estimativas do ponto final. Quando essa diferença atingia um valor menor do que a percentagem estipulada como critério de parada, a titulação era finalizada. Um exemplo ilustrativo da condição de finalização do processo de titulação encontra-se descrito na Tabela VI.3.

Tabela VI.3. *Critério de finalização do processo de titulação pela diferença em percentagem entre as duas últimas estimativas de aproximação do ponto final.*

	3,0 %	2,0 %	1,0 %
Ag^+ (mol L^{-1})	2,0 x 10^{-3}	2,0 x 10^{-3}	2,0 x 10^{-3}
E	8,0000	8,0000	8,0000
S	4,0000	4,0000	4,0000
T	2,0000	2,0000	2,0000
I	2,5000	2,5000	2,5000
M	2,7500	2,7500	2,7500
A	2,8750	2,8750	2,8750
T		2,8125	2,8125
		2,7812	2,7812
			2,7656
Cl^- (mol L^{-1})	1,0 x 10^{-3}	1,0 x 10^{-3}	1,0 x 10^{-3}
est-e	2,67	2,67	2,67

estimat = estimativas (tempo de aproximações do ponto de equivalência em segundos, est-e = tempo em segundo da estimativa esperada.

Em seguida, foram efetuados testes empregando os sistemas MSFA e SIA, com o objetivo de comparar os resultados entre ambos. Esses estudos foram efetuados nas condições descritas nas otimizações anteriores, usando soluções titulada (Cl^- 1,0x10^{-3} mol L^{-1}) e titulante (Ag^+ 1,0x10^{-3} mol L^{-1}). Neste caso, o volume total da zona de amostra era resultante de 6 s de acionamento da válvula para inserção das soluções reagentes e, portanto, o volume de titulante no ponto de equivalência era 97 µL, que correspondia um tempo de acionamento da válvula

para a inserção da solução titulante de 3,0 s . No sistema MSFA a melhor aproximação do ponto de equivalência foi 2,952 s e, portanto, com uma boa aproximação do valor teórico. No sistema SIA, não foi observada a convergência dos resultados para o ponto de equivalência, conforme representado na Tabela VI.4.

Tabela VI.4. *Comparação dos resultados obtidos em sistema MSFA e SIA. Titulação de Cl^- com Ag^+, ambas na concentração $1,0.10^{-3}$ mol L^{-1}.*

MSFA	SIA
Estimat. Tempo (s)	estimat. Tempo (s)
1,5000	1,5000
2,2500	0,7500
2,6251	1,1251
2,8126	1,3126
2,9676	1,2002
2,9530	1,1251

Tempo esperado = 3,0 s.

Conforme resultados descritos na Tabela 4 e representados graficamente na Figura VI.5, quando empregando o sistema SIA constatou-se uma dificuldade no processo de leitura em função da forma como o produto resultante encontrava-se distribuído na zona de amostra. Os volumes das duas soluções eram alterados a cada leitura, sendo que a região de maior concentração do produto formado tinha sua posição alterada no percurso analítico em cada determinação e, além disso, a zona de amostra neste sistema além de não homogênea, não era visualizada ao longo do percurso analítico, o que dificultava o controle do intervalo de tempo de leitura, que deveria ser efetuada somente durante a passagem da zona de amostra no detector. Essas características do processo de titulação proposto levou os resultados obtidos pelo sistema acima discriminado serem totalmente discrepantes dos obtidos com o sistema MSFA, e consequentemente em relação ao valor teórico. Para os sistemas FIA essa característica foi semelhante. Portanto, foi constatado que para sistemas não segmentados, a realização da titulação proposta, seria de difícil implementação. Dificuldades ainda maiores

foram encontradas para os sistemas FIA-SWS e FIA-MBS, uma vez que pelos seus próprios procedimentos de amostragem seria necessário que os volumes de titulante e amostra fossem inseridos em pequenas frações, o que era impraticável para as condições em que a estequiometria da reação pudesse requerer um pequeno volume de uma das soluções.

No sistema MSFA, ao contrário dos demais sistemas, o controle do intervalo de tempo durante a leitura era facilitado em função das características da zona da amostra, pois a mistura das soluções no monossegmento era completa em toda a sua extensão e, devido sua segmentação com bolhas de ar, a mesma era visualizada em todo o percurso analítico, facilitando a otimização do intervalo de tempo que a leitura deveria ser iniciada e interrompida. Além disso, em qualquer ponto do monossegmento que a leitura fosse efetuada, a diferença de potencial seria semelhante.

