



UNIVERSIDADE ESTADUAL DE CAMPINAS
INSTITUTO DE QUÍMICA - DEPARTAMENTO DE QUÍMICA ANALÍTICA

**Pré-concentração por “electrostacking” e por ponto
nuvem para determinação de arsênio e cádmio em
amostras ambientais e biológicas**

Tese de Doutorado

Química: Luciana Melo Coelho
Orientador: Prof. Dr. Marco Aurélio Zezzi Arruda

Campinas, Estado de São Paulo, Brasil.
17 de Junho de 2005

UNIDADE	IC
Nº CHAMADA	T/UNICAMP
	C65p
V	EX
TOMBO BC	65808
PROC.	16-86-05
C	☐
D	☒
PREÇO	11,00
DATA	30-9-05
Nº CPD	

BIBID- 365650

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

C65p

Coelho, Luciana Melo.

Pré-concentração por *electrostacking* e por ponto nuvem para determinação de arsênio e cádmio em amostras ambientais e biológicas / Luciana Melo Coelho. – Campinas, SP: [s.n], 2005.

Orientador: Marco Aurelio Zezzi Arruda.

Tese – Universidade Estadual de Campinas, Instituto de Química.

1. Pré-concentração. 2. *Electrostacking*. 3. Ponto nuvem. I. Arruda, Marco Aurélio Zezzi. II. Instituto de Química. III. Título.

Título em inglês: Pré-concentration by electrostacking and by cloud point for determination of metallic ions in environmental and biological samples.

Palavras-chave em inglês: Preconcentration, Electrostacking, Cloud point.

Área de concentração: Química analítica.

Titulação: Doutora em Química Analítica.

Banca examinadora: Marco Aurélio Zezzi Arruda (orientador), Clésia Cristina Nascentes (UFMG), Ricardo Erthal Santelli (UFF), Carla Beatriz Grespan Botolli (UNICAMP), Anne Hélène Fostier (UNICAMP).

Data de defesa: 17/06/2005.

Quando te decidires ir, vá!
Não esperes que o vento cubra de flores o caminho.
Nem sequer esperes o caminho. Cria-o. Faze-o tu mesmo.
E parte... Sem lembrar, que outros passos pararam.

A Deus, por iluminar o meu caminho.

*Aos meus pais Lázaro e Orestina, e as minhas irmãs
Vânia, Nívia e Luciene, pelo amor e dedicação, que
mesmo distantes, nunca deixaram de me apoiar.*

Agradecimentos

Ao Prof. Dr. Marco Aurélio Zezzi Arruda, pela orientação, apoio e, sobretudo, pela amizade.

Ao Prof. Dr. Miguel de la Guardia, da Universidade de Valência, pela acolhida e orientação durante minha estadia na Espanha onde iniciei o meu doutorado.

À Universidade Estadual de Campinas e, em especial, ao Instituto de Química pelas facilidades concedidas para a realização deste trabalho.

Ao Conselho Nacional de Desenvolvimento Científico e Tecnológico - CNPq, pelo apoio financeiro.

Ninguém é mais solitário do que aquele que não tem um amigo...

Agradeço aos Amigos do Grupo de Espectrometria, Preparo de Amostras e Mecanização (GEPAM): Alessandra, Aline Klassen, Aline Lopes, Américo, Araceli, César, Cristiana, Eduardo, Geraldo, Jerusa, Madson, Marcel, Marcelo, Nathália pelo apoio e a ótima convivência no laboratório.

Ao amigo Joselito e amigas Marcilene, Regiane e Lu Chen, pelas longas conversas, tanto profissional como também pelos bons conselhos...

Aos professores e funcionários do Instituto de Química da UNICAMP, pela boa vontade em ajudar.

A todos que, de uma forma direta ou indireta, contribuíram na execução deste trabalho.

A todos, o meu muito obrigado e desculpem-me quaisquer falhas...

***Curriculum Vitae* Resumido**

1- Dados pessoais

Nome: Luciana Melo Coelho

Data de nascimento: 14 de outubro de 1971

Naturalidade: Ituiutaba - MG

e-mail: lucianamelocoelho@bol.com.br

2- Formação Acadêmica

Doutorado em Química Analítica (2001 - 2005)

Universidade Estadual de Campinas - Unicamp

Instituto de Química

Mestrado em Química Analítica (1998 - 2000)

Universidade Estadual de Campinas - Unicamp

Instituto de Química

Bacharelado em Química (1992 - 1997)

Universidade Federal de Uberlândia - UFU

Instituto de Química

3- Experiência Profissional

- **Atividades de monitoria no Programa Ciências e Arte nas Férias** promovido no período de 05 de janeiro a 04 de fevereiro de 2005 na Universidade Estadual de Campinas - Unicamp.
- **Colaboração em aulas práticas** da disciplina QA-914 Tópicos Especiais em Química Analítica - Introdução ao Preparo de Amostras, do Curso de Graduação, do Instituto de Química - Unicamp, primeiro semestre/2004.
- **Desenvolvimento de atividade de pesquisa** no Departamento de Química Analítica, da Universidade de Valência, no período de Janeiro de 2001 a Maio de 2001, sob a orientação do professor Dr. Miguel de la Guardia, com o desenvolvimento da técnica de "electrostacking" com acoplamento a HPLC e determinação de arsênio por AFS e ICP-MS.
- **Supervisão de aulas práticas** da disciplina QP-413 Preparo de Amostras, do Curso de Pós-Graduação, do Instituto de Química - Unicamp, primeiro semestre/2000.

4- Principais comunicações em eventos científicos

- **8th Rio Symposium on Atomic Spectrometry**

Preconcentration of cadmium based on cloud point procedures and its determination by atomic absorption spectrometry. Paraty (RJ) 01 a 06 de agosto de 2004.

- **8th Rio Symposium on Atomic Spectrometry**

A fast method for arsenic speciation analysis using high performance liquid chromatography coupled with inductively coupled plasma mass spectrometric detection. Paraty (RJ) 01 a 06 de agosto de 2004.

- **26^a Reunião Anual da Sociedade Brasileira de Química**

Pré-concentração de arsênio com emprego da técnica de “electrostacking” bidirecional. Poços de Caldas (MG) 26 de maio de 2003.

- **11^o Encontro Nacional de Química Analítica – ENQA**

Avaliação da técnica de “electrostacking” para a pré-concentração e especiação de As(III) e As(V). Campinas (SP) 18 a 21 de setembro de 2001.

- **10^o Encontro Nacional de Química Analítica – ENQA**

Sistema mecanizado empregando forno de microondas para o preparo em linha de amostras de interesse clínico. Santa Maria (RS) 31 de agosto a 03 de setembro de 1999.

5- Publicações:

- Coelho, L. M.; Arruda, M. A. Z. *Preconcentration procedure using cloud point extraction in the presence of electrolyte for cadmium determination by flame atomic absorption spectrometry.* Spectrochimica Acta, 2005 **60** (5), 743-748.
- N. M. M. Coelho; L. M. Coelho; E. S. de Lima; A. Pastor; M. de la Guardia. *Determination of arsenic compounds in beverages by high-performance liquid chromatography-inductively coupled plasma mass spectrometry.* Talanta, 2005, **66**(4), 818-822.
- Coelho, L. M.; Pereira-Filho, E. R.; Arruda, M. A. Z. *On-line mechanised microwave biological fluid decomposition and off-line calcium and magnesium determinations by flame atomic absorption spectrometry.* Química Analítica (Barcelona), 2002, **20**, 243-249.

Pré-concentração por “electrostacking” e por ponto nuvem para determinação de arsênio e cádmio em amostras ambientais e biológicas

Autor: Luciana Melo Coelho

Orientador: Prof. Dr. Marco Aurélio Zezzi Arruda

Resumo

É proposto neste trabalho de Tese o estudo de dois sistemas de pré-concentração para determinação de espécies metálicas por espectrometria de absorção atômica por chama (FAAS) e espectrometria de absorção atômica com atomização eletrotérmica (ETAAS). Primeiramente, é investigado o uso do sistema de “electrostacking” bidirecional (BDES) para a pré-concentração e especiação de As(V) e As total em amostras de água utilizando a técnica ETAAS. Neste sistema, As(V) é pré-concentrado mediante a aplicação de diferença de potencial, como ocorre na eletroforese capilar (CE). As variáveis investigadas no intuito de otimizar a pré-concentração de As são: zona de amostragem (alíquotas de 150 μL coletadas seqüencialmente), dimensão do tubo da amostra (12,4 e 4,1 cm de comprimento), voltagem (500, 750 e 1000 V), tempo de aplicação da voltagem (5, 10, 15, 20 e 40 min), pH da amostra (4,0; 7,0; 8,0 e 12,0), natureza da solução tampão (Tris/HCl, glicina/NaOH e $\text{H}_3\text{BO}_3/\text{NaOH}$) e concentração da solução tampão (0,05 - 0,2 mol L^{-1}). Sendo assim, as melhores condições para pré-concentração de As(V) são: voltagem aplicada de 750 V durante 20 min e empregando o tampão $\text{H}_3\text{BO}_3/\text{NaOH}$ como solução tampão-suporte na concentração de 0,05 mol L^{-1} . Nessas condições é possível obter um fator de pré-concentração (FPC) de cerca de 5 vezes. É investigado a pré-concentração de As(III) aplicando a mesma metodologia otimizada para o As(V). No entanto, é observado que este sistema não é eficiente para a pré-concentração de As(III). Neste caso, o As(III) é oxidado a As(V) utilizando KMnO_4 e H_2SO_4 . A eficiência da oxidação é de 75,0 a 85,0 % e o FPC é de 5 vezes. Outro sistema pré-concentrador investigado neste trabalho de Tese é a extração/pré-concentração envolvendo o ponto nuvem. São investigados dois complexantes, o (1-(2-piridilazo) 2-naftol (PAN) e o O,O - dietil ditiofosfato de amônio (DDTP). Triton X-114 é empregado como surfactante. Uma solução de NaCl de 1% (m/v) é utilizada para induzir a formação do ponto nuvem sem a necessidade de aquecimento. Os efeitos de outros fatores também são avaliados (tempo de complexação, volume da solução padrão de Cd e volume de Triton X-114 e volume da solução de etanol adicionado

para diluir a micela). Os resultados obtidos variando o tempo de complexação mostram que os valores de FPC, para ambos sistemas complexantes, permanecem praticamente constantes na faixa de tempo avaliada, enfatizando a formação instantânea do complexo Cd-PAN e Cd-DDTP. É otimizada a concentração do DDTP (de 0,01 - 0,2 mol L⁻¹) e do PAN (de 2,7 x 10⁻⁶ - 2,7 x 10⁻⁵ mol L⁻¹). Um FPC máximo (6,5) é obtido quando empregamos PAN a 1,0 x 10⁻⁵ mol L⁻¹ e DDTP a 0,05 mol L⁻¹ (6,3), respectivamente. Para os dois sistemas complexantes (Cd-PAN e Cd-DDTP) é observado uma diminuição no FPC de Cd com o aumento da concentração do surfactante, sendo que Triton X-114 a 0,04 % (m/v) apresenta maior resposta analítica. Foram avaliados volumes de etanol/HNO₃ variando de 400 a 1800 µL. Os resultados mostram que 400 µL de etanol/HNO₃ corresponde ao melhor fator de pré-concentração para o Cd, sendo observado um FPC de 16 e 19 vezes quando empregou Cd-PAN e Cd-DDTP, respectivamente. Após a metodologia otimizada, a mesma é aplicada para a pré-concentração de cádmio em amostras como cigarro (tabaco), água de lagoa, água mineral e soro fisiológico com quantificação por espectrometria de absorção atômica por chama. Recuperações de 93 a 107% foram obtidas para todas as amostras analisadas.

