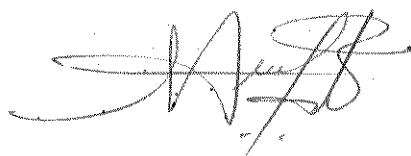


INSTITUTO DE QUIMICA

Este exemplar corresponde a redação final da
Tese defendida por SOLANGE CADORE e
Aprovado pela Comissão Julgadora.

28/04/86



"ESTUDO DA DETERMINAÇÃO ESPECTROFOTO-
METRICA DE ZINCO E COBRE COM ZINCON
EM SISTEMAS DE ANALISE POR INJEÇÃO
EM FLUXO"

SOLANGE CADORE

TESE DE MESTRADO

Orientador: Prof. Dr. Nivaldo Baccan

CAMPINAS

1986

UNICAMP
BIBLIOTECA CENTRAL

A meus pais e minha irmã,
pelo carinho, apoio e compreensão
durante todo este tempo.
Apesar da distância, estiveram
sempre ao meu lado.

Ao Osvaldo, pela compreensão,
sugestões e estímulo, sempre.
Sua presença fez com que muitos
obstáculos fossem vencidos mais
facilmente.

AGRADECIMENTOS

- A Direção do Instituto de Química da UNICAMP, pelas facilidades concedidas na realização deste trabalho.
- Ao Conselho Nacional de Desenvolvimento Científico e Tecnológico (CNPq) e à Coordenação de Aperfeiçoamento de Pessoal de Nível Superior, (CAPES), pelas bolsas de Mestrado concedidas.
- A Dorly e Helena, pela amizade.
- Ao Prof. Dr. Otto Alcides Ohlweiler, pela amizade e estímulo para a realização deste trabalho.
- Ao Prof. Dr. João Carlos de Andrade, e ao Prof. Cêlio Pasquini pelo estímulo, sugestões e críticas.
- A Bell, pela amizade, sugestões e ajuda na revisão deste trabalho.
- Aos funcionários do Instituto de Química que de alguma forma colaboraram, especialmente Diva e Paulo.
- Ao Chagas, à Cris e aos demais colegas que, com sua ajuda e estímulo, tornaram este trabalho mais fácil.
- A Zenaide e Márcia pela colaboração na montagem final do trabalho.
- Em particular, ao Prof. Dr. Nivaldo Baccan, por sua orientação, estímulo e discussões durante o desenvolvimento deste trabalho.

INDICE

RESUMO	xvii
ABSTRACT.....	xix
CAPITULO I	
INTRODUÇÃO	1
OBJETIVOS DO TRABALHO	2
CAPITULO II	
REVISÃO BIBLIOGRAFICA	3
II.1. ANÁLISE POR INJEÇÃO EM FLUXO	3
II.1.1. Desenvolvimento dos métodos automáticos e semiautomáticos de análise	3
II.1.2. Características da técnica de análise por injeção em fluxo	6
II.1.3. Principais sistemas de análise por injeção em fluxo	11
II.2. OS ELEMENTOS COBRE E ZINCO	13
II.3. A IMPORTANCIA DO ESTUDO DE COBRE E ZINCO	15
II.4. A DETERMINAÇÃO DE COBRE E ZINCO	18
II.4.1. O reagente Zincon	19
CAPITULO III	
PARTE EXPERIMENTAL	25
III.1. MATERIAL	25
III.2. SOLUÇÕES	27
III.3. AMOSTRAS	28
III.4. SEPARAÇÃO DOS IONS INTERFERENTES	28
III.5. CONFIGURAÇÕES UTILIZADAS	30
III.5.1. Determinação de zinco e determinação de cobre	30
III.5.2. Determinação seqüencial de zinco e cobre ..	35
III.6. ESTUDO DAS PRINCIPAIS VARIÁVEIS	36
CAPITULO IV	
RESULTADOS E DISCUSSÃO	37
IV.1. DETERMINAÇÃO ESPECTROFOTOMETRICA DE ZINCO COM ZINCON	37
IV.1.1. Determinação de zinco utilizando sistema reverso de análise por injeção em fluxo	37
IV.1.2. Determinação de zinco utilizando sistema com zonas coalescentes	46
IV.1.3. Determinação de zinco utilizando sistema em confluência	52

IV.1.4. Determinação de zinco utilizando sistema reverso em confluência	57
IV.2. DETERMINAÇÃO ESPECTROFOTOMETRICA DE COBRE COM ZINCON	63
IV.2.1. Determinação de cobre utilizando sistema reverso de análise por injeção em fluxo	63
IV.2.2. Determinação de cobre utilizando sistema com zonas coalescentes	74
IV.2.3. Determinação de cobre utilizando sistema em confluência	79
IV.2.4. Determinação de cobre utilizando sistema reverso em confluência	84
IV.3. ESTUDO DA DISPERSÃO PARA OS SISTEMAS ZINCO-ZINCON E COBRE-ZINCON	89
IV.4. ESTUDO DE INTERFERENTES	97
IV.4.1. Estudo de interferentes para o complexo zinco-zincon	98
IV.4.2. Estudo de interferentes para o complexo cobre-zincon	107
IV.5. DETERMINAÇÃO SEQUÊNCIAL DE ZINCO E COBRE COM ZINCON	116
CAPITULO V	
CONCLUSOES	127
APENDICE	129
REFERENCIAS BIBLIOGRAFICAS	131

ÍNDICE DE FIGURAS

Figura II.1	- Sistema simples de Análise por injeção em fluxo	7
Figura II.2	- Sinal típico obtido em AIF numa determinação espectrofotométrica	8
Figura II.3	- Gradientes de concentração da amostra injetada no fluxo de carregador	9
Figura II.4	- Dispersão D	10
Figura II.5	- Principais sistemas de AIF	11
Figura III.1	- Injetor tipo proporcional modificado utilizado para injeção de amostras e/ou do reagente zincon	26
Figura III.2	- Sistema reverso de Análise por Injeção em Fluxo utilizado para determinação de zinco e de cobre com zincon	31
Figura III.3	- Sistema com zonas coalescentes de Análise por Injeção em Fluxo utilizado para determinação de zinco e de cobre com o reagente zincon ..	32
Figura III.4	- Sistema em confluência de Análise por Injeção em Fluxo utilizado para determinação de zinco e de cobre com zincon	33
Figura III.5	- Sistema reverso em confluência de Análise por Injeção em Fluxo utilizado para determinação de zinco e de cobre com o reagente zincon	34
Figura III.6	- Sistema reverso de Análise por Injeção em Fluxo utilizado para a determinação sequencial de zinco e cobre com zincon	35
Figura IV.1	- Estudo do melhor comprimento da bobina de mistura para o sistema reverso de AIF	39
Figura IV.2	- Estudo da melhor concentração do reagente zincon na determinação de zinco. Sistema r-AIF	39
Figura IV.3	- Estudo da consistência do pH e do comprimento da bobina de reação com os parâmetros investigados. Sistema reverso de AIF	41
Figura IV.4	- Curva de calibração de zinco nas melhores	

	condições determinadas experimentalmente para o sistema reverso de AIF	44
Figura IV.5	- Sinais típicos para o sistema reverso de AIF, obtidos diretamente do registrador	44
Figura IV.6	- Efeito de diferentes soluções-tampão na formação do complexo zinco-zincon utilizando sistema reverso de Análise por Injeção em Fluxo	45
Figura IV.7	- Estudo da concentração do reagente zincon para a determinação de zinco. Sistema com zonas coalescentes	47
Figura IV.8	- Efeito do pH na determinação de zinco utilizando sistema com zonas coalescentes	48
Figura IV.9	- Efeito da variação da distância x e da bobina de reação para o sistema com zonas coalescentes na determinação de zinco	48
Figura IV.10	- Curva de calibração para zinco utilizando sistema com zonas coalescentes nas condições determinadas experimentalmente	51
Figura IV.11	- Sinais típicos de AIF para configuração com zonas coalescentes	51
Figura IV.12	- Efeito do comprimento da bobina de mistura para o sistema em confluência. Determinação de zinco	52
Figura IV.13	- Efeito da concentração do reagente zincon para a determinação de zinco utilizando o sistema em confluência	54
Figura IV.14	- Efeito do comprimento da bobina de reação e do pH da solução-tampão na determinação de zinco utilizando sistema em confluência	54
Figura IV.15	- Curva de calibração para a determinação de zinco utilizando sistema em confluência, nas condições determinadas experimentalmente	56
Figura IV.16	- Sinais típicos para sistema em confluência obtidos diretamente do registrador	56
Figura IV.17	- Efeito da concentração de zincon, no sistema reverso em confluência, para a determinação de zinco	58

Figura IV.18 - Efeito do comprimento da bobina de mistura na determinação de zinco utilizando sistema reverso em confluência	59
Figura IV.19 - Efeito do pH e do comprimento da BR para o sistema reverso em confluência. Determinação de zinco	60
Figura IV.20 - Efeito da bobina de reação para o sistema reverso em confluência no intervalo de pH 8,6 a 9,0	60
Figura IV.21 - Curva de calibração para determinação de zinco com zincon utilizando sistema reverso em confluência nas condições determinadas experimentalmente	62
Figura IV.22 - Sinais típicos de AIF para o sistema reverso em confluência	62
Figura IV.23 - Efeito do pH e da bobina de reação na determinação de cobre com zincon utilizando sistema reverso de AIF	64
Figura IV.24 - Efeito do comprimento da bobina de mistura no sistema reverso - AIF para a determinação de cobre, usando tampão $\text{HClO}_4 / \text{NH}_4\text{OH}$	66
Figura IV.25 - Efeito da concentração do reagente na determinação de cobre. Sistema reverso de AIF....	66
Figura IV.26 - Variação da absorbância com o pH e o comprimento da bobina de reação frente às demais variáveis estabelecidas experimentalmente para determinar cobre	67
Figura IV.27 - Curva de calibração para a determinação de cobre utilizando o sistema reverso de AIF com solução-tampão $\text{HClO}_4 / \text{NH}_4\text{OH}$	69
Figura IV.28 - Efeito do comprimento da bobina de reação para a determinação de cobre utilizando sistema reverso de AIF	70
Figura IV.29 - Estudo do melhor comprimento da bobina de mistura para o sistema reverso de AIF. Determinação de cobre	70
Figura IV.30 - Variação da absorbância com diferentes concentrações do reagente zincon para o sistema reverso de AIF	72

Figura IV.31 - Curva de calibração para a determinação de cobre utilizando sistema reverso de AIF nas condições determinadas experimentalmente	73
Figura IV.32 - Sinais típicos para a determinação do cobre utilizando sistema reverso de AIF	73
Figura IV.33 - Efeito do pH na determinação de cobre utilizando sistema com zonas coalescentes	74
Figura IV.34 - Efeito da concentração de zincon na determinação de cobre. Sistema com zonas coalescentes	75
Figura IV.35 - Variação da absorbância com o comprimento de x e da bobina de reação para o sistema com zonas coalescentes na determinação de cobre .	77
Figura IV.36 - Curva de calibração para a determinação de cobre com zincon utilizando sistema com zonas coalescentes	78
Figura IV.37 - Sinais típicos obtidos para cobre utilizando sistema com zonas coalescentes	78
Figura IV.38 - Estudo do comprimento da bobina de mistura na determinação de cobre utilizando sistema em confluência	79
Figura IV.39 - Efeito da concentração de zincon para a determinação de cobre no sistema em confluência	80
Figura IV.40 - Efeito do pH e da bobina de reação na determinação de cobre. Sistema em confluência	81
Figura IV.41 - Curva de calibração de cobre para o sistema em confluência nas condições determinadas experimentalmente	83
Figura IV.42 - Sinais típicos para construção de curva de calibração usando sistema em confluência	83
Figura IV.43 - Estudo do comprimento da bobina de mistura para o complexo cobre-zincon. Sistema reverso em confluência	84
Figura IV.44 - Efeito da concentração de zincon no sistema reverso em confluência	86
Figura IV.45 - Efeito da bobina de reação para a determinação de cobre utilizando sistema reverso em confluência	86

Figura IV.46 - Curva de calibração para cobre utilizando sistema reverso em confluência nas condições determinadas experimentalmente	88
Figura IV.47 - Sinais típicos para determinação de cobre utilizando sistema reverso em confluência ...	88
Figura IV.48 - Sinais obtidos diretamente do registrador utilizando sistema reverso de AIF, para zinco e cobre, descrito na figura III.2 pág.31	91
Figura IV.49 - Sinais de AIF obtidos utilizando sistema com zonas coalescentes para zinco e cobre, descrito na Figura III.3 pág.32	92
Figura IV.50 - Sinais de AIF obtidos para zinco e cobre utilizando sistema em confluência descrito na Figura III.4 pág.33	93
Figura IV.51 - Sinais de AIF para zinco e cobre, obtidos utilizando o sistema reverso em confluência descrito na Figura III.5 pág.34	94
Figura IV.52 - Efeito da injeção do zincon e do complexo de zinco no fluxo carregador, para o sistema reverso de AIF	96
Figura IV.53 - Diagrama de fluxo utilizado para verificar a instabilidade do complexo zinco-zincon em presença de ETDA	116
Figura IV.54 - Instabilidade do complexo zinco-zincon em presença de ETDA	117
Figura IV.55 - Sistema de Análise por Injeção em Fluxo utilizado para determinação seqüencial de zinco e cobre com zincon	118
Figura IV.56 - Estudo do melhor comprimento da bobina de mistura, BM'	120
Figura IV.57 - Estudo da concentração de ETDA mais adequada	120
Figura IV.58 - Sinais de fluxo obtidos diretamente do registrador para a determinação seqüencial de zinco e cobre com zincon	122
Figura IV.59 - Curvas de calibração obtidas utilizando o sistema seqüencial de AIF	123
Figura IV.60 - Sinais típicos referentes às curvas de calibração de zinco e cobre, utilizando sistema seqüencial	124

Figura IV.61 - Influência da concentração de cobre na de- terminação de zinco	126
Figura IV.62 - Influência da concentração de zinco na de- terminação de cobre	126

INDICE DE TABELAS

Tabela III.1	- Volume necessário para eluição completa de zinco	29
Tabela IV.1	- Estudo da quantidade adequada de NaOH para preparar a solução do reagente	40
Tabela IV.2	- Estudo do melhor volume de injeção do reagente na determinação de zinco com o sistema reverso de AIF	40
Tabela IV.3	- Estudo da variação da vazão. Sistema reverso de AIF	42
Tabela IV.4	- Efeito do volume de injeção na determinação de zinco utilizando sistema com zonas coalescentes	47
Tabela IV.5	- Estudo da vazão nas condições determinadas para o sistema com zonas coalescentes. Determinação de zinco	49
Tabela IV.6	- Estudo do volume de amostra injetada para determinação de zinco utilizando sistema em confluência	53
Tabela IV.7	- Efeito da variação da vazão para o sistema em confluência	55
Tabela IV.8	- Efeito do volume de reagente para a determinação de zinco utilizando sistema reverso em confluência	57
Tabela IV.9	- Efeito da variação da vazão para o sistema reverso em confluência nas condições determinadas experimentalmente	61
Tabela IV.10	- Variação da absorbância com o volume de reagente. Determinação de cobre com o sistema reverso de AIF e tampão $\text{HClO}_4/\text{NH}_4\text{OH}$	65
Tabela IV.11	- Estudo da vazão para o sistema reverso de AIF na determinação de cobre	68
Tabela IV.12	- Efeito do volume de reagente injetado na determinação de cobre utilizando sistema reverso de AIF	71
Tabela IV.13	- Estudo da melhor vazão para o sistema cobre-zinco	72

Tabela IV.14 - Efeito do volume de amostra e reagente injetados no sistema com zonas coalescentes. Determinação de cobre	75
Tabela IV.15 - Efeito da mudança da vazão na determinação de cobre usando o sistema com zonas coalescentes	77
Tabela IV.16 - Variação da absorbância com o volume de solução de cobre injetada no sistema em confluência	80
Tabela IV.17 - Estudo da vazão na determinação de cobre utilizando sistema em confluência	82
Tabela IV.18 - Efeito do volume de reagente na determinação de cobre utilizando sistema reverso em confluência	85
Tabela IV.19 - Efeito da vazão no sistema reverso em confluência para o complexo cobre-zincon	87
Tabela IV.20 - Valores de dispersão para os complexos zinco-zincon e cobre-zincon, utilizando os sistemas estudados	90
Tabela IV.21 - Valores de dispersão para diferentes sistemas químicos utilizando o sistema reverso de AIF	95
Tabela IV.22 - Alguns complexos metal-zincon	97
Tabela IV.23 - Interferência do íon $Al(III)$ na formação do complexo zinco-zincon para os sistemas reverso, com zonas coalescentes, reverso em confluência e em confluência	99
Tabela IV.24 - Interferência do íon $Bi(III)$ na formação do complexo zinco-zincon para os sistemas reverso, com zonas coalescentes, reverso em confluência e em confluência	99
Tabela IV.25 - Interferência do íon $Cd(II)$ na formação do complexo zinco-zincon para os sistemas reverso, com zonas coalescentes, reverso em confluência e em confluência	100
Tabela IV.26 - Interferência do íon Cl^- na formação do complexo zinco-zincon para os sistemas reverso, com zonas coalescentes, reverso em confluência e em confluência	100
Tabela IV.27 - Interferência do íon $Co(II)$ na formação do complexo zinco-zincon para os sistemas reverso, com zonas coalescentes, reverso em confluência e em confluência	101

Tabela IV.28 - Interferência do íon Cr(III) na formação do complexo zinco-zinco para os sistemas reverso, com zonas coalescentes, reverso em confluência e em confluência	101
Tabela IV.29 - Interferência do íon Cu(II) na formação do complexo zinco-zinco para os sistemas reverso, com zonas coalescentes, reverso em confluência e em confluência	102
Tabela IV.30 - Interferência do íon Fe(III) na formação do complexo zinco-zinco para os sistemas reverso, com zonas coalescentes, reverso em confluência e em confluência	102
Tabela IV.31 - Interferência do íon Hg(II) na formação do complexo zinco-zinco para os sistemas reverso, com zonas coalescentes, reverso em confluência e em confluência	103
Tabela IV.32 - Interferência do íon Mn(II) na formação do complexo zinco-zinco para os sistemas reverso, com zonas coalescentes, reverso em confluência e em confluência	103
Tabela IV.33 - Interferência do íon Mo(V) na formação do complexo zinco-zinco para os sistemas reverso, com zonas coalescentes, reverso em confluência e em confluência	104
Tabela IV.34 - Interferência do íon Ni(II) na formação do complexo zinco-zinco para os sistemas reverso, com zonas coalescentes, reverso em confluência e em confluência	104
Tabela IV.35 - Interferência do íon NO_3^- na formação do complexo zinco-zinco para os sistemas reverso, com zonas coalescentes, reverso em confluência e em confluência	105
Tabela IV.36 - Interferência do íon SO_4^{2-} na formação do complexo zinco-zinco para os sistemas reverso, com zonas coalescentes, reverso em confluência e em confluência	105
Tabela IV.37 - Interferência do íon Ti(IV) na formação do complexo zinco-zinco para os sistemas reverso, com zonas coalescentes, reverso em confluência e em confluência	106
Tabela IV.38 - Interferência do íon V(V) na formação do complexo zinco-zinco para os sistemas reverso, com zonas coalescentes, reverso em confluência e em confluência	106

Tabela IV.39 - Interferência do íon $Al(III)$ na formação do complexo cobre-zinco para os sistemas reverso, com zonas coalescentes, reverso em confluência e em confluência	108
Tabela IV.40 - Interferência do íon $Bi(III)$ na formação do complexo cobre-zinco para os sistemas reverso, com zonas coalescentes, reverso em confluência e em confluência	108
Tabela IV.41 - Interferência do íon $Cd(II)$ na formação do complexo cobre-zinco para os sistemas reverso, com zonas coalescentes, reverso em confluência e em confluência	109
Tabela IV.42 - Interferência do íon Cl^- na formação do complexo cobre-zinco para os sistemas reverso, com zonas coalescentes, reverso em confluência e em confluência	109
Tabela IV.43 - Interferência do íon $Co(II)$ na formação do complexo cobre-zinco para os sistemas reverso, com zonas coalescentes, reverso em confluência e em confluência	110
Tabela IV.44 - Interferência do íon $Cr(II)$ na formação do complexo cobre-zinco para os sistemas reverso, com zonas coalescentes, reverso em confluência e em confluência	110
Tabela IV.45 - Interferência do íon $Fe(III)$ na formação do complexo cobre-zinco para os sistemas reverso, com zonas coalescentes, reverso em confluência e em confluência	111
Tabela IV.46 - Interferência do íon $Hg(II)$ na formação do complexo cobre-zinco para os sistemas reverso, com zonas coalescentes, reverso em confluência e em confluência	111
Tabela IV.47 - Interferência do íon $Mn(II)$ na formação do complexo cobre-zinco para os sistemas reverso, com zonas coalescentes, reverso em confluência e em confluência	112
Tabela IV.48 - Interferência do íon $Mo(IV)$ na formação do complexo cobre-zinco para os sistemas reverso, com zonas coalescentes, reverso em confluência e em confluência	112
Tabela IV.49 - Interferência do íon $Ni(II)$ na formação do complexo cobre-zinco para os sistemas reverso, com zonas coalescentes, reverso em confluência e em confluência	113

Tabela IV.50 - Interferência do íon NO_3^- na formação do complexo cobre-zinco para os sistemas reverso, com zonas coalescentes, reverso em confluência e em confluência	113
Tabela IV.51 - Interferência do íon SO_4^{2-} na formação do complexo cobre-zinco para os sistemas reverso, com zonas coalescentes, reverso em confluência e em confluência	114
Tabela IV.52 - Interferência do íon Ti(IV) na formação do complexo cobre-zinco para os sistemas reverso, com zonas coalescentes, reverso em confluência e em confluência	114
Tabela IV.53 - Interferência do íon V(V) na formação do complexo cobre-zinco para os sistemas reverso, com zonas coalescentes, reverso em confluência e em confluência	115
Tabela IV.54 - Interferência do íon Zn(II) na formação do complexo cobre-zinco para os sistemas reverso, com zonas coalescentes, reverso em confluência e em confluência	115

RESUMO

"ESTUDO DA DETERMINAÇÃO ESPECTROFOTOMETRICA DE ZINCO E COBRE COM ZINCON EM SISTEMAS DE ANÁLISE POR INJEÇÃO EM FLUXO"

Candidata: Solange Cadore

Orientador: Prof. Dr. Nivaldo Baccan

Instituto de Química - Universidade Estadual de Campinas

Caixa Postal 6154 - 13083 - Campinas, SP - Brasil

Tese de Mestrado - 1986

A importância da determinação de zinco e cobre em diferentes tipos de materiais fez com que diversos métodos de análise fossem desenvolvidos. Entretanto, com a crescente demanda do número de análises, muitos destes métodos tornaram-se inadequados, exigindo uma maior rapidez e um menor consumo de reagentes.

A técnica de Análise por Injeção em Fluxo (AIF) permite a análise de um grande número de amostras num tempo relativamente pequeno apresentando, ainda, um baixo consumo de reagentes, sem prejuízo quanto à precisão e exatidão dos dados obtidos. Nesta técnica podem-se utilizar diferentes configurações, dependendo do tipo de material a analisar, a quantidade de amostra e/ou reagentes disponíveis, o tipo de reação envolvida, etc.

Desta forma, são estudadas as melhores condições experimentais para a determinação de zinco e cobre com o reagente orgânico zincon, utilizando diversos sistemas de AIF. Um deles, o sistema reverso de AIF, no qual uma pequena quantidade de reagente (40 µl) é introduzida no fluxo carregador, é utilizada para a determinação sequencial dos dois metais. Isto é possível considerando-se a instabilidade do complexo zinco-zincon frente ao agente complexante EDTA. Assim, os dois complexos, zinco-zincon e cobre-zincon, passam pela cela de fluxo quando mede-se a absorbância total; em seguida, pela adição de solução diluída de EDTA, o complexo de zinco é destruído e uma nova passagem pela cela fornece a absorbância devida ao complexo de cobre. Por diferença, obtém-se a concentração de zinco. Nas condições mais adequadas, as curvas de calibração para zinco e cobre são lineares no intervalo de 0 a 1,5 µg.ml⁻¹. Os limites de detecção calculados são de 11 ng.ml⁻¹ para o zinco e 8 ng.ml⁻¹ para o cobre.

Utilizando o sistema reverso de AIF para zinco e cobre, separadamente, os limites de detecção calculados são de 6 ng.ml⁻¹ para o zinco e 4 ng.ml⁻¹ para o cobre.

No sistema com zonas coalescentes, que reduz o consumo de reagentes, já que podem ser recuperados, a lei de Beer é obedecida até 8 µg.ml⁻¹ para o zinco e o cobre, com limites de detecção de 12 e 11 ng.ml⁻¹, respectivamente.

O sistema em confluência permite a introdução de um volume infinito de amostra no fluxo carregador e, nas melhores

condições, é linear até $10 \mu\text{g}.\text{ml}^{-1}$ para o zinco e até $8 \mu\text{g}.\text{ml}^{-1}$ para o cobre. Os limites de detecção calculados são $9 \text{ ng}.\text{ml}^{-1}$ e $14 \text{ ng}.\text{ml}^{-1}$, respectivamente.

O sistema reverso em confluência é linear até $2 \mu\text{g}.\text{ml}^{-1}$ para o zinco e até $1,5 \mu\text{g}.\text{ml}^{-1}$ para o cobre, com limites de detecção de $3 \text{ ng}.\text{ml}^{-1}$ e $12 \text{ ng}.\text{ml}^{-1}$, respectivamente.

A vazão utilizada varia para os diversos sistemas estudados ($2,3$ a $2,6 \text{ ml}.\text{min}^{-1}$). Desta forma, são possíveis até 100 análises por hora.

É feito, ainda, o estudo do fenômeno da dispersão para cada sistema e, levando em conta o fato do zinco reagir com vários metais, além do zinco e cobre, estuda-se o efeito de íons interferentes.

ABSTRACT

"STUDIES ON THE SPECTROPHOTOMETRIC DETERMINATION OF THE ZINC AND COPPER USING ZINCON IN FLOW INJECTION ANALYSIS SYSTEMS"

Candidata: Solange Cadore

Orientador: Prof. Dr. Nivaldo Baccan

Instituto de Quimica - Universidade Estadual de Campinas

Caixa Postal 6154 - 13083 - Campinas, SP - Brasil

Tese de Mestrado - 1986

The importance of zinc and copper determinations in different materials has led to the development of several methods of analysis. However, with the increasing demand of analysis, many of these have become inadequate and the development of faster methods with low reagent consumption has become desirable.

Flow Injection Analysis (FIA) is a method in which a large number of samples can be processed in a short time with low reagent consumption and acceptable precision and accuracy. Many different configurations can be used, determined by the type of sample, the available quantities of analyte and reagent, the reaction involved, etc.

Thus, the best experimental conditions for the determination of zinc and copper with the organic complexing agent zincon were studied using different FIA systems. Reversed-FIA, which consists of injecting small volumes of reagents (40 μL) into the flowing sample stream, was used for the sequential determination of both metals. This was possible because of the instability of the zinc-zincon complex in presence of an EDTA solution. The solution containing both the zinc-zincon and copper zincon complexes passed through the flow cell and the total absorbance was measured. The zinc-zincon complex was destroyed by addition of a dilute EDTA solution. Another passage through the cell provided the copper absorbance. The zinc concentration was obtained by difference. Under optimized conditions the calibrations are linear over the range 0-1,5 $\mu\text{g}\cdot\text{mL}^{-1}$ for both elements. The calculated detection limit is 11 $\text{ng}\cdot\text{mL}^{-1}$ for zinc and 8 $\text{ng}\cdot\text{mL}^{-1}$ for copper.

Using the reversed system with the individual ions, the calculated detection limits are 6 $\text{ng}\cdot\text{mL}^{-1}$ for zinc and 4 $\text{ng}\cdot\text{mL}^{-1}$ for copper.

In the merging-zones configuration, which reduces the reagent consumption and permits its recovery, Beer's law is obeyed up to 8 $\mu\text{g}\cdot\text{mL}^{-1}$ for both zinc and copper with a detection limit of 12 and 11 $\text{ng}\cdot\text{mL}^{-1}$, respectively.

The confluence configuration permits an infinite volume introduction into the carrier stream and is linear up to 10 $\mu\text{g}\cdot\text{mL}^{-1}$ for zinc and 8 $\mu\text{g}\cdot\text{mL}^{-1}$ for copper under the optimized conditions. The calculated detection limits are

9 ng.ml⁻¹ , respectively.

The reversed confluence system is linear up to 2 µg.ml⁻¹ for zinc and 1,5 µg.ml⁻¹ for copper with detection limits of 3 ng.ml⁻¹ and 3 ng.ml⁻¹ , respectively.

The flow rate varied from 2,3 to 2,6 ml.min⁻¹ , depending on the system studied. Thus, analysis up to 100 samples/hour were possible.

The dispersion phenomenon, as well as the effect of various ions on the determination of zinc and copper, was studied for all investigated systems.

CAPITULO I

INTRODUÇÃO

O desenvolvimento de variados ramos industriais e biológicos faz com que a química analítica ocupe lugar de destaque, principalmente no controle da qualidade dos produtos.

O estudo da toxidez para alguns elementos mostra a importância do problema analítico a nível de traços. O termo "traço" é usado para designar elementos encontrados em quantidades muito pequenas, sendo necessário determiná-las por métodos instrumentais /94/.

Elementos como o zinco e o cobre são importantes, a nível de traços, no crescimento e desenvolvimento de muitos organismos vivos /76/. Sua determinação em solos, plantas, fertilizantes, medicamentos, alimentos e bebidas, entre outras amostras, é de grande interesse. Por isso é necessária a existência de métodos analíticos sensíveis, para um maior controle dos níveis destes elementos em diferentes materiais. A especificidade do método é desejável, embora não indispensável; já a exatidão e a precisão são importantes. Estas podem ser afetadas por fatores associados ao método analítico como amostragem, preservação e contaminação da amostra, destruição da matéria orgânica da amostra, etc. /89/.

Existem diversos métodos e técnicas de análise para um determinado elemento ou composto e a escolha de um deles leva em conta o tipo de amostra a ser analisada /68, 135/. Análises de rotina para controle de qualidade requerem métodos simples, rápidos e de baixo custo. O crescimento do número de análises impôs o uso de métodos automatizados ou semiautomatizados.

Em 1956, *Skeggs* /122/ desenvolveu uma técnica de análise por fluxo segmentado que serviu de base para muitos trabalhos com métodos automáticos ou semiautomáticos. Em 1975, *Ruzicka e Hansen* /108, 110/ desenvolveram uma técnica rápida, simples, reproduzível e de baixo custo operacional que tem sido bastante utilizada para determinação de pequenas quantidades de íons metálicos e outras espécies inorgânicas e orgânicas em diferentes amostras.

OBJETIVO DO TRABALHO

Este trabalho tem por objetivo o estudo da determinação de zinco e cobre com o reagente orgânico zincon, utilizando diferentes sistemas semiautomáticos de análise por injeção em fluxo (AIF), bem como a separação destes metais dos demais íons interferentes. Além disso, considerando-se a instabilidade do complexo zinco-zincon frente ao agente complexante EDTA, é possível determinar os dois metais, sequencialmente. A absorvância máxima do complexo zinco-zincon ocorre em 620 nm e a do complexo cobre-zincon, em 600 nm. Em 610 nm ambos apresentam igual absorvância. Desta forma mede-se, inicialmente, a absorvância devida aos complexos zinco-zincon e cobre-zincon. A adição de EDTA destrói o complexo de zinco. Uma nova medida de absorvância permite determinar a concentração de cobre e, por diferença, obtém-se a concentração de zinco. Os métodos desenvolvidos podem ser aplicados em amostras de plantas e fertilizantes, bem como em solos, medicamentos, óleos lubrificantes para motores (zinco) e etanol como combustível (cobre).

CAPÍTULO II

REVISÃO BIBLIOGRÁFICA

II.1 - ANÁLISE POR INJEÇÃO EM FLUXO

II.1.1 - DESENVOLVIMENTO DOS MÉTODOS AUTOMÁTICOS E SEMIAUTOMÁTICOS DE ANÁLISE

A análise por injeção em fluxo (AIF) apresenta-se como uma técnica alternativa aos métodos convencionais de determinação química existentes, quando se pretende analisar um grande número de amostras num tempo relativamente pequeno, apresentando vantagens pois, além da rapidez minimiza o consumo de amostras e reagentes, diminui o custo das análises, elimina algumas possibilidades de contaminação e apresenta boa precisão. Sua principal vantagem, porém, é a simplicidade operacional.

Esta técnica baseia-se na injeção de um volume preciso de amostra líquida num fluxo de carregador não segmentado com o qual a zona da amostra é misturada. Isto resulta na formação de espécies que passam por uma cela de fluxo e podem ser medidas por um detector apropriado. A introdução de cada amostra pode ser feita manual ou automaticamente.

A técnica de AIF popularizou-se a partir de 1975 com os trabalhos desenvolvidos, independentemente, por *Růžička e Hansen* /108/ e *Stewart, Beecher e Hare* /126/. Existe, hoje, ampla literatura sobre esta técnica, incluindo-se dois livros textos /110, 133/ e revisões bibliográficas /81, 82, 97, 103, 119, 125/, tendo sido realizadas, ainda, conferências internacionais /136, 137/.

O método de análise em fluxo contínuo tem se desenvolvido nos últimos 30 anos como resultado do aumento do número de determinações analíticas verificado em laboratórios clínicos e industriais. Os métodos manuais existentes até então mostraram-se inadequados e a solução para isto foi o desenvolvimento de métodos automáticos.

Em 1957, *Skeggs* /122/ desenvolveu uma técnica automática de análise usando um fluxo segmentado pela injeção periódica de ar. A amostra e os reagentes eram misturados automaticamente e aquecidos, sob condições controladas, de maneira a desenvolver coloração específica para o constituinte desejado. Os reagentes e a amostra eram aspirados para tubos de pequeno diâmetro que faziam parte do sistema, através de uma bomba peristáltica. A presença de bolhas de ar dividia o fluxo de líquido em pequenos segmentos provocando um fluxo turbulento evitando, assim, a dispersão excessiva da amostra, que ocorreria caso o fluxo fosse laminar. Antes de alcançar o detector, porém, as bolhas de ar eram removidas resultando um carregador não segmentado através da cela de fluxo e a resposta do detector era

registrada.

O equipamento utilizado por *Skeggs* consiste de módulos instrumentais cujo conjunto é conhecido como "Auto Analyser", produzido pela Technicon Instrument Co., que posteriormente produziu novas versões do instrumento como o "Auto Analyser II" e o SMA 12/60, específicos para análises múltiplas e o SMAC, para análises múltiplas acopladas a um computador /117, 124/.

A partir dessa idéia muitos estudos foram feitos visando o desenvolvimento de métodos automáticos e semiautomáticos de análise, podendo ser espectrofotométricos, voltamétricos, potenciométricos e cromatográficos, entre outros.

Em 1958 foi desenvolvido um método semiautomático de análise para uso em cromatografia de aminoácidos /123/. A medida que o eluente saía da coluna de troca iônica, era misturado com o reagente e, então, introduzido num tubo de pequeno diâmetro, imerso num banho de água quente. Depois disso, a mistura passava por uma cela de fluxo num colorímetro e a resposta era registrada. A medida da área de cada sinal de aminoácido registrado permitia o cálculo da concentração.

Nagy, Feher e Pungor /84/ desenvolveram um sistema muito semelhante ao que se denomina hoje análise por injeção em fluxo. Nesta técnica rápida o composto voltametricamente ativo era injetado num fluxo de eletrólito suporte e o sinal, medido com eletrodo de grafite, era dado em função da concentração e velocidade de fluxo. Fixando o potencial, a área do pico obtido era proporcional à quantidade de material eletroativo injetado.

A primeira análise enzimática utilizando análise por injeção em fluxo foi feita por *Bergmeyer e Hagen* /16/. A enzima D-Glucose oxidase era injetada no fluxo de um carregador insolúvel em água que fazia parte de um sistema recirculante de fluxo contínuo. O carregador era um tampão de fosfato oxigenado que, após receber a amostra, passava por uma pequena cela contendo glucose-oxidase imobilizada. Um eletrodo sensível a O_2 foi o detector usado neste sistema que fornecia até 60 análises/hora.

White e Fitzgerald determinaram ácido ascórbico pela decomposição fotolítica do complexo ácido ascórbico-azul de metileno num carregador de fluxo contínuo. O sistema utilizado permitia a reutilização dos reagentes, já que a fotólise do azul de metileno é reversível /144/.

Em 1971 foi desenvolvido um método para determinação de H_2S em águas /37/. O método baseava-se na redução do azul de metileno, que é uma reação específica para o sulfeto de hidrogênio. A formação de sulfato coloidal permitia a automatização da formação do corante e da determinação fotométrica, utilizando a técnica de "Auto Analyser".

Em 1972 a automatização da análise por injeção em fluxo ganhou impulso com o trabalho realizado por *Gerding e colaboradores* /36/ que desenvolveram um método automático para análise de peptídeos, após a hidrólise enzimática de proteínas.

Em 1974, *Feher e Pungor* /30/ publicaram um trabalho onde discutiam várias possibilidades de análise por

injeção em fluxo, inclusive o método reverso de análise, isto é, a injeção do reagente no fluxo carregador que contém a amostra. Discutiram também a análise de espécies eletroativas e não-eletroativas. O método de detecção usado foi a voltametria, registrando a variação de corrente com o potencial constante.

Dutt e Mottola /28/ desenvolveram uma nova técnica para determinações rápidas (baseadas na cinética) de várias espécies químicas usando sistema de fluxo e efeito de oxidação-redução. A amostra contendo a espécie a ser determinada era injetada na cela por onde passavam os reagentes com fluxo constante. A reação de oxi-redução ocorria rapidamente alterando a concentração das espécies e, conseqüentemente, o sinal obtido. A seguir, a concentração era regenerada e o sinal, restabelecido. Para reações muito rápidas foi desenvolvido um processo baseado na injeção repetida da amostra na cela contendo o fluxo da mistura de reagentes /27/.

Em 1975, *Stewart et. al.* /126/ desenvolveram um sistema de reação em fluxo contínuo que permitia a análise rápida de um grande número de amostras, utilizando equipamento relativamente simples. Eram usados dois sistemas de fluxo separados: o da amostra e o da reação. Uma válvula de fluxo conectava os dois sistemas removendo uma alíquota da amostra do sistema de fluxo da amostra introduzindo-a no sistema de fluxo da reação, onde era analisada.

Simultaneamente, mas em trabalho independente, *Růžicka e Hansen* /108/ desenvolveram um sistema de análise química baseado na injeção da amostra num fluxo de carregador não segmentado por ar. A esse sistema denominaram *Análise por Injeção em Fluxo, AIF* (do inglês, Flow Injection Analysis).

Apesar do curto intervalo de tempo transcorrido desde sua introdução, o conceito de AIF já sofreu muitas modificações. O termo injeção foi usado, inicialmente, para a introdução da amostra no sistema através de seringas ou agulhas para injeção. Atualmente, foram substituídas por injetores proporcionais, válvulas rotativas e comutadores.

Segundo *Růžicka e Hansen* a técnica de AIF consistia da injeção de um volume definido da amostra no fluxo carregador do reagente, porém, em 1978 *Bergamin et. al.* /14/ ampliaram este conceito quando desenvolveram um sistema com configuração em confluência. Neste caso, o carregador poderia ser um reagente ou uma solução quimicamente inerte e o volume de amostra injetada não precisava ser limitado, já que a mistura desta com o reagente ocorria por confluência.

No mesmo ano, *Mindegaard* /77/ e, independentemente, *Bergamin et. al.* /15/ desenvolveram um sistema com zonas coalescentes que consistia na introdução simultânea de amostra e reagente em fluxos carregadores separados.

Em 1982, *Johnson e Petty* /49/ levaram a uma nova modificação do conceito de AIF. Ao invés de introduzirem a amostra no fluido carregador do reagente, pequenos volumes de reagente eram injetados no fluxo carregador da amostra.

Além destas, outras modificações foram feitas mostrando que esta técnica é muito ampla, com muitas potencialidades, podendo automatizar grande parte dos métodos de análises

químicas já existentes. Para isto, entretanto, é necessário compreender o funcionamento e as operações envolvidas num sistema de AIF.

II.1.2 - CARACTERISTICAS DA TECNICA DE ANALISE POR INJEÇÃO EM FLUXO

Um sistema de análise por injeção em fluxo consiste, basicamente, de um módulo propulsor de fluidos, um módulo de reação e um módulo de medida.

O módulo propulsor compõe-se de uma ou mais /88/ bombas peristálticas, usadas para impulsionar o fluido carregador de reagentes e amostras. A bomba peristáltica pode ser substituída por gás comprimido /113/ ou pela própria força da gravidade /5/.

O módulo de reação é constituído por um injetor, bobinas de mistura e de reação e conectores. A injeção da amostra ou reagente pode ser feita com seringas ou agulhas de injeção /108/, válvulas de amostragem de fluxo /126/, válvulas rotativas /77/ e injetores proporcionais /15/. Recentemente, foi proposta a técnica de injeção hidrodinâmica /111/. As bobinas são utilizadas para que se desenvolva a mistura entre reagentes e a reação destes com a amostra. Para a mistura de reagentes, em confluência, utilizam-se os conectores. Quando necessário, incluem-se neste módulo câmaras de separação de fases para extração com solventes /53/, resinas de troca iônica /13/, membranas de diálise /40, 42/, câmaras de destilação /149/, bobinas de oxidação /6/, etc.

O módulo de medida pode ser um espectrofotômetro /6, 39/, um potenciômetro /112, 114/, um entalpímetro /93/, um espectrofotômetro de absorção/emissão atômica /148/, etc., acoplado a um registrador.

O equipamento básico de um sistema de AIF é mostrado na Figura II.1.

Os reagentes e a amostra são bombeados pela bomba peristáltica através de tubos de polietileno de pequeno diâmetro (geralmente, 0,8 mm de diâmetro interno). Quando são usados solventes orgânicos como clorofórmio, tetracloreto de carbono, etc., tubos de Teflon devem substituir os de polietileno e os tubos de bombeamento devem ser do tipo "Solvaflex". O bombeamento deve gerar vazão repetitível, fazendo com que o tempo de residência de cada amostra no sistema seja constante. O uso de amortecedores de pulso se faz necessário se o sistema apresentar pulsação.

A operação do injetor deve ser regulada de modo a assegurar a injeção de volumes precisos da amostra.

Em determinações espectrofotométricas, utilizando sistema em linha única, a amostra é injetada na linha que contém os reagentes e é convertida em espécies sensíveis ao detector através de reações com reagentes adequados. A resposta é obtida no registrador, geralmente, na forma de um pico fino em cujo valor máximo é feita a leitura do sinal medido. A Figura II.2 mostra o sinal obtido numa determinação usando um espectrofotômetro como detector.

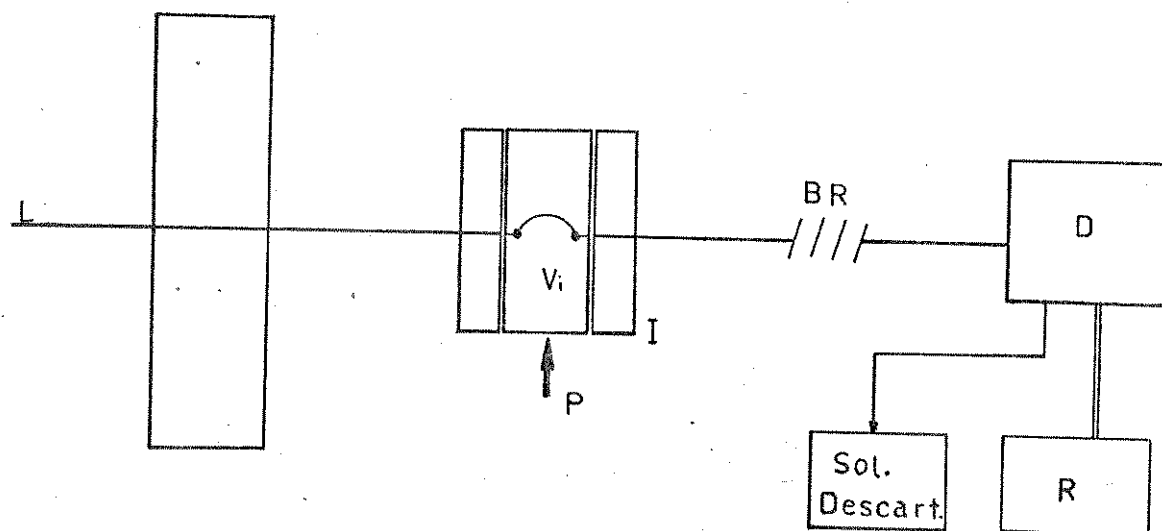


Figura II.1 - Sistema simples de Análise por Injeção em Fluxo.

L: linha do reagente; B: bomba peristáltica; P: ponto de injeção da amostra; I: injetor; BR: bobina de reação; D: detector; R: registrador; Vi: volume injetado.

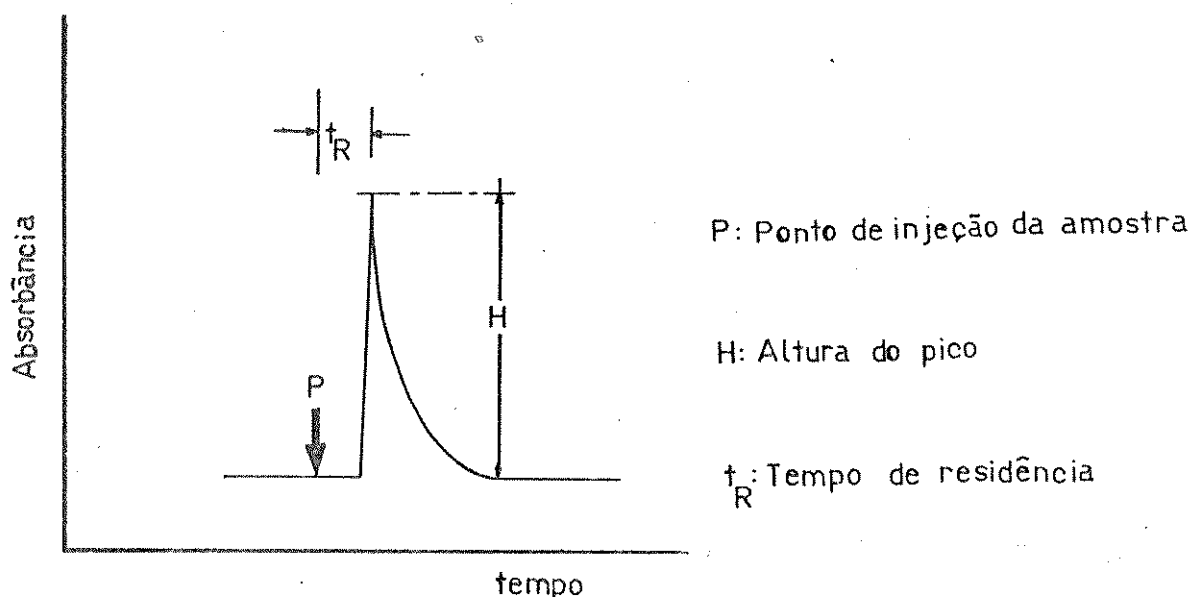


Figura II.2 - Sinal típico obtido em AIF numa determinação espectrofotométrica /110/.

A altura do pico obtido, H , relaciona-se com a concentração da amostra.

O tempo decorrido entre a injeção da amostra e a detecção (máximo do pico) é chamado *tempo médio de residência*, t_R . A resposta é geralmente rápida, t_R situando-se entre 5 e 20 segundos. Esta rapidez possibilita, em muitos casos, duas ou mais injeções por minuto. Durante este tempo a amostra e o reagente devem misturar-se ao máximo produzindo quantidades detectáveis e reprodutíveis do produto. Neste caso ocorrerá dispersão e diluição da zona da amostra, parâmetros estes que devem ser bem controlados pois são inversamente proporcionais à sensibilidade do método analítico.

Na técnica de análise por fluxo segmentado cada segmento do fluido pode ser considerado individualmente, estando separado dos segmentos anterior e posterior por uma bolha de ar. Neste caso o líquido é homogeneamente misturado como resultado do movimento circular causado pela fricção com as paredes do tubo.

Na técnica de análise por injeção em fluxo a amostra é injetada no fluxo carregador movendo-se sob condições de fluxo laminar onde a velocidade do líquido, no centro, é maior do que nas paredes do tubo. Como não existe a presença de ar, a fração injetada vai se expandindo no interior do tubo, misturando-se ao fluxo carregador até atingir o detector. Não há necessidade desta mistura ser completa, isto é, não é imprescindível que a reação atinja o estado de equilíbrio para que as determinações sejam feitas. Se as respostas forem reprodutíveis a

técnica pode ser aplicada e apenas a sensibilidade do método será afetada. Na verdade, um sistema de AIF está em equilíbrio somente quando não há amostra no sistema.

A Figura II.3 representa os diferentes gradientes de concentração da fração injetada, à medida em que se dispersa no fluxo do carregador. O processo de dispersão é controlado, no início, por convecção (Figura II.3.b), no final por difusão (Figura II.3.d) e na região intermediária por convecção e difusão (Figura II.3.c).

