



UNIVERSIDADE ESTADUAL DE CAMPINAS
INSTITUTO DE QUÍMICA
DEPARTAMENTO DE QUÍMICA ANALÍTICA
GIA – GRUPO DE INSTRUMENTAÇÃO E AUTOMAÇÃO



OPTODOS PARA A DETERMINAÇÃO DE SO₂ E O₂

TESE DE DOUTORADO

KARIME RITA BENTES DA SILVA

ORIENTADOR PROF. DR. IVO MILTON RAIMUNDO JR.

CAMPINAS, SP

MAIO – 2007

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

Si38o	<p>Silva, Karime Rita Bentes da. Optodos para determinação de SO₂ e O₂ / Karime Rita Bentes da Silva. -- Campinas, SP: [s.n], 2007.</p> <p>Orientador: Ivo Milton Raimundo Júnior.</p> <p>Doutorado - Universidade Estadual de Campinas, Instituto de Química.</p> <p>1. Optodo. 2. Dióxido de enxofre. 3. Oxigênio dissolvido. I. Raimundo Júnior, Ivo Milton. II. Universidade Estadual de Campinas. Instituto de Química. III. Título.</p>
-------	---

Título em inglês: Optodes for sulfur dioxide and dissolved oxygen determinations

Palavras-chaves em inglês: Optode, Sulfur dioxide, Dissolved oxygen

Área de concentração: Química Analítica

Titulação: Doutor em Ciências

Banca examinadora: Prof. Dr. Ivo Milton Raimundo Júnior (orientador), Prof. Dr. Fábio Rodrigo Piovezani Rocha (IQ-USP), Prof. Dr. Orlando Fatibello Filho (DQ-UFSCar), Prof. Dr. Marco Aurélio Zezzi Arruda (IQ-UNICAMP), Profa. Dra. Solange Cadore (IQ-UNICAMP)

Data de defesa: 11/05/2007

*Para ser grande, Sê inteiro: nada
Teu exagera ou exclui.
Sê todo em cada coisa. Põe quanto és
No mínimo que fazes.
Assim em cada lago a Lua toda
Brilha, porque alta vive*

- Ricardo Reis -

Dedico este trabalho aos meus pais Pedro e Francisca e ao meu irmão Michael, pelo apoio. Ao meu filho Francisco, que me ensinou o amor incondicional e por quem tudo vale a pena.

AGRADECIMENTOS

Agradeço ao professor Ivo, que acreditou em mim quando eu já havia desistido;

Agradeço ao Lídio Takayama, pela confiança, um dos requisitos indispensáveis na amizade;

Agradeço ao professor Oswaldo pelas contribuições neste trabalho, ao professor Jarbas pelas dicas sempre construtivas e à professora Adriana pelas orientações no trabalho e na vida;

Agradeço todos os dias à Laura, Raúl, Celeste e Wesley, que chegaram à minha vida por acaso, que me aceitam como sou, que se tornaram meus amigos-irmãos e estarão comigo por toda a vida;

Agradeço às amigas que me ajudaram, apoiaram e me proporcionaram tantos momentos alegres... Juliana, Flávia, Silvia, Maíra e Camila. Vocês são únicas e cativaram meu coração. Ju, obrigada em especial pela impressão da Tese.

Agradeço ao Ismael por ter sido meu amigo e conselheiro. Ao Anderson por ser sempre mais que funcionário, um ser humano especial.

Agradeço aos amigos do laboratório, Alexandre, Fabiano e Emerson;

Agradeço aos meus amigos de Manaus: Alcinei, Cristine, Tereza, Nívea, Márcia, Orlando, Morgana, Andreza e Daniela;

Agradeço aos funcionários do Instituto de Química, em especial ao Pimpim, Fontana, Mário e Bel, por sempre atenderem aos meus pedidos;

Agradeço à Unicamp pela oportunidade de realizar este trabalho;

Agradeço ao CNPq pela bolsa concedida e à FAPESP pelo apoio financeiro.

MUITO OBRIGADA!

CURRICULUM VITAE

1. Informações Pessoais

Nome: Karime Rita Bentes da Silva

Nascimento: 22/08/1977 Manaus, AM – Brasil

Carteira de Identidade: 1106745-4

CPF: 589011322-49

2. Informações Profissionais

2.1. Formação Acadêmica

- Bacharelado em Química, Universidade Federal do Amazonas, concluído em abril de 1999.
- Mestrado em Química de Produtos Naturais, Universidade Federal do Amazonas. Dissertação: “Estudo de um Espodossolo Hidromórfico existente na bacia de três igarapés do Distrito Industrial de Manaus - Amazonas”, Orientador: Prof. Dr. Genilson Pereira Santana, Instituto de Ciências Exatas, concluído em novembro de 2001.
- Doutorado em Ciências, Universidade Estadual de Campinas. Tese: “Optodos para determinação de SO₂ e O₂”, Orientador: Ivo Milton Raimundo Jr., Instituto de Química, desde maio de 2007.

2.2. Produção Científica

2.2.1. Resumo de trabalho científico apresentado em congressos nacionais

K.R.B. SILVA, I.M. RAIMUNDO JR, O.L. ALVES, I.F. GIMENEZ, Estratégias para melhorar a detectabilidade de um sensor óptico para SO₂. In: 13^o Congresso Nacional de Química analítica/1^o Congresso Ibero-Americano de Química Analítica, 2005, Niterói. Anais do 13^o Congresso Nacional de

Química analítica/1º Congresso Ibero-Americano de Química Analítica, 2005.

M. ZAT, K.R.B. SILVA, C.C. MORO, T.M.H. COSTA, E.V. BENVENUTTI, Síntese e Caracterização do Xerogel Híbrido Nanométrico p-fenilenediaminopropilsilica. In: X Encontro de Química da Região Sul, 2002, Joinville. SC. Química e Indústria. Conhecimento e Qualidade de Vida, 2002. p. 298.

M. ZAT, K.R.B. SILVA, C.C. MORO, T.M.H. COSTA, E.V. BENVENUTTI, Síntese e Caracterização do Xerogel Híbrido fenilenediaminopropilsilica. In: XIV Salão de Iniciação Científica, 2002, Porto Alegre, RS. Porto Alegre : UFRGS, 2002. v. CET161.

2.2.3. Resumo de trabalho científico apresentado em congressos internacionais

K.R.B. SILVA, I.M. RAIMUNDO JR, O.L. ALVES, I.F. GIMENEZ, An optical sensor for sulphur dioxide determination in wines. In: VIII Europt(r)ode, 2006, Tubingen, 2006.

2.2.4. Publicações

K.R.B. SILVA, I.M. RAIMUNDO JR, I.F. GIMENEZ, O.L. ALVES, Optical sensor for sulfur dioxide determination in wines. J. Agric. Food Chem. 54 (2006) 8697-8701.

J.C.P. VAGHETTI, M. ZAT, K.R.B. SILVA, L.S. FERREIRA, E.V. BENVENUTTI, E.C. LIMA, 4-Phenylendiaminepropylsilica Xerogel as an Sorbent for Copper Determination in Waters by Slurry-Sampling ETAAS. J. Anal. Atomic Spect. 14 (2003) 376-380.

RESUMO

OPTODOS PARA A DETERMINAÇÃO DE SO₂ E O₂

Foram construídos optodos para a determinação de SO₂ em amostras de ar e de vinho, com base no cromóforo Pd₂(dppm)₂Cl₂ [(bisdifenilfosfinometano-dicloreto de paládio (I)] imobilizado em matrizes de PVC [poli(cloreto de vinila)] e plastificadas com o-NPOE [o-nitrofeniloctiléter]. As membranas que apresentaram os melhores resultados continham 20% de PVC, 4% do cromóforo e 76% de o-NPOE, para uma massa final de 100 mg. Para amostras de ar, as membranas foram preparadas pela deposição de 200 µL de solução em filmes de poliéster, apresentando espessura média de 500 µm, faixa linear de resposta de 0-5 ppm_v SO₂, limite de detecção de 130 ppb_v SO₂ e tempo de vida útil de 2 meses ou 250 medidas. Esse optodo responde também para monóxido de carbono, na faixa linear de 1-5% de concentração. Para amostras de vinhos, as membranas foram preparadas pela deposição manual de 10 µL de solução em filmes de poliéster e foram obtidas faixas lineares de trabalho de 0-50 mg L⁻¹ para SO₂ livre e 0-150 mg L⁻¹ para SO₂ total, com limites de detecção da ordem de 0,37 e 0,70 mg L⁻¹, respectivamente. Na validação do método, foi observada uma boa correlação com o método padrão, não havendo diferença significativa no nível de 95% de confiança. Observou-se que sacarose e etanol geram efeito de matriz. Para ambos os optodos, observou-se que é grande o efeito da umidade. Na presença de NO₂, H₂S, HCl e Cl₂ 10 ppm_v a fase sensora é inutilizada. Também foi desenvolvido um optodo para a determinação de oxigênio dissolvido com base no fluoróforo PtOEP [octaetilporfirinato de platina] imobilizado em PDMS [poli(dimetilsiloxano)]. Os melhores resultados foram obtidos para as membranas preparadas a partir de uma solução contendo 8 x 10⁻³ mol L⁻¹ de PtOEP e 20% de sílica. A espessura média das membranas foi de 0,22 ± 0,02 mm. Foi obtido um limite de detecção de 0,077 mg L⁻¹ de O₂ dissolvido e com desvio padrão relativo de 0,53%. A faixa linear de resposta foi de 0,07-5,95 mg L⁻¹ de O₂ dissolvido em água. Observou-se que não há erro sistemático com o uso deste optodo, e que o mesmo pode ser empregado na determinação de oxigênio dissolvido em amostras reais.

ABSTRACT

OPTODES FOR DETERMINATION OF SO₂ AND O₂

Optodes for determination of sulphur dioxide in air and wine samples were constructed, based on the dichloro-bis-(diphenylphosphino)-methane dipalladium I [Pd₂(dppm)₂Cl₂] complex immobilised in PVC films, plasticised with o-nitrophenyloctylether [o-NPOE]. The sensing phase that presented best performance was prepared from a THF solution (1 mL), containing 20 mg PVC, 4 mg Pd complex and 76 mg o-NPOE. For air sample analysis, membranes were prepared by the deposition of 200 µL of the cocktail solution on polyester sheet (average thickness of 500 µm), presenting a linear response range of 0-5 ppm_v SO₂, detection limit of (0.13 ± 0.02) ppm_v SO₂ and lifetime of 2 months or 250 measurements. This optode also presented a linear response to carbon monoxide in the 1-5 % range. For wine samples, membranes were prepared by the manual deposition of 10 µL of the cocktail solution on polyester sheet, presenting linear response ranges of 0 -50 mg L⁻¹ for free SO₂ and 0 -150 mg L⁻¹ for total SO₂, with detection limits of 0.37 and 0.70 mg L⁻¹, respectively. The results showed good correlation with the reference method, presenting no significant differences at the 95 % confidence level. It was observed that sucrose and ethanol affects slightly the sensitivity. For both optodes, it was observed a significant effect of the humidity, as well as poisoning by NO₂, H₂S, HCl and Cl₂ 10 ppm_v. It was also developed an optode for determination of dissolved O₂, based on the fluorophore platinum octaethylporphyrin [PtOEP] immobilised in polydimethylsiloxane [PDMS]. The membrane prepared from a solution containing 8 x 10⁻³ mol L⁻¹ PtOEP and 20 % silica presented the best performance, with an average thickness of 0.22 ± 0.02 mm. The optode showed a detection limit of 0.077 mg L⁻¹ dissolved O₂, relative standard deviation of 0.53 % and a linear response range from 0.07 to 5.95 mg L⁻¹ O₂. It was not observed a systematic error for the developed sensor, which can be applied to the determination of dissolved oxygen in water samples.

ÍNDICE

Lista de Tabelas	xxi
Lista de Figuras	xxiii
Capítulo 1	1
Introdução	1
1. Os sensores químicos de fibras ópticas	1
1.1. Formas de medida dos optodos	2
1.1.1. Absorção	2
1.1.2. Luminescência	3
1.1.2.1. Supressão de fluorescência	5
a) Supressão dinâmica da fluorescência	6
b) Supressão estática da fluorescência	8
1.1.3. Reflectância	8
1.1.3.1. Reflexão especular	8
1.1.3.2. Reflectância difusa	9
1.2. Composição dos optodos	10
1.2.1. Fase sensora	10
1.2.2. Instrumentação	10
1.3. Tipos de amostras em estudo	11
1.3.1. A água	10
1.3.2. O ar	13
1.3.3. Os alimentos	17
Capítulo 2	20
Objetivos Gerais	20
Capítulo 3	21
Optodo para determinação de SO ₂ atmosférico	21
3.1. Introdução	21
3.2. Objetivos	24
3.3. Experimental	24

3.3.1. Reagentes e soluções utilizados	24
3.3.2. Imobilização do reagente	25
3.3.3. Suportes	26
3.3.3.1. Vidro poroso Vycor®	26
3.3.3.2. Poliéster e fita adesiva comercial	27
3.3.3.2.1. Manual	27
3.3.3.2.2. Dip coating	28
3.3.4. Misturador de gases	28
3.3.5. Cella de medidas	29
3.3.6. Instrumentação	30
3.3.7. Obtenção dos espectros	31
3.4. Resultados e Discussão	31
3.4.1. Espectros de absorção	31
3.4.2. Imobilização do reagente Pd ₂ (dppm) ₂ Cl ₂	32
3.4.3. Suportes	33
3.4.3.1. Vidro poroso Vycor®	33
3.4.3.2. Filmes de poliéster e fita adesiva comercial	34
3.4.4. Estudo da vazão na mistura de gases	38
3.4.5. Avaliação do sensor	39
3.4.5.1. Condicionamento da membrana	39
3.4.5.2. Tempo de resposta	40
3.4.5.3. Faixa linear de resposta e limite de detecção	41
3.4.5.4. Tempo de vida da fase sensora	43
3.4.5.5. Avaliação de interferentes	44
3.4.5.5.1. Umidade relativa	44
3.4.5.5.2. Compostos de nitrogênio	46
3.4.5.5.3. Cloro gasoso (Cl ₂) e ácido clorídrico (HCl)	48
3.4.5.5.4. Sulfeto de hidrogênio (H ₂ S)	49
3.4.5.5.5. Monóxido de carbono (CO)	49
3.5. Conclusões	51

Capítulo 4	53
Optodo para determinação de SO ₂ em vinhos	53
4.1. Introdução	53
4.2. Objetivos específicos	58
4.3. Experimental	59
4.3.1. Reagentes e soluções utilizados	59
4.3.2. Imobilização do reagente	59
4.3.3. Determinação de SO ₂ em amostras de vinho	60
4.3.3.1. Método de Ripper	60
4.3.3.2. Método proposto	60
4.3.4. Instrumentação	61
4.3.5. Controlador de vazão	61
4.3.6. Cella de medidas	62
4.3.7. Obtenção dos espectros	62
4.4. Resultados e Discussão	63
4.4.1. Composição da membrana	63
4.4.2. Estudo da forma de agitação dos reagentes	64
4.4.3. Otimização do sistema e condições da reação	66
4.4.4. Repetibilidade, tempos de resposta e vida útil	68
4.4.5. Umidade	69
4.4.6. Influência dos teores de etanol e sacarose nas medidas	69
4.4.7. Limite de detecção e validação do método	70
4.5. Conclusões	72
Capítulo 5	74
Optodo para determinação de O ₂ dissolvido	74
5.1. Introdução	74
5.2. Objetivos específicos	77
5.3. Experimental	78
5.3.1. Reagentes e soluções utilizados	78
5.3.2. Optodo com base no reagente PtOEP	78
5.3.2.1. Preparo de soluções	78

5.3.2.2. Imobilização do reagente empregando polidimetilsiloxano (PDMS)	79
5.3.2.3. Misturador de gases	80
5.3.2.4. Celas de medidas	80
5.3.2.5. Formas de medidas e descrição das amostras analisadas	81
5.3.2.6. Instrumentação	84
5.3.2.7. Obtenção dos resultados	84
5.4. Resultados e discussão	85
5.4.1. Avaliação dos espectros de absorção	85
5.4.2. Imobilização do reagente PtOEP em PDMS livre de sílica	88
5.4.3. Imobilização do reagente PtOEP em PDMS	88
5.4.4. Estudo da influência do teor de sílica adicionada à membrana	94
5.4.5. Repetibilidade e tempo de resposta	95
5.4.6. Faixa linear de resposta e limite de detecção	97
5.5. Conclusões	100
Capítulo 6	101
Conclusões gerais e perspectivas	101
6.1. Conclusões	101
6.2. Perspectivas	102
Capítulo 7	103
Referências bibliográficas	103

LISTA DE TABELAS

Tabela 1: Níveis aceitáveis de oxigênio dissolvido em águas doces, salobras e salinas em todo o Território Nacional estipulados pelo CONAMA, por meio da resolução nº357 de 18 de março de 2005 ¹¹	12
Tabela 2. Padrões nacionais de qualidade do ar (Resolução CONAMA nº 03 de 28 de junho de 1990) ¹²	15
Tabela 3. Concentração máxima de dióxido de enxofre permitido em diferentes tipos de bebidas (Resolução ANVISA nº 4, de 24 de novembro de 1988 ¹⁶)	19
Tabela 4. Soluções empregadas para impregnação dos filtros amostradores passivos, reações químicas e métodos analíticos usados por Campos <i>et al.</i> ³⁸	22
Tabela 5. Concentrações dos gases e soluções absorvedoras utilizadas neste trabalho	25
Tabela 6. Composições das soluções utilizadas na preparação das matrizes PVC/plastificante (massa final sempre em 100 mg)	26
Tabela 7. Sinal analítico ao inserir 30 mg L ⁻¹ SO ₂ sob diferentes vazões (n=10)	65
Tabela 8. Desempenho da membrana ao inserir 50 mg L ⁻¹ SO ₂ livre e total (n=10) empregando diferentes volumes de amostra e reagentes	67
Tabela 9. Resultados obtidos para SO ₂ livre e total em vinho tinto em mg L ⁻¹ (amostras 1-6) e vinho branco (amostra 7) empregando o método proposto e pelo procedimento padrão (Ripper).	72

- Tabela 10. Composições das membranas em 1,0 g de PDMS/agente curante (10:1). 80
- Tabela 11. Vazões de ar sintético e N₂ empregadas para obter misturas com diversas concentrações finais de O₂ dissolvido na água para construir uma curva de calibração analítica com as membranas estudadas. 83
- Tabela 12. Classificação das amostras reais empregadas na validação do optodo para medidas de O₂ dissolvido em água. 84
- Tabela 13. Variações de intensidade de sinal obtidas com as diferentes composições de membrana preparadas com PDMS/PtOEP submetendo as membranas à 0 e 20% de oxigênio gasoso. 88
- Tabela 14. Curvas analíticas obtidas com base na equação modificada de Stern-Volmer empregando os resultados obtidos na Figura 5. 93
- Tabela 15. Resultados obtidos para O₂ dissolvido para 7 amostras de água empregando o método proposto (optodo) e pelo método padrão (eletrodo de Clark). 99

LISTA DE FIGURAS

- Figura 1. Diagrama de Jablonski. 04
- Figura 2. Estrutura esquematizada dos compostos (A): $\text{Pd}_2(\text{dppm})_2\text{Cl}_2$ e (B): $\text{Pd}_2(\mu\text{-SO}_2)(\text{dppm})_2\text{Cl}_2$. A estrutura (B) é resultante de inserção na ligação metal-metal. 23
- Figura 3. (A) Dimensões do tubo de Teflon[®] empregado na fabricação das membranas, (B) membrana já preparada e retirada do tubo de Teflon[®] e (C) membrana preparada para ser inserida na cela de medidas. 28
- Figura 4. Sistema empregado para a obtenção de diferentes concentrações de SO_2 na presença de umidade relativa e de gases interferentes. 29
- Figura 5. Cella utilizada na determinação de SO_2 em ar, sendo (1) feixe bifurcado de fibras ópticas, (2) e (3) entrada e saída de gases, (4) e (5) partes superior e inferior da cela de medidas e (6) frasco de acrílico. 30
- Figura 6. Espectros de absorvância do $\text{Pd}_2\text{Cl}_2(\text{dppm})_2$ na ausência e presença de 500 ppm_v de SO_2 . 32
- Figura 7. Espectro $\text{N}_2\text{-SO}_2$ obtido a partir de uma fase sensora preparada por meio da técnica *dip coating* com 10 deposições da solução a 20 cm min⁻¹ submetida a 500 ppm_v de SO_2 . 34
- Figura 8. Espectro $\text{N}_2\text{-SO}_2$ obtido a partir de uma membrana homogênea preparada por meio da deposição manual de 10 μL de solução em filmes de poliéster submetida a 500 ppm_v de SO_2 . 35
- Figura 9. Espectro $\text{N}_2\text{-SO}_2$ obtido a partir de uma membrana heterogênea preparada por meio da deposição manual de 10 μL de solução em filmes de poliéster submetido a 500 ppm_v de SO_2 . 36

Figura 10. Espectro N₂-SO₂ obtido a partir de membranas preparadas pela deposição de diferentes volumes de solução em recipiente de *Teflon*[®] submetidas a 500 ppm_v de SO₂. 38

Figura 11. Membrana nova submetida a 18 ciclos de N₂ e 500 ppm_v de SO₂ em vazão 1000 mL min⁻¹. Medidas realizadas em 550 nm. 40

Figura 12. Curva de intensidade de reflectância em função tempo a 550 nm com inserções alternada de N₂ e SO₂ 20 ppm_v. 41

Figura 13. Curva analítica obtida em cela de reflectância e medida em 550 nm em um intervalo de 0-5 ppm_v de dióxido de enxofre. 43

Figura 14. Destaque da fase sensora. (A) espessura da membrana formada por 200 μL de solução e (B) membranas em diferentes estágios de uso: 1- após 250 medidas, 2- após 227 medidas e 3- após 55 medidas. 44

Figura 15. Intensidade de reflectância x concentração de SO₂ para ar seco e diferentes níveis de umidade relativa (■ 0, ● 15, ▲ 30, ▼ 50 e ◆ 70%) em 550 nm. 45

Figura 16. Curva analítica no intervalo de 0-5 ppm_v para ■ 0ppm_v de CO e ● 1000 ppm_v de CO. 50

Figura 17. Medidas de 1-10% de CO. (A) Diferença entre os espectros de N₂ e CO e (B) sinal analítico em 519 nm. 51

Figura 18. sistema de medidas utilizado na determinação de SO₂ em vinhos, sendo 1 – cela de reação e 2 – cela de detecção. 62

Figura 19. Espectro N₂-SO₂ obtido a partir da membrana submetida a 100 mg L⁻¹ de SO₂, mediante diferentes vazões de gás N₂. 65

Figura 20. Curva de intensidade de reflectância em função tempo a 550 nm com inserções alternadas de N₂ e SO₂ 100 mg L⁻¹. 68

Figura 21. Resposta típica da fase sensora mediante o SO₂ produzido após a acidificação de soluções de sulfito (fluxo de N₂ = 600 mL min⁻¹). 71

Figura 22. (A) Lâmina de vidro com fita isolante comercial nas bordas recebendo a solução da fase sensora, (B) fase sensora homogeneamente espalhada e (C) fase sensora retirada da lâmina de vidro após a reticulação. 79

Figura 23. Celas utilizadas na medida de (A) O₂ gasoso e (B) O₂ dissolvido, sendo 1 e 6 – feixe bifurcado de fibras ópticas, 2 e 3 – entrada e saída de gases, 4 – eletrodo de Clark e 5 – saída de gases. Observa-se que o sistema está inserido em um banho de água cuja temperatura era controlada (25,0±0,2)°C. 82

Figura 24. Espectros de absorbância obtidos em atmosfera livre de oxigênio, sendo (A) em solução 1,0 x 10⁻⁴ mol L⁻¹ de PtOEP em CH₂Cl₂ e (B) para a **membrana 2** de PtOEP imobilizado em PDMS. 87

Figura 25. Desempenho de fases sensoras em ar; (A) intensidade de reflectância na ausência de O₂ para membranas contendo PtOEP nas concentrações: — 8x10⁻³ mol L⁻¹, — 1x10⁻² mol L⁻¹, — 6x10⁻³ mol L⁻¹, — 4x10⁻³ mol L⁻¹ — presença de O₂ (independente da concentração da membrana) e (B) gráfico de Stern Volmer da **membrana 3** no intervalo 0-20% O₂ em atmosfera gasosa. 89

Figura 26. Intensidades de fluorescência obtidas submetendo as membranas: ■ 1, ● 2, ▲ 3 e ▼ 4 a diversas concentrações de oxigênio dissolvido (0,07-5,95 mg L⁻¹). 91

Figura 27. Gráficos de Stern-Volmer a partir dos dados obtidos na Figura 26 para as membranas ■ 1, ● 2, ▲ 3 e ▼ 4. 91

Figura 28. Gráficos modificados de Stern-Volmer a partir dos dados obtidos na Figura 27 para as membranas ■ 1, ● 2, ▲ 3 e ▼ 4. 93

Figura 29. Curvas analíticas 0-7,41 mg L⁻¹ de oxigênio dissolvido obtidas a partir da **membrana 3** cotendo sílica nas seguintes concentrações: ■ 0%, ● 1%, ▲ 5%, ▼ 10%, ◆ 20% e + 30%. 94

Figura 30. Curva de supressão de fluorescência em função tempo a 646 nm com inserções alternadas de N₂ e ar sintético borbulhados em água deionizada. 96

Figura 31. Concentrações obtidas por meio do eletrodo de Clark na calibração do sistema proposto com temperatura controlada (25°C). Os resultados representam médias obtidas a partir de 4 medidas (as barras de erro são menores que os pontos). 97

Figura 32. Curva analítica obtida para concentrações de 0,07-5,95 mg L⁻¹, com temperatura controlada a 25°C. 98

Capítulo 1

Introdução

1. Os sensores químicos de fibras ópticas

Um sensor químico é um dispositivo que gera um sinal óptico, elétrico ou térmico como consequência de sua interação com a espécie de interesse. Um sistema genérico de um sensor químico possui três elementos básicos: *(i)* a fase sensora ou de reconhecimento, onde ocorre a interação seletiva com o analito; *(ii)* o transdutor, o qual converte a grandeza físico-química em um sinal elétrico mensurável e *(iii)* o instrumento, que trata o sinal e executa os cálculos^{1,2}.

Em um sensor químico, o principal componente é a fase sensora, que é responsável pela seletividade e sensibilidade do mesmo². Os sensores químicos podem ser classificados de acordo com o princípio de operação do sistema de transdução e dentre eles estão os sensores eletroquímicos e os ópticos².

Os sensores eletroquímicos medem o efeito da interação entre o analito e um eletrodo; nos sensores ópticos é medida a alteração em uma propriedade óptica resultante da interação do analito com a parte receptora. As propriedades ópticas que

podem ser aplicadas nesse tipo de sensor são: absorção, reflexão, luminescência, refração e espalhamento da luz².

Dentre os sensores mais empregados estão os sensores químicos de fibras ópticas. Frequentemente chamados de optodos ou optrodos empregam fibras ópticas de alta qualidade aliados à métodos espectrofotométricos clássicos de análise³.

O uso de optodos tem inúmeras vantagens, tais como: (i) possibilita análise remota e em tempo real, (ii) dispensa o uso de dispositivo de referência, (iii) não sofre interferência elétrica, (iv) baixo custo, (v) determinação simultânea de mais de uma espécie química¹.

O princípio de funcionamento de um optodo é simples. A luz de uma fonte apropriada é introduzida dentro de uma fibra óptica e guiada para interagir com a fase sensora. Esta interação resulta na modificação do sinal óptico, que está relacionado com a informação química desejada; o sinal volta pela mesma ou por outra fibra e é guiado até um sistema de detecção, para ser medido¹⁻⁴.

1.1. Formas de medida dos optodos

1.1.1. Absorção

Os optodos baseados em medidas de absorbância possuem uma fase sensora que, quando imersa na solução contendo o analito, muda seu espectro de absorção. Esta mudança, então, pode ser determinada quantitativamente e usada como uma informação química.

O princípio óptico usado nos sensores de absorção é conhecido amplamente, pois o comportamento dos reagentes imobilizados na fase sensora é similar ao que acontece em solução. Assim, quando um raio de luz atravessa a fase sensora pode ocorrer absorção de energia. Esta absorção promove uma diminuição da intensidade da radiação que passa através da fase sensora e o sinal retorna pelo mesmo feixe ou por um outro feixe de fibras ópticas. O decréscimo da intensidade de luz é

determinado pela concentração C das espécies absorventes na trajetória L , do raio de luz, segundo a equação de Lambert-Beer:

$$A = \log \frac{I_0}{I} = \varepsilon LC$$

onde A é a absorbância, ε é a absorvidade molar, I_0 e I são as intensidades da luz incidente e emergente, respectivamente^{5,6}.

1.1.2. Luminescência

A luminescência é particularmente adequada para o monitoramento óptico, devido à sua grande seletividade e sensibilidade, permitindo a detecção de concentrações muito baixas. Os métodos luminescentes são divididos basicamente em três classes: fluorescência, fosforescência e quimiluminescência^{5,6}.

O método fluorimétrico está estreitamente relacionado com a absorção molecular. Após as moléculas terem absorvido energia radiante e terem sido excitadas para um estado eletrônico superior, têm que perder o excesso de energia para regressarem ao estado eletrônico fundamental. A fluorescência consiste na emissão imediata de luz (tempo da ordem de 10^{-8} segundos) por uma molécula que tenha absorvido radiação, por oposição à fosforescência, que consiste na emissão retardada da energia absorvida. Também existe uma distinção teórica entre os dois fenômenos: a fluorescência resulta de uma transição singlete-singlete, ao passo que é uma transição triplete-singlete que determina a fosforescência.

Sabendo-se que os estados eletrônicos da maior parte das moléculas orgânicas podem ser agrupados em dois tipos principais, os estados singlete e triplete, e que no estado singlete todos os elétrons da molécula tem spins emparelhados, enquanto no estado triplete ocorre um conjunto de spins eletrônicos não emparelhados, a absorção e emissão de luz podem ser ilustradas pelo diagrama de níveis de energia sugerido por Jablonski (Figura 1). Nesta figura está representado o diagrama esquemático dos níveis energéticos de uma molécula diatômica.