Pre-concentration by electrostacking and cloud point for determination of arsenic and cadmium in environmental and biological samples

Author: Luciana Melo Coelho

Adviser: Prof. Dr. Marco Aurélio Zezzi Arruda

Abstract

The propose of this work is to study two pre-concentration systems for the determination of metallic ions by flame atomic absorption spectrometry (FAAS) and electrothermal atomic absorption spectrometry (ETAAS). First, the use of the bi-directional electrostacking system (BDES) for the pre-concentration and speciation of As(V) and total As in water samples employing ETAAS technique was related. In the refered system, the As (V) is pre-concentrated applying the potential difference, such as capillary electrophoresis (CE). The parameters investigated for As pre-concentration are: sampling zone (150 μ L aliquot collected sequentially), sample tube dimension (12.4 e 4.1 cm in length), voltage (500, 750 and 1000 V), time employed in the voltage application (5, 10, 15, 20 and 40 min), pH of the sample (4.0; 7.0; 8.0 and 12.0), nature of buffer solution (Tris/HCl, glycine/NaOH and $\text{H}_3\text{BO}_3/\text{NaOH}$) and buffer concentration (0.05 - 0.2 mol L^{-1}). In such case, the better conditions for the pre-concentration of As(V) are: voltage of 750 V applied during 20 min and using the buffer $\text{H}_3\text{BO}_3/\text{NaOH}$ in the concentration of 0,05 mol L^{-1} . In such conditions is possible to obtain a pre-concentration factor (PF) as 5 times. The pre-concentration of As (III) applying the same system optimize for the As (V) was also studied. Notwithstanding, this system condition was not efficient for the pre-concentration of As (III). In this case, the As (III) is oxidized to As(V) using KMnO_4 and H_2SO_4 . The oxidation efficiency ranges from 75.0 to 85.0 % and the PF is also 5 folds. Another pre-concentration system investigated is the extraction/pre-concentration based on the cloud point. Two complexing agents (1-(2-pyridilaze) 2-naphtol (PAN) and O,O - diethyl ditiophosphate ammonia (DDTP) was investigated. Triton X-114 is employing as surfactant. A NaCl 1% (m/v) solution is used to induce the cloud point formation without heating. Others effects are studied (the complexation time, Cd standard volume and Triton X-114 volume and volume of ethanol added to dilute the micelle). The obtained results changing the complexation time show that the values of PF remain constant for both systems tested. Additionally the DDTP (from 0.01

to 0.2 mol L^{-1}) and PAN (from 2.7×10^{-6} to $2.7 \times 10^{-5} \text{ mol L}^{-1}$) concentration is optimized. Employing PAN at $1.0 \times 10^{-5} \text{ mol L}^{-1}$ concentration a maximum PF (6.5) is obtained, and for DDTP at 0.05 mol L^{-1} the PF is 6.3. A decrease on PF of Cd is observed for these two systems (Cd-PAN e Cd-DDTP) when increased the surfactant concentration, being that using with Triton X-114 at 0.04 % (m/v) a better analytical result was obtained. The volumes between 400 to 1800 μL of ethanol/ HNO_3 were evaluated. The results show that ethanol/ HNO_3 volume of 400 μL correspond to the best pre-concentration factor for Cd, and a PF of 16 and 19 times was observed when Cd-PAN and Cd-DDTP was used respectively. After optimized the methodology, it is apply for pre-concentration of Cd in cigarette sample, lake water, mineral water and physiology solution with quantification by flame atomic absorption spectrometry. Good recoveries were obtained for all analyzed samples.

Sumário

Lista de acrônimos e abreviaturas.....	xiv
Lista de figuras.....	xvi
Lista de tabelas.....	xvii
Lista de quadros.....	xviii
1. Introdução geral.....	1
2. Objetivos gerais.....	2
3. Estrutura da tese.....	3
4. Referências bibliográficas.....	3
Capítulo 1: Pré-concentração e especiação de arsênio empregando o sistema de "electrostacking" bidirecional e determinação por espectrometria de absorção atômica com atomização eletrotérmica.....	5
1. Revisão bibliográfica.....	6
1.1. Considerações gerais.....	6
1.2. Sistema de "electrostacking" bidirecional e analogia com a eletroforese capilar.....	7
1.3. Eletroforese capilar.....	9
1.4. Pré-concentração ("stacking") na eletroforese capilar.....	9
1.5. Arsênio: ocorrência, toxicidade e aplicações.....	13
1.6. Especiação, separação e pré-concentração das espécies de arsênio....	14
1.7. Oxidação de As(III) a As(V).....	15
2. Objetivos.....	16
3. Parte experimental.....	16
3.1. Instrumentação e acessórios.....	16
3.2. Reagentes e soluções de referência.....	17
3.3. Amostras.....	18

3.4. Oxidação de As(III) a As(V).....	19
3.5. Sistema de "electrostacking" bidirecional e condições operacionais.....	19
3.6. Cálculo do fator de pré-concentração (FPC).....	22
4. Resultados e discussões.....	22
4.1. Estudo da zona de amostragem.....	22
4.2. Estudo da dimensão do tubo da amostra.....	23
4.3. Estudo do potencial e do tempo de aplicação do potencial.....	24
4.4. Estudo da influência do pH da amostra.....	25
4.5. Estudo das condições tamponantes.....	27
4.6. Estudo da influência do tempo de aplicação do potencial na pré-concentração de As(V) empregando o tampão $H_3BO_3/NaOH$	29
4.7. Avaliação do desempenho analítico.....	30
4.8. Determinação de As total em amostras de água.....	31
4.9. Especiação de As(III) e As(V).....	34
5. Conclusões parciais.....	37
6. Referências bibliográficas.....	37
Capítulo 2: Aplicação do ponto nuvem para a extração e pré-concentração de cádmio e determinação por espectrometria de absorção atômica com chama.....	42
1. Revisão bibliográfica.....	43
1.1. Surfactantes.....	43
1.2. Fenômeno do ponto nuvem.....	46
1.3. Aplicações analíticas do ponto nuvem.....	48
1.4. Cádmio: ocorrência, toxicidade e aplicações.....	49
2. Objetivos.....	51

3. Parte experimental.....	51
3.1. Instrumentação e acessórios.....	51
3.2. Reagentes e soluções de referência.....	52
3.3. Metodologia analítica.....	53
3.4. Amostras.....	54
4. Resultados e discussões.....	55
4.1. Efeito do pH na complexação do cádmio.....	55
4.2. Efeito do tempo na complexação do cádmio.....	56
4.3. Efeito da concentração dos complexantes.....	57
4.4. Efeito da concentração do surfactante.....	59
4.5. Efeito da relação de volumes entre soluções de referência contendo cádmio e Triton X-114 sobre a pré-concentração de cádmio.....	61
4.6. Efeito da concentração de NaCl.....	62
4.7. Efeito do volume de etanol.....	64
4.8. Estudo dos possíveis interferentes para ambos sistemas complexantes.....	66
4.9. Avaliação do desempenho analítico.....	68
4.10. Determinação de cádmio em amostras de água, soro fisiológico e tabaco.....	69
5. Conclusões parciais.....	71
6. Conclusões gerais.....	71
7. Referências bibliográficas.....	72

Lista de acrônimos e abreviaturas

AAS	Espectrometria de Absorção Atômica (do inglês, Atomic Absorption Spectrometry)
APDC	Amônio Pirrolidina Ditiocarbamato (do inglês, Ammonium Pyrrolidine Dithiocarbamate)
BDES	Sistema de “Electrostacking” Bidirecional (do inglês, Bidirectional Electrostacking System)
CE	Eletroforese Capilar (do inglês, Capillary Electrophoresis)
CMC	Concentração Micelar Crítica
DAB	4-(dodecildimetilamônio) butirato
DDTP	O,O - Dietil Ditiofosfato de Amônio
EDL	Lâmpada de Descarga sem Eletrodo (do inglês, Electrodeless Discharge Lamp)
EDTA	Ácido Etileno Diaminotetracético
ETAAS	Espectrometria de Absorção Atômica com Atomização Eletrotérmica (do inglês, Electrothermal Atomic Absorption Spectrometry)
FAAS	Espectrometria de Absorção Atômica com Chama (do inglês, Flame Atomic Absorption Spectrometry)
HDTB	Brometo de Hexadeciltrimetilamônio
HPCE	Eletroforese Capilar de Alta Eficiência (do inglês, High Performance Capillary Electrophoresis)
HPLC	Cromatografia Líquida de Alta Eficiência (do inglês, High Performance Liquid Chromatography)
ICP-MS	Espectroscopia de Massa com Plasma Indutivamente Acoplado (do inglês, Inductively Coupled Plasma Mass Spectroscopy)
ICP OES	Espectroscopia de Emissão Ótica com Plasma Indutivamente Acoplado (do inglês, Inductively Coupled Plasma Optical Emission Spectroscopy)
ITP	Isotacoforese (do inglês, Isotachophoresis)
IUPAC	União Internacional de Química Pura e Aplicada (do inglês, International Union of Pure and Applied Chemistry)
LD	Limite de Detecção

LQ	Limite de Quantificação
OMS	Organização Mundial de Saúde
PAN	1-(2-piridilazo) 2-naftol
FPC	Fator de Pré-concentração (do inglês, Preconcentration Factor)
PI	Ponto Isoelétrico
PONPE 7.5	Poli-oxietileno-nonil-fenil-éter
RSD	Desvio Padrão Relativo (do inglês, Relative Standard Deviation)
SDS	Dodecilsulfato de sódio
TA	Tubo da Amostra
Tris	Tris(hidroximetil)aminometano
Triton X-114	Octilfenoxipoliétoxietanol

Lista de figuras

Figura I.1: Esquema de um sistema para eletroforese capilar.....	7
Figura I.2: Modo de separação e pré-concentração por isotacoforese.....	10
Figura I.3: Diagrama esquemático da unidade de BDES. TA: tubo da amostra; C: conectores de acrílico; TT: tubos contendo o tampão; IC: injetor comutador; B1 e B2: bombas peristálticas. Pontos a, b, c e d indicam a direção do fluxo.....	20
Figura I.4: Variação da concentração de As(V) em função do número de coletas (n=3). Condições: 9,0 $\mu\text{g L}^{-1}$ (pH 7) de As(V); solução tampão Tris/HCl (0,1 mol L^{-1} ; pH 9), TA: 12,4 cm de comprimento; 1000 V; 10 min.....	23
Figura I.5: Variação da concentração de As(V) em função da variação do tempo de aplicação do potencial (n=3). Os símbolos ■, ● e ▲ indicam 500, 750 e 1000 V, respectivamente. Condições: 9,0 $\mu\text{g L}^{-1}$ (pH 7) de As(V); solução tampão Tris/HCl (0,1 mol L^{-1} ; pH 9), TA: 4,1 cm de comprimento.....	25
Figura I.6: Variação da concentração de As(V) em função da variação do pH da amostra (n=3). Condições: 9,0 $\mu\text{g L}^{-1}$ de As(V); solução tampão Tris/HCl (0,1 mol L^{-1} ; pH 9), TA: 4,1 cm de comprimento; 750 V; 20 min.....	26
Figura I.7: Diagrama esquemático do equilíbrio químico das espécies de As(III) e As(V) de acordo com o pH do meio.....	26
Figura I.8: Variação da concentração de As(V) em função da variação da concentração do tampão $\text{H}_3\text{BO}_3/\text{NaOH}$ (n=3) Condições: 9,0 $\mu\text{g L}^{-1}$ (pH 7) de As(V); solução tampão $\text{H}_3\text{BO}_3/\text{NaOH}$ (pH 9), TA: 4,1 cm de comprimento; 750 V; 20 min.....	28
Figura I.9: Variação da concentração de As(V) em função do tempo de aplicação do potencial (n=3). Condições: 9,0 $\mu\text{g L}^{-1}$ (pH 7) de As(V); solução tampão $\text{H}_3\text{BO}_3/\text{NaOH}$ 0,05 mol L^{-1} (pH 9), TA: 4,1 cm de comprimento; 750 V.....	30
Figura II.1: Representação da estrutura de uma molécula de surfactante.....	43
Figura II.2: Representação da formação do agregado micelar.....	44
Figura II.3: Esquema representativo de uma micela normal (a) e reversa (b).....	45
Figura II.4: Representação da formação e agregação das micelas; M: metal complexado....	46
Figura II.5: Estrutura do surfactante Triton X-114.....	47
Figura II.6: Estrutura do complexante DDTP (a) e do seu quelato com um metal M (b).....	57
Figura II.7: Equilíbrio ácido-base do ligante PAN. (a) forma protonada, $\text{pH} < 2,5$; (b) forma neutra, $12 < \text{pH} < 2,5$; (c) forma aniônica, $\text{pH} > 12$	57
Figura II.8: Variação da concentração de Cd em função da concentração dos complexantes PAN (a) e DDTP (b) (n=3). Condições: 0,25 % (m/v) de Triton X-114 para	