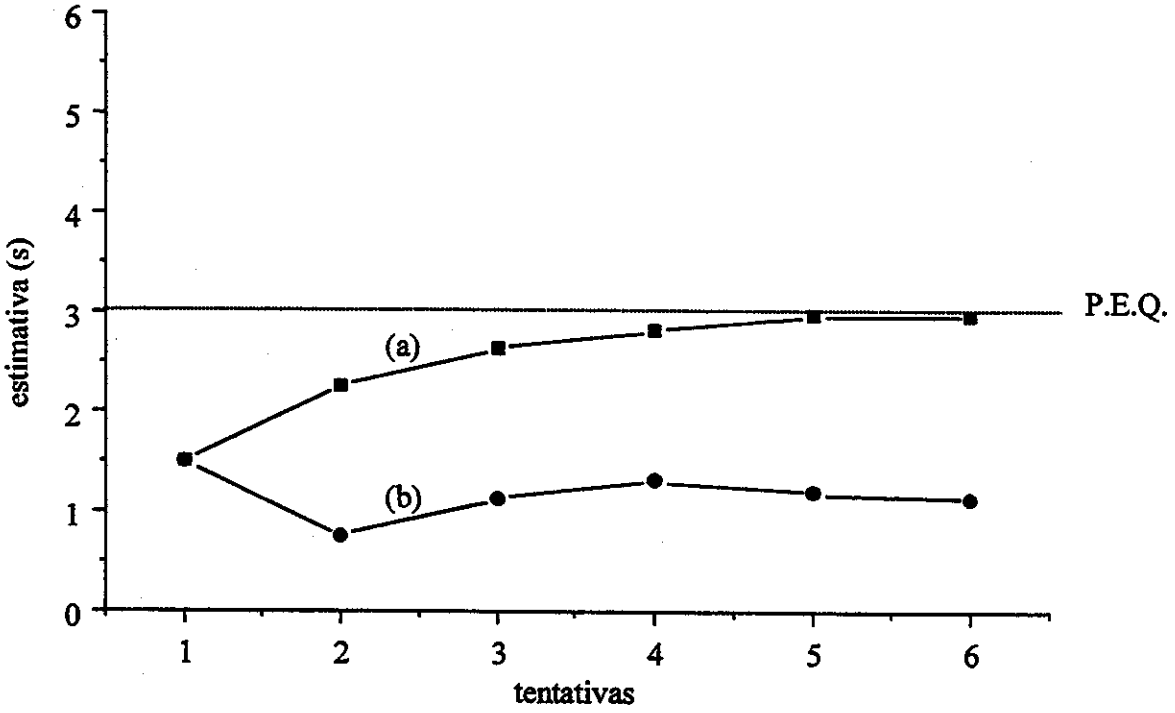

Figura VI.5. *Representação gráfica dos resultados descritos na Tabela VI.4, referente à comparação do processo de titulação entre os sistemas MSFA (curva (a)), e SIA (curva (b)). Titulação de Cl^- com Ag^+, ambas soluções na concentração 1,0. 10^{-3} mol L^{-1}. P.E.Q. = ponto de equivalência.*

Em seguida, foram efetuadas titulações em batelada usando bureta automática e sistema MSFA, empregando-se soluções com diferentes concentrações, com o objetivo de

comparar os resultados obtidos no procedimento proposto com os obtidos com método usual. Como pode ser observado na Tabela VI.5, os resultados apresentaram uma boa concordância, tanto entre si, como com relação ao valor teórico.

Após avaliação das condições de funcionamento do módulo de análise, bem como as otimizações das condições de trabalho usando solução padrão, verificou-se o desempenho do mesmo aplicando-o para determinação de cloreto em amostras de vinho e leite, conforme resultados mostrados na Tabela VI.6.

As determinações no sistema proposto foram efetuadas com base no procedimento descrito no método de referência (método da AOAC)[123,124], que foi também adaptado ao sistema de fluxo proposto. Tanto na determinação de cloreto em leite como em vinho, as análises foram realizadas sem nenhum tratamento prévio das amostras.