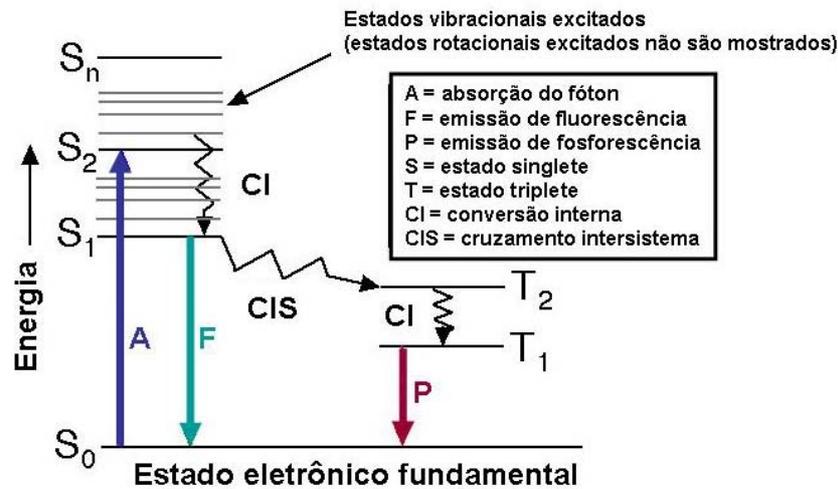


Figura 1. Diagrama de Jablonski.

Na Figura 1 estão representados o estado fundamental, o primeiro e o segundo níveis de energia designados por S_0 , S_1 e S_2 , respectivamente. Quando uma molécula absorve energia radiante apropriada, ela a transporta de um nível vibracional do estado fundamental para um dos níveis vibracionais de um dos estados eletrônicos excitados. Para cada um destes níveis de energia podem existir diversos níveis de energia vibracionais. Cada absorção ocorre em um intervalo de tempo de aproximadamente 10^{-15} segundos. Em consequência dessa absorção, certos níveis vibracionais do estado excitado são imediatamente ocupados. Porém, as moléculas em um estado vibracional superior, do estado singlete, regressam rapidamente ao mais baixo nível vibracional do estado excitado, transferindo o excesso de energia para outras moléculas através de colisões, ou dividem esse excesso de energia por outros possíveis modos de vibração ou rotação, dentro da molécula excitada. Assim, a fluorescência será o resultado da transição radiativa espontânea que ocorre quando as moléculas regressam ao estado eletrônico fundamental. O processo radiativo ($S_1 \rightarrow S_0$) tem curta duração, cerca de 10^{-8} segundos. A absorção de energia radiante excita a molécula para níveis de energia superior, geralmente os níveis S_1 e S_2 , porém os elétrons em um nível de energia superior S_2 regressam rapidamente ao mais baixo nível do estado excitado S_1 . Esse processo é chamado **conversão interna** e ocorre em 10^{-12} segundos. Como a fluorescência resulta da transição

radiativa espontânea (S_1 , S_0) e tem duração de 10^{-8} segundos, a conversão interna é geralmente completada anteriormente a emissão⁵⁻⁸.

O tempo de vida de uma espécie excitada é curto devido à existência de várias formas da molécula ou do átomo perder o excesso de energia. Dois dos mais importantes destes mecanismos são: a relaxação sem radiação e a relaxação radiativa (fluorescência). Dentro da relaxação não radiativa pode se distinguir o cruzamento intersistema e a conversão interna, como citado acima. Se a curva de energia potencial do estado singlete interceptar a do estado triplete, alguns elétrons no estado singlete excitado podem passar para o estado triplete inferior através de cruzamento intersistema. Embora as transições singlete-triplete constituam processos proibidos, existe uma probabilidade de que ocorra, uma vez que a energia do mais baixo nível vibracional do estado triplete é inferior ao que corresponde ao estado singlete. O regresso desse nível ao estado eletrônico fundamental constitui a emissão da fosforescência, transição que tem baixa probabilidade de ocorrer visto ser necessário inversão de spins. O acoplamento spin-órbita, que é a perturbação magnética que altera os spins é, provavelmente, a origem mais importante das transições de fosforescência, de retorno ao estado fundamental singlete⁵⁻⁸.

Também é comum o uso da supressão da fluorescência como forma de quantificar diversos analitos. Mais detalhes sobre essa forma de medida serão explicados no tópico a seguir.

1.1.2.1. Supressão de fluorescência

A supressão deriva de diversos processos que diminuem a intensidade de fluorescência como, por exemplo, a formação de complexos e a supressão por colisão. A supressão dinâmica resulta da colisão entre o supressor e a molécula fluorescente. A supressão estática ocorre com a formação de complexos não fluorescentes entre o fluoróforo e o supressor. A supressão da fluorescência, seja ela estática ou dinâmica, requer contato entre o fluoróforo no estado superior de energia

e o supressor. Após o contato, o fluoróforo retorna ao estado fundamental sem emissão de fóton⁷⁻⁸.

No caso da supressão estática, um complexo não fluorescente é formado entre o fluoróforo e o supressor. Em qualquer evento, o fluoróforo e o supressor devem estar em contato no mesmo meio. Este é um pré-requisito que resulta em numerosas aplicações da supressão da fluorescência, tais como (i) as medidas de supressão podem prever a acessibilidade do fluoróforo para o supressor, (ii) quando um solvente é muito viscoso a difusão é lenta e a supressão é inibida e, dessa forma, a supressão pode revelar a razão da difusão dos supressores, dentre outros fatores⁷⁻⁸.

a) Supressão dinâmica da fluorescência

A supressão dinâmica é descrita pela equação de Stern-Volmer:

$$\frac{I_0}{I} = 1 + k_q \tau_0 [Q]$$

onde I_0 e I são as intensidades de fluorescência na ausência e na presença do supressor, respectivamente; k_q é uma constante específica que indica a desativação colisional bimolecular da energia eletrônica, conhecida como constante bimolecular ou constante de supressão dinâmica; τ_0 é o tempo de vida natural da fluorescência na ausência do supressor e $[Q]$ é a concentração do supressor.

Assumindo que a constante de supressão de Stern-Volmer (k_{sv}) é igual ao produto entre o tempo de vida da fluorescência na ausência do supressor e a constante bimolecular, tem-se:

$$k_{sv} = k_q \tau_0$$

e, conseqüentemente:

$$\frac{I_0}{I} = 1 + k_{sv} [Q]$$

Na supressão dinâmica com decaimento monoexponencial de τ_0 tem-se que a taxa τ_0/τ também é igual a $1+k_{sv}[Q]$, onde τ é o tempo de vida na presença do supressor. Dessa forma,

$$\frac{I_0}{I} = \frac{\tau_0}{\tau}$$

Esta equação mostra uma importante característica da supressão dinâmica, que é a equivalência entre a redução na intensidade de fluorescência e o tempo de vida.

Os dados de supressão são freqüentemente apresentados em um gráfico de I_0/I versus $[Q]$, onde espera-se uma dependência linear para a concentração do supressor. O gráfico de I_0/I versus $[Q]$ é interceptado em 1 no eixo y e o coeficiente angular da curva é k_{sv} . O gráfico linear de Stern-Volmer é indicativo que o fluoróforo está acessível ao supressor no meio onde está ocorrendo a reação.

A constante dinâmica ou da taxa de supressão bimolecular (k_q) é um parâmetro útil que reflete a eficiência de supressão ou acessibilidade do fluoróforo ao supressor e pode fornecer informações sobre a difusão da fase sensora sobre o suporte. Essa constante é o produto entre a eficiência quântica (γ) e um fator de difusão colisional bimolecular (k),

$$k_q = \gamma k$$

e o valor de k pode ser calculado teoricamente a partir da equação de Smoluchowski,

$$k = 4\pi DR_0^a N^{1000}$$

onde R_0^a é a soma dos raios moleculares do supressor e do fluoróforo, D o coeficiente de difusão do supressor e fluoróforo e N^{1000} é o número de Avogadro dividido por 1000 (usado para fornecer um correto valor em termos de concentração molar). O coeficiente de difusão (D) é calculado a partir da equação de Stokes-Einstein:

$$D = \frac{k_b T}{6\pi r \eta}$$

onde k_b é a constante de Boltzmann, T é a temperatura absoluta, r são os raios atômicos das espécies e η é a viscosidade do solvente. Na supressão dinâmica é esperado que k_q varie de acordo com a T/η , no entanto desvios da lei de Stokes podem ser observado.

b) Supressão estática da fluorescência

As supressões de fluorescência podem ocorrer como resultado da formação de um complexo não fluorescente entre a molécula fluorescente e o supressor. Quando este complexo absorve luz ele imediatamente retorna ao estado fundamental mais baixo sem emissão de fóton.

1.1.3. Reflectância

Nesta classe de sensores o fenômeno que acontece na fase sensora é a reflexão da luz incidente, que pode apresentar-se de dois processos diferentes, a reflexão especular e a reflectância difusa.

1.1.3.1. Reflexão especular

Ocorre na interface de um meio onde há transmissão, tal como acontece num espelho. Este tipo de reflexão para optodos é, em geral, considerado interferência, podendo ser eliminado ou minimizado através de uma escolha adequada dos componentes da fase sensora e/ou do arranjo óptico usado.

1.1.3.2. Reflectância difusa

Ocorre quando a radiação penetra na fase sensora e, subsequentemente, reaparece na superfície dela, como resultado de uma absorção parcial e do espalhamento múltiplo dentro da fase sensora. Este fenômeno é aproveitado nos optodos para o monitoramento de algum analito, sendo que a reflectância difusa dependerá da composição da fase sensora.

Alguns modelos para a reflectância difusa têm sido propostos. O modelo mais usado para interpretar quantitativamente os dados de reflectância difusa é o de Kubelka-Munk. A função de Kubelka-Munk é definida como:

$$F_R = \frac{(1 - R^2)}{2R} = KC$$

onde R é a reflectância difusa, C é a concentração e K é uma constante que envolve os coeficientes da absorvidade e de espalhamento. Assim, a intensidade de reflectância difusa pode ser relacionada à concentração do analito na solução testada.

Para calcular F_R é necessário que sejam obtidos valores absolutos de reflectância difusa. Para a obtenção destes valores é preciso comparar os resultados das medidas experimentais com os padrões de reflectância difusa como, por exemplo, o sulfato de bário. Nas condições em que os optodos são usados, esta comparação não é fácil e pode não ser viável. Por esta razão, a curva analítica para um optodo que funciona com base em medidas de reflectância, em geral, é expressa em termos de reflectância normalizada ou por outras maneiras:

$$R_N = \frac{R_i - R_{\min}}{R_{\max} - R_{\min}}$$

onde R_N é a reflectância difusa normalizada, R_i é a reflectância da i -ésima medida, R_{\max} o valor máximo de reflectância encontrado num conjunto de medidas e R_{\min} o valor mínimo de reflectância encontrado no mesmo conjunto de medidas.

1.2. Composição dos optodos

1.2.1. Fase sensora

A fase sensora é o constituinte mais importante nos optodos, porque é onde o reagente sensível ao analito está imobilizado, para produzir o sinal óptico. Diversos métodos para imobilização do reagente são empregados, tais como métodos físicos (oclusão, adsorção e atração eletrostática) e químicos (ligação covalente entre o reagente imobilizado e o material que constitui o suporte). A imobilização covalente do reagente é considerada eficiente, pois evita a perda por lixiviação. Essas membranas fornecem optodos com tempos de resposta curtos, vida útil longa e grande estabilidade⁹.

Comumente, os reagentes sensíveis a um dado analito têm sido imobilizados com a finalidade de fixá-los nos arranjos de fibras ópticas usados no desenvolvimento dos optodos¹⁻³.

1.2.2. Instrumentação

O tipo de instrumentação a ser empregada em um optodo depende das características e aplicação do sensor. Geralmente, o conjunto completo de componentes envolve uma fonte de radiação eletromagnética, uma ou mais fibras ópticas para guiar a luz, um transdutor que produz um sinal em função da concentração da espécie química de interesse, uma unidade de processamento de sinal e de aquisição de dados. Variantes desse conjunto podem ser encontradas de acordo com a aplicação¹⁻³.

1.3. Tipos de amostras em estudo

1.3.1. A água

A água é uma substância fundamental à vida. Seus múltiplos usos são indispensáveis a um extenso número de atividades humanas, onde se destacam, entre outros, o abastecimento público e industrial, a irrigação agrícola, a produção de energia elétrica e as atividades de lazer e recreação, bem como a preservação da vida aquática. Como a água constitui um bem essencial para a sobrevivência de todos os organismos, deve ser mantida em condições adequadas. Para isso, o controle e fiscalização das fontes de poluição, impedindo o lançamento de efluentes que possam comprometer a qualidade das águas de rios, lagos e represas, e também do mar, torna-se indispensável¹⁰.

A crescente expansão demográfica e industrial observada nas últimas décadas trouxe como consequência o comprometimento das águas dos rios, lagos e reservatórios. A falta de recursos financeiros nos países em desenvolvimento tem agravado esse problema, pela impossibilidade da aplicação de medidas corretivas para reverter a situação. Uma adequada provisão de oxigênio dissolvido é essencial para a manutenção de processos de autodepuração em sistemas aquáticos naturais e estações de tratamento de esgotos¹⁰.

As disponibilidades de água doce são limitadas pelo alto custo da sua obtenção nas formas menos convencionais, como é o caso da água de mar e das águas subterrâneas. Deve ser, portanto, da maior prioridade, a preservação, o controle e a utilização racional das águas doces superficiais¹⁰.

A poluição das águas é gerada por: (i) efluentes domésticos (poluentes orgânicos biodegradáveis, nutrientes e bactérias); (ii) efluentes industriais (poluentes orgânicos e inorgânicos, dependendo da atividade industrial) e (iii) carga difusa urbana e agrícola (poluentes advindos da drenagem destas áreas: fertilizantes, defensivos agrícolas, fezes de animais e material em suspensão)¹⁰.

Dessa forma, pode se observar a importância de realizar o monitoramento das águas de mananciais a fim de: (i) avaliar a qualidade das águas interiores dos rios e

reservatórios da área em estudo; (ii) propiciar o levantamento das áreas prioritárias para o controle da poluição das águas; (iii) subsidiar o diagnóstico e controle da qualidade das águas doces utilizadas para o abastecimento público, verificando se as características da água são compatíveis com o tratamento existente, bem como para outros usos; (iv) dar subsídio técnico para a implantação da cobrança pelo uso da água em níveis Estadual e Federal e (v) identificar trechos de rios onde a qualidade d'água possa estar mais degradada, possibilitando ações preventivas e corretivas dos órgãos competentes.

A partir da revisão da resolução CONAMA nº 20/86 surge a resolução nº 357 de 18 de março de 2005, onde, dentre uma série de reformulações, constam as condições e padrões de emissão e qualidade de água. Dentre outros fatores regulamentados, a concentração de O₂ em corpos aquáticos deve seguir os níveis mostrados na Tabela 1¹¹:

Tabela 1: Níveis aceitáveis de oxigênio dissolvido em águas doces, salobras e salinas em todo o Território Nacional estipulados pelo CONAMA, por meio da resolução nº357 de 18 de março de 2005¹¹

		Água doce	Água salobra	Água salina
		(mg L ⁻¹ O ₂)		
Classe	I	6	6	5
	II	5	5	4
	III	4	4	3
	IV	2	-	-

Esse é um dos parâmetros mais importantes para exame da qualidade da água, pois os níveis de oxigênio dissolvidos têm papel determinante na capacidade de um corpo d'água natural manter a vida aquática. Uma adequada provisão de oxigênio dissolvido é essencial para a manutenção dos processos naturais de auto-depuração em sistemas aquáticos e estações de tratamento de esgotos. Através de

medição do teor de oxigênio dissolvido, podem ser avaliados os efeitos dos resíduos oxidáveis sobre as águas receptoras e sobre a eficiência do tratamento dos esgotos, durante o processo de oxidação bioquímica.

1.3.2. O ar

A poluição do ar tem sido um tema extensivamente pesquisado nas últimas décadas e caracteriza-se como um fator de grande importância na busca da preservação do meio ambiente e na implementação de um desenvolvimento sustentável, pois seus efeitos afetam de diversas formas a saúde humana, os ecossistemas e os materiais.

A variedade de substâncias que podem estar presentes na atmosfera é muito grande. No entanto, com relação à sua origem, os poluentes podem ser classificados em: (i) poluentes primários: aqueles emitidos diretamente pelas fontes de emissão e (ii) poluentes secundários: aqueles formados na atmosfera através da reação química entre poluentes primários e/ou constituintes naturais na atmosfera¹².

Os principais objetivos do monitoramento da qualidade do ar são: (i) fornecer dados para ativar ações de controle durante períodos de estagnação atmosférica, quando os níveis de poluentes na atmosfera possam representar risco à saúde pública; (ii) avaliar a qualidade do ar à luz de limites estabelecidos para proteger a saúde e o bem estar das pessoas; (iii) obter informações que possam indicar os impactos sobre a fauna, flora e o meio ambiente em geral; (iv) acompanhar as tendências e mudanças na qualidade do ar devidas à alterações nas emissões dos poluentes, e assim auxiliar no planejamento de ações de controle; (v) informar à população, órgãos públicos e sociedade em geral os níveis presentes da contaminação do ar¹².

Um padrão de qualidade do ar (PQAR) define legalmente o limite máximo para a concentração de um componente atmosférico que garanta a proteção da saúde e do bem estar das pessoas. O Conselho Nacional do Meio Ambiente, por meio da Resolução CONAMA n.º 03 de 28 de junho de 1990, estabeleceu os padrões

nacionais de qualidade do ar e os respectivos métodos de referência. São estabelecidos dois tipos de padrões de qualidade do ar: (i) são padrões primários de qualidade do ar as concentrações de poluentes que, ultrapassadas, poderão afetar a saúde da população e (ii) são padrões secundários de qualidade do ar as concentrações de poluentes atmosféricos abaixo das quais se prevê o mínimo efeito adverso sobre o bem estar da população, assim como o mínimo dano à fauna e à flora, aos materiais e ao meio ambiente em geral¹³.

A determinação sistemática da qualidade do ar deve ser, por questões de ordem prática, limitada a um restrito número de poluentes, definidos em função de sua importância e dos recursos materiais e humanos disponíveis. De uma forma geral, a escolha recai sempre sobre um grupo de poluentes que servem como indicadores de qualidade do ar, consagrados universalmente: dióxido de enxofre (SO₂), material particulado (MP), monóxido de carbono (CO), ozônio (O₃) e dióxido de nitrogênio (NO₂). A razão da escolha desses parâmetros como indicadores de qualidade do ar está ligada a sua maior frequência de ocorrência e aos efeitos adversos que causam ao meio ambiente. Os padrões nacionais de qualidade do ar fixados na Resolução CONAMA n.º 03 de 28 de junho de 1990 são apresentados na Tabela 2^{12,13}.

Dentre as espécies acima mencionadas, o SO₂ ocupa lugar de destaque. É um gás incolor, com forte odor em elevadas concentrações. Pode ser transformado a SO₃, que na presença de vapor de água, passa rapidamente a H₂SO₄. É um importante precursor dos sulfatos, um dos principais componentes das partículas inaláveis¹⁴.

Tabela 2. Padrões nacionais de qualidade do ar (Resolução CONAMA nº 03 de 28 de junho de 1990)¹²

Poluente	Tempo de amostragem	Padrão primário ³ ($\mu\text{g m}^{-3}$)	Padrão secundário ($\mu\text{g m}^{-3}$)	Método de medição
Dióxido de enxofre	24 horas ¹	365	100	Pararosanilina
	MAA ²	80	40	
Dióxido de nitrogênio	1 hora ¹	320	190	Quimiluminescência
	MAA ²	100	100	
Monóxido de carbono	1 hora ¹	40.000	40.000	Infravermelho não dispersivo
	8 horas ¹	35 ppm _v	35 ppm _v	
		10.000	10.000	
Ozônio	1 hora ¹	9 ppm _v	9 ppm _v	Quimiluminescência
		160	160	

1. Não deve ser excedido mais que uma vez ao ano.

2. Média aritmética anual.

3. $1 \text{ ppb}_v = 2,62 \mu\text{g m}^{-3} \text{ SO}_2$ e $1 \mu\text{g m}^{-3} \text{ SO}_2 = 0,38 \text{ ppb}_v$

Em escala global, a maior parte do SO_2 é produzida por vulcões e pela oxidação de gases sulfurados produzidos pela decomposição de plantas. Também pode estar presente na composição mineral e na estrutura complexa do carvão mineral. Mas, principalmente, está presente no petróleo cru. A indústria do petróleo emite dióxido de enxofre no ar diretamente como SO_2 ¹⁴.

Esse gás é tido como poluente primário acidificante, pois contribui para fenômenos como chuvas ácidas, levando à acidificação dos meios naturais e/ou corrosão de materiais metálicos. O ar poluído com esse gás leva a um desconforto na respiração, doenças respiratórias e agravamento de doenças respiratórias e cardiovasculares já existentes. Pessoas com asma, doenças crônicas de coração e pulmão são mais sensíveis ao SO₂¹⁴.

A resolução CONAMA nº03/90 também estabelece padrões de qualidade e critérios para episódios agudos de poluição do ar. Para o SO₂ são atingidos os níveis de atenção, alerta e emergência quando a concentração durante 24 horas atinge 800, 1600 e 2100 µg m⁻³, respectivamente¹³.

De acordo com a legislação vigente (Tabela 1) o método padrão para a determinação de SO₂ no ar tem como base o reagente pararosanilina. O dióxido de enxofre é absorvido do ar em uma solução de tetracloromercurato de potássio (TCM), formando-se o complexo dicloro-sulfitomercurato, o qual resiste à oxidação por oxigênio do ar. Uma vez formado, este complexo é estável a oxidante forte (ozônio, óxidos de nitrogênio). O complexo reage com pararosanilina e formaldeído para formar o ácido pararosanilina metil-sulfônico, intensamente colorido. A absorbância dessa solução é medida espectrofotometricamente. Concentrações de SO₂ na faixa de 9,5-400,8 ppb_v podem ser medidas. Observa-se que o limite inferior de detecção de SO₂ em 10 ml de TCM é 0,75 µg, representando uma concentração de 25 µg m⁻³ de SO₂ numa amostra de 30 litros de ar. Após a coleta da amostra, a solução é relativamente estável. Quando submetida a uma temperatura de 22°C, ocorre uma perda de SO₂ de 1% ao dia. Observa-se que o volume de ar a ser coletado é muito elevado, o que leva a um grande tempo de amostragem, no caso de amostrador passivo, ou do uso de um borbulhador de gás.

1.3.3. Os alimentos

Os aditivos alimentares têm sido usados por séculos. Nossos ancestrais usaram sal para preservar carnes e peixes; adicionaram ervas e temperos para melhorar o sabor dos alimentos; preservaram frutas com açúcares e conservaram pepinos e outros vegetais com vinagre. Entretanto, com o advento da vida moderna, mais aditivos têm sido empregados a cada ano. Estes são usados para preservar os alimentos, melhorar o seu aspecto visual, seu sabor e odor, e estabilizar sua composição. Além disso, são empregados para aumentar o valor nutricional e evitar a sua decomposição ou oxidação com o passar do tempo. O número de aditivos atualmente empregado é enorme, mas todos eles sofrem uma regulamentação federal no seu uso, sendo que alguns são permitidos somente em certas quantidades.

De acordo com o Decreto nº 55.871, de 26 de março de 1965 da Agência Nacional de Vigilância Sanitária - ANVISA, “Considera-se aditivo para alimento a substância intencionalmente adicionada ao mesmo com a finalidade de conservar, intensificar ou modificar suas propriedades, desde que não prejudique seu valor nutritivo”. Nesse decreto são classificados 11 diferentes classes de aditivos de acordo com a sua função. Dentre esses tipos, encontra-se o aditivo conservante, que é “toda substância que impede ou retarda a alteração dos alimentos provocada por microorganismos ou enzimas”¹⁵.

Os conservantes se dividem em dois grandes grupos: os antioxidantes, que previnem a deterioração dos alimentos por mecanismos oxidativos e os antimicrobiais, que impedem o crescimento de microorganismos como fungos e bactérias. Juntamente com outras técnicas, tal como embalagens hermeticamente fechadas e refrigeração, várias substâncias químicas são utilizadas como agentes antimicrobiais. O cloreto de sódio é provavelmente o mais antigo destes agentes. Ácidos orgânicos, tais como o acético, benzóico, propanóico e o ácido sórbico, são usados como antimicrobiais em alimentos com pH baixo. Nitratos e nitritos são usados para inibir o crescimento da bactéria *Clostridium botulinum* em alimentos que contém carne crua, tais como a linguiça, o presunto, o bacon e o salame. Dióxido de

enxofre e sulfitos são usados para controlar o crescimento de microorganismos em frutas secas, sucos e vinhos.

O Ministério da Saúde, por meio da ANVISA, regulamenta e limita o uso de aditivos a alimentos específicos na menor quantidade possível, para alcançar o efeito desejado, evitando assim, qualquer tipo de problema de saúde. Para que um aditivo seja liberado para emprego em produtos industrializados, pesquisas são realizadas com o objetivo de avaliar possíveis efeitos tóxicos, sendo que sua utilização é proibida quando há evidências ou suspeitas de que o aditivo não é seguro para o consumo, quando interfere desfavoravelmente no valor nutritivo do alimento, quando serve para encobrir falhas no processamento e na manipulação do produto, ou ainda, para encobrir alterações e adulterações da matéria-prima ou do produto já elaborado, enganando o consumidor.

No caso do dióxido de enxofre, de acordo com a Resolução ANVISA nº 4, de 24 de novembro de 1988, o teor máximo permitido em diferentes tipos de bebidas é mostrado na Tabela 3¹⁶.

Apesar do rigor da legislação, não há como impedir que pessoas mais sensíveis, possam desencadear alergia ou intolerância aos aditivos alimentares. Dessa forma, faz-se necessário monitorar e controlar os teores de aditivos em alimentos a fim de evitar problemas de saúde ocasionados pelo consumo de algum produto que contenha níveis elevados de aditivos alimentares.

Tabela 3. Concentração máxima equivalente e enxofre permitido em diferentes tipos de bebidas (Resolução ANVISA nº 4, de 24 de novembro de 1988¹⁶)

Alimentos em que pode ser adicionado	Dióxido de enxofre ¹ (g/100 mL)
Refrigerantes	0,004
Sangria	0,035
Sucos de frutas	0,02
Vinagres	0,02
Vinhos	0,035
Vinhos compostos	0,025
Vinhos de frutas	0,035

1. Nas formas de metabissulfito de sódio, metabissulfito de potássio, metabissulfito de cálcio, sulfito de sódio, sulfito de potássio, sulfito de cálcio, bissulfito de sódio, bissulfito de potássio e bissulfito de cálcio.

Capítulo 2

Objetivos Gerais

- ❖ Construir um optodo para a determinação de dióxido de enxofre em ar com base no complexo $\text{Pd}_2(\text{dppm})_2\text{Cl}_2$ [(bisdifenilfosfinometano-dicloreto de paládio (I))] imobilizado em matrizes de PVC [poli(cloreto de vinila)] plastificadas com o-NPOE [o-nitrofeniloctiléter];
- ❖ Construir um optodo para a determinação de S(IV) em amostras de vinho com base no complexo $\text{Pd}_2(\text{dppm})_2\text{Cl}_2$ imobilizado em matrizes de PVC plastificadas com o-NPOE;
- ❖ Desenvolver um optodo para a determinação de oxigênio dissolvido em água com base no fluoróforo PtOEP [octaetilporfirinato de platina] imobilizado em PDMS [poli(dimetilsiloxano)].

Essa tese é dividida em sete capítulos, sendo que os capítulos 3, 4 e 5 se referem aos optodos para determinação de SO_2 atmosférico, S(IV) livre e total em amostras de vinho e O_2 dissolvido em água, respectivamente. Em cada um desses capítulos serão mencionados os objetivos específicos.

Capítulo 3

Optodo para determinação de SO₂ atmosférico

3.1. Introdução

Nos últimos anos, diversos procedimentos têm sido desenvolvidos para quantificar SO₂ em amostras gasosas, que sejam mais exatos, apresentem menores tempos de resposta ou mesmo que possam ser aplicáveis para fins específicos¹⁷⁻²⁰. Em geral, para a amostragem do gás são usados filtros impregnados com uma substância apropriada, pelo uso de tubos ou cartuchos contendo absorvente sólido conveniente ou por meio de borbulhadores contendo um líquido absorvente²¹.

Os mais largamente empregados são os amostradores passivos. Aqui, a amostragem é baseada na difusão molecular do gás através de uma camada estática de ar, consistindo em um corpo cilíndrico (geralmente polietileno) fechado no fundo. No espaço de difusão é acomodada uma fibra de celulose com solução de reagente apropriado, onde o gás é fixado^{2,6,21}. Após um determinado período de exposição, a fibra de celulose é submetida a processos de extração do analito, que o S(IV) pode então ser determinado por diferentes métodos, tais como condutimetria²², ICP-OES^{23,24}, eletroquímica²⁵⁻²⁸, luminescência²⁹⁻³³ e, principalmente, por espectrofotometria³⁴⁻³⁷.

Campos *et al.*³⁸ realizaram o monitoramento de SO₂, NO₂ e O₃ em áreas urbanas e de influência industrial das cidades de Camaçari e Salvador (estado da Bahia). Neste trabalho, na determinação de SO₂ foram empregados amostradores passivos, separação das espécies por cromatografia iônica e detecção por condutividade. As soluções para impregnação dos filtros, reações químicas e métodos analíticos utilizados são mostrados na Tabela 4.

Tabela 4. Soluções empregadas para impregnação dos filtros de amostradores passivos, reações químicas e métodos analíticos usados por Campos *et al.*³⁸

Gás	Soluções de impregnação (mol L ⁻¹)	Reação química	Método analítico
SO ₂	Na ₂ CO ₃ 1,0x10 ⁻²	SO ₂ + CO ₃ ²⁻ → SO ₃ ²⁻ + CO ₂ SO ₃ ²⁻ + 1/2 O ₂ → SO ₄ ²⁻	Cromatografia iônica
NO ₂	KI 5,0x10 ⁻¹ + KOH 2,0x10 ⁻¹ em metanol	NO ₂ + I ⁻ → NO ₂ ⁻ + 1/2 I ₂	Espectrofotometria molecular UV/VIS
O ₃	NaNO ₂ 1,5x10 ⁻¹ + Na ₂ CO ₃ 2,0x10 ⁻¹ + Glicerol 1,0x10 ⁻¹	NO ₂ ⁻ + O ₃ → NO ₃ ⁻ + O ₂	Cromatografia iônica

Os amostradores ficaram expostos por duas semanas e a partir das análises em laboratório foi possível determinar em cada ponto da rede de amostragem a precisão dos métodos empregados, definida como desvio padrão relativo para os amostradores expostos simultaneamente: 3,4-13% na faixa de concentração de 2,0-3,6 µg m⁻³ (que correspondem a 0,76-1,37 ppb_v) para SO₂, 2,1-9,83% na faixa de concentração de 2,3-11 µg m⁻³ para NO₂ e 3,3-15% na faixa de concentração de 19-27 µg m⁻³ para O₃.