Cd-PAN e 0,87 % (m/v) de Triton X-114 para Cd-DDTP.....	58
Figura II.9: Variação da concentração de Cd em função da concentração de Triton X-114 usando PAN (a) e DDTP (b) como agentes complexantes (n=3). Condições: $1,0 \times 10^{-5}$ mol L ⁻¹ de PAN e 0,05 mol L ⁻¹ de DDTP.....	60
Figura II.10: Visualização da fase rica para diferentes concentrações de Triton X-114: (a) 0,25; (b) 0,50; (c) 0,75; (d) 2,55 e (e) 5,0% m/v depois de centrifugar e (f) 2,55 % (m/v) antes de centrifugar.....	60
Figura II.11: Variação da concentração de Cd em função da concentração de NaCl. A concentração de NaCl de 0% (m/v) corresponde à pré-concentração de Cd induzida por aquecimento. Condições: para o complexo Cd-PAN, $1,0 \times 10^{-5}$ mol L ⁻¹ de PAN e 0,25 % (m/v) de Triton X-114; para o complexo Cd-DDTP, 0,05 mol L ⁻¹ de DDTP e 0,25 % (m/v) de DDTP.....	63
Figura II.12: Variação da concentração de Cd em função do volume de etanol (n=3); valores normalizados. Condições: para o complexo Cd-PAN, $1,0 \times 10^{-5}$ mol L ⁻¹ de PAN, 0,25 % (m/v) de Triton X-114 e 1,0% (m/v) de NaCl; para o complexo Cd-DDTP 0,05molL ⁻¹ de DDTP, 0,25 % (m/v) de Triton X-114 e 1,0 % (m/v) de NaCl.....	65

Lista de tabelas

Tabela I.1: Programa usado para a determinação de As por ETAAS.....	17
Tabela I.2: Procedimento de operação do sistema de BDES.....	21
Tabela I.3: Testes de adição e recuperação na determinação de As em água mineral empregando o sistema de BDES.....	32
Tabela I.4: Composição química das amostras de água analisadas e a razão entre o arsênio adicionado ($10 \mu\text{g L}^{-1}$) e as diversas espécies químicas (possíveis interferentes) presentes nestas amostras.....	33
Tabela I.5: Concentrações de As(III), em $\mu\text{g L}^{-1}$, determinadas sem o sistema de BDES e com o sistema de BDES (n=3).....	34
Tabela I.6: Resultados obtidos para uma solução de referência de $10,0 \mu\text{g L}^{-1}$ na oxidação de As(III) a As(V) empregando KMnO_4 em meio ácido.....	35
Tabela I.7: Determinação de As(V) e As total em amostras de água coletadas na região de Ouro Preto (n=3).....	36
Tabela II.1: Estudo da relação de volumes entre as soluções de referência de Cd e Triton X-114. Resultados de Cd complexado expressos em $\mu\text{g L}^{-1}$ (n=3).....	62

Tabela II.2: Características analíticas dos métodos desenvolvidos empregando ponto nuvem na presença do eletrólito NaCl (1% m/v).....	68
Tabela II.3: Determinação de Cd em amostras de água mineral, soro fisiológico, água da lagoa e digeridos de tabaco empregando o método Cd-DDTP e adição de NaCl.....	69
Tabela II.4: Determinação de Cd em água mineral e soro fisiológico empregando o método Cd-PAN.....	70
Tabela II.5: Determinação de Cd em amostras de tabaco (n=4) empregando FAAS e ETAAS.....	70

Lista de quadros

Quadro II.1: Estrutura de surfactantes de diferentes classes.....	44
Quadro II.2: Limites de tolerância das espécies interferentes na determinação de 100 µg L ⁻¹ de cádmio (erro menor que 5%).....	67

1. Introdução geral

O desenvolvimento industrial ocorrido nas últimas décadas tem sido um dos principais responsáveis pela contaminação das águas e solos por diversos tipos de poluentes. Dentre estes poluentes podemos citar os metais e metalóides considerados tóxicos [1]. Entre os mais perigosos estão o cádmio, o chumbo e o arsênio.

Muitos desses elementos são encontrados em baixas concentrações (ao nível de $\mu\text{g L}^{-1}$), sendo necessário o uso de técnicas analíticas altamente sensíveis e seletivas, que alcançam limites de detecção com ordens de grandeza relativamente baixas [2].

A espectrometria de absorção atômica (AAS) é geralmente reconhecida como uma técnica analítica versátil e que apresenta limites de detecção, na ordem de mg L^{-1} para o FAAS, e de $\mu\text{g L}^{-1}$ para o ETAAS [3]. Sobre as vantagens da AAS podemos destacar a rapidez das análises e o custo reduzido quando comparado a outras técnicas como o ICP-MS ou ICP OES. As principais limitações desta técnica são os efeitos de interferência de matriz e a dificuldade em determinar algumas espécies metálicas que se encontram a níveis baixos [4].

Embora o desenvolvimento da instrumentação tenha possibilitado avanços em muitos aspectos da Química Analítica, em muitos casos a instrumentação disponível não apresenta sensibilidade analítica suficiente para a determinação de elementos a baixas concentrações [5, 6], havendo necessidade de se combinar procedimentos analíticos com a instrumentação disponível. Um recurso é a introdução de uma ou mais etapas de tratamento da amostra, bem como etapas de separação/pré-concentração.

Segundo a IUPAC, a pré-concentração é definida como uma operação (ou processo) no qual a razão entre a concentração do microcomponente (elemento traço) e da matriz aumenta [7]. O processo de seleção do método de pré-concentração adequado para uma determinada análise depende de vários fatores, entre eles, dos constituintes da amostra, dos elementos a serem determinados, da especificidade ou seletividade da operação, da velocidade do processo, da simplicidade do método e da necessidade de garantir condições de trabalho seguras ao analista [8].

As etapas de separação e pré-concentração não somente aumentam a concentração da espécie de interesse, como também eliminam, em grande parte, a presença de concomitantes [6], além de permitir, em alguns casos, a especiação do elemento de interesse [9]. Por outro lado, essas etapas são ainda o “calcanhar de Aquiles” de todo o

procedimento analítico, devido ao fato de serem lentas, apresentarem a possibilidade de contaminação e a perda das espécies de interesse durante o manuseio da amostra [10].

Desta forma, a separação e a pré-concentração de espécies metálicas em diferentes matrizes têm sido extensivamente investigadas com a utilização de um grande número de ferramentas analíticas. Os métodos de pré-concentração usualmente utilizados são: co-precipitação, volatilização, extração líquido-líquido, resinas trocadoras de íons, eletrólise, extração em fase sólida, entre outros [6, 11, 12]. Existem métodos em que as etapas de separação e pré-concentração podem ser realizadas empregando-se sistemas em fluxo. Nestes casos, normalmente utiliza-se a extração em fase sólida, com diferentes materiais adsorventes, como, por exemplo, carvão ativado, sílica modificada (C_{18}) e resinas quelantes, bem como materiais adsorventes alternativos que incluem casca de arroz, vermicomposto, algas e bactérias [13 - 16]. Sistemas de pré-concentração em fluxo também podem ser conduzidos sem a necessidade de empregar materiais adsorventes. Muitos desses sistemas são relativamente recentes, como, por exemplo, o sistema de “electrostacking” (traduzido pelos autores por “eletro-empilhamento”) bidirecional (BDES) [17], motivo pelo qual se adotou este sistema no desenvolvimento de parte deste trabalho de Tese. Outra ferramenta analítica, não tão recente como o BDES, mas que podemos considerar alternativa, é a aplicação de sistemas micelares, mais precisamente o ponto nuvem, para a extração e pré-concentração de espécies metálicas [18].

2. Objetivos gerais

No intuito de propor e estudar novos procedimentos de pré-concentração, a presente Tese tem por objetivo avaliar o sistema de BDES na pré-concentração e especiação de As(III) e As(V) em amostras de água (mineral, rio e proveniente de áreas de mineração), seguida da determinação por espectrometria de absorção atômica com atomização eletrotérmica (ETAAS).

Esta Tese também consiste em empregar o procedimento de ponto nuvem na extração e pré-concentração de cádmio, avaliando dois agentes complexantes, o 1-(2-piridilazo) 2-naftol (PAN) e o O,O - dietil ditiofosfato de amônio (DDTP).

Devido à relevância toxicológica do cádmio e do arsênio e das fontes potenciais de introdução destes metais no ambiente, torna-se necessário a busca pelo desenvolvimento

de metodologias suficientemente sensíveis e exatas para permitir a determinação desses elementos em vários tipos de amostras.

3. Estrutura da tese

Para um melhor entendimento desta Tese, o seu conteúdo foi dividido em dois capítulos em conformidade com as técnicas analíticas utilizadas para a pré-concentração e determinação das espécies químicas. O primeiro capítulo foi dedicado à avaliação do BDES para a pré-concentração de espécies de arsênio (As(III) e As(V)). O segundo capítulo trata da aplicação do ponto nuvem para a extração e pré-concentração de cádmio com posterior determinação por FAAS.

4. Referências bibliográficas

- [1] Manta, D. S.; Angelone M.; Bellanca A.; Neri R.; Sprovieri M.; Heavy metals in urban soils: a case study from the city of Palermo (Sicily), Italy. *Sci Total Environ.* **300** (2002) 229 - 243.
- [2] Shemirani, F.; Baghdadi, M. ; Ramezani, M.; Preconcentration and determination of ultra trace amounts of arsenic(III) and arsenic(V) in tap water and total arsenic in biological samples by cloud point extraction and electrothermal atomic absorption spectrometry. *Talanta* **65** (2005) 882 - 887
- [3] Welz, B. **Atomic Absorption Spectrometry**. Wiley-VCH, Weinheim (1985).
- [4] Soylak, M.; Karatepe, A. U.; Elci, L.; Dogan, M.; Column preconcentration/separation and atomic absorption spectrometric determinations of some heavy metals in table salt samples using amberlite XAD-1180. *Turk. J. Chem.* **27** (2003) 235 - 242.
- [5] Carasek, E.; Tonjes J. W.; Scharf, M.; Pré-concentração de chumbo e cádmio em um sistema de micro extração líquido-líquido e determinação por espectrometria de absorção atômica por chama. *Quim. Nova* **25** (2002) 748 - 752.
- [6] Luna, A. S. **Química Analítica Ambiental**, Ed. UERJ, 2003, Rio de Janeiro, Brasil.
- [7] Jackwerth, E.; Mizuike, A.; Zolotov, Y. A.; Berndt, H.; Höhn, R.; Kuzmin, N. M.; Separation and preconcentration of trace substances .1. Preconcentration for inorganic trace analysis. *Pure Appl. Chem.* **51** (1979) 1195 - 1211.