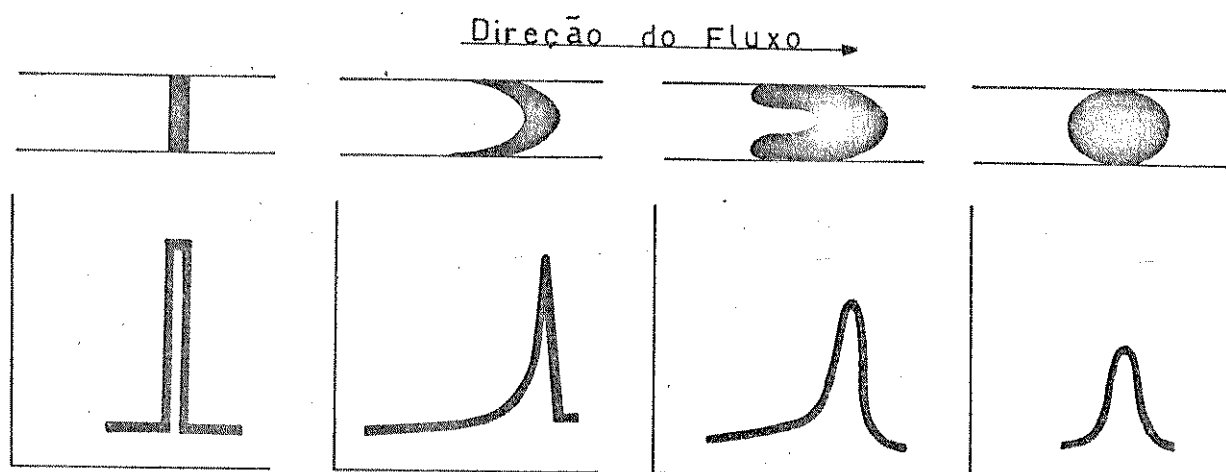


Figura II.3 - Gradientes de concentração da amostra injetada no fluxo de carregador. (a) nenhuma dispersão; (b) dispersão controlada por convecção; (c) dispersão por convecção e difusão; (d) dispersão controlada por difusão /18/.

A dispersão da amostra, que ocorre entre os pontos de injeção e de detecção é um processo puramente físico. Em alguns casos, entretanto, pode ocorrer um processo químico relacionado com a cinética da reação, o qual não pode deixar de ser considerado /18, 90/.

Růžička e Hansen /110/ definiram a dispersão da zona da amostra como a razão entre a concentração real da espécie contida na amostra (C_0) e a concentração da espécie química no detector ($C_{\max}$):

$$D = \frac{C_0}{C_{\max}} = \frac{H_0}{H}$$

O valor de C_0 é obtido bombeando-se o composto colorido formado por reação da espécie interessada com o reagente colorimetricamente adequado, diretamente, sem sofrer diluição na linha. O valor de $C_{\max}$ é obtido injetando-se um volume determinado do composto previamente formado, na linha, usando um carregador para levá-lo ao detector (Figura II.4).

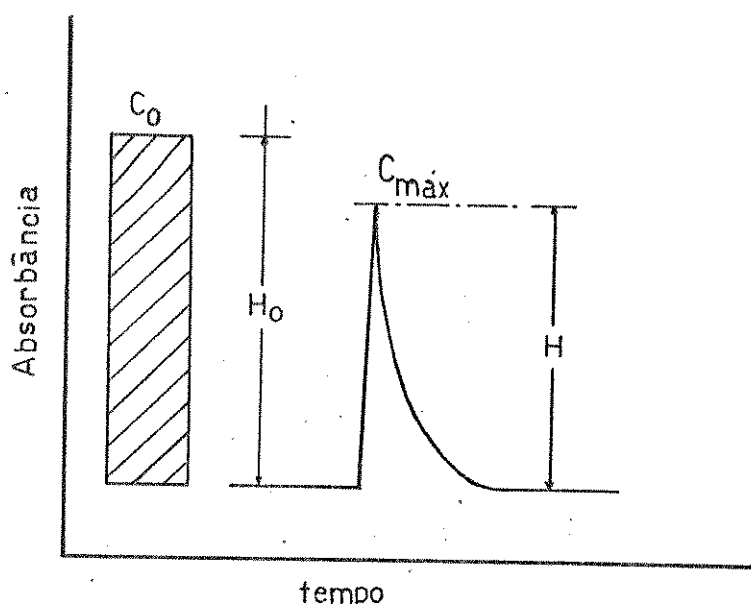


Figura II.4 - Dispersão D , definida como a razão entre a concentração real da espécie contida na amostra, C_0 , e a concentração da espécie química no detector, $C_{\max}$ /110/.

Num sistema de AIF em linha única a dispersão aumenta com o comprimento da bobina de reação, o diâmetro do tubo e a vazão e diminui com o volume de amostra injetado. Um aumento na dispersão implica na diminuição da concentração da espécie de interesse, o que reduz a sensibilidade. Variando-se aqueles parâmetros, obtêm-se dispersão limitada, média ou alta.

Diversos modelos matemáticos têm sido apresentados visando relacionar as variáveis envolvidas no processo da dispersão da amostra para sistemas em linha única /91, 98, 134/, mas outros estudos são necessários para melhor esclarecer o fenômeno da dispersão.

II.1.3 - PRINCIPAIS SISTEMAS DE ANÁLISE POR INJEÇÃO EM FLUXO

A Figura II.5 mostra o esquema dos principais sistemas de AIF.

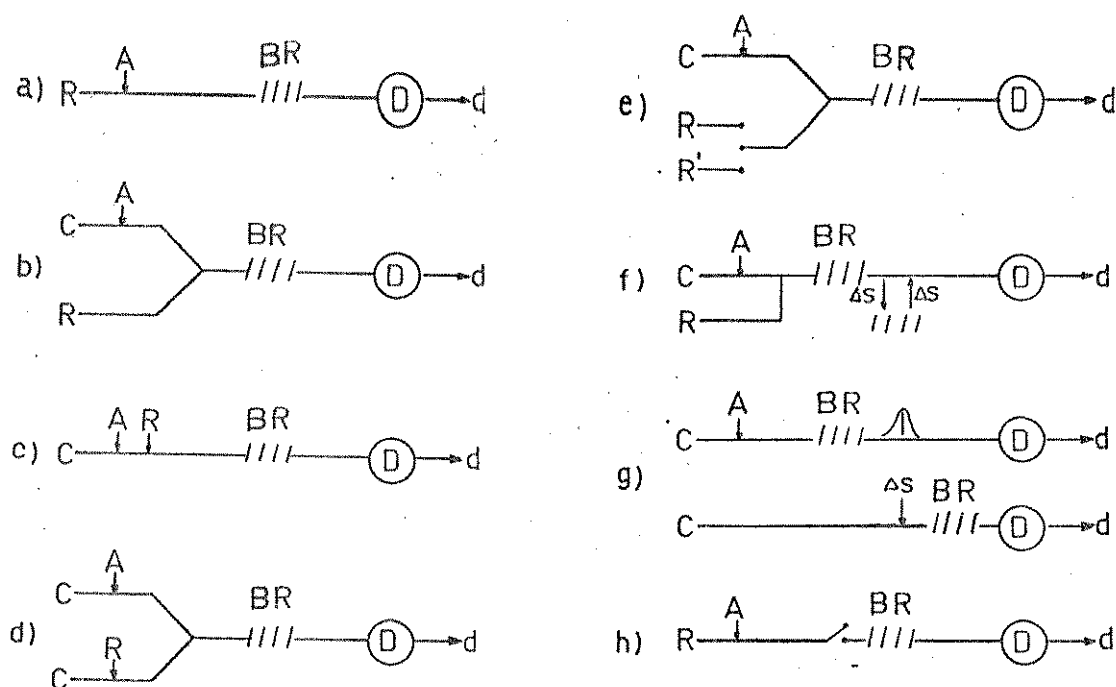


Figura II.5 - Principais sistemas de AIF.

- a) linha única
- b) em confluência
- c) com zonas coalescentes em linha única
- d) com zonas coalescentes em confluência
- e) com fluxos intermitentes em confluência
- f) com aprisionamento da zona da amostra
- g) com reamostragem da zona dispersa
- h) com fluxos intermitentes

O sistema em linha única (Figura II.5.a) é o mais simples e foi proposto por *Růžička e Hansen* /108/ em 1975. Neste sistema a amostra (A) é injetada num fluxo carregador de reagente (R) formando uma zona de amostra definida e repetível que é transportada até o detector (D) após passar pela bobina de reação (BR) sendo, então, descartada (d).

O sistema reverso de AIF consiste na injeção de pequenos volumes de reagente no fluxo carregador contendo a amostra /49, 105/ e aumenta a sensibilidade da análise em relação ao sistema em linha única, minimizando o consumo de reagente.

O sistema em confluência (Figura II.5.b), introduzido por *Bergamin et. al.* /14/, baseia-se na injeção da amostra (A) num fluido carregador (C) com características de acidez, viscosidade, índice de refração, etc., semelhantes à da amostra. A adição dos reagentes é feita através de pontos de confluência. Considerando-se as melhores condições de mistura entre amostra e reagentes, no ponto de confluência, a mesma quantidade de reagente é adicionada à cada porção da zona da amostra minimizando, assim, os gradientes de concentração formados quando da introdução da amostra no fluxo carregador do reagente. Como neste sistema é possível a introdução de um maior volume de amostra, pode-se obter maior sensibilidade analítica.

O sistema com zonas coalescentes em confluência (Figura II.5.d), proposto por *Bergamin et. al.* /15/ em 1978, consiste na introdução simultânea de amostra e reagentes em fluidos carregadores separados e a interação das zonas formadas ocorre por confluência. A principal característica deste sistema é a economia de reagente, já que o mesmo é consumido somente em presença da amostra, podendo ser recuperado. Maior estabilidade da linha básica /99/, determinações simultâneas /101 147/, análise de amostras altamente concentradas sem pré-diluição /77/, aplicação do método de adição padrão em sistemas de fluxo /38/ e a adição de reagentes instáveis, sintetizados fora do percurso analítico /46/ são algumas das potencialidades deste sistema.

Em 1983, *Hansen et. al.* /41/ propuseram um sistema com zonas coalescentes em linha única (Figura II.5.c) onde amostra e reagente são introduzidos simultaneamente, no mesmo fluido carregador. Nesse caso, a interação entre as zonas formadas ocorre por dispersão das espécies. Tal sistema é utilizado para verificar o grau de interferência num método analítico.

Em 1980, *Růžička e Hansen* /109/ propuseram um sistema com fluxo intermitente em linha única (Figura II.5.h) que se baseava na interrupção do fluxo em intervalos de tempo regulares. A interrupção ocorre quando o fluido carregador que contém a amostra tiver atingido o detector, permitindo o registro da variação do sinal analítico. Desta forma, aumenta-se o tempo médio de residência no sistema sem afetar o grau de dispersão da zona formada aumentando, assim, a sensibilidade de determinações de cinética lenta. Este sistema utiliza duas bombas peristálticas, uma delas operando intermitentemente.

No mesmo ano, *Zagatto, et. al.* /146/ introduziram o sistema de fluxos intermitentes em confluência (Figura

II.5.e). Nesse sistema a amostra é injetada no fluxo carregador e recebe o reagente por confluência. Este reagente (R), após a medida do sinal analítico é substituído por uma solução de limpeza (R'), com alta vazão, que diminui o tempo de limpeza do percurso analítico aumentando, assim, o número de determinações num dado período de tempo. Neste caso é necessária somente uma bomba peristáltica e a intermitência do fluxo é feita através de modificações nas linhas de fluxo do injetor tipo proporcional, operado manualmente.

No sistema de reamostragem da zona dispersa (Figura II.5.g) proposto por Reis et. al. /100/, a espécie de interesse é injetada num fluxo carregador formando uma zona bem definida que sofre dispersão e reage quimicamente. Uma fração desta zona (ΔS) é introduzida num segundo fluxo carregador sendo, então, transportada até o detector. O controle de tempo é essencial neste sistema para que haja repetibilidade das frações transportadas do primeiro para o segundo fluxo carregador. Este sistema, além de selecionar alíquotas com diferentes graus de dispersão, permite determinações simultâneas /46/ e obtenção de curvas de calibração empregando apenas uma solução-padrão /38/.

O sistema com aprisionamento da amostra (Figura II.5.f) foi proposto por Krag et. al. /59/ e é uma alternativa para reações com cinética lenta. A porção central da zona da amostra, após a adição dos reagentes, é selecionada e removida do caminho analítico por um período de tempo pré-estabelecido e sob condições definidas sendo, posteriormente, reintroduzida no fluido carregador para detecção. Durante o aprisionamento, a amostra pode participar de reações químicas, sem sofrer dispersão significativa.

II.2 - OS ELEMENTOS COBRE E ZINCO

Sabe-se que o cobre é um dos metais mais antigos conhecidos pelo homem, tendo sido um dos primeiros a ser por ele utilizado. Objetos de cobre eram conhecidos desde 4000 A.C., na Mesopotâmia e no Egito. A palavra "cobre" é derivada do latim "cuprum", originariamente "aes cyprum", um termo usado pelos romanos para descrever o metal obtido do Chipre, onde depósitos de cobre eram explorados desde 3000 A.C. /56/.

Esse metal é marron-avermelhado e se encontra distribuído na natureza na forma metálica ou combinada, como sulfeto, arsenito, cloreto e carbonato /87/. Forma compostos nos quais aparece nos estados de oxidação +1, +2 e +3, sendo o estado +2 o mais comum. Os compostos de cobre (II) são mais estáveis que os de Cu (I) e Cu (III). O ion Cu^{2+} (hidratado) tem maior tendência para formação de complexos que o Cu (I). Os complexos de Cu (II) tem, geralmente, número de coordenação 4.

O cobre forma complexos com muitos reagentes or-

gânicos, como 8-hidroxiquinolina, ditizona e dietilditiocarbamato de sódio /56/. Também é formado um grande número de quelatos, que são bastante estáveis. A d-penicilina (β , β - dimetilcisteína) forma quelato com o cobre, rapidamente, podendo ser usada terapeuticamente em casos de degeneração hepática /61/.

Além disso, o cobre participa das enzimas responsáveis pela síntese da elastina e do colágeno fazendo parte também da citocromo oxidase, que catalisa a redução celular de oxigênio molecular em água /85/. É essencial, também, para as plantas e faz parte de grupos prostéticos de enzimas oxidativas /11/. É o micronutriente mais fortemente adsorvido pela superfície do solo devido à sua tendência de formar complexos e quelatos com lignoproteínas e humatos /74/.

O zinco, como metal puro, foi extraído primeiramente na China e na Índia em torno de 1400 D.C. Entretanto, ligas de zinco com cobre e alumínio eram conhecidas desde 1400 - 1000 A.C. A produção de zinco começou em 1743, a partir da destilação de uma mistura de carbonato de zinco e coque na Inglaterra /11/.

O zinco é um metal cinza-azulado, com brilho forte, e cristaliza com estrutura hexagonal distorcida. Forma compostos onde aparece no estado de oxidação +2 formando também compostos organometálicos e complexos. Compostos de zinco (I) não ocorrem em condições normais /87/.

Os primeiros compostos organometálicos preparados foram os de zinco, em 1849, e tiveram um papel importante no desenvolvimento das teorias sobre as ligações químicas. Os compostos de zinco também são importantes no aspecto preparativo considerando-se sua reatividade moderada frente a certos grupos funcionais orgânicos /23/.

Complexos de zinco são formados onde o metal possui número de coordenação 4 ou 6. O zinco forma complexos com os ditiocarbamatos e outros compostos de enxofre. Os ditiocarbamatos formam complexos com número de coordenação 5 do tipo 1:1 com aminas. Os β -dicetonatos de zinco também formam adutos pentacoordenados 1:1 com bases nitrogenadas /23/.

Esse metal é um constituinte essencial de várias enzimas como a carboxipeptidase A, que catalisa a hidrólise de ésteres e peptídeos, sendo necessário também para a síntese de proteína e RNA /11/.

Nas plantas, ele é um constituinte da enzima anidrase carbônica, que catalisa a conversão de CO_2 em ácido carbônico. É necessário para a formação de triptofano, que é o precursor do ácido acético-3-indol, um importante hormônio natural nas plantas /11/. No solo, é encontrado como íon associado a outros elementos, sendo fortemente adsorvido por argilas e minerais como calcita, dolomita e magnesita, o que diminui a sua disponibilidade /74/.

II.3 - A IMPORTANCIA DO ESTUDO DE COBRE E ZINCO

O cobre é um constituinte normal e constante do organismo animal verificando-se em maior concentração no fígado. Geralmente, a quantidade de cobre é maior no indivíduo jovem do que no adulto. Este elemento toma parte na composição de diversas enzimas com funções oxidativas como a tirosinase e a citocromo-oxidase participando, ainda, na formação e manutenção do sistema nervoso central e manutenção e integridade do miocárdio /8/.

O cobre está combinado a algumas proteínas no organismo animal. Nas células vermelhas do sangue está presente na forma de um complexo cobre-proteína chamado hemoproteína. No plasma sanguíneo encontra-se na forma de um complexo cobre-proteína denominado ceruloplasmina /8, 132/. Ele estimula a síntese da hemoglobina pela reabsorção intestinal do ferro através da oxidação de plasma de ferro pela ferroxidase /85, 132/.

No homem, a absorção de cobre ocorre principalmente pelo duodeno dependendo, no entanto, da forma química pela qual o cobre é administrado, do nível dietético de outros minerais e substâncias orgânicas e da acidez do conteúdo intestinal na área de absorção. Substâncias como carbonato de cálcio, sulfato ferroso e ácido ascórbico e elementos inorgânicos como Mo, Mn, Zn, Cd, Hg, Ni e Ag afetam a absorção, retenção e distribuição de cobre no organismo /8/.

O consumo excessivo de alimentos contendo alto teor de cobre provoca um elevado acúmulo nos tecidos, especialmente no fígado, que apresenta uma capacidade de armazená-lo sem provocar intoxicação, capacidade essa que varia com as espécies. Quando a capacidade de armazenamento no fígado está esgotada, há liberação do cobre para o sangue, provocando uma crise hemolítica. A deficiência de cobre provoca uma variedade de manifestações clínicas. A principal delas é a anemia /8, 132/. A necessidade de cobre, para o ser humano, é de 3,8 mg/dia /61/.

O zinco encontra-se distribuído no fígado, pâncreas, rins, íris e córnea do olho e na medula óssea; localiza-se, principalmente, no núcleo celular sendo a pele bastante rica neste elemento /8/. É essencial para o crescimento de tecidos animais, sendo parte integrante de diversas enzimas e cofatores como a enolase e a catalase dos rins /76/. É um constituinte específico da enzima anidrase carbônica que atua no equilíbrio ácido-base do organismo /8/. Está presente no plasma (75-88%), nos eritrócitos (12-22%) e nos leucócitos (3%) /132/.

O zinco está envolvido no metabolismo de proteína e do ácido nucléico sendo, portanto, fundamental no processo de multiplicação de células; participa, também, na formação de proteínas /132/.

A absorção de zinco ocorre, principalmente, pelo intestino delgado, e é afetada pela quantidade e proporção de outros nutrientes e pela forma química em que é administrado. Elementos como Cd, Ca, Cu, Fe, Mn e Se podem afetar o metabolismo do zinco /8/.

Existe uma grande margem de segurança entre o consumo normal (6 a 15 mg/dia /61/) e a quantidade tóxica do zinco. O excesso de zinco no organismo provoca uma diminuição do nível de cobre no fígado, evitando o efeito tóxico do cobre, pois o desloca quando se liga à proteína da mucosa duodenal. Entretanto, se a concentração de cobre não for muito grande, um excesso de zinco provoca a deficiência de cobre e, conseqüentemente, anemia. Sintomas de deficiência de zinco são caracterizados, principalmente, por lesões na epiderme. A falta deste elemento no período de crescimento pode afetar as funções do cérebro /8, 132/.

Fontes ricas em zinco, na dieta do homem, são os alimentos marinhos, carnes e nozes. As fontes mais pobres são o açúcar, frutas cítricas e óleos vegetais. Fontes ricas em cobre são os crustáceos, principalmente ostras, carnes, nozes e legumes. As fontes mais pobres são o açúcar e o mel /132/.

Considerando-se que as maiores fontes de zinco e cobre, para os seres vivos, são os alimentos e bebidas, sua determinação nessas matrizes é de grande interesse. A presença destes metais, entre outros, mostra efeitos prejudiciais na cor, aroma e sabor de bebidas alcoólicas /52/ e de óleos vegetais /138/.

Sabe-se que uma das causas da contaminação dos alimentos é o material usado para os recipientes onde são processados. Porém, a maior fonte de contaminação dos alimentos por metais é causada pelo uso de inseticidas e fungicidas metálicos na preservação do solo /47/.

A análise de cobre e zinco em solos, plantas e fertilizantes está intimamente associada à importância destes elementos em quantidades de traços e seu papel na fisiologia animal e vegetal é matéria de muitos estudos. A composição química das plantas sofre influência do solo podendo a aplicação de fertilizantes mudar o seu conteúdo orgânico e mineral.

O cobre e o zinco são elementos necessários à vida das plantas e animais. O teor médio de cobre na litosfera é de, aproximadamente, $70 \mu\text{g/ml}^1$ e os solos contêm de 2 a $100 \mu\text{g/ml}^1$ de cobre total, dos quais apenas alguns centésimos são assimiláveis pelas plantas /94/.

Grande parte do cobre da litosfera está combinado ao enxofre, como sulfeto; certa quantidade aparece ligada à estrutura de outros minerais e à matéria orgânica. O cobre dos minerais passa lentamente para a solução do solo sendo fixado por colóides, de forma que as soluções salinas empregadas em laboratório não podem deslocá-lo. A disponibilidade de cobre é maior em solos levemente ácidos do que em solos alcalinos ou muito ácidos /74/.

Como o cobre é largamente distribuído através das rochas ígneas, deficiências desse metal não são freqüentes em solos delas derivados, sendo comuns nos solos originados de sedimentos ricos em sílica e carbonatos. Os sintomas de deficiência desse micronutriente aparecem nas seguintes condições: 1- em solos arenosos ácidos; 2- em terrenos sujeitos a calagens pesadas; 3- em solos turfosos ácidos /74/.

A deficiência de cobre nas plantas caracteriza-se

pela deformação das folhas novas, a presença de manchas nas margens e folhas com coloração amarela ao invés de verde /66/.

Fertilizantes contendo cobre podem ser empregados tanto na forma orgânica como na inorgânica, sendo aplicados mais freqüentemente nos solos do que nas folhas, na forma de "spray". Os compostos de cobre mais usados são Cu_2O , Cu_2S e $\text{CuSO}_4 \cdot 5\text{H}_2\text{O}$ /83/.

O uso contínuo de sais de cobre como fertilizantes e fungicidas pode provocar a toxidez das plantas, além de interferir na absorção de fósforo, ferro e outros micronutrientes /74, 83/.

O zinco é encontrado na litosfera em uma concentração aproximada de $80 \mu\text{g}/\text{ml}^1$; solos contêm traços de zinco, variando de 10 a $300 \mu\text{g}/\text{ml}^1$, dos quais aproximadamente um décimo do total é assimilável pelas plantas /94/. Ocorre em minerais, como cátion trocável, na solução do solo e matéria orgânica. Pode ser um fator limitante na produção em solos alcalinos ou em solos com elevados teores de matéria orgânica ou de fosfatos. As camadas superficiais geralmente têm mais zinco do que as mais profundas. Isto se deve à remoção pelas plantas e à devolução efetuada pelas folhas que caem no solo e aí se decompõe, havendo um acúmulo do elemento na camada superior /74/.

A pouca assimilação de zinco pelas plantas depende de fatores como a acidez, a influência da argila e da matéria orgânica. A disponibilidade do zinco no solo é maior em pH ácido. Minerais como calcita (CaCO_3) e magnesita (MgCO_3), empregados como corretivos, adsorvem o zinco, imobilizando-o. Isto é importante em regiões áridas ou semi-áridas, onde estes minerais freqüentemente se acumulam no solo. A presença de fósforo solúvel pode precipitar zinco como fosfato, provocando deficiência do metal nas plantas. A argila adsorve o zinco, tornando-o não-disponível para as plantas, da mesma forma que a matéria orgânica, que aprisiona o zinco na forma de compostos mal definidos do tipo de quelatos /74/.

A deficiência do metal nas plantas evidencia-se pelo reduzido tamanho das folhas novas e pela sua cor, amarel-esverdeada /19,66/. O zinco é necessário, em baixo teor, para o crescimento das plantas, sendo adicionado como micronutriente em fertilizantes quando constatada sua falta nos solos ou plantas. Algumas fontes de zinco como fertilizantes são ZnO , ZnS , ZnCO_3 e $\text{ZnSO}_4 \cdot 4\text{Zn}(\text{OH})_2$. A aplicação de zinco pode ser feita no solo ou diretamente nas folhas das plantas /83/.

O zinco é um micronutriente de absorção rápida e de difícil lavagem. Plantas como o feijão absorvem, em 24 horas, 50% do zinco aplicado à sua superfície e a lavagem retira menos que 1% do conteúdo absorvido /19/.

Quantidades excessivas de zinco podem ser tóxicas para as plantas, dependendo estas quantidades do solo e da cultura considerados. A toxidez do zinco pode ser corrigida por meio de calagem /74/.

Cobre e zinco podem estar presentes como impurezas em águas naturais, industriais ou residuais, provenientes das tubulações de cobre que sofrem zincagem ou foram adicionados

como polifosfatos, principalmente o zinco, para minimizar a corrosão dos tubos, acelerando a formação de um filme protetor nas superfícies metálicas /95/.

O cobre está presente, geralmente em pequenas quantidades, nas águas superficiais e subterrâneas. Na forma de cloreto, sulfato e nitrato é muito solúvel na água, o mesmo não acontecendo quando se apresenta como carbonato, hidróxido, óxido e sulfeto. Os íons de cobre, que se encontram a um pH igual ou maior que 7,0 nas águas naturais, precipitam o carbonato e o hidróxido sendo removíveis por adsorção ou sedimentação. Desta forma, não são encontradas concentrações significativas de cobre nas águas superficiais ou subterrâneas. Altas concentrações de cobre ocasionam sabor desagradável na água /12/.

Sais de zinco como cloreto e sulfato são solúveis na água. Outros como carbonato, óxido e sulfeto são insolúveis, podendo certa quantidade de zinco ser removida por decantação nos processos de tratamento de água. O sabor da água sofre alteração maior quando o zinco se encontra na forma de sulfato do que quando está presente como cloreto ou nitrato /12/.

Os padrões internacionais para água de consumo humano da Organização Mundial de Saúde (OMS) adotam como teores máximos desejável e permissível, respectivamente, 5 mg/l e 15 mg/l, para zinco e 0,05 mg/l e 1,5 mg/l para cobre /12/.

Compostos organometálicos, geralmente dialquil-ditiofosfato de zinco, são usados em óleos lubrificantes como aditivos antioxidantes para reduzir os desgastes internos em motores de automóveis/4/

O cobre é encontrado em quantidades menores que 0,5 mg/l, na gasolina, sendo prejudicial à sua estabilidade devido a seu efeito pró-oxidante /62/.

Além do conhecido efeito tóxico, a ação de cobre e zinco em várias doenças tem sido muito estudada /17/, por isso é importante ter-se um método simples e rápido para a determinação destes metais em semelhantes materiais.

II.4 - A DETERMINAÇÃO DE COBRE E ZINCO

Vários métodos para determinação de cobre e zinco, em diferentes matrizes, foram desenvolvidos. Os mais comuns são os métodos espectrofotométricos /2, 25, 60/, os polarográficos /50, 75/ e os colorimétricos /24, 31/.

A determinação de cobre em plantas e solos pode ser feita com dietilditioicarbamato de sódio /31, 48/, com ditizona /22, 29/ ou com cuproína /43/ porém envolve extração e é suscetível à interferência de outros metais.

A determinação de zinco em rochas e material biológico é feita com ditizona /24, 50, 67/ em pH de 6,0 a 9,5 ou com β -naftilditioicarbazona /21, 70/ em pH de 8,0 a 10,0. Outros métodos utilizando reagentes como 1(2-Piridilazo)-2-Naftol [PAN]

/7/ foram propostos, mas a sensibilidade é inferior àquela obtida com o método da ditizona. Entretanto, estes reagentes formam complexos coloridos com outros metais, particularmente níquel, cobalto, ferro, mercúrio e chumbo, além de envolverem extração para concentrar os complexos.

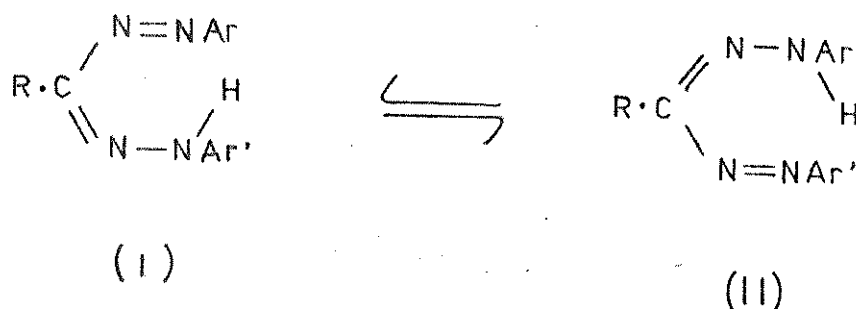
II.4.1 - O REAGENTE ZINCON

Estudando a reatividade de compostos orgânicos com íons inorgânicos, Yoe e Rush /107, 139/ verificaram que o composto zincon [1-2(hidróxi-5-sulfofenil)-5-(2-carboxi-fenil formazano)] forma um precipitado azul em presença de zinco reagindo também com cobre, cobalto e níquel. A formação do precipitado não é observada a altas diluições, mas a solução apresenta cor azul. A reação é rápida em presença de solução alcalina do reagente.

O uso do reagente zincon permite a determinação dos metais zinco e cobre, um em presença do outro, devido à diferença de estabilidade dos complexos destes metais em relação ao pH. O complexo de zinco é estável no intervalo de pH de 8,5 a 9,5 enquanto que o complexo de cobre é estável em pH de 5,0 a 9,5 /107/.

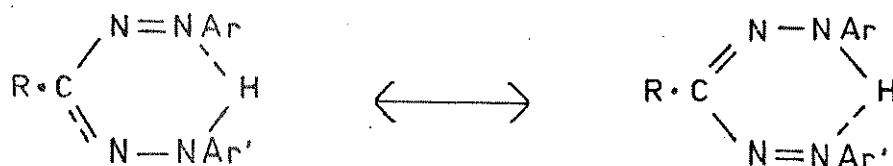
A solução do reagente, preparada em meio de NaOH, é estável por uma semana. Se conservada em geladeira, este período aumenta podendo atingir a 30 dias, sem diferença significativa no valor da absorbância medida /35/. Outra maneira de aumentar este período de estabilidade é dissolver o zincon em etanol ao invés de usar solução de NaOH /1/.

O zincon apresenta absorção máxima em 470 nm /107/, sendo um derivado dos compostos de formazano. Estes compostos são preparados pelo acoplamento de compostos de diazônio com aldeídoarilhidrazona. Podem ser representados pelas seguintes estruturas /44, 145/:

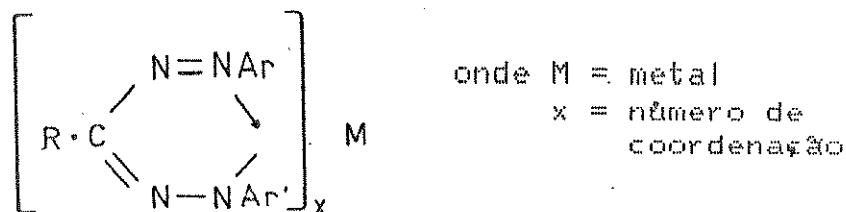


O átomo de hidrogênio da amina está ligado, alternadamente, a dois átomos de nitrogênio. Esta tautomeria não foi satisfatoriamente comprovada e, além disso, foram isolados isômeros com estruturas correspondentes à (I) e (II). Estudos posteriores mostraram que a tautomeria podia ser atribuída a uma estrutura de coordenação interna formada pela ligação do hidrogênio com um átomo de nitrogênio /44/. Isto é mostra-

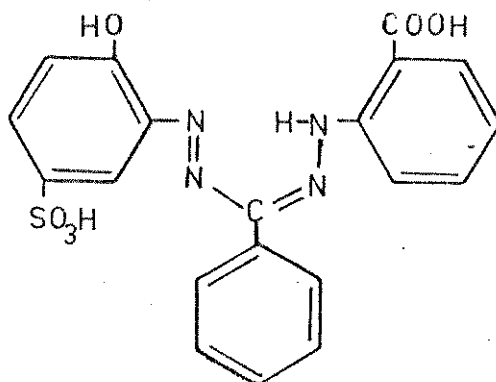
do pelas estruturas de ressonância abaixo.



Uma série de derivados metálicos foi preparada a partir de compostos de formazano pela troca do átomo de hidrogênio da amina por um equivalente do metal, evidenciando a estrutura de quelato destes compostos.

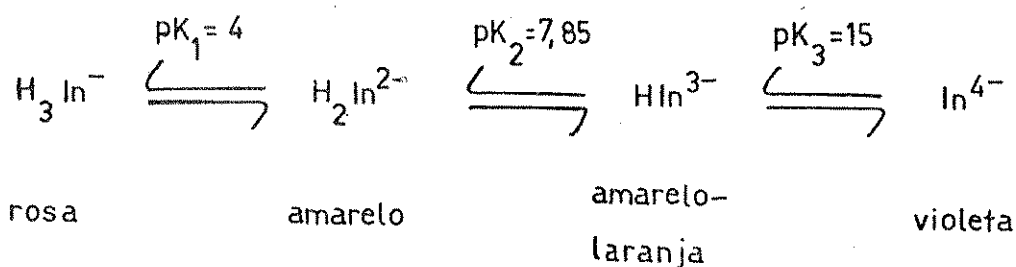


O zincon apresenta-se, geralmente, na forma de sal monossódico ($C_{20}H_{15}N_4NaO_6S$), que possui três hidrogênios ácidos: um carboxílico ($-COOH$), um fenólico ($-OH$) e um do grupo amina secundária ($=NH$).



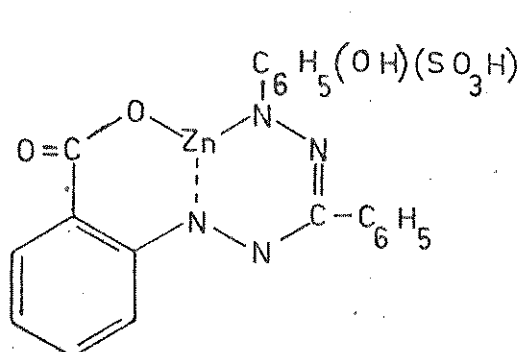
ZINCON

A instabilidade do reagente tornou difícil as tentativas de estudar suas propriedades ácido-básicas. Apesar disso, foi feito um estudo das constantes de equilíbrio do zincon /115/. As etapas de ionização do reagente são

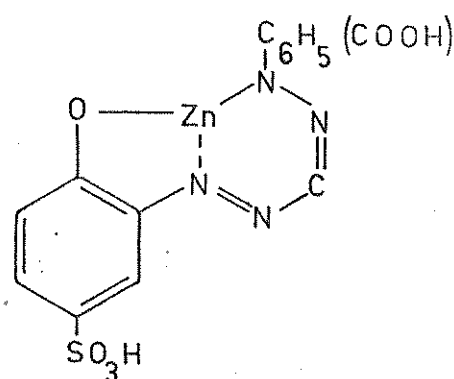


O hidrogênio carboxílico é perdido em pH próximo de 4; em pH mais ácido o reagente se decompõe facilmente. As espécies H_2In^{2-} e HIn^{3-} correspondem à faixa de pH de 5,9 a 10,0. A forma violeta, quando o indicador está totalmente ionizado, é obtida somente em meio 10 M de NaOH.

O complexo zinco-zincon pode ser representado estruturalmente por uma das duas fórmulas a seguir /145/. Em (1) ocorre a ligação do zinco por eletrovalência, pela substituição do H do grupo carboxílico e o da amina secundária; em (2) há a ligação ao grupo fenólico, substituindo o H do grupo hidroxílico e o da amina secundária. O metal completa o anel por meio de uma covalência de coordenação, em ambos os casos. Estruturas semelhantes representam o complexo cobre-zincon.



(1)



(2)

O trabalho de Yoe e Rush despertou grande interesse e, a partir de então, diversas publicações tem sido feitas utilizando o reagente zincon para determinação de zinco, cobre e outros metais.

Assim, Kinnunen e Merikanto /55/ substituem Negro de Eriocromo T por zincon, como indicador interno, para titulações com EDTA, em pH de 9,0 a 10,0. Outros metais presentes na solução são determinados pela adição de excesso de EDTA e titulação com solução padrão de zinco.

Cálcio pode ser titulado, em presença de magnésio, com EGTA usando zincon como indicador /104, 115/. Se zinco estiver presente na amostra, pode ser determinado por titulação com solução de dihidrossulfato de tetraetilenopentamina e zincon, antes de titular o cálcio com EGTA. Quando o complexo zinco-

geralmente, pelo uso de uma resina de troca iônica.

Um método chamado *colorimetria de troca iônica* foi desenvolvido para a determinação de zinco com zincon /141/. A amostra, contendo zinco, passa por uma resina de troca iônica onde o metal é retido pela passagem de uma solução 2 M de cloreto e, em seguida, transformado num complexo colorido com o reagente. Um procedimento semelhante é seguido para a determinação de cobre com zincon /140/.

Margerum e Santacana /69/ estudaram vários métodos para determinação de traços de zinco, entre eles um que utiliza zincon após a separação dos interferentes pelo uso de resina de troca iônica. O método fornece bons resultados quando a vazão na coluna é bastante lenta, de forma a estabelecer o equilíbrio iônico.

O uso de coluna com resina de troca iônica é grandemente utilizado para determinar zinco com zincon em diferentes amostras como vinhos /45, 51/, plantas /64/ e fertilizantes /96/. Um método para determinar nanogramas de zinco foi desenvolvido /33/. Empregando um trocador iônico fortemente básico pode-se atingir um limite de detecção de 4 ng Zn/gota. O método permite a detecção de cobre, também em pequenas quantidades, quando o pH é baixo, mesmo em presença de zinco.

Matsui /71/ utilizou cromatografia de troca iônica para separar íons interferentes na determinação de zinco com zincon, em águas, empregando sistema automático. Com este método, de 2,0 a 15,0 µg de zinco podem ser determinados sem interferência e com erro não superior a 3%. O mesmo estudo foi feito para determinação de manganês em águas /72/.

Utilizando cromatografia em papel, *Frierson et al.* /32/ separaram pequenas quantidades de cobalto, níquel, cobre e zinco, determinando os últimos espectrofotometricamente, com o reagente zincon.

A interferência de cobre é um dos maiores problemas quando se determina zinco com zincon devido à semelhança da natureza química dos dois elementos. *Maier* /63/ eliminou a interferência do cobre sem fazer uso de extração ou de resina de troca iônica. Para isso, adicionou à amostra cianoacetamida, que mascara o cobre.

Para evitar o uso de resina de troca iônica um método rápido foi desenvolvido adicionando cianeto à amostra, complexando os metais pesados /95/. O zinco, que também é complexado, é liberado com hidrato de cloral e o complexo zinco-zincon formado em pH 9,0 tem sua absorbância medida.

Apesar do trabalho envolvido, o método que utiliza extração é bastante usado para determinar zinco. *Sadilková* /116/ determinou o metal em água, usando extração com dietilditiocarbamato em clorofórmio. Zincon foi o reagente colorimétrico usado na determinação espectrofotométrica. O íon ferro interfere grandemente sendo, por isso mascarado com citrato antes da extração.

Scroggie e Dean /118/ separaram zinco de cátions interferentes através de extração com triisooctilamina em metilisobutilcetona.

Gallo /35/ determinou zinco em plantas pelo

método espectrofotométrico do zincon, separando os íons interferentes pela extração do íon clorozincato em solução 2 M de HCl com triisooctilamina, após redução do íon férrico e complexação do cobre.

Para a análise de plantas, especialmente aveia, feijão e soja, o zincon é utilizado após extração com benzeno /54/ ou com ditizona em CCl_4 /78/.

A determinação de cobre com zincon, em águas, pode ser feita utilizando-se extração com zefiramina /127, 128/. Há a formação do complexo entre cobre (II), zincon e zefiramina na razão 1:1:2 que pode ser extraído em pH de 7,5 a 9,5, com clorofórmio.

Um complexo ternário formado entre cobre, zincon e capriquat (cloreto de metiltrioctilamônio), na razão de 1:1:2, é extraído com clorofórmio. A absorbância da fase extraída é medida sendo maior quando o pH está situado entre 6,8 e 10,5 /131/.

Um estudo para a determinação espectrofotométrica de cobre em presença de zinco foi realizado por Yoshio /142/, onde o íon complexo "crown-ether" (*) de potássio extrai o complexo cobre-zincon com clorofórmio quando em presença do complexo zinco-zincon. Em presença de íon de amônio quaternário, ambos os complexos são extraídos.

Tanno /129, 130/ desenvolveu um método que utiliza analisador automático para determinação de cobre em água, com zincon.

Sherma e Smolens /120/ separaram cobre de ligas de metais por troca iônica utilizando cromatografia em papel. A determinação do metal foi feita espectrofotometricamente, utilizando o reagente zincon.

Mc Call et. al. /73/ determinaram zinco e cobre, sequencialmente, em tecidos animais, usando zincon como reagente colorimétrico e EDTA para destruir o complexo zinco-zincon. Este complexo tem absorbância máxima em 620 nm, enquanto a do complexo cobre-zincon é máxima em 595 nm. Em 610 nm ambos apresentam igual absorbância. Desta forma, mede-se a absorbância referente aos dois complexos, neste comprimento de onda e, em seguida, pela adição de EDTA, o complexo zinco-zincon é destruído podendo-se medir a absorbância do complexo cobre-zincon. O zinco é determinado pela diferença das medidas feitas.

Maier e Kaykendall /65/ estudaram o efeito de diversos agentes complexantes, como EDTA e dihidroxietilglicinato de sódio, na determinação de zinco e cobre com zincon. Com excessão de dihidroxietilglicinato de sódio, todos os agentes complexantes estudados mascaram o zinco sem interferir no cobre, quando adicionados depois do tampão e do zincon. Assim, pode-se calcular o conteúdo de zinco e cobre na ausência do agente complexante e, após a adição deste, determina-se a concentração de cobre. Por diferença, obtêm-se a concentração de zinco.

.....
(*) "Crown-ether": oligoéteres cíclicos sintéticos, cuja estrutura espacial corresponde a uma coroa /57/.

CAPITULO III

PARTE EXPERIMENTAL

III.1 - MATERIAL

- Espectrofotômetro Zeiss, modelo DMR-21, com células de 1,0 cm, para obtenção dos espectros dos complexos zinco-zincon e cobre-zincon e do reagente zincon, nas regiões do visível e do ultravioleta.

- Espectrofotômetro Zeiss, modelo PM2, para leituras de absorbância em comprimento de onda fixo, usando cela de fluxo Zeiss de 80 μ l e caminho ótico de 10 mm.

- Registrador X-Y (Hewlett-Packard) modelo 7004 B

- Bomba Peristáltica Rabbit, com 8 canais, para bombeamento de amostras e reagentes.

- Tubos de bombeamento de Tygon, marca Technicon, com capacidade de vazão de fluido adequada para cada solução.

- Linhas de transmissão e bobinas de reação e de mistura, feitas com tubos de polietileno (CPL-ref. 90; 0,8 mm de diâmetro interno).

- Injetor tipo proporcional modificado /15, 101/, construído em acrílico, para injeção de amostras e reagentes (Figura III.1)(*).

- Conectores de acrílico, utilizados para confluência de reagentes a 180°(*).

- Microbureta Metrohm, para transferência de soluções-padrão, utilizando ponteiras de 0,5000 e 5,000 ml.

- pHmetro Micronal, modelo B 221, com eletrodo combinado de vidro-calomelano, para medidas de pH.

.....

(*) : Injetores, conectores e outras partes do sistema de AIF, utilizados neste trabalho, foram construídos nas oficinas do Instituto de Química da UNICAMP.

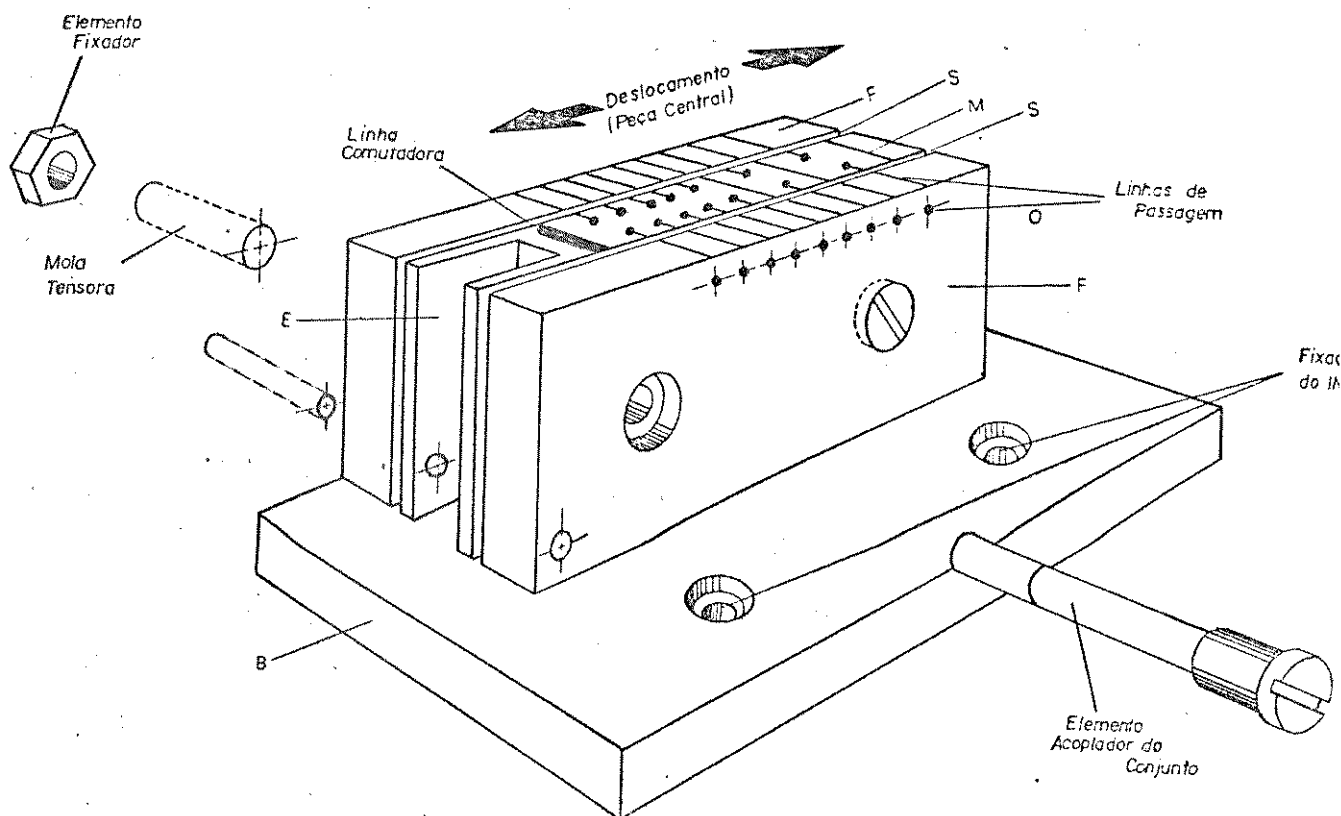


Figura III.1 - Injetor tipo proporcional modificado /15/ utilizado para injeção de amostras e/ou do reagente zincon.

B: base de apoio para a fixação; E: encaixe para acoplar a alavanca, através da qual o injetor é operado; F: partes externas fixas; M: peça central móvel; O: orifícios cônicos para encaixe das linhas de transmissão; S: tiras de borracha de silicone para vedação.

Os parafusos laterais devem ser regulados no sentido de se evitarem vazamentos, sem tornar difícil a comutação /106/.

III.2 - SOLUÇÕES

Solução-Padrão de Zinco

Preparada a partir de zinco metálico granulado (Baker), pureza 99,8%. Pesa-se 0,9999 g de zinco metálico (previamente tratado com solução de HCl 2%, para eliminar possíveis contaminações na superfície), dissolvendo-o por adição de HCl 1:1 (5 ml) e aquecimento. Após a dissolução, a solução é diluída a 1 l com água deionizada e estocada em frasco plástico. A concentração final da solução é de 998 µg Zn/ml. A partir desta solução são feitas diluições adequadas, quando necessário.