Dentre os métodos que empregam a espectrofotometria encontram-se os sensores químicos de fibras ópticas. Kuratli e Pretsch²¹ desenvolveram um optodo para a determinação de SO₂ gasoso com base em membranas de PVC plastificadas com o-nitrofenil octil éter (o-NPOE) empregando cromoionóforos. Em geral, as membranas preparadas responderam somente para SO₂ úmido. No entanto, as membranas que

continham álcool lipofílico ou PVC hidroxilado também responderam para SO₂ em ambiente livre de umidade. Ganhos em sensibilidade e seletividade foram obtidos pela incorporação de um álcool lipofílico, mas houve um comprometimento no tempo de resposta, que passou de 0,5 para 10-20 minutos. A repetibilidade foi avaliada após uma série de medidas de absorvância, fornecendo um desvio padrão relativo de 1,2%.

Em 1978, Benner *et al.*³⁹ verificaram as características do composto Pd₂(dppm)₂Cl₂, onde dppm = (C₆H₅)₂PCH₂P(C₆H₅)₂ [(bisdifenilfosfinometano-dicloreto de paládio (I))]. Nesse trabalho foi estudada a possibilidade de inserção de moléculas de SO₂ em sua estrutura visando formar o complexo organometálico Pd₂(μ-SO₂)(dppm)₂Cl₂. Observou-se a formação de dois centros formados por átomos de paládio ligados ao SO₂ em forma de ponte e também ligados ao grupo P(dppm). Em outro trabalho também foi verificado que a interação do dióxido de enxofre com o complexo de paládio é reversível, e que após a reação surge uma banda em 511 nm⁴⁰. A estrutura proposta no processo de inserção do SO₂ ao complexo organometálico é conforme mostrado na Figura 2.

Alguns trabalhos reiteram os resultados obtidos por Benner, sendo que em alguns deles os autores demonstram mais detalhadamente os resultados obtidos^{41,42}, mostrando que o complexo organometálico pode reagir reversivelmente também com isocianidas, monóxido de carbono, cloreto de estanho e alguns dímeros.

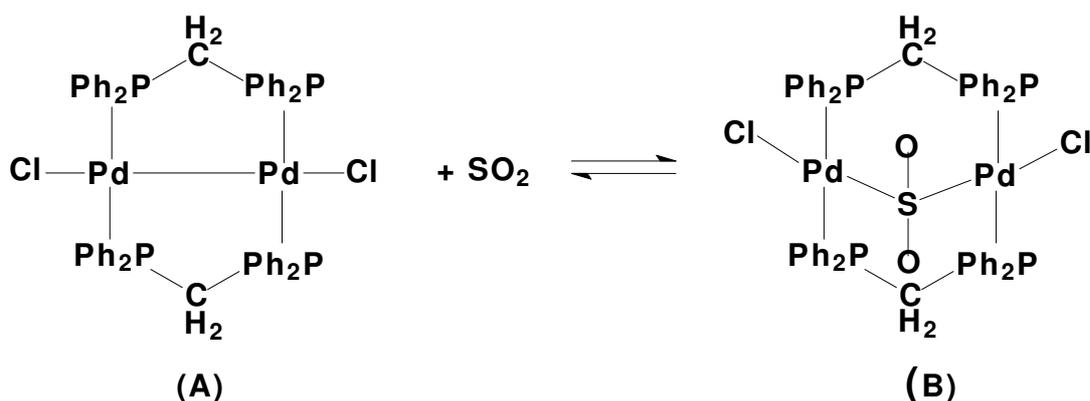


Figura 2. Estrutura esquematizada dos compostos (A): Pd₂(dppm)₂Cl₂ e (B): Pd₂(μ-SO₂)(dppm)₂Cl₂. A estrutura (B) é resultante de inserção na ligação metal-metal.

Recentemente, Alves *et al.*⁴³ descreveram um sensor óptico para a determinação de SO₂ gasoso com base no complexo [bis(difenilfosfinometano di-cloreto de paládio (I))] imobilizado em uma matriz de PVC/o-NPOE com detecção espectrofotométrica na região do visível. Diversas membranas foram preparadas e a que apresentou os melhores resultados foi aquela preparada pela deposição manual de 20 µL da solução contendo 20% de PVC, 8% do complexo de paládio e 72% de o-NPOE. Quando armazenadas em dessecador ao abrigo da luz, as membranas poderiam ser utilizadas por períodos de até dois meses, com faixa linear de trabalho de 0-300 ppm_v, limite de detecção de 3,5 ppm_v e tempo de resposta de 2-3 minutos. Outro estudo⁹ indicou que alterando-se a composição da membrana pode ser detectado monóxido de carbono, que não havia sido quantificado por Alves *et al.*⁴³ e indicou que poderia ser feita a determinação de CO e SO₂ simultaneamente empregando ferramentas matemáticas. No entanto, esses dois trabalhos não atingem limites de detecção e quantificação da ordem de ppb_v.

3.2. Objetivos

Construir um optodo utilizando o complexo Pd₂(dppm)₂Cl₂ como reagente para o monitoramento de dióxido de enxofre em ar, que satisfaça os requisitos das normas ambientais vigentes.

Caracterizar o optodo, realizando estudos acerca da composição da fase sensora, tempo de resposta, vida útil, reversibilidade, sensibilidade e seletividade.

Avaliar o efeito da umidade relativa e de alguns gases interferentes (H₂S, HCl e Cl₂, NH₃, NO₂, N₂O e CO) na resposta para SO₂.

3.3. Experimental

3.3.1. Reagentes e soluções utilizados

Os reagentes empregados durante todo o trabalho foram de pureza analítica. Na preparação da fase sensora, foi usado como cromóforo o complexo Pd₂(dppm)₂Cl₂, sintetizado por Gimenez⁴⁴, bem como PVC de elevada massa molar (*Aldrich*) e o-NPOE

(Aldrich). Foram empregados como solventes o diclorometano - CH₂Cl₂ (Mallinckrodt Chemicals) e tetrahidrofurano - THF (Merck).

Os gases, exceto o nitrogênio, foram obtidos com a empresa White Martins como misturas padrão primário em N₂ puro. As concentrações empregadas são mostradas na Tabela 5, onde também são especificadas as soluções absorvedoras apropriadas localizadas após a cela de medidas onde era borbulhado o gás de trabalho a fim de minimizar/eliminar a liberação do gás tóxico ao meio ambiente.

Tabela 5. Concentrações dos gases e soluções absorvedoras utilizadas neste trabalho

Gás	Concentração (ppm _v)	Solução Absorvedora (mol L ⁻¹)
SO ₂	500 ppm _v	NaOH - 1
CO	200000 ppm _v	KMnO ₄ - 0,05
N ₂ O, NO ₂ HCl, H ₂ S	1000 ppm _v	NaOH - 1
NH ₃	1000 ppm _v	H ₂ SO ₄ - 1
Cl ₂	1000 ppm _v	-
Ar sintético	-	-
Nitrogênio – utilizado na linha de gases do IQ/Unicamp.		-

3.3.2. Imobilização do reagente

Dissolveu-se a quantidade necessária do reagente em 50 µL de CH₂Cl₂. Separadamente, foi dissolvida uma outra quantidade de PVC em 950 µL de THF. Após os sólidos estarem completamente dissolvidos, as soluções foram misturadas e adicionou-se a quantidade necessária do plastificante o-NPOE. As massas relativas a cada um dos

reagentes foi utilizada sempre empregando um massa final contendo 100 mg dos componentes. Na Tabela 6 são apresentadas as composições de cada membrana investigada.

Tabela 6. Composições das soluções utilizadas na preparação das matrizes PVC/plastificante (massa final sempre em 100 mg)

Membrana	PVC (%)	Pd ₂ (dppm) ₂ Cl ₂ (%)	o-NPOE (%)
1	24	2	74
2	20	4	76
3	20	8	72
4	16,8	14,4	68,8

3.3.3. Suportes

3.3.3.1. Vidro poroso Vycor[®]

O procedimento utilizado no tratamento das lâminas de vidro poroso Vycor[®] foi descrito por Gimenez⁴⁴. As lâminas empregadas foram previamente seccionadas em cortadeira com disco diamantado até a dimensão 1,0 x 1,0 x 0,5 cm, lixadas e polidas. O procedimento de limpeza consistiu em manter as lâminas em 20 mL de HCl (Synth) 2,0 mol L⁻¹ durante 30 minutos, lavá-las com água destilada e, em seguida, inserí-las em 20 mL de acetona (Aldrich) por mais 30 minutos e, então, secar ao ar. Uma vez secas, estas lâminas foram colocadas em mufla a 550 °C durante 72 horas, completando o processo de limpeza.

A impregnação do cromóforo nas lâminas de vidro foi realizada por meio da imersão destas, após o tratamento, em soluções 1,0 x 10⁻⁵; 1,0 x 10⁻⁴; 7,5 x 10⁻⁴ e 1,0 x 10⁻³ mol L⁻¹ do referido composto em CH₂Cl₂ em frascos Schlenk, à temperatura ambiente, durante 16 horas. O excesso de solvente foi removido e as placas foram acondicionadas em dessecador até o momento de serem utilizadas.

Com o intuito de homogeneizar e aumentar o tamanho dos poros do Vycor®, visando deixar o Pd₂(dppm)₂Cl₂ mais disponibilizado, foi utilizado um procedimento proposto por Chapman e Elmer⁴⁵. As placas foram imersas em NH₄HF₂ 5% (m/v) durante 10 min e em HNO₃ 2 mol L⁻¹ durante 1h 40min com imersão em H₂O durante 15 min. As placas foram secas em mufla e verificada a perda final de massa. Essa variação ficou em torno de 18% para cada processo de tratamento. Esse tratamento foi repetido três vezes consecutivas nas placas antes que o complexo fosse impregnado.

3.3.3.2. Poliéster e fita adesiva comercial

Foram preparadas fases sensoras utilizando como suporte filmes de poliéster (3M) e fita crepe comercial (Adere). Duas formas de deposição foram empregadas: deposição manual e dip coating. Essas técnicas serão descritas a seguir.

3.3.3.2.1. Manual

Essa técnica consiste em depositar a solução em um determinado suporte com auxílio de uma micropipeta. Adicionou-se 10 µL das soluções sobre um filme de poliéster, que atua somente como suporte. Após a evaporação do solvente e secagem por 24 horas, as fases sensoras foram armazenadas em um dessecador e ao abrigo da luz até a utilização das mesmas. Com base nessa técnica, somente o filme de poliéster foi usado como suporte.

Com o intuito de aumentar o caminho óptico, foram preparadas membranas com deposição de maiores volumes de solução. Para tanto, as matrizes foram preparadas por meio da deposição manual de diferentes volumes (50, 100, 200, 300, 400 e 500 µL) de solução em tubos de Teflon® com 5 mm de diâmetro interno e 17 mm de altura, como mostra a Figura 3. As membranas foram armazenadas em dessecador ao abrigo da luz e após total evaporação dos solventes (~24 horas) as medidas podiam ser realizadas.

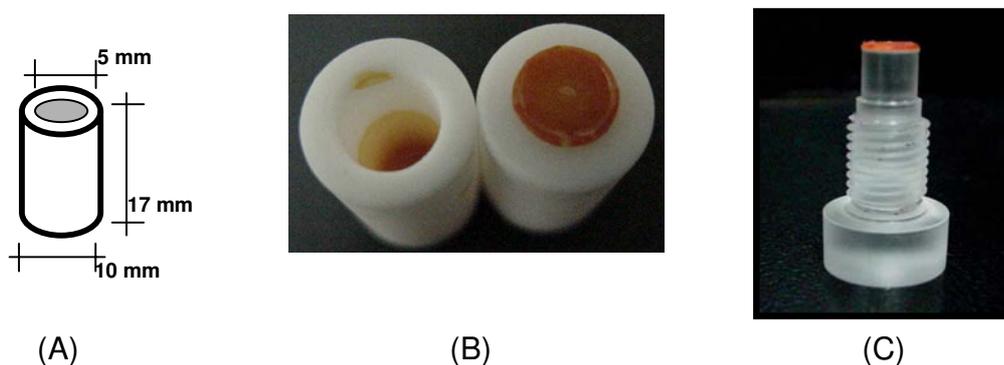


Figura 3. (A) Dimensões do tubo de Teflon[®] empregado na fabricação das membranas, (B) membrana já preparada e retirada do tubo de Teflon[®] e (C) membrana preparada para ser inserida na cela de medidas.

3.3.3.2.2. Dip coating

Para a preparação de filmes homogêneos, utilizou-se a técnica de *dip coating*, que consiste em introduzir o suporte em uma solução do reagente de interesse e retirá-lo a uma velocidade conhecida e controlada. As velocidades estudadas foram: 8, 16 e 20 cm min⁻¹. Foram avaliadas membranas contendo 1, 4, 6 e 10 camadas do reagente. O instrumento (Construmaq) utilizado pertence ao Laboratório de Química do Estado Sólido (LQES) do IQ/Unicamp.

Foram utilizados filmes de poliéster como suporte e também fita adesiva comercial (*Tapex* da marca *Adere*[®]), colocada em uma das faces do poliéster a fim de depositar a fase sensora em apenas um dos lados do suporte.

3.3.4. Misturador de gases

Para medidas de SO₂ atmosférico construiu-se um sistema para realizar a mistura de forma eficiente, contendo quatro controladores mássicos de fluxo e um módulo de controle (Aalborg), sendo possível obter diferentes concentrações dos gases estudados

(Figura 4). Um sistema de umidificadores foi acoplado ao controlador a fim de realizar medidas na presença de umidade relativa. Vazões de 500 e 1000 mL min⁻¹ foram utilizadas.

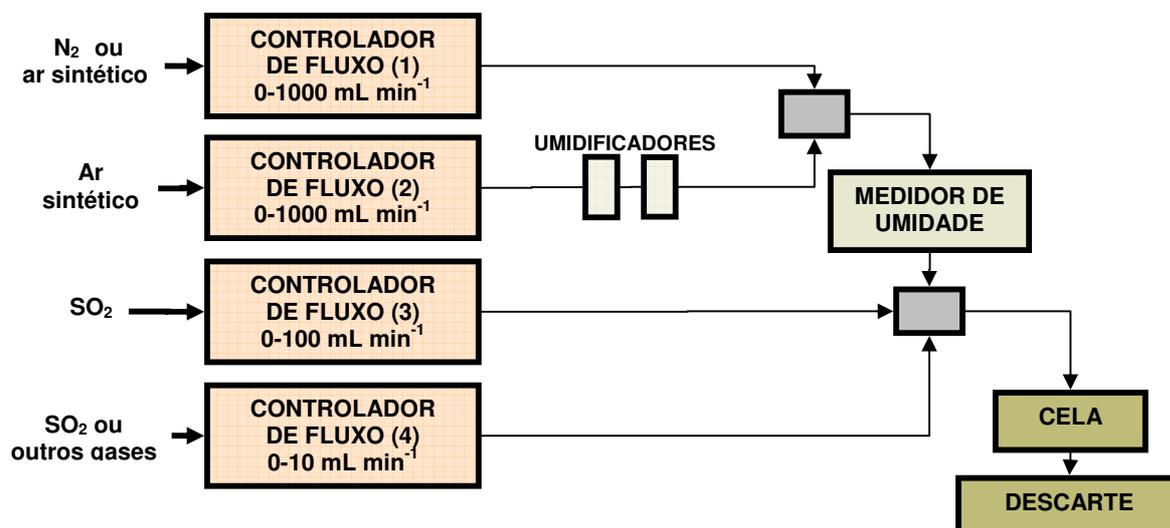


Figura 4. Sistema empregado para a obtenção de diferentes concentrações de SO₂ na presença de umidade relativa e de gases interferentes.

3.3.5. Cella de medidas

Para a determinação de SO₂ foi empregada uma cela de medidas composta de duas partes (Figura 5). Uma superior, na qual o feixe de fibras ópticas está acoplado, e uma inferior, onde a fase sensora é acomodada. A parte superior da cela de medidas possui duas fendas nas laterais, que permitem que o gás entre em contato livremente com a fase sensora. A parte inferior atua como um parafuso, podendo ser encaixada na parte superior e ajustando a distância entre a fase sensora e o feixe de fibras ópticas a fim de maximizar o melhor sinal analítico.

O funcionamento do optodo é simples. Um feixe de fibras ópticas guia a luz oriunda de uma fonte de radiação até a fase sensora. Na presença do analito há uma modificação

do sinal, que é refletido e por meio de outro feixe de fibras ópticas é guiado até o detector. Todas as medidas foram realizadas em reflectância.

Para determinação de SO₂ gasoso, o optodo foi inserido em um frasco de acrílico com capacidade de 40 mL contendo a entrada e saída de gás (Figura 5). Foram inseridas amostras com diferentes concentrações dos gases de estudo e umidade, mantendo vazão final em 1000 mL min⁻¹ para a realização das medidas.

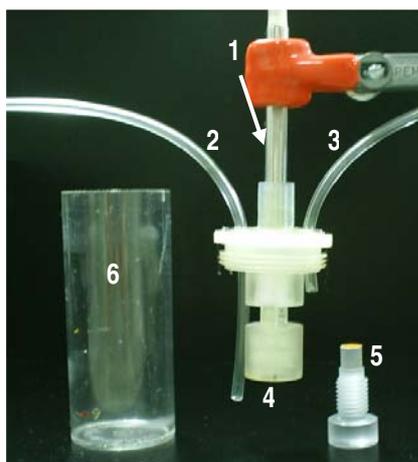


Figura 5. Cella utilizada na determinação de SO₂ em ar, sendo (1) feixe bifurcado de fibras ópticas, (2) e (3) entrada e saída de gases, (4) e (5) partes superior e inferior da cela de medidas e (6) frasco de acrílico.

3.3.6. Instrumentação

Em todas as medidas realizadas foi empregado um feixe bifurcado de fibras ópticas (Ocean Optics), um espectrofotômetro com arranjo linear de CCD (Ocean Optics USB2000) e os sinais foram registrados na forma de espectros por meio do programa computacional OOIBase32. Para as medidas de intensidade de reflectância da fase sensora exposta a diferentes concentrações de SO₂, utilizou-se uma fonte Oriel com lâmpada de tungstênio (50 W).

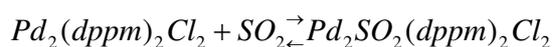
3.3.7. Obtenção dos espectros

Os espectros de reflectância obtidos para as amostras em diferentes concentrações de SO₂ em ar não foram avaliados na sua forma bruta. O branco para todas as medidas realizadas foi o sinal obtido para 100% de reflectância na presença de N₂ gasoso. Para o analito o sinal coletado era aquele obtido para 100% de reflectância na concentração estudada. Foi calculada a diferença entre as intensidades de reflectância dos espectros obtidos no branco e na presença de diferentes concentrações do analito.

3.4. Resultados e Discussão

3.4.1. Espectros de absorção

Espectros de absorção na região UV/VIS de uma solução 1,0 x 10⁻⁴ mol L⁻¹ de Pd₂Cl₂(dppm)₂ em CH₂Cl₂ antes e depois da inserção de 500 ppm_v de SO₂ foram avaliados e observou-se que após o contato com o analito surge uma banda em torno de 510 nm (Figura 6), que se manifesta visualmente pela mudança de coloração da solução de alaranjado para violeta, conforme proposto em trabalhos anteriores. A reação de inserção do SO₂ é mostrada a seguir:



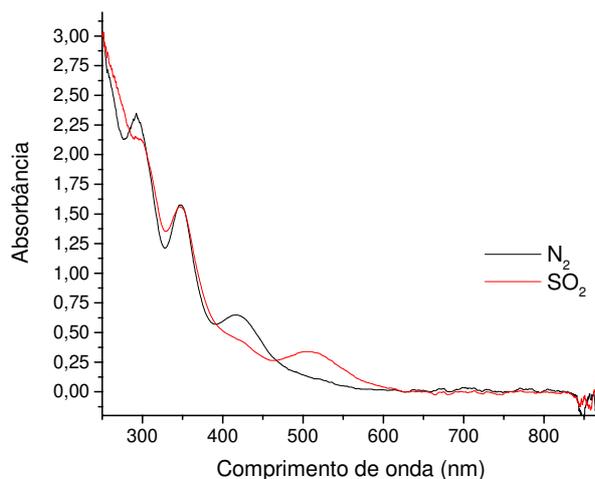


Figura 6. Espectros de absorvância do Pd₂Cl₂(dppm)₂ na ausência e presença de 500 ppm_v de SO₂.

Após este estudo preliminar em solução, iniciou-se o processo de incorporação do reagente nos diferentes suportes anteriormente mencionados.

3.4.2. Imobilização do reagente Pd₂(dppm)₂Cl₂

Trabalhos anteriores^{43,44} mostraram que o PVC é um polímero adequado para a construção de optodos para determinação de SO₂. Da mesma forma, observou-se na literatura que o plastificante o-NPOE, por apresentar elevada polaridade, garante maior seletividade e sensibilidade a um optodo empregado na determinação de SO₂.

De acordo com os resultados obtidos para as membranas analisadas, a que apresentou melhores resultados foi a *membrana 2* (Tabela 6), contendo 4% de Pd₂(dppm)₂Cl₂, 22% de PVC e 74% de o-NPOE. As matrizes com maior concentração de plastificante não apresentavam boas propriedades mecânicas, sendo de fácil rompimento e aquelas com menores quantidades do cromóforo não apresentavam resposta significativa na presença do analito. Dessa forma, a *membrana 2* foi empregada no desenvolvimento do optodo para a determinação de SO₂ em ar.

3.4.3. Suportes

3.4.3.1. Vidro poroso Vycor[®]

Com base em um trabalho desenvolvido por Gimenez⁴⁴, onde foi evidenciado o sucesso da inserção do complexo organometálico Pd₂(dppm)₂Cl₂ no vidro poroso Vycor[®] e mostrado que as moléculas mantêm sua reatividade química após tal processo, foram realizados testes para viabilizar a construção de um optodo para determinação de baixas concentrações de SO₂ em ar (ppb_v).

Com base nesses experimentos observou-se que praticamente não há variação no espectro na presença do analito, e tais resultados são provavelmente decorrentes do impedimento estérico que impede a reação entre o SO₂ e o cromóforo e não somente relativo ao tamanho de poro do Vycor[®]. As membranas também não se mostraram efetivamente reversíveis, visto o complexo formado no interior dos poros do Vycor[®] apresentar uma forte ligação do SO₂ com os átomos de paládio, diferente da formação do complexo em solução, que, apesar de ser estável, é fraca⁴³. O procedimento empregado por Gimenez⁴⁴, onde se observa reversão total da reação, foi obtido depois que as membranas ficaram sob vácuo por um período médio de 5 horas. Esse não é um procedimento recomendado na construção de um sensor óptico dessa natureza.

Também foram realizados experimentos com soluções do complexo organometálico em diclorometano nas concentrações 1,0x10⁻⁵, 1,0x10⁻⁴ e 7,5 x 10⁻⁴ mol L⁻¹. Da mesma forma que os dados anteriormente relatados, não houve reversibilidade, tampouco sinal significativo.

Mesmo empregando a técnica de abertura de poros do Vycor[®] para preparação dos optodos não foi observado sinal significativo e a metodologia mostrou-se extremamente onerosa. Dessa forma, buscou-se um outro meio para confecção dos optodos, alterando-se a fase sensora para uma membrana de PVC tendo como suportes fita adesiva comercial e filmes de poliéster. Os resultados serão discutidos a seguir.

3.4.3.2. Filmes de poliéster e fita adesiva comercial

Inicialmente as fases sensoras foram preparadas utilizando-se a técnica *dip coating* para a deposição da membrana otimizada em filmes de poliéster. As membranas obtidas apresentaram-se bastante homogêneas, porém a espessura não era a desejada para realizar as medidas de reflectância. Mesmos empregando a mais elevada velocidade do equipamento (20 cm min^{-1}) e um elevado número de camadas do reagente (10 camadas) sobre o suporte os filmes preparados ainda eram muito finos e transparentes, conseqüentemente ineficientes para as avaliações realizadas (Figura 7). Desta maneira, esta técnica de deposição foi descartada.

Na preparação das membranas por *dip coating*, uma das faces do filme de poliéster recebia uma proteção com fita crepe comercial. Essa fita, que inicialmente foi empregada apenas para manter intacta um dos lados do poliéster, foi testada como fase sensora. No entanto, devido à superfície rugosa da fita, as membranas eram muito heterogêneas e muitas vezes não reagia com o analito. Dessa forma as membranas preparadas pela deposição em fita crepe comercial foram descartadas.

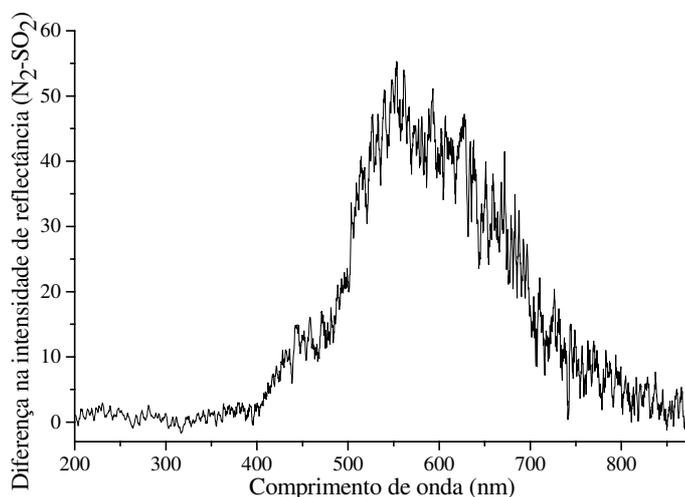


Figura 7. Espectro N_2-SO_2 obtido a partir de uma fase sensora preparada por meio da técnica *dip coating* com 10 deposições da solução a 20 cm min^{-1} submetida a 500 ppm_v de SO_2 .

Também foi empregada a deposição manual de $10 \mu\text{L}$ da solução em filmes de poliéster com o auxílio de uma micropipeta. Este procedimento forneceu membranas com maior espessura, no entanto o fator comprometido neste caso é a homogeneidade do filme formado. Na Figura 8 são apresentados resultados obtidos a partir de uma membrana visualmente homogênea e pode-se observar que a distribuição das curvas é satisfatória e há variação na intensidade de reflectância no comprimento de onda 550 nm , para uma concentração de 500 ppm_v de SO_2 .

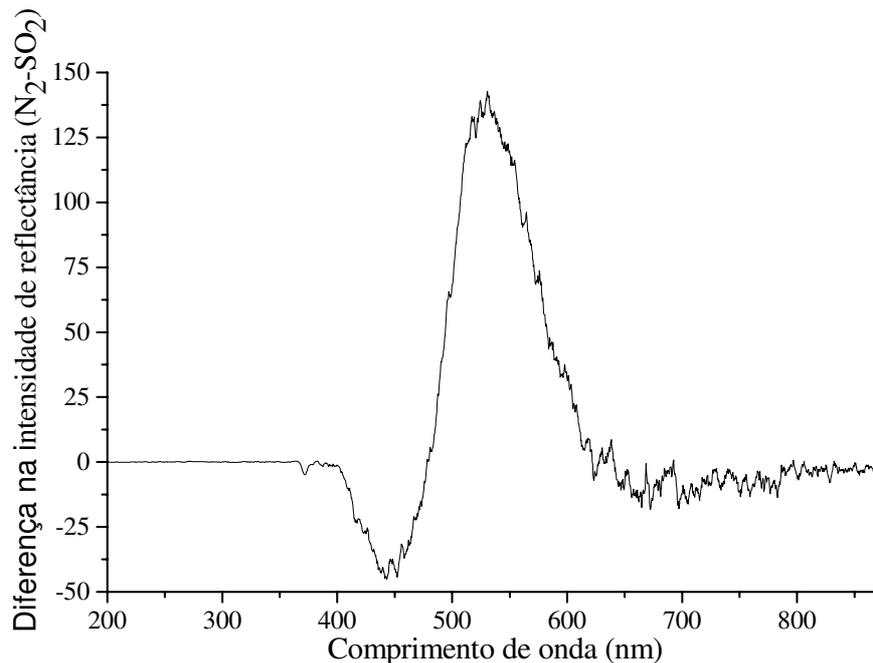


Figura 8. Espectro N_2 - SO_2 obtido a partir de uma membrana homogênea preparada por meio da deposição manual de $10 \mu\text{L}$ de solução em filmes de poliéster submetida a 500 ppm_v de SO_2 .

Por outro lado, quando a membrana obtida é heterogênea, não se obtém resultados satisfatórios e os espectros obtidos não são coerentes e muitas vezes nem mesmo há indicação de reação, conforme mostrado na Figura 9.

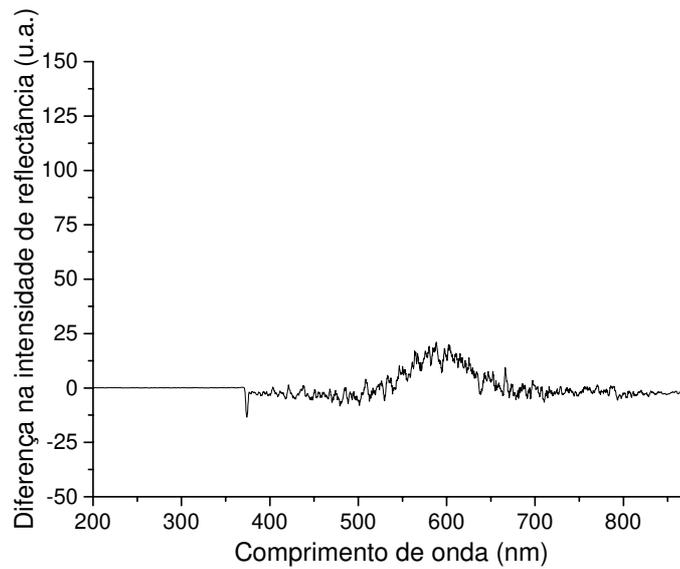


Figura 9. Espectro N_2 - SO_2 obtido a partir de uma membrana heterogênea preparada por meio da deposição manual de 10 μ L de solução em filmes de poliéster submetido a 500 ppm_v de SO_2 .