Tabela VI.5. *Resultados de titulação de Cl^- com Ag^+ em diferentes concentrações(mol L^{-1}).*

$[Ag^+]$	$[Cl^-]$ esperada	$[Cl^-]$ encontrada*(A)*	$[Cl^-]$ encontrada*(B)*
$1{,}00 \times 10^{-3}$	$2{,}00 \times 10^{-3}$	$1{,}97 \times 10^{-3}$	$2{,}20 \times 10^{-3}$
$1{,}00 \times 10^{-2}$	$1{,}00 \times 10^{-2}$	$1{,}06 \times 10^{-2}$	$1{,}13 \times 10^{-2}$
$5{,}00 \times 10^{-3}$	$1{,}00 \times 10^{-2}$	$1{,}03 \times 10^{-2}$	$9{,}55 \times 10^{-3}$

A = determinação em batelada, B = determinação em sistema MSFA.

De acordo com os resultados descritos na Tabela VI.6, pode ser observada uma boa concordância entre os resultados obtidos no sistema proposto em comparação com os obtidos no método de referência. Tanto para a determinação de cloreto em amostras de vinho como em amostras de leite, aplicando-se o teste-*t* pareado não foram observadas diferenças significativas a um nível de 95 % de confiança. Isto demonstra a viabilidade do processo de titulação proposto para automação do método de titulação manual. É importante destacar que para um critério de parada estimada em 1 % entre a penúltima e última estimativa, o processo de titulação propiciou uma frequência analítica de 8 determinações por hora em amostras de leite e de 10 para amostras de vinho. A diferença na frequência foi devido às caraterísticas dos dois tipos de matrizes, sendo que nas amostras de leite, ao misturar-se com solução de ácido nítrico, ocorria coagulação, dificultando a mistura entre a solução de amostra e titulante e, por

isso, era necessário um percurso analítico maior para uma melhor homogeneização entre as soluções.

Tabela VI.6. *Determinação de Cl^- mg L^{-1} em amostras de vinho usando solução de Ag^+ 1,0 x 10^{-2} mol L^{-1} e de leite usando solução de Ag^+ 8,56 x 10^{-2} mol L^{-1} As concentrações de Cl^- encontram-se expressas em mg L^{-1}.*

amostra de vinho	método de referência	Método Proposto	Desvio Absoluto	Desvio Relativo(%)
Baron de Lantier	10,51 ± 0,85	10,33 ± 0,80	- 0,18	- 1,79
Miolo	18,18 ± 0,70	19,39 ± 0,14	1,21	6,24
Country	37,87 ± 1,66	38,34 ± 1,25	0,46	1,20
Santa Helena	57,79 ± 0,09	60,44 ± 7,08	2,66	4,39
amostra de leite	método de referência	Método proposto		
Forty	999 ± 4,00	1001,19 ± 0,00	2,48	0,27
Marajoara	1121,38 ± 3,19	1125,28 ± 9,22	3,90	0,35
Paulista Integral	1106,84 ± 6,03	1125,28 ± 8,86	18,44	1,64
Paulista desnatado	1142,30 ± 3,05	1113,58 ±7,09	- 28,72	- 2,58

Médias ± estimativa do desvio padrão de três repetições. As titulações foram efetuadas pelo método da AOAC (método de referência) e em sistema em fluxo monossegmentado (método proposto), implementado no módulo de análise desenvolvido para automação de titulação potenciométrica manual.

VII. CONCLUSÕES

Ao término do desenvolvimento e construção dos módulos de análise propostos, bem como das respectivas aplicações, ficou comprovada a possibilidade de se obter um módulo de análise com estrutura viável à implementação de pelo menos, quatro diferentes sistemas em fluxo, com perspectivas de aplicações na automação de diferentes métodos de análise química. Essa viabilidade foi demonstrada tanto com relação à propulsão dos fluídos à vazão constante, em configuração usando bomba peristáltica, como à pressão constante, usando a ação gravitacional. A mudança de sistema era efetuada alterando-se apenas as variáveis de otimizações, adequando-as ao processo de amostragem referente a cada sistema, conforme a matriz e a espécie química a ser determinada.