- [8] Zolotov, Y. A.; Kuzmin N. M.; **Preconcentration of trace elements**, Wilson & Wilson's, Comprehensive Analytical Chemistry, vol. 25, Elsevier Science Publishing Company Inc., New York, 1990.
- [9] Koh, J.; Kwon, Y.; Pak, Y. N.; Separation and sensitive determination of arsenic species ($\text{As}^{3+}/\text{As}^{5+}$) using the yeast-immobilized column and hydride generation in ICP-AES. *Microchem. J.* **80** (2005) 195 - 199.
- [10] Kingston, H. M.; Jassie, L. B.; **Introduction to Microwave Sample Preparation - Theory and Practice**. American Chemical Society. Washinton, DC. 1988.
- [11] Cave, M. R.; Butler, O.; Cook, J. M.; Cresser, M. S.; Garden, L. M.; Holden, A. J.; Miles, D. L.; Atomic Spectrometry Update: environmental analysis. *J. Anal. At. Spectrom.* **14** (1999) 279 - 352.
- [12] Van Grieken, R.; Preconcentration methods for the analysis of water by x-ray spectrometric techniques. *Anal. Chim. Acta* **143** (1982) 3 - 34.
- [13] Tarley, C. R. T.; Arruda, M. A. Z.; Biosorption of heavy metals using rice milling by-products. Characterisation and application for removal of metals from aqueous effluents. *Chemosphere* **54** (2004) 987 - 995.
- [14] Pereira, M. G.; Arruda, M. A. Z.; Vermicompost as a natural adsorbent material: characterization and pontentialities for cadmium adsorption. *J. Braz. Chem. Soc.* **14** (2003) 39 - 47.
- [15] Dziwulska, U.; Bajguz, A.; Godlewska-Zylkiewicz, B.; The use of algae *Chlorella vulgaris* immobilized on cellex-T support for separation/preconcentration of trace amounts of platinum and palladium before GFAAS determination. *Anal. Lett.* **37** (2004) 2189 - 2203.
- [16] Godlewska-Zylkiewicz, B.; Analytical applications of living organisms for preconcentration of trace metals and their speciation. *Crit. Rev. Anal. Chem.* **31** (2001) 175 - 189.
- [17] He, Y.; Cervera, M. L.; Pastor, A.; de la Guardia, M.; Determination of chromium(III) and chromium(VI) in mineral water by bidirectional electrostacking and electrothermal atomic absorption spectrometry. *Anal. Chim. Acta.* **447** (2001) 135 - 142.
- [18] H. Watanabe, H. Tanaka, A non-ionic surfactant as a new solvent for liquid-liquid extraction of zinc(II) with 1-(2-pyridilazo)-2-naphthol, *Talanta* **25** (1978) 585 - 589.

CAPÍTULO 1

PRÉ-CONCENTRAÇÃO E ESPECIAÇÃO DE ARSÊNIO EMPREGANDO O SISTEMA DE “ELECTROSTACKING” BIDIRECIONAL E DETERMINAÇÃO POR ESPECTROMETRIA DE ABSORÇÃO ATÔMICA COM ATOMIZAÇÃO ELETROTÉRMICA

1. Revisão bibliográfica

1.1. Considerações gerais

A eletroforese é um método de separação baseado na diferença de velocidade de migração de espécies carregadas em uma solução-tampão por meio da qual tenha sido aplicado um campo elétrico [1]. Esta técnica de separação foi desenvolvida pelo químico sueco Arne Tiselius na década de 1930 para o estudo de proteínas de soro sanguíneo [2]. Devido ao seu trabalho inovador, em 1948 Tiselius foi agraciado pelo prêmio Nobel de Química [2]. Existem vários tipos de eletroforese, sendo a eletroforese capilar a mais empregada atualmente.

A eletroforese capilar (CE) vem alcançando uma posição de destaque entre as técnicas de separação, bem como na determinação de compostos iônicos e moléculas ionizáveis, por sua alta eficiência e poder de resolução, constituindo uma alternativa atraente para as técnicas cromatográficas [3, 4]. No entanto, a maior limitação desta técnica está na sua baixa sensibilidade e reprodutibilidade quanto à quantificação de compostos inorgânicos em concentrações na ordem de $\mu\text{g L}^{-1}$ [5, 6], sendo necessário o uso de etapas de pré-concentração.

Existem vários modos de se realizar a pré-concentração dos analitos na CE. Um deles, chamado de “stacking”, foi primeiramente sugerido por Mikkers *et al.* [7]. Neste tipo de pré-concentração, a natureza do tampão na amostra e no capilar é a mesma, porém, o tampão utilizado para diluir a amostra está a uma concentração aproximadamente 10 vezes menor do que aquele presente no capilar [8]. Quando um campo elétrico é aplicado, ocorre a migração dos íons em direção à fronteira amostra-tampão [8, 9]. Quando os íons ultrapassam esta fronteira entre a amostra e a solução tampão, eles experimentam um campo elétrico menor e diminuem de velocidade, ocorrendo, assim, o processo de pré-concentração (“electrostacking”). Do ponto de vista prático é fácil realizar o “electrostacking” na CE, uma vez que não existe a necessidade de combinar várias etapas de pré-concentração ou equipamentos especiais [6].

Com base nesta teoria, He *et al.* [9] desenvolveram um sistema inovador onde eles aplicaram o princípio do “stacking” para separar e pré-concentrar simultaneamente Cr(III) e Cr(VI). Neste sistema, chamado de “electrostacking” bidirecional (BDES) é utilizado um

sistema em fluxo e a amostra é transportada, por meio de uma bomba peristáltica, para o interior de um tubo. Esse tubo é construído por meio do acoplamento de duas seringas de polipropileno. As espécies de crômio pré-concentradas por este sistema foram posteriormente determinadas por ETAAS.

Uma vez que a mesma teoria envolvendo a CE é empregada também no sistema de BDES, inicialmente será dada ênfase à CE e, posteriormente, ao BDES, nesta revisão bibliográfica.

1.2. Sistema de "electrostacking" bidirecional e analogia com a eletroforese capilar

Na CE a separação eletroforética é realizada injetando uma pequena quantidade de amostra em uma solução tampão aquosa contida em um tubo estreito (capilar). Um alto potencial é aplicado ao longo do comprimento do capilar por meio de um par de eletrodos localizados nas duas extremidades do capilar. Esse potencial faz os íons da amostra migrarem em direção a um ou outro eletrodo. A Figura 1.1 ilustra a instrumentação empregada na HPCE [10].

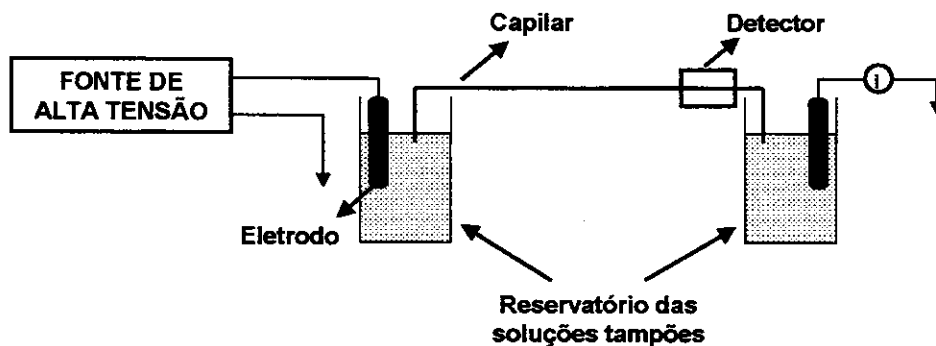


Figura 1.1: Esquema de um sistema para eletroforese capilar

Um capilar de sílica fundida, preenchido com solução tampão, tipicamente com 10 a 100 μm de diâmetro interno e 40 a 100 cm de comprimento, estende-se entre dois reservatórios de solução tampão, que também contém dois eletrodos de platina. A introdução da amostra é feita numa extremidade e a detecção na outra. A polaridade da fonte de alta tensão pode ser invertida para permitir a separação, ora de ânions ora de cátions [10].

Para a introdução da amostra na CE, os métodos mais comuns são: a injeção eletrocinética e a injeção por pressão. Para a injeção eletrocinética, uma extremidade do capilar e seu eletrodo são removidos do compartimento do tampão e colocados em um recipiente pequeno que contém a amostra. Um potencial é, então, aplicado por um tempo determinado, fazendo com que a amostra penetre no capilar. O terminal do capilar e o eletrodo são, então, colocados de volta na solução tampão. Esse tipo de introdução da amostra permite que íons que possuem maior mobilidade tenham preferência sobre os íons mais lentos [10].

Com a injeção por pressão, a extremidade do capilar usada para a introdução da amostra também é colocada momentaneamente em um pequeno recipiente que contém a amostra e uma diferença de pressão é usada para introduzir a solução da amostra no capilar. A diferença de pressão pode ser devido a aplicação de um vácuo na extremidade do detector, por pressurização da amostra ou elevando a sua extremidade. A injeção por pressão não discrimina quanto à mobilidade do íon, mas não pode ser usada em capilares preenchidos com gel [10].

No sistema de “electrostacking” desenvolvido nesta Tese, emprega-se instrumentação semelhante a HPCE. As diferenças fundamentais estão no capilar, o qual foi substituído por um tubo de polipropileno, na detecção, que é feita posterior a coleta das frações das amostras, e na forma de introdução da amostra que é feito utilizando uma bomba peristáltica. Além do mais, enquanto o sistema de “electrostacking” consegue separar e pré-concentrar simultaneamente cátions e ânions, a CE realiza a separação somente de cátions ou de ânions [10].

Assim, a mesma teoria eletroforética empregada na HPCE é aplicada também no sistema de “electrostacking”, ou seja, a velocidade de migração de uma dada espécie depende de sua carga e também do seu tamanho. As separações são, então, baseadas nas diferenças das relações carga-tamanho dos vários analitos em uma amostra. Quanto maior esta razão, mais rápido um íon migra no campo elétrico.

Nesta Tese, o sistema de BDES foi empregado para separar e pré-concentrar espécies inorgânicas de arsênio (arsenito e arsenato) em amostras de água.

1.3. Eletroforese capilar

Atualmente, as separações por eletroforese são feitas em dois formatos bastante diferentes: um é chamado de eletroforese em placa e a outra eletroforese capilar de alta eficiência (HPCE), também conhecida como eletroforese capilar (CE). O primeiro é um método clássico que foi e continua sendo usado para separar espécies complexas, de alta massa molecular e de interesse bioquímico e biológico. As separações em placa são feitas sobre uma fina camada plana ou placa de gel poroso semi-sólido que contém uma solução-tampão aquosa nos seus poros. Quando a separação está completa, a corrente é interrompida e as espécies separadas são visualizadas como manchas, de modo análogo ao descrito na cromatografia em camada delgada [10].