Uma razão plausível para que esta variação na homogeneidade ocorra é a atmosfera do laboratório, que podia ser alterada de acordo com os trabalhos realizados. Apesar de se tentar controlar a atmosfera de trabalho com o uso de capela somente para preparação de membranas, observou-se que ocasionalmente os filmes de poliéster preparados não apresentavam o mesmo desempenho. Supõe-se também que a heterogeneidade pode ser devida às impurezas presentes na superfície do filme de poliéster que não são retiradas mesmo com a limpeza com etanol, devido a solução da fase sensora apresentar diferentes taxas de evaporação para a formação de filmes e também porque a deposição da solução com o uso da micropipeta pode ser realizada de diferentes maneiras.

Os filmes homogêneos ocupam uma área circular que preenche todo o espaço na extremidade do parafuso. O mesmo não ocorre com as membranas heterogêneas, pois é observada a formação de grânulos, de maior concentração de material nas bordas e os resultados obtidos são insatisfatórios.

Comparando com os resultados obtidos por *dip coating* observa-se que o desempenho das membranas pela deposição manual é superior, apresentando variações de intensidade melhores. Dessa forma, as fases sensoras que apresentaram filmes heterogêneos foram descartadas e utilizadas somente aquelas com filmes homogêneos.

Com o intuito de aumentar o caminho óptico, maior quantidade de solução foi depositada sobre suporte de poliéster. Dessa forma, empregou-se a deposição manual de solução (50, 100, 150, 200, 300, 400 ou 500 µL) em tubos de *Teflon*[®] com 5 mm de diâmetro interno e 17 mm de altura. Observou-se que as membranas de 50-200 µL ficaram translúcidas, no entanto as de 50 e 100 µL apresentavam fácil rompimento devido a sua pequena espessura (~0,06-0,12 µm). Aquelas preparadas com volume inicial de 300, 400 e 500 µL ficaram opacas e apresentaram separação de fases.

A Figura 10 mostra os espectros obtidos após submeter as membranas preparadas a partir de diferentes volumes de solução a uma atmosfera de 50 ppm_v de SO₂. Observa-se que as membranas de 50 até 100 µL apresentam um ganho de sinal analítico da ordem de aproximadamente 50%, e para membranas contendo 150 e 200 µL, o aumento foi cerca de 20% do sinal. As membranas preparadas pela deposição de 200 µL, quando submetidas a concentrações de 50 ppm_v, apresentaram maior variação de intensidade do sinal analítico (230 u.a.). Essas membranas apresentaram maior homogeneidade e não houve formação de grânulos na parte inferior da fase sensora, tampouco bordas. Essas membranas preparadas pela deposição de 200 µL de solução apresentaram espessura média de 500 µm.

As membranas preparadas pela deposição de 300, 400 e 500 µL de solução apresentaram grânulos na parte inferior da membrana. Após a evaporação do solvente, essas membranas ficaram totalmente opacas, impedindo a reflexão total da luz incidente. Esse fator gerou um comprometimento no seu desempenho e esse fator limitante pode ser observado pela intensidade do sinal obtida para essas membranas, muito menor que para as membranas contendo 50-200 µL de solução. Dessa forma, conclui-se que os sinais de reflectância obtidos para essas membranas foram baixos (~30 u.a.) e isso se deve ao fato que as membranas eram opacas e não permitiam a passagem da luz. Por esse motivos, essas membranas foram descartadas.

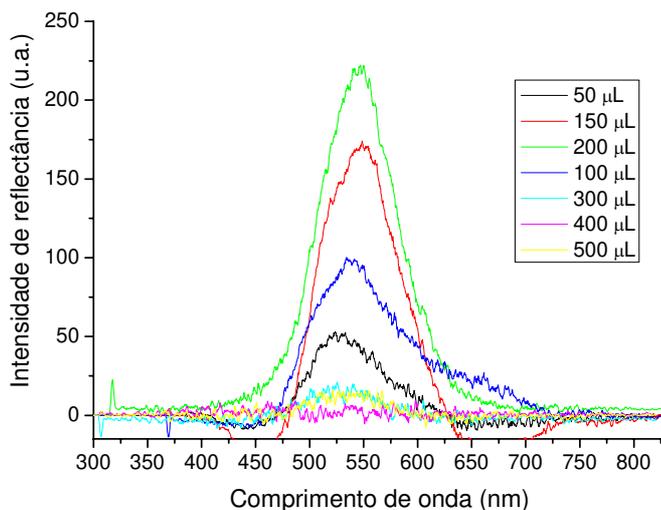


Figura 10. Espectro N_2 - SO_2 obtido a partir de membranas preparadas pela deposição de diferentes volumes de solução em recipiente de *Teflon*[®] submetidas a 500 ppm_v de SO_2 .

Dessa forma, as membranas empregadas nesse trabalho foram aquelas preparadas pela deposição manual de 200 μL de solução, visto apresentar a maior variação de intensidade de reflectância em 550 nm e não apresentar separação de fases.

3.4.4. Estudo da vazão na mistura de gases

Foram realizados testes utilizando vazões finais dos gases iguais a 500 e 1000 mL min^{-1} . Os resultados obtidos para a menor vazão foram bastante semelhantes àqueles obtidos para 1000 mL min^{-1} , mas com tempo de resposta maior. Dessa forma, a vazão final empregada neste trabalho foi de 1000 mL min^{-1} e para concentrações que exigiam vazões muito diferentes dos gases de trabalho, optou-se por empregar os controladores de menores vazões (10 e 100 mL min^{-1}), para evitar o contra fluxo de gases e, conseqüentemente, erro nas concentrações dos mesmos.

3.4.5. Avaliação do sensor

São diversas as figuras de mérito que devem ser obtidas para o sensor em desenvolvimento. A seguir, serão apresentadas aquelas que foram avaliadas neste trabalho.

3.4.5.1. Condicionamento da membrana

Observou-se que ao realizar estudos em membranas novas, era necessário repetir exaustivamente medidas com uma mesma concentração até que o sinal tornasse estável, pois havia gradativo aumento de sinal analítico. Dessa forma, realizou-se um experimento no qual uma membrana nova foi submetida a sucessivos ciclos de 10 minutos de SO₂ 500 ppm_v e subsequente ciclo de 10 minutos de N₂, em vazão de 1000 mL min⁻¹. Observou-se que há ganho no sinal analítico, sendo necessários cerca de 10 ciclos até que a membrana tenha seu sinal estabilizado (Figura 12). Dessa forma, todas as membranas utilizadas para determinação de SO₂ passaram por uma etapa de condicionamento antes que quaisquer medidas fossem realizadas.

Provavelmente existem sítios inativos que precisam ser disponibilizados com sucessivas inserções do gás de trabalho. Ao iniciar esse estudo, a fase sensora passou por um fluxo de 30 minutos em N₂ sob vazão controlada e, mesmo assim, observou-se uma pequena intensidade de sinal na primeira medida (~5,5% do valor obtido no equilíbrio), o que indica que é necessário inserir o analito para condicionar a membrana. Após atingido o equilíbrio (10^a medida), os valores dos sinais para a concentração 500 ppm_v de SO₂ são de aproximadamente 650 u.a., com desvio em torno da média de 2,6% (valores obtidos com as medidas de 10-20 (Figura 11). Observa-se que a repetibilidade é satisfatória e que essa membrana pode ser utilizada para medidas de SO₂.

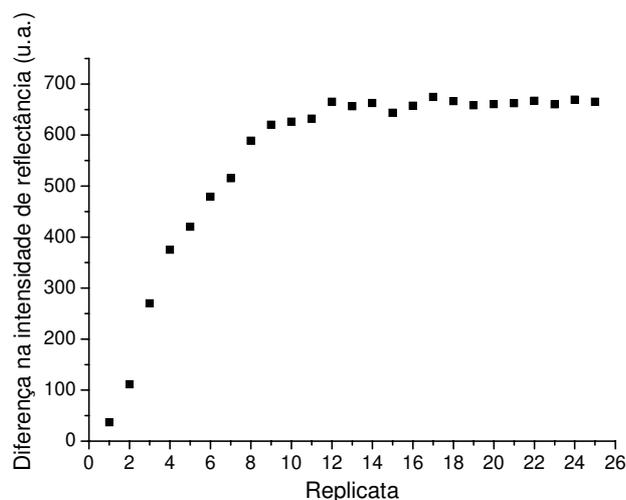


Figura 11. Membrana nova submetida a 25 ciclos de N₂ e 500 ppm_v de SO₂ em vazão 1000 mL min⁻¹. Medidas realizadas em 550 nm.

3.4.5.2. Tempo de resposta

Empregando gráficos de reflectância em função do tempo pode-se determinar o tempo de resposta do sensor. Essa figura de mérito é definida como sendo o tempo necessário para que ocorra a mudança do sinal analítico. Um tempo de resposta igual a 100% é definido como o tempo requerido para alcançar um estado estacionário. É comum expressar o tempo em resposta em termos de 90% do sinal total, conhecido como $t_{90\%}$. O tempo de resposta é um parâmetro que depende de diversos fatores como temperatura, quantidade de reagente imobilizado, espessura da membrana, concentração do analito, entre outros. Uma curva de resposta x tempo obtida para o sensor construído é apresentada na Figura 12.

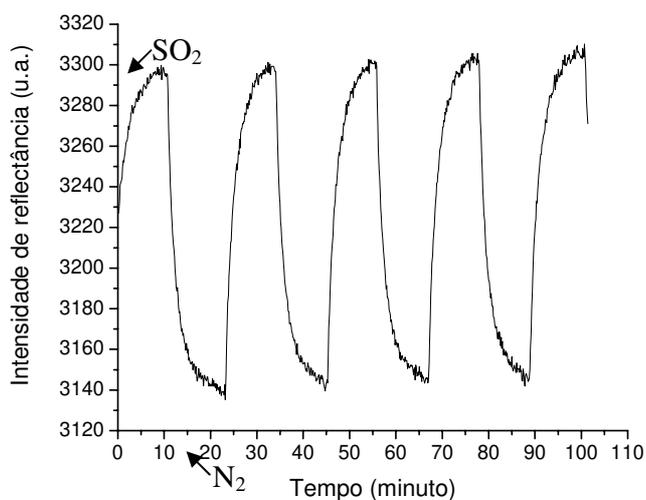


Figura 12. Curva de intensidade de reflectância em função do tempo a 550 nm com inserções alternada de N₂ e SO₂ 20 ppm_v.

As setas indicam o início da inserção de SO₂ na parte superior da curva e N₂ na parte inferior. A parte inferior (diminuição da intensidade de reflectância) indica o sinal obtido em 20 ppm_v de SO₂. Com base no tempo de resposta $t_{90\%}$, observa-se que são necessários cerca de $(6,0 \pm 0,1)$ minutos para inserir no analito e aproximadamente $(6,2 \pm 0,5)$ minutos para reverter o sinal. Comparando com Alves⁴³, o tempo de resposta aumenta cerca de duas vezes. No entanto vale salientar que a espessura da membrana é muito maior e provavelmente esse é o fator que preponderante no tempo de resposta. Há mais reagente presente e o analito necessita de mais tempo para permear até o centro da membrana. A espessura média da membrana é de 0,22 mm quando depositados 200 μ L de solução e para membranas preparadas pela deposição de 10 μ L a espessura é de 0,01 mm, sendo que essas membranas de menor espessura garantem maior frequência analítica.

3.4.5.3. Faixa linear de resposta e limite de detecção

Para verificar a faixa linear de resposta da fase sensora foi construída uma curva de calibração de 0-50 ppm_v de SO₂ empregando os controladores de 100 e 1000 mL min⁻¹,

com o intuito de não haver problemas com as concentrações dos gases. A regressão linear obtida para esta curva foi:

$$\text{DIR} = (0,08 \pm 0,26) + (5,42 \pm 0,07) [\text{SO}_2], r^2 = 0,99993$$

onde DIR é a diferença na intensidade de reflectância e [SO₂] é a concentração de dióxido de enxofre em ppm_v.

O limite de detecção de um método pode ser descrito como a concentração que resulta em um sinal analítico significativamente diferente do sinal obtido para o branco. Existem diversas maneiras de calcular o limite de detecção, uma delas sugere que este cálculo seja realizado a partir da regressão linear, utilizando-se o desvio padrão (s) do modelo como sendo o do branco e o coeficiente angular (S) da curva. A partir das regressões obtidas para a construção da curva apresentada, utilizou-se o desvio padrão (s) obtido e o coeficiente angular (S), relacionando-os da seguinte maneira:

$$\text{LD} = 3 (s/S)$$

$$\text{LQ} = 10 (s/S)$$

com o uso destas relações, determinou-se o limites de detecção (LD) e quantificação (LQ) para o sensor desenvolvido.

O limite de detecção obtido foi de 0,39 ppm_v e de quantificação foi de 1,12 ppm_v, sendo que Alves⁴³ obteve um limite de detecção de 3,5 ppm_v. Para todas as medidas realizadas nessa curva analítica, o desvio em torno da média variou de aproximadamente 2% do valor medido. No entanto, esses resultados ainda não atingem os níveis de concentração exigidos pelo Conselho Nacional do Meio Ambiente, que é da ordem de ppb_v. Dessa forma, novas curvas de calibração foram construídas, em concentrações que variaram de 0-5 ppm_v e utilizando controladores mássico de fluxo de 10 e 1000 mL min⁻¹ (Figura 13).

Para este intervalo de concentração (0-5ppm_v), observa-se que há pequena dispersão das repetições, sendo obtida uma faixa linear de:

$$\text{DIR} = (0,04 \pm 0,20) + (10,3 \pm 0,2) [\text{SO}_2], r^2 = 0,9998$$

onde DIR é a diferença na intensidade de reflectância e $[SO_2]$ é a concentração de dióxido de enxofre em ppm_v .

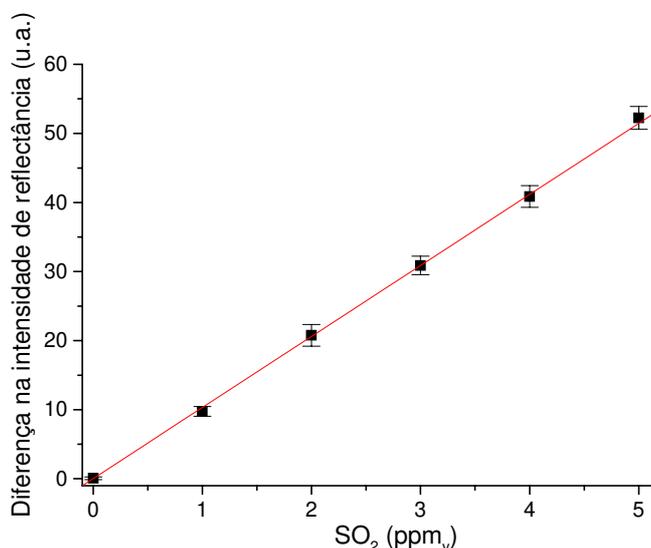


Figura 13. Curva analítica obtida em cela de reflectância e medida em 550 nm em um intervalo de 0-5 ppm_v de dióxido de enxofre.

Para esta curva, o limite de detecção obtido foi de 0,13 ppm_v , e o limite de quantificação foi 0,35 ppm_v , mostrando que a membrana pode ser empregada no monitoramento de SO_2 na qualidade do ar atmosférico, pois atinge os níveis de concentração exigidos pelo Conselho Nacional do Meio Ambiente (que regulamenta que a qualidade do ar atinge o nível de alerta quando a concentração atinge o nível de 0,6 ppm_v).

Determinadas todas essas figuras de mérito, pode-se dizer que a caracterização da fase sensora foi realizada com sucesso. Desta forma, para a conclusão deste trabalho, é necessário avaliar o tempo de vida da fase sensora e o efeito de alguns gases que podem interferir na resposta para o dióxido de enxofre.

3.4.5.4. Tempo de vida da fase sensora

Membranas novas preparadas pela deposição de 200 μL de solução em tubos de Teflon[®] podem ser armazenadas ao abrigo de luz em dessecador por até 2 meses, obtendo-se um desempenho satisfatório com o uso. Verificou-se também que a mesma

membrana pode ser empregada por aproximadamente 250 medidas sem haver perda significativa de sinal analítico. A partir daí observa-se a gradativa diminuição do sinal devido à fotodegradação (Figura 14).

Segundo a literatura⁴², o complexo organometálico quando sólido é estável por longos períodos. No entanto, em solução sua vida útil é reduzida e apesar das membranas terem permanecido armazenadas em dessecador ao abrigo da luz, podem ter sofrido algum processo de degradação que não pôde ser identificado.

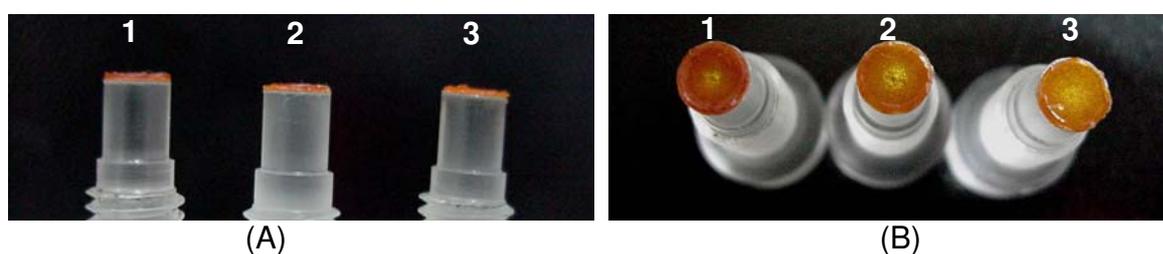


Figura 14. Destaque da fase sensora. (A) espessura da membrana formada por 200 µL de solução e (B) membranas em diferentes estágios de uso: 1- após 250 medidas, 2- após 227 medidas e 3- após 55 medidas.

3.4.5.5. Avaliação de interferentes

Como o ar é formado por um grande número de espécies, torna-se necessário verificar o efeito causado na presença de alguns de seus constituintes. Nesse tópico serão discutidas os efeitos da umidade, HCl, Cl₂, H₂S, N₂O, NO₂, NH₃ e CO na resposta da fase sensora.

3.4.5.5.1. Umidade relativa

Para a aplicação do sensor em amostras reais, é imprescindível determinar o efeito da umidade relativa do ar na sua resposta, dada a sua grande variação, sendo que erros

nas medidas podem ser causados pelo fato de que o SO₂ na presença de água forma H₂SO₃, o qual é liberado para o sistema.

Assim, para avaliação do efeito da umidade na resposta da fase sensora para dióxido de enxofre foram realizadas medidas de intensidade de reflectância em ar sintético seco e na presença de diversos níveis de umidade relativa (15, 30, 50 e 70%). Uma mesma fase sensora foi utilizada em três ensaios consecutivos em ar seco e em seguida em três ensaios consecutivos em diferentes níveis de umidade. A Figura 15 apresenta as médias de cada ensaio em 550 nm e as respectivas estimativas de desvio padrão.

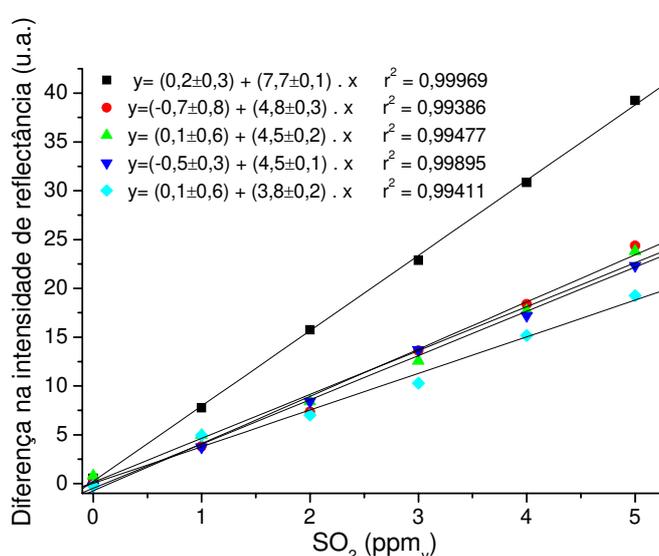


Figura 15. Intensidade de reflectância x concentração de SO₂ para ar seco e diferentes níveis de umidade relativa (■ 0, ● 15, ▲ 30, ▼ 50 e ◆ 70%) em 550 nm.

Observa-se que a sensibilidade do sensor é dependente do teor de umidade presente do meio. Visto que H₂O reage com SO₂, nota-se que independente do nível de umidade há perda de sensibilidade da fase sensora. A presença de H₂O afeta significativamente o desempenho do sensor para medidas realizadas em ar seco e na presença de 15 e 30% de umidade, com perda do sinal analítico de aproximadamente 38% para 5 ppm_v de SO₂. Para 50 e 70% de umidade relativa, a intensidade do sinal de reflectância é diminuída em 43 e 51% para 5 ppm_v de SO₂. Dessa forma, o efeito oriundo

da H_2O pode ser minimizado realizando as medidas em um valor fixo ou uma estreita variação do teor de umidade.

Após realizar as medidas em 70% de umidade, retornou-se ao ar seco e não houve perda de sinal, percebendo-se que não há deterioração da membrana pelo contato com o H_2SO_3 formado.

3.4.5.5.2. Compostos de nitrogênio

Os óxidos de nitrogênio (NO_x) provêm de fontes naturais, tais como atividade vulcânica, queima de biomassa (fundamentalmente queimada de florestas) e a atividade bacteriana. Porém, o tráfego automobilístico, assim como a combustão em caldeiras e fornos constituem as principais fontes de formação desses óxidos, que são considerados importantes contaminantes, devido à sua participação na chuva ácida, responsável pela destruição das florestas, assim como no “smog” fotoquímico, que é intensamente irritante aos olhos e às mucosas¹⁴.

Dentre os óxidos de nitrogênio, encontra-se o óxido nitroso (N_2O). Ele é conhecido também como gás hilariante e é empregado como anestésico. É produzido em solos por processos conhecidos como nitrificação e desnitrificação e é um dos principais causadores do efeito estufa. A concentração de N_2O tem aumentado cerca de 0,2-0,3% ao ano neste último século e é responsável por 5-7% do aumento do efeito estufa. Dessa forma, ao propor a determinação de uma espécie presente no ar, é indispensável o estudo do efeito da presença de N_2O , visto que ele está presente no ar em quantidade considerável⁴⁶.

Estudos com o óxido nitroso (N_2O) na concentração 10 ppm_v mostraram que não há reação com a fase sensora. Submetendo a membrana a uma concentração de 1000 ppm_v de N_2O também não foi observada variação de sinal em 550 nm, o que indica que a fase sensora é inerte ao gás N_2O nas concentrações estudadas.

Outra espécie estudada foi o gás dióxido de nitrogênio (NO_2). É um poluente tóxico oriundo de emissão veicular, sendo um dos gases mais amplamente estudados por estar ligado à pobre qualidade do ar, dificuldades respiratórias, irritação nos pulmões podendo causar até mesmo edema pulmonar^{47,48}. A presença de aproximadamente 100 ppb_v NO_2

na atmosfera indica que a qualidade do ar atingiu níveis de alerta. Devido à sua grande toxicidade e presença na atmosfera, esse gás foi estudado como interferente na resposta da fase sensora na determinação de SO₂.

Experimentos realizados submetendo a fase sensora a uma atmosfera de 10 e 1000 ppm_v de NO₂ indicaram que ocorre uma reação irreversível entre o gás e o Pd₂(dppm₂)Cl₂. Houve um aumento gradativo da linha base e não uma resposta coerente que pudesse relacionar a resposta do sensor com a concentração de NO₂ inserido. Essa degradação da membrana também pode ser identificada visualmente, pois a coloração foi alterada de laranja intenso para amarelo. É importante destacar que as concentrações encontradas de NO₂ no ar são em média de 10-20 ppb_v, muito menores do que aqueles aos quais as membranas foram submetidas. Por limitações na instrumentação não foram realizados experimentos submetendo as membranas a essas concentrações menores.

A amônia é um gás incolor à temperatura ambiente, que possui um odor extremamente forte. É encontrada comercialmente em solução aquosa e a amônia pode ser utilizada na fabricação de fertilizantes, produtos de limpeza e como gás de refrigeração. Na atmosfera, é a única espécie alcalina que está presente em concentração significativa, sendo encontrada na faixa de 1 a 10 ppb_v, em regiões rurais e moderadamente poluídas⁴⁹.

O excesso de amônia na atmosfera é danoso aos seres humanos e ao ecossistema. A inalação de pequenas doses de vapor de amônia pode causar graves envenenamentos às pessoas, sendo que a concentração máxima de amônia na atmosfera suportável aos seres humanos é de 25 ppm_v. O SO₂ atmosférico pode ser neutralizado por vapor de amônia e, nesse caso, o íon amônio (NH₄⁺) é o produto desta reação química. Suas reações com gases ácidos na atmosfera produzem espécies químicas geralmente na forma de material particulado. Os aerossóis contendo amônio formam a fração de menor tamanho do material particulado total atmosférico. Estes aerossóis presentes na atmosfera podem diminuir a visibilidade e, ainda, podem afetar a acidez da água da chuva mudando a concentração de íons hidrogênio. A avaliação da amônia atmosférica é também fundamental para fechar o balanço de massa do ciclo do nitrogênio^{14,49}.

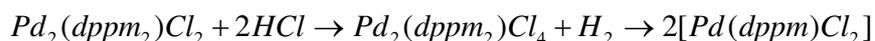
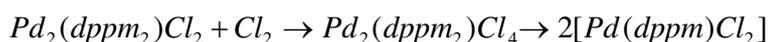
Experimentos realizados submetendo a fase sensora a 1000 ppm_v de amônia mostraram que há aumento do sinal analítico em 550 nm de aproximadamente 50 u.a.

Dependendo da concentração do analito, isso pode ou não ser um problema, visto que para uma concentração de 500 ppm_v de SO₂ em ar, o sinal referente à NH₃ é de cerca de 10% do sinal total. No entanto, para medidas de 5 ppm_v (~37 u.a.) essa influência pode mascarar o resultado final. Vale salientar que amostras reais contêm aproximadamente 5 ppb_v de NH₃, um valor muito menor do que aqueles estudados nessa Tese.

3.4.5.5.3. Cloro gasoso (Cl₂) e ácido clorídrico (HCl)

Cloro é um gás pouco tóxico utilizado no tratamento de águas e nas indústrias de plásticos. Dissolve-se em atmosferas aquosas, formando HCl e HOCl. Tem ação irritante para o sistema respiratório. A inalação de vapores de HCl pode causar edemas pulmonares e dependendo da concentração, pode até mesmo causar a morte. A grande afinidade do HCl com água tende a desidratar os tecidos respiratórios^{48,49}.

O complexo organometálico Pd₂(dppm₂)Cl₂ reage com moléculas pequenas, tais como H₂, HX ou X₂ (onde X = halogênio), fosfinas e íons diazônio⁴². Dessa forma, é esperado que a fase sensora sofra uma reação irreversível com Cl₂ e com HCl, de acordo com o esquema abaixo:



Os experimentos realizados mostraram que submetendo a fase sensora a uma atmosfera de 10 ppm_v de Cl₂ e de HCl ocorreu uma degradação semelhante àquela observada com NO₂, com total inutilização da fase sensora. A mesma mudança de coloração também foi observada, assim como contínuo aumento da linha base.

3.4.5.5.4. Sulfeto de hidrogênio (H₂S)

O H₂S é um composto corrosivo e tóxico. Pode ser encontrado em determinados tipos de petróleo e é facilmente identificado pelo seu odor desagradável. O sulfeto de hidrogênio pode causar sensação de queimadura, tosse, respiração difícil, dor de cabeça e náusea. Exposição contínua a baixas concentrações (15 - 20 ppm_v) geralmente causa irritação das membranas da mucosa e conjuntiva dos olhos. Concentrações elevadas (200 - 300 ppm_v) podem causar dificuldades respiratórias, levando ao desmaio ou coma. Exposição por mais de 30 minutos a concentrações com mais de 700 ppm_v são fatais. Inalação contínua de baixas concentrações pode causar fadiga do olfato, dificultando a detecção de sua presença pelo odor⁵⁰.

De acordo com a literatura, o Pd₂(dppm₂)Cl₂ reage com H₂S, mediante uma redução quantitativa de H₂S para H₂ e formação de um composto com o átomo de enxofre em ponte com os átomos de Pd. A reação é mostrada a seguir⁵¹:



Os experimentos realizados para verificar o efeito causado pela exposição da fase sensora a 10 ppm_v de H₂S mostraram que a reação é irreversível, inutilizando a membrana.

3.4.5.5.5. Monóxido de carbono (CO)

O CO é um gás oriundo da combustão incompleta de hidrocarbonetos e sua principal fonte de emissão são os veículos automotores e a indústria. É um gás incolor e inodoro, mas sua elevada toxicidade gera graves danos à saúde humana. No organismo, o CO é um ligante cerca de 200 vezes mais forte na hemoglobina que o oxigênio, formando carboxihemoglobina (COHb) ao invés de oxihemoglobina (O₂Hb). Uma pessoa que é submetida durante 2 horas a 50-250 ppm_v de CO pode sofrer de graves dores de cabeça; se submetida à 90 minutos sob atmosfera de 500 ppm_v de CO sentirá náuseas,

vômitos e até entrar em colapso; 1000 ppm_v de CO durante uma hora pode levar ao coma e concentrações maiores que esta levam à morte^{9,14}.

De acordo com a literatura, o complexo organometálico Pd₂(dppm₂)Cl₂ reage com o CO, mediante uma reação de inserção do monóxido de carbono na ligação metal-metal⁴⁴. Essa reação é reversível e resulta em uma mudança de coloração de laranja para violeta, sendo monitorada pelo aparecimento de uma banda de absorção em 466 nm. De acordo com Pinheiro⁹ quando imobilizado em PVC, há um deslocamento na banda de absorção para 500 nm, que também foi observado para a membrana aqui avaliada.