Em termos de aplicações, os sistemas avaliados para as determinações das espécies químicas em diferentes métodos de análise químicas, as diferenças mais acentuadas foram observadas em relação à sensibilidade e à precisão das medidas. Nesses aspectos, conforme parâmetros de comparação resumidos na Tabela VII.1, a ordem predominante dos sistemas foi MSFA, FI-MBS, FIA-SWS e SIA. Por isso, em se tratando de analito em baixas concentrações o sistema MSFA foi mais eficiente do que os outros sistemas avaliados. Assim a determinação de ferro em baixas concentrações em amostras de água foi efetuada somente pelo sistema MSFA. Para as condições de trabalho otimizadas, o consumo de reagentes foi de 0,15 mg de o-fenantrolina, 0,45 mg de hidroxilamina e 1,25 mg acetato de sódio, obtendo-se uma frequência analítica de 60 determinações por hora e precisão de 1,1 % ($n = 9$).

Para a determinação de analito em altas concentrações, os sistemas em fluxo não segmentados são mais adequados, embora no sistema MSFA, uma diluição em linha possa ser efetuada para adequar o nível de concentração com a faixa de resposta do detector, sem que a configuração do módulo de análise seja modificada. Para outras características como exatidão, consumo de reagentes, e frequência analítica, não foram observadas diferenças entre os sistemas, com exceção do SIA, cuja a frequência de determinação foi ligeiramente inferior em relação aos demais sistemas.

Na determinação de níquel, o consumo de reagentes referente a cada medida foi de 4,0 mg de trietanolamina, 6,0 mg de persulfato de potássio e 0,6 mg DMG. Para determinação de sulfato o consumo do reagente cloreto de bário foi de 3,4 mg.

Quanto às variações de sensibilidade, propiciadas em função das caraterísticas próprias de cada processo de amostragem, são de fundamental importância para a determinação de espécies químicas, considerando-se as diversificações de matrizes, cinética das reações e, principalmente, a diversificação nas concentrações dos analitos.

Tabela VII.I. *Parâmetros de comparação entre os diferentes sistemas avaliados.*

Analitos	L.D.	d.p.r.	Frequência analítica	Sistemas
Ferro	0,10	0,48	60	MSFA
	0,12	0,75	-	FI-MBS
	0,19	0,65	-	FIA-SWS
	0,48	1,10	-	SIA
Níquel	1,0	0,71	40,0	MSFA
	2,5	1,60	40,0	FI-MBS
	2,8	1,81	40,0	FIA-SWS
	3,3	3,05	30,0	SIA
Sulfato	15,0	1,86	80,0	MSFA
	30,0	2,06	80,0	FI-MBS
	29,0	2,80	80,0	FIA-SWS
	33,0	3,59	65,0	SIA

L.D. = limite de detecção, d.p.r. = desvio padrão relativo.

Empregando detecção espectrofotométrica os resultados foram satisfatórios e a variação na precisão manteve-se nos limites aceitáveis, com os resultados obtidos no sistema SIA apresentando menor precisão. Para as aplicações efetuadas nos diferentes sistemas, a exatidão foi semelhante, uma vez que na comparação com método de referência, ao se aplicar o teste-*t* pareado não foram observadas diferenças significativas a um nível de confiança de 95 %. Também o consumo de reagentes foi o mesmo, pois os volumes das soluções foram mantidos constantes, independentemente do sistema utilizado. Destaca-se o baixo consumo de reagente, fator importante para análise de substâncias prejudiciais à saúde e também em situações em que a quantidade de reagente ou amostra encontram-se em pequenas quantidades.

O limite de detecção foi calculado como sendo a razão entre 3 desvios padrão do branco pela sensibilidade do método. A frequência de determinação foi avaliada somente para o sistema MSFA, uma vez que este teste foi efetuado durante a determinação do analito nas amostras, após ter sido definido que seria usado só o sistemas MSFA, devido as baixas concentrações do analito nas amostras, conforme já descrito acima.