A CE, que é uma versão instrumental da eletroforese, foi desenvolvida e usada apenas a partir dos anos 1980 e tornou-se um importante método de separação [10]. Este tipo de eletroforese faz separações com alta resolução e alta velocidade, em volumes de amostra excepcionalmente pequenos (0,1 a 10 nL). Na saída do capilar, as espécies separadas são eluídas, de modo que detectores, como os de cromatografia líquida de alta eficiência (HPLC) podem ser usados.

O número de publicações científicas sobre CE aumentou exponencialmente de 23 em 1987 para 1235 em 1997, e o primeiro instrumento de eletroforese capilar foi comercializado em 1989 [11]. Esse crescimento deve-se ao fato da técnica de CE possuir uma série de vantagens, tais como, rapidez, versatilidade, baixo custo por análise, alto poder de separação (resolução) e consumo mínimo de amostras, reagentes e solventes. Entretanto, essa técnica possui algumas limitações, pois não é adequada para a determinação de compostos voláteis e de massa molar muito baixa. Além do mais, a quantidade de amostra necessária é muito pequena, o que corresponde a 2 % do volume total do capilar. Essa é uma vantagem da CE sobre a HPLC, mas que ao mesmo tempo é uma limitação, uma vez que a eletroforese pode apresentar baixa sensibilidade [12], sendo necessário o uso de etapas de pré-concentração.

1.4. Pré-concentração ("stacking") na eletroforese capilar

Na CE, a melhora na sensibilidade pode ser realizada por modificações no capilar [10] e por pré-concentração dos analitos presentes na amostra utilizando extração em fase sólida ou líquida [13, 14].

No caso da modificação do capilar, existem várias maneiras que foram sugeridas para aumentar o comprimento do capilar justamente onde está localizado o detector. Uma delas está disponível no mercado e envolve a curvatura da extremidade do capilar na forma de "Z". Existem outras técnicas, como, por exemplo, um bulbo é formado na região do detector, gerando um aumento da ordem de três vezes no comprimento do caminho óptico [10].

Existem também os métodos eletroforéticos em linha que podem ser empregados para aumentar a sensibilidade da CE. Entre eles temos a isotacoforese (ITP), o "electrostacking", a focalização isoelétrica e a injeção com campo amplificado [15 - 18]. A maioria desses métodos tem em comum a mudança de velocidade dos íons (v) por algum artifício, que pode ser uma mudança na concentração iônica, na natureza da solução tampão-suporte ou no pH do meio reacional [6].

Um método eletroforético empregado na pré-concentração de analitos é a isotacoforese. Nesse método, todas as bandas de analito migram na mesma velocidade. Daí o nome *iso* para igual e *taco* para velocidade. Tanto cátions como ânions podem ser separados, mas não ambos ao mesmo tempo. Em uma separação por isotacoforese, a amostra é injetada entre duas soluções tampão: a primeira contendo íons de maior mobilidade do que qualquer dos íons presentes na amostra, e a final, com íons de mobilidade mais baixa do que a dos íons da amostra [10]. Por exemplo, na separação de ânions, os íons cloreto que se movem muito rapidamente devem estar contidos na primeira solução-tampão e os íons heptanoato que se movem lentamente devem estar no tampão final. Quando o potencial é aplicado, os íons migram como em eletroforese por zona, cada íon com sua velocidade única. Essa diferença nas velocidades de migração resulta na separação de várias espécies do analito em bandas adjacentes, com a espécie mais rápida localizada em uma banda imediatamente adjacente ao primeiro tampão (de maior mobilidade) e a mais lenta precedendo imediatamente o tampão terminal (de menor mobilidade) [10]. Depois que as bandas se formam, elas movem-se na mesma velocidade. A Figura 1.2 ilustra a pré-concentração por ITP.

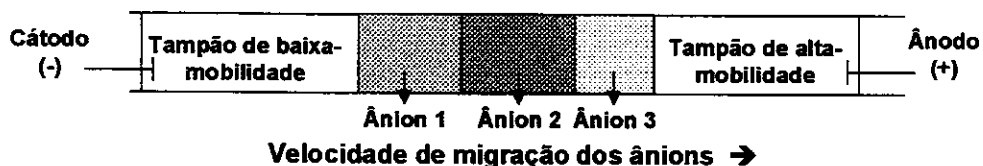


Figura 1.2: Modo de separação e pré-concentração por isotacoforese.

Na focalização isoeletrica, as substâncias anfóteras são separadas com base em seus pontos isoeletricos (PI). Essa técnica é baseada na formação de um gradiente de pH, obtido pelo uso de substâncias conhecidas como anfólitos, que são geralmente ácidos poliméricos (poliaminoácidos, ácidos carboxílicos ou ácidos polissulfônicos) [10]. Neste tipo de separação, é necessário um passo adicional, pois as espécies de interesse não podem ser detectadas *in situ*, pois quando elas atingem o seu PI, param de se movimentar dentro do capilar e, portanto, não atingem a cela do detector. Esse passo pode ser feito de diferentes maneiras. Após a focalização, as zonas podem ser movidas no capilar, em direção ao detector, por meio de pressão, que pode ser obtida, por exemplo, elevando-se uma das extremidades do capilar, ou por adição de eletrólito [16, 19].

Chien e Burgi [20] introduziram o termo injeção com campo amplificado para descrever a pré-concentração com a injeção eletrocinética. Para realizar essa pré-concentração, a amostra deve ser preparada em água. O capilar é preenchido com o eletrólito suporte e uma pequena quantidade de água é injetada no capilar antes da amostra. O emprego da água é para assegurar um alto campo elétrico no ponto da injeção.

Alguns artigos têm discutido sobre o emprego do “electrostacking” como uma técnica de pré-concentração e separação em eletroforese, descrevendo os princípios básicos, os diferentes métodos de “electrostacking”, os mecanismos de pré-concentração e o desenvolvimento de metodologias [6 - 9]. Em todas as técnicas de “electrostacking”, tampões de diferentes tipos são a base para alterar a carga da espécie de interesse, além de modificar a força do campo elétrico, alterando, assim, a velocidade de cada íon [9, 20].

Vários métodos são usados empregando o “electrostacking”. Um deles, o “electrostacking” onde a amostra é diluída em acetonitrila, oferece várias vantagens, como, por exemplo, a remoção de proteínas e a tolerância a sais [8]. Um outro método é o “electrostacking” de campo elevado onde a amostra é preparada na mesma solução do tampão-suporte [5, 6, 9]. Neste caso, para realizar essa modalidade de “electrostacking”, a amostra de força iônica menor do que a solução tampão-suporte é injetada no capilar, sendo que os componentes da amostra migram no capilar sobre a influência de um campo elétrico. Sob a aplicação deste campo elétrico, a região de menor condutividade (amostra) apresenta uma força elétrica maior quando comparada com a região de maior condutividade (solução tampão-suporte). Uma vez que a velocidade do analito é diretamente proporcional a este campo, os íons migram rapidamente para a fronteira de

concentração entre a amostra e a solução tampão-suporte e a mudança abrupta da força elétrica nesta fronteira resulta na redução da velocidade dos íons e, conseqüentemente, estes se concentram nesta fronteira, ocorrendo, assim, o fenômeno de “electrostacking” [9].

Bachmann *et al.* [21] empregaram a eletroforese de zona capilar para separar 10 compostos orgânicos derivados do fenol. O procedimento de “electrostacking” foi utilizado com o objetivo de melhorar o limite de detecção desta técnica. Eles conseguiram um aumento de 10 vezes do sinal analítico. Segundo os autores, esse procedimento de pré-concentração pode ser adaptado para separar e pré-concentrar outros analitos orgânicos.

Wojtusik e Harrold [22] empregaram o “electrostacking” para pré-concentrar vários cátions e ânions, entre eles, Ca^{2+} , Mg^{2+} , Na^+ , Cl^- e NO_3^- . Eles investigaram alguns parâmetros como a natureza do tampão-suporte, o pH do tampão e a voltagem utilizada. Segundo os autores, a CE, juntamente com o “electrostacking” alcançou limites de detecção na ordem de $\mu\text{g L}^{-1}$.

Friedberg *et al.* [8] investigaram o efeito do pH, da força iônica da amostra e a natureza do tampão em dois tipos de sistema de “electrostacking”. Um adicionando acetonitrila à amostra, e, outro, adicionando à amostra um tampão com baixa força iônica. O “electrostacking” incluindo acetonitrila na amostra é mais conveniente para análise de amostras como aquelas de origem biológica ou alimentícia, uma vez que a acetonitrila elimina as proteínas presentes nessas amostras, as quais podem interferir nas análises, melhorando, conseqüentemente, a precisão do método. Os autores mostraram que os efeitos dos fatores investigados afetam grandemente o número de platôs e o tempo de migração. O “electrostacking” utilizando um tampão-suporte com baixa força iônica é mais bem empregado em amostras de águas, onde a interferência de matriz é praticamente inexistente.

Um método recentemente aplicado na separação e pré-concentração de espécies químicas é o “electrostacking” em linha [9, 23 - 26]. He *et al.* [9] desenvolveram esse tipo de sistema para separar e pré-concentrar simultaneamente espécies de Cr(III) e Cr(VI) em amostras de água mineral e em material certificado de referência. Neste sistema de pré-concentração, a amostra e a solução tampão-suporte são inseridas no sistema de fluxo por meio de uma bomba peristáltica. O tubo, onde fica localizada a amostra, é construído por meio do acoplamento de duas seringas de polipropileno. As espécies de cromo pré-concentradas são posteriormente determinadas por ETAAS. O efeito de “electrostacking”

foi avaliado, e suas propriedades de separação e concentração foram investigadas. Os resultados encontrados indicaram que a força do campo elétrico, a área da seção da amostra presente no tubo e a mobilidade iônica, são os principais fatores que influenciam na pré-concentração de Cr(III) e Cr(VI). Esse sistema pode ser empregado para separar e pré-concentrar outras espécies, como cádmio, nitrato e chumbo [23, 24, 26].

Uma das vantagens desse sistema é o fato de separar e pré-concentrar simultaneamente metais de diferentes cargas, possibilitando a hifenação de técnicas complementares, como a cromatografia de troca iônica e ICP-MS, para a determinação de ânions e cátions. Já na CE, empregando a pré-concentração por ITP, por exemplo, somente um tipo de íon, cátion ou ânion, pode ser separado durante o processo [9].

Atualmente, existem cinco trabalhos publicados sobre a utilização do sistema de BDES na pré-concentração de espécies metálicas, enfatizando a necessidade de se realizar vários estudos sobre esse sistema [9, 23 - 26].

1.5. Arsênio: ocorrência, toxicidade e aplicações

O arsênio não possui características de essencialidade, como ocorre com outros metais (zinco, cobre, manganês e cromo), constituindo-se objeto de preocupação dado a sua importância toxicológica, mesmo a baixas concentrações. O efeito tóxico deste elemento depende da forma em que ele se encontra, apresentando a seguinte ordem: arsina > compostos de As(III) inorgânico > compostos de As(V) inorgânico > compostos de As(III) orgânico > compostos de As(V) orgânicos > arsênio elementar [27, 28]. Os compostos orgânicos são reconhecidamente menos tóxicos que os inorgânicos e destes últimos os compostos trivalentes são os mais tóxicos. O As(III) inorgânico é 60 vezes mais tóxico que o As(V) inorgânico, enquanto arsenobetaína e arsenocolina tem baixa toxicidade [29].