Nos estudos inicialmente realizados inserindo o gás CO na concentração 1000 ppm_v (0,1%) foi verificado que a fase sensora reage reversivelmente com o analito em questão, com maior variação da intensidade do sinal analítico em 519 nm e com desprezível variação em 550 nm, comprimento de onda relativo ao SO₂.

Construiu-se uma curva analítica de 0-5 ppm_v de SO₂ em atmosfera de CO (1000 ppm_v), conforme mostra a Figura 16. Pode-se observar que na presença de 1000 ppm_v de CO há alteração no desempenho da fase sensora nas curvas analíticas de 0-5 ppm_v de SO₂, observando-se um aumento de aproximadamente 5% do sinal. Curvas analíticas construídas na presença de diferentes concentrações de CO mostraram que a sensibilidade é baixa para esse analito. Para concentrações maiores de SO₂, não há interferência do CO no desempenho da fase sensora.

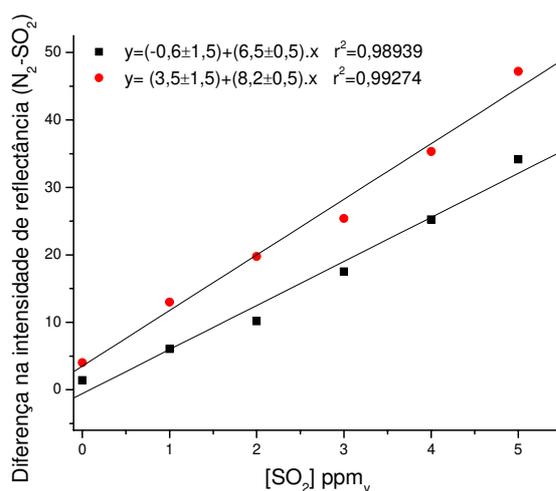


Figura 16. Curva analítica no intervalo de 0-5 ppm_v para ■ 0ppm_v de CO e ● 1000 ppm_v de CO.

As membranas também foram submetidas a níveis maiores de CO (intervalo de 1 até 10%), que são os níveis encontrados em escapamentos de automóveis. Os resultados demonstraram que essa fase sensora pode ser empregada também para quantificação de CO nessas concentrações, da mesma forma que se utiliza para medidas de SO_2 . Há uma resposta bastante satisfatória de 1 até 5%, e para concentrações maiores provavelmente há saturação da membrana (Figura 17). Concentrações menores foram avaliadas e mostraram que a aplicabilidade do sensor é ideal somente em concentrações de CO elevadas.

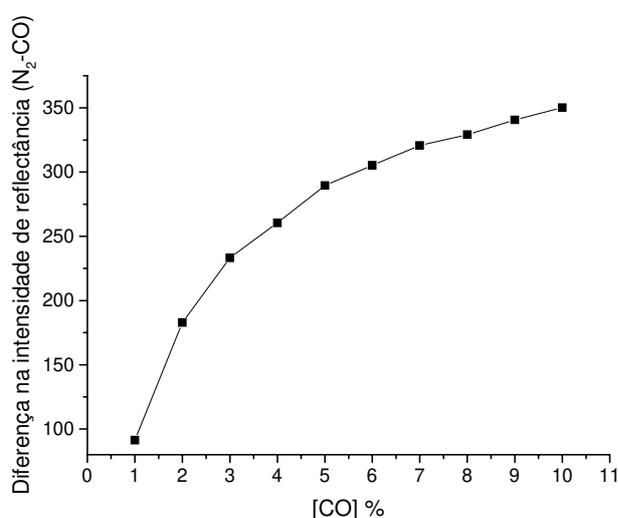


Figura 17. Medidas de 1-10% de CO. (A) Diferença entre os espectros de N_2 e CO e (B) sinal analítico em 519 nm.

3.5. Conclusões

Estudos preliminares com o complexo $Pd_2(dppm_2)Cl_2$ imobilizado em Vycor e em fita crepe comercial mostraram-se infrutíferos, sendo descartados.

Com os estudos realizados, pode-se concluir que os melhores resultados foram obtidos com as membranas de PVC/o-NPOE contendo 20% de PVC, 76% de plastificante e 4% de complexo de paládio. Para a determinação de SO_2 em ar foi utilizada a deposição manual de 200 μL de solução, formando membranas com espessura média de 200 μm e garantindo maior sensibilidade à fase sensora.

Membranas novas necessitam ser condicionadas, e para isso deve-se submetê-la a 10 ciclos de N_2 e SO_2 500 ppm_v. O tempo de resposta para a fase sensora é de 6 minutos para a determinação e 6 minutos para a reversão do sinal analítico, com repetibilidade 2,5% para a condição otimizada.

A fase sensora respondeu de maneira satisfatória e com boa repetibilidade para concentrações entre 0-5 ppm_v SO_2 e o limite de detecção determinado foi de 130 ppb_v e limite de quantificação de 350 ppb_v, atendendo às exigências do CONAMA para os níveis de alerta e emergência. O tempo de vida útil médio da fase sensora é de 2 meses ou 250 medidas, o que ocorrer primeiro.

Observou-se que é grande o efeito da umidade no sistema, mas que pode ser contornado empregando-se o mesmo nível de umidade relativa para a curva analítica e para as amostras analisadas. O óxido nítrico não interfere no desempenho da fase sensora, mesmo em altas concentrações. Na presença dos gases interferentes NO_2 , H_2S , HCl e Cl_2 na concentração 10 ppm_v a fase sensora é inutilizada, devido às reações irreversíveis entre esses gases e o complexo $Pd_2(dppm_2)Cl_2$. No entanto, essas concentrações estudadas são muito superiores àquelas encontradas no ar atmosférico. É necessário realizar um estudo submetendo essas membranas a concentrações menores a fim de verificar alterações no seu desempenho. O sensor também responde para monóxido de carbono, na faixa linear de 1-5% de concentração, apresentando uma sensibilidade menor que para SO_2 .

Capítulo 4

Optodo para determinação de SO₂ em vinhos

4.1. Introdução

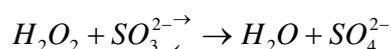
O vinho é uma bebida alcoólica, resultante da fermentação do mosto de uvas frescas, sãs e maduras, por intermédio de microorganismos chamados leveduras, as quais transformam o açúcar do suco da uva em álcool etílico, gás carbônico e uma série de substâncias secundárias em quantidades variadas. Em função disto, o vinho é considerado um produto elaborado, diferenciando-se dos produtos fabricados, caracterizados por misturas de diversas matérias-primas. Os microorganismos que participam na vinificação agem profundamente sobre a composição do vinho e, por isso, são em grande parte responsáveis pelo seu gosto e aromas. No entanto, um controle rígido desses processos é indispensável visto que, em condições diferentes, podem degradá-lo⁵²⁻⁵⁴.

Dentre as substâncias empregadas a fim de controlar algumas características químicas e físicas do vinho, encontramos o dióxido de enxofre. Ele é amplamente utilizado na indústria alimentícia como aditivo preservante devido ao seu efeito antioxidante. O S(IV) é encontrado em vinhos em duas formas:

ligado e livre e a soma dessas duas espécies fornece o SO₂ total. O SO₂ ligado se refere à formação de compostos da adição entre o íon bissulfito e outras substâncias como aldeídos, antocianinas ou proteínas. A quantidade de SO₂ ligado é dependente do pH do meio. Quanto mais baixo o pH, mais lenta é a reação. O mesmo comportamento é observado quanto ao efeito da temperatura²²⁻²⁹.

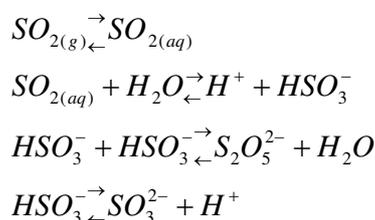
O SO₂ ligado causa um efeito frente à maior parte das leveduras e bactérias com metabolismo oxidativo aeróbio (bactérias ácido acético). Em concentrações maiores que 50 mg L⁻¹, ele também age como inibidor de bactérias fermentativas (bactérias do ácido láctico). O SO₂ livre é o mais importante agente antimicrobiano dentre as formas de SO₂. Variações do pH de sucos e vinhos podem levar à mudanças consideráveis no teor de SO₂ livre no meio⁵³.

Durante a fermentação, o SO₂ adicionado é oxidado à forma sulfato. Uma possível rota é explicada pela oxidação causada pelo peróxido formado enzimaticamente⁵²⁻⁵⁴:



Nessa etapa é mantida uma concentração de aproximadamente 5-40 mg L⁻¹ de SO₂ livre no suco fermentado.

O SO₂ livre é aquele presente na forma não ligada aos acetaldeídos, aldeídos ou outros compostos orgânicos e quando dissolvido em água, o SO₂ existe principalmente nas formas de bissulfito (HSO_3^-) e sulfito (SO_3^{2-}). Existe um equilíbrio entre as várias formas inorgânicas de SO₂, dependendo da quantidade presente, pH e temperatura. Em geral, ocorrem as reações mostradas a seguir:

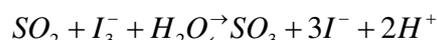


Devido à importância do teor de SO₂ livre em vinhos, muitos produtores adicionam-no ao vinho pouco antes do engarrafamento. A perda de SO₂ é diretamente ligada à concentração de O₂ dissolvido, dessa forma adiciona-se uma

quantidade que garanta que, mesmo com as perdas que possam ocorrer, haja SO₂ suficiente para sua atividade antioxidante e antimicrobiana. Geralmente também o vinho é borbulhado com gás inerte antes da adição do SO₂⁵²⁻⁵⁴.

Antes do vinho ser comercializado, o teor de SO₂ deve ser controlado devido à sua toxicidade e pelas mudanças nas características químicas e organolépticas que podem ocorrer no produto antes do consumo. Devido à grande preocupação com o teor de SO₂ em alimentos, é indispensável que o método de quantificação seja exato. Como já foi discutido no Capítulo 1, a legislação brasileira estabelece uma quantidade limite para a concentração de SO₂ em diversos alimentos, incluindo o vinho. O método padrão mais amplamente conhecido é o método iodométrico, também conhecido como método de Ripper⁵².

Esse método tem mais de 100 anos e emprega uma solução padrão de iodo para titular SO₂ livre ou total presentes na amostra. Embora seja reconhecido como um método com limitações, os procedimentos são simples, sendo por essa razão empregado ainda hoje em laboratórios vinculados a produtores de vinhos. O método é baseado na reação de oxidação-redução seguinte⁵²:



Neste procedimento, solução padrão de iodo é utilizada para titular diretamente o SO₂ livre presente na amostra. O ponto final da titulação é observado quando a solução adquire uma coloração azul, que é causada pelo excesso de iodo presente complexado com o amido adicionado. Na quantificação de SO₂ total é realizado inicialmente um tratamento da amostra com uma base forte para hidrolisar o SO₂ ligado.

Esse método tem uma série de limitações, tais como: (i) volatilização ou perda de SO₂ durante a titulação, (ii) redução do iodo por outras espécies que não sejam o SO₂ (por exemplo ácido ascórbico) e (iii) dificuldade na detecção do ponto final em vinho tinto²²⁻²⁹.

Por essas razões outros procedimentos para determinação mais exata e precisa tem sido desenvolvidas. Diversos trabalhos empregam a técnica de análise por injeção em fluxo (FIA), utilizando basicamente detecção espectrofotométrica^{21-23,25-28,31,34-37,55-56}. Zhi *et al.*⁵⁶ desenvolveram, em 1995,

sistemas com fluxos direto e reverso, possibilitando a determinação de SO₂ livre com base na reação colorimétrica da pararosanilina e aplicação em amostras de vinho. Foram obtidos limites de detecção de 0,03-3 e 0,75-75 mg L⁻¹ SO₂ para os métodos direto e reverso, com desvios padrão de 5-6%. A principal contribuição deste trabalho é o uso da geração do gás SO₂ para a realização das medidas, quando a maior parte dos trabalhos até então empregava amostradores passivos.

Da mesma forma, Lin e Hobo²⁹ empregaram um sistema de análise por injeção em fluxo com base numa reação quimiluminescente, onde a concentração do SO₂ é relacionada com a luminescência oriunda do estado triplete do (³SO₂^{*}) Foi obtido um limite de detecção de 5 x 10⁻⁷ mol L⁻¹, com desvio padrão relativo de 4,6% para amostras sintéticas, que variou de 4-8% para amostras reais. O método foi aplicado com sucesso na determinação de amostras de vinho branco e tinto.

Decnop-Weever e Kraak³⁶ desenvolveram um sistema FIA com uma célula de difusão para gases, com base na variação de absorvância de uma solução indicadora que, devido à presença de SO₂ liberado da amostra e que permeou a membrana, altera o pH do meio e a coloração do indicador verde de bromocresol. Foi obtido um limite de detecção de 0,1 mg L⁻¹, com faixa de trabalho de 1-20 mg L⁻¹. A repetibilidade foi de 0,7-1,5% em amostras de vinho e a adição de 10% (v/v) de etanol garantiu maior confiabilidade aos resultados. Este trabalho comparou os dados obtidos com o método proposto frente àqueles relacionados com o método padrão (Ripper) e os autores concluíram haver boa concordância entre os métodos.

Também podem ser encontrados na literatura trabalhos onde é empregado o sistema FIA com detecção potenciométrica²⁵⁻²⁸. Araújo *et al.*²⁵ desenvolveram um sistema FIA para automatizar o método de Ripper. A detecção potenciométrica foi realizada com base num eletrodo sensível ao iodeto. Os resultados obtidos para medidas de SO₂ livre e total em 26 amostras de vinho branco e 4 de vinho tinto mostraram boa concordância entre o método proposto e o método padrão⁵²⁻⁵⁴. O desvio relativo dos resultados obtido pelos dois métodos foi <6% e os autores afirmam que o método pode ser aplicado para amostras com aproximadamente 3,2-180 mg L⁻¹ SO₂, com freqüência de amostragem de 75-100

amostras por hora. Como a determinação é potenciométrica, não há influência da coloração da amostra.

Mataix e Castro²⁸ desenvolveram um método FIA para determinação simultânea de SO₂ livre e CO₂ em amostras de vinho empregando um arranjo de sensores. Inicialmente era realizada a determinação potenciométrica de ambos os analitos e, posteriormente, o SO₂ livre presente na amostra era quantificado fotometricamente pela formação de um composto colorido após a reação com *p*-rosanilina e formaldeído. Dessa forma, o teor de CO₂ poderia ser quantificado pela diferença entre as duas medidas. Limites de detecção de 2,0-20,0 mg L⁻¹ para SO₂ livre e 50,0 a 600,0 mg L⁻¹ para CO₂ foram obtidos. A precisão foi de aproximadamente 7% com base no desvio padrão relativo e a frequência de amostragem foi de 5 amostras/hora, para ambos os analitos. O método foi aplicado para 4 amostras de vinho e apresentou boa correlação com o método oficial.

Azevedo *et al.*²⁷ desenvolveram um método para determinação de SO₂ livre e total em vinhos empregando o sistema FIA com detecção amperométrica, com o uso de eletrodos de carbono vítreo modificados com filmes de porfirina. Comparando os dados obtidos com o método iodométrico, observou-se uma boa exatidão e o método pode ser empregado para vinhos branco, tinto e rosê. Pequenas quantidades de amostra eram necessárias para realizar as medidas e não foram observadas interferências oriundas de outros constituintes do vinho. A frequência de amostragem foi de aproximadamente 45 amostras/hora.

Araújo *et al.*²² desenvolveram um método para determinação de sulfito em vinhos, sucos de frutas e vinagres com base num sensor condutimétrico. Para a determinação de sulfito, o método foi baseado na formação de SO₂ em meio ácido, que se difunde através de uma membrana hidrofóbica permeável a gases até um receptor (água deionizada). A mudança na condutividade da água deionizada foi medida e atribuída à quantidade de SO₂ presente na amostra. O método pode ser aplicado numa faixa de trabalho de 1,0-50,0 mg L⁻¹ de sulfito e o limite de detecção é de 0,03 µg mL⁻¹. O desvio padrão relativo (n=10) para 10 µg

mL⁻¹ de sulfito é de 0,2%. O método foi comparado com o iodométrico, mostrando boa exatidão. Foi obtida uma frequência de amostragem de 120 amostras/hora.

Segundo e Rangel³⁷ apresentaram um trabalho onde foi realizada a quantificação de SO₂ livre e total em amostras de vinho em um sistema FIA com detecção espectrofotométrica, com base no método da pararosanilina. Foram obtidas curvas analíticas para ambos os métodos, sendo as faixas lineares de trabalho de 2-40 mg L⁻¹ para SO₂ livre e 25-250 mg L⁻¹ para SO₂ total e os desvios padrão relativos (n=10) foram de 1,2 e 2,3%, respectivamente. A frequência de amostragem foi de 16 amostras/hora e ao aplicar o método em amostras reais observou-se boa concordância com o método padrão.

Soares *et al.*³⁴ basearam-se na reação do sulfito com grupos flavonóides para desenvolver um método com base nos extratos de flores das espécies *Tibouchina granulosa* e *Rhododendron simsii* para determinação de SO₂ total em amostras de vinho branco. O extrato descolore na presença do analito e a intensidade de variação na cor está relacionada com a concentração de sulfito presente.

Com base nos experimentos realizados por Alves *et al.*⁴³ pretende-se empregar o optodo descrito no Capítulo 3 para determinação de S(IV) em amostras de vinho, utilizando sua fase gasosa, com base no complexo organometálico bisdifenilfosfinometano-dicloreto de paládio (I) – [Pd₂(dppm₂)Cl₂] imobilizado em uma matriz de PVC plastificado com o-nitrofeniloctiléter (o-NPOE).

4.2. Objetivos específicos

Os objetivos deste trabalho foram:

1. Desenvolver um sistema para a determinação de SO₂ livre e total em vinhos, baseado em um optodo com fase sensora constituída por Pd₂(dppm₂)Cl₂ imobilizado em uma matriz PVC/o-NPOE;
2. Caracterizar esse sistema no que diz respeito à repetibilidade das medidas, sensibilidade, tempo de vida útil, faixa linear e limites de detecção;

3. Avaliar o efeito de interferentes, como sacarose e etanol na resposta para SO₂;
4. Aplicar em amostras reais de vinho tinto e branco, comparando com o método padrão para validação.

4.3. Experimental

4.3.1. Reagentes e soluções utilizados

Os reagentes empregados durante todo o trabalho foram de pureza analítica. Na preparação das fases sensoras foram utilizados o Pd₂(dppm)₂Cl₂, sintetizado por Gimenez⁴⁴, PVC de elevada massa molar (*Aldrich*) e o-NPOE (*Aldrich*). Foram empregados como solventes o diclorometano, CH₂Cl₂ (*Mallinckrodt Chemicals*) e tetrahidrofurano, THF (*Merck*). O gás N₂ foi fornecido pela *White Martins*.

Para a aplicação do método de Ripper⁵²⁻⁵⁴ foram utilizados os seguintes reagentes: hidróxido de sódio (*Aldrich*), hidróxido de potássio (*Aldrich*), tiosulfato de sódio (*Synth*), ácido sulfúrico (*Mallinckrodt*), amido solúvel (*Mallinckrodt*), iodo ressublimado (*Mallinckrodt*) e iodeto de potássio (*Merck*).

Foram analisadas 6 marcas diferentes de vinho tinto e 1 marca de vinho branco obtidas em supermercado.

4.3.2. Imobilização do reagente

Foram dissolvidos 4 mg de Pd₂(dppm)₂Cl₂ em 50 µL de CH₂Cl₂ e 20 mg de PVC em 950 µL de THF, separadamente. Após os sólidos estarem completamente dissolvidos, as soluções foram misturadas e então foram adicionados 69,3 µL de o-NPOE. Essa foi a proporção que apresentou o melhor desempenho, como discutido no Capítulo 3.

Com o auxílio de uma micropipeta, foi depositado um volume de 10 µL dessa solução sobre um filme de poliéster (3M), que atua como suporte. Após a evaporação do solvente e secagem por 24 horas, as membranas foram armazenadas em dessecador ao abrigo de luz até a utilização das mesmas.

4.3.3. Determinação de SO₂ em amostras de vinho

4.3.3.1. Método de Ripper

Para a determinação de SO₂ livre pipetou-se 50,0 mL de amostra, adicionou-se 5,0 mL de solução H₂SO₄ 2,0 mol L⁻¹ e 5,0 mL de solução indicadora de amido 1% (m/v). Rapidamente procedeu-se a titulação com solução de iodo e o ponto final foi determinado como a primeira alteração da solução para cor azul.

Na determinação de SO₂ total pipetou-se 20 mL de amostra e 25 mL de KOH 2,5 mol L⁻¹. A mistura foi deixada em repouso por aproximadamente 10 minutos e, então, foram adicionados 5 mL de solução de amido 1% (m/v) e 10 mL de solução H₂SO₄ 2,0 mol L⁻¹. Rapidamente procedeu-se a titulação com solução de iodo e o ponto final foi determinado como a primeira alteração da solução para cor azul. A solução de iodo utilizada nas duas titulações foi previamente padronizada com tiosulfato de sódio.

4.3.3.2. Método proposto

Para medidas de SO₂ em vinhos, o método proposto baseia-se na mistura de uma solução de ácido forte à amostra de vinho com o intuito de liberar SO₂ ao meio. O SO₂ produzido reage reversivelmente com a fase sensora e, como consequência desta reação, ocorrem mudanças nas propriedades ópticas do complexo que são medidas espectrofotometricamente. Após o contato com o SO₂,

surge uma banda em torno de 550 nm, manifestada visualmente pela mudança de coloração de amarelo para violeta.

Para medidas de SO₂ livre e total foram empregados diversos volumes de reagentes e amostra, mantendo-se fixas as proporções descritas no método de Ripper, cujos volumes são de 50 mL de vinho e 5 mL de H₂SO₄ 20, mol L⁻¹ para a determinação de sua forma livre e 25 mL de vinho, 10 mL de KOH 2,5 mol L⁻¹ e 30 mL de H₂SO₄ 2,0 mol L⁻¹ para sua forma total. Para a quantificação de SO₂ total, o tempo de espera para a hidrólise dos compostos de enxofre presentes na amostra foi de 30 segundos para todos os volumes estudados.

No estudo do efeito do teor de álcool nas determinações, foram adicionadas às soluções de referência 10 e 20% de etanol (v/v) (Merck) e no estudo do efeito do teor de açúcar, foram adicionadas à curva analítica 100 g L⁻¹ de sacarose (Merck).

4.3.4. Instrumentação

Durante todo o trabalho foram realizadas medidas de intensidade de reflectância da fase sensora, conforme descrito no Capítulo 3, item 3.3.7.

4.3.5. Controlador de vazão

Para determinação de SO₂ em vinhos foi utilizado um fluxo de gás inerte (N₂) como forma de homogeneizar a amostra e carregar o analito até a cela de medidas. Foram realizados estudos empregando-se vazões de 100, 200, 300 e 600 mL min⁻¹. Também foi realizado um estudo do desempenho do sensor mediante agitação magnética.

4.3.6. Cella de medidas

A mesma cela de medidas foi empregada na determinação de SO₂ livre e total em vinhos. Ela é composta de duas partes (Figura 18). Uma superior, na qual o feixe de fibras ópticas está acoplado, e uma inferior, onde a fase sensora é acomodada. Esta parte inferior atua como um parafuso, podendo ser encaixada na parte superior em diferentes posições. Na parte posterior da fase sensora foi utilizada uma fita reflexiva (3M) a fim de aumentar a quantidade de luz refletida. Dessa forma, o feixe de luz atravessa a fase sensora, reflete e se dirige ao detector. A cela está descrita detalhadamente no Capítulo 3 desta Tese.

Foi adicionada à cela de medidas já descrita um frasco de acrílico com capacidade de 40 mL que recebe amostra e reagentes. Esse frasco é vedado e, então, submetido a um fluxo constante de N₂. O SO₂ formado é então carregado até a cela de medidas, onde há mudança das propriedades ópticas da fase sensora após sua reação com o SO₂.

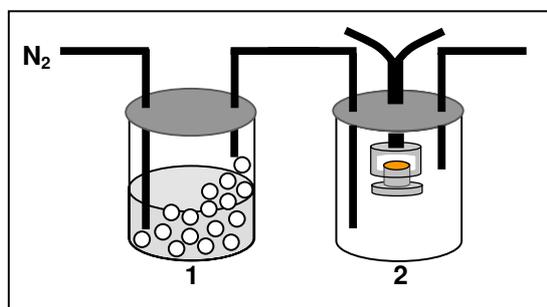


Figura 18. Sistema de medidas utilizado na determinação de SO₂ em vinhos, sendo 1 – cela de reação e 2 – cela de detecção.

4.3.7. Obtenção dos espectros

O tempo de exposição da fase sensora frente ao N₂ foi de 10 minutos com o gás inerte sendo borbulhado num volume apropriado de água deionizada. Para a determinação de diferentes concentrações de SO₂ foram inseridos reagentes e

amostra e iniciou-se o borbulhamento de gás inerte até obter a maior variação de intensidade do sinal transiente e, então, a amostra era retirada, sendo inserido o mesmo volume de água deionizada.

Os espectros de reflectância obtidos para as amostras em diferentes concentrações de SO₂ livre e total foram avaliados conforme descrito no Capítulo 3, item 3.3.7.

4.4. Resultados e Discussão

4.4.1. Composição da membrana

Todas as condições otimizadas descritas no capítulo anterior, para determinação de SO₂ em ar, foram aplicadas na determinação de SO₂ em amostras de vinho. Dessa forma, a composição da membrana otimizada está descrita no Capítulo 3, item 3.4.4. Todas as membranas estudadas foram condicionadas antes do uso, conforme descrito no item 3.4.4.1 do Capítulo 3 desta Tese.

Foram preparadas membranas a partir da deposição manual com auxílio de micropipeta de 10, 15 e 20 µL de solução em filmes de poliéster, armazenado em dessecador durante 24 horas para evaporação dos solventes ao abrigo da luz.

Observou-se que quanto mais rápida a evaporação dos solventes, maior é a obtenção de membranas heterogêneas. Isso se deve provavelmente ao fato de que um menor volume causa menor espalhamento de solução sobre o filme de poliéster e isso pode gerar uma taxa de evaporação mais rápida. Dessas membranas, a que apresentou os melhores resultados foi aquela preparada pela deposição de 10 µL de solução. Em geral, 20% das membranas preparadas eram descartadas, e para as membranas com 15 e 20 µL de solução, cerca de 30-35% das membranas eram descartadas.

Foram selecionadas visualmente as mais homogêneas e realizadas 10 medidas de 50 mg L⁻¹ de SO₂ em solução padrão. Observou-se que as membranas preparadas pela deposição de 20 µL de solução apresentaram

variação de sinal de $83,0 \pm 0,8$ u.a., as membranas preparadas pela deposição de 15 μL de solução apresentaram variação de sinal de $85,0 \pm 1,3$ u.a. e as membranas preparadas pela deposição de 10 μL de solução apresentaram variação de sinal de $80,0 \pm 1,1$ u.a. Não há diferença significativa entre os sinais analíticos obtidos por meio das três membranas analisadas.

Como as membranas preparadas pela deposição de 10 μL de solução apresentaram maior número de membranas homogêneas e não há diferença significativa do sinal analítico para os três volumes estudados, essa condição foi selecionada para todos os experimentos seguintes.

4.4.2. Estudo da forma de agitação dos reagentes

No que diz respeito ao sistema de medidas, foi avaliada a forma mais eficiente de mistura entre a amostra e os reagentes. Dois sistemas foram estudados, sendo que o primeiro empregou agitação magnética e o segundo borbulhou N₂ a vazão controlada. Foram realizadas determinações de 100 mg L⁻¹ de SO₂ de uma solução padrão com a membrana otimizada, usando agitação magnética e inserindo um fluxo de N₂ para borbulhar (garantindo mistura de reagentes e amostra e carregando o gás formado até a fase sensora). Observou-se que o uso da agitação magnética garante uma mistura eficiente, todavia a quantidade de gás SO₂ formado não era suficiente para gerar um sinal de grande intensidade (Figura 19). Como o gás deve ocupar um volume de aproximadamente 40 mL (relativo ao headspace dos dois frascos utilizados no sistema de medidas), a interação entre a fase sensora e o SO₂ é pequena, explicando a pequena variação de sinal obtida.

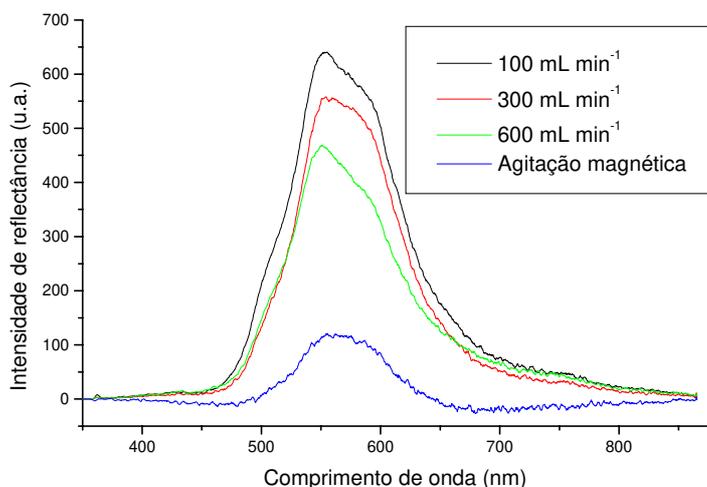


Figura 19. Espectro N₂-SO₂ obtido a partir da membrana submetida a 100 mg L⁻¹ de SO₂, mediante diferentes vazões de gás N₂.

Independente da vazão empregada, o sistema onde N₂ é borbulhado, fornece dados mais satisfatórios, visto que o gás além de homogeneizar a mistura, também funciona como carregador do SO₂ formado até a fase sensora, enquanto que a agitação magnética depende unicamente do equilíbrio da fase gasosa no sistema de medidas.

Ao realizar medidas com uma amostra contendo 30 mg L⁻¹ SO₂ (n=10) sob diferentes vazões (100, 200, 300, 400 e 600 mL L⁻¹) de N₂ observou-se que quanto menor a vazão, maior a intensidade do sinal (Tabela 7). Como o objetivo principal dessa aplicação é obter uma resposta adequada para amostras de vinho (cujas concentrações variam entre 10-200 mg L⁻¹ SO₂), optou-se por realizar todas as medidas na maior vazão e assim melhorar a frequência de amostragem.