Solução-Padrão de Cobre

Preparada a partir de $\text{CuSO}_4 \cdot 5\text{H}_2\text{O}$ (Merck). Dissolve-se 3,9295 g de $\text{CuSO}_4 \cdot 5\text{H}_2\text{O}$ em 1000 ml de água deionizada. A solução é padronizada com $\text{Na}_2\text{S}_2\text{O}_3 \cdot 5\text{H}_2\text{O}$ 0,02 N /10/. A 25 ml da solução de cobre (II) são adicionados 3,0 g de KI e 5 gotas de H_2SO_4 10%, deixando em repouso por 5 minutos em lugar escuro até a reação se completar. O iodo liberado é titulado com solução padrão de tiossulfato de sódio adicionando-se 3 ml de solução de amido próximo ao ponto final. A titulação prossegue até o desaparecimento da cor azul. A concentração final da solução é de 1044 µg Cu/ml e as diluições necessárias são feitas a partir desta solução.

Soluções-Tampão a pH 5,8-8,0

Preparadas a partir de solução de dihidrogenofosfato de potássio 0,1 M e solução de hidróxido de sódio 0,1 M.

Soluções-Tampão a pH 8,0-10,2

Preparadas a partir de solução de ácido bórico em cloreto de potássio 0,1 M e hidróxido de sódio 0,1 M.

As soluções-tampão são preparadas segundo procedimento recomendado por Clark-Lubs /34/.

Solução do Reagente Zincon

Preparada pela dissolução de 0,025 g de zincon (Koch Light, puro) finamente pulverizado, em 0,25 ml de solução 1 M de NaOH, elevando-se o volume a 100 ml com água deionizada. Como a solução é instável, deve ser preparada semanalmente e guardada em frasco escuro envolto em papel alumínio.

Soluções de Ions Interferentes

São preparadas soluções dos íons Al(III) , Bi(III) , Cd(II) , Co(II) , Cr(III) , Cu(II) , Fe(III) , Hg(II) , Mn(II) , Mo(VI) , Ni(II) , Ti(IV) , V(V) , Zn(II) , Cl^- , NO_3^- e SO_4^{2-} , conforme descritas no Apêndice.

As soluções de Ti(IV) e V(V) são preparadas segundo procedimento descrito por Baccan /9/ e as soluções de Bi(III) e Fe(III) como recomendado por Marczenko /68/. As demais, foram preparadas conforme descrito por West /143/.

III.3 - AMOSTRAS

Produto Farmacêutico

As amostras são preparadas conforme o procedimento descrito a seguir.

Pesa-se um comprimido do medicamento (Stesstabs). Tritura-se em gral de vidro até reduzi-lo a um pó fino. Pesa-se cerca de 0,3 gramas de material e adicionam-se 10 ml de HNO_3 conc. Leva-se à chapa quente até quase secar, adicionam-se 10 ml de HCl conc. e evapora-se até quase secar. Filtra-se e dilui-se à 50 ml. A solução contém, aproximadamente, 100 ppm de zinco e 13 ppm de cobre. Medem-se alíquotas, ajusta-se o pH em torno de 8,0 - 9,0 com auxílio de fenolftaleína e solução de NaOH ; a seguir, introduz-se a amostra no sistema seqüencial e mede-se a absorbância.

III.4 - SEPARAÇÃO DOS IONS INTERFERENTES

Como o zinco forma complexo com um grande número de metais, além do zinco e do cobre, a presença de interferentes durante a análise de diferentes amostras é muito grande. Alguns métodos para eliminar as interferências são sugeridos a seguir.

Resina de Troca Iônica

Segundo o procedimento descrito por Kraus/58/ a maioria dos íons interferentes encontrados em amostras de vegetais e fertilizantes pode ser eliminada pelo uso de uma coluna com resina de troca iônica (Dowex 1-X8, na forma de Cl^-). O cobre é eluído com solução de HCl 2,5 M e o zinco, com solução de HCl 0,005 M.

Neste trabalho estuda-se a separação de íons interferentes utilizando coluna com resina de troca iônica (1,6 g de resina Bio-Rad 1-X8, na forma de Cl^-). Para determinar o volume necessário para a eluição de zinco com HCl 0,005 M prepara-se uma solução $1,0 \mu\text{g} \cdot \text{ml}^{-1}$ de Zn e mede-se a absorbância diretamente, sem passar pela resina. A seguir, prepara-se uma solução contendo quantidade equivalente de Zn, que é introduzida na cabeça da coluna. O zinco é eluído com 20, 30, 40 e 50 ml de HCl 0,005 M. Os resultados das absorbâncias medidas encontram-se na Tabela III.1, observando-se que, com 40 ml de HCl 0,005 M, todo o zinco adsorvido na coluna é eluído. Desta forma, quando se utiliza o sistema seqüencial, usam-se 40 ml de HCl 4 M que retém cobre, ferro e zinco, eluídos com 40 ml de HCl 0,005 M.

Tabela III.1 - Volume necessário para eluição completa de zinco.

Volume HCl 0,005 M (ml)	Recuperação de Zn (%)
20	91
30	91
40	100
50	100

Precipitação com NH_4OH

O ferro é um dos maiores interferentes na determinação de zinco ou cobre sendo eliminado, geralmente, pela adição de ácido ascórbico; entretanto, o cobre também é mascarado por este reagente. Testes feitos com NH_4F mostram-se ineficientes para eliminar o ferro sem interferir na concentração de zinco e cobre. McCall /73/ sugere um procedimento baseado na precipitação de ferro com NH_4OH . Para isto, coloca-se uma alíquota de amostra contendo concentração combinada total de zinco e cobre de 10 μg num tubo de centrifuga; adiciona-se NH_4OH até que a solução esteja básica e 1 ml de NaOH 6 M para facilitar a remoção de NH_4OH no final do processo. Mistura-se vigorosamente, centrifugando a solução com 3000 rpm, por 5 minutos e decanta-se o líquido sobrenadante num bêquer. Lava-se o precipitado com 5 ml de NH_4OH 3 M, centrifuga-se novamente e adiciona-se o sobrenadante àquele obtido na 1ª centrifugação. O precipitado é removido por filtração. A solução é aquecida até que o forte odor de amônia desapareça.

Extração com Dietilditiocarbamato/ Metilisobutilcetona

Outra forma de separar o ferro é através da extração com dietilditiocarbamato de sódio (NaDDC) e metilisobutilcetona (MIBK) em meio básico /102/. Neste caso, o ferro não é extraído, permanecendo na fase aquosa. O procedimento é o seguinte: Colocam-se 50 ml da solução contendo zinco, ferro e cobre num bêquer de 250 ml. Acrescentam-se 75 ml de água deionizada e 20 ml de solução 50 % de citrato de amônio. Ajusta-se o pH para 9,5 com amônia concentrada e transfere-se para um funil de separação de 500 ml. Adicionam-se 20 ml de solução 1 % de NaDDC e 20 ml de MIBK. Agita-se vigorosamente por 2 minutos e deixa-se separar por 15 minutos. A fase inferior é escoada para um bêquer e, em seguida, a fase orgânica (de cor marron-amarelada) para outro bêquer. A fase aquosa volta ao funil de separação e extrai-se novamente com 10 ml de MIBK. Após a separação, a fase orgânica, levemente amarelada é adicionada àquela já separada na 1ª etapa. Evapora-se em chapa quente até secar, acrescentam-se 10 ml de HNO_3 1:1 e continua-se o aquecimento até quase secar. Repete-se o tratamento com 5 ml de HNO_3 1:1. Depois de evaporado, junta-se HCl 0,1 M e transfere-se para balão de 50 ml.

Precipitação com Tioacetamida

Para fertilizantes sólidos, particularmente, pode ser utilizada a precipitação com uma solução de tioacetamida /68/ que, sob aquecimento hidroliza liberando H_2S , precipitando zinco e ferro. Para isto, pesa-se o fertilizante e precipita-se a solução com 2 ml de tioacetamida em meio amoniacal. Centrifuga-se e despreza-se o sobrenadante. Dissolve-se o precipitado com HCl 6 M. Filtra-se a solução e faz-se aquecimento em chapa quente para concentrá-la. Dilui-se com água ao volume adequado.

Extração com Éter Etilico

Também utilizada para fertilizantes, este tipo de separação extrai o Fe (III) /80/. Após o ataque químico feito à amostra, coloca-se uma alíquota contendo aproximadamente 100 μg de Zn em um funil de separação de 250 ml. Adicionam-se 25 ml de HCl 6 M e 25 ml de éter etílico. Agita-se vigorosamente durante 2 minutos. Deixam-se separar as fases durante 15 minutos. Drena-se a fase aquosa para um bêquer e leva-se à chapa quente para concentrar a solução que, em seguida, é introduzida na cabeça de uma coluna com resina de troca iônica.

III.5 - CONFIGURAÇÕES UTILIZADAS

III.5.1 - DETERMINAÇÃO DE ZINCO E DETERMINAÇÃO DE COBRE

Testes preliminares utilizando sistema em linha única /108/ mostram baixa sensibilidade, além do elevado consumo do reagente zincon. Como a formação dos complexos zinco-zincon e cobre-zincon, em pH adequado, é rápida /107, 139/, o uso de configurações como aprisionamento da amostra /59/, reamostragem da zona dispersa /100/ e fluxos intermitentes /109, 146/, que aumentam o tempo de residência, t_R , não se faz necessário.

Assim, para a determinação de zinco e de cobre, separadamente, com o reagente zincon, são utilizadas as configurações referentes aos sistemas reverso de Análise por Injeção em Fluxo /49/ (Figura III.2), com zonas coalescentes /15/ (Figura III.3), em confluência /14/ (Figura III.4) e reverso em confluência (Figura III.5). A determinação de zinco é feita em 620 nm e a de cobre, em 600 nm.

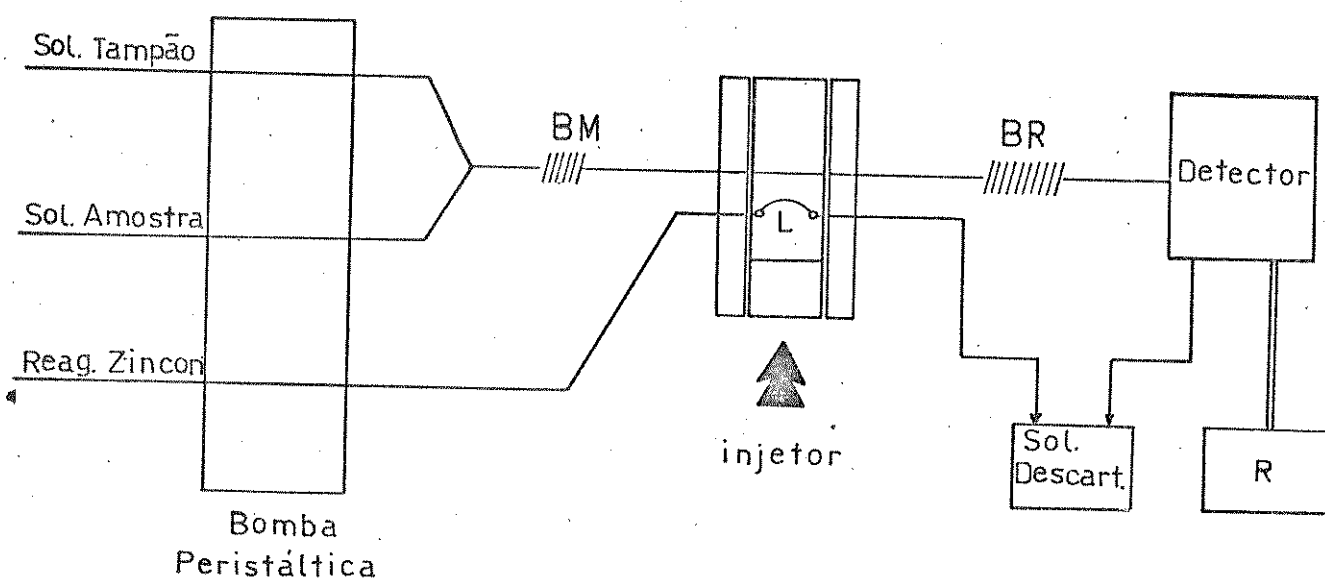


Figura III.2 - Sistema reverso de Análise por Injeção em Fluxo utilizado para determinação de zinco e de cobre com zincon.

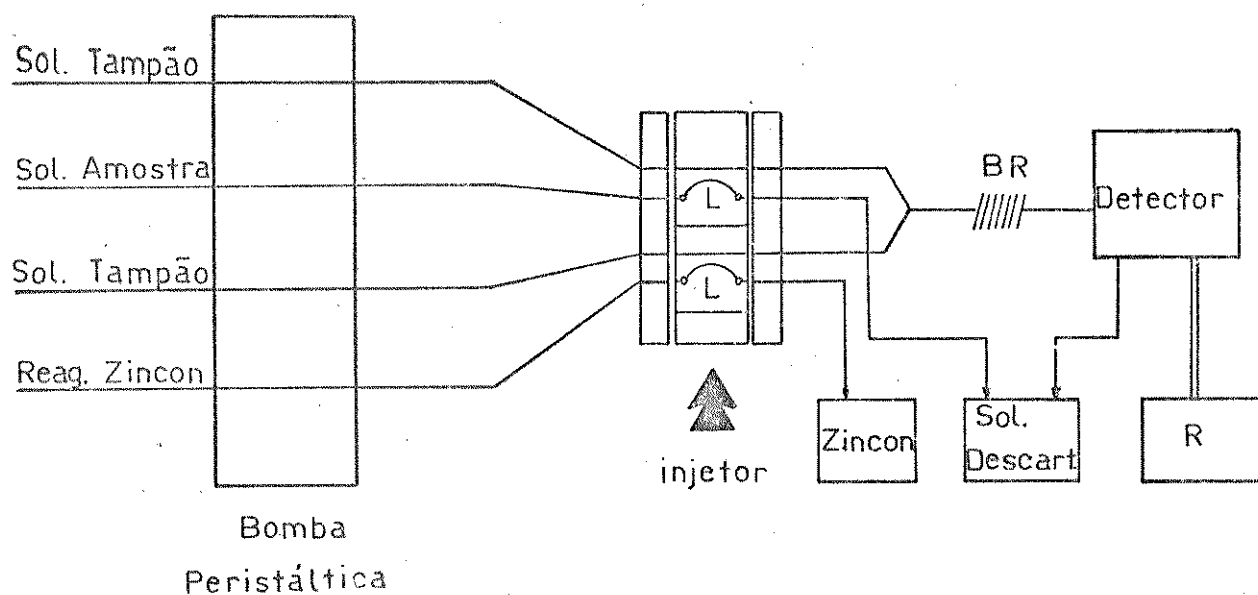


Figura III.3 - Sistema com zonas coalescentes de Análise por Injeção em Fluxo utilizado para a determinação de zinco e cobre com o reagente zincon.

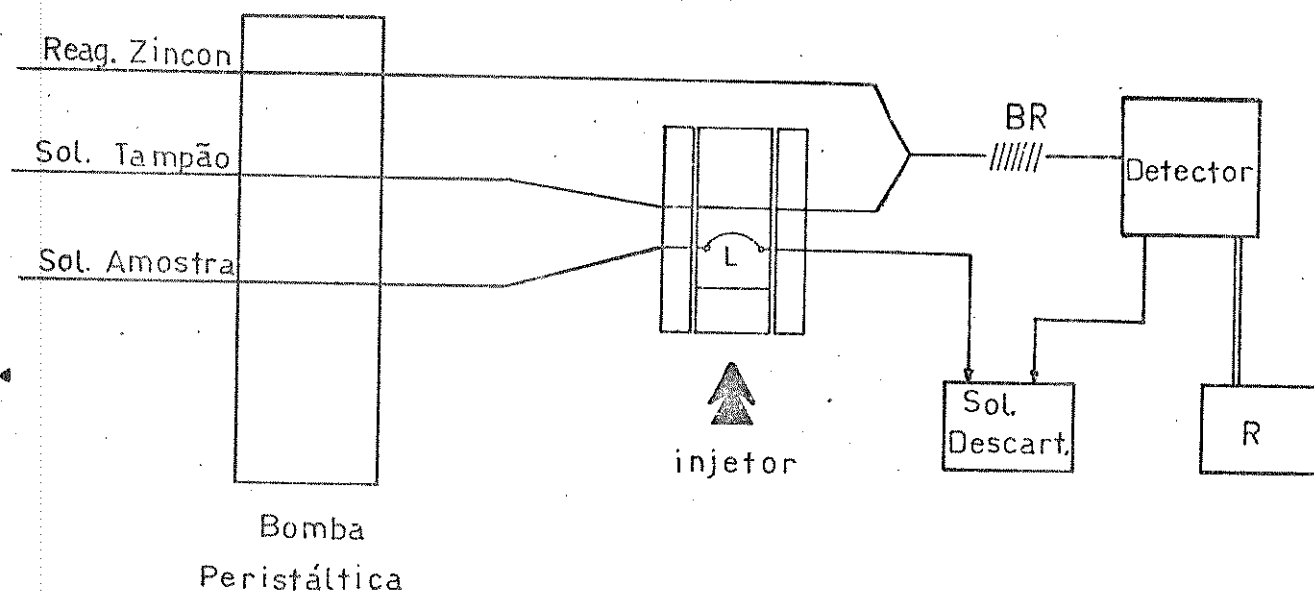


Figura III.4 - Sistema em confluência de Análise por Injeção em Fluxo utilizado para determinação de zinco e cobre com zincon, mostrando injetor na posição de amostragem.

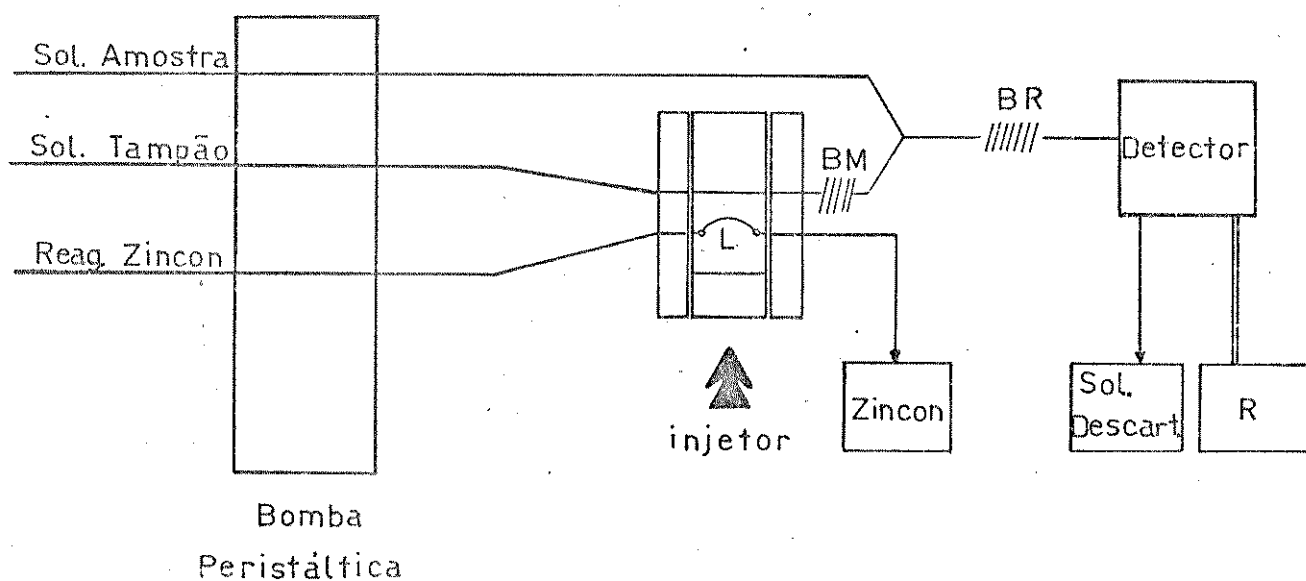


Figura III.5 - Sistema reverso em confluência de Análise por Injeção em Fluxo utilizado para determinação de zinco e cobre com o reagente zincon.

III.5.2 - DETERMINAÇÃO SEQUENCIAL DE ZINCO E COBRE

Para a determinação sequencial de zinco e cobre com zincon, em 610 nm, utiliza-se o sistema reverso de Análise por Injeção em Fluxo descrito na Figura III.6.

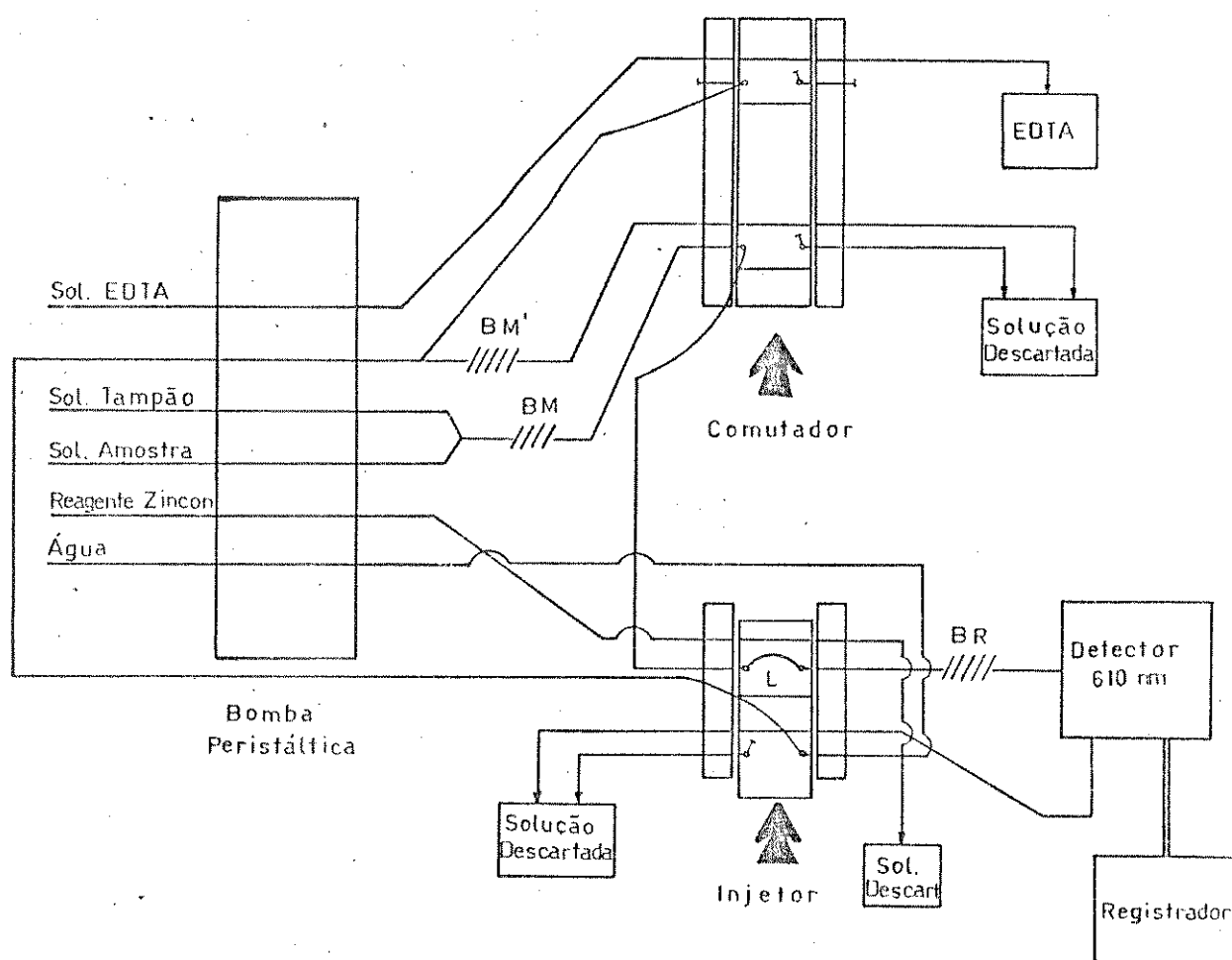


Figura III.6 - Sistema reverso de Análise por Injeção em Fluxo utilizado para a determinação sequencial de zinco e cobre com zincon mostrando o injetor na posição de injeção da amostra.

III.6 - ESTUDO DAS PRINCIPAIS VARIÁVEIS

Para cada sistema utilizado na determinação de zinco e de cobre são avaliadas as diversas variáveis envolvidas, visando a obtenção de melhores sinais e, conseqüentemente, melhor sensibilidade e limite de detecção. As variáveis estudadas são o volume de amostra ou reagente injetado, o pH da solução tampão, o comprimento das bobinas de mistura e de reação, a concentração do reagente zincon e a vazão, estabelecendo-se, desta forma, as melhores condições para a determinação dos metais em questão. A seguir, procede-se ao estudo da dispersão para cada sistema estudado.

Como o reagente zincon não é seletivo para zinco ou cobre, torna-se necessário o estudo dos principais íons interferentes, conforme descrito no Capítulo IV.

A determinação de zinco e de cobre, separadamente e utilizando o sistema seqüencial é feita com amostras sintéticas contendo quantidades conhecidas de zinco e/ou cobre, preparadas a partir das soluções-padrão de Zn (II) e Cu (II). Estabelecidas as melhores condições para cada sistema, o método seqüencial é avaliado em amostra real de produto farmacêutico.

CAPITULO IV

RESULTADOS E DISCUSSÃO

IV.1 - A DETERMINAÇÃO ESPECTROFOTOMETRICA DE ZINCO COM ZINCON

São descritos a seguir os resultados obtidos para a determinação de zinco com zincon utilizando a técnica de Análise por Injeção em Fluxo, com diferentes configurações. Os resultados expressam a absorbância obtida pela injeção de reagentes e/ou amostras, no mínimo, em triplicata.

Um termo bastante utilizado durante o trabalho é *repetibilidade*, o qual deve ser diferenciado de *reprodutibilidade*. Enquanto reprodutibilidade indica o grau de concordância dos resultados individuais dentro de uma série de medidas repetibilidade representa o grau de concordância dos resultados obtidos numa série de medidas da mesma solução, nas mesmas condições.

IV.1.1 - DETERMINAÇÃO DE ZINCO UTILIZANDO SISTEMA REVERSO DE ANALISE POR INJEÇÃO EM FLUXO

No sistema reverso de AIF (Figura III.2, pág.31), o reagente colorimétrico é injetado na linha do carregador que consiste da mistura da solução-tampão e da amostra.

Para determinar as condições ótimas de trabalho, os estudos iniciais são feitos utilizando-se solução $1,0 \mu\text{g} \cdot \text{ml}^{-1}$ de zinco, solução 0,025 % de zincon, bobina de mistura de 75 cm e volume de injeção de 25 μl . A vazão utilizada é de $2,6 \text{ ml} \cdot \text{min}^{-1}$ sendo a solução de zinco $1,2 \text{ ml} \cdot \text{min}^{-1}$ e a solução tampão, $1,4 \text{ ml} \cdot \text{min}^{-1}$.

Inicialmente é feito um estudo para determinar o melhor pH da solução-tampão, no intervalo de 5,8 a 10,2, medindo-se a absorbância da espécie formada, variando o comprimento da bobina de reação (BR) entre 50 e 200 cm. Os dados experimentais mostram que, com bobina de 100 cm e solução-tampão a pH 9,0, obtém-se o melhor sinal.

Na bobina de reação o reagente sofre diluição na solução de zinco tamponada. Por isso, é importante determinar o comprimento com o qual se obtém a maior sensibilidade, a qual está associada à diluição do reagente na amostra. No sistema reverso de AIF, a concentração inicial da amostra na zona do reagente é nula, mas tende a crescer com o tempo, à medida em que ocorre a reação. Aumentando o comprimento da bobina de reação há um aumento na interação da amostra com o reagente, o que implica num aumento da sensibilidade /49/. No estudo realizado, a

absorbância aumenta com a bobina até 100 cm, diminuindo a seguir. Com bobinas mais longas, a diluição do reagente na amostra é muito grande e a concentração da espécie de interesse diminui até chegar ao detector.

No intervalo de pH de 5,8 a 7,6 os valores de absorbância medidos são pequenos; não há, então, formação do complexo zinco-zincon. Isto está de acordo com os resultados obtidos por Yoe e Rush/107, 139/ de que o complexo zinco-zincon é estável em pH 8,5 a 9,5, apesar de utilizarem um método estático.

Fixando-se os valores de 100 cm para a bobina de reação e 9,0 como o melhor pH da solução-tampão, estuda-se o melhor comprimento da bobina de mistura (BM). Esta bobina permite que as soluções de zinco e tampão estejam suficientemente misturadas no momento em que a solução de zincon é injetada, favorecendo uma melhor dispersão da zona do reagente. A bobina de mistura de 50 cm de comprimento mostra ser a mais adequada, dado o sinal maior obtido durante a sua utilização (Figura IV.1).

Diversas concentrações do reagente zincon são testadas observando-se que, quanto maior a sua concentração, maior a absorbância, como pode ser observado na Figura IV.2. Entretanto, para concentrações mais altas, a repetibilidade dos picos não é boa e, além disso, o tempo gasto para limpeza da cela é maior, implicando num maior gasto de reagentes. Assim, para esta configuração, a concentração de 0,025 % é considerada a mais adequada.

A solução de zincon é preparada, geralmente, dissolvendo-se 0,13 g de zincon em 2,0 ml de solução 1 M de NaOH elevando-se o volume a 100 ml com água deionizada /4, 107/. Desta forma, para solução 0,025 % de reagente, seria necessário cerca de 0,4 ml de NaOH 1 M para dissolvê-lo. Como o sistema zinco (II)/zincon depende do pH, é necessário controlar este parâmetro. Faz-se, então, um estudo visando observar o comportamento do sistema preparando o reagente com diferentes quantidades de NaOH. Observa-se pela Tabela IV.1 que, com menores quantidades de NaOH, são obtidos sinais maiores. Assim, a solução de zincon é preparada dissolvendo-se o reagente em 0,25 ml de solução 1 M de NaOH para 100 ml de solução.

Para determinar o melhor volume de reagente a ser injetado, são testados diferentes tamanhos de "loop" de injeção, cujos volumes haviam sido previamente calibrados, obtendo-se os resultados mostrados na Tabela IV. 2.

Volumes menores que 25 μ l não são testados considerando-se que a tensão do "loop", devido ao seu tamanho, provocaria vazamento do reagente. Pelos resultados da Tabela IV.2 vemos que, variando a quantidade de reagente injetado, a absorbância permanece praticamente constante. Isto mostra que, nestas condições, 25 μ l de reagente são suficientes para que a reação ocorra. Entre 40 e 80 μ l tem-se praticamente uma reta, com menor dispersão dos pontos. Testando-se a repetibilidade dos picos obtidos para estes volumes de injeção, decide-se pelo volume de 40 μ l.

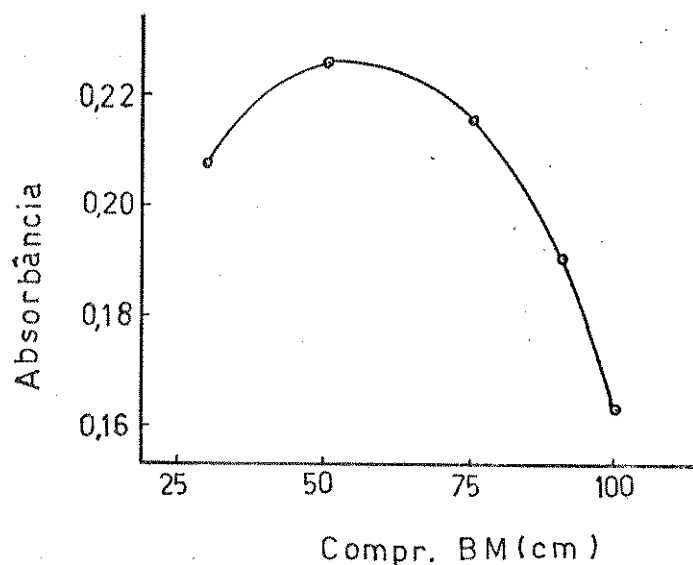


Figura IV.1 - Estudo do melhor comprimento da bobina de mistura para o sistema reverso de AIF. Vol. injeção: 25 μ l; Sol. tampão pH 9,0.

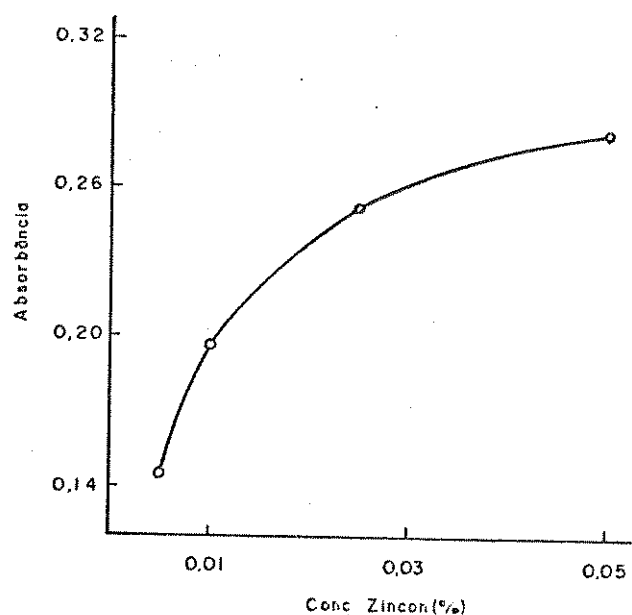


Figura IV.2 - Estudo da melhor concentração do reagente zincon na determinação de zinco. Sistema r-AIF. Bobina de reação: 100 cm; Bobina de mistura: 50 cm; Vol. injeção: 25 μ l.

Tabela IV.1 - Estudo da quantidade adequada de NaOH para preparar a solução do reagente. Conc. Zn: $1,0 \mu\text{g}.\text{ml}^{-1}$

Quantidade de NaOH 1 M (ml/100 ml)	Absorbância
0,25	0,286
0,50	0,284
1,00	0,275
1,50	0,272
2,00	0,272

Tabela IV.2 - Estudo do melhor volume de injeção do reagente na determinação de zinco com o sistema reverso de AIF. Conc. zinco: 0,025 %; Sol. tampão pH 9,0; Vazão: $2,6 \text{ ml. min}^{-1}$

volume injetado (μl)	Absorbância
25	0,218
30	0,222
35	0,223
40	0,221
45	0,222
50	0,222
60	0,222
70	0,222
80	0,223
90	0,221
100	0,219

O teste de consistência do pH e do comprimento da bobina de reação com os demais parâmetros estabelecidos confirma os resultados obtidos inicialmente, isto é, com bobina de 100 cm e solução-tampão pH 9,0, obtêm-se os melhores resultados (Figura IV.3). Com excessão da bobina de reação de 200 cm, onde o melhor pH da solução-tampão é 9,2, observam-se valores de absorbância máximos em pH 9,0, para as demais bobinas testadas.

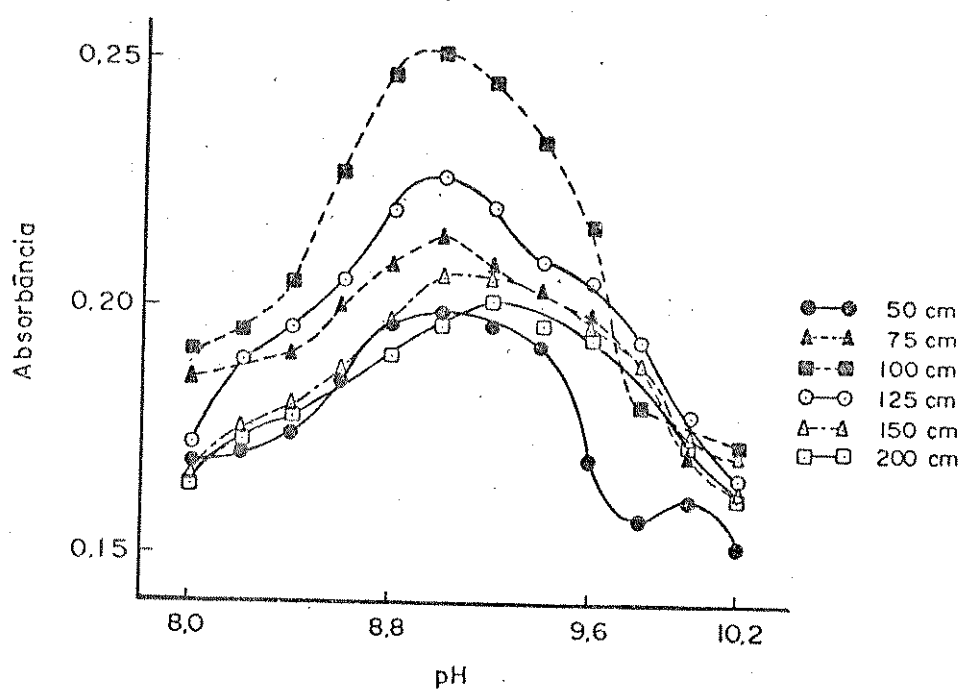


Figura IV.3 - Estudo da consistência do pH e do comprimento da bobina de reação com os parâmetros investigados. Sistema reverso de AIF. Vol. injeção: 40 μ l Bobina de mistura: 50 cm; Conc. zin-con: 0,025 %

A vazão utilizada num sistema de AIF é um dos parâmetros que determinam a dispersão. No sistema reverso, onde a amostra é o carregador, um aumento da vazão favorece maiores valores de absorvância /49/. Entretanto, deve-se levar em conta a cinética da reação envolvida; se a reação tiver cinética lenta, vazões menores proporcionam maior sensibilidade. Neste estudo, diminuindo a vazão das diversas soluções do sistema, observa-se que a absorvância aumenta, como é mostrado na Tabela IV.3. Para vazões menores que $1,3 \text{ ml. min}^{-1}$ a velocidade analítica é muito baixa; assim, neste trabalho, opta-se pela vazão de $2,3 \text{ ml. min}^{-1}$ (solução de Zn = $1,1 \text{ ml. min}^{-1}$ e solução-tampão = $1,2 \text{ ml. min}^{-1}$).

Tabela IV.3 - Estudo da variação da vazão. Sistema reverso de AIF. Vol. injeção: $40 \mu\text{l}$; Conc. zincon: 0,025 % Sol. tampão pH 9,0.

Vazão (ml. min^{-1})		Absorvância
Sol. Zn	Sol. Tampão	
1,4	1,6	0,227
1,2	1,4	0,237
1,1	1,2	0,247
1,0	1,1	0,258
0,9	1,0	0,275
0,7	0,8	0,287
0,6	0,7	0,297
0,4	0,5	0,321

A Figura IV.4 mostra a curva de calibração obtida para o sistema reverso de AIF utilizando-se as melhores condições determinadas experimentalmente. O sistema zinco (II)/zincon obedece a lei de Beer no intervalo de concentração de 0,05 a 2,0 $\mu\text{g}.\text{ml}^{-1}$ ($A = 4,4 \times 10^{-3} + 2,1 \times 10^{-1} [\text{Zn}]$ ($\mu\text{g}.\text{ml}^{-1}$); coeficiente de correlação $r = 0,998$). O limite de detecção, considerando-se a relação sinal/ruído igual a três, tem o valor calculado de 6 $\text{ng}.\text{ml}^{-1}$ /86/. O desvio padrão para 20 determinações em replicata varia de 2,9 % para 0,10 $\mu\text{g}.\text{ml}^{-1}$ a 0,9 % para 2,0 $\mu\text{g}.\text{ml}^{-1}$ com desvio padrão relativo (DPR) mínimo de 0,8 % para 0,8 $\mu\text{g}.\text{ml}^{-1}$.

A Figura IV.5 mostra sinais típicos do sistema reverso de análise por injeção em fluxo, obtidos diretamente do registrador.

Yoe e Rush /107, 139/ fizeram a determinação de zinco com zincon utilizando solução-tampão Clark-Lubs; da mesma forma, utiliza-se este tipo de tampão no presente trabalho. Morris /79/, determinando mercúrio com zincon, fez um estudo de diferentes soluções-tampão no pH mais adequado, observando que o tampão inicialmente utilizado (dihidrogenofosfato de potássio com NaOH - pH 7,2) podia ser substituído pelo tampão Clark-Lubs pH 8,2 (ácido bórico em cloreto de potássio com NaOH), sem perda de sensibilidade.

Sabendo-se que o melhor pH para formação do complexo zinco-zincon no sistema reverso é 9,0, são testados outros tipos de solução tampão, no mesmo pH. Utilizando solução tampão de $\text{NH}_4\text{Cl}/\text{NH}_4\text{OH}$ e solução de ácido cítrico com hidróxido de amônio, são obtidos picos de alturas muito menores que as obtidas com a solução Clark-Lubs. O pH das soluções coletadas na saída da cela, após a injeção do zincon, corresponde sempre, àquele da solução inicial. A razão de não haver formação do complexo com outro tipo de tampão que não Clark-Lubs deve-se, possivelmente, à presença de íons que interferem na reação de interesse. A Figura IV.6 mostra o efeito das diferentes soluções-tampão na formação do complexo zinco-zincon.

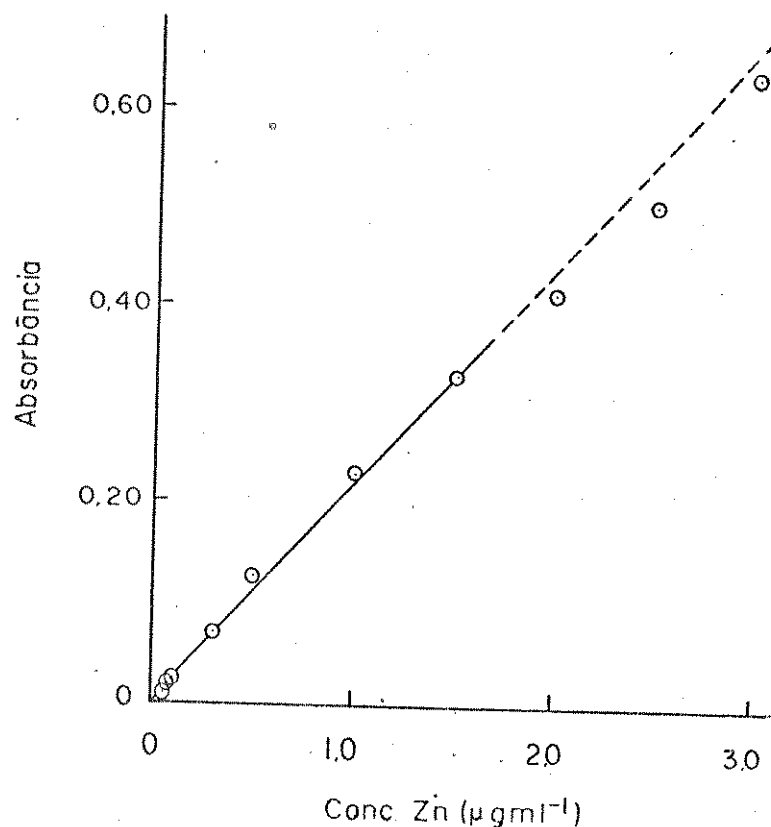


Figura IV.4 - Curva de calibração de zinco nas melhores condições determinadas experimentalmente para o sistema reverso de AIF.

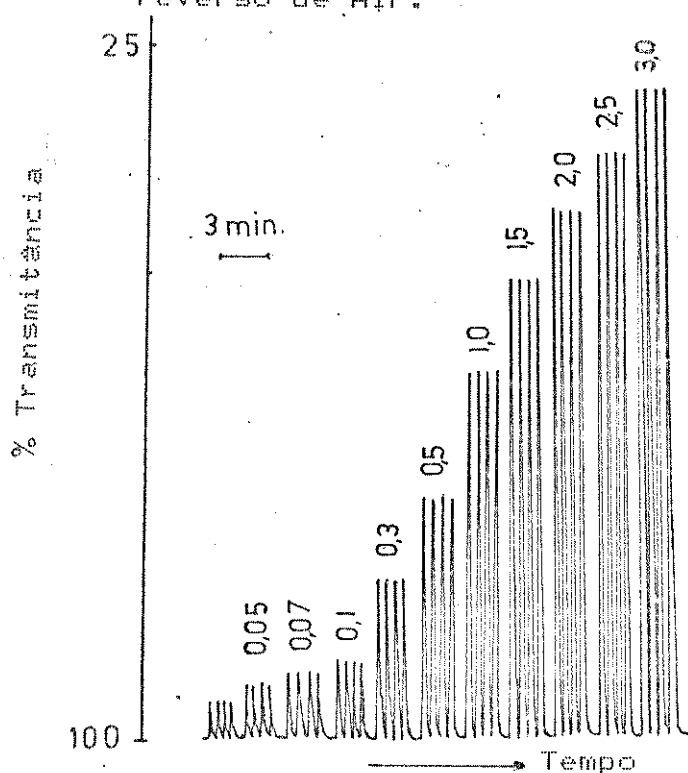


Figura IV.5 - Sinais típicos para o sistema reverso de AIF, obtidos diretamente do registrador.

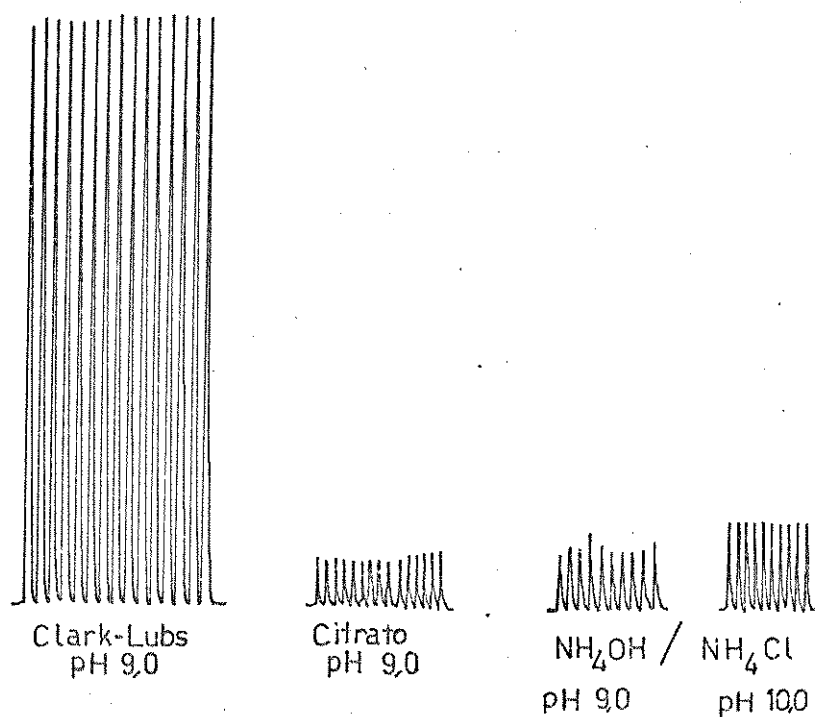


Figura IV.6 - Efeito de diferentes soluções-tampão na formação do complexo zinco-zincon, utilizando sistema reverso de análise por injeção em fluxo.

IV.1.2 - DETERMINAÇÃO DE ZINCO UTILIZANDO SISTEMA COM ZONAS COALESCENTES

No sistema com zonas coalescentes (Figura III.3, pág.32), a amostra e o reagente colorimétrico são introduzidos em fluxos de carregadores separados. Neste caso, o carregador para ambos, amostra e reagente, consiste na solução-tampão que fornece o meio básico necessário para a formação do complexo zinco-zincon. É importante observar, quando se utiliza este sistema, que o volume de injeção deve ser igual nos dois "loop", de amostra e de reagente; a distância entre o ponto de injeção e o ponto de confluência, a ser percorrida pelas misturas solução-tampão/solução de zinco e solução-tampão/solução de zincon deve ser igual, bem como a vazão das duas linhas do carregador. Estas condições são necessárias para garantir a perfeita mistura das soluções /15/.

Para determinar a melhor distância a ser percorrida pelos reagentes antes do ponto de confluência - distância x - e o melhor comprimento da bobina de reação, utiliza-se solução tampão pH 9,4 e volume de injeção de 40 μ l. Os testes são feitos com solução 1,0 μ g.ml⁻¹ de zinco e concentração de zincon 0,025 %. A vazão do sistema é de 2,4 ml.min⁻¹.

Variando o comprimento da bobina de reação para diferentes comprimentos de x , observa-se que os valores de absorbância são maiores para comprimentos de bobinas menores. Isto se deve ao fato da amostra estar sendo diluída no carregador; desta forma, quanto menor o caminho a ser percorrido até o detector, menor a diluição e, conseqüentemente, maior o sinal da espécie de interesse. Os melhores valores são obtidos com x igual a 10 cm e bobina de 50 cm de comprimento.

Como a amostra está sendo diluída no carregador, é evidente que o sinal obtido será maior quanto maior for o seu volume introduzido no sistema. Os dados experimentais mostram que, à medida que se aumenta o volume de amostra e reagente injetados, a absorbância também aumenta. Entretanto, para volumes superiores a 90 μ l, a repetibilidade dos picos torna-se difícil. Desta forma, o volume de 90 μ l é considerado o mais adequado. A Tabela IV.4 mostra os resultados obtidos.

A Figura IV.7 mostra o efeito da concentração do reagente na absorbância medida. Quanto maior a concentração da solução de zincon, maior é o sinal obtido. Para este trabalho, é utilizada solução 0,025 % ressaltando, porém, que para amostras que contenham pequenas quantidades de zinco, é aconselhável o uso de solução mais concentrada do reagente.