Em seu estado natural, o arsênio é encontrado em vários minérios de antimônio e prata nos veios de rochas cristalinas e nos xistos. No Brasil, encontra-se associado às piritas nas jazidas de ouro do Estado de Minas Gerais [30]. Desta forma, a liberação de compostos de arsênio no meio ambiente pode ocorrer como um processo natural de disponibilização de arsênio no solo, como também pode estar associada a atividades antropogênicas. Existem vários processos industriais ligados ao uso do arsênio, como por exemplo, na produção de vidros, plásticos, produtos químicos farmacêuticos, materiais

semicondutores, e, também, com o uso de arsênio em inseticidas, raticidas, e fungicidas, embora seu uso nestas substâncias esteja em declínio [31]. Uma vez liberados no meio ambiente, compostos de arsênio atingem fontes de água como rios e lençóis freáticos, podendo chegar também aos sistemas municipais de tratamento de água [32]. Em águas naturais, os compostos de arsênio apresentam-se em concentrações que normalmente variam de 0,1 a 2 $\mu\text{g L}^{-1}$, podendo atingir valores de até 5300 $\mu\text{g L}^{-1}$, dependendo da composição geoquímica e da atividade antropogênica [33].

Em 1984, a OMS sugeriu que as águas potáveis deveriam ter, no máximo, 50 $\mu\text{g L}^{-1}$ de As. Com base em novas evidências toxicológicas, a OMS em 1993 estipulou que a concentração máxima de As em água deve ser 10 $\mu\text{g L}^{-1}$ [34]. Essa concentração máxima de 10 $\mu\text{g L}^{-1}$ é a mesma estabelecida pela Agência Nacional de Vigilância Sanitária (ANVISA), de acordo com a portaria de número 518 de 25 de março de 2004, que estabelece os procedimentos relativos ao controle de qualidade da água para consumo humano e seu padrão de potabilidade.

Uma longa exposição a compostos inorgânicos de arsênio pode gerar várias doenças tais como: conjuntivite, hiperqueratose, hiperpigmentação, doenças cardiovasculares, distúrbios no sistema nervoso central e vascular periférico, câncer de pele e gangrena nos membros [35, 36].

A biodisponibilidade e os efeitos fisiológicos e toxicológicos do arsênio dependem de sua forma química, e o conhecimento da especiação e transformação no meio ambiente torna-se importante, necessitando de métodos adequados para a separação, pré-concentração e especiação [37].

1.6. Especiação, separação e pré-concentração das espécies de arsênio

Antigamente, a determinação da concentração total de um dado elemento parecia ser suficiente para todas as considerações clínicas e ambientais. Hoje já não é mais assim. Embora o conhecimento da concentração total de um elemento ainda seja muito útil, é essencial, em muitos esquemas analíticos, a determinação das espécies químicas na qual o elemento está distribuído [38].

Atualmente, sabe-se que a determinação da concentração total de um elemento é uma informação limitada, especialmente no que diz respeito sobre o seu comportamento no meio ambiente e aos danos que pode causar à saúde. As propriedades físicas, químicas,

biológicas e toxicológicas são dependentes da forma química em que o elemento está presente [38]. Por exemplo, a medida da concentração total de arsênio, não indica os verdadeiros níveis de cada espécie individualmente. Para estimar o risco envolvido, é preciso levar em consideração a variação na toxicidade, o transporte e a biodisponibilidade, que são dependentes das formas químicas na qual o arsênio está presente. Por isto a necessidade de métodos analíticos que ajudem a diferenciar essas formas [39].

Em estudos de especiação, as etapas de amostragem, preservação da amostra, estocagem e tratamento das amostras devem ser seguidas corretamente, de modo a não modificar o equilíbrio das espécies. Portanto, estudos práticos de especiação devem envolver um protocolo para assegurar a exatidão e representatividade dos dados experimentais [39].

Diferentes técnicas de separação e detecção podem ser utilizadas para estudos de especiação [40]. No entanto, a grande maioria destas técnicas é limitada, pois não tendem a combinar uma capacidade de separação eficiente e a sensibilidade e seletividade para a detecção. A Espectroscopia Atômica, por causa da alta temperatura usada nos atomizadores, oferece aplicações limitadas para especiação [40]. Os sinais atômicos são baseados na presença de átomos livres no estado fundamental ou excitados. É difícil obter diferentes sinais como função das formas químicas do metal a ser determinado. No entanto, é possível utilizar a Espectroscopia Atômica por meio de hifenação entre alguns processos de separação/pré-concentração [40]. A HPLC é uma técnica altamente eficiente para separação de várias espécies químicas [41]. No entanto, os detectores utilizados na HPLC não são versáteis e suficientemente sensíveis quando aplicados à determinação de baixas concentrações.

As etapas analíticas que precedem a especiação devem ser executadas com muito cuidado para assegurar a estabilidade das espécies químicas presentes nas amostras. O BDES é um método adequado para especiação, pois, durante a aplicação do potencial, não ocorre modificação no equilíbrio das espécies de arsênio.

1.7. Oxidação de As(III) a As(V)

Em água, o arsênio pode apresentar em vários estados de oxidação, sendo as principais formas o arsenito (As(III)), o arsenato (As(V)), o ácido monometilarsônico e o

ácido dimetilarsínico. As espécies inorgânicas As(III) e As(V) estão presentes em maior quantidade [42].

De acordo com a literatura, existem duas razões para que a oxidação de As(III) a As(V) seja realizada. Primeiro, o As(III) é muito mais tóxico do que o As(V) e, segundo, os processos de tratamento de As(III) são menos eficientes do que para o As(V). Isso ocorre porque em amostras de água, na faixa de pH até 10,0, As(III) apresenta-se como uma espécie neutra, enquanto que a espécie As(V) está negativamente carregada [43].

No caso deste trabalho, a razão para a necessidade da oxidação de As(III) a As(V) está no fato de que em testes preliminares, empregando o sistema BDES para separar/pré-concentrar as espécies As(III) e As(V), foi verificado que o As(III) não responde eficientemente ao sistema pré-concentrador. Provavelmente, isso ocorreu, uma vez que o As(III) apresenta-se na forma de uma espécie neutra na faixa de pH utilizada neste trabalho ($7,0 \pm 0,2$). Assim, toda otimização da metodologia deste primeiro capítulo foi realizada empregando o As(V) e, posteriormente, aplicou-se essa mesma metodologia para a determinação indireta do As(III) em amostras de água, após sua oxidação a As(V).

2. Objetivos

O objetivo desta parte da Tese foi a avaliação da técnica de “electrostacking” para pré-concentração e separação das espécies de As(III) e As(V) empregando o sistema de BDES. Foram avaliados os parâmetros que afetam o processo de pré-concentração, utilizando, para isto, soluções de referência contendo As(V). Após a otimização das variáveis envolvidas no sistema, a metodologia foi aplicada à determinação de As(III) e As(V), em amostras de águas mineral e de rio e água proveniente de processos de mineração, empregando a ETAAS como técnica de determinação. As espécies de arsênio investigadas foram as inorgânicas, devido à alta toxicidade dessas espécies.

3. Parte experimental

3.1. Instrumentação e acessórios

Para a pré-concentração de arsênio empregando o sistema de BDES, foi utilizada uma fonte de eletroforese, modelo EPS 1001 (Pharmacia Biotech - Upsala, Suíça), a qual

permite o emprego de uma voltagem, corrente e potência máximas de 1000 V, 400 mA e 100 W, respectivamente. Durante a seleção da voltagem, a corrente e a potência foram selecionadas para ser 10 mA e 10 W, respectivamente, e durante o processo de pré-concentração o máximo de corrente obtida pela fonte de alimentação foi menor do que 6,2mA.

Um potenciômetro Digimed, modelo D20 (Santo Amaro, Brasil) e um condutivímetro da Micronal, modelo B331 (São Paulo, Brasil) foram usados para as medidas de pH e da condutividade das soluções tampão, amostras e soluções de referência, respectivamente. Também foi utilizada uma chapa de aquecimento da marca Marconi modelo MA 4025 (Piracicaba, Brasil) para o preparo da ponte salina.

Para a quantificação de arsênio, foi empregado um espectrômetro de absorção atômica com atomização eletrotérmica (ETAAS) (Perkin-Elmer modelo AAnalyst 600) equipado com um sistema de correção de fundo baseado em efeito Zeeman, um sistema auto-amostrador e forno de grafite revestido piroliticamente. Como modificador químico foi utilizada uma solução de 0,05% de paládio em 0,03% de $Mg(NO_3)_2$.

Todas as medidas foram baseadas na absorbância integrada e realizadas a 193,7 nm. A lâmpada de descarga sem eletrodo - EDL (Perkin-Elmer) foi operada a 350 mA. As condições de operação recomendadas pelo fabricante para a determinação de arsênio são mostradas na Tabela I.1.

Tabela I.1: Programa usado para a determinação de As por ETAAS

Etapa	Temperatura (°C)	Rampa (s)	Tempo de permanência (s)	Vazão de Ar (mL min ⁻¹)
1-secagem	130	5	30	250
2-pirólise	1300	10	20	250
3-atomização	2300	0	5	0
4-limpeza	2450	1	3	250

3.2. Reagentes e soluções de referência

Todas as soluções foram preparadas com reagentes de grau analítico e água desionizada (18,2 MΩ cm) obtida do sistema de purificação Milli-Q (Millipore, Bedford, EUA) foi utilizada. Frascos de polipropileno foram empregados para o armazenamento das

soluções. Uma solução estoque de As(V) de 250 mg L^{-1} foi preparada a partir da dissolução de 0,53g do sal $\text{Na}_2\text{HAsO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$ (Fluka, EUA) em 500 mL de água desionizada. Soluções de referência de concentração 2 - $50 \text{ } \mu\text{g L}^{-1}$ foram preparadas por diluições apropriadas da solução estoque. Uma solução estoque de 500 mg L^{-1} de As(III) foi preparada pela dissolução de 0,66 g of As_2O_3 (Vetec, São Paulo, Brasil) em uma solução de 2,5% (m/v) de NaOH até dissolução do sólido. Ácido nítrico ($0,1 \text{ mol L}^{-1}$) foi utilizado nesta solução para que o pH do meio reacional ficasse em torno de $7,0 \pm 0,2$. Todas as soluções de referência de As(III) foram preparadas por diluições apropriadas da solução estoque. As soluções de referência de As(III) e As(V) possuíam os valores de condutividade e de pH em torno de $240 \text{ } \mu\text{S cm}^{-1}$ e 7,0, respectivamente.

Diferentes soluções tampão-suporte foram avaliadas, como soluções de tris(hidroximetil)aminometano (Tris) (Synth)/ácido clorídrico (Mallinckrodt), glicina (J. T. Baker)/hidróxido de sódio (Merck) e ácido bórico (Merck)/hidróxido de sódio. As concentrações, valores de pH e condutividade dessas soluções tampão foram $0,1 \text{ mol L}^{-1}$, 9,0 e $4,5 \text{ mS cm}^{-1}$, respectivamente.

Uma solução de cloreto de potássio (Merck) $0,01 \text{ mol L}^{-1}$ foi utilizada no ajuste da condutividade das soluções tampão, soluções de referência e amostras. Agar-agar (Synth) foi empregado para o preparo das pontes salinas. Para a especiação de arsênio, a oxidação do As(III) a As(V) foi conduzida empregando permanganato de potássio em meio ácido. Neste caso, uma solução de KMnO_4 (Vetec) de concentração 10 mg L^{-1} foi preparada por diluição apropriada da solução estoque (100 mg L^{-1}).