Tabela 7. Sinal analítico ao inserir 30 mg L⁻¹ SO₂ sob diferentes vazões (n=10)

Vazão (mL min ⁻¹)	100	200	300	600
Sinal (N ₂ -SO ₂)	278 ± 1	243 ± 1	208 ± 1	181 ± 1
Tempo (minuto)	2,7 ± 0,5	2,2 ± 0,5	1,5 ± 0,3	0,9 ± 0,2

4.4.3. Otimização do sistema e condições da reação

Com o intuito de se obter uma relação satisfatória entre sensibilidade e frequência de amostragem, estudos acerca do volume dos reagentes e amostra foram investigados. Inicialmente foram utilizados os volumes encontrados na literatura para a titulação iodométrica (método de Ripper)⁵²⁻⁵⁴, mas a cada medida um grande volume de reagentes e amostras era consumido. Além disso, a cela de medidas precisava ter maiores dimensões, o que não atingia o objetivo maior do trabalho que é o de realizar a reação com o mínimo consumo de amostras e reagentes.

Volumes menores foram utilizados, chamadas de proporções L₁, L₂, L₃ e L₄ para determinação de SO₂ livre e de T₁, T₂, T₃ e T₄ para a determinação de SO₂ total. Os volumes utilizados em cada proporção estudada são mostrados na Tabela 8. As medidas foram realizadas com soluções padrão contendo 50 mg L⁻¹ de SO₂ (todas as medidas foram realizadas com 10 repetições). Na determinação da forma livre, era colocado um volume de amostra no frasco apropriado e em seguida adicionado o ácido. Esse frasco era fechado com cuidado para impedir qualquer tipo de vazamento e então iniciado o borbulhamento de N₂ sob vazão controlada. Para as proporções L₁ e L₂ foi empregado um frasco com capacidade de 80 mL e para as proporções L₃ e L₄ o frasco tinha capacidade para 40 mL.

Os resultados obtidos mostraram que a intensidade do sinal analítico é dependente do volume de reagentes e do volume do headspace. As medidas realizadas com os volumes exigidos pelo método tiveram um desvio padrão de aproximadamente 2%, o que pode ser atribuído ao fato que a mistura dos reagentes não era muito eficiente. Para as demais proporções, o desvio foi sempre próximo de 1%, indicando que volumes menores de amostra tornam o método mais preciso.

Na determinação da forma total, as proporções T₂, T₃ e T₄ utilizaram frascos com capacidade de 40 mL e para T₁ o frasco continha capacidade para 80 mL, gerando diferentes volumes de headspace, mostrados na Tabela 8. Observou-se que para T₂, T₃ e T₄, apesar dos volumes do headspace serem menores, o que

indica aumento da concentração de SO₂ na fase gasosa, houve uma diminuição da intensidade do sinal analítico obtido, o que pode ser atribuída a uma baixa formação de SO₂ em fase gasosa visto a menos quantidade de reagentes utilizada.

Tabela 8. Desempenho da membrana ao inserir 50 mg L⁻¹ SO₂ livre e total (n=10) empregando diferentes volumes de amostra e reagentes

		Vinho (mL)	KOH 2,5 mol L ⁻¹ (mL)	H ₂ SO ₄ 2,0 mol L ⁻¹ (mL)	Sinal (N ₂ -SO ₂) (u.a.)	Headspace (mL)
Livre	Ripper	50	-	5,0	328 ± 6	35
	L ₁	25	-	2,5	278 ± 5	62,5
	L ₂	12,5	-	1,3	147 ± 1	76,2
	L₃	10	-	2,5	233 ± 2	26
	L ₄	6,3	-	0,7	161 ± 2	31,5
Total	Ripper	25	10	30	280 ± 6	25
	T ₁	12,5	5,0	15	202 ± 2	57,5
	T ₂	6,3	2,5	7,5	140 ± 2	22,2
	T₃	5	2,0	6,0	134 ± 2	25,5
	T ₄	3,2	1,3	3,8	107 ± 2	30,2

As proporções L₃ e T₃ apresentaram os menores desvios em torno da média (0,6 e 1,2%, respectivamente) e um sinal analítico apreciável. Em L₃ a proporção ácido/amostra é maior que o indicado pelo método de Ripper, o que tornou o método mais eficaz. Volumes maiores de ácido foram estudados, mas não foram obtidos bons resultados. As proporções L₃ e T₃ foram empregadas durante todas as medidas seguintes, visto que essas condições exigiam menores volumes de reagentes e amostra, que podiam ser confinados em um frasco menor com relação aos volumes empregados no método padrão (Ripper).

4.4.4. Repetibilidade, tempos de resposta e vida útil

A repetibilidade do sistema foi avaliada submetendo a membrana a medidas consecutivas (n=10) de SO₂ livre e total em uma amostra de vinho tinto. Esse experimento mostrou que não há grande variação na intensidade do sinal, fornecendo um desvio padrão relativo de 2,2% (80 ± 2 u.a.) e 2,5% (152 ± 4 u.a.) para medidas de SO₂ livre e total, respectivamente.

Como já descrito no Capítulo 3, aqui também foram empregados gráficos de reflectância em função do tempo para determinar o tempo de resposta do sensor ($t_{90\%}$). Uma curva de resposta x tempo obtida para o sensor construído é apresentada na Figura 20.

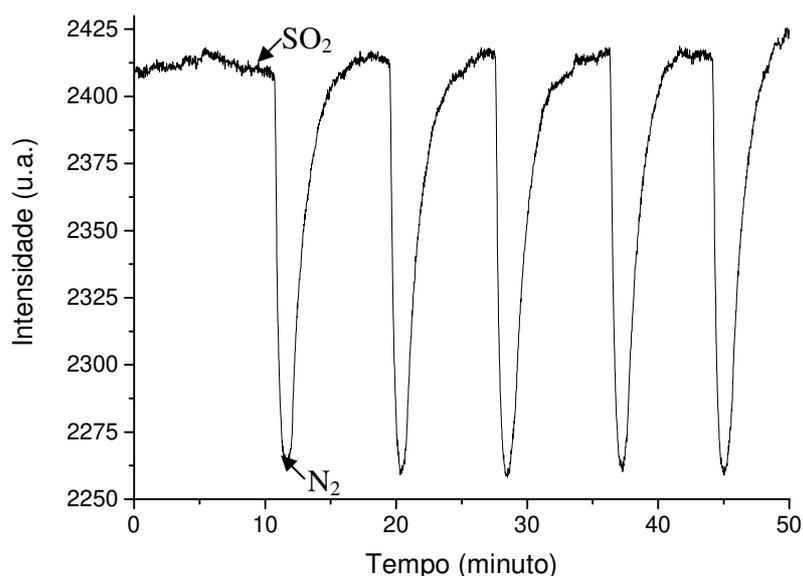


Figura 20. Curva de intensidade de reflectância em função tempo a 550 nm com inserções alternadas de N₂ e SO₂ 100 mg L⁻¹.

As setas indicam o início da inserção de SO₂ na parte superior da curva e N₂ na parte inferior. A parte inferior (diminuição da intensidade de reflectância) indica o sinal obtido em 100 mg L⁻¹ de SO₂. Observa-se que são necessários $0,9 \pm 0,1$ minuto para inserir no analito e $4,5 \pm 0,4$ minutos para reversão do sinal.

Investigando a durabilidade da fase sensora, observou-se que para todas as membranas, após realizar 25 medidas há um aumento da linha base da ordem de $23 \pm 0,2$ u.a., mas sem perda significativa de sinal analítico. Uma mesma membrana pode ser utilizada para aproximadamente 80 medidas. Após isso, foi observada uma perda de aproximadamente 0,6 % do sinal a cada medida subsequente, até sua total inutilização (cerca de 100 medidas).

Comparando-se com as membranas preparadas pela deposição de 200 μL , observa-se que o tempo de vida é diminuído à metade. Isso se dá provavelmente à menor quantidade de reagente presente. Sabe-se que o cromóforo sofre foto-oxidação, e para as membranas contendo 10 μL de solução (possuindo dessa forma menos reagente presente) terá mais influência pelo uso constante.

4.4.5. Umidade

Como também foi observado nos resultados discutidos no Capítulo 3, item 3.4.4.5.1 que a umidade interfere nas medidas, durante todo o estudo a membrana foi mantida num mesmo nível de umidade relativa. Dessa forma, ao retirar a amostra da cela de medidas, era inserido um mesmo volume de água deionizada e a fase sensora era mantida num ambiente saturado com vapor de água. Assim, a perda de sinal analítico era a mesma para todas as amostras.

4.4.6. Influência dos teores de etanol e sacarose nas medidas

Com o intuito de verificar os efeitos da presença de diferentes concentrações de etanol e sacarose nas medidas para SO₂, foram preparadas soluções de referência (0-50 mg L⁻¹ de SO₂) contendo 10 ou 20% de etanol e também 100 g L⁻¹ de sacarose.

Para todos os experimentos realizados, observa-se que a sensibilidade é alterada na presença de etanol, decaindo em aproximadamente 4% quando o teor

de etanol aumenta de 10 para 20%, na ausência de sacarose. Dessa forma, é adequado usar soluções de referência que contenham concentrações alcoólicas de semelhante teor daqueles encontrados em amostras reais evitando assim erros sistemáticos. Durante todo o trabalho foram empregadas soluções padrão contendo 10% de etanol, conforme descrito em diversos trabalhos²²⁻²⁵.

A adição de 100 g L⁻¹ de sacarose também afeta na sensibilidade do método quando comparado com soluções padrão que não contém sacarose. Uma perda de aproximadamente 16% na sensibilidade da curva analítica foi observada para soluções contendo 10% de etanol, enquanto que uma diminuição de 10% foi obtida para soluções contendo 20% de etanol. Esse resultado indica a necessidade de se preparar soluções padrão com composição similar às amostras quando se deseja realizar medidas com vinhos doces, como o Vinho do Porto. Não foram avaliadas outras concentrações de sacarose em amostras sintéticas nesta etapa do trabalho.

4.4.7. Limite de detecção e validação do método

Uma vez que o sistema proposto já estava caracterizado, iniciou-se a etapa de validação do mesmo. Foram selecionadas e analisadas seis marcas comerciais de vinho tinto e uma marca de vinho branco obtidas em supermercado na cidade de Campinas. Foram construídas curvas analíticas com diferentes faixas de trabalho para SO₂ livre e SO₂ total, sendo que as concentrações foram de 0-50 mg L⁻¹ e 0-150 mg L⁻¹, respectivamente. Respostas analíticas típicas obtidas na determinação de SO₂ total em vinhos são mostradas na Figura 21. Pode-se observar que o sensor responde de maneira satisfatória para medidas realizadas em soluções contendo 50, 75, 100, 125 e 150 mg L⁻¹ de SO₂. Nota-se que o SO₂ formado reage prontamente com a fase sensora, enquanto que a regeneração (que é realizada submetendo a membrana a um fluxo de N₂ em água deionizada) exige um intervalo de tempo maior. Para acelerar esse processo, após retirar a amostra era colocado um mesmo volume de água deionizada no sistema de

medidas. Observou-se retirando a amostra de vinho com reagentes e inserindo um mesmo volume de água deionizada, que ocorria em $6,1 \pm 1,0$ min, tornou-se cerca de seis vezes mais rápida, diminuindo para $0,9 \pm 0,1$ min, como já discutido.

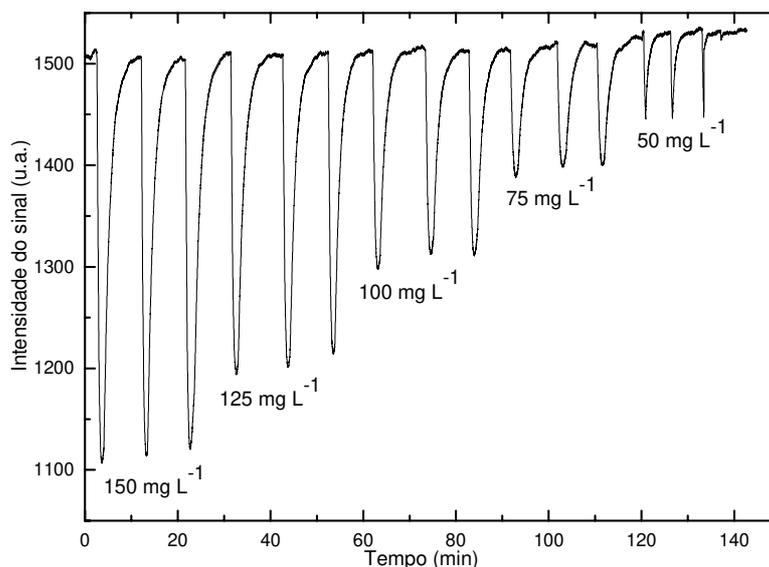


Figura 21. Resposta típica da fase sensora mediante o SO₂ produzido após a acidificação de soluções de sulfito (fluxo de N₂ = 600 mL min⁻¹).

Na determinação de SO₂ livre, uma faixa linear de resposta foi obtida (diferença na intensidade de reflectância = $3,60 + 4,89 [\text{SO}_2]$, $r^2 = 0,999$), assim como para a determinação de SO₂ total (diferença na intensidade de reflectância = $3,09 + 2,57 [\text{SO}_2]$, $r^2 = 0,998$) com limites de detecção de $0,37 \pm 0,01$ mg L⁻¹ e $0,70 \pm 0,01$ mg L⁻¹, respectivamente. O limite de quantificação para SO₂ livre é de $1,2 \pm 0,1$ mg L⁻¹, sendo que as amostras analisadas tem concentração em torno de 20-40 mg L⁻¹ e para SO₂ total o limite de quantificação é de $2,3 \pm 0,2$ mg L⁻¹, e as amostras apresentaram concentração em torno de 50-100 mg L⁻¹.

Na validação dos resultados obtidos com o método proposto, foram realizadas medidas por meio do método de Ripper⁵²⁻⁵⁴ e os resultados obtidos pelos dois métodos são mostrados na Tabela 9. Não foram observadas diferenças significativas entre os dois métodos em um nível de 95% de confiança. Para SO₂

livre a relação entre os resultados obtidos com o sensor e o método padrão é “sensor = (-2,51 ± 1,31) + (1,08 ± 0,05) x Ripper; r² = 0,994”. Na determinação de SO₂ total a relação é “sensor = (3,64 ± 3,21) + (0,96 ± 0,4) x Ripper; r² = 0,997”. Não há erro sistemático no método proposto, pois os coeficientes angular e linear são próximos de 1 e 0, respectivamente.

Tabela 9. Resultados obtidos para SO₂ livre e total em vinho tinto em mg L⁻¹ (amostras 1-6) e vinho branco (amostra 7) empregando o método proposto e pelo procedimento padrão (Ripper).

Amostra	SO ₂ livre		SO ₂ total	
	Optodor	Padrão ⁵²⁻⁵⁴	Optodo	Padrão ⁵²⁻⁵⁴
1	15,4 ± 0,1	15,2 ± 0,5	65,2 ± 1,4	62,8 ± 1,8
2	41,9 ± 0,4	40,5 ± 0,8	110,3 ± 0,4	109,7 ± 2,7
3	17,9 ± 0,8	19,9 ± 0,5	80,0 ± 3,0	82,9 ± 0,0
4	21,3 ± 0,2	22,9 ± 1,1	78,8 ± 0,6	80,9 ± 1,5
5	22,7 ± 0,0	24,0 ± 0,4	52,1 ± 0,1	49,3 ± 3,1
6	17,7 ± 0,4	18,3 ± 0,5	113,3 ± 1,4	112,5 ± 2,0
7	23,9 ± 0,2	24,0 ± 0,5	114,6 ± 1,2	117,0 ± 3,1

4.5. Conclusões

Na determinação de SO₂ em amostras de vinho, observou-se que o optodo estudado contendo 10 µL de solução da fase sensora apresentou um comportamento linear na faixa de 0-50 mg L⁻¹ para medidas de SO₂ livre e 0-150 mg L⁻¹ para medidas de SO₂ total, com limites de detecção da ordem de 0,37 e 0,70 mg L⁻¹, respectivamente. Os limites de quantificação foram de 1,2 mg L⁻¹ para SO₂ livre e 2,3 mg L⁻¹ para SO₂ total, e pode ser empregado para determinação em amostras reais.

Uma fase sensora pode ser usada por até 100 determinações, o que comparando com o optodo desenvolvido na determinação de amostras gasosas é um tempo de vida mais curto, o que se deve à menor quantidade de reagente empregado.

A frequência de amostragem obtida para esse método foi de 10 amostras/hora. Também foi observado que a concentração de sacarose e etanol presentes na amostra podem interferir na sensibilidade do método, mas isso pode ser contornado preparando soluções padrão com constituição semelhantes à amostra.

Para a validação do método proposto foram realizadas medidas com amostras reais, sendo que foram empregadas amostras de vinho tinto e branco e não foi observada diferença significativa no nível de 95% de confiança entre o método proposto e o padrão, indicando que o optodo pode ser empregado de maneira eficiente.

Os resultados obtidos neste trabalho indicam que a membrana PVC-Pd₂(dppm₂)Cl₂ pode ser empregada na determinação de SO₂ livre e total em amostras de vinho de maneira rápida, confiável e simples. Quando comparado com os métodos descritos na literatura, observa-se que o procedimento proposto é mais simples, com a mesma eficiência. Além disso, um fotômetro pode ser construído empregando um LED como fonte de radiação e um fotodiodo como detector, fornecendo instrumentação necessária para controle de processos industriais.

Capítulo 5

Optodo para determinação de O₂ dissolvido

5.1. Introdução

Oxigênio é uma espécie química de suma importância, uma vez que é essencial para a existência da vida. A determinação da concentração de oxigênio é necessária em diversos campos de pesquisa. Em análises ambientais, por exemplo, a quantificação do teor de oxigênio fornece um importante guia da condição geral do ambiente estudado, e para pesquisadores desse campo, rotineira e continuamente são monitorados os níveis de oxigênio na atmosfera e na água. Numa abordagem médica, os níveis de oxigênio contidos no ar exalado ou no sangue de um paciente é a chave para compreender alguns parâmetros fisiológicos, sendo que deveriam ser monitorados continuamente. Outras aplicações também podem ser encontradas nas indústrias que, por exemplo, utilizam plantas e/ou microorganismos para produzirem drogas como antibióticos^{10,14,57-60}.

Diversos métodos para a determinação de oxigênio têm sido descritos, incluindo aqueles baseados em titulação⁵, amperometria⁶¹ e quimiluminescência⁶²⁻⁷⁶. O método de titulação de Winkler⁵⁸ foi amplamente utilizado e durante muito tempo

considerado o método padrão. No entanto, a baixa frequência analítica e os erros inerentes aos métodos de titulação o excluem como forma adequada de monitoramento. O desenvolvimento do eletrodo de Clark⁶¹ forneceu uma técnica mais eficiente para a determinação da concentração de oxigênio e, então, esse se tornou o método mais convencional para realizar essas medidas. O eletrodo de Clark é robusto e seus resultados são confiáveis. A determinação da concentração de oxigênio por meio do eletrodo de Clark é baseado na redução do oxigênio no cátodo. No entanto, como a passagem do oxigênio através da membrana do eletrodo é limitada, qualquer fator que possa alterar a resistência de difusão, como a presença de interferentes ou a mudança das condições de fluxo em amostras fluidas, podem causar erros nas medidas. Como a célula também sofre efeito de interferências elétricas e consome oxigênio para a realização de medidas, esse método pode facilmente gerar erros nos resultados analíticos, além de ter uma baixa frequência de amostragem.

Por todos esses motivos, existe um grande interesse no desenvolvimento de novos procedimentos mais eficientes para a determinação de oxigênio dissolvido e os optodos representam uma alternativa viável nessa área.

Os optodos, em geral, são dispositivos de baixo custo, facilmente miniaturizados, de simples manuseio e que não sofrem influência elétrica tampouco consomem o analito ao realizar as medidas. Muitos dos optodos desenvolvidos para determinação de oxigênio gasoso ou em meio líquido, empregam a luminescência como princípio de medida. Optodos baseados na supressão de fotoluminescência usualmente medem a intensidade de luminescência ou tempo de vida de um luminóforo orgânico imobilizado em um filme polimérico, e esse fator tem relação com a concentração de oxigênio dissolvido presente na amostra^{2,4}.

No desenvolvimento de optodos, a escolha do luminóforo adequado e da matriz são fatores cruciais para que se obtenha um sensor com bom desempenho. Desde 1991, diversos sensores para determinação de oxigênio têm sido descritos. Em 1985, um método baseado no tempo de supressão de fosforescência foi introduzido como forma de determinar a concentração de oxigênio em sistemas biológicos. A possibilidade de uso desta técnica para desenvolver um novo sensor

para determinação de oxigênio gasoso baseado na imobilização de luminóforos orgânicos tem se tornado um atrativa, devido à existência de diversas espécies orgânicas que possuem luminescência à temperatura ambiente. Esses optodos respondem específica e reversivelmente na presença de oxigênio molecular pela mudança na intensidade de luminescência emitida pelo sensor, visto que o oxigênio é um forte supressor de energia quando na presença de luminóforos em estado eletronicamente excitado^{2,4}.

Com relação aos luminóforos, os mais comumente empregados na determinação de oxigênio dissolvido são os hidrocarbonetos policíclicos aromáticos (pirenos e seus derivados, quinolina e fenantreno), complexos de metais de transição (Ru^{2+} , Os^{2+} , Ir^{2+}) e metaloporfirinas (Pt^{2+} , Pd^{2+} , Zn^{2+})^{58,61,67}.

Dentre esses luminóforos, as porfirinas de paládio e platina estão entre aquelas que possuem um rendimento de fosforescência (ϕ_p) que varia entre 10^{-4} e 1 à temperatura ambiente. O tempo de vida de fosforescência é longo, tipicamente menor que 3 milisegundos. Especialmente o octaetilporfirinato de platina ou de paládio (PtOEP e PdOEP) apresentam forte fosforescência à temperatura ambiente com elevado rendimento quântico ($\phi_p < 0,5$) e longo tempo de vida (aproximadamente 100 μs para PtOEP e 70 μs para PdOEP)⁷⁶. Alguns optodos baseados na supressão de fosforescência de PtOEP imobilizado em um polímero (poliestireno, silicone e outros) na presença de oxigênio foram desenvolvidos. Como o luminóforo interage com as moléculas do polímero, a sensibilidade das matrizes é fortemente dependente do tipo de polímero empregado. São desejáveis os polímeros permeáveis a oxigênio com pequena barreira de difusão para oxigênio e elevada estabilidade em relação à fotooxidação. A luminescência do PtOEP é suprimida na presença de oxigênio gasoso ou de cloreto de hidrogênio e não é suprimida na presença de gás nitrogênio, gases nobres e dióxido de enxofre^{67,76}.

Como o luminóforo interage com as moléculas do polímero, a eficiência da fase sensora é extremamente dependente das propriedades do polímero a ser empregado como matriz^{1,4,9,61}. As matrizes poliméricas empregadas no desenvolvimento de optodos para determinação de oxigênio devem ser altamente permeáveis ao analito. As mais usadas são os polímeros orgânicos como

poli(estireno) – PS, poli(metilmetacrilato) – PMMA, cloreto de poli(vinila) – PVC, etilcelulose – (EC) e polímeros de silicone, sendo que este último apresenta elevada permeabilidade ao oxigênio⁵⁸.

De maneira geral, os polímeros de silicone possuem elevada permeabilidade ao oxigênio, grandes estabilidades mecânica e química, não sofrem efeito de foto-oxidação, além de não interferirem nas medidas de fluorescência do luminóforo. Nesse grupo se destaca o poli(dimetilsiloxano) (PDMS). É um dos mais importantes polímeros de silicone devido a sua estabilidade térmica e química. É um elastômero hidrofóbico denso que tem sido aplicado na química inorgânica para a imobilização de catalisadores de oxidação, como metaloporfirinas. No entanto, para algumas aplicações o uso de PDMS produz membranas com pouca resistência mecânica. Trabalhos recentes mostraram que o uso de sílica melhora as propriedades químicas do optodo e altera a difusão e a permeabilidade ao oxigênio. Dessa forma, torna-se necessário um estudo mais detalhado sobre a influência da sílica no desempenho de membranas para determinação de oxigênio dissolvido⁷⁷⁻⁷⁹.

5.2. Objetivos específicos

São objetivos dessa fase do trabalho:

1. Desenvolver um optodo empregando o derivado de porfirina PtOEP como fluoróforo para a determinação de oxigênio dissolvido em água;
2. Avaliar a sílica mais eficiente, influência do teor de sílica, faixa linear de resposta, vida útil, tempo de resposta, seletividade e sensibilidade da fase sensora;
3. Aplicar em amostras reais de água mineral com e sem gás, águas de torneira e água de rio.

5.3. Experimental

5.3.1. Reagentes e soluções utilizados

Os reagentes empregados durante todo o trabalho foram de pureza analítica. Na preparação da fase sensora foi utilizado o PtOEP (Scientific Porphyrin Products) e PDMS Silastic T2 (monômero e agente reticulante) fornecido pela empresa Dow Corning.

Foi empregado como solvente o diclorometano, CH₂Cl₂ (*Mallinckrodt Chemicals*). O ar sintético utilizado nas determinações foi obtido por meio da empresa *White Martins* e o N₂ faz parte da linha de gases do Instituto de Química da UNICAMP. Na preparação de membranas livres de sílica foram empregados os seguintes reagentes: poly(metilsiloxano) – PMS; Vinil poli(dimetilsiloxano) PDMS-Vi; o reagente 1,3,5,7, tetrametil, 1,3,5,7-tetravinilsiloxano – D₄V e complexo de divinil(tetrametilsiloxano) de platina. Todos os reagentes eram da marca Dow Corning.

Como método padrão foi utilizado um eletrodo de Clark (marca WTW e modelo 340i), com determinação simultânea da temperatura e do teor de O₂ dissolvido. As amostras empregadas para a validação do método foram: 3 marcas de água mineral e 1 marca de água mineral com gás compradas em supermercado, águas coletadas na lagoa da Unicamp, no riacho Ribeirão das Pedras (próximo à fazenda Rio das Pedras) e água de torneira coletada no laboratório I-144 do Instituto de Química da UNICAMP.

5.3.2. Optodo com base no reagente PtOEP

5.3.2.1. Preparo de soluções

Soluções do reagente PtOEP em CH₂Cl₂ foram preparadas na concentração 1,0x10⁻⁴ mol L⁻¹ visando avaliar os comprimentos de onda de excitação e de emissão para o derivado de porfirina estudado.

5.3.2.2. Imobilização do reagente empregando polidimetilsiloxano (PDMS)

As membranas de PtOEP em PDMS foram preparadas de acordo com o seguinte procedimento: 500 μL da solução do luminóforo foram adicionados a 1,0 g da prévia mistura de monômero e catalisador (10:1 m/m). Essa mistura foi homogeneizada e distribuída em lâminas de vidro (26 mm de largura, 76 mm de comprimento e 1 mm de espessura) e armazenadas durante 24 horas em dessecador para reticulação. Essa lâmina de vidro previamente recebeu uma moldura feita com fita isolante comercial e a mistura foi distribuída na área delimitada pela fita com o auxílio de uma baqueta de vidro não esmerilhada (Figura 22). A Tabela 10 mostra as concentrações de solução de PtOEP em CH_2Cl_2 empregadas nesse trabalho.

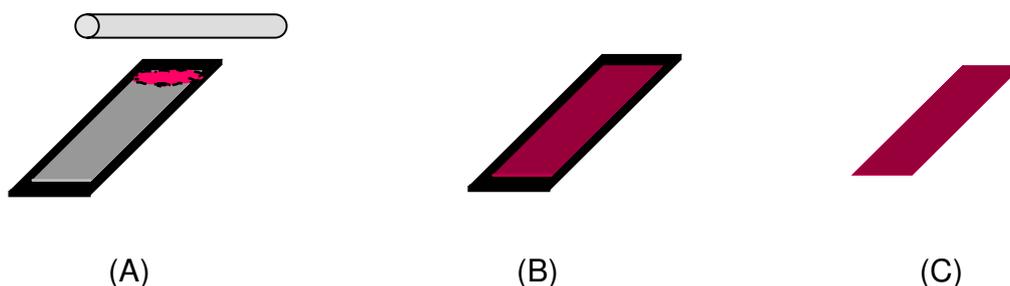


Figura 22. (A) Lâmina de vidro com fita isolante comercial nas bordas recebendo a solução da fase sensora, (B) fase sensora homogeneamente espalhada e (C) fase sensora retirada da lâmina de vidro após a reticulação.

Para os estudos acerca da influência do teor de sílica no desempenho dos optodos, foram adicionados à solução do PtOEP diversas quantidades de sílica gel para cromatografia (tamanho de partícula $\sim 10\mu\text{m}$) marca Sigma (H-7256). Foram incorporados 1, 5, 10, 20 e 30% de sílica (m/m) às membranas e depois foi realizado o procedimento normal para reticulação das membranas.

Tabela 10. Composições das membranas em 1,0 g de PDMS/agente curante (10:1).

Membrana	1	2	3	4
PtOEP em CH_2Cl_2 (mol L^{-1})	$4,0 \times 10^{-3}$	$6,0 \times 10^{-3}$	$8,0 \times 10^{-3}$	$1,0 \times 10^{-2}$

Na preparação de membranas livres de sílica, utilizou-se o seguinte procedimento: foram misturados em um becker de plástico os reagentes vinil-poli(dimetilsiloxano) PDMS-Vi; 1,3,5,7, tetrametil, 1,3,5,7-tetravinilsiloxano – D₄V; poly(methilsiloxano) – PMS, na proporção (4,5:0,15:0,35). A mistura dos três reagentes foi homogeneizada e por fim acrescentado 1 gota do catalisador complexo de divinil(tetrametilsiloxano) de platina. Após total mistura dos reagentes, eles eram dispostos em lâminas de vidro, conforme descrito na Figura 25.

5.3.2.3. Misturador de gases

Na determinação de O_2 dissolvido em água foi empregado um sistema contendo dois controladores mássicos de fluxo com vazões máximas de 1000 mL min^{-1} e um módulo de controle (Aalborg), obtendo assim diferentes concentrações do analito.