Além das determinações espectrofotométricas, o acoplamento do detector potenciométrico ao módulo de análise desenvolvido também demonstrou ser viável para determinações químicas por titulação potenciométrica. Neste caso, os resultados obtidos para testes de otimizações das condições de trabalho demonstraram a viabilidade somente para o sistema MSFA. Entretanto, em função das características do processo de titulação proposto, não foi possível a implementação de sistemas não segmentados, sendo as maiores limitações observadas em função do processo de amostragem e de leitura requeridos pelos sistema FIA-MBS e FIA-SWS. Por esta razão os resultados referentes à titulação potenciométrica não foram incluídos na tabela acima, ou seja, devido as determinações terem sido efetuadas usando um único sistema.

Para titulação de solução padrão de cloreto simulando a solução de amostra com solução de prata, os resultados obtidos no sistema MSFA propiciaram uma boa exatidão. Essa tendência também foi observada em aplicações para a determinação de cloreto em amostras de leite e vinho, quando os resultados obtidos pelo sistema proposto foram comparados com os do método de referência (AOAC).

VIII. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

1 - L.T. Skeggs, Am. J.Clin. Pathol. 28 (1957) 311.

2 - G. Nagy, ZS. Fehér, E. Pungor, Anal Chim. Acta 52 (1970) 47.

3 - J. Ruzicka, E.G. Hansen, Anal. Chim. Acta 78 (1975) 145.

4 - W. Van der Linder, Pure Appl. Chem. 66 (1994) 2493.

5 - C. Pasquini, W.A. Oliveira, Anal. Chem.57 (1985), 2575.

6 - B.F. Reis, M.F. Giné, E.A.G. Zagatto, J.L.F.C. Lima, R.A. Lapa, Anal.Chim. Acta 293 (1994) 129.

7 - J. Alonso, J. Bartroli, M. Del Valle, M. Escalada, R. Barber, Anal. Chim. Acta 199 (1987) 191.

8 - J. Ruzicka, G.D. Marshal, Anal. Chim. Acta 237 (1990) 329.

9 - L.T. Skeggs, Anal. Chem. 38 (1966) 31.

10 - L.R. Snyder, Anal. Chim. Acta 114 (1980) 3.

11 - D.H. Spackman, W.H. Stein, S. Moore, Anal Chem. 30 (1958) 1190.

12 - E. Pungor, Z. Fehér, G. Nagy, Anal. Chim. Acta 51 (1970) 417.

13 - J.J.T. Gerding, H.J.M. Kempen, G.J.M. Lamers, M.H.J. Gerding, J. Chomatog. 66 (1972) 145.

14 - K.K. Stewart, G.H. Beecher, P.E. Hare, Aed. Proc. Fed. Am. Soc. Biochem. 33 (1974) 1429.

15 - K.K. Stewart, G.H. Beecher, P.E. Hare, Anal. Biochem. 20 (1976) 167.

16 - H.A. Motolla, Kinetic Aspects in Analytical Chemistry. N. York, Interscience (1988) 285p.

17 - M.F. Giné, H. F° Bergamin, E.A.G. Zagatto, B.F. Reis, Anal. Chim. Acta 114 (1980) 191.

18 - E.A.G. Zagatto, A.O. Jacintho, L.C.R. Pessenda, F.J. Krug, B.F. Reis, H. F° Bergamin, Anal. Chim. Acta 125 (1981) 37.

19 - A. Rios, M.D. Luque de Castro, M. Valcárcel, Anal. Chim. Acta 179 (1986) 463.

20 - J.W.B. Stwart, J. Ruzicka, Anal. Chim. Acta 82 (1976) 137.

21 - J.H. Dahl, D. Espersen, A. Jensen, Anal. Chim.Acta 105 (1979) 327.

22 - I. Lukkari, W. Lindberg, Anal. Chim. Acta 211 (1988) 1.

23 - J.A. Vieira, I.M. Raimundo Jr., B.F. Reis, E.A.G. Zagatto, J.L.F.C. Lima, Anal. Chim. Acta 366 (1998) 257.

24 - J. Alonso-Chamarro, J. Bartrolí, R. Barber, Anal. Chim. Acta 261 (1992) 219.

25 - J. Alonso, J. Bartrolí, M. Del Valle, R. Barber, Anal. Chim. Acta 219 (1989) 345.

26 - S.S. Hassan, S.A.M. Marzouk, Eletroanal 5 (1993) 855.

27 - S.S.M. Hassan, E.M. Elnemma, M.A. Hamada, Eletroanal 7 (1995) 656.