3.3. Amostras

Amostras de água mineral foram obtidas em supermercados da região de Campinas. A condutividade e o pH inicial variaram de 25 - $50 \text{ } \mu\text{S cm}^{-1}$ e 5,5 - 6,7, respectivamente. Após a adição de KCl, a condutividade foi ajustada entre 220 e $350 \text{ } \mu\text{S cm}^{-1}$ e o valor de pH das amostras foi ajustado para $7,0 \pm 0,2$. Para os testes de recuperação, uma alíquota de uma solução de referência de As(V) de concentração de $10 \text{ } \mu\text{g L}^{-1}$ foi adicionado nessas amostras de água mineral.

Diferentes amostras de água provenientes de rio, chafariz e em algumas minas abandonadas na região de Ouro Preto foram também utilizadas para a determinação de arsênio. A condutividade e o pH inicial dessas amostras foram medidos, e variaram de 19 a

107 $\mu\text{S cm}^{-1}$ e 5,2 a 7,6, respectivamente. Essas amostras foram coletas em 19 e 20 de Outubro de 2004 e armazenadas em frascos de polietileno revestidos com teflon da Nalgene. Essas amostras ficaram estocadas durante 4 meses em geladeira a aproximadamente 5°C sem adição de qualquer conservante. Após transcorridos os 4 meses, essas amostras foram utilizadas para estudos de especiação do As(III) e As(V) e, após a etapa de oxidação, que foi realizada com adição do KMnO_4 em meio H_2SO_4 , as mesmas apresentaram condutividade e pH em torno de 419 - 888 $\mu\text{S cm}^{-1}$ e 7,0 - 7,6, respectivamente.

3.4. Oxidação de As(III) a As(V)

Existem vários métodos que podem ser empregados para a oxidação de As(III) a As(V), sendo os mais comuns, os que utilizam reagentes como, monocloramina, cloreto férrico, radiação ultra-violeta, permanganato de potássio, entre outros. Petit de Peña *et al.* [44] utilizaram o KMnO_4 em meio ácido (H_2SO_4) para a oxidação do As(III) a As(V). Os resultados mostraram que o permanganato oxida rapidamente (33 s) o As(III) na faixa de pH 6,3 - 8,3, sendo observado uma eficiência de oxidação maior do que 95%.

Para este trabalho com o sistema de BDES, a oxidação de As(III) a As(V) foi conduzida empregando 500 μL de uma solução de referência de 1000 $\mu\text{g L}^{-1}$ e 1,5 mL de KMnO_4 (10 mg L^{-1}) em meio ácido (3,0 mL de H_2SO_4 0,01 mol L^{-1}). Essa mistura foi aquecida por cerca de 20 min a 40°C, e, após resfriamento, o excesso de KMnO_4 e o produto MnO_2 foram removidos pela adição de algumas gotas de H_2O_2 3,0% (v/v), seguida de rápido aquecimento para eliminar o excesso de H_2O_2 . O volume desta mistura foi completado para 50 mL com água desionizada, com a concentração de arsênio tomando-se 10 $\mu\text{g L}^{-1}$. Em seguida esta solução foi conduzida para o sistema pré-concentrador (BDES) [44].

3.5. Sistema de "electrostacking" bidirecional e condições operacionais

A Figura I.3 ilustra o diagrama do sistema de BDES. Este sistema era composto de duas bombas peristálticas (Glattbrugg, Suíça), as quais foram empregadas para o transporte das soluções tampão-suporte (bomba B1) e para o transporte das soluções de referência e amostras (bomba B2).

Tubos de Teflon de 0,5 mm de diâmetro interno foram usados para a construção do sistema em fluxo. Faziam parte deste sistema 4 conectores de acrílico (C) com 4 saídas (0,5 e 1,5 mm de diâmetro interno), um tubo (TA) com 4,1 cm de comprimento e 1,2 cm de diâmetro interno, no qual a amostra era introduzida, dois tubos de PTFE (6,1 cm de comprimento por 1 mm de diâmetro interno) onde estava presente a solução tampão-suporte (TT), um injetor comutador de acrílico (IC) e dois tubos de PTFE onde estava localizada a ponte salina (esses tubos tinham 12 cm de comprimento por 1 mm de diâmetro interno). As pontes salinas foram feitas por dissolução de 4% (m/v) de agar-agar em 0,5 mol L⁻¹ da solução tampão, seguida de aquecimento a aproximadamente 60 °C até obter uma solução viscosa. O gel aquecido foi injetado nos tubos de PTFE com a ajuda de uma seringa e os terminais dos respectivos tubos foram vedados com algodão para garantir que o gel não escorresse. As pontes salinas foram imersas em um tubo contendo a solução tampão 0,5 mol L⁻¹ e mantidas sob refrigeração após seu uso. O tempo de vida útil das pontes salinas era de aproximadamente 60 h, quando a polaridade da fonte de alimentação EPS 1001 era alterada em cada experimento [9]. O tubo TA foi construído por meio do acoplamento de duas seringas de polipropileno de 1 mL cada. O sistema de BDES esquematizado na Figura I.3 foi operado de acordo com os procedimentos listados na Tabela I.2.

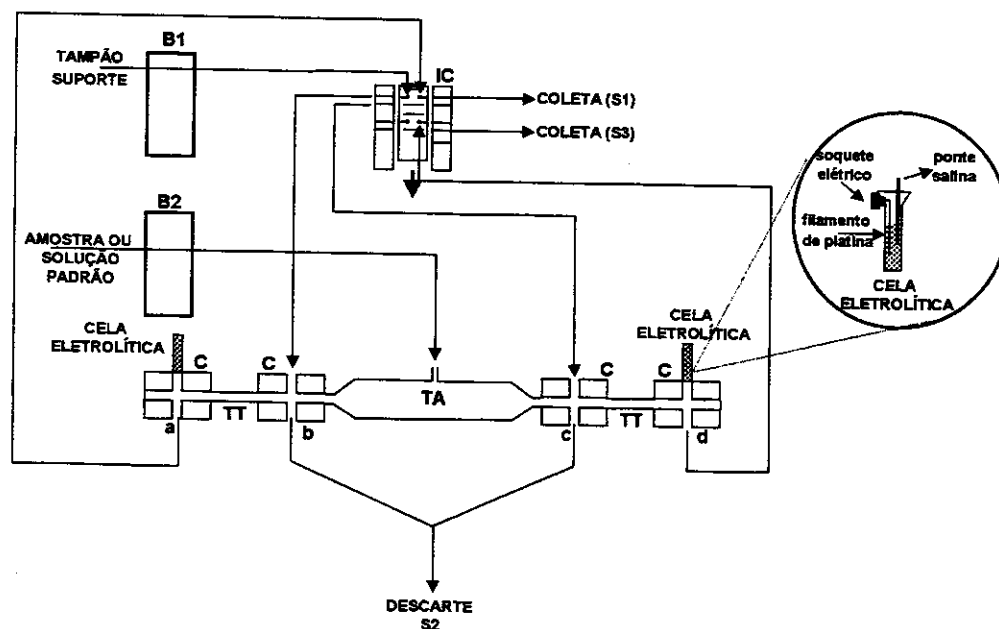


Figura I.3: Diagrama esquemático da unidade de BDES. TA: tubo da amostra; C: conectores de acrílico; TT: tubos contendo o tampão; IC: injetor comutador; B1 e B2: bombas peristálticas. Pontos a, b, c e d indicam a direção do fluxo.

Tabela I.2: Procedimento de operação do sistema de BDES.

Etapa	Função	Bomba B1 (mL min ⁻¹)	Bomba B2 (mL min ⁻¹)	Saída S1	Saída S2	Saída S3
1	Limpeza com água	desligada	6,5	fechada	aberta	fechada
2	Preenchimento com amostra	desligada	6,5	fechada	aberta	fechada
3	Preenchimento com tampão- suporte	2,5	desligada	aberta	fechada	fechada
4	Preenchimento com tampão- suporte	2,5	desligada	fechada	fechada	aberta
5	"Electrostacking"	desligada	desligada	fechada	fechada	fechada
6	Coleta	2,5	desligada	aberta*	fechada	aberta*

* as saídas S1 e S3 foram alternadamente abertas de acordo com a polaridade da cela eletrolítica.

Durante a primeira etapa, a bomba B1 estava desligada e água desionizada era conduzida para o tubo da amostra por meio da bomba B2 a uma vazão de 6,5 mL min⁻¹. Na segunda etapa, adotou-se o mesmo procedimento como na etapa anterior sendo que a água desionizada foi substituída pela solução de referência ou amostra. A direção do fluxo era do meio do tubo da amostra para suas extremidades (b e c) até a saída S2 (ver Fig I.3). Nas terceira e quarta etapas, que compreendiam o preenchimento da unidade de BDES com a solução tampão suporte, a bomba B2 estava desligada e a bomba B1 conduzia a solução tampão a uma vazão de 2,5 mL min⁻¹, em duas diferentes direções, as quais eram selecionadas por meio do injetor comutador. Quando o injetor comutador estava na posição de amostragem, a bomba B1 conduzia a solução tampão-suporte para o lado esquerdo da unidade de BDES até a saída S1. Quando o injetor comutador estava na posição de injeção, o lado direito da unidade de BDES era preenchido com a solução tampão-suporte até a saída S3. Deste modo, estava criada a fronteira entre a amostra e a solução tampão-suporte, a qual estava localizada nas extremidades do tubo da amostra (TA). A quinta etapa compreendia o processo de pré-concentração, e nesta etapa ambas as bombas estavam desligadas e todas as saídas estavam fechadas. Durante esta etapa, algumas variáveis como voltagem (500 - 1000 V) e o tempo de aplicação da voltagem (5 - 20 min)

foram investigadas. Na sexta etapa, depois de transcorrido o tempo sob estudo, a bomba B1 foi acionada para conduzir a amostra pré-concentrada aos frascos de coleta.

Para prolongar o tempo de vida das pontes salinas e das soluções do eletrodo, a polaridade da fonte era alternada em cada experimento. Caso contrário, as pontes salinas e as soluções do eletrodo deveriam ser freqüentemente substituídas [25]. Deste modo, amostras pré-concentradas eram algumas vezes coletadas na saída S1 da unidade de BDES ou na saída S3. Essa coleta ocorria alternadamente, conforme a polaridade da fonte de alimentação e a posição do injetor comutador. Em cada experimento, seis alíquotas de 150 μL da amostra pré-concentrada foram coletadas para a quantificação de As(V) por ETAAS.

Em seguida todo sistema de BDES foi lavado com água desionizada e procedeu-se a introdução da próxima amostra a ser pré-concentrada.

3.6. Cálculo do fator de pré-concentração (FPC)

Alguns autores têm estabelecido o FPC como a razão da inclinação das curvas analíticas com e sem a pré-concentração [45 - 47] e outros autores têm definido como a razão entre a concentração do analito na fase rica e a concentração do analito na solução aquosa inicial [48]. Neste capítulo, assim como no capítulo 2, a última definição foi adotada para o cálculo do FPC.

4. Resultados e discussões

4.1. Estudo da zona de amostragem

Como a pré-concentração de As(V) foi realizada empregando um sistema em fluxo e sua determinação realizada por ETAAS, foi necessário verificar a alíquota onde o FPC para o As(V) era o maior possível. Deste modo, seis alíquotas de 150 μL foram seqüencialmente coletadas em 6 tubos do auto-amostrador do ETAAS (1mL) e o As(V) determinado em cada uma delas.

De acordo com a Figura I.4, podemos observar que a terceira e a quarta alíquotas amostradas produziram os melhores resultados (FPC de 1,5 e desvio padrão relativo (RSD), expresso como repetibilidade, menor do que 4,0%).