5.3.2.4. Celas de medidas

Para as medidas de O_2 gasoso e dissolvido foram empregadas celas de medidas com geometria de simples manuseio com o objetivo de se obter o melhor desempenho para os sinais obtidos para as diferentes fases sensoras analisadas. Pequenas variações foram implementadas se eram realizadas medidas de O_2 gasoso ou dissolvido.

Como a solubilidade de O₂ na água é dependente da temperatura, foi desenvolvida uma cela de medidas que mantivesse a temperatura constante ou que permitisse somente pequenas variações de temperatura. Para tanto, foi empregado um recipiente em vidro com capacidade de aproximadamente 40 mL que permitia a passagem constante de um fluxo de água sob temperatura controlada em sua porção externa, sem entrar em contato com o conteúdo do interior da cela de medidas (Figura 23). Esse banho termostático manteve a temperatura entre 24,8-25,3°C durante todo o tempo de trabalho.

Na tampa do recipiente foi feito um orifício onde poderia ser inserido o feixe bifurcado de fibras ópticas ou o eletrodo de Clark, dependendo do experimento a ser realizado (Figura 23).

Para medidas onde eram coletados simultaneamente os valores de O₂ dissolvido pelo eletrodo de Clark e pelo optodo, a cela de medidas era composta de duas partes, conforme mostrado na Figura 26B. A amostra era inserida no recipiente que continha o eletrodo de Clark, fechado e por meio de um fluxo gerado por uma bomba peristáltica (CP78001-12 ISMATEC), a amostra era carregada até a cela onde ficava localizada a fase sensora, formando um fluxo interno entre os dois frascos (amostra e detecção). Todos os tubos empregados para a formação do fluxo contínuo eram de Teflon, a fim de evitar a permeação de O₂ e conseqüentes erros nas medidas.

5.3.2.5. Formas de medidas e descrição das amostras analisadas

Inicialmente foram realizados experimentos para verificar se havia resposta da fase sensora ao O₂ atmosférico. Dessa forma, as membranas preparadas foram submetidas à misturas N₂/ar sintético com concentrações que variaram desde 0 até 20% de O₂.

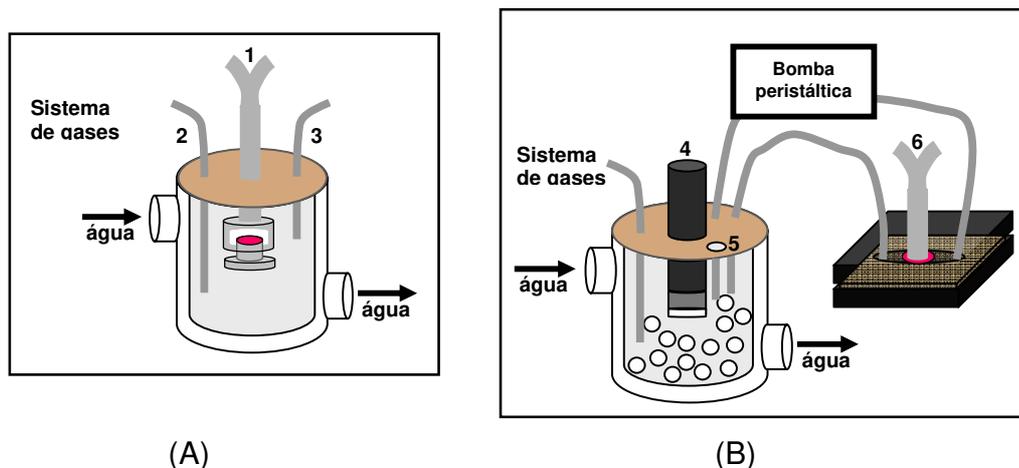


Figura 23. Celas utilizadas na medida de (A) O_2 gasoso e (B) O_2 dissolvido, sendo 1 e 6 – feixe bifurcado de fibras ópticas, 2 e 3 – entrada e saída de gases, 4 – eletrodo de Clark e 5 – saída de gases. Observa-se que o sistema está inserido em um banho de água cuja temperatura era controlada $(25,0 \pm 0,2)^\circ C$.

Também foi feita uma calibração do método proposto com o eletrodo de Clark. Foi adicionada água desionizada ao frasco que recebe a amostra e, então, diferentes misturas de N_2 /ar sintético foram inseridas no frasco que contém a amostra. Um pequeno orifício foi feito na tampa desse frasco para que o gás inserido fosse liberado facilmente. O gás era borbulhado durante aproximadamente 10 minutos e, então, eram registrados os valores de O_2 dissolvido no eletrodo de Clark.

Foram realizados experimentos nos quais se fazia aquisição dos valores de oxigênio dissolvido pelo eletrodo de Clark e aqueles obtidos por meio do optodo. Para tanto, empregou-se a cela de medidas mostrada na Figura 26B. Nesses estudos as curvas analíticas foram construídas empregando as misturas de N_2 /ar sintético mostradas na Tabela 11. As concentrações variam desde a ausência de O_2 até o ponto de saturação de O_2 dissolvido na água na temperatura proposta. Essas misturas eram borbulhadas em água deionizada durante aproximadamente 10 minutos e, então, registrados os valores obtidos por ambos os métodos.

Tabela 11. Vazões de ar sintético e N₂ empregadas para obter misturas com diversas concentrações finais de O₂ dissolvido na água para construir uma curva de calibração analítica com as membranas estudadas.

Vazão ar sintético (mL min⁻¹)	Vazão N₂ (mL min⁻¹)
1000	0
950	50
925	75
900	100
875	125
850	150
750	250
625	375
500	500
375	625
250	750
125	875
0	1000

Para a validação do método proposto, foram estudadas sete diferentes amostras pelos dois métodos, classificadas como mostra a Tabela 12. Buscou-se analisar amostras que tivessem teores de O₂ dissolvido bem diferentes para verificar o desempenho do optodo.

Tabela 12. Classificação das amostras reais empregadas na validação do optodo para medidas de O₂ dissolvido em água.

Amostra	Descrição
1	Água de torneira coletada no laboratório I-144 do IQ da Unicamp
2	Água mineral sem gás 1
3	Água mineral sem gás 2
4	Água mineral com gás 1
5	Água de mar
6	Água do riacho Ribeirão das Pedras
7	Água da lagoa da Unicamp.

5.3.2.6. Instrumentação

Para todas as medidas realizadas foi empregado um feixe bifurcado de fibras ópticas (Ocean Optics), um espectrofotômetro com arranjo de CCD (Ocean Optics USB2000) e os sinais foram registrados na forma de espectros através do programa computacional OOIBase32. Para as medidas de intensidade de reflectância da fase sensora exposta a diferentes concentrações de O₂ gasoso e dissolvido foi utilizada uma fonte Oriel com lâmpada de arco xenônio (150 W). O comprimento de onda para excitação foi 535 nm e para emissão foi 646 nm. Para calibração do método e comparação dos resultados foi empregado um eletrodo de Clark.

5.3.2.7. Obtenção dos resultados

O equipamento de medida que emprega o eletrodo de Clark fornece os resultados de temperatura (°C) e O₂ dissolvido (mg L⁻¹) simultânea e instantaneamente. Nenhum cálculo matemático foi utilizado com esses dados.

Para os resultados do optodo, os espectros de fluorescência obtidos para as amostras em diferentes concentrações de O₂ não foram avaliados na sua forma bruta. Para as determinações de O₂ gasoso e dissolvido as medidas foram realizadas com base na supressão de fluorescência do composto PtOEP pelo oxigênio. Neste trabalho a supressão resulta principalmente da colisão entre o supressor (O₂) e a molécula fluorescente (PtOEP).

A intensidade da radiação emitida por uma espécie que contenha um material que sofre supressão de fluorescência por oxigênio é inversamente proporcional à concentração de oxigênio. A relação teórica entre intensidade de fluorescência e concentração de oxigênio é dada pela equação de Stern-Volmer⁴⁷:

$$\frac{I_0}{I} = \frac{\tau_0}{\tau} = 1 + k_2\tau_0[Q] = 1 + k_{sv}[Q]$$

Nesta equação I_0 e I são as intensidades da fluorescência na ausência e na presença do supressor (O₂), respectivamente; τ_0 e τ são os tempos de vida da fluorescência na ausência e na presença do O₂, respectivamente; k_2 é a constante bimolecular; $[Q]$ é a concentração do supressor e k_{sv} é a constante de supressão dinâmica de Stern-Volmer.

Os dados de supressão são comumente apresentados em um gráfico de I_0/I versus $[Q]$, onde se espera uma dependência linear para a concentração do supressor. Esse gráfico é interceptado em 1 no eixo y e a inclinação da curva é k_{sv} .

5.4. Resultados e discussão

5.4.1. Avaliação dos espectros de absorção

Antes de avaliar os suportes para a imobilização do reagente, foram preparadas soluções do derivado de porfirina PtOEP em CH₂Cl₂ para a obtenção do espectro de absorção na região do UV/VIS. Para isto, foram utilizadas soluções 1,0 x 10⁻⁴ mol L⁻¹ em atmosfera livre de O₂. Observou-se a presença de bandas em 386 nm, conhecida como banda de Soret e outra banda em 535 nm, conhecida como

uma das diversas bandas Q relativas ao complexo. Apesar da segunda banda apresentar menor intensidade, foi observado que ela é mais empregada como comprimento de onda de excitação no estudo de fases sensoras com base no PtOEP^{67,76} e, por esse motivo, foi aplicado em todos os experimentos.

Também foi feito um estudo para verificar se há mudança no espectro de absorção do PtOEP quando imobilizado em PDMS. O experimento foi realizado submetendo uma membrana a alternados fluxos de N_2 e O_2 . Conforme a Figura 24, observa-se que há um deslocamento de aproximadamente 10 nm para ambas as bandas observadas, sendo que as mesmas aparecem em 392 e 546 nm. Iniciou-se de maneira efetiva o processo de incorporação do reagente PtOEP em PDMS usando um filtro que permite passar a radiação com máximo de absorção em 535 nm e com 20 nm de largura de banda à meia altura. Ao usar esse filtro para seleção do comprimento de onda de excitação do complexo, observa-se o aparecimento de uma banda larga em 646 nm tanto para estudos da solução do complexo quanto para membranas de PtOEP quando submetidas a uma atmosfera livre de oxigênio. Dessa forma, todo o estudo foi realizado com base na excitação na faixa de 530-550 nm e emissão em 646 nm.

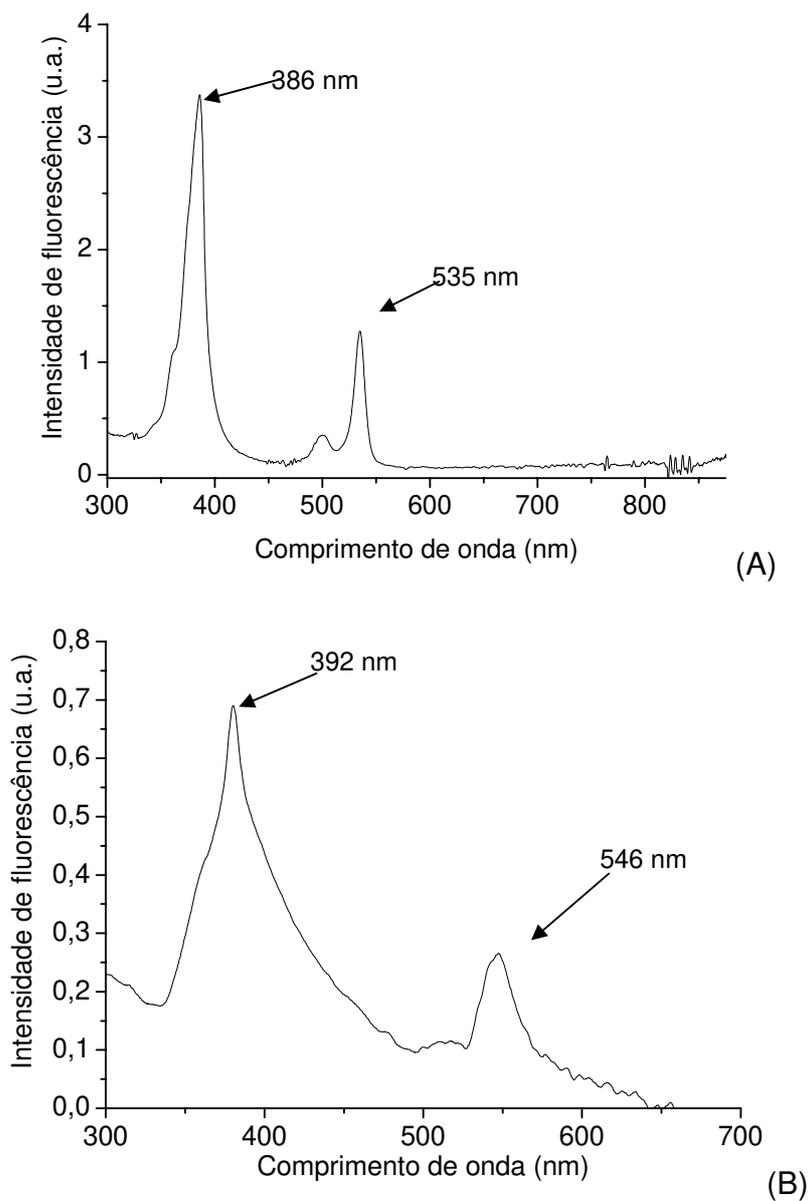


Figura 24. Espectros de absorvância obtidos em atmosfera livre de oxigênio, sendo (A) em solução $1,0 \times 10^{-4} \text{ mol L}^{-1}$ de PtOEP em CH_2Cl_2 e (B) para a **membrana 2** de PtOEP imobilizado em PDMS.

5.4.2. Imobilização do reagente PtOEP em PDMS livre de sílica

Nessa etapa todas as membranas preparadas tinham grande adesão ao vidro e por não possuírem sílica em sua constituição, eram membranas de fácil rompimento. As matrizes iniciais tinham espessura de aproximadamente 0,3 mm e não podiam ser retiradas da lâmina usada para reticulação. Foram também realizados experimentos com membranas de maior espessura (1 e 2 mm) e essas membranas foram colocadas para reticulação em frascos de Teflon. Essas matrizes não apresentavam variação de sinal analítico quando submetidas a variações de 0-20% de O₂ gasoso, inserindo N₂ e ar sintético sob vazão controlada de 1000 mL min⁻¹. Dessa forma, essa matriz foi descartada.

5.4.3. Imobilização do reagente PtOEP em PDMS

Inicialmente, a avaliação foi realizada para determinação de O₂ em ambiente gasoso, inserindo N₂ e ar sintético na vazão 1000 mL min⁻¹, obtendo assim misturas de 0 e 20% de O₂. Os resultados obtidos para todas as membranas estudadas são mostrados na Tabela 13.

Tabela 13. Variações de intensidade de sinal obtidas com as diferentes composições de membrana preparadas com PDMS/PtOEP submetendo as membranas à 0 e 20% de oxigênio gasoso.

Membrana	PtOEP (mg L ⁻¹)	Variação da intensidade do sinal em 646 nm (u.a.)
1	4,0x10 ⁻³	439
2	6,0x10 ⁻³	449
3	8,0x10 ⁻³	562
4	1,0x10 ⁻²	481

Observa-se que todas as membranas estudadas reagiram de forma satisfatória na presença do analito (Figura 25), sendo que a maior variação de sinal era obtida depois de decorridos entre 20-40 segundos da inserção do gás. As membranas também apresentaram um bom desempenho na ausência do analito, retornando a linha base depois de decorridos cerca de 2 minutos. Todas as membranas apresentaram espessura média de $0,22 \pm 0,02$ mm.

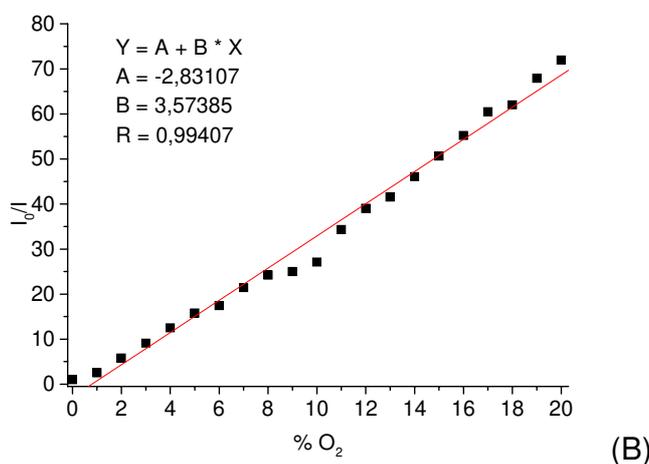
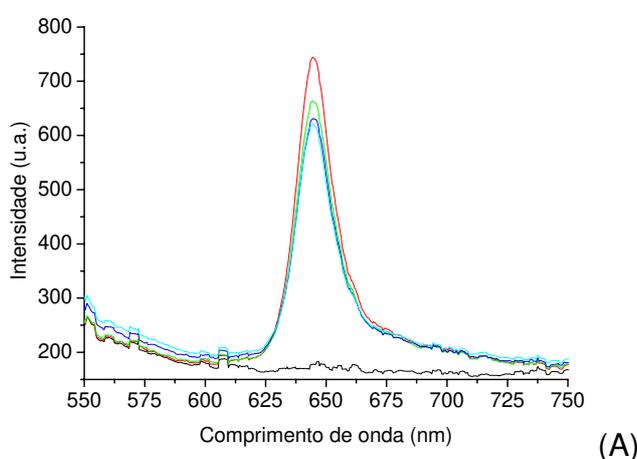


Figura 25. Desempenho de fases sensoras em ar; (A) intensidade de reflectância na ausência de O_2 para membranas contendo PtOEP nas concentrações: — 8×10^{-3} mol L^{-1} , — 1×10^{-2} mol L^{-1} , — 6×10^{-3} mol L^{-1} , — 4×10^{-3} mol L^{-1} — presença de O_2 (independente da concentração da membrana) e (B) gráfico de Stern Volmer da **membrana 3** no intervalo 0-20% O_2 em atmosfera gasosa.

A maior variação de sinal foi obtida com a **membrana 3**. Uma concentração maior foi estudada, no entanto as membranas começaram a apresentar separação de fases, sendo então descartadas.

Foi construída com a **membrana 3** uma curva analítica também em ambiente gasoso variando as concentrações de 0-20% de O_2 (Figura 25). Observa-se que para amostras gasosas pode se obter linearidade empregando a equação de Stern-Volmer, conforme já descrito na literatura. Essa composição de membrana foi empregada em todos os experimentos posteriores devido as suas características promissoras.

A partir disso, foi iniciado o estudo para determinação de O_2 dissolvido em água. Para tanto, foram construídas curvas analíticas com as membranas já descritas e pode-se observar que a intensidade de fluorescência diminui com o aumento da concentração de oxigênio dissolvido para todas as membranas estudadas, conforme mostrado na Figura 26. Os gráficos da intensidade de fluorescência (646 nm) em função da concentração de O_2 dissolvido mostram que esse decaimento é exponencial e esse comportamento foi observado para todas as membranas analisadas.

Ao realizar os cálculos com base na equação de Stern-Volmer para os dados mostrados na Figura 29 pode-se observar que a supressão é típica para um sensor de O_2 dissolvido (Figura 27). Para concentrações que variam de 0,007-1,00 mg L⁻¹ de O_2 dissolvido, observa-se um comportamento linear e a partir desse ponto há uma curvatura, o que foi observado para esse grupo de membranas estudadas. Esse comportamento foi maior para as **membranas 1 e 2** que para as **membranas 3 e 4**. No entanto, aqui, como no ambiente gasoso pode-se observar que a **membrana 3** apresenta maior variação de sinal para todas as concentrações estudadas, além de apresentar maior sensibilidade.

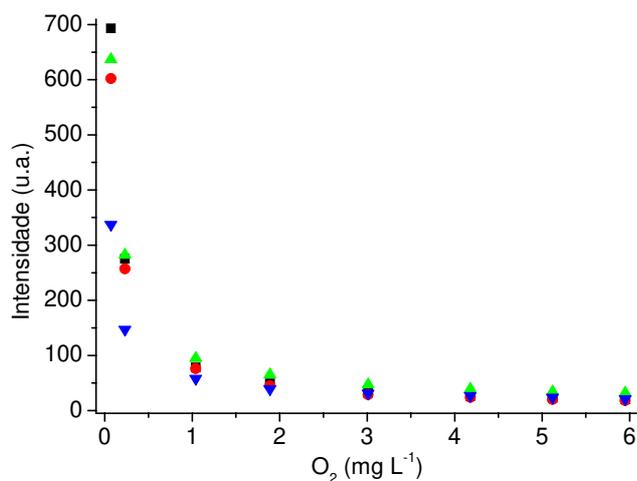


Figura 26. Intensidades de fluorescência obtidas submetendo as membranas: ■ 1, ● 2, ▲ 3 e ▼ 4 a diversas concentrações de oxigênio dissolvido (0,07-5,95 mg L⁻¹).

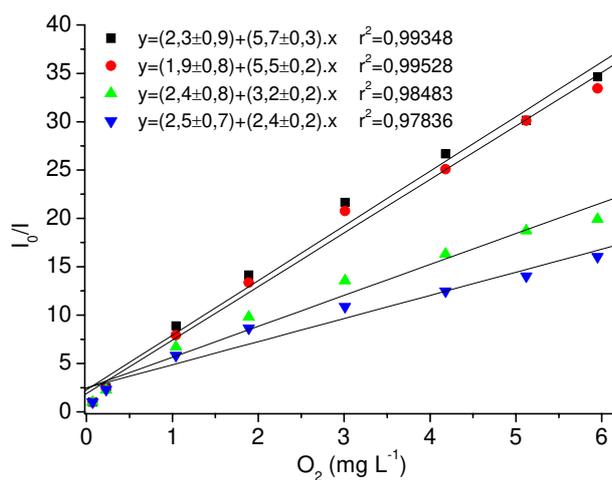


Figura 27. Gráficos de Stern-Volmer a partir dos dados obtidos na Figura 26 para as membranas ■ 1, ● 2, ▲ 3 e ▼ 4.

Com base na literatura^{36,43}, essa curvatura pode ter sido ocasionada por uma fluorescência residual que não é suprimida mesmo nas maiores concentrações de O_2 dissolvido (supressor). Este fato pode ser devido a muitos fatores, tais como o fato de algumas moléculas do PtOEP (fluoróforo) estarem em posição inacessível ao

supressor, pelo fato de haver quantidade insuficiente de supressor disponível para desativar todas as moléculas do fluoróforo ou mesmo porque o PtOEP tenha formado agregados que são pouco ou não reativos com o O₂ dissolvido presente no meio.

Assim, a supressão dinâmica deve ser analisada assumindo que o fluoróforo não está homogeneamente espalhado na membrana, formando assim sítios com diferentes níveis de acessibilidade às moléculas de oxigênio. Também a presença de agregados de moléculas do fluoróforo com diferentes tamanhos pode variar a sensibilidade com relação ao supressor e fornecer semelhantes resultados. Assumindo que a distribuição das moléculas altera a sensibilidade do optodo frente ao supressor, a equação de Stern-Volmer pode ser escrita da seguinte forma:

$$\frac{I_0}{(I_0 - I)} = \left\{ \sum \frac{f_i k_{svi} [O_2]}{1 + k_{svi} [O_2]} \right\}^{-1}$$

onde f_i é a fração de moléculas do fluoróforo i , tendo uma constante de supressão k_{svi} . Isso pode ser escrito como:

$$\frac{I_0}{(I_0 - I)} = \frac{1}{fk_{sv}[O_2]} + \frac{1}{f}$$

onde $f = \sum f_i$ que é a fração molar máxima de moléculas do fluoróforo que pode ser suprimida pelo O₂. Se todas as moléculas do fluoróforo são suprimidas com o mesmo grau, $f=1$.

Com base na equação de Stern-Volmer modificada construiu-se um gráfico de $(I_0/I_0 - I)$ em função de $1/[O_2]$, conforme mostrado na Figura 28. As equações de reta obtidas são apresentadas na Tabela 14. Observou-se que no nível de 95% de confiança para os valores do coeficiente linear a partir da Figura 28, observa-se que para as **membranas 1 e 2** aproximadamente 2 e 4% do fluoróforo estão inacessíveis ao O₂ dissolvido ou estão na forma de agregados não reativos, respectivamente. O mesmo comportamento não foi observado para as **membranas 3 e 4**, provavelmente pelo fato de conter uma quantidade maior de reagente.

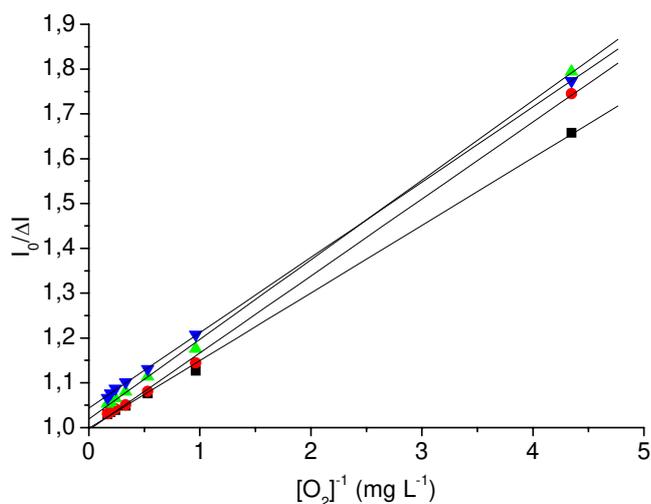


Figura 28. Gráficos modificados de Stern-Volmer a partir dos dados obtidos na Figura 27 para as membranas ■ 1, ● 2, ▲ 3 e ▼ 4.

Tabela 14. Curvas analíticas obtidas com base na equação modificada de Stern-Volmer empregando os resultados obtidos na Figura 5.

Membrana	Curva analítica
1	$IF = (0,99 \pm 0,01) + (0,15 \pm 0,01) [O_2], r^2 = 0,99938$
2	$IF = (0,99 \pm 0,01) + (0,17 \pm 0,01) [O_2], r^2 = 0,99951$
3	$IF = (1,02 \pm 0,01) + (0,17 \pm 0,01) [O_2], r^2 = 0,99970$
4	$IF = (1,04 \pm 0,01) + (0,17 \pm 0,01) [O_2], r^2 = 0,99993$

Dessa forma, verificou-se que em todos os estudos realizados, a **membrana 3** apresentou os resultados mais satisfatórios. Provavelmente nessas membranas também existem sítios inacessíveis ou em forma de complexos. No entanto devido à sua elevada quantidade, o fluoróforo não interferiu na resposta do optodo.

5.4.4. Estudo da influência do teor de sílica adicionada à membrana

Com o objetivo de aumentar a permeabilidade do O_2 dissolvido no optodo, foram adicionadas diferentes quantidades de sílica (1, 5, 10, 20 e 30%) à **membrana 3**. Observou-se que as membranas que receberam sílica não eram transparentes após a reticulação.

Foram construídas curvas analíticas nas concentrações 0,07-5,95 $mg L^{-1} O_2$ dissolvido para todas as membranas estudadas e observou-se que a permeabilidade ao oxigênio aumenta na presença de sílica e que essa relação é diretamente proporcional ao teor de sílica adicionado. Observa-se que há um aumento na linearidade das curvas analíticas desde 1 até 20% de incremento de sílica e que a membrana que recebeu 30% de sílica já demonstra perda de sensibilidade. Essa membrana (com 30% de sílica) apresentou grande dificuldade para preparação, demonstrando que não é uma composição adequada para esse tipo de abordagem. A membrana que apresentou os melhores resultados foi aquela preparada com a constituição de **membrana 3 e com adição de 20% de sílica**, como pode ser observado na Figura 29.

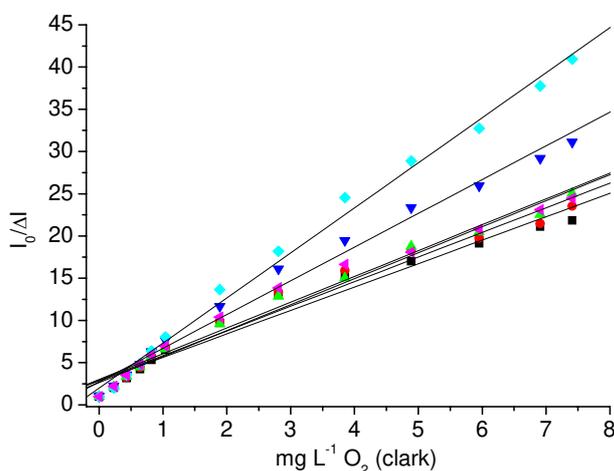


Figura 29. Curvas analíticas 0-7,41 $mg L^{-1}$ de oxigênio dissolvido obtidas a partir da **membrana 3** cotendo sílica nas seguintes concentrações: ■ 0%, ● 1%, ▲ 5%, ▼ 10%, ◆ 20% e + 30%.

Em estudos anteriores^{36,43} foi realizada a determinação do teor de O₂ em amostras gasosas empregando membranas de PtOEP/PDMS com a adição de nanopartículas de sílica (~10 nm). Com o aumento da quantidade de sílica houve diminuição da sensibilidade do optodo. No entanto, em estudos anteriores a esse foi observado que o tipo de PDMS empregado pode afetar o desempenho do optodo, e deve-se levar em consideração a formulação do produto a ser utilizado. O PDMS empregado nesse trabalho tem um teor não determinado de platina e de sílica na sua formulação e, provavelmente, a platina tenha aumentado o desempenho das membranas, visto que a sílica é um dos melhores suportes sólidos encontrados em um estudo que avaliou a influência de sílica e de diferentes tipos de polímeros no desenvolvimento de optodos para determinação de O₂ gasoso⁴³. Neste trabalho, que não empregou nanopartículas, o aumento do teor de sílica de 0,9 para 4,8% em massa levou à obtenção de curvas mais lineares que na presença do polímero puro⁵⁵.

Para os experimentos realizados com aumento do teor de sílica às membranas, observou-se um comportamento semelhante ao obtido em trabalho anterior⁵⁵. Isso provavelmente é devido ao tamanho das partículas aqui empregadas, que apresentam diâmetro maior (~10 µm) e também pelo fato de ter sido adicionada uma grande quantidade de sílica às membranas (até 30% m/m), o que garante maior linearidade da curva analítica.