Variações do pH no intervalo de 8,0 a 10,2 praticamente não afetam os valores da absorbância. A Figura IV.8 mostra a existência de um patamar entre pH 8,8 e 9,6, onde é aconselhável trabalhar. Desta forma o pH 9,4 até então utilizado mostra-se adequado para este estudo.

A Figura IV.9 confirma, num teste de consistência obtido com as melhores condições determinadas experimentalmente, que os maiores sinais são obtidos com bobina de reação de 50 cm e distância x de 10 cm de comprimento.

Tabela IV.4 - Efeito do volume de injeção na determinação de zinco utilizando sistema com zonas coalescentes. x: 10 cm; Sol. tampão pH 9,4; Bobina de reação: 50 cm; Vazão: 2,4 ml.min⁻¹

Volume injetado (μ l)	Absorbância
30	0,063
35	0,070
40	0,077
45	0,084
50	0,090
55	0,097
60	0,101
70	0,113
80	0,119
90	0,127
100	0,142
120	0,161
150	0,180

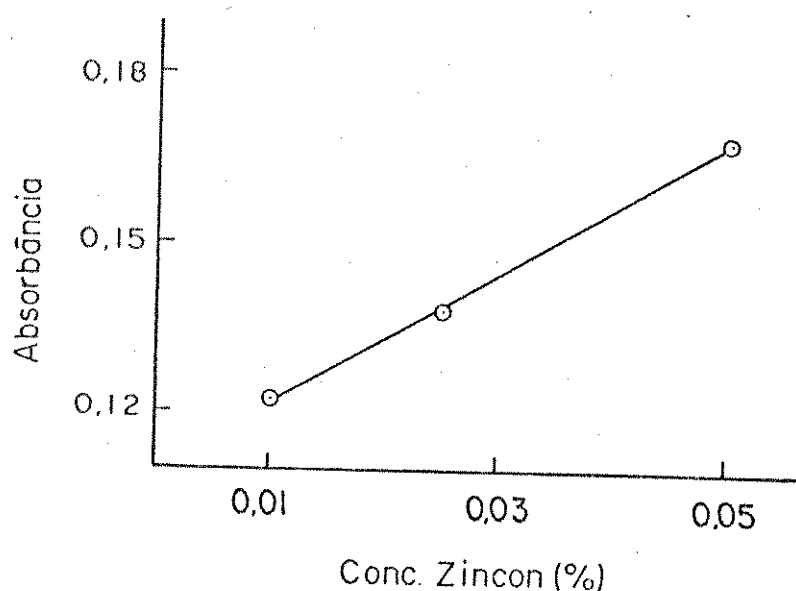


Figura IV.7 - Estudo da concentração do reagente zinco para a determinação de zinco.

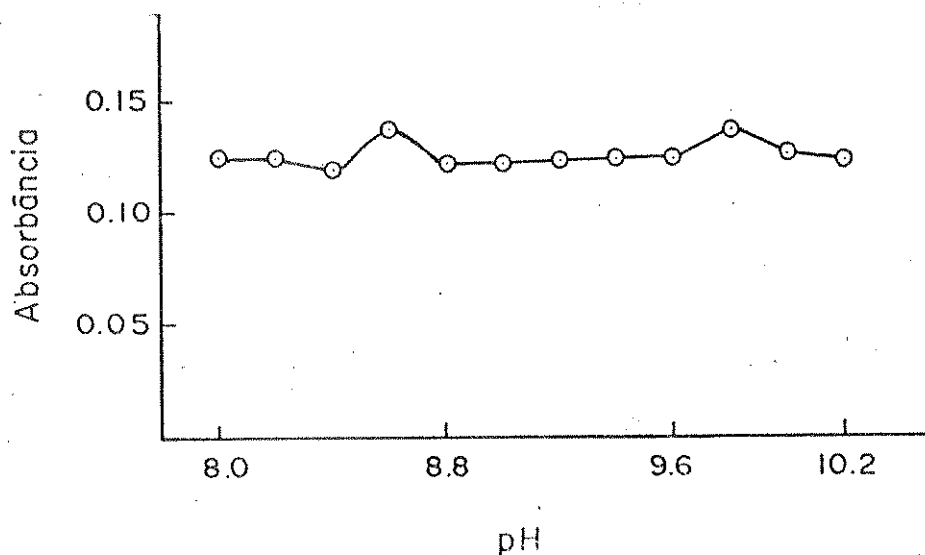


Figura IV.8 - Efeito do pH na determinação de zinco utilizando sistema com zonas coalescentes. Vol. injeção: 90 μ l; Bobina de reação: 50 cm; x: 10 cm.

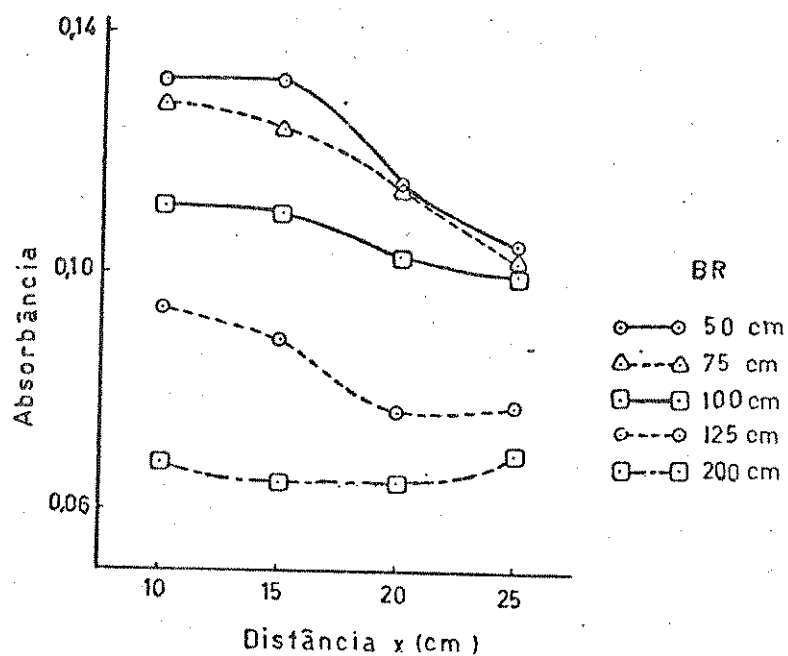


Figura IV.9 - Efeito da variação da distância x e da bobina de reação para o sistema com zonas coalescentes na determinação de zinco. Sol. tampão pH 9,4; Vol. injeção: 90 μ l; conc. zinco: 0,025 %

Alterando a vazão do sistema, observam-se pequenas mudanças nos valores de absorvância, até $1,6 \text{ ml} \cdot \text{min}^{-1}$. Abaixo deste valor, a absorvância diminui, como mostra a Tabela IV.5.

Tabela IV.5 - Estudo da vazão nas condições experimentais determinadas para o sistema com zonas coalescentes. Determinação de zinco.

Vazão ($\text{ml} \cdot \text{min}^{-1}$)	Absorvância
3,2	0,127
2,8	0,127
2,4	0,127
2,2	0,125
2,0	0,125
1,6	0,122
1,2	0,112
0,8	0,095
0,6	0,090

A curva de calibração obtida para o sistema com zonas coalescentes nas condições mais adequadas determinadas experimentalmente, é mostrada na Figura IV.10. A Figura IV.11 mostra os sinais típicos de AIF obtidos nesta configuração. O sistema zinco (II)/zincon obedece à lei de Beer no intervalo de concentração de 0,1 a 8,0 $\mu\text{g}.\text{ml}^{-1}$ de zinco ($A = 9,0 \times 10^{-5} + 1,03 \times 10^{-1} [\text{Zn}]$ ($\mu\text{g}.\text{ml}^{-1}$); coeficiente de correlação $r = 0,999$). O limite de detecção calculado, considerando-se a relação sinal/ruído igual a três, é igual a 12 $\text{ng}.\text{ml}^{-1}$ /86/. O desvio padrão para 20 determinações em replicata varia de 3 % para 0,5 $\mu\text{g}.\text{ml}^{-1}$ a 1,4 % para 8,0 $\mu\text{g}.\text{ml}^{-1}$ com DPR mínimo de 0,9 % para 3,0 e 6,0 $\mu\text{g}.\text{ml}^{-1}$.

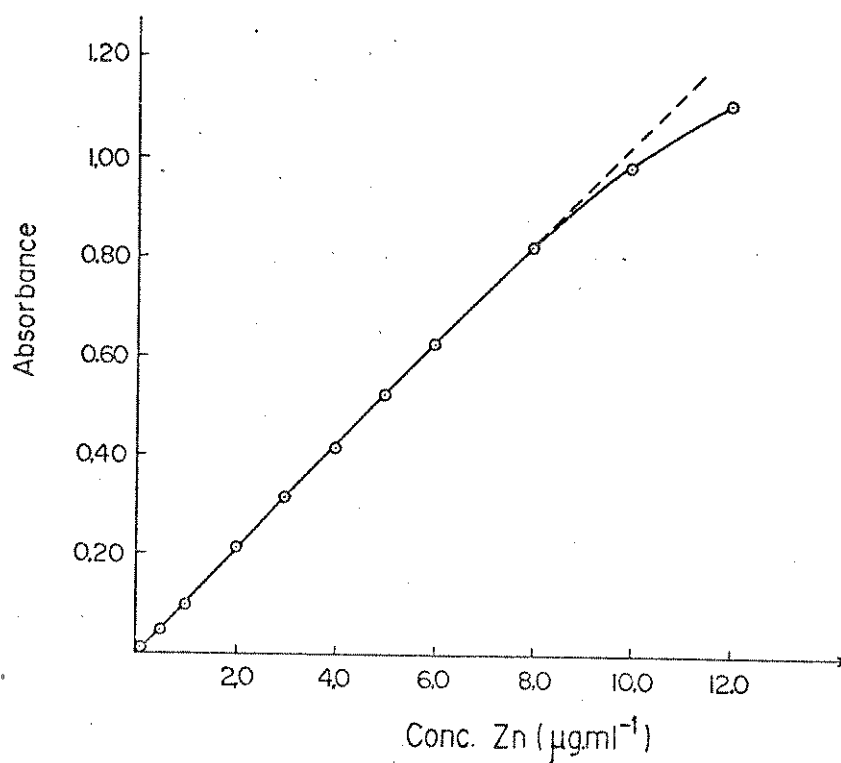


Figura IV.10 - Curva de calibração para zinco utilizando sistema com zonas coalescentes nas condições determinadas experimentalmente.

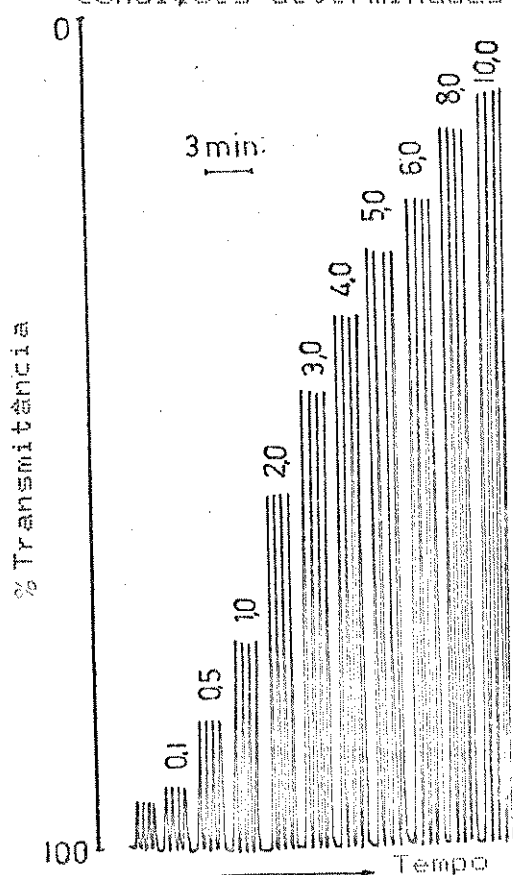


Figura IV.11. Sinais típicos de AIF para configuração com zonas coalescentes.

IV.1.3 - DETERMINAÇÃO DE ZINCO UTILIZANDO SISTEMA EM CONFLUÊNCIA

Na configuração em confluência, a amostra é introduzida no fluxo carregador (no caso, solução-tampão) e, então, entra em confluência com o reagente colorimétrico para formar a espécie de interesse. Neste caso, amostra e reagente são misturados por confluência resultando numa mistura mais rápida e eficiente do que a obtida pela formação de uma zona de amostra diluída no reagente /14, 114/. O sistema utilizado encontra-se descrito na Figura III.4, pág.33.

Para otimizar as condições de trabalho utilizando este sistema são investigadas as diversas variáveis envolvidas. Os testes preliminares são feitos com solução $1,0 \mu\text{g} \cdot \text{ml}^{-1}$ de zinco, solução 0,025 % de zincon, bobina de mistura de 25 cm de comprimento e volume de injeção de 50 μl . Variando o pH da solução-tampão no intervalo de 8,0 a 10,2 e o comprimento da bobina de reação entre 50 e 200 cm, observam-se melhores sinais com pH 8,8 e bobina de 50 cm de comprimento.

Assumindo estes valores como os mais adequados avalia-se o efeito do comprimento da bobina de mistura, situada entre o injetor e o ponto de confluência, que promove a mistura da amostra na solução-tampão. A Figura IV.12 mostra o aumento do sinal obtido quando se usa apenas uma conexão de 3 cm. É importante ressaltar que o pH da solução, medido na saída da cela, é mantido em 8,8, independente do comprimento da bobina de mistura utilizada.

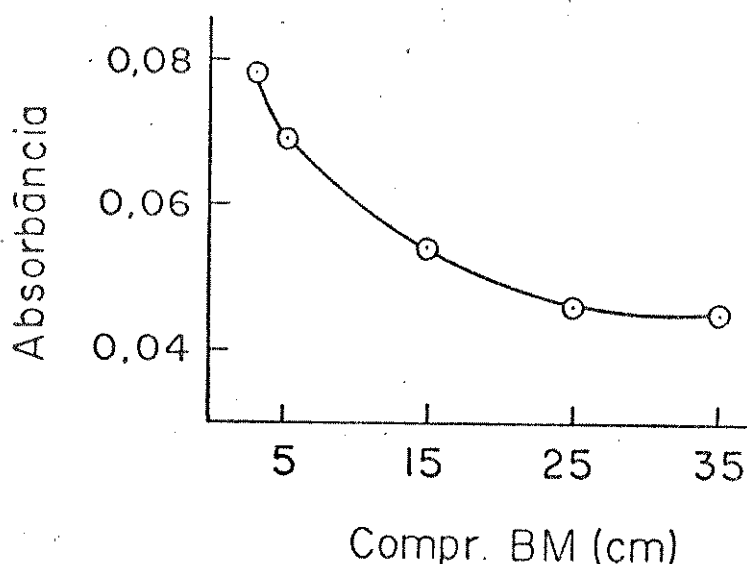


Figura IV.12 - Efeito do comprimento da bobina de mistura para o sistema em confluência. Determinação de zinco.

Como a mistura entre amostra e reagente é feita por confluência, o volume de amostra introduzido no sistema pode tender ao infinito. Isto é confirmado na Tabela IV.6, que mostra os valores de absorbância obtidos para diferentes volumes de amostra injetada. Valores maiores de absorbância são obtidos para maiores volumes de amostra. Como acima de 90 μl não há repetibilidade nos picos obtidos, este volume é considerado o mais adequado.

Tabela IV.6 - Efeito do volume de amostra injetado para para determinação de zinco utilizando sistema em confluência. Sol. tampão pH 8,8; Bobina de reação: 50 cm; Vazão: 2,6 $\text{ml} \cdot \text{min}^{-1}$

Vol. injeção (μl)	Absorbância
25	0,042
30	0,051
40	0,056
50	0,073
60	0,080
70	0,086
80	0,099
90	0,102
100	0,109
120	0,119
150	0,135

A Figura IV.13 mostra que, para esta configuração, a absorbância praticamente não é afetada quando se utilizam diferentes concentrações do reagente colorimétrico. Assim, para o volume de amostra utilizado (90 μl) uma pequena concentração de zinco é suficiente para formar a espécie de interesse.

O estudo da consistência dos parâmetros determinados experimentalmente é feito medindo a absorbância de soluções com diferentes pH, variando o comprimento da bobina de reação. Os resultados encontram-se na Figura IV.14 e são melhores para bobina de reação com 50 cm de comprimento. Entre pH 8,4 e 9,0 nota-se a presença de um patamar, o que indica a conveniência de se trabalhar neste intervalo de pH.

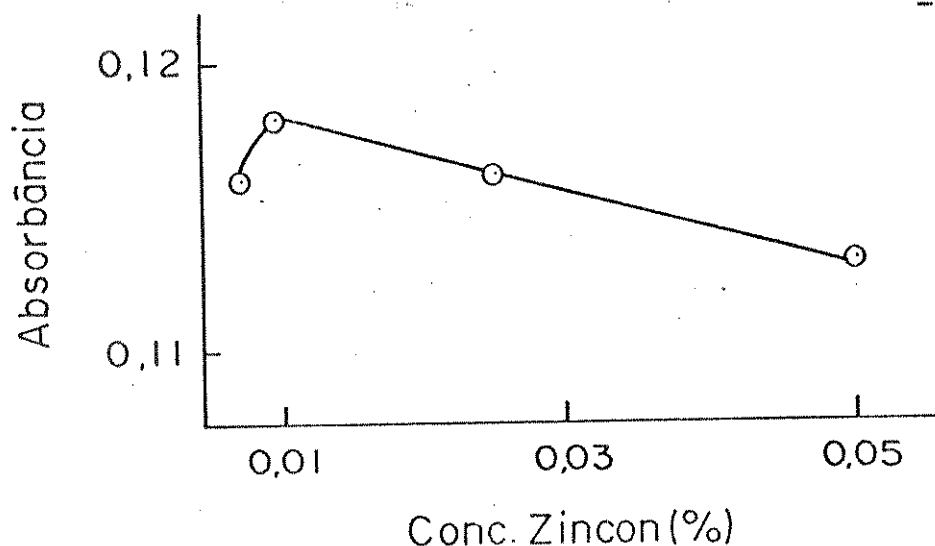


Figura IV.13 - Efeito da concentração do reagente zincon para a determinação de zinco utilizando o sistema em confluência. Bobina de reação: 50 cm. Vol. injeção: 90 μ l.

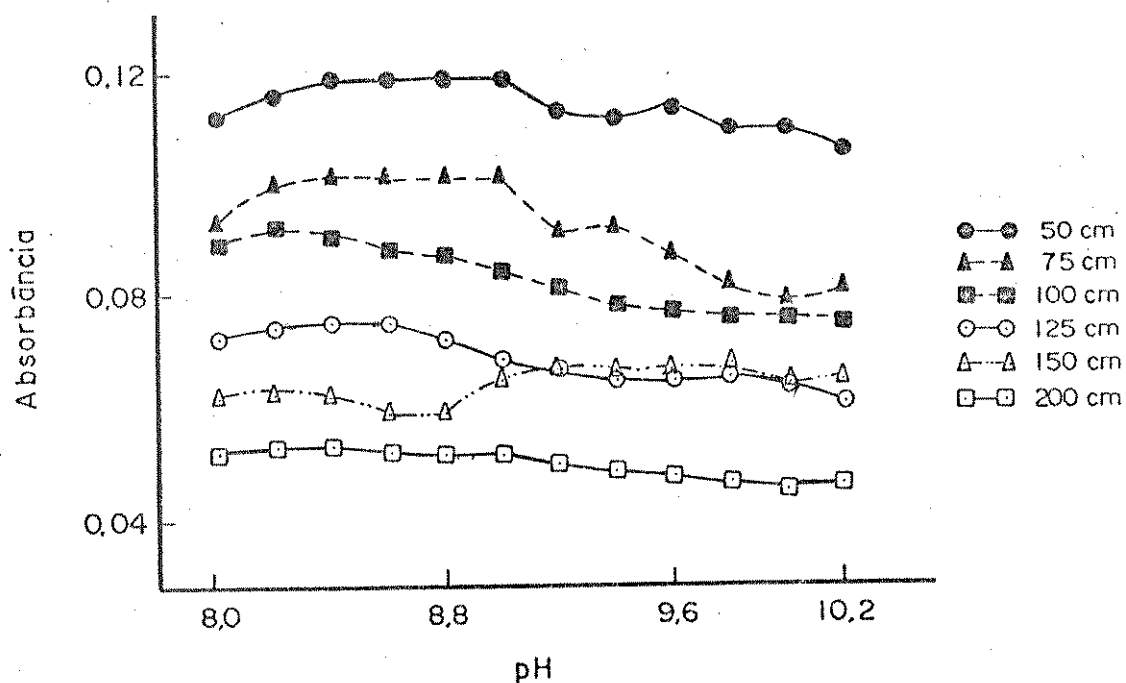


Figura IV.14 - Efeito do comprimento da bobina de reação e do pH da solução-tampão na determinação de zinco utilizando o sistema em confluência. Conc. zincon: 0,025 %

A vazão utilizada para estes estudos é de 2,6 ml.min⁻¹ (sol.reagente: 1,1 ml.min⁻¹ ; sol.amostra: 1,5 ml.min⁻¹) por ser a mais adequada em termos de absorbância e velocidade analítica, como mostra a Tabela IV.7.

Tabela IV.7 - Efeito da variação da vazão para o sistema em confluência. Sol. Tampão pH 8,8; Conc. zincon: 0,025 %; Vol. injeção: 90 µl.

Vazão (ml.min ⁻¹)		Absorbância
Sol. Zincon	Sol. Amostra	
1,4	1,8	0,104
1,3	1,7	0,110
1,1	1,5	0,110
1,0	1,2	0,120
0,9	1,1	0,118
0,7	1,0	0,115
0,5	0,6	0,090

A construção da curva de calibração utilizando as condições mais adequadas determinadas experimentalmente é mostrada na Figura IV.15. Observa-se que o sistema segue a lei de Beer no intervalo de concentração de 0,3 a 10,0 µg.ml⁻¹ ($A = 4,4 \times 10^{-3} + 1,1 \times 10^{-1} [Zn] \text{ (} \mu\text{g.ml}^{-1}\text{)}$; coeficiente de correlação $r = 0,999$). O limite de detecção, considerando-se a relação sinal/ruído igual três, é estimado em 9 ng.ml⁻¹. O desvio padrão para 20 determinações em replicata varia de 1,1 % para 1,0 µg.ml⁻¹ a 1,0 % para 10,0 µg.ml⁻¹, com DPR mínimo de 0,77 % para 8 µg.ml⁻¹. A Figura IV.16 mostra os sinais típicos obtidos com este sistema.

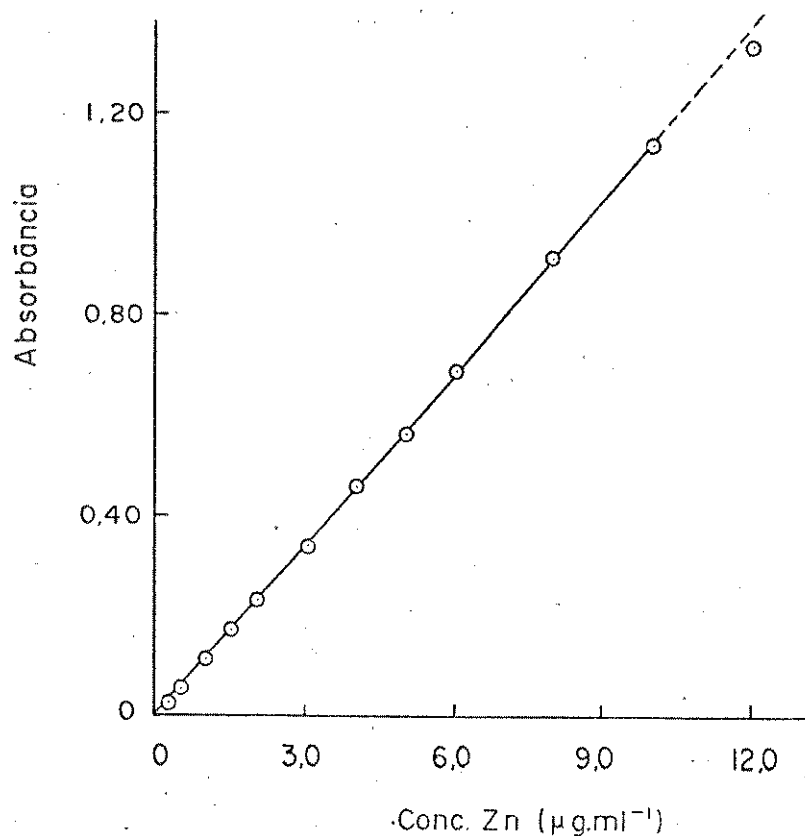


Figura IV.15 - Curva de calibração para determinação de zinco com sistema em confluência.

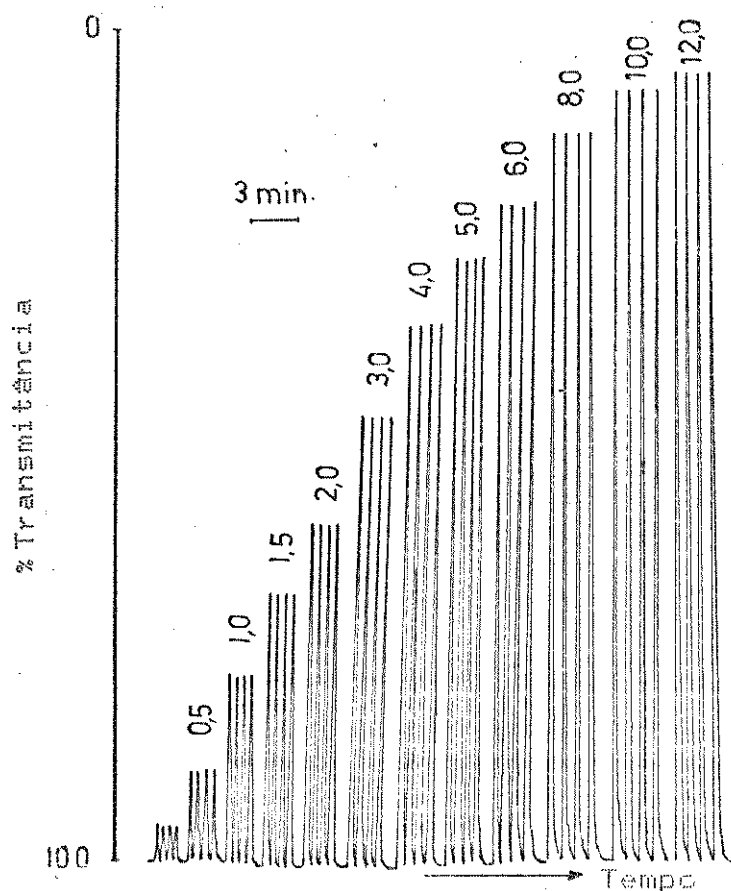


Figura IV.16 - Sinais típicos para o sistema em confluência, obtidos do registrador.

IV.1.4 - DETERMINAÇÃO DE ZINCO UTILIZANDO SISTEMA REVERSO EM CONFLUÊNCIA

Nesta configuração (Figura III.5, pág.34) o reagente colorimétrico é introduzido na linha do carregador e adicionado à solução contendo a amostra, por confluência. Um aspecto a considerar, quando se faz este estudo é a capacidade da solução-tampão em manter o pH exigido para a formação do complexo zinco-zincon. Para verificar isto, são preparadas três soluções de zinco $1,0 \mu\text{g}.\text{ml}^{-1}$: uma contendo fenolftaleína e NaOH $0,1 \text{ M}$ em quantidade suficiente para se obter solução cor de rosa, característica do indicador em pH 8,5; uma solução contendo a quantidade de NaOH $0,1 \text{ M}$ utilizada na solução anterior, sem fenolftaleína, para evitar uma possível absorção desta no comprimento de onda utilizado e uma solução contendo somente zinco. Mede-se o pH de cada solução e, a seguir, são feitas as leituras de absorbância quando as mesmas são introduzidas no sistema. A solução-tampão empregada é a de pH 9,4. São recolhidas alíquotas de cada solução na saída da cela e mede-se o pH observando-se, em todos os casos, que o pH final (na saída da cela) é 9,4. Isto mostra que a solução-tampão mantém o pH quando se utiliza este sistema, sem necessidade de preparar solução de zinco em meio alcalino.

Utilizando solução $1,0 \mu\text{g}.\text{ml}^{-1}$ de zinco, solução 0,025 % de zincon, volume de injeção de 40 μl e vazão de $2,5 \text{ ml}.\text{min}^{-1}$ determinam-se o pH da solução-tampão e o comprimento da bobina de reação. Os melhores sinais são obtidos com bobina de reação de 100 cm em pH 8,8.

A Tabela IV.8 mostra o efeito do volume de reagente introduzido no sistema. Os melhores resultados são obtidos para volumes de 50 a 80 μl . Com 50 μl , a repetibilidade dos picos é melhor, ficando estabelecido este volume como o mais adequado.

Tabela IV.8 - Efeito do volume de reagente para a determinação de zinco utilizando sistema reverso em confluência.

Vol. injeção (μl)	Absorbância
25	0,258
30	0,271
35	0,279
40	0,284
45	0,289
50	0,296
60	0,298
70	0,302
80	0,304
90	0,299
100	0,299

Na Figura IV. 17 observa-se que, aumentando a concentração do reagente aumenta o valor medido da absorbância. Neste caso, ao contrário do que acontece no sistema em confluência, uma pequena quantidade de reagente é injetada e diluída antes de misturar-se com a solução da amostra.

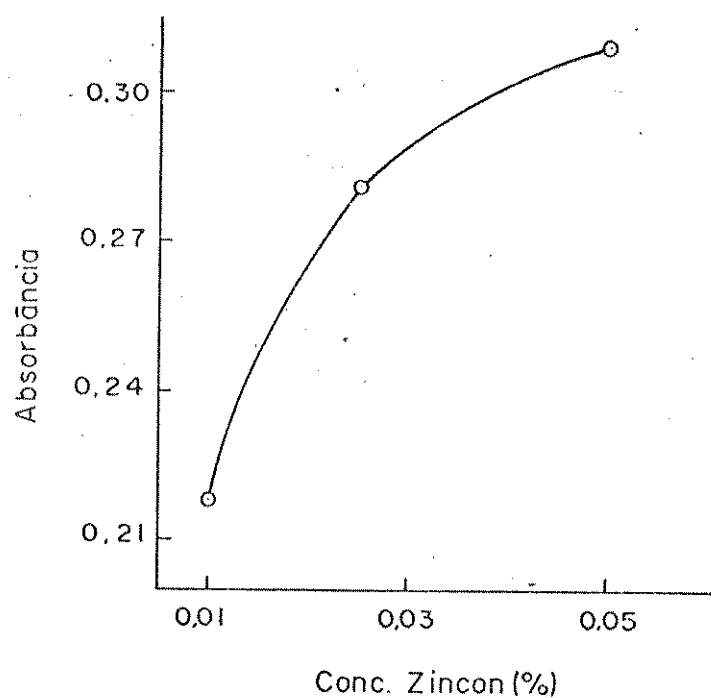


Figura IV.17 - Efeito da concentração de zinco no sistema reverso em confluência para a determinação de zinco. Bobina de reação: 100 cm; Vol. de injeção: 50 μ l.

Introduzindo uma bobina de mistura entre o injetor e o ponto de confluência, observa-se um aumento do sinal obtido, como mostra a Figura IV.18. Aqui, nota-se uma contradição em relação à concentração do reagente pois, neste caso, com bobina de mistura maior, ocorre maior diluição do mesmo. O aumento da absorbância é devido, provavelmente, às condições de pH mais favoráveis que se formam e à própria reação que ocorre, além da razão de fluxo dos reagentes utilizados. Os melhores resultados são obtidos para bobina de mistura de 25 cm de comprimento.

A Figura IV.19 mostra o efeito do pH e do comprimento da bobina de reação em relação aos demais parâmetros avaliados. Observa-se que as bobinas de 50, 75 e 125 cm têm comportamento semelhante, o mesmo acontecendo com aquela de 100 cm, mas neste caso a absorbância é maior. As bobinas de 150 e 200 cm apresentam comportamentos semelhantes entre si, porém diferentes daqueles observados com as demais. O pH 8,8 é estabelecido como o mais adequado para a bobina de 100 cm, considerando-se a maior estabilidade dos valores de absorbância entre pH 8,8 e 9,0. A Figura IV.20 mostra o efeito do comprimento da bobina de reação para este sistema, em pH 8,6 a 9,0.

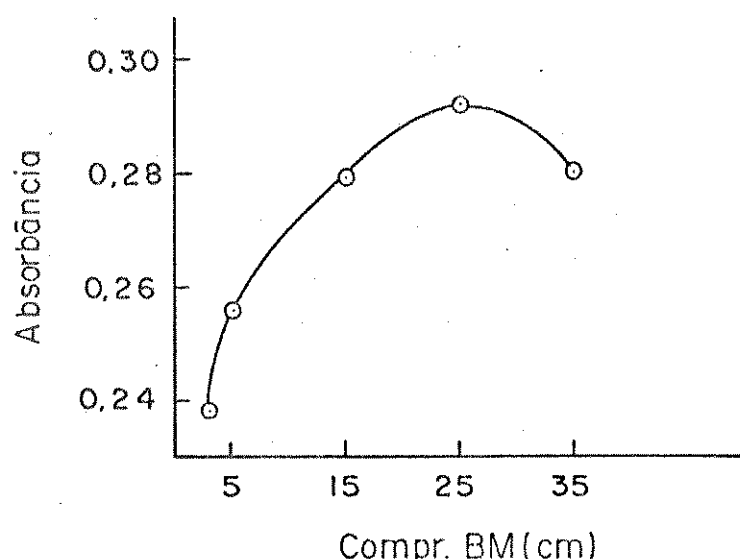


Figura IV.18 - Efeito do comprimento da bobina de mistura na determinação de zinco utilizando o sistema reverso em confluência. Conc. zinco: 0,025 %; Bobina de reação: 100 cm.

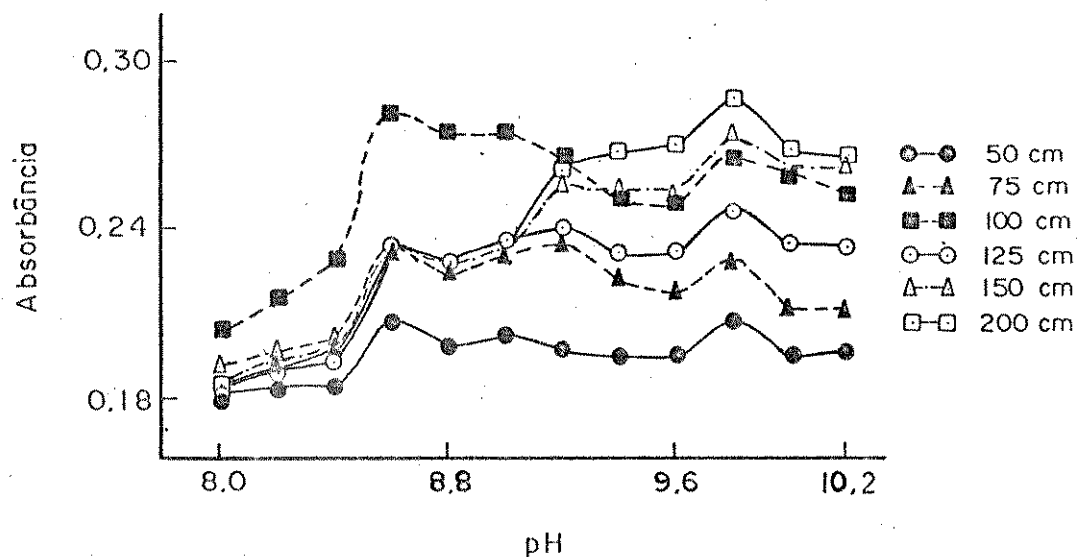


Figura IV.19 - Efeito do pH e do comprimento da bobina de reação para o sistema reverso em confluência. Determinação de zinco. Bobina de mistura: 25 cm; Vol. injeção: 50 μ l.

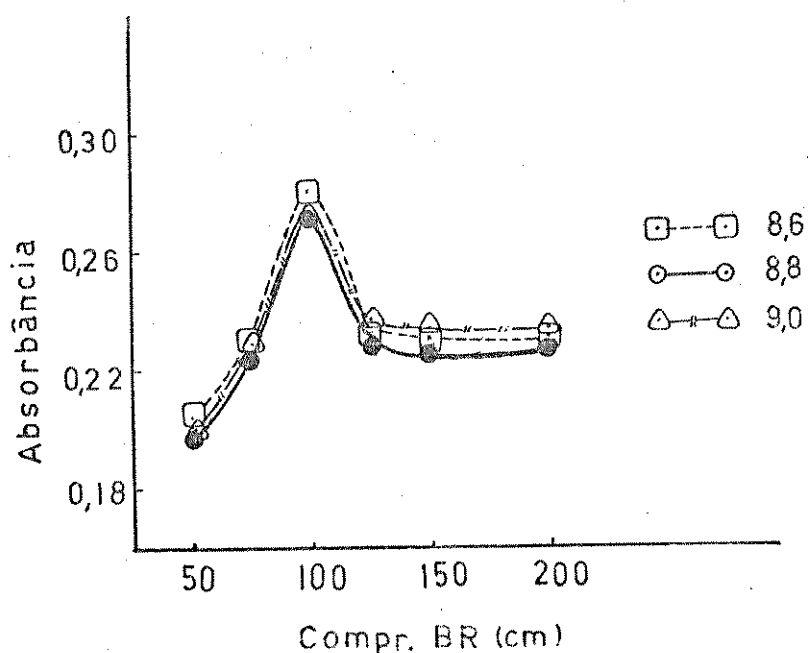


Figura IV.20 - Efeito da bobina de reação para o sistema reverso em confluência em pH 8,6 a 9,0.

Mudando a vazão das diversas linhas observa-se que, entre 2,5 e 2,8 ml.min⁻¹ a absorbância é praticamente a mesma; assim, a vazão de 2,5 ml.min⁻¹ é considerada a mais adequada para este método (Tabela IV.9).

Tabela IV.9 - Efeito da variação da vazão para o sistema reverso em confluência nas condições determinadas experimentalmente.

Vazão (ml.min ⁻¹)		Absorbância
Sol. Amostra	Sol. Zincon	
1,8	1,3	0,267
1,6	1,2	0,286
1,4	1,1	0,288
1,2	1,0	0,281
1,0	0,9	0,285
0,8	0,8	0,294
0,6	0,6	0,312
0,5	0,4	0,319

O sistema zinco-zincon, nas condições determinadas experimentalmente, é linear até 2,5 µg.ml⁻¹ ($A=2,1 \times 10^{-3} + 2,2 \times 10^{-1} [Zn]$ (µg.ml⁻¹); coeficiente de correlação $r=0,999$) (Ver Figura IV.21). O limite de detecção calculado é de 3 ng.ml⁻¹, considerando-se a relação sinal/ruído igual a três /86/. O desvio padrão relativo, para 20 determinações em replicata varia de 3,33 % para 0,1 µg.ml⁻¹ a 0,28 % para 2,0 µg.ml⁻¹. A Figura IV.22 mostra os sinais típicos obtidos para a construção da curva.

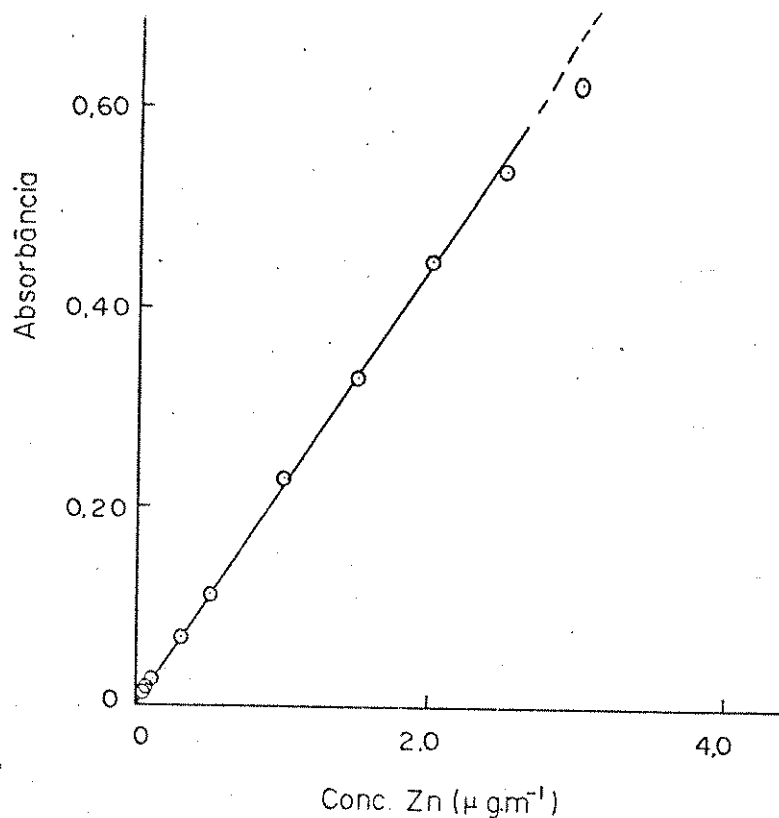


Figura IV.21 - Curva de calibração para determinação de zinco com sistema reverso em confluência, nas condições determinadas experimentalmente.

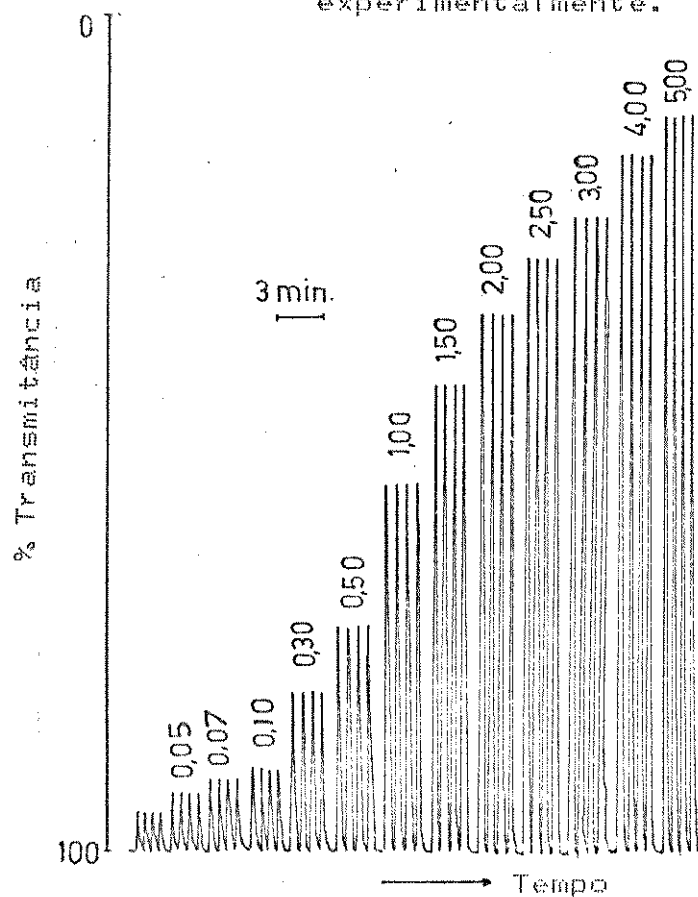


Figura IV.22 - Sinais típicos de AIF para o sistema reverso em confluência.

IV.2 - DETERMINAÇÃO ESPECTROFOTOMETRICA DE COBRE COM ZINCON

Para a determinação de cobre com o reagente zincon são estudados os mesmos sistemas descritos para o zinco, isto é, sistema reverso de análise por injeção em fluxo, sistema com zonas coalescentes, sistema em confluência e sistema reverso em confluência. Também aqui os resultados expressam a absorbância obtida pela introdução de amostra ou reagente ao sistema, no mínimo, em triplicata.

IV.2.1 - DETERMINAÇÃO DE COBRE UTILIZANDO SISTEMA REVERSO DE ANÁLISE POR INJEÇÃO EM FLUXO

Utilizando o diagrama descrito na Figura III.2, pág.31 são estudadas as variáveis envolvidas na determinação de cobre. Inicialmente é feito um estudo para determinar o melhor pH da solução-tampão e o melhor comprimento da bobina de reação com solução $1,0 \mu\text{g} \cdot \text{ml}^{-1}$ de cobre, solução 0,025 % de zincon, bobina de mistura de 50 cm e "loop" de injeção com volume de 40 μl . A Figura IV.23 mostra os valores obtidos.

No método estático, o complexo cobre-zincon é estável no intervalo de pH de 5,0 a 9,5 /107, 139/. Utilizando sistema de AIF, observa-se comportamento diferente. No intervalo de pH de 6,0 a 8,0 (solução-tampão de $\text{KH}_2\text{PO}_4/\text{NaOH}$), os valores de absorbância são menores, porém mais estáveis que os obtidos para pH 8,0 a 10,0 (solução-tampão $\text{KCl}/\text{H}_3\text{BO}_3/\text{NaOH}$). Neste intervalo, a absorbância cai rapidamente para pequenas variações de pH.

Dosal Gomez /26/ determinou cobre com zincon utilizando solução-tampão de $\text{HClO}_4/\text{NH}_4\text{OH}$. Neste caso ocorre a formação de perclorocomplexo com o cobre.

Durante a determinação de zinco, são feitos testes com o tampão $\text{NH}_4\text{Cl}/\text{NH}_4\text{OH}$, não se observando a formação do complexo zinco-zincon devido, provavelmente, à interação de espécies que inibem a formação do complexo de interesse (Figura IV.6, pág.45).

Considerando que o HClO_4 não forma este tipo de complexo, não interferindo, assim, na reação desejada, são preparadas soluções-tampão de $\text{HClO}_4/\text{NH}_4\text{OH}$ no intervalo de pH 7,0 a 10,0 (soluções 0,1 M de cada reagente, ajustando o pH diretamente no pHmetro). É escolhido este intervalo pois, abaixo de pH 7,0 é pouco provável que se forme complexo de cobre, devido ao excesso de HClO_4 ; por outro lado, o excesso de NH_4OH , acima de pH 10 leva à formação de complexo de diaminocobre, de cor azul, que interfere na medida de absorbância. Cada solução-tampão é testada mudando o comprimento da bobina de reação, obtendo-se os melhores resultados para pH 9,0 e bobina de reação de 100 cm.

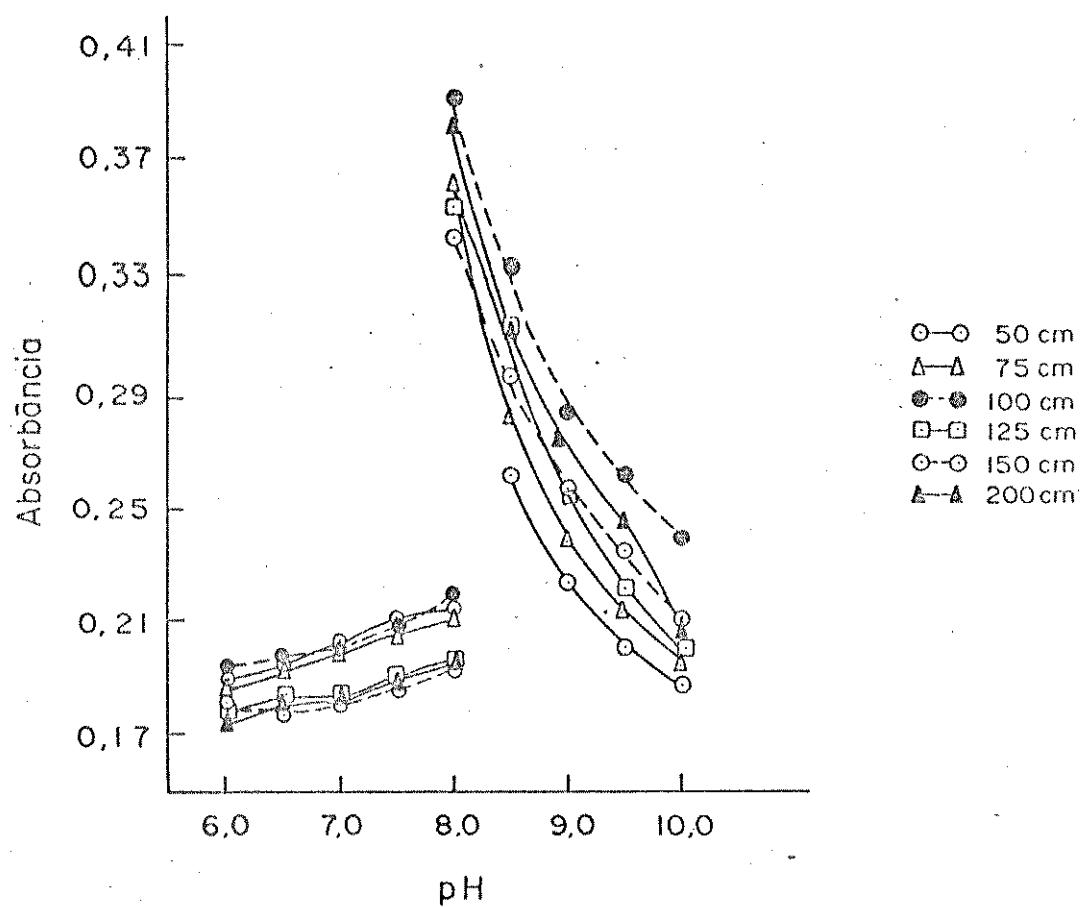


Figura IV.23 - Efeito do pH e da bobina de reação na determinação de cobre com zincon utilizando sistema reverso de AIF. As condições encontram-se descritas no texto.