28 - J.A.Vieira, B.F. Reis, E.A.M. Kronka, A.P.S. Paim, M.F. Giné, Anal. Chim. Acta 366 (1998) 251.

29 - M. Korn, F.B.P.L. Goveia, E. Oliveira, F.B. Reis, Anal. Chim. Acta 313 (1995) 177.

30 - C.C. Oliveira, R.P. Sartini, B.F. Reis, E.A.G. Zagatto, Anal. Chim. Acta 332 (1996) 173.

31 - A.L.D. Comitri, B.F. Reis, Laboratory Robotic and Automation, 12 (2000) 31.

32 - C.M.N.V. Almeida, M.C.U. Araújo, R.A.S. Lapa, J.L.F.C. Lima, B.F. Reis, E.A.G. Zagatto, Analyst 125 (2000) 333.

33 - V.O. Brito, I.M. Raimundo Jr, Anal. Chim. Acta 371 (1998) 317.

34 - M. Smiderle, B.F. Reis, F.R.P. Rocha, Anal. Chim. Acta 386 (1999) 129.

35 - G.B. Martin, H.K. Cho, M.E. Meyerhoff, Anal. Chem. 56 (1984) 2612.

36 - I.M. Raimundo Jr, Construção de um espectrofotômetro multicanal e de um analisador automático de fluxo monossegmentado. Campinas 1995. 58p. Tese (Doutorado)- Universidade Estadual de Campinas.

37 - I. Facchin, J.W. Martins, P.G.P. Zamora, C. Pasquini, Anal. Chim. Acta 285 (1994) 287.

38 - I. Facchin, C. Pasquini, Anal. Chim. Acta 308 (1995) 231.

39 - M.S. Sultan, F.E.O. Suliman, Analyst 121 (1996) 617.

40 - B.F. Reis, M.A.Z. Arruda, E.A.G. Zagatto, J.R. Ferreira Anal. Chim. Acta 206 (1988) 253].

41 - A.R.A. Nogueira, S.M.B. Brienza, E.A.G. Zagatto, J.L.C.F. Lima, A.N. Araújo, Analytica Chim. Acta 276 (1993) 121.

42 - J. Andrade, M. Ferreira, N. Baccan, O.C. Bataglia, Analyst 113 (1988) 289.

43 - L.C. Faria, C. Pasquini, J. Autom. Chem. 14 (1992) 97.

44 - J.C. Andrade, R.E. Bruns, S.P. Eiras, Analyst 118 (1993) 213.

45 - I.M. Raimundo Jr, C. Pasquini, Analyst 122 (1997) 1039.

46 - C.E.C. Magalhães, C. Pasquini, M.A.Z. Arruda, Lab. Robotics and Autom. 12 (2000) 46.

47 - A.N. Araújo, J.A. Catita, J.L.F.C. Lima, E.A.G. Zagatto, Frezenius J. Anal. Chem. 360 (1998) 100.

48 - E.M. Ganzarolli, A. Lehmkuhl, R.R.R. Queirós, I.G. Sousa, Quim. Nova 22 (1999) 53.

49 - A.L.R. Nobre, L.H. Mazo, Quím. Nova 20 (1997) 412.

50 - P.B. Martelli, B.F. Reis, M. Korn, J.L.F.C. Lima, Anal. Chim. Acta 387 (1999) 165.

51 - M.D.H. da Silva, J.J.R. Rohwedder, C. Pasquini, Anal. Chim. Acta 366 (1998) 223.

52 - M.D.H. da Silva, C. Pasquini, Anal. Chim. Acta 349 (1997) 377.

53 - I. Facchin, J.J.R. Rohwedder, C. Pasquini, J. Autom. Chem. 19 (1997) 33.

54 - I. Facchin, C. Pasquini, Química Nova 21 (1998) 60.

55 - M. Gusman, B.J. Comptom, Talanta 40 (1993) 1943.

56 - I. Lukkari, J. Ruzicka, G.D. Christian, Fresenius J. Anal. Chem. 346 (1993) 813.

57 - J.F. Van Standen, Taljaard, R. E., Anal. Chim. Acta 323 (1996) 75.

58 - J.C. Masini, P.J. Baxter, K.R. Detwiler, G.D. Chistian, Analyst 120 (1995) 1583.