Dessa forma, adotou-se como membrana otimizada aquela preparada a partir da composição da **membrana 3 com a adição de 20% de sílica**. Essa será a membrana a ser caracterizada e empregada na determinação de O₂ dissolvido em amostras reais.

5.4.5. Repetibilidade e tempo de resposta

A repetibilidade do sistema foi avaliada submetendo a membrana a medidas consecutivas (n=14) de O₂ dissolvido em água com uma amostra de água

desionizada (Figura 30). Esse experimento mostrou que não há grande variação da intensidade do sinal, fornecendo um desvio padrão relativo de 1,0% (383 ± 4 u.a.).

Foram utilizados os gráficos de reflectância em função do tempo para determinar o tempo de resposta do optodo. Sua definição foi detalhada no Capítulo 3 dessa Tese. Uma curva de resposta x tempo obtida para o sensor construído é apresentada na Figura 30.

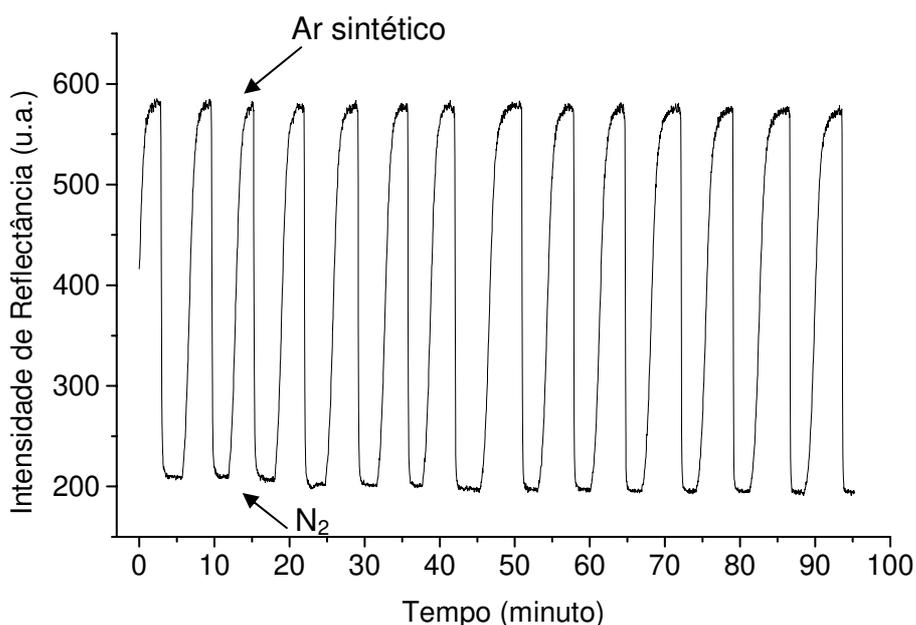


Figura 30. Curva de supressão de fluorescência em função tempo a 646 nm com inserções alternadas de N_2 e ar sintético borbulhados em água deionizada.

As setas indicam o início da inserção de ar sintético na parte superior da curva e N_2 na parte inferior. A parte inferior (supressão de fluorescência) indica o sinal obtido em $7,41 \text{ mg L}^{-1}$ de O_2 na cela de medias a 25°C . Com base no tempo de resposta $t_{90\%}$, observa-se que são necessários $0,68 \pm 0,13$ minutos para inserir no analito e $2,69 \pm 0,12$ minutos para reverter o sinal. Comparando com outros sensores para O_2 dissolvido, é um tempo apropriado^{61,62,67,69,76}.

5.4.6. Faixa linear de resposta e limite de detecção

Inicialmente foi feita uma calibração do sistema empregando somente o eletrodo de Clark. A calibração foi feita preparando as misturas de N_2 /ar sintético e inserindo-as em água deionizada para determinação por meio do eletrodo de Clark a fim de saber a concentração máxima de O_2 que se pode obter ao borbulhar ar na água a 25°C . Diversas misturas foram preparadas e os resultados obtidos são mostrados na Figura 31. Observou-se que não é possível atingir um nível maior que $7,44 \text{ mg L}^{-1}$ de O_2 na água a essa temperatura. Avaliando as normas do Conselho Nacional do Meio Ambiente⁵⁴, que regulamenta de $2,0\text{-}6,0 \text{ mg L}^{-1}$ como níveis mínimo e máximo para a concentração de O_2 dissolvido em diferentes classes de água, foram construídas curvas analíticas variando a concentração de O_2 na água de $0,07\text{-}5,95 \text{ mg L}^{-1}$, com temperatura controlada a 25°C .

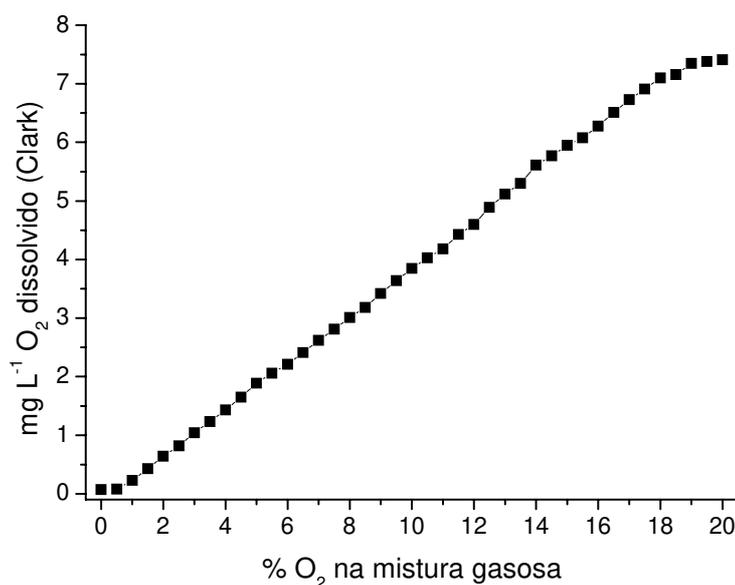


Figura 31. Concentrações obtidas por meio do eletrodo de Clark na calibração do sistema proposto com temperatura controlada (25°C). Os resultados representam médias obtidas a partir de 4 medidas (as barras de erro são menores que os pontos).

Após a verificação do desempenho satisfatório da cela de medidas, passou-se para o estudo do optodo. As curvas analíticas foram construídas com amostras com concentração de O_2 dissolvido conhecidas e inseridas na cela de medidas (Figura 26B).

Para verificar a faixa linear de resposta da fase sensora foi construída uma curva de calibração de 0,07-5,95 $mg L^{-1}$ de O_2 dissolvido em água. A regressão linear obtida para esta curva foi:

$$I_0/\Delta I = (0,16 \pm 0,01) + (4,35 \pm 0,03) [O_2], r^2 = 0,99764$$

onde $I_0/\Delta I$ é a razão entre a intensidade de fluorescência na ausência do supressor e a diferença entre a intensidade de fluorescência na ausência de fluorescência e a intensidade de fluorescência na presença de determinada concentração de supressor e $[O_2]$ é a concentração de oxigênio dissolvido na amostra em $mg L^{-1}$.

A curva analítica é mostrada na Figura 32:

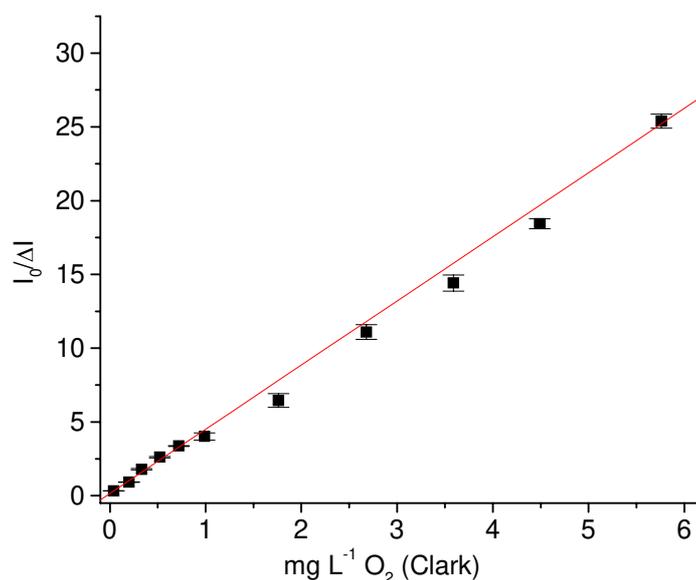


Figura 32. Curva analítica obtida para concentrações de 0,07-5,95 $mg L^{-1}$, com temperatura controlada a 25°C.

O limite de detecção obtido foi da ordem de 0,0077 mg L⁻¹ de O₂ dissolvido e de quantificação foi de 0,258 mg L⁻¹ de O₂ dissolvido. Para todas as medidas realizadas nessa curva analítica, o desvio em torno da média variou de aproximadamente 0,53% do valor medido. Esses resultados atingem os níveis de concentração exigidos pelo Conselho Nacional do Meio Ambiente, mostrando que o optodo pode ser empregado na determinação de O₂ dissolvido em diferentes corpos d'água¹¹.

Na validação dos resultados obtidos com o método proposto, foram realizadas simultaneamente medidas com o Eletrodo de Clark e com o optodo. Os resultados obtidos pelos dois métodos são mostrados na Tabela 15. Não foi observada diferença significativa entre os dois métodos em um nível de 95% de confiança. A relação entre os resultados obtidos com o optodo e o eletrodo de Clark é “sensor = (-0,18 ± 0,271) + (1,05 ± 0,05) x Clark; r² = 0,996”. Não há erro sistemático no método proposto, pois os coeficientes angular e linear são próximos de 1 e 0, respectivamente.

Tabela 15. Resultados obtidos para O₂ dissolvido para 7 amostras de água empregando o método proposto (optodo) e pelo método padrão (eletrodo de Clark).

Amostra	O ₂ dissolvido	
	Optodo	Clark
1	5,89 ± 0,02	5,85 ± 0,03
2	6,27 ± 0,02	6,13 ± 0,01
3	6,02 ± 0,01	6,10 ± 0,01
4	7,56 ± 0,43	8,06 ± 0,03
5	5,56 ± 0,03	5,63 ± 0,02
6	2,24 ± 0,01	2,32 ± 0,02
7	3,87 ± 0,05	3,82 ± 0,02

5.5. Conclusões

Com os estudos realizados, pode-se concluir que os melhores resultados foram obtidos com as membranas de PDMS/PtOEP preparada a partir da deposição de uma solução contendo $8 \times 10^{-3} \text{ mol L}^{-1}$ de PtOEP em CH₂Cl₂, com a adição de 20% em massa de sílica.

Há aproximadamente 2% de fluoróforo que se encontra em sítios inacessíveis ou em forma de complexos não reativos com o oxigênio da amostra. No entanto, não foi observada perda de sensibilidade do optodo nessas condições.

A repetibilidade do optodo foi avaliada e observou-se que não há grande variação da intensidade do sinal, fornecendo um desvio padrão relativo de 1,0% (383 ± 4 u.a.) nas medidas. Estudos do tempo de resposta, mostraram que são necessários $0,68 \pm 0,13$ min para inserir no analito e $2,69 \pm 0,12$ min para reversão do sinal.

Foi obtido um limite de detecção da ordem de $0,0077 \text{ mg L}^{-1}$ de O₂ dissolvido. Para todas as medidas realizadas, o desvio em torno da média variou de aproximadamente 0,53% do valor medido. A faixa linear de resposta foi de 0,07-5,95 mg L⁻¹ de O₂ dissolvido em água. Dessa forma, esse optodo atinge os níveis de concentração exigidos pelo CONAMA na determinação de O₂ dissolvido em diferentes corpos d'água. Observou-se que não há erro sistemático com o uso do optodo, e que o mesmo pode ser empregado na determinação oxigênio dissolvido em amostras reais.

O optodo desenvolvido tem uma série de vantagens frente ao eletrodo de Clark, tais como o tempo de resposta, que é 10 vezes menor que o equipamento comercial empregado para validação.

Capítulo 6

Conclusões gerais e perspectivas

6.1. Conclusões

Com os estudos realizados na construção de um optodo para a determinação de SO₂ em ar, pode-se concluir a fase sensora constituída de 20% de PVC, 76% de plastificante e 4% de complexo de paládio apresenta ótimo desempenho, atingindo as concentrações exigidas pelo órgão ambiental que rege os níveis máximos de SO₂ permitidos na atmosfera. Estudos acerca dos interferentes e figuras de méritos foram realizados e demonstraram que o optodo sofre efeitos dos gases interferentes e umidade.

Para a determinação de SO₂ em amostras de vinho, os resultados obtidos indicam que o optodo estudado pode ser empregado na determinação de SO₂ livre e total em amostras de vinho de maneira rápida, confiável e simples. Pode ser comparado com os métodos usados comercialmente, sendo competitivo no mercado por ser mais simples e manter uma frequência de amostragem de 10 amostras/hora.

Com relação ao optodo construído para a determinação de O₂ dissolvido, pode-se concluir que a fase sensora contendo 8x10⁻³ mol L⁻¹ de PtOEP, com 20% de sílica incorporada, apresentou os melhores resultados. Estudos acerca das figuras de mérito foram realizadas e observou-se que esse optodo apresenta um desempenho adequado quando comparado aos já descritos na literatura. A faixa linear de resposta foi de 0,07-5,95 mg L⁻¹ de O₂ dissolvido em água, atingindo os níveis de concentração exigidos pelo CONAMA na determinação dessa espécie em diferentes corpos d'água.

6.2. Perspectivas

Pretende-se avaliar o desempenho de optodos para determinação de SO₂ com base no complexo Pd₂(dppm)₂Cl₂ empregando diferentes polímeros;

Desenvolver também optodos para determinação de oxigênio dissolvido utilizando outros tipos de silicone e avaliar da mesma forma a influência do teor de sílica para essas membranas;

Com o intuito de construir equipamentos portáteis, pretende-se desenvolver a instrumentação necessária para automatizar os processos descritos na construção dos optodos estudados nesta Tese, com o uso de fotômetros que empreguem LED como fonte de radiação.

Capítulo 7

Referências bibliográficas

1. Seitz, W. R., *Chemical Sensors based on Fiber Optics*. Anal. Chem. 56 (1984) 16A-34A.
2. Wolfeis, O.S., *Fiber Optic Chemical Sensors and Biosensors*, CRC Press, INC, Vol 1, 1991.
3. Borman, S. A. Anal. Chemistry. 1981, 53, 1616A-1618A
4. Sotomayor, M.P.T., *Construção e aplicação de optodos e sistemas analíticos baseados em variações de pH* – Tese de Doutorado, Instituto de Química, UNICAMP, Campinas, 2000.
5. D.A. Skoog, D.M. West, F.J. Holler, S.R. Crouch, *Fundamentos de química analítica*, 2006. 8 ed. Editora Thomson.
6. D.A. Skoog, F.J. Holler, T.A. Nieman, *Princípios de análise Instrumental*. Editora Bookman, 5 ed. 2002.
7. Lakowicz, J. R. *Principles of fluorescence spectroscopy*. New York: Plenum. 1983.
8. Wolfeis, O.S., *Fiber Optic Chemical Sensors and Biosensors*, CRC Press, INC, Vol 2, 1991.
9. S.C.L. Pinheiro, *Avaliação do complexo Pd₂(dppm)₂Cl₂ no desenvolvimento de um sensor óptico para a determinação de monóxido de carbono* Dissertação de Mestrado, Unicamp, 2005.
10. *Relatório da qualidade de águas interiores no estado de São Paulo – 2005*. Companhia de Tecnologia de Saneamento Ambiental – CETESB.
11. <http://www.mma.gov.br/port/conama/res/res05/res35705.pdf>, em 07/03/2007.
12. *Relatório da qualidade do ar no estado de São Paulo – 2005*. Companhia de Tecnologia de Saneamento Ambiental – CETESB.

13. <http://www.mma.gov.br/port/conama/res/res90/res0390.html>, em 07/03/2007.
14. C. Baird, Química Ambiental, Bookman, Porto Alegre, 2002.
15. <http://e-legis.anvisa.gov.br/leisref/public/showAct.php?id=88&word=>, em 07/03/2007.
16. <http://e-legis.anvisa.gov.br/leisref/public/showAct.php?id=18839&word=>, em 07/03/2007.
17. O.S. Wolfbeis, Fiber-optic chemical sensors and biosensors, *Anal. Chem.* 72 (2000) 81R-89R.
18. O.S. Wolfbeis, Fiber-optic chemical sensors and biosensors, *Anal. Chem.* 74 (2002) 2663-2677.
19. O.S. Wolfbeis, Fiber-optic chemical sensors and biosensors, *Anal. Chem.* 76 (2004) 3269-3284.
20. O.S. Wolfbeis, Fiber-optic chemical sensors and biosensors, *Anal. Chem.* 78 (2006) 3859-3874.
21. M. Kuratli, E. Pretsch, Sulfur dioxide-selective optodes, *Anal. Chem.* 66 (1994) 85-91.
22. C.S.T. Araújo, J.L. Carvalho, D.R. Mota, C.L. Araújo, N.M.M. Coelho, Determination of sulphite and acetic acid in foods by gas permeation flow injection analysis, *Food Chem.* 92 (2005) 765-770.
23. J. Čmelík, J. Machát, E. Niedobová, V. Otruba, V. Kanický, Determination of free and total sulfur dioxide in wine samples by vapour-generation inductively coupled plasma-optical-emission spectrometry, *Anal. Bioanal. Chem.* 383 (2005) 483-488.
24. I. Sarudi, J. Kelemen, Determination of sulphur and total sulphur dioxide in wines by an ICP-AES method, *Talanta* 45 (1998) 1281-1284.
25. A.N. Araújo, C.M.C.M. Couto, J.L.F.F. Lima, M.C.B.S.M. Montenegro, Determination of SO₂ in wines using a flow injection analysis system with potentiometric detection, *J. Agric. Food Chem.* 46 (1998) 168-172.
26. T. García, E. Casero, E. Lorenzo, F. Pariente, Electrochemical sensor for sulfite determination based on iron hexacyanoferrate film modified electrodes, *Sens. Actuators. B* 106 (2005) 803-809.
27. C.M.N. Azevedo, K. Araki, H.E. Toma, L. Angnes, Determination of sulfur dioxide in wines by gas-diffusion flow injection analysis utilizing modified electrodes with electrostatically assembled films tetra-ruthenated porphyrin, *Anal. Chim. Acta* 387 (1999) 175-180.
28. E. Mataix, M.D. Luque de Castro, Sequential determination of carbon dioxide and free sulfur dioxide in wine by flow-injection pervaporation with in series potentiometric-photometric detection, *Fresenius J. Anal. Chem.* 365 (1999) 377-380.
29. J.M. Lin, T. Hobo, Flow-injection analysis with chemiluminescent detection of sulphite using Na₂CO₃-NaHCO₃-Cu²⁺ system, *Anal. Chim. Acta* 323 (1996) 69-74.
30. J.M. Lin, F. Qu, M. Yamada, Chemiluminescent investigation of tris(2,2'-bipyridyl)ruthenium(II) immobilized on a cationic ion-exchange resin and its application to analysis, *Anal. Bioanal. Chem.* 374 (2002) 1159-1164.
31. X.F. Yang, X.Q. Guo, Y.B. Zhao, Novel spectrofluorimetric method for the determination of sulfite with rhodamine B hydrazide in a micellar medium, *Anal.*

- Chim. Acta 456 (2002) 121-128.
32. T.M.A. Razek, M.J. Miller, S.S.M. Hassan, M.A. Arnold, Optical sensor for sulphur dioxide based on fluorescence quenching, *Talanta* 50 (1999) 491-498.
 33. D. Papkovsky, M.A. Uskova, G.V. Ponomarev, T. Korpela, S. Kulmala, G.G. Guilbault, Optical sensing of sulfite with a phosphorescent probe, *Anal. Chim. Acta* 374 (1998) 1-9.
 34. M.H.F.B. Soares, L.A. Ramos, E.T.G. Cavalheiro, Spectrophotometric determination of total sulfite in white wine samples using crude extracts from flowers, *J. Chem. Educ.* 79 (2002) 1111-1113.
 35. A. Stangelmayer, I. Klimant, Optical sensors for dissolved sulfur dioxide, *Fresenius J. Anal. Chem.* 362 (1998) 73-76.
 36. L.G. Decnop-Weever, J.C. Kraak, determination of sulphite in wines by gas-diffusion flow injection analysis utilizing spectrophotometric pH-detection, *Anal. Chim. Acta* 337 (1997) 125-131.
 37. M.A. Segundo, A.O.S.S. Rangel, A gas diffusion sequential injection system for the determination of sulphur dioxide in wines, *Anal. Chim. Acta* 427 (2001) 279-286.
 38. V.P. Campos, L.P.S. Cruz, E.M. Alves, T.S. Santos, A.D. Silva, A.C.C. Santos, A.M.V. Lima, C.S. Paixão, D.C.M.B. Santos, D.S. Brandão, E.J.S. Andrade, J.I. Moreira, Jr, C.S. Conceição, M.S. Ramos, C.C.G. Pontes, M.F. do Amaral, R.R. Mattos, Monitoramento atmosférico passivo de SO₂, NO₂ e O₃ em áreas urbanas e de influência industrial como prática de química ambiental para alunos de graduação, *Quim. Nova* 29 (2006) 872-875.
 39. L.S. Benner, M.M. Olmstead, H. Hope, A.L. Balch, Reversible insertion of sulfur dioxide into palladium-palladium bonds. The preparation and structure of Pd₂(μ-SO₂)(Ph₂PCH₂PPh₂)₂Cl₂, *J. Organomet. Chem.* 153 (1978) C31-C35.
 40. A.L. Balch, L.S. Benner, M.M. Olmstead, Novel reactions of metal-metal bonds. Addition of sulfur dioxide and sulfur to Pd₂(Ph₂PCH₂PPh₂)₂Cl₂ and the oxidation of coordinated sulfide, *Inorg. Chem.* 18 (1979) 2996-3003.
 41. L.S. Benner, A.L. Balch, Novel reactions of metal-metal bonds. Insertion of isocyanides and carbon monoxide into the palladium-palladium bond of some Pd(I) dimmers, *J. Am Chem. Soc.* 100 (1978) 6099-6106.
 42. M.M. Olmstead, L.S. Benner, H. Hope, A.L. Balch, Addition of Tin (II) Chloride to Pd₂(Ph₂PCH₂PPh₂)₂(SnCl₃)Cl, *Inorg. Chim. Acta* 32 (1979) 193-198.
 43. F.L. Alves, I.M. Raimundo Jr., I.F. Gimenez, O.L. Alves, An organopalladium-PVC membrane for sulphur dioxide optical sensing, *Sens. Actuators. B.* 107 (2005) 47-52.
 44. I.F. Gimenez, Sistemas químicos integrados obtidos pelas interações de compostos organometálicos contendo ligação metal-metal e o vidro poroso tipo Vycor Tese de Doutorado, Unicamp, 2002.
 45. Chapman, I. D., Elmer, T. H., *Porous high silica glass*, Patent US3, 485, 687, 1969.
 46. K. Andersen, T. Kjaer, N.P. Revsbech, An oxygen insensitive microsensor for nitrous oxide, *Sens. Actuators B* 81 (2001) 42-48.
 47. L. Pancheri, C.J. Oton, Z. Gaburro, G. Soncini, L. Pavesi, *Sens. Actuators B.*, 97 (2004) 45-
 48. S.E. Manahan, *Fundamentals of Environmental Chemistry*, Lewis Publishers,

- 1993.
49. S.E. Manahan, Environmental Chemistry, Lewis Publishers, 1994.
 50. C.R. Martins, J.B. Andrade, Química atmosférica do enxofre (IV): emissões, reações em fase aquosa e impacto ambiental, Quim. Nova 25 (2002) 259-272.
 51. R.U. Kirss, D.A. Forsyth, M.A. Plante, Synthesis and spectroscopy of binuclear phosphine bridged palladium hydrides: $Pd_2HX_3[dppm]_2$ (X=Br, I; DPPM=bis[diphenylphosphino]methane), J. Organometal. Chem. 688 (2003) 206-215.
 52. B.W. Zoecklein, K.C. Fugelsang, B.G. Gump, F.S. Nury, Laboratory procedures. In Wine analysis and production, 2 Ed. Kluwer Academic/Plenum Publishers: New York, 1999. 310-516.
 53. B.H. Gump, D.J. Pruett, Beer and wine production: analysis, characterization and technological advances Washington DC, American Chemical Society, 1993.
 54. J.L. Jacobson, Introduction to wine laboratory practices and procedures, Ed. Springer, 2006.
 55. S. Marcos, N. Alcubierre, J. Galbán, J.R. Castillo, Reagentless system for sulphite determination based on polyaniline, Anal. Chim. Acta 502 (2004)7-13.
 56. Z. Zhi, A. Rios, M. Valcárcel, Direct determination of free sulfúric dioxide in wine and dried apple samples by using a gas generating and purging device coupled to a continuous flow (injection) system, Analyst 120 (1995) 2013-2018.
 57. Y. Amao, Y. Tabuchi, Y. Yamashita, K. Kimura, Novel optical oxygen sensing material: metalloporphyrin dispersed in fluorinated poly(aryl ether ketone) films, Europ. Polymer J. 38 (2002) 675-681.
 58. Y. Amao, Probes and polymers for optical sensing of oxygen. Microchim. Acta 143 (2003) 1-12.
 59. A.S. Holmes-Smith, A. Hamill, M. Campbell M. Uttamlal, Electropolymerised platinum porphyrin polymers for dissolved oxygen sensing, Analyst 124 (1999) 1463-1466.
 60. R.N. Gillanders, M.C. Tedford, P.J. Crilly, R.T. Bailey, Thin film dissolved oxygen sensor based on platinum octaethylporphyrin encapsulated in an elastic fluorinated polymer, Anal. Chim. Acta 502 (2004) 1-6.
 61. E.P., Bergamo, *Tese de Doutorado*, Universidade Estadual Paulista “Júlio de Mesquita Filho”, Brasil, 2003.
 62. K. Oguri, H. Kitazato, Glud, R. N. Platinum octaethylporphyrin based planar optodes combined with an UV-LED excitation light source: an ideal tool for high-resolution O_2 imaging in O_2 depleted environments, Marine Chemistry, 100 (2006) 95-107.
 63. T.S. Yeh, C.S. Chu, Y.L. Lo, Highly sensitive optical fiber oxygen sensor using Pt(II) complex embedded in sol-gel matrices, Sens. Actuators. B (2006) in press.
 64. B.H. Han, M.A. Winnik, A.B. Bourlinos, E.P. Giannelis, Luminescence quenching of dyes by oxygen in core-shell soft-sphere ionic liquids, Chem. Mater 17 (2005) 4001-4009.
 65. B.H. Han, I. Manners, M.A. Winnik, Oxygen sensors based on mesoporous silica particles on layer-by-layer self-assembled films, Chem. Mater. 17 (2005) 3160-3171.
 66. X. Lu. I. Manners, M.A. Winnik, Polymer/silica composite films as luminescent

- oxygen sensors, *Macromolecules* 34 (2001) 1917-1927.
67. Y. Amao, K. Asai, T. Miyashita, I. Okura, Novel optical oxygen sensing material: platinum porphyrin-styrene-pentafluorostyrene copolymer film, *Anal. Commun.* 36 (1999) 367-369.
 68. R. Shinar, Z. Zhou, B. Choudhury, J. Shinar, Structurally integrated organic light emitting device-based sensors for gas phase and dissolved oxygen, *Anal. Chim. Acta* 568 (2006) 190-199.
 69. R.N. Gillanders, M.C. Tedford, P.J. Crilly, R.T. Bailey, A composite thin film optical sensor for dissolved oxygen in contaminated aqueous environments, *Anal. Chim. Acta* 545 (2005) 189-194.
 70. Y.E.L. Koo, Y. Cao, R. Kopelman, S.M. Koo, M. Brasuel, M.A. Philbert, Real-time measurements of dissolved oxygen inside live cells by organically modified silicate fluorescent nanosensors, *Anal. Chem.* 76 (2004) 2498-2505.
 71. B.D. MacCraith, C.J. McDonagh, Enhanced fluorescence sensing using sol-gel materials, *J. Fluoresc.* 12 (2002) 333-342.
 72. X. Lu, M.A. Winnik, Luminescence quenching in polymer/filter nanocomposite films used in oxygen sensors, *Chem. Matter.* 13 (2001) 3449-3463.
 73. M.E. Köse, R.J. Crutchley, M.C. DeRosa, N. Ananthakrishnan, J.R. Reynolds, K.S. Schanze, Morphology and oxygen sensor response of luminescent Ir-labeled poly(dimethylsiloxane)/polystyrene polymer blend films, *Langmuir* 21 (2005) 8255-8262.
 74. R.N. Gillanders, M.C. Tedford, P.J. Crilly, R.T. Bailey, A composite sol-gel/fluoropolymer matrix for dissolved oxygen optical sensing, *J. Photochem. Photobiol. A: Chem.* 163 (2004) 193-199.
 75. G. Orellana, Luminescent optical sensors, *Anal. Bioanal. Chem.* 379 (2004) 344-346.
 76. Y. Amao, K. Asai, T. Miyashita, I. Okura, Novel optical oxygen sensing material: platinum porphyrin-fluoropolymer film, *Polym. Adv. Technol.* 11 (2000) 705-709.
 77. D.F.C. Guedes, T.C.O. Mac Leod, M.C.A.F. Gotardo, M.A. Schiavon, I.V.P. Yoshida, K.J. Ciuffi, M.D. Assis, Investigation of a new oxidative catalytic system involving Jacobsen's catalyst in the absence of organic solvents, *Appl. Catal. A: Gen.* 296 (2005) 120-127.
 78. M.C.A.F. Gotardo, A.A. Guedes, M.A. Schiavon, N.M. José, I.V.P. Yoshida, M.D. Assis, Polymeric membranes: the role this support plays in the reactivity of the different generations of metalloporphyrins, *J. Mol. Catal. A: Chem.* 229 (2004) 137-143.
 79. S.U.A. Redondo, E. Radovanovic, I.L. Torriani, I.V.P. Yoshida, Polycyclic silicone membranes. Synthesis, characterization and permeability evaluation, *Polymer* 42 (2001) 1319-1327.
 80. W. Xu, R.C. McDonough III, B. Langsdorf, J.N. Demas, B.A. DeGraff, Oxygen sensors based on luminescence quenching: interactions of metal complexes with the polymer supports, *Anal. Chem.* 66 (1994) 4133-4141.