As Figuras IV.24 e IV.25 mostram o efeito do comprimento da bobina de mistura e da concentração de zincon, respectivamente, para a determinação de cobre. A bobina de 90 cm fornece os maiores sinais, mas não apresenta repetibilidade. Por isso, a bobina de 75 cm é considerada a mais adequada, enquanto que soluções mais concentradas do reagente aumentam o valor da absorbância.

Variando o volume de reagente injetado, observa-se um aumento da absorbância até 50 μ l; acima disso o aumento não é tão significativo. Por isso, considera-se este volume adequado para este sistema (Tabela IV.10).

Tabela IV.10 - Variação da absorbância com o volume de reagente. Determinação de cobre com o sistema reverso de AIF e tampão $\text{HClO}_4/\text{NH}_4\text{OH}$.

Vol. injeção (μ l)	Absorbância
25	0,256
30	0,278
35	0,284
40	0,291
45	0,292
50	0,296
60	0,296
70	0,298
80	0,300
90	0,301
100	0,301

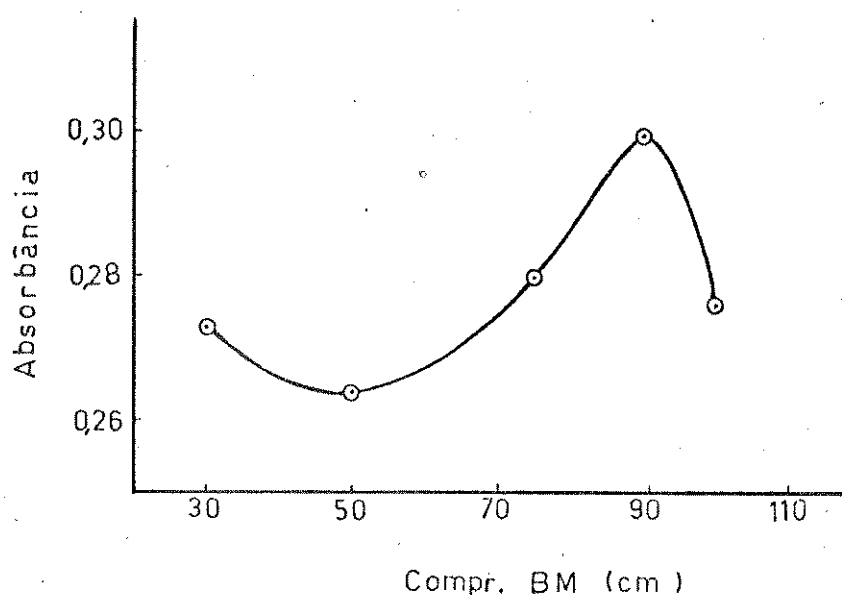


Figura IV.24 - Efeito do comprimento da bobina de mistura no sistema reverso de AIF para a determinação de cobre usando tampão $\text{HClO}_4/\text{NH}_4\text{OH}$.

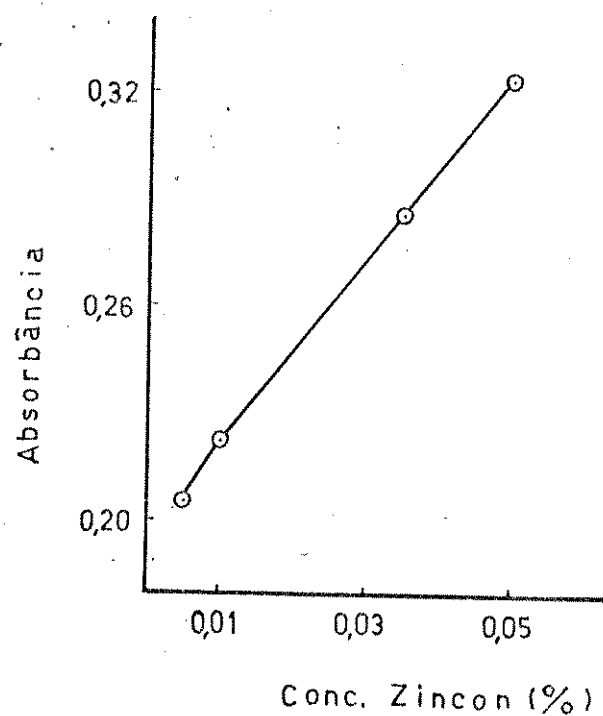


Figura IV.25 - Estudo da concentração do reagente na determinação de cobre. Tampão $\text{HClO}_4/\text{NH}_4\text{OH}$; bobina de mistura: 75 cm.

A Figura IV. 26 mostra a variação da absorbância com o pH e o comprimento da bobina de reação. Com a bobina de 100 cm, em pH 8,0, obtém-se o melhor sinal analítico; entretanto entre pH 8,4 e 9,5 observa-se uma menor variação da absorbância, o que torna mais segura a escolha do pH 9,0 para a determinação de cobre.

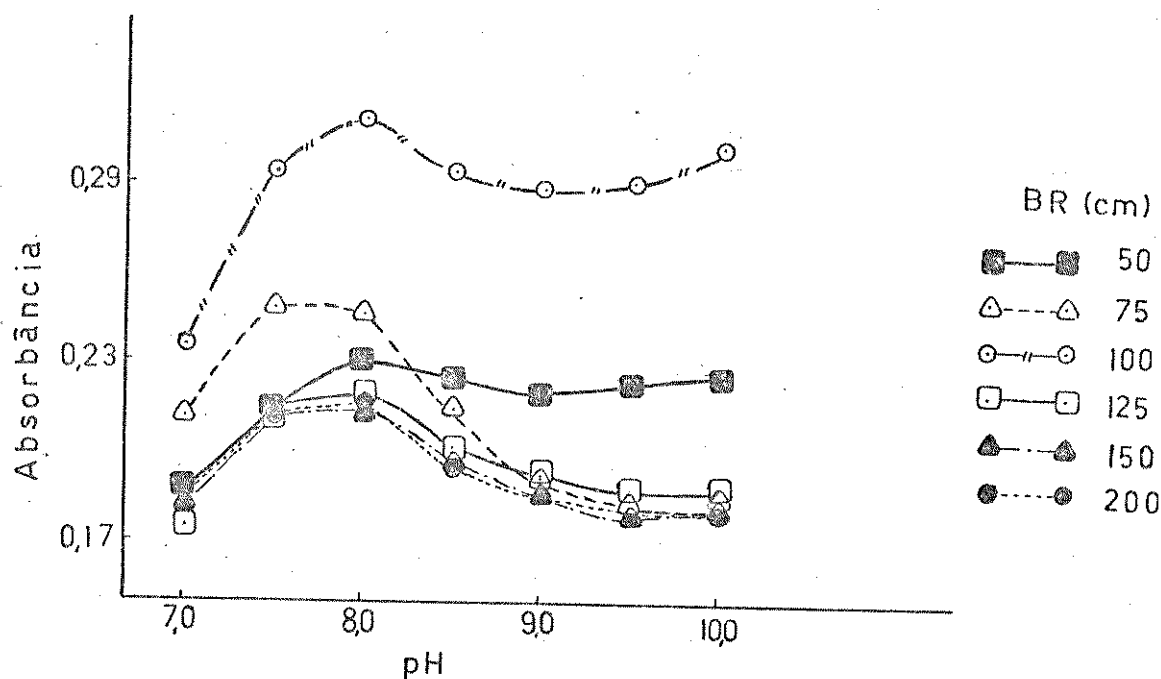


Figura IV.26 - Variação da absorbância com o pH e o comprimento da bobina de reação, frente às demais variáveis estabelecidas experimentalmente, para determinar cobre.

A Tabela IV.11 mostra a variação da absorbância com a mudança da vazão nas linhas da amostra e da solução tampão. Diminuindo a vazão, observa-se um aumento da absorbância. Como a diminuição da vazão implica uma velocidade analítica menor e este é um fator que deve ser levado em conta numa análise, a vazão de $2,4 \text{ ml} \cdot \text{min}^{-1}$ é considerada a mais adequada.

Tabela IV.11 - Estudo da vazão para o sistema reverso de AIF na determinação de cobre. Sol. tampão pH 9,0 ($\text{HClO}_4/\text{NH}_4\text{OH}$); Vol. injeção: 50 μl

Vazão ($\text{ml} \cdot \text{min}^{-1}$)		Absorbância
Sol. Amostra	Sol. Tampão	
1,5	1,6	0,247
1,3	1,5	0,243
1,2	1,2	0,250
1,0	1,1	0,252
0,9	1,0	0,263
0,7	0,8	0,280
0,5	0,7	0,281
0,4	0,6	0,288

Definidas as condições mais adequadas para a determinação de cobre utilizando tampão $\text{HClO}_4/\text{NH}_4\text{OH}$, constrói-se uma curva de calibração para verificar a linearidade e a sensibilidade do sistema. Os resultados obtidos neste ponto não são satisfatórios, uma vez que a curva não passa pela origem. São feitas, então, algumas modificações nas condições determinadas até conseguir uma curva que passe pela origem e apresente um bom coeficiente de correlação. Isto é conseguido utilizando solução tampão a pH 8,0 e bobina de reação de 50 cm, além das condições já descritas. O sistema é linear até $2,0 \mu\text{g} \cdot \text{ml}^{-1}$ ($A = -1,2 \times 10^{-3} + 2,0 \times 10^{-1} [\text{Cu}]$ ($\mu\text{g} \cdot \text{ml}^{-1}$); coeficiente de correlação $r = 0,999$), como mostra a Figura IV.27.

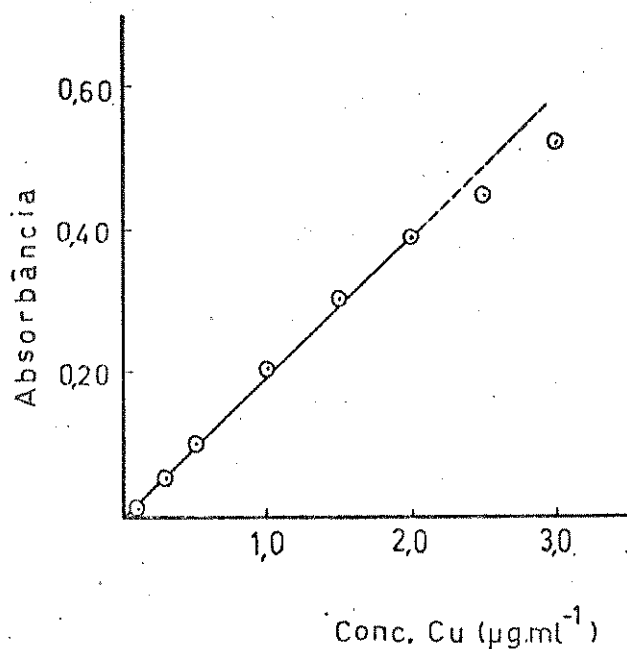


Figura IV.27 - Curva de calibração para a determinação de cobre utilizando o sistema reverso de AIF com solução-tampão $\text{HClO}_4/\text{NH}_4\text{OH}$.

Como um dos objetivos deste trabalho é a determinação seqüencial de zinco e cobre, é desejável que as condições para a determinação dos dois metais sejam as mais semelhantes possíveis. Por isso, apesar da instabilidade do sistema cobre-zinco frente ao pH com solução tampão $\text{KCl}/\text{H}_3\text{BO}_3/\text{NaOH}$ ele é estudado usando pH 9,0, que é o melhor para o sistema zinco-zinco.

Inicialmente é estudado o efeito do comprimento das bobinas de reação e de mistura. As Figuras IV.28 e IV.29 mostram que os melhores sinais analíticos são obtidos para bobina de reação com 100 cm e bobina de mistura de 50 cm.

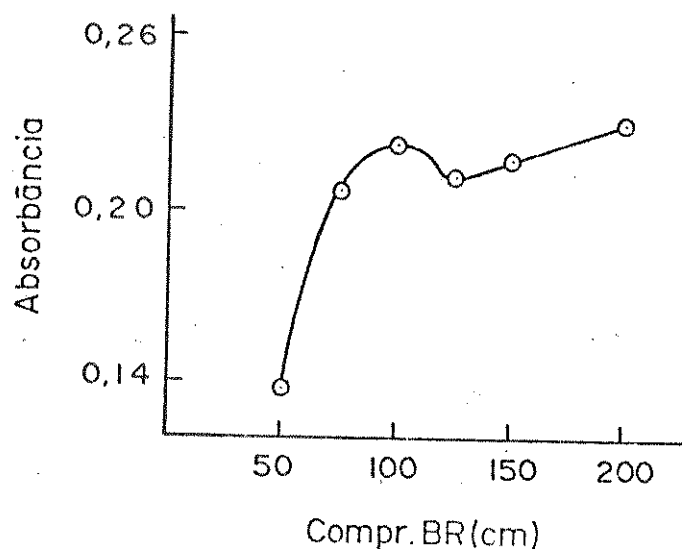


figura IV.28 - Efeito do comprimento da bobina de reação para a determinação de cobre com sistema reverso de AIF. Conci. zincon: 0,025 %; Bobina de mistura: 50 cm; Vol. injeção: 40 μ l; Vazão: 2,4 ml.min⁻¹

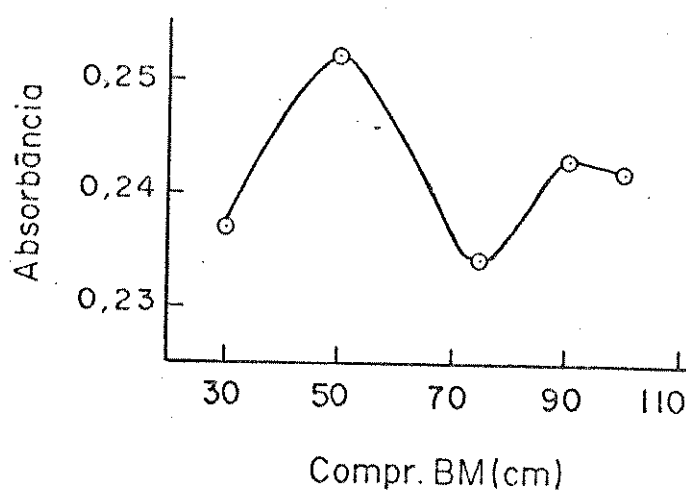


Figura IV.29 - Estudo do melhor comprimento da bobina de mistura para o sistema reverso de AIF.

Quantidades crescentes de reagente injetado aumentam a absorbância medida, como mostra a Tabela IV.12, mas o aumento do sinal obtido é pequeno. Como para a determinação de zinco utiliza-se 40 μ l de reagente, este volume é considerado satisfatório também para a determinação de cobre.

Tabela IV.12 - Efeito do volume de reagente injetado na determinação de cobre utilizando sistema reverso de AIF.

Vol. injetado (μ l)	Absorbância
25	0,231
30	0,238
35	0,243
40	0,245
45	0,248
50	0,257
60	0,262
70	0,259
80	0,263
90	0,261
100	0,263

Observa-se, pela Figura IV.30, que aumentando a concentração de zincon, não se obtém um ganho significativo no sinal analítico. Desta forma, a concentração de 0,025 % é considerada a mais adequada.

A Tabela IV.13 fornece os resultados obtidos para a variação da vazão. Considerando o sinal obtido e a velocidade analítica, a vazão mais adequada é a de 2,4 ml.min⁻¹.

A curva de calibração para o sistema cobre-zincon utilizando tampão KCl/H₃BO₃/NaOH é mostrada na Figura IV.31 e obedece à lei de Beer no intervalo de concentração de 0,1 a 1,5 μ g.ml⁻¹ ($A = 2,6 \times 10^{-3} + 1,9 \times 10^{-1} [\text{Cu}]$ (μ g.ml⁻¹); coeficiente de correlação $r = 0,999$). O limite de detecção calculado, considerando a relação sinal/ruído igual a três, é de 4 ng.ml⁻¹/86/. O desvio padrão relativo para 20 determinações em replicata varia de 4,3 % para 0,1 μ g.ml⁻¹ a 0,6 % para 1,5 μ g.ml⁻¹. A Figura IV.32 mostra os sinais típicos para o sistema reverso de AIF, obtidos diretamente do registrador.

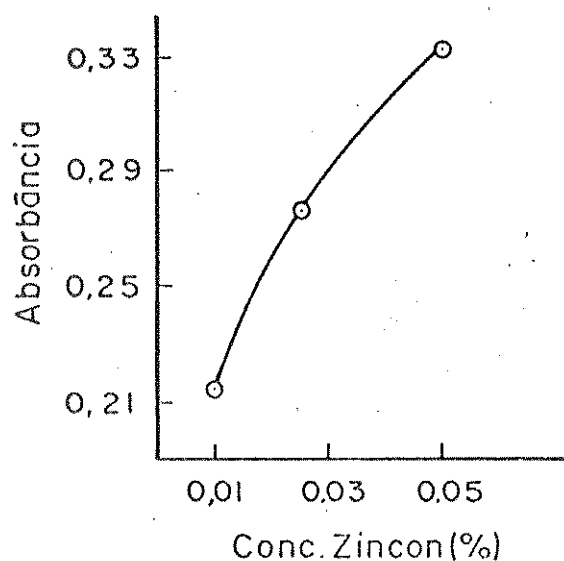


Figura IV.30 - Variação da absorbância com diferentes concentrações do reagente para o sistema reverso de AIF.

Tabela IV.13 - Estudo da melhor vazão para o sistema cobre-zinco. Conc. Cu: $1,0 \mu\text{g} \cdot \text{ml}^{-1}$; Vol. injeção: $40 \mu\text{l}$; Bobina de mistura: 50 cm ; Bobina de reação: 100 cm

Vazão ($\text{ml} \cdot \text{min}^{-1}$)		Absorbância
Sol. Amostra	Sol. Tampão	
1,5	1,6	0,246
1,3	1,5	0,254
1,2	1,2	0,259
1,0	1,1	0,265
0,9	1,0	0,262
0,7	0,8	0,266
0,5	0,7	0,250
0,4	0,6	0,280

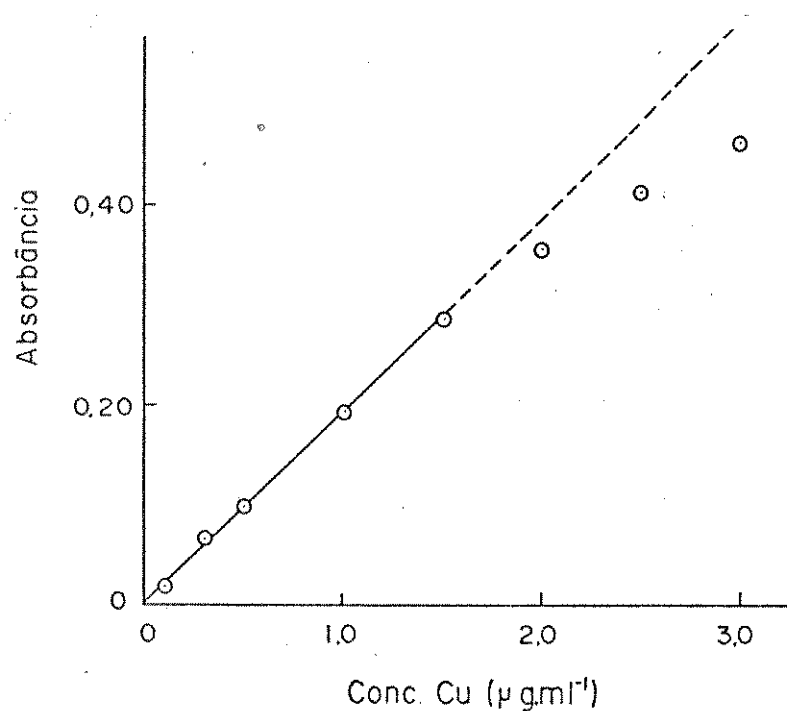


Figura IV. 31 - Curva de calibração para a determinação de cobre utilizando sistema reverso de AIF, nas condições determinadas experimentalmente.

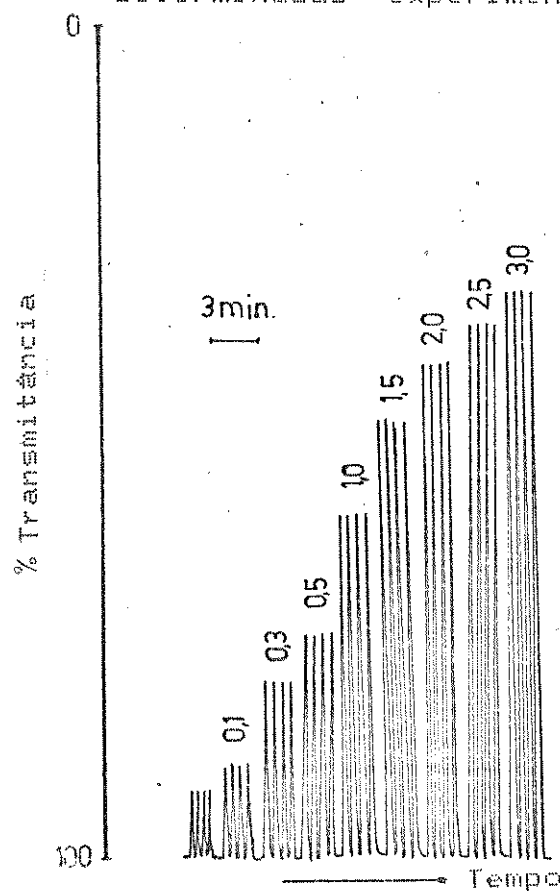


Figura IV.32 - Sinais típicos para a determinação de cobre com sistema reverso de AIF.

IV.2.2 - DETERMINAÇÃO DE COBRE UTILIZANDO SISTEMA COM ZONAS COALESCENTES

O diagrama empregado para esta determinação encontra-se descrito na Figura III.3, pág.32. Utilizando solução $1,0 \mu\text{g}.\text{ml}^{-1}$ de cobre, solução 0,025 % de zincon, volume de injeção de amostra e reagente de 90 μl e solução-tampão a pH 9,0 ($\text{KCl}/\text{H}_3\text{BO}_3/\text{NaOH}$), são determinados os melhores comprimentos de x (distância percorrida pelos reagentes antes do ponto de confluência) e da bobina de reação, encontrando-se os valores de 10 e 50 cm, respectivamente.

A Figura IV.33 mostra que em pH 9,0 são obtidos os melhores sinais, mas que em pH 9,5 estes caem de maneira acentuada. Como o pH é um dos parâmetros importantes para a formação do complexo cobre-zincon, convencionou-se trabalhar em pH 8,5.

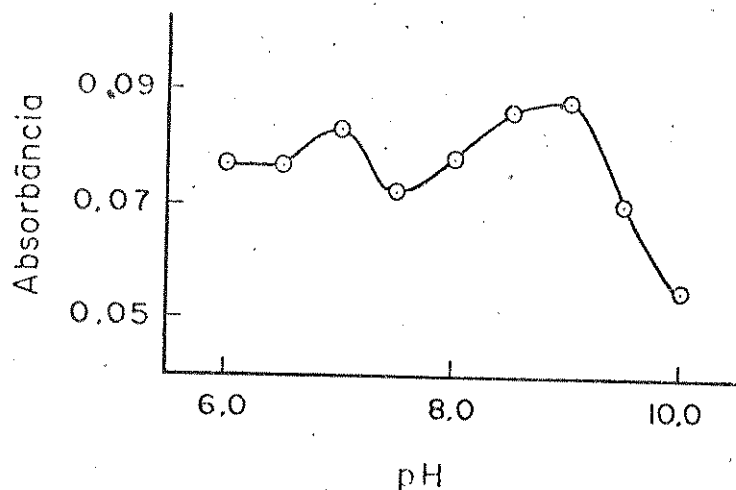


Figura IV.33 - Efeito do pH na determinação de cobre utilizando sistema com zonas coalescentes. x : 10 cm; Bobina de reação: 50 cm

Os sinais analíticos mais sensíveis são obtidos aumentando o volume de amostra e reagente injetados e a concentração do reagente colorimétrico, como mostram a Tabela IV.14 e a Figura IV.34. Para o presente trabalho são considerados mais adequados o volume de 100 μ l e a concentração de 0,025 %.

Tabela IV.14 - Efeito do volume de amostra e reagente injetados no sistema com zonas coalescentes. Determinação de cobre.

Vol. injetado (μ l)	Absorbância
30	0,006
35	0,011
40	0,020
45	0,028
50	0,040
60	0,053
70	0,067
80	0,078
90	0,077
100	0,094
120	0,113
150	0,125

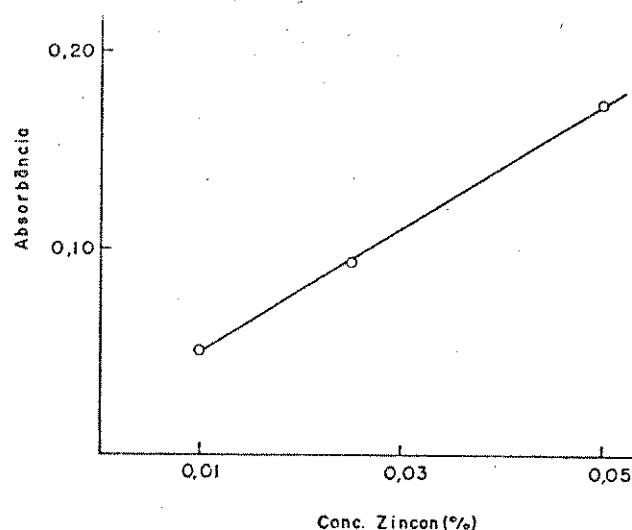


Figura IV.34 - Efeito da concentração de zinco na determinação de cobre. Sistema com zonas coalescentes. Vol. injeção: 100 μ l.

Na Figura IV.35 estão descritas as absorvâncias para a variação dos comprimentos de x e da bobina de reação. A bobina de 50 cm, quando x tem 10 cm de comprimento, apresenta a maior absorvância.

A Tabela IV.15 mostra que a absorvância para diferentes vazões do carregador praticamente não varia até 1,6 ml.min⁻¹. Para vazões menores o sinal diminui. A vazão de 2,4 ml.min⁻¹ é considerada a mais adequada.

O sistema cobre-zinco, nesta configuração de fluxo, é linear até 8,0 µg.ml⁻¹ ($A = 1,6 \times 10^{-3} + 8,3 \times 10^{-2} \text{ICul} (\mu\text{g.ml}^{-1})$; coeficiente de correlação $r = 0,999$). O limite de detecção é calculado em 11 ng.ml⁻¹. O desvio padrão para 20 determinações em replicata varia de 3,6 % para 0,5 µg.ml⁻¹ a 1,8 % para 8,0 µg.ml⁻¹ com DPR mínimo de 0,9 % para 6,0 µg.ml⁻¹. A curva de calibração obtida é mostrada na Figura IV.36 e os sinais típicos correspondentes, na Figura IV.37.

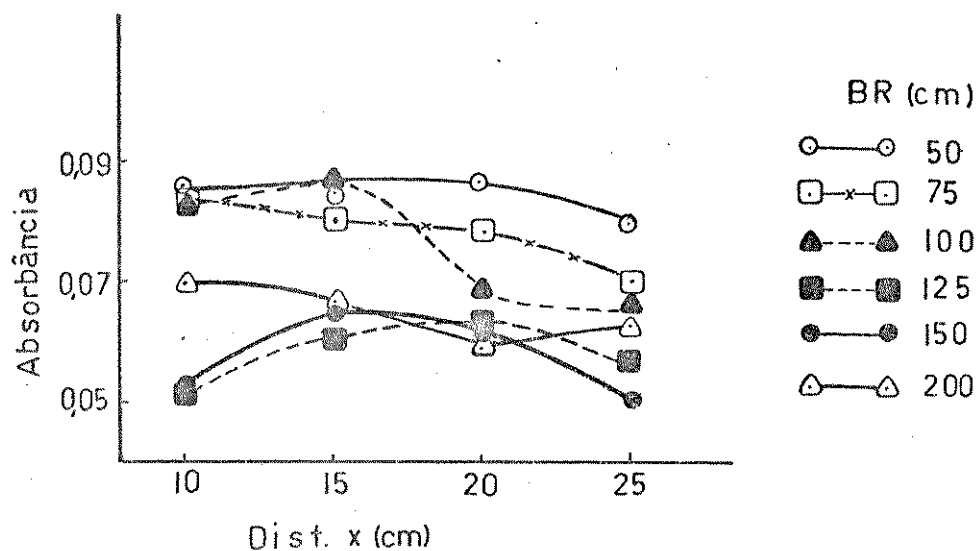


Figura IV.35 - Variação da absorbância com o comprimento de x e da bobina de reação para o sistema com zonas coalescentes na determinação de cobre.

Tabela IV.15 - Efeito da mudança da vazão na determinação de cobre usando sistema com zonas coalescentes.

Vazão (ml.min ⁻¹)	Absorbância
3,2	0,079
2,8	0,082
2,4	0,082
2,2	0,083
2,0	0,083
1,6	0,083
1,4	0,069
1,2	0,067

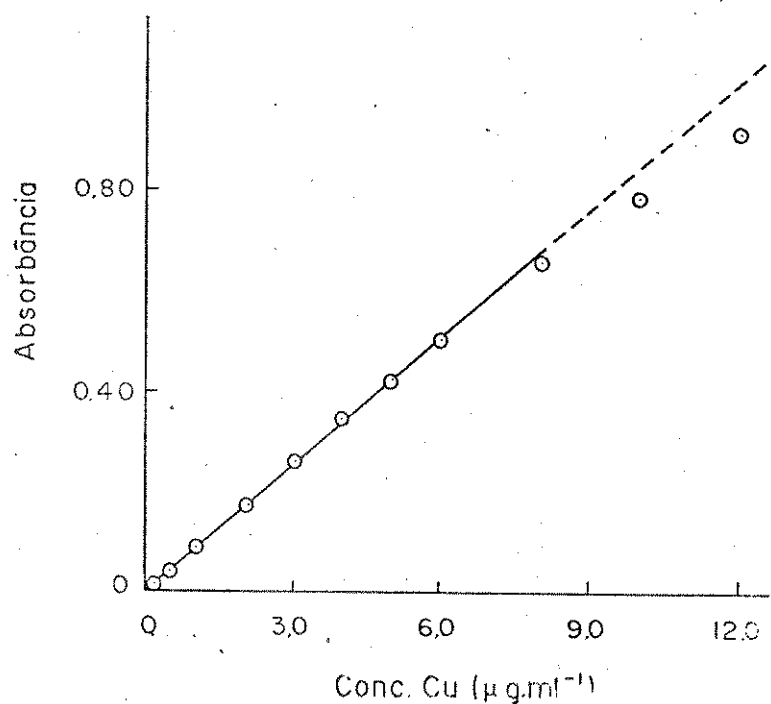


Figura IV.36 - Curva de calibração para a determinação de cobre com zincon utilizando sistema com zonas coalescentes.

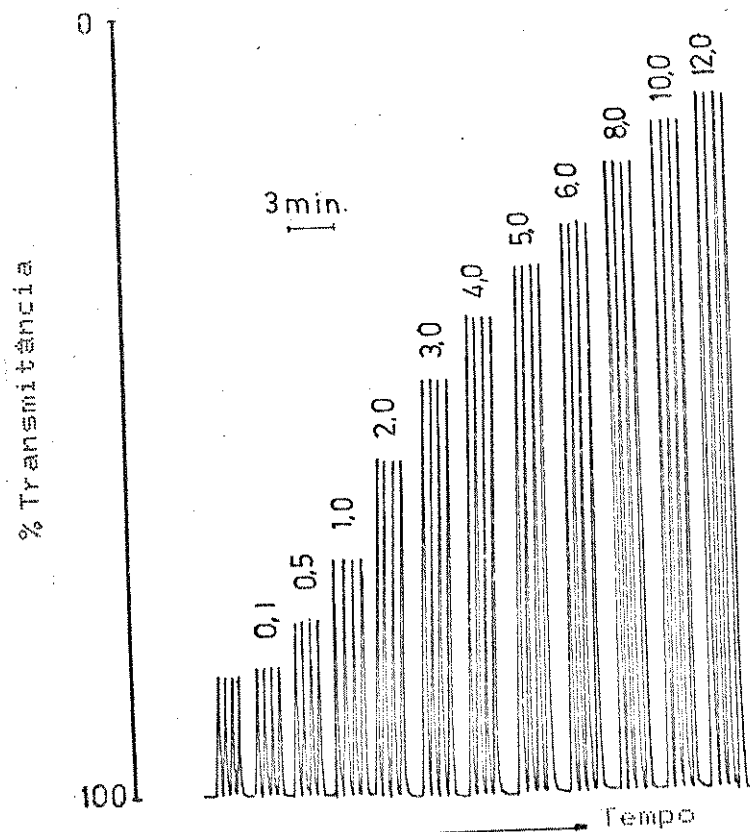


Figura IV.37 - Sinais típicos obtidos para cobre utilizando sistema com zonas coalescentes.

IV.2.3 - DETERMINAÇÃO DE COBRE UTILIZANDO SISTEMA EM CONFLUÊNCIA

Utilizando o sistema descrito na Figura III.4, pág.33 e solução $1,0 \mu\text{g}.\text{ml}^{-1}$ de cobre, solução 0,025 % de zincon, volume de injeção de amostra de $90 \mu\text{l}$ e vazão de $2,5 \text{ ml}.\text{min}^{-1}$ são testados inicialmente o comprimento da bobina de reação e o pH da solução - tampão. Os melhores sinais resultam em pH 8,0 quando a distância entre os pontos de injeção e detecção é de 50 cm.

A Figura IV.38 mostra os resultados obtidos variando o comprimento da bobina de mistura, situada entre o injetor e o ponto de confluência, e que promove a mistura do reagente com a solução - tampão. Observa-se que a absorbância aumenta à medida que o comprimento da bobina de mistura diminui. O maior tempo de contato entre tampão e reagente leva a uma diluição, o que provoca um sinal menor. Assim, a bobina de mistura não é utilizada para esta configuração.

Na Figura IV.39 observa-se que a absorbância diminui com o aumento da concentração do reagente, o mesmo comportamento verificado para o sistema zinco-zincon nesta configuração.

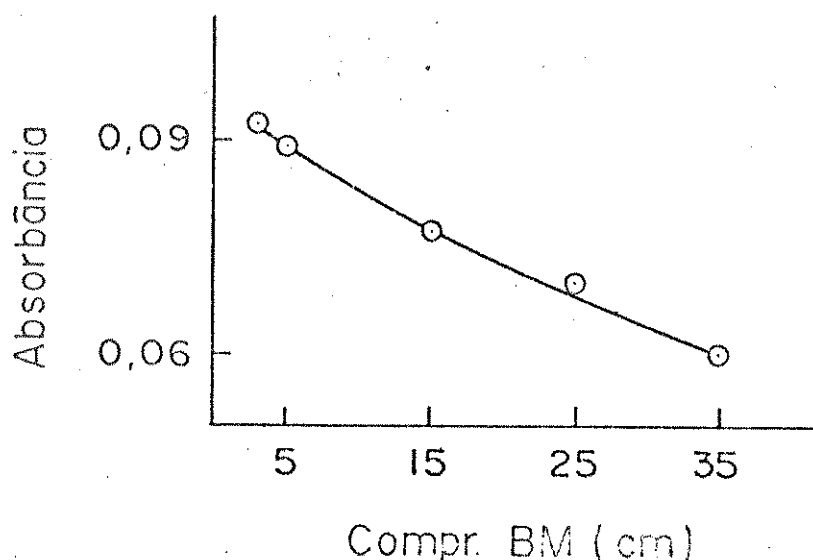


Figura IV.38 - Estudo do comprimento da bobina de mistura na determinação de cobre, utilizando sistema em confluência. Condições descritas no texto.

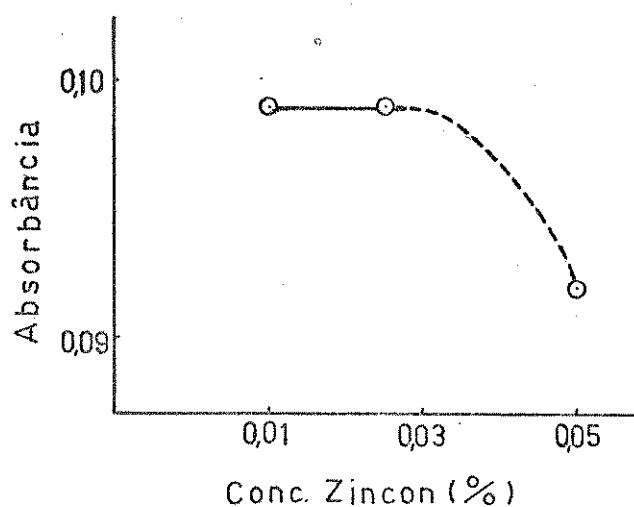


Figura IV.39 - Efeito da concentração de zinco para a determinação de cobre com sistema em confluência. Bobina de reação: 50 cm; Sol. tampão pH 8,0

Como a amostra está sendo introduzida no fluxo do carregador e misturada com o reagente por confluência, maiores volumes injetados produzem maiores sinais analíticos (Tabela IV.16). Observa-se experimentalmente que volumes superiores a 100 μ l não mostram repetibilidade nos picos obtidos; por isso, o volume de 90 μ l é considerado o melhor.

Tabela IV.16 - Variação da absorbância com o volume de solução de cobre injetada no sistema em confluência. Conc. zinco: 0,025 %

Vol. injetado (μ l)	Absorbância
25	0,044
30	0,052
40	0,061
50	0,073
60	0,082
70	0,089
80	0,101
90	0,103
100	0,103
120	0,098
150	0,111

O efeito do comprimento da bobina de reação e do pH da solução-tampão é mostrado na Figura IV.40. Todas as bobinas apresentam comportamento semelhante, diminuindo a absorbância à medida que o pH aumenta. Com bobina de reação de 50 cm, observa-se um patamar no intervalo de pH de 7,5 a 8,5, mostrando a conveniência de trabalhar-se em pH 8,0.

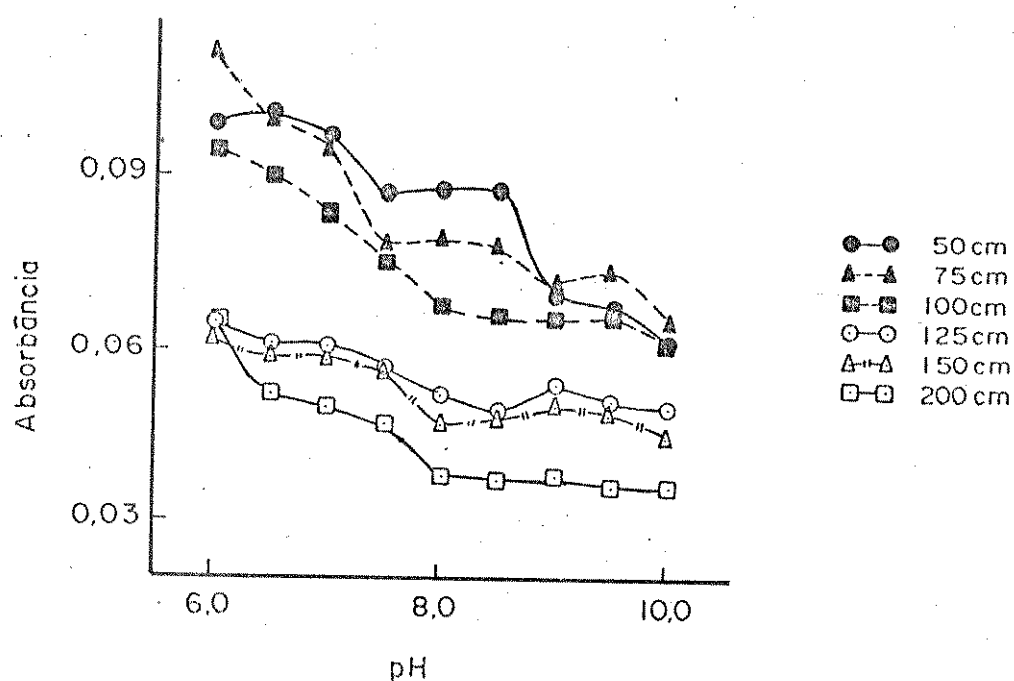


Figura IV.40 - Efeito do pH e da bobina de reação para a determinação de cobre. Sistema em confluência. Vol. injeção: 90 μ l.

A otimização dos parâmetros envolvidos no sistema em confluência é feita com vazão de $2,5 \text{ ml.min}^{-1}$, a mais adequada, considerando o sinal e a velocidade analítica obtida (Tabela IV.17).

Tabela IV.17 - Estudo da vazão na determinação de cobre utilizando sistema em confluência. Vol. injeção: 90 μl ; Bobina de reação: 50 cm.

Vazão (ml.min^{-1})		Absorbância
Sol. Zincon	Sol. Tampão	
1,4	1,7	0,080
1,3	1,6	0,086
1,2	1,3	0,092
0,9	1,2	0,104
0,9	1,0	0,104
0,7	0,8	0,095
0,5	0,6	0,086
0,4	0,5	0,057

A construção de uma curva de calibração, utilizando as condições mais adequadas determinadas experimentalmente, mostra que este sistema é linear até $8,0 \mu\text{g.ml}^{-1}$ ($A = -2,9 \times 10^{-3} + 8,8 \times 10^{-2} [\text{Cu}] (\mu\text{g.ml}^{-1})$; coeficiente de correlação $r = 0,999$). O limite de detecção é estimado em 14 ng.ml^{-1} -786/. O desvio padrão relativo varia de 3,5 % para $0,5 \mu\text{g.ml}^{-1}$ a 0,7 % para $8,0 \mu\text{g.ml}^{-1}$ (Figura IV.41). Os sinais típicos obtidos para este sistema são mostrados na Figura IV.42.

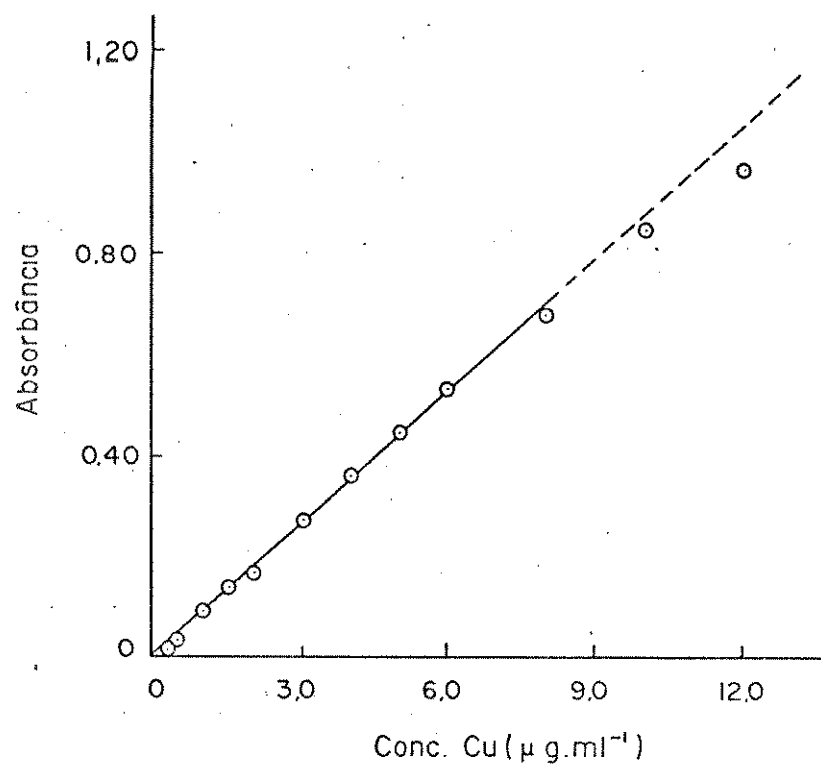


Figura IV.41 - Curva de calibração de cobre para o sistema em confluência, nas condições determinadas experimentalmente.

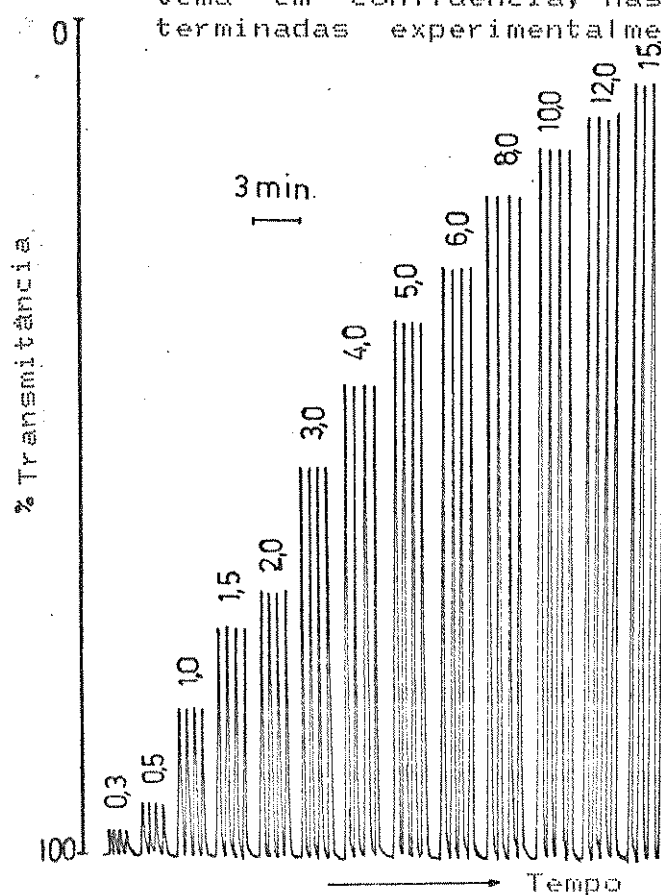


Figura IV.42 - Sinais típicos para construção da curva de calibração usando sistema em confluência.

IV.2.4 - DETERMINAÇÃO DE COBRE UTILIZANDO SISTEMA REVERSO EM CONFLUÊNCIA

Quando o sistema reverso em confluência (Figura III.5, pág.34) é utilizado para determinar as melhores condições na determinação de cobre com zincon, observa-se o mesmo comportamento descrito para o sistema reverso de Análise por Injeção em Fluxo. Quando é utilizado tampão no intervalo de pH 6,0 a 8,0 ($\text{KH}_2\text{PO}_4/\text{NaOH}$) obtêm-se sinais pequenos, porém estáveis. No intervalo de pH 8,0 a 10,0 os valores de absorbância são consideravelmente maiores mas caem rapidamente para pequenas variações do pH.

Da mesma forma que para o sistema reverso de AIF, fixa-se o valor de pH 9,0 para a solução-tampão ($\text{KCl}/\text{H}_3\text{BO}_3/\text{NaOH}$) procedendo-se, então, à determinação dos demais parâmetros.

Utilizando bobina de reação de 100 cm, solução 0,025 % de zincon e volume de injeção de 50 μl determina-se o melhor comprimento da bobina de mistura, situada entre os pontos de injeção e de confluência. A Figura IV.43 mostra que os melhores sinais analíticos são obtidos para bobina de mistura de 50 cm.

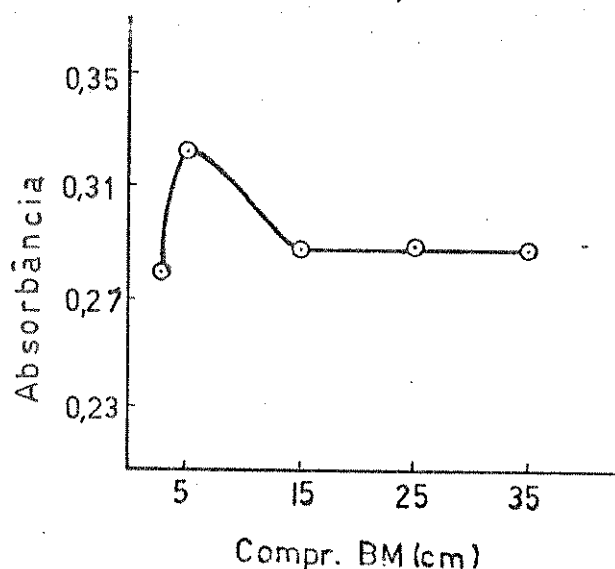


Figura IV.43 - Estudo do comprimento da bobina de mistura para o complexo cobre-zincon. Sistema reverso em confluência.

Aumentando o volume de reagente introduzido no fluxo de carregador observa-se um aumento na absorbância; entretanto, este aumento não é significativo considerando-se o volume utilizado. Desta forma, o volume de 50 μ l é considerado o mais adequado (Tabela IV.18).

Tabela IV.18 - Efeito do volume de reagente na determinação de cobre utilizando sistema reverso em confluência. Sol. tampão pH 9,0; bobina de reação: 100 cm.