59 - F.V. Silva, G.B. Souza, L.F.M. Ferraz, A.R.A. Nogueira, Food Chemistry 67 (1999) 317.

60 - X. Liu, E.H. Hansen, Anal. Chim. 326 (1996) 1.

61 - D.J. Tucker, B. Toivola, C.H. Polema, J. Ruzicka, G.D. Christian, Analyst 119 (1994) 975.

62 - R.W. Min, J. Nielsen, J. Villadsen, Anal. Chim. Acta 320 (1996) 199.

63 - A.R. Crespí, R. Forteza, V. Cerdá, Laboratory Robotics Automation 7 (1996) 245.

64 - G.D. Christian, Analyst 119 (1994) 2309.

65 - H. Pollema Cy, J. Ruzicka, Anal. Chem. 66 (1994) 1825.

66 - J. Ruzicka, E.H. Hansen, Flow Injection Analysis, New Iorque, John Wiley (1981) 207p.

67 - Ruzicka, J.W.B. Stewart, E.A.G. Zagatto, Chim. Acta 81 (1976) 387.

68 - E.A.G. Zagatto, O. Bahia F°, M.F. Giné, H. Bergamin Fo, Anal. Chim. Acta 181 (1986) 265.

69 - J. Ruzicka, E.H. Hansen, Anal. Chim. Acta 136 (1982) 101.

70 - K.K. Stewart, A.G. Rosenfeld, Anal. Chem. 54 (1982) 2368.

71 - D.A. Whitman, G.D. Christian, Talanta 36 (1989) 205.

72 - B.F. Reis, M.F. Giné, E.A.M. Kronka, Quim. Nova 12 (1989) 82.

73 - H. Bergamin F°, E.A.G. Zagatto, F. Krug, B.F. Reis, Anal. Chim. 101 (1978) 17.

74 - F.J. Krug, B.F. Reis, M.F. Giné, E.A.G. Zagatto, J.R. Ferreira, A.O. Jacintho, Anal. Chim. Acta 151 (1983) 39.

75 - C.A. Tumang, G.C. de Luca, R.N. Fernandes, B.F. Reis, F.J. Krug, Anal Chim. Acta 374 (1998) 53.

76 - H. Bergamin F°, J.X. Medeiros, B.F. Reis, E.A.G. Zagatto, Anal. Chim. Acta 101 (1978) 9.

77 - F. Malamas, M. Bergtsson, G. Johanson, Anal. Chim. Acta 160 (1984) 1.

78 - M.M.F. Santos, B.F. Reis, H. Bergamin F°, N. Baccan, Anal. Chim. Acta 261 (1992) 339

79 - J. Ruzicka, E.H. Hansen, E.A. Mosback, F.J. Krug, Anal. Chem. 49 (1977) 1958.

80 - B.F. Reis, H. F°. Bergamin, Quím. Nova 16 (1993) 570.

81 - D.J. Malcome-Lawes, C. Pasquini, J. Autom. Chem. 10 (1988) 25.

82 - L. Yan, J.R.D. Ingle, Anal. Chem. 61 (1989) 520.

83 - J.D. Lee, Química Inorgânica, 3ª edição, Ed. Edgard Blucher Ltda, pg 348 - 352 (1980).

84 - J. Mortatti, F.J. Krug, L.C.R. Pessenda, E.A.G. Zagatto, S.S. Jorgensen, Analyst 107 (1982) 659.

85 - T.P. Lynch, N.J. Kernoghan, J.N. Wilson, Analyst 109 (1984) 843.

86 - Z. Marzczenko, Separation and spectrophotometric determination of elements. John Wiley & Sons. England. (1986) 510p.

87 - J.D. Lee, Química Inorgânica, 3ª edição, Ed. Edgard Blucher Ltda, pg 365 - 374 (1980).

88 - Vogel, A.I., Química Analítica Qualitativa 5ª edição, Ed. Mestre Juo - SP, pg 292 - 295 (1981).

89 - Wismer R.K., Qualitative analysis with ionic equilibrium. Millerslle University Millerslle, PA, 198p (1991)

90 - R.K. Wismer, - Qualitative Analysis with Ionic Equlibrium. Macmillan New York (1991) 198p.

91 - W. Fu-Sheng, Q. Pei-Hua, S. Nai-Kui, Y. Fang, Talanta 28 (1992) 189.