Vol. injetado (μ l)	Absorbância
25	0,240
30	0,250
35	0,258
40	0,263
45	0,269
50	0,274
60	0,274
70	0,278
80	0,283
90	0,287
100	0,290

A Figura IV.44 mostra o efeito da concentração do reagente zincon na determinação de cobre. A medida que a concentração aumenta a absorbância também aumenta. Entretanto, este aumento não é significativo em relação ao aumento da concentração; assim, a concentração de 0,025 % é considerada a mais adequada.

Os valores de absorbância obtidos para diferentes comprimentos de bobina de reação mostram que aquela de 100 cm é a mais adequada (Figura IV.45).

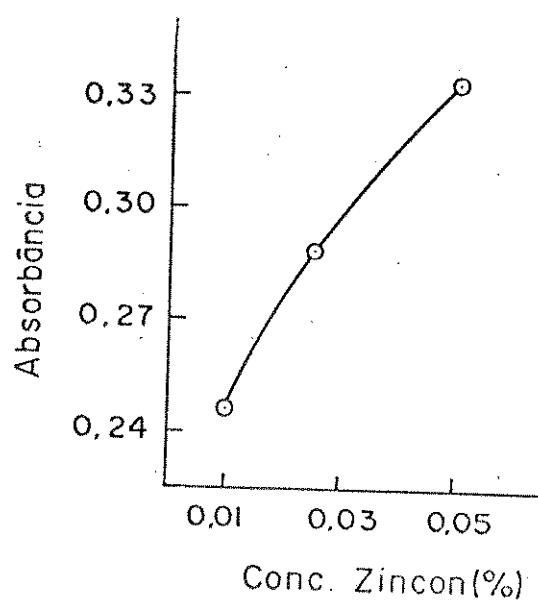


Figura IV.44 - Efeito da concentração de zinco no sistema reverso em confluência. Bobina de mistura: 5 cm.

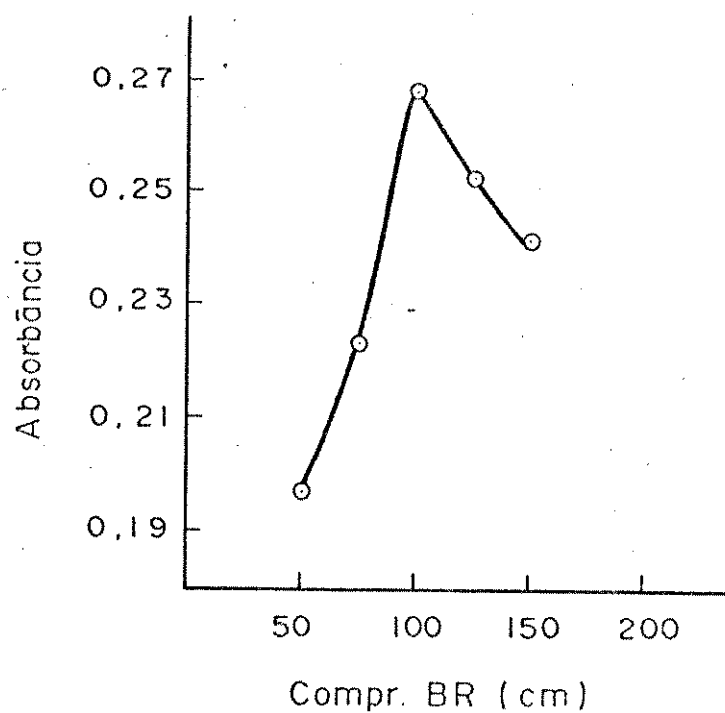


Figura IV.45 - Efeito da bobina de reação para determinar cobre com sistema reverso em confluência.

A Tabela IV.19 mostra que a absorbância aumenta à medida que a vazão diminui. Desta forma, a vazão de 2,5 ml.min⁻¹ utilizada até então, mostra-se adequada para o presente estudo.

Tabela IV.19 - Efeito da vazão no sistema reverso em confluência para o complexo cobre-zincon.

Vazão (ml.min ⁻¹)		Absorbância
Sol. Amostra	Sol. Tampão	
1,4	1,7	0,284
1,3	1,6	0,287
1,2	1,3	0,291
0,9	1,2	0,293
0,9	1,0	0,306
0,7	0,8	0,306
0,5	0,6	0,306
0,4	0,6	0,313

Nestas condições experimentais o sistema cobre-zincon obedece a lei de Beer no intervalo de concentração de 0,10 a 1,5 µg.ml⁻¹ ($A = 1,2 \times 10^{-3} + 2,4 \times 10^{-1} [Cu]$ (µg.ml⁻¹); coeficiente de correlação $r = 0,998$). O limite de detecção calculado, utilizando a razão sinal/ruído igual a três é de 12 ng.ml⁻¹ /86/. O desvio padrão relativo para 20 determinações em replicata varia de 2,8 % para 0,10 µg.ml⁻¹ a 0,6 % para 1,5 µg.ml⁻¹ com DPR mínimo de 0,5 % para 1,0 µg.ml⁻¹. A curva de calibração obtida é mostrada na Figura IV.46 e os sinais típicos referentes, na Figura IV.47.

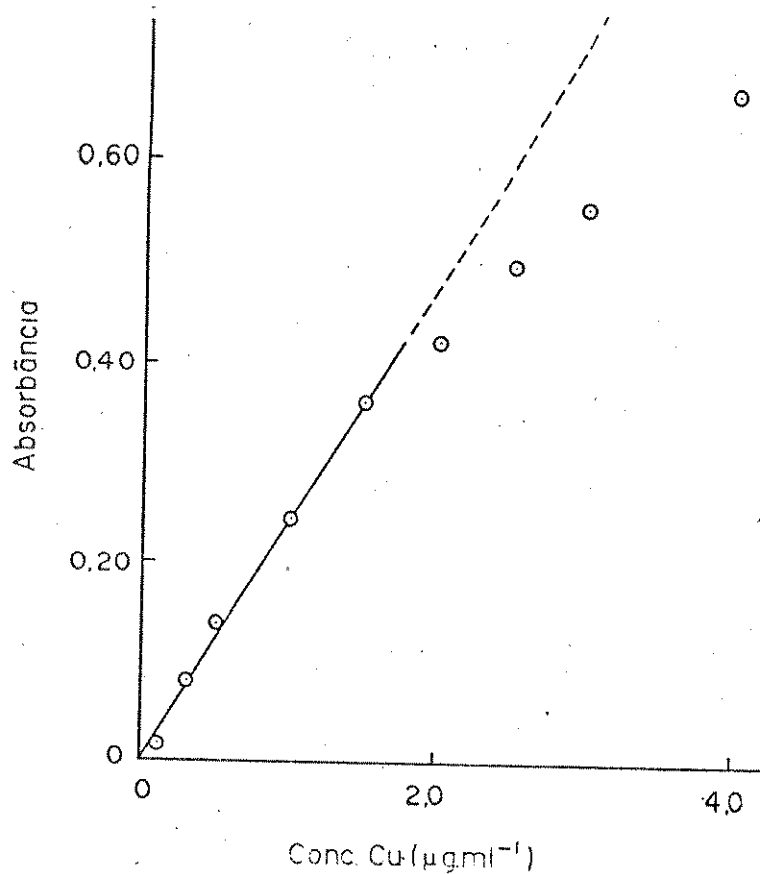


Figura IV.46 - Curva de calibração para cobre utilizando sistema reverso em confluência nas condições determinadas.

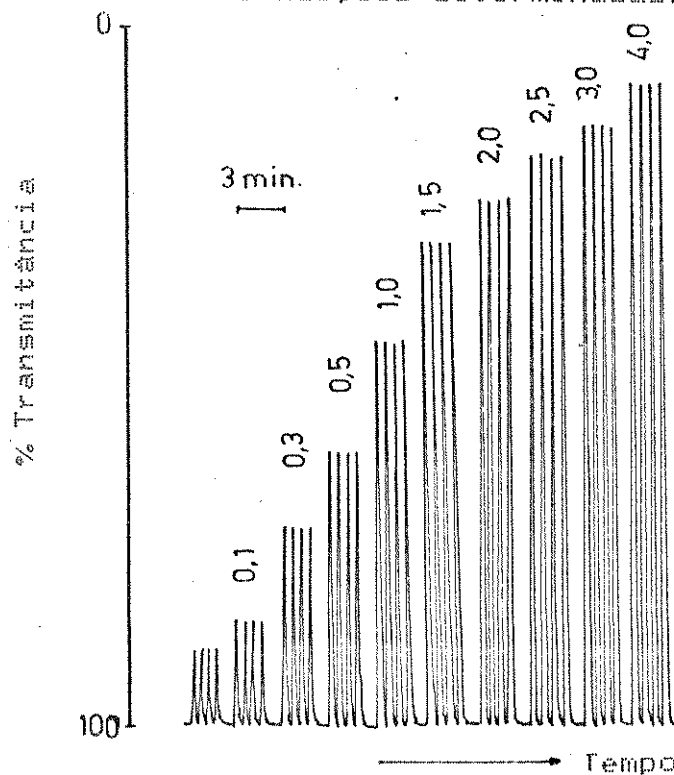


Figura IV.47 - Sinais típicos para determinação de cobre utilizando sistema reverso em confluência.

IV.3 - ESTUDO DA DISPERSÃO PARA OS SISTEMAS ZINCO-ZINCON E COBRE-ZINCON

Um dos parâmetros que fundamenta a técnica de Análise por Injeção em Fluxo é a dispersão (D), que está relacionada com a concentração da espécie a ser detectada durante sua passagem pelo detector. No contexto físico-químico, a palavra dispersão caracteriza a distribuição de matéria ou radiação num meio dispersante. Com raras exceções /90, 91/, o estudo da dispersão somente leva em conta a contribuição física do processo, isto é, a diluição da amostra no fluxo carregador, para o sistema em linha única. Entretanto, a presença de reações químicas pode alterar tanto a convecção (processo espontâneo de equalização da concentração) que controla o início do processo de dispersão, quanto a difusão (transferência de massa pelo movimento do sistema), que controla o final do processo. *Painton e Mottola /90/* mostraram que, na ausência de reações químicas, um aumento da dispersão resulta num decréscimo do sinal analítico e num aumento do tempo necessário para retornar à linha de base. Em presença de reações químicas, entretanto, um aumento de D implica, da mesma forma, num menor sinal analítico, mas o tempo gasto para retornar à linha de base é menor devido ao consumo químico das espécies monitoradas.

Desta forma, em muitos sistemas, principalmente nos de cinética lenta, não se pode ignorar o componente químico no processo de dispersão. A contribuição do componente químico na dispersão total (D_t) pode ser expressa por

$$D_q = D_t - D_f$$

onde D_q é a dispersão química e D_f é a dispersão física.

Considerando-se que a formação dos complexos zinco-zincon e cobre-zincon é dependente do pH, são determinados, neste trabalho, os valores de dispersão física e de dispersão química utilizando-se a razão $A_0/A_{máx}$.

Os valores de A_0 são obtidos bombeando-se continuamente o complexo zinco-zincon ou cobre-zincon através do detector. Os complexos são preparados de maneira convencional /107, 139/ pela adição de 5,0 ml de solução $5,0 \mu\text{g} \cdot \text{ml}^{-1}$ de zinco ou cobre, 5,0 ml de solução-tampão no pH determinado experimentalmente para cada sistema utilizado e 1,5 ml de solução 0,13 % do reagente zincon, diluindo o volume a 25 ml com água deionizada (Figuras IV.48a e IV.48d, Figuras IV.49a e IV.49d, Figuras IV.50a e IV.50d e Figuras IV.51a e IV.51d).

Para o cálculo de dispersão física, obtém-se o valor de $A_{máx}$ injetando o complexo pré-formado na linha do carregador. O volume de complexo injetado é aquele determinado experimentalmente para cada sistema estudado (Figuras IV.48b e IV.48e, Figuras IV.49b e IV.49e, Figuras IV.50b e IV.50e e Figuras IV.51b e IV.51e).

Para a dispersão química, o valor de $A_{máx}$ é calculado formando o complexo zinco-zincon ou cobre-zincon na linha de fluxo, utilizando as condições experimentais determinadas em

IV.1 e IV.2, exceto a concentração de zinco que é 0,13 % (Figuras IV.48c e IV.48f, Figuras IV.49c e IV.49f, Figuras IV.50c e IV.50f e Figuras IV.51c e IV.51f). Para o cálculo de A_o , é usada uma solução $1,0 \mu\text{g}.\text{ml}^{-1}$ de zinco ou cobre. Para o cálculo de $A_{\text{máx}}$ são usadas soluções que, após sofrerem as diluições inerentes ao sistema, alcançam o detector em concentração $1,0 \mu\text{g}.\text{ml}^{-1}$. Para isso, são preparadas soluções mais concentradas, de acordo com a razão de fluxo das linhas envolvidas em cada sistema. Assim, quando a razão de fluxo é 0,5, há uma diluição de 1:1 devendo ser preparada, neste caso, uma solução $2,0 \mu\text{g}.\text{ml}^{-1}$.

A Tabela IV.20 fornece os valores de dispersão física (D_f) e dispersão química (D_q), calculados para cada sistema de fluxo estudado, para o zinco e o cobre.

Tabela IV.20 - Valores de dispersão para os complexos zinco-zinco e cobre-zinco, utilizando os sistemas de AIF estudados (descritos nas Figuras III.2, pág.31, III.3, pág.32, III.4, pág.33 e III.5, pág.34)

	Zinco		Cobre	
	D_f	D_q	D_f	D_q
Sistema reverso de AIF	6,4	0,94	6,6	1,0
Sistema com zonas coalescentes	4,6	1,5	3,0	2,3
Sistema em confluência	3,3	3,9	4,8	3,1
Sistema reverso em confluência	4,1	0,96	5,6	0,84

Observa-se que, para os sistemas reverso de AIF e reverso em confluência, quando o reagente é injetado no carregador, são obtidos valores que contradizem o conceito de dispersão, segundo o qual ela nunca é menor que 1 /110/. Entretanto, este conceito só considera o componente físico, isto é, a diluição que a amostra sofre na linha, sem levar em conta o componente químico. Além disso, não existe literatura suficiente para permitir um estudo mais detalhado ou comparativo, para os sistemas reverso de AIF ou reverso em confluência.

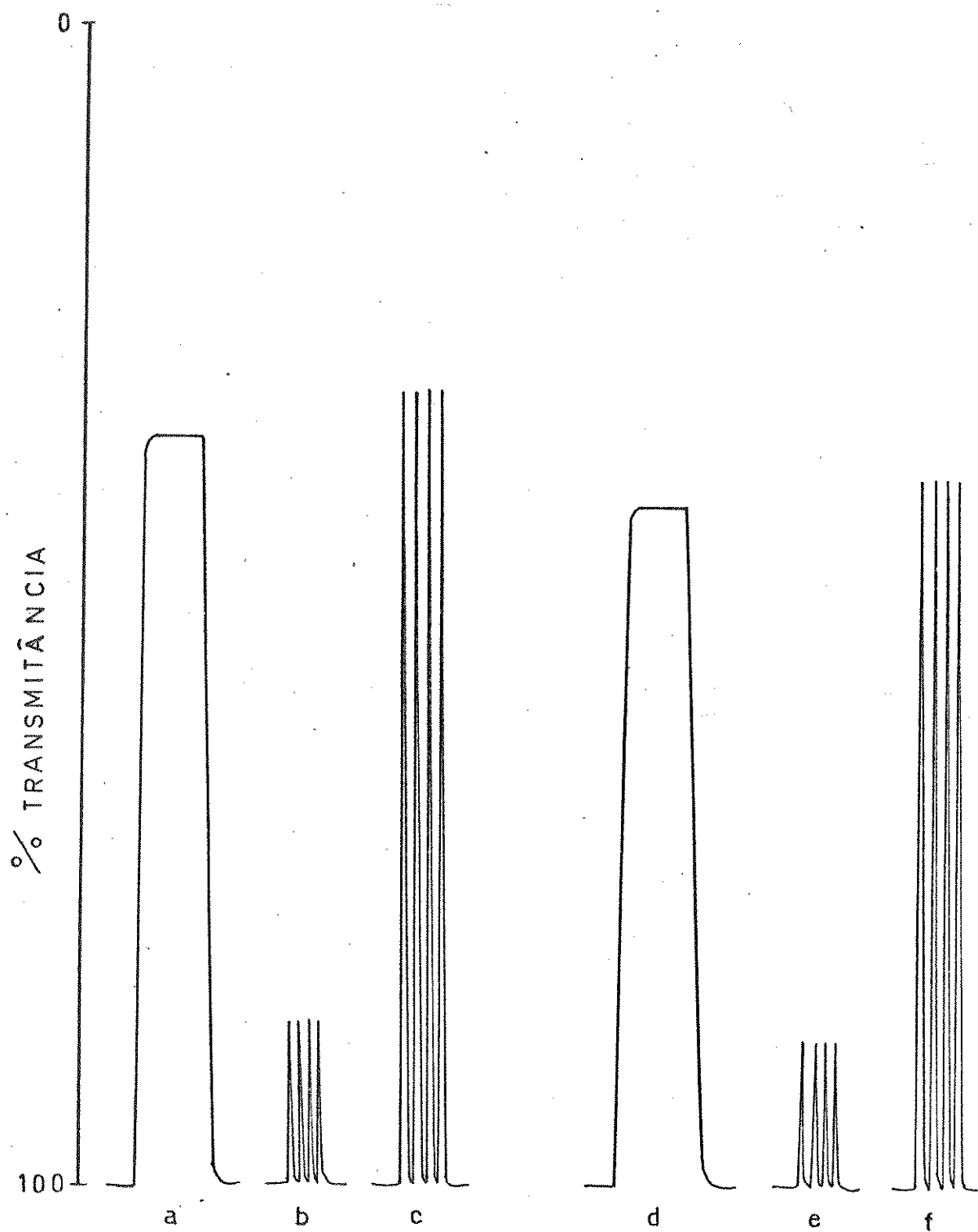


Figura IV.48 - Sinais obtidos diretamente do registrador utilizando sistema reverso de AIF, para zinco e cobre, descrito na Figura III.2, pág.31.

- a,d - Complexos Zn-zincon e Cu-zincon ($1,0 \mu\text{g} \cdot \text{ml}^{-1}$ em Zn e Cu), prê-formados, bombeados continuamente através do detector.
- b,e - Complexos Zn-zincon e Cu-zincon, prê-formados, injetados na linha do carregador.
- c,f - Complexos Zn-zincon e Cu-zincon formados na linha.

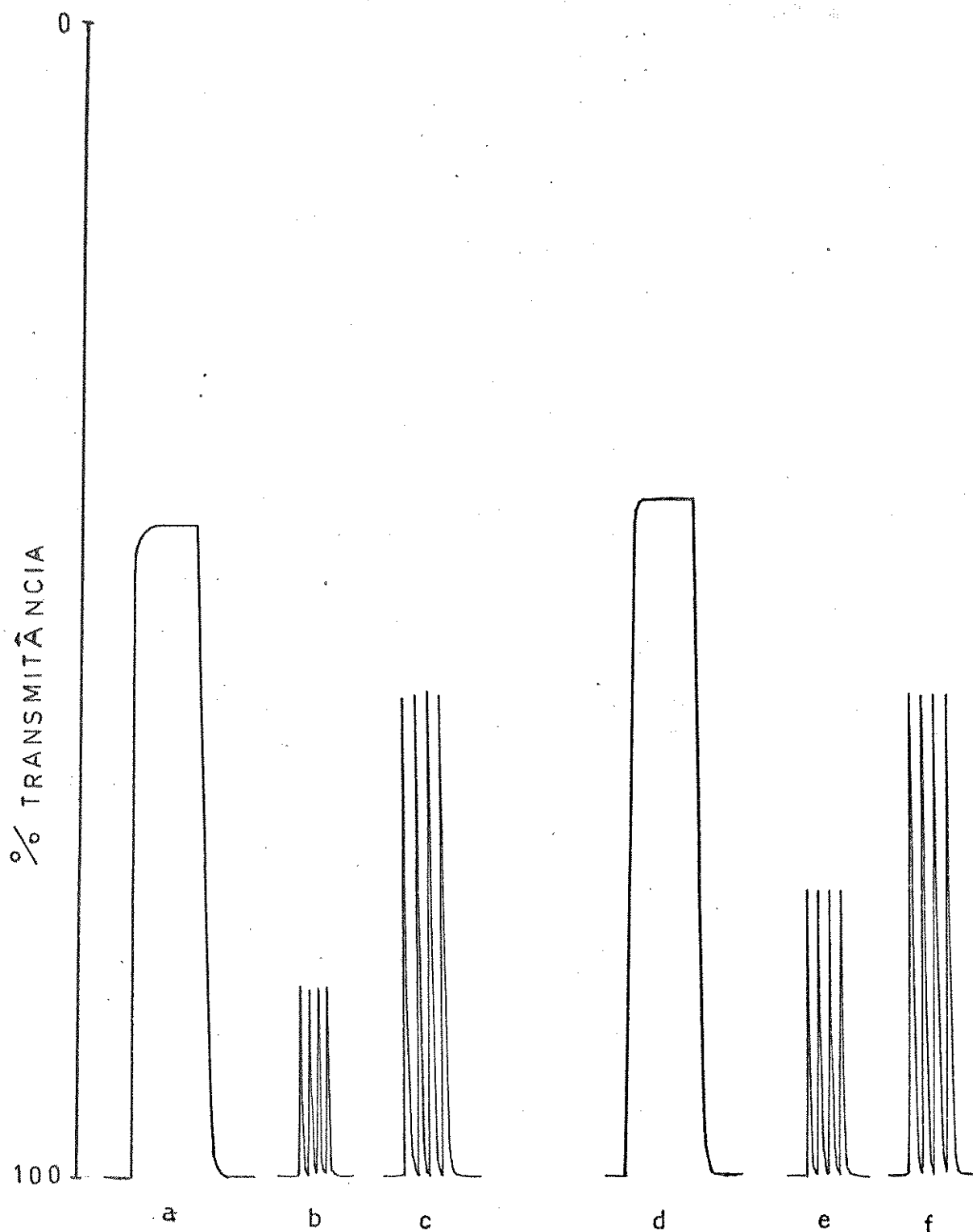


Figura IV.49 - Sinais de AIF obtidos utilizando sistema com zonas coalescentes, para zinco e cobre, descrito na Figura III.3, pág.32.

- a,d - Complexos Zn-zincon e Cu-zincon ($1,0 \mu\text{g}.\text{ml}^{-1}$ em Zn e Cu), prê-formados, bombeados continuamente através do detector.
- b,e - Complexos Zn-zincon e Cu-zincon, prê-formados, injetados na linha do carregador.
- c,f - Complexos Zn-zincon e Cu-zincon, formados na linha.

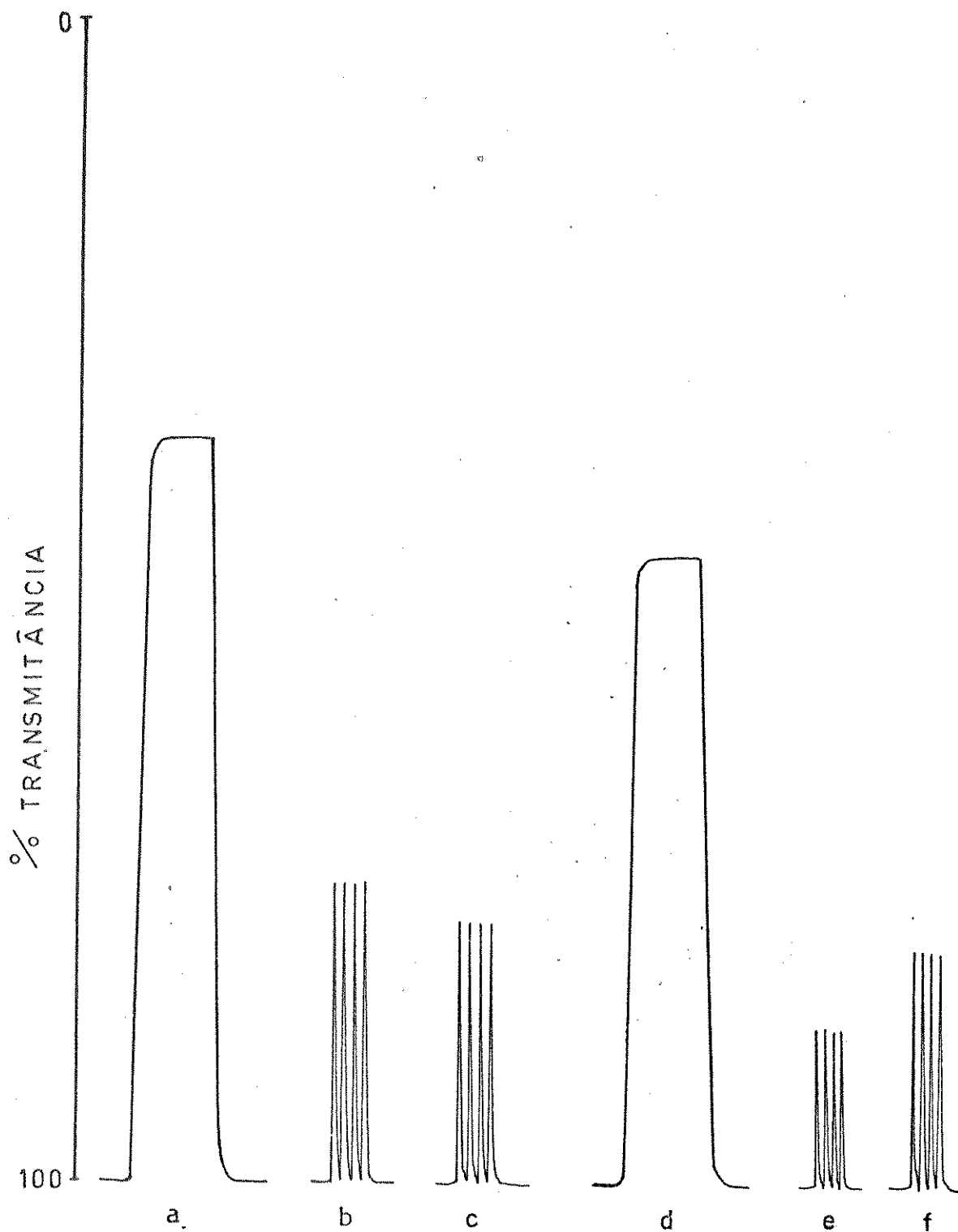


Figura IV.50 - Sinais de AIF obtidos para zinco e cobre, utilizando sistema em confluência descrito na Figura III.4, pág.33.

- a,d - Complexos Zn-zincon e Cu-zincon ($1,0 \mu\text{g.ml}^{-1}$ em Zn e Cu), prê-formados, bombeados continuamente através do detector.
- b,e - Complexos Zn-zincon e Cu-zincon, prê-formados, injetados no fluxo do carregador.
- c,f - Complexos Zn-zincon e Cu-zincon formados na linha.

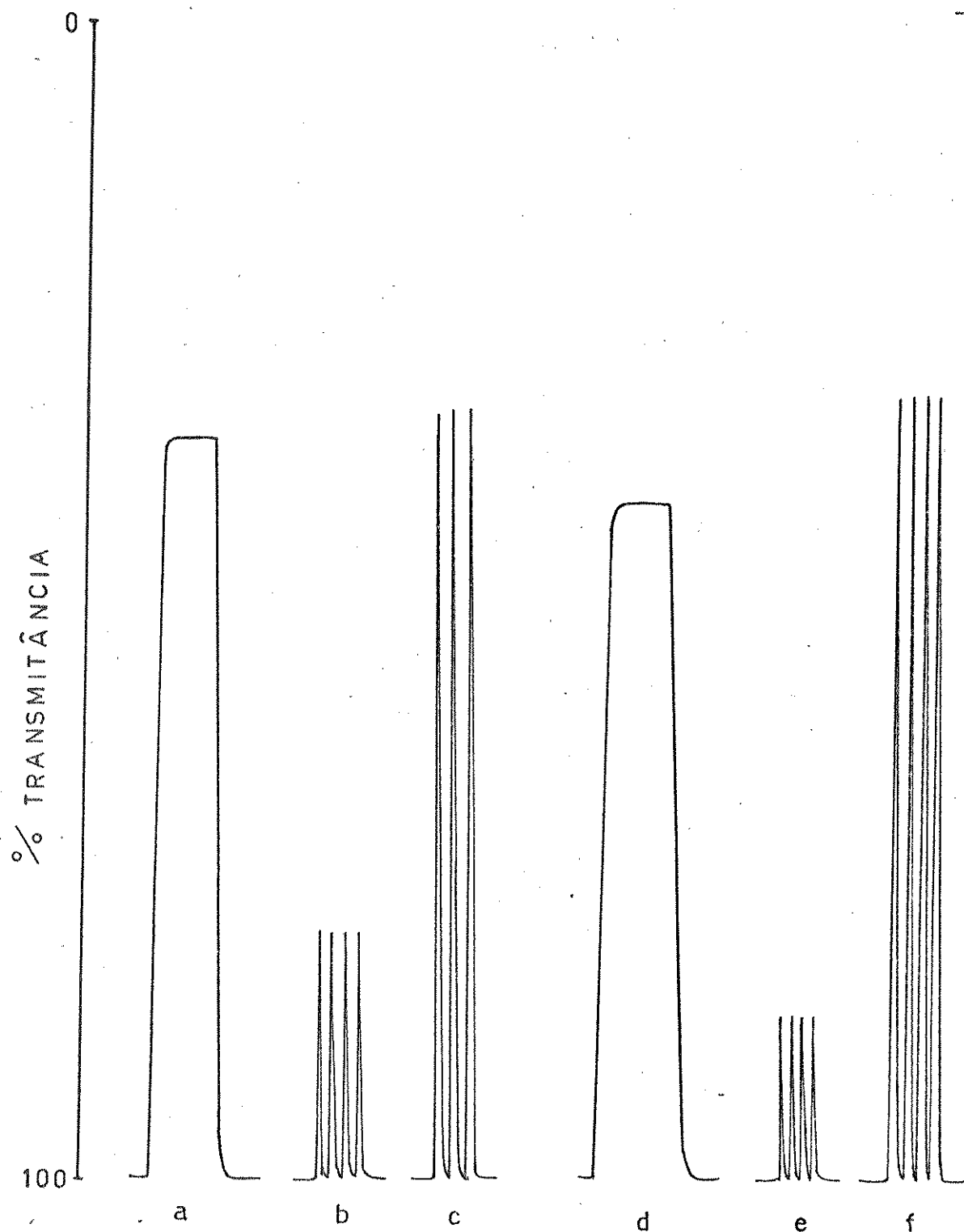


Figura IV.51 - Sinais de AIF, para zinco e cobre, obtidos com o sistema reverso em confluência descrito na Figura III.5, pág.34.

- a,d - Complexos Zn-zincon e Cu-zincon ($1,0 \mu\text{g}.\text{ml}^{-1}$ em Zn e Cu), pré-formados, bombeados diretamente para o detector.
- b,e - Complexos Zn-zincon e Cu-zincon, pré-formados, injetados na linha do carregador.
- c,f - Complexos Zn-zincon e Cu-zincon formados na linha.

São feitos então alguns testes na tentativa de mostrar a existência de uma reação química na linha. Para isto, o complexo pré-formado é injetado no carregador (solução-tampão) e o sinal analítico é registrado utilizando maior velocidade do papel para permitir a obtenção de uma banda larga ao invés de um pico fino. A seguir, o reagente zincon é injetado no carregador (solução-tampão + solução da amostra). A concentração da solução da amostra é tal que permite valores próximos de absorbância para os dois casos verificando-se, então, a coincidência ou não da largura das bandas. Se a largura da banda correspondente à injeção de zincon fosse maior, isto poderia significar uma reação química na linha. Quando o zincon é injetado no carregador, que contém a amostra, ocorre a formação do complexo de zinco, ocasionando deficiência de íons Zn^{2+} na interface reagente-amostra e uma concentração maior de íons Zn^{2+} na zona do reagente. Para compensar a deficiência provocada, haveria uma migração de íons Zn^{2+} e isto explicaria uma banda mais larga. Esta banda não ocorre quando o complexo pré-formado é injetado, pois não há deficiência de íons, já que não ocorre a formação de uma espécie química, ocorrendo somente diluição. Os testes feitos mostram, realmente, uma banda mais larga quando o reagente é injetado no carregador (Figura IV.52).

É feito também um estudo para verificar o efeito da força iônica, preparando as soluções de zinco e cobre em água, em KCl 0,1 M, KCl 1,0 M, KNO_3 0,1 M e KNO_3 1,0 M. Para evitar problemas devidos à diferença de índice de refração, o reagente também é preparado nestes meios. Os resultados mostram, para todos os casos, uma banda mais larga quando o zincon é injetado no carregador. Este fato pode sugerir o consumo de Zn^{2+} pelo reagente.

Valores baixos de dispersão são obtidos somente quando o reagente é injetado no carregador. Por isso são testados outros sistemas químicos, além de zinco e cobre, utilizando configurações de sistema reverso de AIF. A Tabela IV.21 mostra os valores obtidos para a dispersão física e química, para os sistemas $\text{Fe}^{3+}/\text{SCN}^-$, $\text{Ti}^{4+}/\text{H}_2\text{O}_2$ e V^{5+}/PAR (Piridilazoresorcinol).

Também para estes sistemas químicos é observado o mesmo comportamento verificado para zinco e cobre com zincon.

Tabela IV.21 - Valores de dispersão para diferentes sistemas químicos utilizando o sistema reverso de AIF.

	D_f	D_q
$\text{Fe}^{3+}/\text{SCN}^-/\text{HCl}$	2,4	0,87
$\text{Fe}^{3+}/\text{SCN}^-/\text{H}_2\text{SO}_4$	1,9	0,75
$\text{Ti}^{4+}/\text{H}_2\text{O}_2$	5,6	0,99
V^{5+}/PAR	6,8	0,84

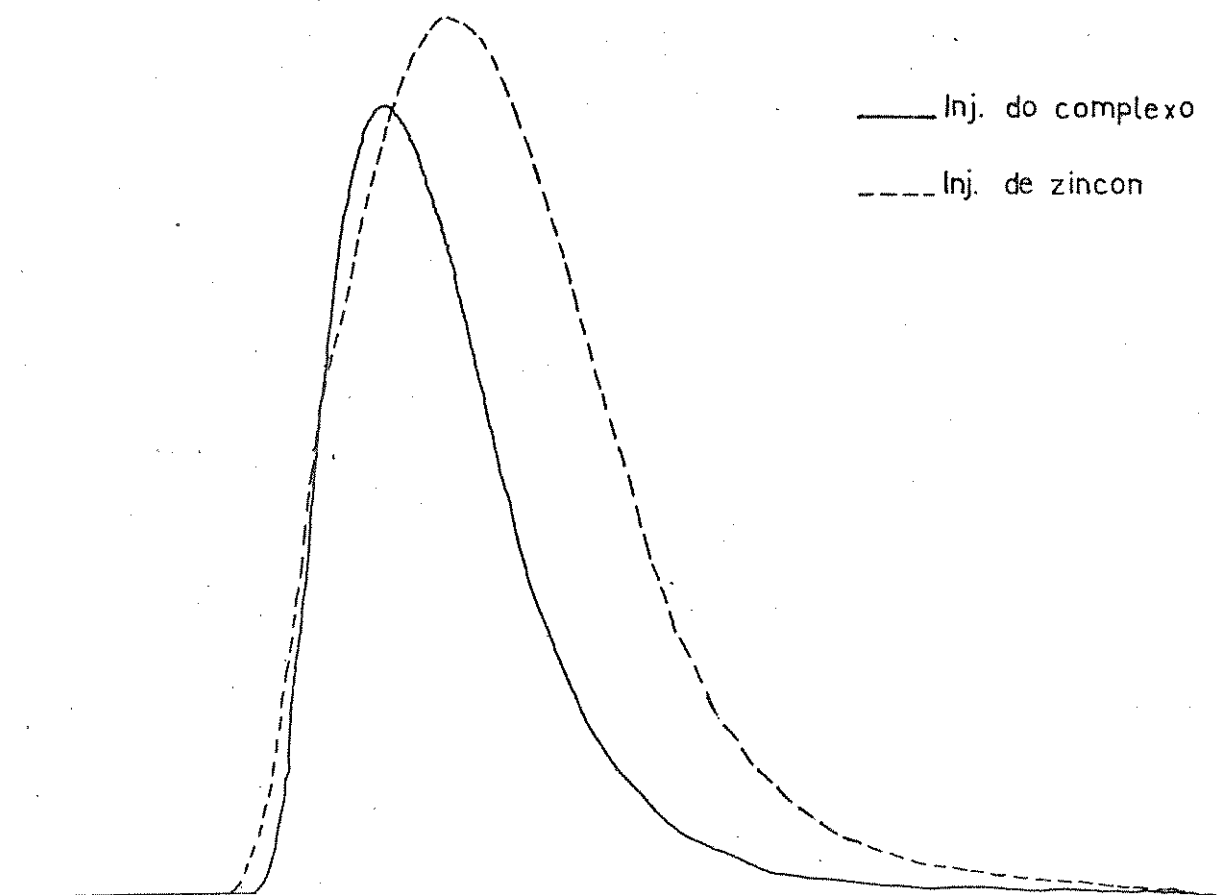


Figura IV.52 - Efeito da injeção do zincon e do complexo de zinco no fluxo do carregador, para o sistema reverso de AIF.

Neste trabalho não é possível determinar, de maneira definitiva, a causa deste comportamento, mas estudos posteriores deverão ser feitos na tentativa de esclarecer o fenômeno de Dispersão menor que 1,0 para sistemas em que o reagente é introduzido no fluxo da amostra.

IV.4 - ESTUDO DE INTERFERENTES

As interferências, de um modo geral, podem ser o resultado de causas como:

a) O interferente reage com o reagente formando complexo colorido, o que aumenta o sinal para o comprimento de onda em questão.

b) O interferente consome o reagente, sem formar complexo colorido, ou formando complexo incolor estável.

c) O interferente reage com o metal de interesse, formando um complexo estável.

O zincon não é um reagente específico para zinco ou cobre. Yoe e Rush /107, 139/ constataram que o reagente forma um complexo colorido também com níquel e cobalto. O estudo de interferentes feito por aqueles autores mostrou que Al (III), Be (II), Bi (III), Cd (II), Co (II), Cu (II), Cr (III), Fe (III), Mn (II), Mo (VI), Ni (II) e Ti (IV) interferem na determinação de zinco com zincon.

A Tabela IV.22 descreve alguns complexos metal-zincon encontrados na literatura.

Tabela IV.22 - Alguns complexos metal-zincon

Ion Me- tálico	Cor do complexo	Comprimento de onda (nm)	Observações	Refe- rência
Zn (II)	azul	620	pH 8,5-9,5	107
Cu (II)	azul	600	pH 5,0-9,5	107
Hg (II)	azul	600	pH 7,2	80
Cd (II)	púrpura	620	$a_{Cd} = 1/10 a_{Zn}$	116
Co (II)	verde	670	meio alcalino	72
Ni (II)	verde	680	meio alcalino	72
Mn (II)	amarelo	<600		33, 72

A evidência de formação dos complexos da Tabela IV.22 é obtida usando um procedimento estático convencional, cujas condições experimentais podem não ser as melhores ou as mais adequadas para o sistema de análise por injeção em fluxo. Desta forma, é feito o estudo da interferência de diversos ions que podem afetar a determinação de zinco ou cobre com zincon. Este estudo é feito para os sistemas de AIF descritos nas Figuras III.2 (pág. 31), III.3 (pág. 32), III.4 (pág. 33) e III.5 (pág. 34), para ambos os complexos zinco-zincon e cobre-zincon. As soluções dos ions interferentes são preparadas como descrito no Apêndice.

(*) Para o sistema em confluência são testados somente alguns ions interferentes, considerando-se sua presença em eventuais amostra.

IV.4.1 - ESTUDO DE INTERFERENTES PARA O COMPLEXO ZINCO-ZINCON

Para os sistemas reverso e reverso em confluência são usadas soluções contendo $1,0 \mu\text{g Zn. ml}^{-1}$, enquanto que para o sistema de zonas coalescentes, é usada solução de $4,0 \mu\text{g Zn. ml}^{-1}$ e para o sistema em confluência, $5,0 \mu\text{g. ml}^{-1}$ de zinco. Quantidades crescentes (em $\mu\text{g. ml}^{-1}$) do interferente em estudo são adicionadas àquelas soluções. São escolhidas estas concentrações para a solução de zinco considerando-se que o valor observado da absorbância, para os sistemas estudados, encontra-se numa faixa que permite uma adequada ação do interferente, seja ela positiva (aumento do sinal) ou negativa (diminuição do sinal).

Os resultados são agrupados nas tabelas mostradas a seguir, onde os valores de absorbância estão corrigidos contra o branco. Nelas aparece um fator de interferência, FI, definido por $FI = A_{CI} / A_{SI}$, onde A_{CI} é o valor de absorbância do complexo Zn-zincon em presença do interferente e A_{SI} é o valor de absorbância do complexo Zn-zincon sem interferente. Um fator igual a 1,00 significa não interferência. Fatores maiores que 1,00 indicam aumento do sinal e fatores menores que 1,00 indicam uma redução do sinal.

Observa-se que os íons Cl^- (Tabela IV.26), NO_3^- (Tabela IV.35), SO_4^{2-} (Tabela IV.36), Mo (VI) (Tabela IV.33) e V (V) (Tabela IV.38) praticamente não interferem no sistema zinco-zincon. Os íons Bi (III) (Tabela IV.24), Cd (II) (Tabela IV.25) e Mn (II) (Tabela IV.32) interferem em diferentes razões metal:interferente, dependendo do sistema utilizado. Já os íons Al (III) (Tabela IV.23), Co (II) (Tabela IV.27), Cr (III) (Tabela IV.28), Cu (II) (Tabela IV.29), Fe (III) (Tabela IV.30), Hg (II) (Tabela IV.31), Ni (II) (Tabela IV.34) e Ti (IV) (Tabela IV.37) são interferentes em potencial para todas as configurações estudadas. É interessante notar que os íons Bi (III), Cr (III), Fe (III) e Ti (IV) causam inicialmente uma interferência negativa e, a seguir, quando a sua concentração é várias vezes maior que a do metal de interesse, aumentam o sinal causando interferência positiva. Pode-se observar ainda que, para algumas concentrações de interferentes, não é possível a leitura da absorbância, devido à instabilidade química do sistema formado.

Tabela IV.23 - Interferência do íon Al(III) na formação do complexo zinco-zincon para os sistemas reverso (1); com zonas coalescentes (2); reverso em confluência (3) e em confluência (4).

Razão M:I	A =0,259 SI1	A =0,434 SI2	A =0,289 SI3	A =0,603 SI4
	FI (1)	FI (2)	FI (3)	FI (4)
1:0,25	0,90	0,96	1,02	0,90
1:0,5	0,87	0,92	0,96	0,88
1:1	0,86	0,81	0,84	0,78
1:5	0,35	0,35	0,46	0,51
1:20	0,10	0,31	0,19	0,64
1:100	*	0,68	0,11	0,61
1:300	*	0,65	0,30	0,60

* Devido à instabilidade do sistema não foi possível medir a absorbância.

Tabela IV.24 - Interferência do íon Bi(III) na formação do complexo zinco-zincon para os sistemas reverso (1); com zonas coalescentes (2); reverso em confluência (3).

Razão M:I	A =0,259 SI1	A =0,424 SI2	A =0,251 SI3
	FI (1)	FI (2)	FI (3)
1:0,25	1,07	1,02	1,08
1:0,5	1,00	1,00	1,05
1:1	0,93	0,96	0,97
1:5	0,75	0,98	0,79
1:20	0,70	0,98	0,80
1:100	1,73	1,30	*
1:300	*	1,51	*

* Devido à instabilidade do sistema não foi possível medir a absorbância.

Tabela IV.25 - Interferência do íon Cd(II) na formação do complexo zinco-zincon para os sistemas reverso (1); com zonas coalescentes (2); reverso em confluência (3).

Razão M:I	A = 0,253 SI1	A = 0,454 SI2	A = 0,267 SI3
	FI (1)	FI (2)	FI (3)
1:0,25	1,04	1,01	1,07
1:0,5	1,03	1,02	1,14
1:1	1,04	1,04	1,15
1:5	1,06	1,14	1,17
1:20	1,27	1,02	1,21
1:100	1,56	1,07	1,31
1:300	1,33	1,32	1,28

Tabela IV.26 - Interferência do íon Cl^- na formação do complexo zinco-zincon para os sistemas reverso (1); com zonas coalescentes (2); reverso em confluência (3).

Razão M:I	A = 0,243 SI1	A = 0,412 SI2	A = 0,272 SI3
	FI (1)	FI (2)	FI (3)
1:0,25	1,02	1,00	1,02
1:0,5	1,03	1,01	1,01
1:1	1,04	1,01	0,97
1:5	1,15	1,05	1,01
1:20	1,11	1,06	1,01
1:100	1,14	1,07	1,05
1:300	1,00	1,06	1,05

Tabela IV.27 - Interferência do íon Co(II) na formação do complexo zinco-zincon para os sistemas reverso (1); com zonas coalescentes (2); reverso em confluência (3).

Razão M:I	A = 0,244	A = 0,398	A = 0,267
	SI1	SI2	SI3
	FI (1)	FI (2)	FI (3)
1:0,25	1,06	1,06	1,06
1:0,5	1,10	1,08	1,11
1:1	1,17	1,14	1,10
1:5	1,32	1,03	1,10
1:20	0,99	0,94	0,58
1:100	1,07	1,05	0,59
1:300	1,19	1,23	0,62

Tabela IV.28 - Interferência do íon Cr(III) na formação do complexo zinco-zincon para os sistemas reverso (1); com zonas coalescentes (2); reverso em confluência (3) e em confluência (4).

Razão M:I	A = 0,241	A = 0,443	A = 0,279	A = 0,567
	SI1	SI2	SI3	SI4
	FI (1)	FI (2)	FI (3)	FI (4)
1:0,25	0,00	0,41	0,90	0,61
1:05	0,00	0,13	0,80	0,28
1:1	0,00	0,12	0,01	0,00
1:5	0,00	0,15	0,01	0,02
1:20	0,00	0,44	0,03	0,16
1:100	*	*	*	1,32
1:300	*	1,34	*	1,88

* Devido à instabilidade do sistema não foi possível medir a absorbância.

Tabela IV.29 - Interferência do íon Cu(II) na formação do complexo zinco-zincon para os sistemas reverso (1); com zonas coalescentes (2); reverso em confluência (3).

Razão M:I	A =0,233 SI1	A =0,445 SI2	A =0,285 SI3
	FI (1)	FI (2)	FI (3)
1:0,25	1,12	1,12	1,08
1:0,5	1,32	1,17	1,32
1:1	1,64	1,27	1,53
1:5	2,59	1,40	2,04
1:20	2,98	1,41	1,94
1:100	3,99	1,38	1,90
1:300	3,91	1,30	*

* Devido à instabilidade do sistema não foi possível medir a absorbância.

Tabela IV.30 - Interferência do íon Fe(III) na formação do complexo zinco-zincon para os sistemas reverso (1); com zonas coalescentes (2); reverso em confluência (3).

Razão M:I	A =0,238 SI1	A =0,389 SI2	A =0,261 SI3
	FI (1)	FI (2)	FI (3)
1:0,25	0,99	0,95	1,00
1:0,5	0,93	0,89	0,92
1:1	0,81	0,81	0,81
1:5	0,34	0,55	0,44
1:20	0,12	0,63	0,21
1:100	*	1,09	0,16
1:300	1,32	1,16	0,31

* Devido à instabilidade do sistema não foi possível medir a absorbância.

Tabela IV.31 - Interferência do íon Hg(II) na formação do complexo zinco-zincon para os sistemas reverso (1); com zonas coalescentes (2); reverso em confluência (3).

Razão M:I	A =0,249 SI1	A =0,434 SI2	A =0,258 SI3
	FI (1)	FI (2)	FI (3)
1:0,25	1,06	1,02	1,08
1:0,5	1,06	1,04	1,11
1:1	1,07	1,08	1,14
1:5	1,22	1,29	1,40
1:20	1,64	1,41	1,80
1:100	2,45	1,39	2,31
1:300	1,06	1,23	1,37

Tabela IV.32 - Interferência do íon Mn(II) na formação do complexo zinco-zincon para os sistemas reverso (1); com zonas coalescentes (2); reverso em confluência (3) e em confluência (4).

Razão M:I	A =0,226 SI1	A =0,409 SI2	A =0,263 SI3	A =0,620 SI4
	FI (1)	FI (2)	FI (3)	FI (4)
1:0,25	1,00	0,98	1,05	1,02
1:0,5	1,01	1,03	1,06	1,06
1:1	1,00	1,05	1,04	1,10
1:5	1,02	1,15	1,03	1,07
1:20	1,01	0,90	0,69	0,82
1:100	1,00	0,79	0,49	0,69
1:300	0,97	0,78	0,43	0,72

Tabela IV.33 - Interferência do íon Mo(VI) na formação do complexo zinco-zincon para os sistemas reverso (1); com zonas coalescentes (2); reverso em confluência (3).

Razão M:I	A = 0,247 SI1	A = 0,401 SI2	A = 0,267 SI3
	FI (1)	FI (2)	FI (3)
1:0,25	1,00	1,02	1,04
1:0,5	1,01	1,01	1,10
1:1	1,00	1,03	1,12
1:5	1,02	1,02	1,11
1:20	1,01	1,01	1,17
1:100	1,00	1,00	1,16
1:300	0,97	1,02	1,13

Tabela IV.34 - Interferência do íon Ni(II) na formação do complexo zinco-zincon para os sistemas reverso (1); com zonas coalescentes (2); reverso em confluência (3) e em confluência (4).

Razão M:I	A = 0,255 SI1	A = 0,436 SI2	A = 0,270 SI3	A = 0,496 SI4
	FI (1)	FI (2)	FI (3)	FI (4)
1:0,25	1,11	1,07	1,14	1,08
1:0,5	1,16	1,11	1,22	1,15
1:1	1,16	1,18	1,28	1,36
1:5	1,43	1,30	1,38	1,96
1:20	1,56	1,19	1,24	2,17
1:100	1,29	1,13	1,06	2,02
1:300	1,05	1,20	0,84	1,94

Tabela IV.35 - Interferência do íon NO_3^- na formação do complexo zinco-zinco para os sistemas reverso (1); com zonas coalescentes (2); reverso em confluência (3).

	A = 0,242	A = 0,429	A = 0,265	
Razão M:I	SI1	SI2	SI3	
	FI (1)	FI (2)	FI (3)	
1:0,25	1,07	1,01	1,06	
1:0,5	1,06	1,02	1,06	
1:1	1,06	1,03	1,03	
1:5	1,06	1,05	1,10	
1:20	1,05	0,99	1,14	
1:100	1,04	1,02	1,14	
1:300	1,06	1,01	1,12	

Tabela IV.36 - Interferência do íon SO_4^{2-} na formação do complexo zinco-zinco para os sistemas reverso (1); com zonas coalescentes (2); reverso em confluência (3).

	A = 0,246	A = 0,425	A = 0,259	
Razão M:I	SI1	SI2	SI3	
	FI (1)	FI (2)	FI (3)	
1:0,25	1,08	1,02	1,05	
1:0,5	1,10	1,02	1,06	
1:1	1,11	1,02	1,09	
1:5	1,10	1,03	1,10	
1:20	1,09	1,02	1,12	
1:100	1,10	1,03	1,13	
1:300	1,09	1,06	1,12	

Tabela IV.37 - Interferência do íon $Ti(IV)$ na formação do complexo zinco-zincon para os sistemas reverso (1); com zonas coalescentes (2); reverso em confluência (3) e em confluência (4).

Razão M:I	A = 0,226 SI1	A = 0,454 SI2	A = 0,279 SI3	A = 0,584 SI4
	FI (1)	FI (2)	FI (3)	FI (4)
1:0,25	0,80	0,87	0,90	0,89
1:0,5	0,66	0,79	0,88	0,89
1:1	0,46	0,74	0,53	0,92
1:5	0,17	0,99	0,28	2,12
1:20	1,76	1,19	0,95	2,31
1:100	2,12	1,25	0,95	2,45
1:300	2,30	1,20	1,06	*

* Devido à instabilidade do sistema não foi possível medir a absorbância.

Tabela IV.38 - Interferência do íon $V(V)$ na formação do complexo zinco-zincon para os sistemas reverso (1); com zonas coalescentes (2); reverso em confluência (3).

Razão M:I	A = 0,225 SI1	A = 0,459 SI2	A = 0,232 SI3
	FI (1)	FI (2)	FI (3)
1:0,25	0,98	1,02	1,02
1:0,5	1,00	1,01	1,02
1:1	1,01	1,00	1,02
1:5	1,03	1,00	1,06
1:20	0,98	0,99	1,03
1:100	0,99	0,84	1,02
1:300	0,97	0,48	0,93

IV.4.2 - ESTUDO DE INTERFERENTES PARA O COMPLEXO COBRE-ZINCON

Para os sistemas reverso e reverso em confluência utilizam-se soluções contendo $1,0 \mu\text{g}.\text{ml}^{-1}$ de cobre, para o sistema com zonas coalescentes é usada solução $4,0 \mu\text{g}.\text{ml}^{-1}$ de cobre e para o sistema em confluência, solução $3,0 \mu\text{g}.\text{ml}^{-1}$ de cobre. Quantidades crescentes (em $\mu\text{g}.\text{ml}^{-1}$) do interferente em estudo são adicionadas àquelas soluções e os resultados são agrupados nas tabelas mostradas a seguir.

Os resultados experimentais mostram que os íons Cl^- (Tabela IV.42), NO_3^- (Tabela IV.50) e SO_4^{2-} (Tabela IV.51) praticamente não interferem no sistema cobre-zincon. Os íons Bi (III) (Tabela IV.40), Cd (II) (Tabela IV.41) e Mo (VI) (Tabela IV.48) interferem em diferentes razões metal:interferente, dependendo do sistema estudado, enquanto que os íons Al (III) (Tabela IV.39), Co (II) (Tabela IV.43), Cr (III) (Tabela IV.44), Fe (III) (Tabela IV.45), Hg (II) (Tabela IV.46), Mn (II) (Tabela IV.47), Ni (II) (Tabela IV.49), Ti (IV) (Tabela IV.52), V (V) (Tabela IV.53) e Zn (II) (Tabela IV.54) mostram-se interferentes em potencial, para qualquer sistema estudado.

Tabela IV.39 - Interferência do íon Al(III) na formação do complexo cobre-zinco para os sistemas reverso (1); com zonas coalescentes (2); reverso em confluência (3) e em confluência (4).

	A = 0,202	A = 0,354	A = 0,259	A = 0,291
Razão M:I	SI1	SI2	SI3	SI4
	FI (1)	FI (2)	FI (3)	FI (4)
1:0,25	1,00	0,90	0,98	0,84
1:1	0,86	0,78	0,86	0,96
1:5	0,61	0,54	0,59	0,88
1:20	0,35	0,72	0,41	1,60
1:100	0,28	1,27	0,46	2,23
1:300	1,23	1,26	0,88	2,26

Tabela IV.40 - Interferência do íon Bi(III) na formação do complexo cobre-zinco para os sistemas reverso (1); com zonas coalescentes (2); reverso em confluência (3).

	A = 0,206	A = 0,338	A = 0,259
Razão M:I	SI1	SI2	SI3
	FI (1)	FI (2)	FI (3)
1:0,25	0,91	1,03	1,14
1:1	0,92	0,98	1,05
1:5	0,91	0,89	1,07
1:20	0,30	*	0,57
1:100	0,30	4,29	0,56
1:300	*	8,98	*

* Devido à instabilidade do sistema não foi possível medir a absorbância.

Tabela IV.41 - Interferência do íon Cd(II) na formação do complexo cobre-zinco para os sistemas reverso (1); com zonas coalescentes (2); reverso em confluência (3).

Razão M:I	A = 0,205 SI1	A = 0,361 SI2	A = 0,261 SI3
	FI (1)	FI (2)	FI (3)
1:0,25	1,02	1,01	1,10
1:1	1,14	1,04	1,10
1:5	1,29	0,88	1,22
1:20	1,56	1,20	1,37
1:100	1,71	1,71	1,38
1:300	*	1,91	1,38

* Devido à instabilidade do sistema não foi possível medir a absorbância.

Tabela IV.42 - Interferência do íon Cl^- na formação do complexo cobre-zinco para os sistemas reverso (1); com zonas coalescentes (2); reverso em confluência (3).

Razão M:I	A = 0,206 SI1	A = 0,347 SI2	A = 0,228 SI3
	FI (1)	FI (2)	FI (3)
1:0,25	0,83	1,03	1,14
1:1	0,87	1,00	1,10
1:5	1,00	1,02	1,16
1:20	0,96	1,01	1,23
1:100	1,02	1,02	1,25
1:300	1,00	1,00	1,33

Tabela IV.43 - Interferência do íon Co(II) na formação do complexo cobre-zinco para os sistemas reverso (1); com zonas coalescentes (2); reverso em confluência (3).

Razão M:I	A = 0,205 SI1	A = 0,338 SI2	A = 0,251 SI3	
	FI (1)	FI (2)	FI (3)	
1:0,25	1,17	1,03	1,12	
1:1	1,20	0,98	1,16	
1:5	1,20	0,89	1,04	
1:20	1,03	*	0,89	
1:100	1,03	4,29	0,79	
1:300	*	8,98	0,79	

* Devido à instabilidade do sistema não foi possível medir a absorbância.

Tabela IV.44 - Interferência do íon Cr(III) na formação do complexo cobre-zinco para os sistemas reverso (1); com zonas coalescentes (2); reverso em confluência (3) e em confluência (4).

Razão M:I	A = 0,202 SI1	A = 0,370 SI2	A = 0,259 SI3	A = 0,279 SI4
	FI (1)	FI (2)	FI (3)	FI (4)
1:0,25	0,30	0,46	0,43	0,60
1:1	0,08	0,09	0,11	0,05
1:5	0,05	0,07	0,06	0,02
1:20	0,03	0,18	0,06	0,53
1:100	0,02	1,52	0,17	1,94
1:300	*	2,44	*	3,10

* Devido à instabilidade do sistema não foi possível medir a absorbância.

Tabela IV.45 - Interferência do íon Fe(III) na formação do complexo cobre-zinco para os sistemas reverso (1); com zonas coalescentes (2); reverso em confluência (3).

Razão M:I	A = 0,214 SI1	A = 0,361 SI2	A = 0,251 SI3	
	FI (1)	FI (2)	FI (3)	
1:0,25	0,69	0,85	0,83	
1:1	0,36	0,51	0,44	
1:5	0,19	0,53	0,37	
1:20	2,81	1,19	0,29	
1:100	*	2,01	*	
1:300	*	2,19	*	

* Devido à instabilidade do sistema não foi possível medir a absorbância.

Tabela IV.46 - Interferência do íon Hg(II) na formação do complexo cobre-zinco para os sistemas reverso (1); com zonas coalescentes (2); reverso em confluência (3).

Razão M:I	A = 0,196 SI1	A = 0,354 SI2	A = 0,251 SI3	
	FI (1)	FI (2)	FI (3)	
1:0,25	1,05	1,10	1,04	
1:1	1,19	1,28	1,19	
1:5	1,54	2,24	1,43	
1:20	2,20	2,91	2,00	
1:100	3,33	3,25	2,65	
1:300	4,04	3,46	3,07	

Tabela IV.47 - Interferência do íon Mn(II) na formação do complexo cobre-zinco para os sistemas reverso (1); com zonas coalescentes (2); reverso em confluência (3) e em confluência (4).

Razão M:I	A = 0,196 SI1	A = 0,365 SI2	A = 0,258 SI3	A = 0,279 SI4
	FI (1)	FI (2)	FI (3)	FI (4)
1:0,25	0,94	1,07	1,14	1,04
1:1	1,11	1,06	1,06	1,15
1:5	1,13	0,85	1,06	1,28
1:20	1,88	0,37	0,90	1,15
1:100	0,48	0,36	0,63	1,02
1:300	0,41	0,44	0,55	1,02

Tabela IV.48 - Interferência do íon Mo(VI) na formação do complexo cobre-zinco para os sistemas reverso (1); com zonas coalescentes (2); reverso em confluência (3).

Razão M:I	A = 0,214 SI1	A = 0,338 SI2	A = 0,251 SI3
	FI (1)	FI (2)	FI (3)
1:0,25	1,04	1,03	1,06
1:1	1,09	1,06	1,10
1:5	1,13	1,13	1,19
1:20	1,14	1,00	1,16
1:100	1,30	1,26	1,27
1:300	1,54	1,09	1,47

Tabela IV.49 - Interferência do íon Ni(II) na formação do complexo cobre-zinco para os sistemas reverso (1); com zonas coalescentes (2); reverso em confluência (3) e em confluência (4).

Razão M:I	A = 0,202 SI1	A = 0,370 SI2	A = 0,258 SI3	A = 0,279 SI4
	FI (1)	FI (2)	FI (3)	FI (4)
1:0,25	0,98	0,86	0,94	1,23
1:1	1,20	1,16	1,08	1,32
1:5	1,76	1,68	1,42	2,22
1:20	1,59	1,49	1,30	3,13
1:100	1,43	1,37	0,99	3,20
1:300	1,28	1,41	0,88	4,33

Tabela IV.50 - Interferência do íon NO_3^- na formação do complexo cobre-zinco para os sistemas reverso (1); com zonas coalescentes (2); reverso em confluência (3).

Razão M:I	A = 0,196 SI1	A = 0,347 SI2	A = 0,228 SI3
	FI (1)	FI (2)	FI (3)
1:0,25	0,94	1,02	0,89
1:1	1,04	0,91	1,03
1:5	1,06	0,98	1,08
1:20	1,07	0,97	1,15
1:100	1,14	1,02	1,24
1:300	1,46	1,02	1,20

Tabela IV.51 - Interferência do íon SO_4^{2-} na formação do complexo cobre-zinco para os sistemas reverso (1); com zonas coalescentes (2); reverso em confluência (3).

Razão M:I	A = 0,196 SI1	A = 0,347 SI2	A = 0,228 SI3	
	FI (1)	FI (2)	FI (3)	
1:0,25	1,11	0,83	1,00	
1:1	1,01	0,91	1,04	
1:5	1,09	0,87	1,18	
1:20	1,10	0,91	1,22	
1:100	1,10	0,91	1,31	
1:300	1,15	0,91	1,31	

Tabela IV.52 - Interferência do íon Ti(IV) na formação do complexo cobre-zinco para os sistemas reverso (1); com zonas coalescentes (2); reverso em confluência (3) e em confluência (4).

Razão M:I	A = 0,196 SI1	A = 0,370 SI2	A = 0,258 SI3	A = 0,291 SI4
	FI (1)	FI (2)	FI (3)	FI (4)
1:0,25	0,65	0,73	0,71	1,11
1:1	0,39	0,87	0,47	1,12
1:5	0,25	3,28	0,42	1,27
1:20	3,68	3,83	2,26	5,64
1:100	3,95	3,98	2,55	6,70
1:300	4,11	3,66	2,81	7,21

Tabela IV.53 - Interferência do íon $V(V)$ na formação do complexo cobre-zinco para os sistemas reverso (1); com zonas coalescentes (2); reverso em confluência (3)

Razão M:I	A = 0,206 SI1	A = 0,354 SI2	A = 0,258 SI3
	FI (1)	FI (2)	FI (3)
1:0,25	0,96	0,88	0,81
1:1	0,93	0,89	0,86
1:5	0,86	0,16	0,87
1:20	0,85	0,03	0,93
1:100	0,12	0,07	*
1:300	0,28	0,13	*

* Devido à instabilidade do sistema não foi possível medir a absorbância.

Tabela IV.54 - Interferência do íon $Zn(II)$ na formação do complexo cobre-zinco para os sistemas reverso (1); com zonas coalescentes (2); reverso em confluência (3)

Razão M:I	A = 0,196 SI1	A = 0,361 SI2	A = 0,212 SI3
	FI (1)	FI (2)	FI (3)
1:0,25	1,20	1,27	1,37
1:1	2,18	1,98	2,27
1:5	4,24	3,86	3,95
1:20	4,72	3,90	4,06
1:100	4,67	3,99	4,00
1:300	4,54	-	*

* Devido à instabilidade do sistema não foi possível medir a absorbância.

IV.5 - DETERMINAÇÃO SEQUENCIAL DE ZINCO E COBRE

Sabendo-se que o complexo zinco-zincon é altamente instável em presença do agente complexante EDTA, em solução 4 %, quando se utiliza o procedimento estático convencional /73/, é estudado o comportamento deste complexo e daquele de cobre-zincon, utilizando o sistema reverso de AIF. Os testes preliminares são feitos utilizando a configuração descrita de maneira simplificada na Figura IV.53.

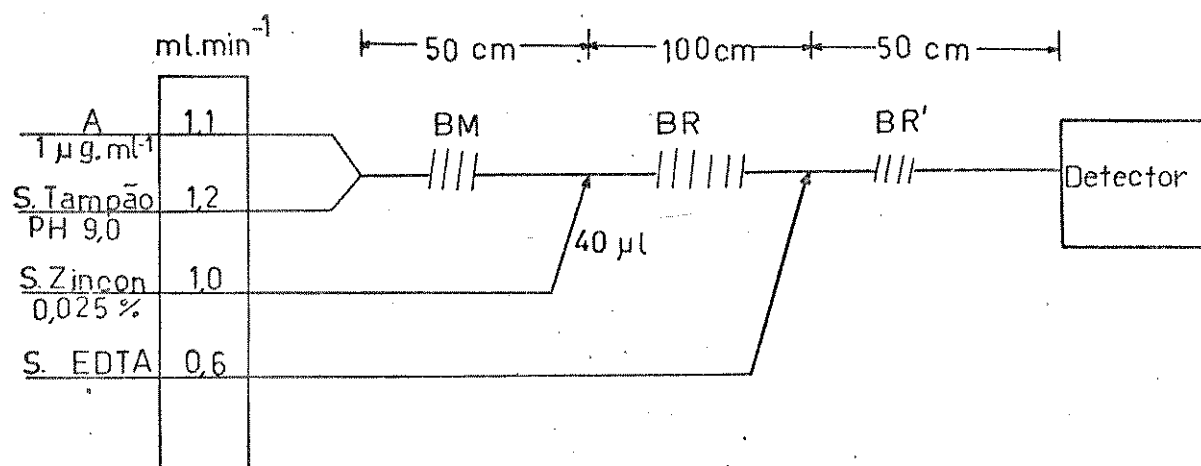


Figura IV.53 - Diagrama de fluxo utilizado para verificar a instabilidade do complexo zinco-zincon em presença de EDTA.

Testes feitos com diferentes concentrações de EDTA mostram que o complexo zinco-zincon é totalmente destruído por este complexante, enquanto que o complexo cobre-zincon sofre apenas uma pequena diminuição na altura dos picos, resultante da diluição que ocorre no sistema quando o EDTA é introduzido. A Figura IV.54 mostra os resultados obtidos. Para solução 4 % de EDTA (m/V) a altura dos picos correspondentes ao complexo de zinco reduz-se àquela correspondente à prova em branco. Considerando estes resultados, é possível um estudo mais detalhado para a determinação sequencial de zinco e cobre.

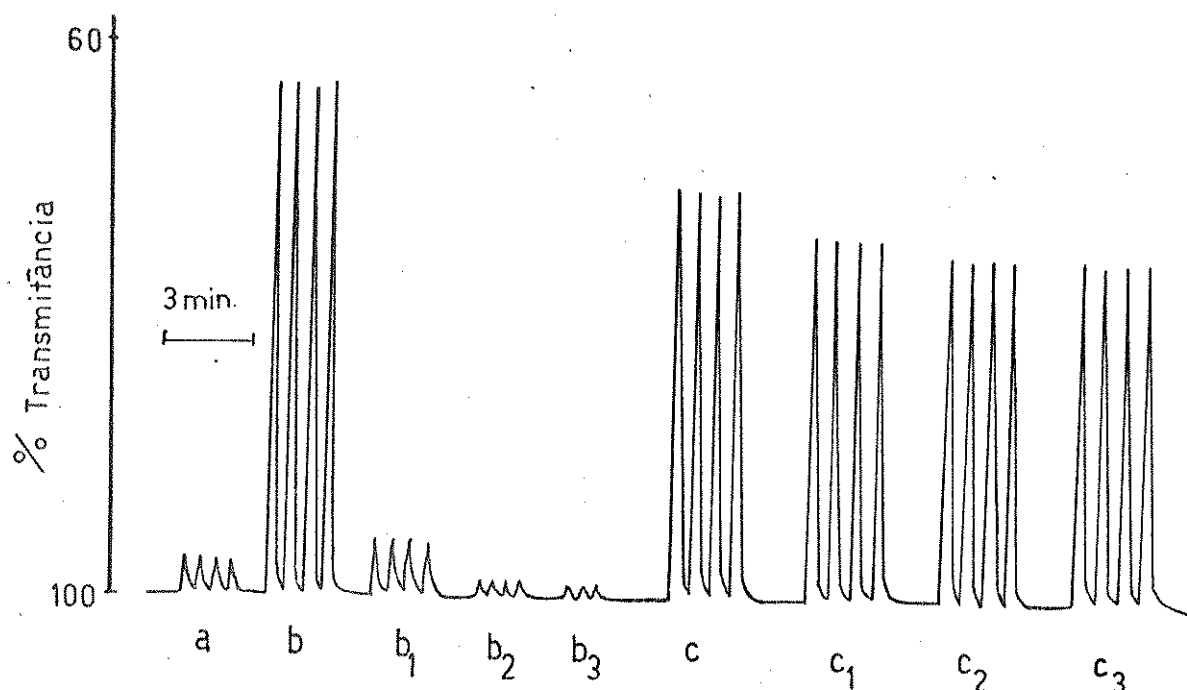


Figura IV.54 - Instabilidade do complexo zinco-zincon em presença de EDTA.

a: 'branco'

b: solução 1,0 $\mu\text{g Zn.ml}^{-1}$

b₂: b + EDTA 5 %

c: solução 1,0 $\mu\text{g Cu.ml}^{-1}$

c₂: c + EDTA 5 %

b₁: b + EDTA 4 %

b₃: b + EDTA 6 %

c₁: c + EDTA 4 %

c₃: c + EDTA 6 %

A Figura IV.55 mostra o sistema utilizado para a determinação sequencial. Na posição a a amostra contendo os dois metais é misturada à solução tampão e, através do comutador, chega ao injetor onde recebe o reagente zincon. A passagem pelo detector acusa um sinal referente à absorvância de zinco e de cobre, sendo a amostra a seguir descartada. Uma linha contendo água, que funciona como solução de limpeza, passa pelo injetor sendo desviada para o comutador e, a seguir, descartada. Uma solução de EDTA passa pelo comutador sendo recolhida na saída.

Quando as posições do injetor e do comutador são modificadas (b), a amostra contendo zinco e cobre, misturada com a solução - tampão, chega ao injetor onde recebe o reagente zincon, sendo então registrado um sinal correspondente à concentração dos dois complexos. Nesta posição, entretanto, a amostra não é descartada, mas desviada para o comutador onde recebe solução de EDTA que destrói o complexo zinco-zincon. A amostra passa, então, novamente pelo injetor e pelo detector sendo registrado um sinal menor, correspondente à concentração de cobre, somente. Este sinal, entretanto, leva em conta a diluição sofrida pelo complexo cobre-zincon na linha.

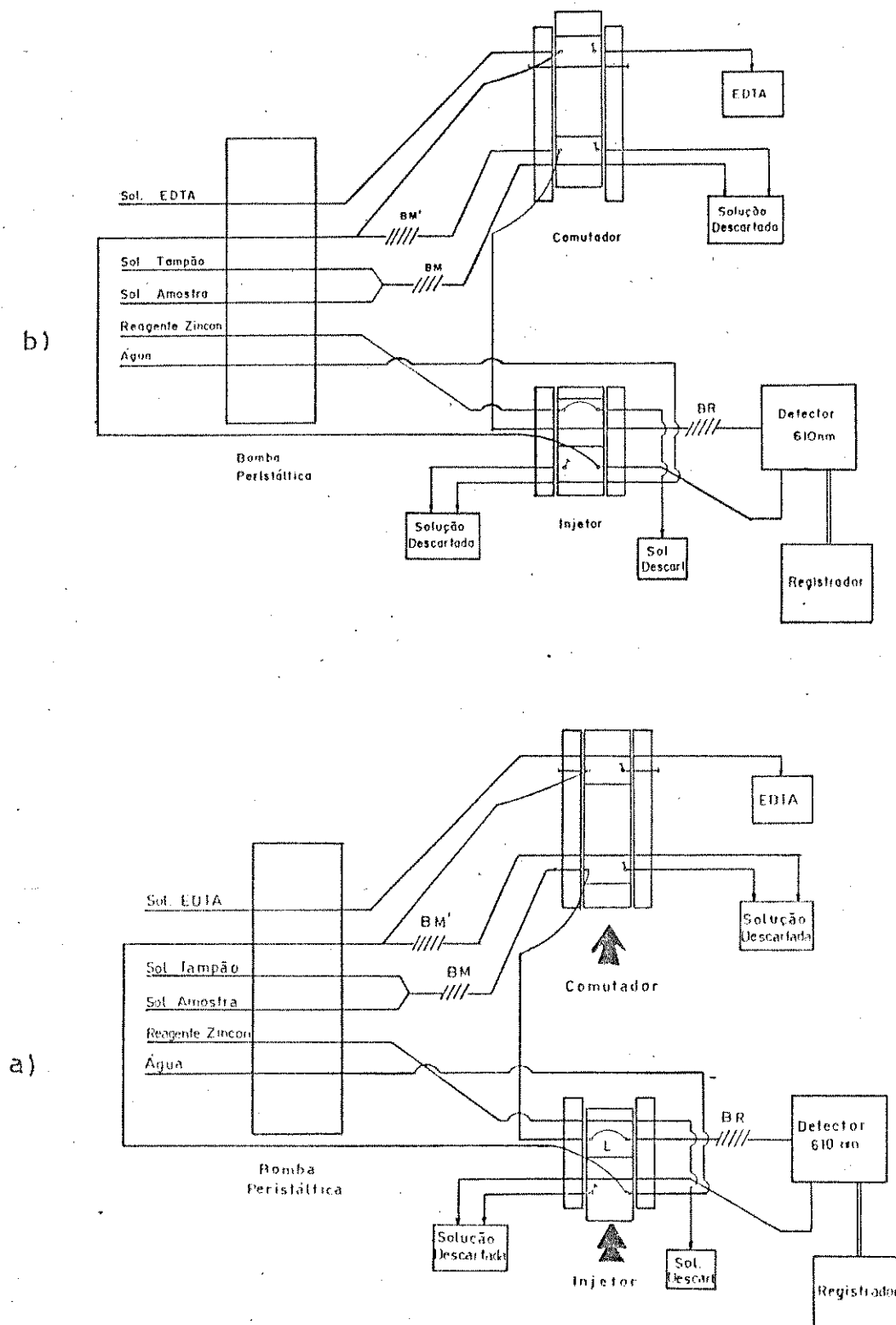


Figura IV.55 - Sistema de Análise por Injeção em Fluxo utilizado para determinação seqüencial de zinco e cobre com zincon.

- a) Posição utilizada para determinar quantidade total de zinco e cobre; injetor em posição de injeção do reagente.
- b) Posição utilizada para determinar cobre; injetor na posição de amostragem.

As condições mais adequadas para a determinação de zinco e de cobre com zincon, separadamente, estão descritas em IV.1 e IV.2 respectivamente. Entretanto, além daquelas já estabelecidas é necessário determinar outras, como o comprimento da bobina de mistura, BM' , que promove a mistura dos complexos zinco-zincon e cobre-zincon com a solução de EDTA. Variando o seu comprimento no intervalo de 5 a 100 cm, observam-se melhores resultados, em termos de repetibilidade e altura de pico, para a bobina de 25 cm.

Os testes preliminares com EDTA são feitos para concentração de quelante não inferior a 4 %. Para o sistema em fluxo contínuo, entretanto, esta concentração é bastante alta, exigindo um tempo muito grande para a limpeza da linha, o que diminui a velocidade analítica. Se algum resíduo de EDTA ainda se encontra na linha quando uma nova alíquota de amostra passa pelo detector, o sinal correspondente à concentração total de zinco e cobre é menor que o anterior, pois o EDTA remanescente afeta a concentração do complexo zinco-zincon, quando o sistema está na posição a. Trabalhando com menores concentrações de EDTA, observa-se melhor repetibilidade nos picos obtidos, além de diminuir o tempo necessário entre duas injeções; isto porque a limpeza da linha se processa mais rapidamente e de maneira mais efetiva. A concentração de 0,025 % (m/V) para a solução de EDTA é considerada a mais adequada. Quanto ao tempo necessário entre duas injeções observa-se que o melhor é 3 minutos, mas com dois minutos também é obtida boa repetibilidade e somente uma pequena diminuição na sensibilidade. As Figuras IV.56 e IV.57 mostram os sinais obtidos para determinar estas variáveis, utilizando solução de zinco. É importante ressaltar que o tempo decorrido entre duas injeções deve ser repetitivo. A utilização de um programador de tempo duplo, para controlar a mudança de posição do injetor e do comutador facilitaria este trabalho, além de garantir a repetibilidade necessária.

Na determinação sequencial de zinco e cobre, o complexo cobre-zincon sofre uma diluição na linha, resultante da introdução de EDTA. Uma maneira de levar em conta essa diluição é encontrar a razão de fluxo, R_f , definida como A_a/A_b onde A_a e A_b são os valores de absorbância de uma solução padrão de de cobre com os sistemas nas posições a e b respectivamente. Nestas posições o valor de A_a está relacionado com a absorbância referente ao cobre que não sofre diluição e A_b , ao que sofre diluição pela adição de solução de EDTA.

Esta razão de fluxo, R_f , deve permanecer constante durante as medidas, sendo calculada no início das determinações e seu valor verificado a cada 2 horas de bombeamento; isto porque, às vezes, podem ocorrer mudanças no fluxo, provocadas pelo desgaste dos cabos de bombeamento ou por oscilação de tensão da rede elétrica, afetando o valor de R_f . No caso de ocorrer mudança no fluxo não há necessidade de ser feito um ajuste, desde que seja calculado o novo valor de R_f , que será utilizado para os cálculos de concentração.

Para a determinação de zinco e cobre é necessário construir uma curva de calibração para zinco e outra para cobre, diariamente, sendo aconselhável verificar alguns pontos a

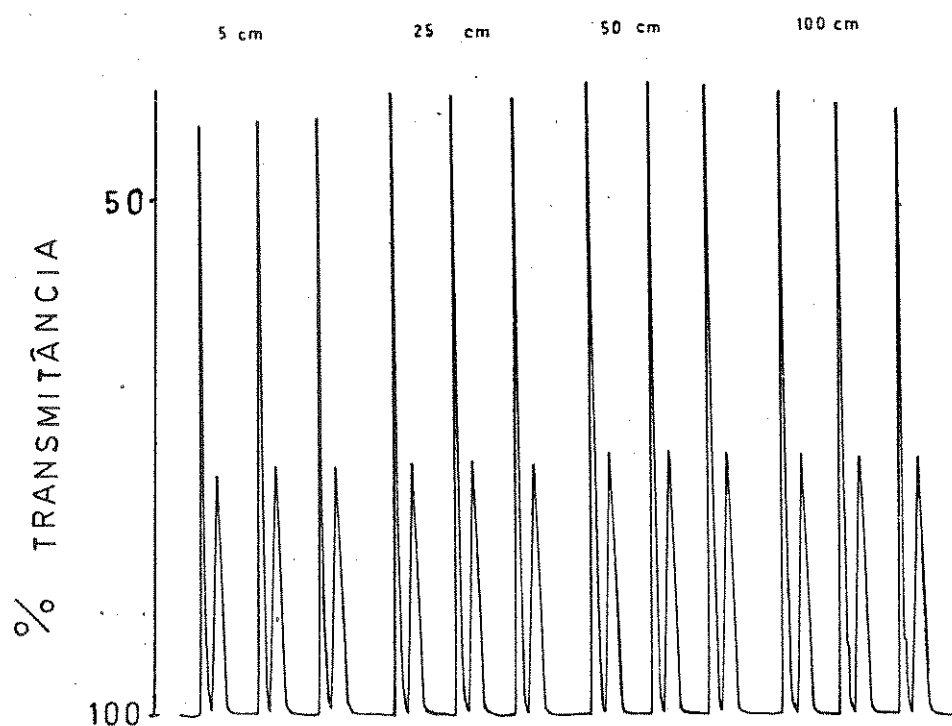


Figura IV.56 - Estudo do melhor comprimento da bobina de mistura, BM'.

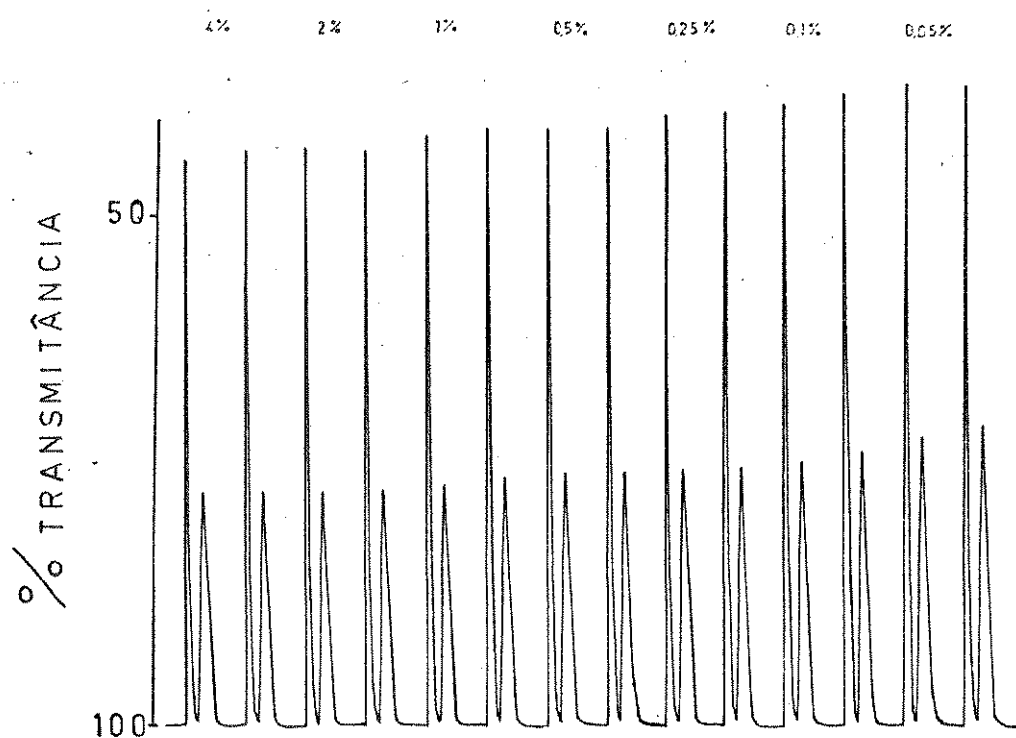


Figura IV.57 - Estudo da concentração de EDTA mais adequada.

cada duas horas de bombeamento. Caso este seja interrompido durante a determinação, uma nova curva deve ser construída. Após a construção das curvas de zinco e cobre, as amostras são introduzidas no sistema injetando-se as soluções de cada concentração, no mínimo, em triplicata, variando as posições do comutador e do injetor de forma a obter os sinais referentes às absorbâncias de zinco e cobre e de cobre, somente. Desta forma, cada amostra analisada apresenta uma sequência de seis picos, três correspondentes à concentração de cobre, incluindo a diluição, e três correspondentes à concentração total de zinco e cobre, como mostra a Figura IV.58.

Todas as amostras podem ser analisadas sem necessidade de parar a bomba peristáltica; para isto, basta retirar o cabo de bombeamento da amostra já analisada e introduzi-lo na amostra seguinte. Esta mudança deve ser feita enquanto o comutador se encontra na posição b para evitar a introdução de bolhas de ar no sistema.

A absorbância devida somente ao zinco, A_I , é obtida pela equação

$$A_{III} = A_{II} \times R_f + A_I$$

onde: A_{III} é o valor da absorbância total (zinco + cobre), obtido com o injetor na posição a.

A_{II} é o valor da absorbância correspondente à cobre com diluição, obtido com o injetor e o comutador na posição b.

R_f é a razão de fluxo.

Substituindo os valores de A_{IV} ($A_{IV} = A_{II} \times R_f$) e A_I graficamente, nas curvas de calibração de cobre e zinco, respectivamente, encontram-se as concentrações referentes aos dois metais nas amostras.

A curva padrão para o zinco, utilizando sistema sequencial é linear até $1,5 \mu\text{g.ml}^{-1}$ ($A = 3 \times 10^{-3} + 1,9 \times 10^{-1} [Zn] (\mu\text{g.ml}^{-1})$; coeficiente de correlação $r = 0,998$) e é mostrada na Figura IV.59a. O desvio padrão relativo para 20 determinações em replicata varia de 11 % para $0,05 \mu\text{g.ml}^{-1}$ a 2,8 % para $1,0 \mu\text{g.ml}^{-1}$. O limite de detecção, considerando-se a relação sinal/ruído igual a três é calculado em $11 \text{ ng.ml}^{-1} / 86\%$.

A curva padrão para cobre (sem diluição) utilizando o sistema sequencial é linear até $1,5 \mu\text{g.ml}^{-1}$ ($A = 2,3 \times 10^{-3} + 1,3 \times 10^{-1} [Cu] (\mu\text{g.ml}^{-1})$; coeficiente de correlação $r = 0,997$). A Figura IV.59b mostra a curva obtida. O desvio padrão relativo para 20 determinações em replicata varia de 9,9 % para $0,05 \mu\text{g.ml}^{-1}$ a 4,8 % para $1,0 \mu\text{g.ml}^{-1}$ com DPR mínimo de 2,5 % para $0,30 \mu\text{g.ml}^{-1}$. O limite de detecção calculado, considerando-se a relação sinal/ruído igual a três é de $8 \text{ ng.ml}^{-1} / 86\%$.

A Figura IV.60 mostra os sinais típicos relativos às curvas de calibração de zinco e cobre.

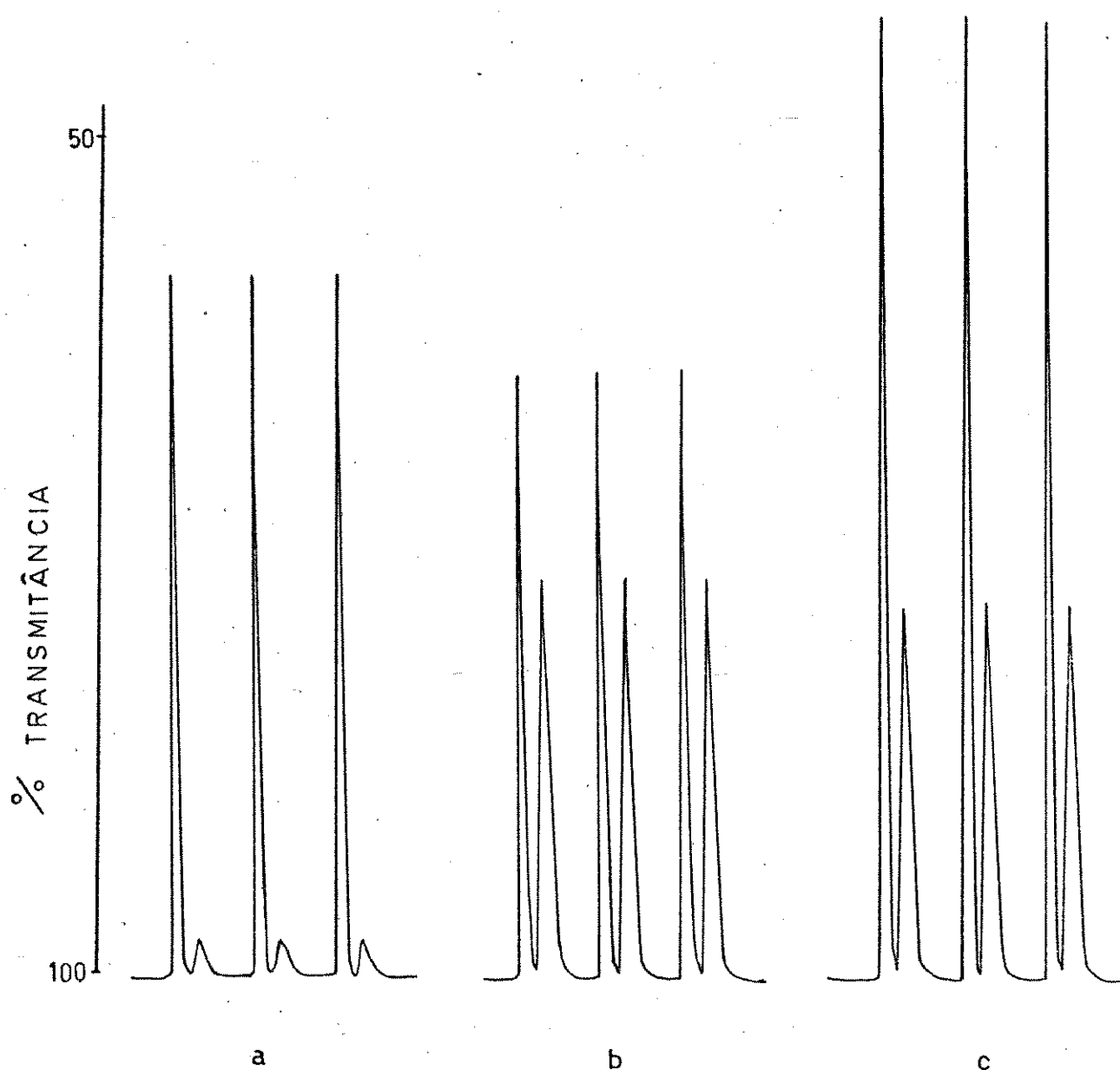


Figura IV.58 - Sinais de fluxo, obtidos diretamente do registrador, para a determinação sequencial de zinco e cobre com zincon.

- a) Solução $1,0 \mu\text{g}.\text{ml}^{-1}$ de Zn.
- b) Solução $1,0 \mu\text{g}.\text{ml}^{-1}$ de Cu (o sinal maior refere-se à solução não diluída e o sinal menor, à solução diluída).
- c) Solução $1,0 \mu\text{g}.\text{ml}^{-1}$ de Zn e $1,0 \mu\text{g}.\text{ml}^{-1}$ de Cu (o sinal maior refere-se à soma de Zn + Cu e o sinal menor, ao Cu diluído na linha).

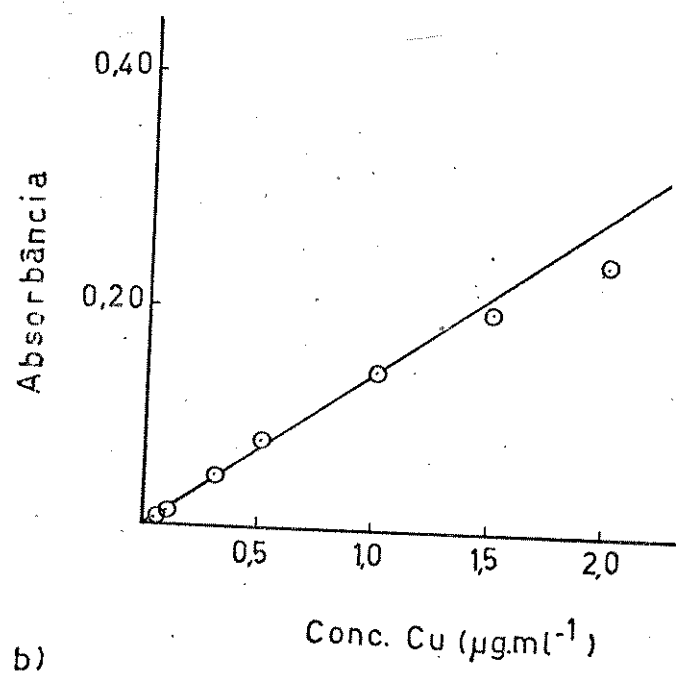
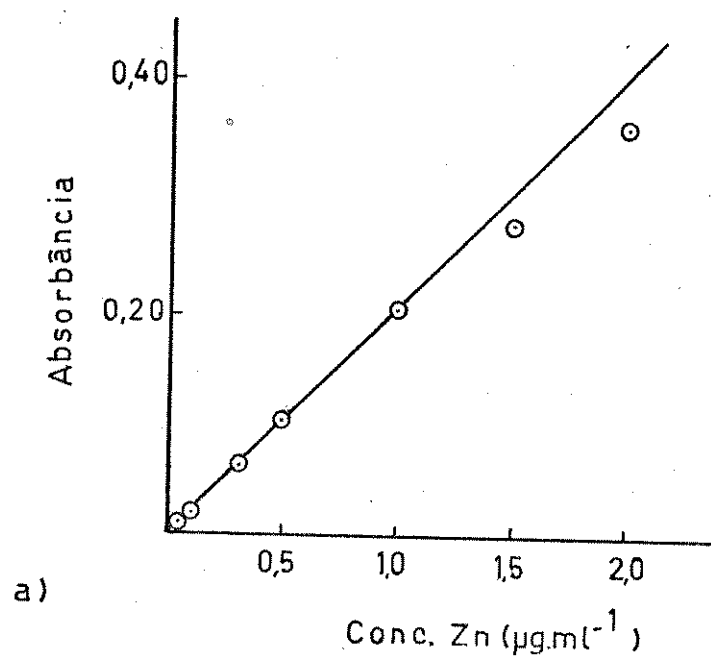


Figura IV.59 - Curvas de calibração obtidas utilizando o sistema seqüencial de AIF.

a) Curva de calibração para zinco.

b) Curva de calibração para cobre (sem diluição).

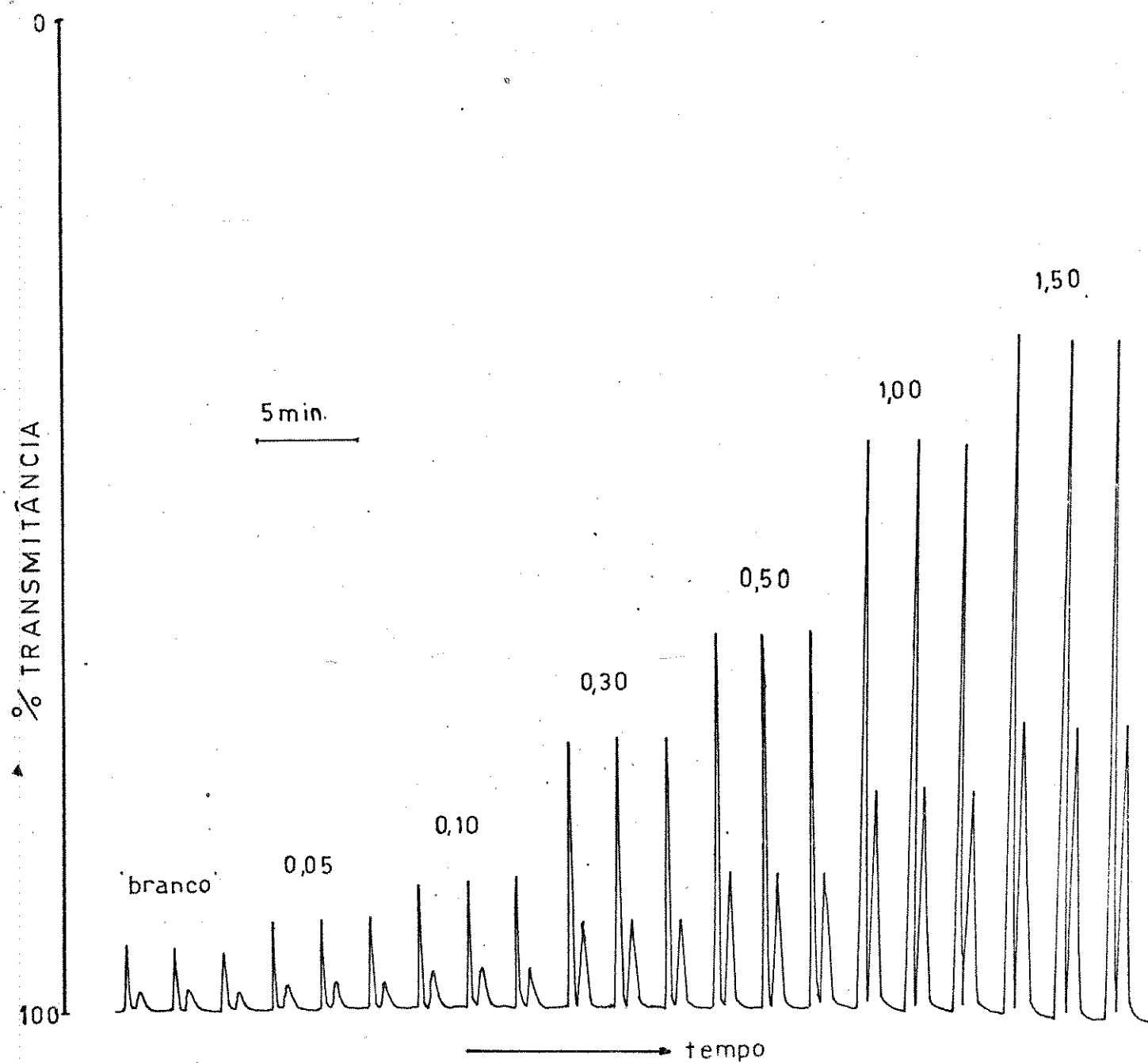


Figura IV.60 - Sinais típicos referentes às curvas de calibração de zinco e cobre, utilizando sistema seqüencial.

Para verificar a influência da concentração de zinco e de cobre na determinação de cobre e de zinco, respectivamente, é feito um estudo fixando a concentração de zinco e variando a concentração de cobre, no intervalo de obediência à lei de Beer. As Figuras IV.61 e IV.62 mostram os resultados obtidos. Observa-se que, aumentando a concentração de cobre para uma dada concentração de zinco, não há variação significativa no valor da absorbância lida (Figura IV.61), o mesmo acontecendo quando se aumenta a concentração de zinco para uma concentração de cobre fixa (Figura IV.62). Portanto, para uma determinada concentração de zinco, pode-se ter a concentração de cobre menor, maior ou igual, e o resultado referente à zinco não será grandemente afetado. Além disso, para concentrações iguais dos dois metais, pode-se traçar uma reta que passa na origem. Verifica-se o mesmo comportamento para uma concentração de cobre fixa, variando a concentração de zinco. Isto mostra que o sistema seqüencial para zinco e cobre pode ser utilizado, pois a presença de um metal não interfere na determinação do outro.