92 - A. Fernandez, M.D.L. Castro, M. Valcarcel, Anal. Chim. Acta 193 (1987) 107.

93 - P.B. Martelli, B.F. Reis, E.A.M. Kronka, H. Bergamin F°, M. Korn, E.A.G. Zagatto, J.L.F.C. Lima, A.N. Araújo, Anal. Chim. Acta 308 (1995) 397.

94 - A. Leprevost, Química analítica dos Minerais. Livros técnicos e científicos Ed. S.A. (1975) 185p.

95 - D.L. Miles, J.M. Cook, Anal. Chim. Acta 141 (1982) 207.

96 - R. Lea, C.G. Wells, Commun. in Soil Science and Plant Analysis 11 (1980) 507.

97 - P.V. Wells, Chem. Rev. 3 (1927) 331.

98 - B.M.E. Gales, J.W.H. Kaylor, Longbottom, J. E., Analist 93 (1968) 97.

99 - D.W. Basson, G.R. Bohmer, Analyst 97 (1972) 266.

100 - F.J. Krug, H. F°. Bergamin, E.A.G. Zagatto, S. Storgaard, S.S. Jorgensen, Anal. Chem. 102 (1977) 503.

101 - J.F. Van Standen, R.E. Taljaard, Anal. Chem. Acta 331 (1996) 271.

102 - S.M.B. Brienza, R.P. Sartine, J.A. Gomes Neto, E.A.G. Zagatto, Anal. Chim. Acta 308 (1995) 269.

103 - D.L. Heanes, Anal. Lett. 23 (1990) 543.

104 - C.M. Johnson, H. Nishita, Anal. Chem. 24 (1952) 736.

105 - J.C. Andrade, M. Ferreira, N. Baccan, Quím. Nova 9 (1986) 123.

106 - B.F. Reis, M.F. Giné, C.A. Tumang, Quím. Nova 19 (1996) 116.

107 - F.J. Krug, E.A.G. Zagatto, B.F. Reis, O.F. Bahia, A.O. Jacintho, Anal. Chim. Acta, 145 (1983) 179.

108 - E.A.M. Kronka, B.F. Reis, M. Korn, H. Bergamin F°, Anal. Chim. Acta 334 (1996) 287.

109 - F.R.P. Rocha, B.F. Reis, Anal. Chim. Acta 409 (2000) 227.

110 - H.Z. Ziegel, Anal Chem. 53 (1914) 755.

111 - K.E. Hallikainen, D.J. Pompeo, Instruments 25 (1952) 335.

112 - J. Ruzicka, E.H. Hansen, H. Mosbaek, Anal. Chim. Acta 92 (1977) 235.

113 - M. Trojanowicz, W. Matszewski, A. Hulanicki, Anal. Chim. Acta 136 (1982) 85.

114 - I.M.P.V.O. Ferreira, J.L.F.C. Lima, A.O.S.S. Rangel, Food Chemistry 50 (1994) 423.

115 - R. Pérez-Olmos, R. Herrero, J.L.F.C. Lima, M.C.B.S.M. Montenegro, Food Chemistry 59 (1997) 305.

116 - M. Castelo, R. Millán, E. Sanjuán, S. Stupinán, J. Mangas, Alimentaria 271 (1996) 87.

117 - R. Pérez-Olmos, A. Ríos, R. Herreiro, M.P. Ruiz, J.M. Alfaro, J.L.F.C. Lima, M.C.B.S.M. Montenegro, Alimentaria 271 (1996) 61.

118 - J.F. Van Staden, Anal. Letters 19 (1986) 1407.

119 - M. Trojanowicz, T.K.V. Krawczyk, W. Augustyniak, Anal. Chim. Acta 207 (1988) 325.

120 - S. Alegret, A. Florido, J.L.F.C. Lima, A.A.S.C. Machado, Talanta 36 (1989) 825.

121 - I.M.P.V.O. Ferreira, J.L.F.C. Lima, Analyst 119 (1994) 209

122 - J.L.F.C. Lima, A.A.S.C. Machado, Ver. Port. Quim. 21 (1979) 15.

123 - JAOAC 49 (1966) 498.

124 - JAOAC 69 (1986) 777.