Para verificar a validade do método de determinação seqüencial de zinco e cobre utilizando sistema de Análise por Injeção em Fluxo, é feita a análise de um produto farmacêutico contendo os dois metais, tratado conforme descrito na Parte Experimental (pág. 28). Os resultados preliminares concordam com os valores declarados e o método deve ser implementado para outras amostras, como pomadas e amostras vegetais, estas últimas cedidas pelo Instituto Agrônômico. O método também poderá ser aplicado a fertilizantes, após o uso de um dos procedimentos descritos para a separação dos inúmeros interferentes. Para uma melhor avaliação deverá ser feita uma análise paralela, utilizando outro método de determinação, considerando a pouca confiabilidade dos valores declarados para estas últimas amostras.

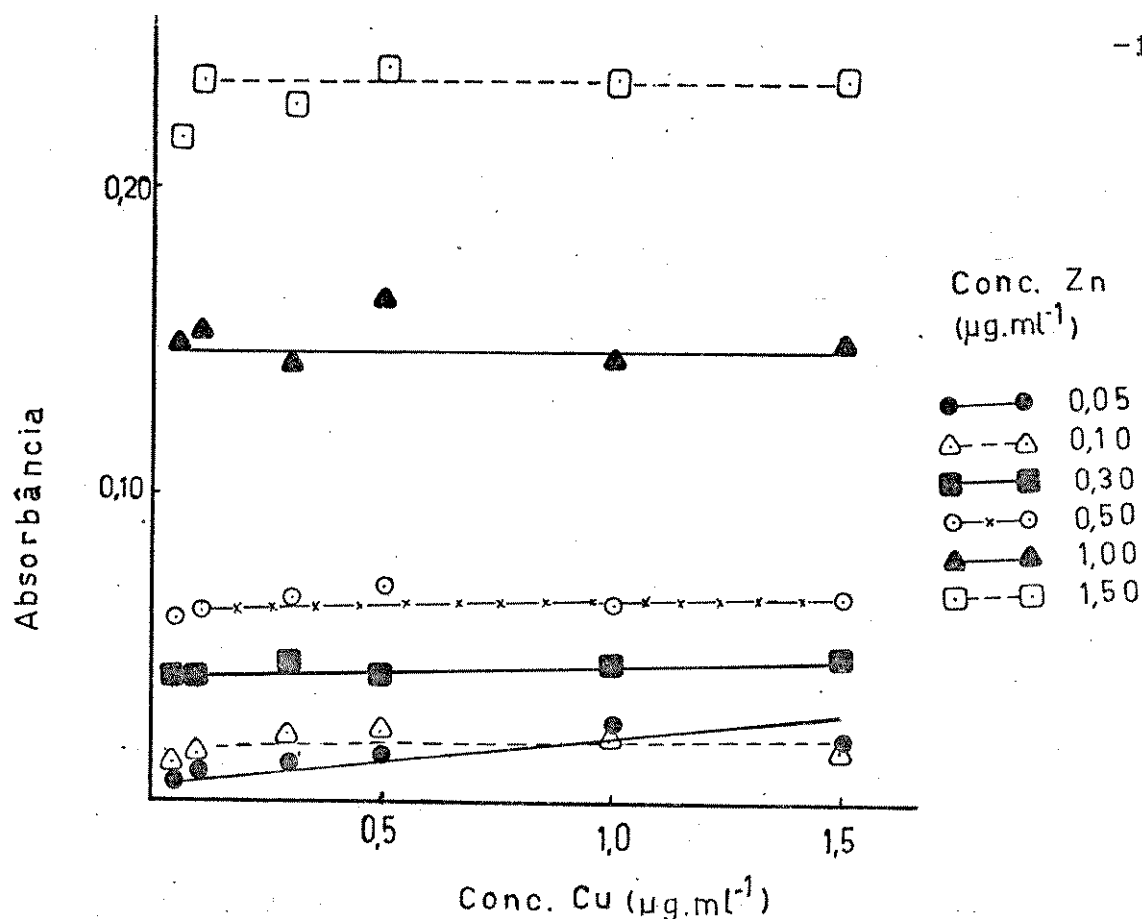


Figura IV.61 - Influência da concentração de cobre na determinação de zinco.

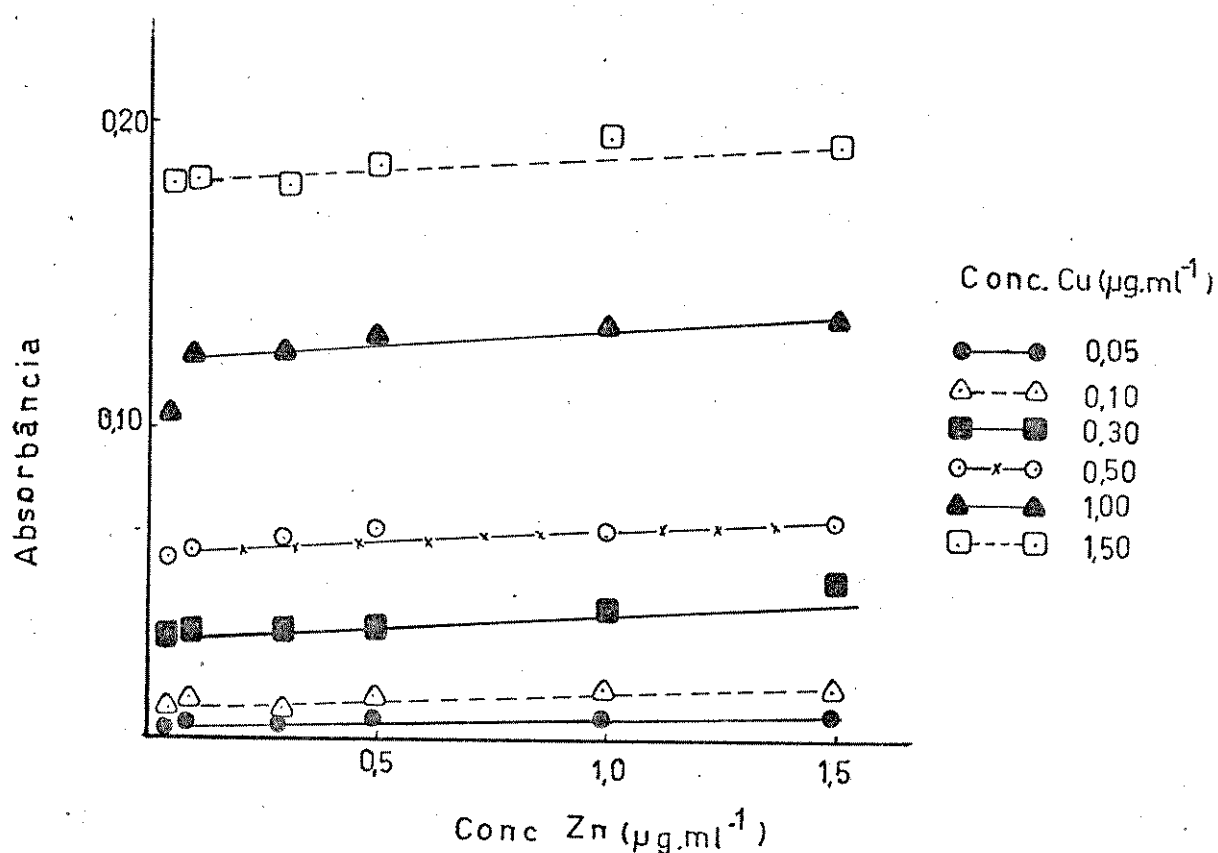


Figura IV.62 - Influência da concentração de zinco na determinação de cobre.

CAPITULO V

CONCLUSÕES

Sabe-se que a utilização dos sistemas semiautomáticos estudados apresenta vantagens em relação aos métodos estáticos convencionais, principalmente quando se considera o tempo gasto, o menor consumo de reagentes e a simplicidade operacional. Além disso, o método do zincon para determinar zinco e cobre é mais vantajoso do que os tradicionais (que utilizam ditizona e dietilditiocarbamato), pois não necessita extração para concentrar os metais. Levando-se em conta estas considerações e os resultados obtidos, algumas conclusões podem ser apresentadas:

a) Os sistemas reverso de AIF e reverso em confluência obedecem à lei de Beer no intervalo de concentração de 0 a $1,5 \mu\text{g} \cdot \text{ml}^{-1}$ sendo, por isso, adequados para a análise de materiais contendo baixo teor de zinco ou cobre.

b) Os sistemas com zonas coalescentes e em confluência são lineares no intervalo de 0 a $8,0 \mu\text{g} \cdot \text{ml}^{-1}$, mas apresentam menor sensibilidade pois a amostra está sendo diluída na linha do carregador.

c) Os sistemas estudados são sensíveis ao pH; assim, esse parâmetro deve ser bem controlado já que pequenas variações podem alterar os resultados obtidos.

d) Para a determinação de zinco com zincon deve-se usar solução-tampão de $\text{KCl}/\text{H}_3\text{BO}_3/\text{NaOH}$. Outros tipos de tampão testados mostram que o complexo zinco-zincon não se forma.

e) A determinação de cobre, para os sistemas com zonas coalescentes e em confluência é feita com solução-tampão de $\text{KCl}/\text{H}_3\text{BO}_3/\text{NaOH}$. Para os sistemas reverso e reverso em confluência esse tipo de tampão causa mudanças bruscas no valor da absorbância, para pequenas variações de pH. O uso de solução de $\text{HClO}_4/\text{NH}_4\text{OH}$ é adequado para esses casos.

f) O sistema sequencial pode ser utilizado para a análise de material contendo zinco e cobre. Apesar do tempo gasto entre duas injeções consecutivas, deve-se levar em conta que dois metais estão sendo determinados utilizando um único procedimento.

g) O estudo da dispersão mostra comportamento atípico para os sistemas em que ocorre a injeção do reagente no carregador contendo a amostra. Este fato abre perspectivas para

estudos futuros, no sentido de esclarecer este comportamento.

h) Nas mesmas condições usadas para o zinco e o cobre, o zinco forma complexos coloridos com outros metais sendo as interferências mais sérias causadas por Al(III) , Co(II) , Cr(III) , Fe(III) , Hg(II) , Ni(II) e Ti(IV) .

i) Os sistemas de fluxo estudados podem ser empregados para a determinação de zinco e/ou cobre, em amostras como fertilizantes líquidos e sólidos, plantas, solos, medicamentos, óleos lubrificantes e etanol, desde que sejam utilizados métodos adequados para a separação dos íons interferentes.

APENDICE

SOLUÇÕES DE INTERFERENTES

- 1 - Solução de Al(III) 5000 $\mu\text{g}.\text{ml}^{-1}$: Dissolvem-se 6,9570 g de $\text{Al}(\text{NO}_3)_3.9\text{H}_2\text{O}$ (J.T. Baker - p.a.) em balão volumétrico de 100 ml e completa-se o volume com água.
- 2 - Solução de Bi(III) 5000 $\mu\text{g}.\text{ml}^{-1}$: Dissolve-se 1,1605 g de $\text{Bi}(\text{NO}_3)_3.5\text{H}_2\text{O}$ (J.T. Baker - p.a.) com 10 ml de HNO_3 (1+3) diluindo-se a solução a 100 ml com água.
- 3 - Solução de Cd(II) 5000 $\mu\text{g}.\text{ml}^{-1}$: Em balão volumétrico de 100 ml dissolve-se 1,3712 g de $\text{Cd}(\text{NO}_3)_2.4\text{H}_2\text{O}$ (C.Erba - RPE) e eleva-se o volume com água.
- 4 - Solução de Co(II) 5000 $\mu\text{g}.\text{ml}^{-1}$: Dissolvem-se 2,4713 g de $\text{Co}(\text{NO}_3)_2.6\text{H}_2\text{O}$ (J.T. Baker - p.a.) em balão volumétrico de 100 ml e completa-se o volume com água.
- 5 - Solução de Cr(III) 5000 $\mu\text{g}.\text{ml}^{-1}$: Dissolvem-se 3,8497 g de $\text{Cr}(\text{NO}_3)_3.9\text{H}_2\text{O}$ (Riedel - p.a.) em balão volumétrico de 100 ml e completa-se o volume com água.
- 6 - Solução de Cu(II) 5000 $\mu\text{g}.\text{ml}^{-1}$: Dissolve-se 1,9646 g de $\text{CuSO}_4.5\text{H}_2\text{O}$ (Ecibra - p.a.) em balão volumétrico de 100 ml, completando-se o volume com água.
- 7 - Solução de Fe(III) 5000 $\mu\text{g}.\text{ml}^{-1}$: Dissolvem-se 4,3175 g de $\text{NH}_4\text{Fe}(\text{SO}_4)_2.12\text{H}_2\text{O}$ (Merck - p.a.) com 1,5 ml de H_2SO_4 conc. em balão volumétrico de 100 ml e completa-se o volume com água.
- 8 - Solução de Hg(II) 5000 $\mu\text{g}.\text{ml}^{-1}$: Dissolve-se 0,6770 g de HgCl_2 (Riedel - p.a.) com 1,0 ml de HNO_3 conc. e dilui-se a solução a 100 ml com água.
- 9 - Solução de Mn(II) 5000 $\mu\text{g}.\text{ml}^{-1}$: Dissolve-se 1,7992 g de $\text{MnCl}_2.4\text{H}_2\text{O}$ (Merck - p.a.) em balão volumétrico de 100 ml e completa-se o volume com água.
- 10 - Solução de Mo(VI) 5000 $\mu\text{g}.\text{ml}^{-1}$: Dissolve-se 0,9208 g de $(\text{NH}_4)_6\text{Mo}_7\text{O}_{24}.4\text{H}_2\text{O}$ (C.Erba - RPE) em balão volumétrico de 100 ml e eleva-se o volume com água.
- 11 - Solução de Ni(II) 5000 $\mu\text{g}.\text{ml}^{-1}$: Dissolve-se 2,4809 g de $\text{Ni}(\text{NO}_3)_2.6\text{H}_2\text{O}$ (Ecibra - p.a.) em balão volumétrico de 100 ml e completa-se o volume com água.

- 12 - Solução de Ti(IV) $1350 \mu\text{g} \cdot \text{ml}^{-1}$: Mistura-se 1,1054 g de TiO_2 (Merck - p.a.) com 10,0031 g de $\text{K}_2\text{S}_2\text{O}_7$. Funde-se, usando bico de Bunsen, até obter um líquido amarelo-claro. Deixa-se no fogo por 5 minutos, retirando a seguir e deixando esfriar. Transfere-se a massa (branca) para balão volumétrico de 500 ml, dissolvendo-a com H_2SO_4 6%.
- 13 - Solução de V(V) $1250 \mu\text{g} \cdot \text{ml}^{-1}$: Dissolve-se 1,4649 g de NH_4VO_3 (C.Erba - RPE) em 500 ml de água. A solução é padronizada com cupferron /9/.
- 14 - Solução de Zn(II) $1000 \mu\text{g} \cdot \text{ml}^{-1}$: Preparada como descrito no Capítulo III, página 27.
- 15 - Solução de Cl^- $5000 \mu\text{g} \cdot \text{ml}^{-1}$: Dissolve-se 0,8243 g de NaCl (C.Erba - RPE) em balão volumétrico de 100 ml completando-se o volume com água.
- 16 - Solução de NO_3^- $5000 \mu\text{g} \cdot \text{ml}^{-1}$: Dissolve-se 0,7492 g de NaNO_3 (Fisher - p.a.) em balão volumétrico de 100 ml, completando-se o volume com água.
- 17 - Solução de SO_4^{2-} $500 \mu\text{g} \cdot \text{ml}^{-1}$: Dissolve-se 0,7406 g de Na_2SO_4 (Riedel - p.a.) em balão volumétrico de 100 ml, completando-se o volume com água.

REFERENCIAS BIBLIOGRAFICAS

- / 1 / - ACKERMANN, G. und KÖTHE, J., "Vergleichende Untersuchung und Reagentien zur Spektralphotometrischen Bestimmung von Zink". *Talanta*, 26 (1979) 693-703.
- / 2 / - ALLAN, J.E., "The Determination of Zinc in Agricultural Materials by Atomic-absorption Spectrophotometry". *Analyst*, 86 (1961) 530-534.
- / 3 / - AMATI, A. and MINGUZZI, A., "Determination of Certain Elements added to Feeds". *Industrie Agric.* 8 (7-12) (1970) 249-257. *Anal. Abstr.*, 22 (1972) Abstract 2724.
- / 4 / - ANAND, K.S., DAYAL, P. and ANAND, O.N., "Determination of Zinc in Lubricating Oils and Lubricating Oil Concentrates". *Z.anal.Chem.*, 239 (1968) 33-36.
- / 5 / - de ANDRADE, J.C., FERREIRA, M. e BACCAN, N., "Sistema Gravitacional de Alimentação de Líquidos com Vazão Constante para uso em Análise por Injeção em Fluxo". Apresentado no 3º Encontro Nacional de Química Analítica, Campinas, SP, 1985.
- / 6 / - de ANDRADE, J.C., ROCHA, J.C. and BACCAN, N., "On-line Oxidation of Cr (III) to Cr (VI) for Use with the Flow Injection Analysis Technique". *Analyst*, 109 (1984) 645-647.
- / 7 / - ANDREW, T.R. and NICHOLS, P.N.R., "The Photometric Determination of Zinc in Nickel Alloys for use in Electronic Devices". *Analyst* 90 (1965) 161-164.
- / 8 / - ANDRIGHETTO et. al., "Nutrição Animal". Vol. 1 - As bases e os fundamentos da Nutrição Animal - Os Alimentos Livraria Nobel, 1981.
- / 9 / - BACCAN, N., "Síntese de Derivados do Acido N-pivalohidroxâmico. Aplicações Analíticas do Acido N-p-Cl-Fenilpivalohidroxâmico como Reagente Colorimétrico na Extração por Solvente e seu Emprego na Determinação Espectrofotométrica de Vanádio, Titânio e Ferro". Tese de Doutorado. Instituto de Química - UNICAMP, 1981.
- / 10 / - BACCAN, N., de ANDRADE, J.C., GODINHO, O.E.S. e BARONE, J.C. "Química Analítica Quantitativa Elementar". Ed. Edgard Blücher Ltda, publicado pela UNICAMP, 1979, São Paulo p. 202-203.

- / 11/ - BAILAR, J.C. et. al., "Comprehensive Inorganic Chemistry." Vol. 3. Pergamon Press Ltd., New York, 1973, p.1-78 e 187-253.
- / 12/ - BATALHA, B.H.L. e PARLATORE, A.C., Controle da Qualidade da Agua para Consumo Humano. CETESB, São Paulo, 1977
- / 13/ - BERGAMIN Fº, H., REIS, B.F., JACINTHO, A.O. and ZAGATTO, E.A.G., "Ion-exchange in Flow Injection Analysis. Determination of Ammonium Ions at the $\mu\text{g.l}^{-1}$ level in Natural Waters with Pulsed Nessler Reagent". *Anal. Chim. Acta*, 117 (1980) 81-89.
- / 14/ - BERGAMIN Fº, H. and ZAGATTO, E.A.G., "A New Device for Improving Sensitivity and Stabilization in Flow-Injection Analysis". *Anal. Chim. Acta*, 97 (1978) 427-431.
- / 15/ - BERGAMIN Fº, H., ZAGATTO, E.A.G., KRUG, F.J. and REIS, B. F., "Merging Zones in Flow Injection Analysis. Part 1. Double Proportional Injector and Reagent Consumption". *Anal. Chim. Acta*, 101 (1978) 17-23.
- / 16/ - BERGMAYER, H.U. und HAGEN, A., "Ein neues Prinzip enzymatischer Analyse". *Z. anal. Chem.*, 261 (1972) 333-336.
- / 17/ - BERMAN, E., "Toxic Metals and their Analysis". Heyden International Topics in Science, London, 1980.
- / 18/ - BETTERIDGE, D., "Flow Injection Analysis". *Anal. Chem.* 50 (1978) 832A-846A.
- / 19/ - CAMARGO, P.N. e SILVA, O., "Manual de Adubação Foliar." Editora e Distribuidora Herba Ltda., São Paulo, 1975, p. 137-139.
- / 20/ - CHAPMAN, H.D. and PRATT, P.F., Methods of Analysis for Soils, Plants and Waters. University of California. Division of Agricultural Sciences. 1961, p. 105-114 e 197-200.
- / 21/ - CHOLAK, J., HUBBARD, D.M. and BURKEY, R.E., "Determination of Zinc in Biological Material". *Ind. Eng. Chem. Anal. Ed.*, 15 (1943) 754-759.
- / 22/ - CLAASSEN, A. and BASTINGS, L., "The Photometric Determination of Copper by Extraction as the Diethyldithiocarbamate. Interferences and their Elimination". *Z. anal. Chem.*, 153 (1956) 30-38
- / 23/ - COTTON, F.A. and WILKINSON, G., "Química Inorgânica Avanzada." Editorial Limusa, Mexico, 1980, p. 631-642 e 924-939.

- / 24/ - COWLING, H. and MILLER, E.J., "Determination of Small Amounts of Zinc in Plant Materials". *Ind. Eng. Chem. Anal. Ed.*, **13** (1941) 145-149.
- / 25/ - DAVID, D.J., "Determination of Zinc and other Elements in Plants by Atomic-absorption Spectrophotometry". *Analyst*, **83** (1958) 655-661.
- / 26/ - DOSAL GOMES, M.A., PEREZ-BUSTAMANTE, J.A. and BURRIEL MAR TI, F., "Estudio Espectrofotometrico de los Complejos del Reactivo Cincon con Algunas Cationes Metalicos". *An. Quim.*, **70** (1974) 515-520.
- / 27/ - DUTT, V.V.S.E., ESKANDER-HANNA, A. and MOTTOLA, H.A., "Kinetically Assisted Equilibrium-Based Repetitive Determination of Iron (II) with Ferrozine in Flow-Through System". *Anal. Chem.*, **48** (1976) 1207.
- / 28/ - DUTT, V.V.S.E. and MOTTOLA, H.A., "Novel Approach to Reaction-Rate Based Determinations by use of Transient Redox Effects". *Anal. Chem.*, **47** (1975) 357-359.
- / 29/ - ELLIOT, C.R., PRESTON, P.F. and THOMPSON, J.H., "The Determination of Copper in Certain High-alloy Steels". *Analyst*, **84** (1959) 237-239.
- / 30/ - FEHER, Zs. and PUNGOR, E., "The Application of Hydrodynamic Voltammetry in Chemical Analysis". *Anal. Chim. Acta*, **71** (1974) 425-432.
- / 31/ - FORSTER, W.A., "The Determination of Copper in Plant Material". *Analyst*, **78** (1953) 614-616.
- / 32/ - FRIERSON, W.J., REARICK, D.A. and YOE, J.H., "Separation by Paper Chromatography and Spectrophotometric Determination of Trace Amounts of Cobalt, Nickel, Copper and Zinc", *Anal. Chem.*, **30** (1958) 468-471.
- / 33/ - FUJIMOTO, M. and NAKATSUKASA, Y., "Mikroanalyse mit Hilfe von Ionenaustauschern. XXV. Nachweis von Nanogrammen Zink(II) durch Anreicherung des Chelates mit Zincon an Anionenaustauscherkörnchen". *Mikrochim. Acta*, (1968) 551-559.
- / 34/ - GABB, M.H. and LATCHEM, W.E., "A Handbook of Laboratory Solutions." Chemical Publishing Company, INC, New York, 1968, p. 35.
- / 35/ - GALLO, J.R., "A Determinação de Zinco pelo Método Espectrofotométrico do Zincon". Tese de Doutorado. Universidade de São Paulo, 1968.

- / 36/ - GERDING, J.J.T., KEMPEN, H.J.M., LAMERS, B.J.M. and GERDING, M.H., "A New Highly Sensitive Detection System for Peptides and Proteins in Column Effluents". *J. Chromatogr.*, **66** (1972) 145-152.
- / 37/ - GRASSHOFF, K.M. and CHAN, K.M., "An Automatic Method for the Determination of Hydrogen Sulphide in Natural Waters". *Anal. Chim. Acta*, **53** (1971) 442-445.
- / 38/ - GUINÉ, M.F., REIS, B.F., ZAGATTO, E.A.G., KRUG, F.J. and JACINTHO, A.O., "A Simple Procedure for Standard Additions in Flow Injection Analysis. Spectrophotometric Determination of Nitrate in Plant Extracts". *Anal. Chim. Acta*, **155** (1983) 131-138.
- / 39/ - GUINÉ, M.F., ZAGATTO, E.A.G. and BERGAMIN F^o, H., "Semi Automatic Determination of Manganese in Natural Waters and Plant Digests by Flow Injection Analysis". *Analyst*, **104** (1979) 371-375.
- / 40/ - HANSEN, E.H. and RŮŽIČKA, J., "Flow Injection Analysis. Part VI. The Determination of Phosphate and Chloride in Blood Serum by Dialysis and Sample Dilution". *Anal. Chim. Acta*, **87** (1976) 353-363.
- / 41/ - HANSEN, E.H., RŮŽIČKA, J., KRUG, F.J. and ZAGATTO, E.A.G. "Selectivity in Flow Injection Analysis". *Anal. Chim. Acta*, **148** (1983) 111-125.
- / 42/ - HANSEN, E.H., RŮŽIČKA, J. and RIETZ, B., "Flow Injection Analysis. Part VIII. Determination of Glucose in Blood Serum with Glucose Dehydrogenase". *Anal. Chim. Acta* **89** (1977) 241-254.
- / 43/ - HOSTE, J., EECKHOUT, J. and GILLIS, J., "Spectrophotometric Determination of Copper with Cuproine". *Anal. Chim. Acta*, **9** (1953) 263-274.
- / 44/ - HUNTER L. and ROBERTS, C.B., "The Associating Effect of the Hydrogen Atom. Part IX. The N-H-N Bond. Virtual Tautomerism of the Formazyl Compounds". *J. Chem. Soc.* (1941) 820-823.
- / 45/ - IVANOV, K. and MANEVA, D., "Photometric Method for Determining Zinc in Wine". *Khranit. Prom-st.*, **26** (3) (1977), 23-26. *Anal. Abstr.*, **35** (1978). Abstract 2F42.
- / 46/ - JACINTHO, A.O., ZAGATTO, E.A.G., REIS, B.F., PESSENDA, L. C.R. and KRUG, F.J., "Merging Zones in Flow Injection Analysis. Part 6. Determination of Calcium in Natural Waters, Soil and Plant Materials with Glyoxal bis (2-hydroxyanil)". *Anal. Chim. Acta*, **130** (1981) 361-368.

- / 47/ - JACOBS, M.B., "Chemical Analysis of Foods and Food Products". Interscience Publishers, New York, 1951.
- / 48/ - JEWSBURY, A., "The Determination of Copper with Sodium Diethyldithiocarbamate in the Presence of Nickel and Other Interfering Elements". *Analyst*, 78(1953) 363-367.
- / 49/ - JOHNSON, K.S. and PETTY, R.L., "Determination of Phosphate in Seawater by Flow Injection Analysis with Injection of Reagent". *Anal. Chem.*, 54 (1982) 1185-1187.
- / 50/ - JONES, G.B., "The Polarographic Determination of Copper and Zinc in Plants and Soils". *Anal. Chim. Acta*, 7 (1952) 578-584.
- / 51/ - JOURET, C. and BENARD, P., "Determination of Zinc by means of Zincon Results for Several Wines". *Annls Falsif. Expert chim.*, 60 (1967), 182-187. *Anal. Abstr.*, 16 (1969) Abstract 977.
- / 52/ - KARAPETIAN, J.V., FAWZI, A.B. and MAWLAEIAN, M.M., "Spectrophotometric Determination of Copper in Alcoholic Beverages". *J. Agric. Food Chem.*, 26 (1978) 1469-1470.
- / 53/ - KARLBERG, B. and THELANDER, S., "Extraction Based on the Flow Injection Principles. Part I. Description of the Extraction System". *Anal. Chim. Acta*, 98 (1978) 1-7.
- / 54/ - KARVANCK, M., "Extractive-Photometric Determination of Trace Amounts of Zinc in Plant Material with Zincon". *Sb. vys. Sk chem. - technol. Praze. E*, 21 (1968), 5-18 *Anal. Abstr.*, 18 (1970) Abstract 1078
- / 55/ - KINNUNEN, J. and MERIKANTO, B., "EDTA Titrations Using Zincon as Indicator". *Chemist Analyst*, 44 (1955) 50.
- / 56/ - KOLTHOFF, I.M. and ERVING, P.J., *Treatise on Analytical Chemistry. Part II. Vol. 3*, Interscience, 1963, p. 1.
- / 57/ - KRASNUSHKINA, E. A. and ZOLOTOV, Yu A. "Macrocyclic extractants". *Trends in Analytical Chemistry* 2(7), (1983), 158-162.
- / 58/ - KRAUS, K.A. and MOORE, G.E., "Anion Exchange Studies. VI. The Divalent Transition Elements Manganese to Zinc in Hydrochloric Acid". *J. Am. Chem. Soc.*, 75 (1953) 1460-1462.

- / 59/ - KRUG, F.J., REIS, B.F., GUINÉ, M.F. and ZAGATTO, E.A.G.,
"Zone Trapping in Flow Injection Analysis". *Anal Chim. Acta*, 151 (1983) 39-49.
- / 60/ - KURODA, R. and MOCHIZUKI, T., "Continuous Spectrophotometric Determination of Copper, Nickel and Zinc in Copper-base Alloys by Flow Injection Analysis". *Talanta*, 28 (1981) 389-393.
- / 61/ - LEE, D.K.H., "Metallic Contaminants and Human Health". Academic Press, New York, 1972. p. 195-197.
- / 62/ - LIVINGSTONE, J.K. and LAWSON, N.D., "Photometric Determination of Copper in Gasoline" *Anal. Chem.*, 25 (1953) 1917-1918.
- / 63/ - MAIER, R.H., "Separation of Zinc and Copper with Cyanacetamide in the Determination of Zinc". *Anal. Chim. Acta*, 18 (1958) 321-323.
- / 64/ - MAIER, R.H. and BULLOCK, J.S., "Determination of Zinc in Plant Materials using Ion Exchange Chromatography". *Anal. Chim. Acta*, 19 (1958) 354-359.
- / 65/ - MAIER, R.H. and KUYKENDALL, J.R., "Application of Complexing Agents in the Photometric Determination of Zinc and Copper with Zincon". *Chem. Analyst*, 47 (1958) 4-6.
- / 66/ - MALAVOLTA, E., "Elementos de Nutrição Mineral de Plantas". Editora Agronômica Ceres Ltda. São Paulo, 1980, p. 179-182 e 195-200.
- / 67/ - MALMSTROM, Bo G. and GLICK, D., "Determination of Zinc in Millimicrogram Quantities". *Anal. Chem.*, 23 (1951) 1699-1703.
- / 68/ - MARCZENKO, Z., "Spectrophotometric Determination of Elements". Ellis Harwood Limited, Chichester, 1976.
- / 69/ - MARGERUM, D.W. and SANTACANA, F., "Evaluation of Methods for Trace Zinc Determination". *Anal. Chem.*, 32 (1960) 1157-1161.
- / 70/ - MARTIN, A.E., "Determination of Zinc with Special Reference to Separation from Cobalt and Copper". *Anal. Chem.*, 25 (1953) 1853-1858.
- / 71/ - MATSUI, H., "An Automated Method for the Determination of Trace Amounts of Metal Ions by Ion Exchange Chromatography. Determination of Zinc (II) in Waters". *Anal. Chim. Acta*, 66 (1973) 143-146.

- / 72/ - MATSUI, H., "The Automatic Spectrophotometric Determination of Manganese (II) after Cation Exchange Chromatography". *Anal. Chim. Acta*, 69 (1974) 216-219.
- / 73/ - Mc CALL, J.T., DAVIS, G.K. and STEARNS, T.W., "Spectrophotometric Determination of Copper and Zinc in Animal Tissues". *Anal. Chem.*, 30 (1958) 1345-1347.
- / 74/ - MELLO, F.A.F., BRASIL, M.O.C. e ARZOLLA, S., "Fertilidade do Solo". Vol II. Depto. Quimica. Escola Superior de Agricultura "Luiz de Queiroz", USP - Piracicaba, 1967.
- / 75/ - MENZEL, R.G. and JACKSON, M.L., "Determination of Copper and Zinc in Soils or Plants". *Anal. Chem.*, 23 (1951) 1861-1863.
- / 76/ - MERTZ, W. and CORNATZER, W.E., "Newer Trace Elements in Nutrition". Marcel Dekker, INC, New York, 1971,t.
- / 77/ - MINDEGAARD, J., "Flow Multi-injection Analysis - A System for the Analysis of Highly Concentrated Samples Without Prior Dilution". *Anal. Chim. Acta*, 104 (1979) 185-189.
- / 78/ - MIZUNO, N., OGATA, T. and TAKAO, K., "Spectrophotometric Determination of Zinc in Soil and Plants with Zincon". *Japan Analyst*, 18 (9) (1969) 1077-1080. *Anal. Abstr.* 19 (1970) Abstract 5216.
- / 79/ - MORRIS, A.G., "The Use of Zincon in the Absorptiometric Determination of Mercury". *Analyst*, 82 (1957) 34-37.
- / 80/ - MORRISON, G. and FREISER, H., "Solvent Extraction in Analytical Chemistry". John Willey & Sons, New York, 1957, p. 128-129.
- / 81/ - MOTTOLA, H.A., "Continuous Flow Analysis Revisited". *Anal. Chem.*, 53 (1981) 1312A-1316A.
- / 82/ - MÜLLER, H. and MÜLLER, V., "Grundlagen und Anwendungen der Flow-injection Analyse (FIA)". *Zeitschrift für Chemie*, 24 (1984) 81-93.
- / 83/ - MURPHY, L.S. and WALSH, L.M., "Correction of Micronutrients Deficiencies with Fertilizers", in "Micronutrients in Agriculture". Soil Science Society of America, Inc. Madison, Wisconsin, USA, 1972.

- / 84/ - NAGY, G., FEHER, Zs and FUNGOR, E., "Application of Silicone Rubber-based Graphite Electrodes for Continuous Flow Measurements". *Anal. Chim. Acta*, **52** (1970) 47-54.
- / 85/ - NEWBERNE, P.M., "Trace Substances and Health" - A Handbook Part I. Marcel Dekker, INC, New York, 1976. p. 332-340.
- / 86/ - "Nomenclature, Symbols, Units and their Usage in Spectrochemical Analysis - I. General Atomic Emission Spectroscopy". *Spectrochim. Acta*, **33B** (1978) 221-269.
- / 87/ - OHLWEILER, O.A., "Química Inorgánica". Vol I. Ed. Edgard Blücher Ltda, São Paulo, 1973.
- / 88/ - OPHEIM, L.N. and LUND, W., "The Use of Peristaltic Mini-Pumps in Automatic Analysis". *Anal. Chim. Acta*, **90** (1977) 245-247.
- / 89/ - OWENS, J.W., GLADNEY E.S. and PURTYMUN, W.D., "Modification of Trace Element Concentrations in Natural Waters by Various Field Sampling Techniques". *Anal. Letters*, **13** (1980) 253-260.
- / 90/ - PAINTON, C.C. and MOTTOLA, H.A., "Chemical Kinetic Contributions to Practical Dispersion in Flow Injection Analysis". *Anal. Chem.*, **53** (1981) 1713-1715.
- / 91/ - PAINTON, C.C. and MOTTOLA, H.A., "Dispersion in Continuous Flow Sample Processing". *Anal. Chim. Acta* **154** (1983) 1-16.
- / 92/ - PANDE, S.P., "Study on the Determination of Zinc in Drinking Water". *J. Indian Water Works Assoc.* **12** (3), (1980) 275-278. *Anal. Abstr.*, **42** (1982) Abstract 2H42.
- / 93/ - PASQUINI, C. and de OLIVEIRA, W.A., "Comparison of Merging Zones, Injection of Reagent and Single-line Manifolds for Enthalpimetric Flow Injection Analysis". *Anal. Chim. Acta*, **156** (1984) 307-312.
- / 94/ - PINTA, M., "Detection and Determination of Traces Elements". Ann Arbor Science Publishers INC, Michigan, 1962.
- / 95/ - PLATTE, J.A. and MARCY, V.M., "Photometric Determination of Zinc with Zincon. Application to Water Containing Heavy Metals" *Anal. Chem.*, **31** (1959) 1226-1228
- / 96/ - PRACHT, L.E. and JONES, C.E., "Collaborative Study of a Zinc Ion-Exchange Method for the Quantitative

- Determination of Zinc in Fertilizers." *J. Ass. off. analyt. Chem.*, **56** (1973) 846-852.
- / 97/ - RANGER, C.B., "Flow Injection Analysis. - Principles, Techniques, Applications, Design". *Anal. Chem.*, **53** (1981) 20A-32A.
- / 98/ - REIJN, J.M., VAN DER LINDEN, W.E. and POPPE, H., "Some Theoretical Aspects of Flow Injection Analysis". *Anal. Chim. Acta.*, **114** (1980) 105-118.
- / 99/ - REIS, A.F., BERGAMIN F^o, H., ZAGATTO, E.A.G. and KRUG, F.J., "Merging Zones in Flow Injection Analysis. Part 3. Spectrophotometric Determination of Aluminium in Plant and Soil Materials with Sequential Addition of Pulsed Reagents". *Anal. Chim. Acta*, **107** (1979) 309-317.
- /100/ - REIS, B.F., JACINTHO, A.O., MORTATTI, J., KRUG, F.J., ZAGATTO, E.A.G., BERGAMIN F^o, H. and PESSEDA, L.C.R. "Zone Sampling Processes in Flow Injection Analysis". *Anal. Chim. Acta*, **123** (1981) 221-228.
- /101/ - REIS, B.F., ZAGATTO, E.A.G., JACINTHO, A.O., KRUG, F.J. and BERGAMIN F^o, H., "Merging Zones in Flow Injection Analysis. Part 4. Simultaneous Spectrophotometric Determination of Total Nitrogen and Phosphorus in Plant Material". *Anal. Chim. Acta*, **119** (1980) 305-311.
- /102/ - Research Report from the National Institute for Environmental Studies, Japan 38, 1982, "Preparation, Analysis and Certification of Pound Sediment- Certified Reference Material". Edited by Kensaku Okamoto.
- /103/ - RILEY, C., ROCKS, B.F. and SHERWOOD, R.A., "Flow Injection Analysis in Clinical Chemistry". *Talanta*, **31-B** (1984) 879-888.
- /104/ - RINGBOM, A., PENSAR, G. and WANNINEN, E., "A Complexometric Titration Method for Determining Calcium in the Presence of Magnesium". *Anal. Chim. Acta*, **19** (1958) 525-531.
- /105/ - RIOS, A., LUQUE DE CASTRO, M.D. and VALCARCEL, M., "Spectrophotometric Determination of Cyanide by Unsegmented Flow Methods". *Talanta*, **31(9)** (1984) 673-678.
- /106/ - ROCHA, J.C., "Determinação Sequencial de Cr (III) e de Cr (VI) por Injeção em Fluxo Contínuo". Tese de Mestrado. Instituto de Química, UNICAMP, 1983.
- /107/ - RUSH, R.M. and YOE, J.H., "Colorimetric Determination of Zinc and Copper with 2-carboxy-2'-hydroxy-5'-sulfo-

- formazylbenzene". *Anal. Chem.*, 26 (1954) 1345-1347.
- /108/ - RŮŽIČKA, J. and HANSEN, E.H., "Flow Injection Analysis. Part I. A New Concept of Fast Continuous Analysis". *Anal. Chim. Acta*, 78 (1975) 145-157.
- /109/ - RŮŽIČKA, J. and HANSEN, E.H., "Flow Injection Analysis. Principles, Applications and Trends". *Anal. Chim. Acta*, 114 (1980) 19-44.
- /110/ - RŮŽIČKA, J. and HANSEN, E.H., Flow Injection Analysis. John Wiley & Sons, New York, 1981.
- /111/ - RŮŽIČKA, J. and HANSEN, E.H., "Recent Developments in Flow Injection Analysis: Gradient Techniques and Hydrodynamic Injection". *Anal. Chim. Acta*, 145 (1983) 1-15.
- /112/ - RŮŽIČKA, J., HANSEN, E.H. and MOSBAECK, H., "Flow Injection Analysis. Part IX. A New Approach to Continuous Flow Titrations". *Anal. Chim. Acta*, 92 (1977) 235.
- /113/ - RŮŽIČKA, J., HANSEN, E.H. and RAMSING, A.U., "Flow Injection Analyzer for Students, Teaching and Research. Spectrophotometric Methods". *Anal. Chim. Acta*, 134 (1982) 55-71.
- /114/ - RŮŽIČKA, J., HANSEN, E.H. and ZAGATTO, E.A.G., "Flow Injection Analysis. Part VII. Use of Ion Selective Electrodes for Rapid Analysis of Soil Extracts and Blood Serum. Determination of Potassium, Sodium and Nitrate". *Anal. Chim. Acta*, 88 (1977) 1-16.
- /115/ - SADEK, F.S., SCHMID, R.W. and REILLEY, C.N., "Visual EGTA Titration of Calcium in the Presence of Magnesium". *Talanta*, 2 (1959) 38-51.
- /116/ - SADILKOVÁ, M., "Extractive Photometric Determination of Zinc Traces in Water". *Mikrochim. Acta*, 5 (1968) 934-937.
- /117/ - SCHWARTZ, M.K., "Continuous Flow Analysis". *Anal. Chem.* 45(8) (1973) 739A-743A.
- /118/ - SCROGGIE, L.E. and DEAN, J.A., "Extraction of Zinc with Triisooctylamine in Methyl Isobutyl Ketone and Colorimetric Determination with Zincon in the Organic Phase". *Anal. Chim. Acta*, 21 (1959) 282-288.
- /119/ - SEITZ, W.R. and GRAYESKI, M.L., "Flow Injection Analysis: A New Approach to Laboratory Automation". *The Journal of Clinical Laboratory Automation*, 4(3) (1984) 169-182.

- /120/ - SHERMA, J. and SMOLLENS, P., "Separation of Brass Metals by Anion Exchange Paper Chromatography". *Anal. Chim. Acta*, 60 (1972) 450-453.
- /121/ - SINGHAL, G.K. and TANDON, K.N., "Studies on Metallocromic Indicators - II. Zincon and its Mercury and Zinc Complexes as Indicators in EDTA Titrations". *Talanta* 14 (1967) 1351-1353.
- /122/ - SKEGGS, L.T., "An Automatic Method for Colorimetric Analysis". *Am. J. Clin. Pathol.*, 28 (1957) 311-322.
- /123/ - SPACKMAN, D.H., STEIN, W.H. and MOORE, S., "Automatic Recording Apparatus for use in the Chromatography of Amino Acids". *Anal. Chem.*, 30 (1958) 1190-1206.
- /124/ - STEDMAN, D.O., "Automated Methods of Specific Chemical Analysis in Water Pollution Control" in "Aspects of Environmental Protection". Edited by S.H. Jenkins, Ed. William Clowhem & Sons Ltd., London 1972.
- /125/ - STEWART, K.K., "Flow Injection Analysis: A Review of its Early History". *Talanta*, 28 (1981) 789-797.
- /126/ - STEWART, K.K., BEECHER, G.R. and HARE, P.E., "Rapid Analysis of Discrete Samples: The Use of Nonsegmented, Continuous Flow". *Anal. Biochem.*, 70 (1976) 167-173.
- /127/ - SUGAWARA, M., NIIYAMA, K. and KAMBARA, T., "Spectrophotometric Study of Extraction of the Copper (II)-Zincon Complex Anion with Zephiramine". *Japan Analyst*, 22(9) (1973) 1219-1223. *Anal. Abstr.* 28 (1975) Abstract 2B31.
- /128/ - SUGAWARA, M., OZAWA, Y. and KAMBARA, T., "Spectrophotometric Determination of Copper (II)-Zincon Complex Anion and Zephiramine". *Japan Analyst* 23 (9) (1974) 1058-1062. *Anal. Abstr.* 29 (1975) Abstract 1H19.
- /129/ - TANNO, K., "Determination of Copper in Boiler Water". *J. Chem. Soc. Japan ind. Chem. Sect.*, 67 (8) (1964) 1200-1203. *Anal. Abstr.* 13 (1966) Abstract 5225.
- /130/ - TANNO, K., "Automatic Analyser for Copper in Boiler Water". *J. Chem. Soc. Japan ind. Chem. Sect.*, 67 (8) (1964) 1203-1207. *Anal. Abstr.* 13 (1966) Abstract 5226.

- /131/ - TERUYOSHI, M., "Extraction Spectrophotometric Determination of Copper (II) with Capriquat Methyl-trioctylammonium chloride and Zincon". Miyakonojo Kogyo Koto Semmon Gakko Kenkyu Hokoku, 12 (1978) 67-70
Anal. Abstr., 36 (1979) Abstract 2B29.
- /132/ - UNDERWOOD, E.J., "Trace Elements in Human and Animal Nutrition". Academic Press, INC. 4^a ed., New York, 1977 cap. 3 e B.
- /133/ - VALCARCEL CASES, M. y LUQUE DE CASTRO, M.D., Analisis por Inyeccion en Flujo. Publ. MPCA e Depart. de Quim. Anal da Univ. de Cordoba, Espanha, 1984.
- /134/ - VANDERSLICE, J.T., STEWART, K.K., ROSENFELD, A.G. and HIGGS, D.J., "Laminar Dispersion in Flow Injection Analysis". *Talanta*, 28 (1981) 11-18.
- /135/ - VAN LOON, J.C., "Analytical Atomic Absorption Spectroscopy Selected Methods". Academic Press, New York, 1980.
- /136/ - VARIOS AUTORES, *Anal. Chim. Acta*, 114 (1980).
International Conference on Flow Analysis I; Amsterdã. September 11-13, 1979.
- /137/ - VARIOS AUTORES, *Anal. Chim. Acta*, 145 (1982).
International Conference on Flow Analysis II; Sweden. June 18-21, 1982.
- /138/ - VIDQUE, A. y VILLAGRAN, M.P., "Elementos Trazas en Grasas Comestibles. II-Determinacion Colorimetrica de Hierro y Cobre en Aceites de Oliva". *Mikrochim. Acta*, 4 (1956) 804-811.
- /139/ - YDE, J.H. and RUSH, R.M., "A New Colorimetric Reagent for Zinc". *Anal. Chim. Acta*, 6 (1952) 526-527.
- /140/ - YOSHIMURA, K., WAKI, H. and OHASHI, S., "Ion Exchanger Colorimetry - I. Microdetermination of Chromium, Iron, Copper and Cobalt in Water". *Talanta*, 26 (1976) 449-454.
- /141/ - YOSHIMURA, K., WAKI, H. and OHASHI, S., "Ion Exchanger Colorimetry - III. Microdetermination of Zinc in Water". *Talanta*, 25 (1978) 579-583.
- /142/ - YOSHIO, M., UGAMURA, M., NOGUCHI, H. and NAGAMUTSU, M., "Applications of Crown Ether in Chemical Analysis Extraction of Copper (II)-zincon Chelate Anion with Crown Ether Complex". *Anal. Letters*, 13 (1981) 1431-1439.

- /143/ - WEST, P.W., "A Study of Interference in Drop Reactions".
J. Chem. Ed., 18 (1941) 528-532.
- /144/ - WHITE, V.R. and FITZGERALD, J.M., "Continuous
Determination of Ascorbic Acid by Photobleaching of
Methylene Blue". *Anal. Chem.*, 44 (1972) 1267-
1269.
- /145/ - WIZINGER, R. and BIRD, V., "Über Formazylkomplexe I".
Helv. Chim. Acta, 32 (1949) 901-912.
- /146/ - ZAGATTO, E.A.G., JACINTHO, A.O., MORTATTI, J. and BERGA-
MIN, H., "An Improved Flow Injection Determination of
Nitrite in Waters by Using Intermittent Flows".
Anal. Chim. Acta, 120 (1980) 399-403.
- /147/ - ZAGATTO, E.A.G., JACINTHO, A.O., PESSENDA, L.C.R., KRUG,
F.J., REIS, B.F. and BERGAMIN F^o, H., "Merging Zones
in Flow Injection Analysis. Part 5. Simultaneous
Determination of Aluminium and Iron in Plant Digests
by a Zone Sampling Approach". *Anal. Chim. Acta*
125 (1981) 37-43.
- /148/ - ZAGATTO, E.A.G., KRUG, F.J., BERGAMIN F^o, H., JØRGENSEN,
S.S. and REIS, B.F., "Merging Zones in Flow Injection
Analysis. Part 2. Determination of Calcium, Magnesium
and Potassium in Plant Material by Continuous Flow
Injection Atomic Absorption and Flame Emission
Spectrometry". *Anal. Chim. Acta*, 104 (1979)
279-284.
- /149/ - ZAGATTO, E.A.G., REIS, B.F., BERGAMIN F^o, H. and KRUG, F.
"Isothermal Distillation in Flow Injection Analysis.
Determination of Total Nitrogen in Plant Material".
Anal. Chim. Acta, 109 (1979) 45-54.