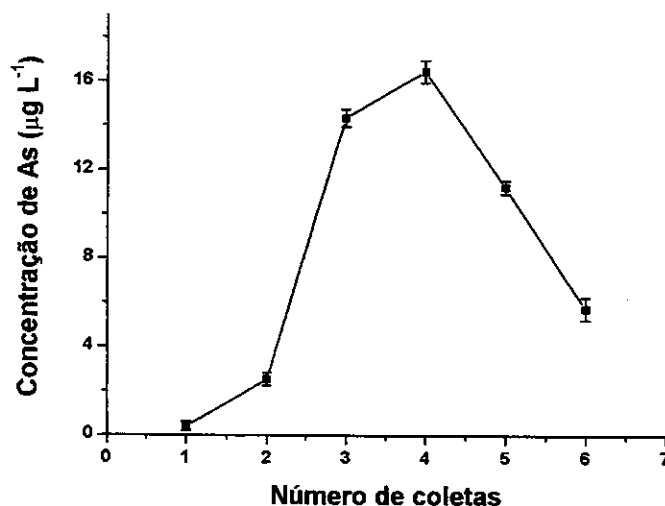


Figura I.4: Variação da concentração de As(V) em função do número de coletas ($n=3$). Condições: $9,0 \mu\text{g L}^{-1}$ (pH 7) de As(V); solução tampão Tris/HCl ($0,1 \text{ mol L}^{-1}$; pH 9), TA: 12,4 cm de comprimento; 1000 V; 10 min.

As condições usadas neste teste para potencial e tempo de aplicação do potencial foram 1000 V e 10 min, respectivamente, as quais foram baseadas em trabalho prévio [27]. Uma solução de referencia de $9 \mu\text{g L}^{-1}$ foi utilizada e o TA empregado foi de 12,4 cm de comprimento.

De acordo com o rótulo do tampão Tris/HCl, o mesmo apresenta pequenas quantidades de arsênio (máximo de 0,00002% m/m). Desta forma, para checar possíveis problemas com contaminação, o mesmo teste do estudo da zona de amostragem foi realizado, mas agora substituindo a amostra pela solução tampão-suporte. Baixas concentrações de As(V) ($0,5 \pm 0,1 \mu\text{g L}^{-1}$) foram determinadas, evidenciando que a quantidade de arsênio presente na solução tampão é muito baixa e não interfere nos resultados de pré-concentração das amostras.

Em todos os experimentos, Tris/HCl $0,1 \text{ mol L}^{-1}$ (pH 9) foi usado como solução tampão e o pH da amostra estava ajustado para 7,0.

4.2. Estudo da dimensão do tubo da amostra

No teste preliminar com o sistema de BDES apresentado na Figura I.3, o tubo da amostra foi diminuído de 12,4 para 4,1 cm de comprimento. Vale ressaltar que o volume interno do TA (2 mL) foi mantido constante nas duas situações. Com esta simples modificação o FPC obtido foi de 2,1 vezes. Este comportamento pode ser explicado, uma

vez que a velocidade do íon depende da intensidade do campo elétrico (E), e este, por sua vez, é determinado pela magnitude do potencial aplicado (V, volts) e pela distância (d) entre os eletrodos. Deste modo, a relação entre E, V e d é dada pela equação $E = V/d$. De acordo com esta equação, existe um aumento na velocidade de migração do íon quando a distância entre os eletrodos é diminuída [49].

Após esta modificação, as variáveis envolvidas no sistema de BDES como voltagem e tempo de sua aplicação, e outras como pH da amostra, bem como a natureza, pH e concentração da solução-tampão foram investigadas.

4.3. Estudo do potencial e do tempo de aplicação do potencial

Uma vez que o FPC obtido no experimento anterior foi muito baixo (FPC= 1,5), ambos potencial aplicado e tempo de aplicação deste potencial foram avaliados. Neste sentido, foram testadas as voltagens de 500, 750 e 1000 V durante o intervalo de tempo de 5, 10, 15 e 20 min. Tempos maiores não foram avaliados uma vez que a frequência analítica ficaria prejudicada. Em todos os experimentos, solução de referência de As(V) $9,0 \mu\text{g L}^{-1}$ e solução tampão Tris/HCl ($0,1 \text{ mol L}^{-1}$) foram usadas. Tempos maiores que 20 min não foram avaliados uma vez que a frequência analítica do método ficaria prejudicada.

Como pode ser observado na Figura 1.5, maior concentração de As(V) foi obtida quando 1000 V foi aplicado durante o intervalo de tempo de 20 min. Embora nessas condições os melhores resultados foram obtidos, na maioria das vezes, uma grande quantidade de bolhas era formada durante o processo de pré-concentração devido ao aumento de temperatura (fenômeno de aquecimento “Joule”) [1]. Esse fenômeno ocorre, uma vez que a condução da corrente elétrica através da solução resulta na geração de calor por meio da colisão friccional entre os íons de As(V) e as moléculas do tampão. Uma vez que altos campos elétricos são empregados no sistema de BDES, por um tempo relativamente longo (20 min) esse aquecimento torna-se substancial. Se o calor não é eficientemente dissipado a uma velocidade igual a sua produção, a temperatura dentro do sistema aumenta, sendo observado a formação de bolhas [1]. Conseqüentemente, essas bolhas interrompem o circuito elétrico, tornando o sistema de “electrostacking” instável.

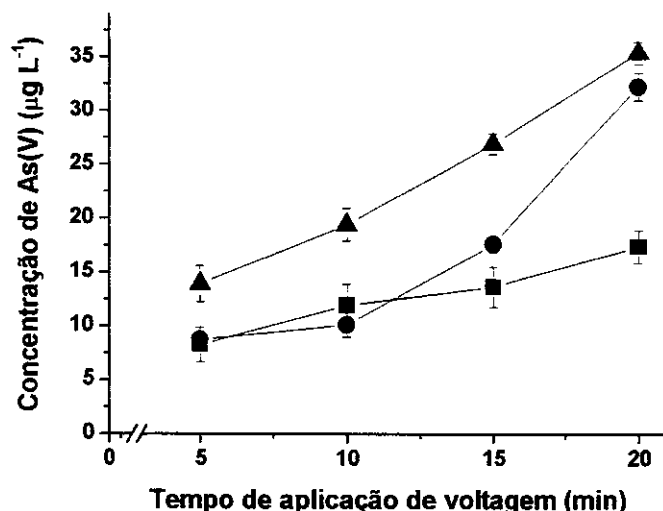


Figura I.5: Variação da concentração de As(V) em função da variação do tempo de aplicação do potencial (n=3). Os símbolos ■, ● e ▲ indicam 500, 750 e 1000 V, respectivamente. Condições: $9,0 \mu\text{g L}^{-1}$ (pH 7) de As(V); solução tampão Tris/HCl ($0,1 \text{ mol L}^{-1}$; pH 9), TA: 4,1 cm de comprimento.

Como um compromisso entre a resposta analítica e o desempenho do sistema de “electrostacking”, 750 V e 20 min foram selecionados para os próximos estudos. Nestas condições, melhor RSD (ca. 5%, como repetibilidade) e valores de FPC (ca. 3,7) foram obtidos. A condição de 0 V e 20 min também foi avaliada para checar a eficiência do sistema de “electrostacking”. Um resultado interessante foi obtido porque a espécie de As(V) não dispersou na solução tampão-suporte depois de transcorridos os 20 min. Assim, o resultado obtido ($0,56 \pm 0,11 \mu\text{g L}^{-1}$) reflete a concentração de arsênio presente na solução tampão-suporte. Esta concentração foi similar àquela descrita na seção 3.1.

4.4. Estudo da influência do pH da amostra

Espécies de As(III) e As (V) encontram-se em várias formas protonadas. A pH próximo de 7,0, a forma predominante do As(III) é o H_3AsO_3 , e para a espécie As(V) as formas predominantes são H_2AsO_4^- e HAsO_4^{2-} . Isto significa que em amostras de água naturais com faixa de pH entre 5 e 8, As(V) existe como um ânion, enquanto As(III) apresenta-se como uma molécula neutra. A espécie As(III) encontra-se como uma molécula negativa a pH maior que 9,2 [50]. Desta forma, torna-se importante avaliar os

valores de pH da amostra, pois este pode alterar e influenciar na mobilidade eletroforética do arsênio. Os valores de pH selecionados para esse estudo foram 4,0; 7,0; 8,0 e 12,0.

De acordo com a Figura 1.6, é possível notar que o pH 4,0 e 7,0 produziram melhores resultados, ao nível de FPC. Para valores maiores de pH (8,0 e 12) a concentração de As(V) diminuiu, consequentemente o FPC também.

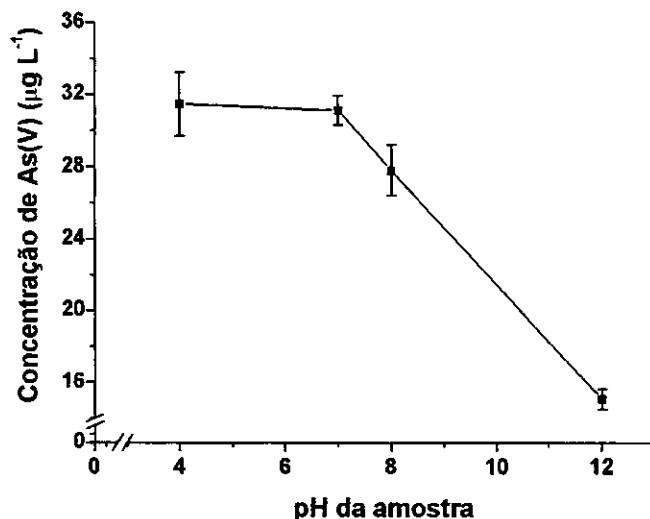


Figura 1.6: Variação da concentração de As(V) em função da variação do pH da amostra (n=3). Condições: 9,0 µg L⁻¹ de As(V); solução tampão Tris/HCl (0,1 mol L⁻¹; pH 9), TA: 4,1 cm de comprimento; 750 V; 20 min.

Compostos de As(III) e As(V) perdem um hidrogênio por dissociação de acordo com o pH do meio, conforme ilustra a Figura 1.7.

As(III)	H ₃ AsO ₃		H ₂ AsO ₃ ⁻		HAsO ₃ ²⁻
As(V)	H ₃ AsO ₄	H ₂ AsO ₄ ⁻	HAsO ₄ ²⁻		AsO ₄ ³⁻
pH	2,26	6,77	9,17	11,5	13,5

Figura 1.7: Diagrama esquemático do equilíbrio químico das espécies de As(III) e As(V) de acordo com o pH do meio.

Por meio deste diagrama podemos observar que a pH acima de 9,17, ambas as espécies de As(III) e As(V) coexistem e apresentam-se como ânions, não sendo

observado, portanto, uma mudança no estado de oxidação entre as formas inorgânicas, devido a alteração do pH do meio.

A diminuição do sinal analítico para As(V) com aumento do pH do meio pode ser provavelmente devido a interações que podem ocorrer entre o As(V) e os íons da solução tampão. Espécies de As(V) tomam-se rodeadas por uma atmosfera de cargas opostas devido a presença de íons Na^+ proveniente do NaOH. Isso provoca uma diminuição de velocidade de migração do As(V) para o ânodo. Como consequência, a mobilidade eletroforética é diminuída, ocorrendo uma diminuição da pré-concentração de As(V) [48].

Pelo fato das amostras normalmente apresentarem valores de pH próximo a 7,0, não sendo necessário, portanto, estar ajustando este parâmetro, o pH 7,0 foi escolhido como melhor resposta. Nesta situação, o RSD (como repetibilidade) foi de 3,0% e o FPC foi de 3,4.

4.5. Estudo das condições tamponantes

Nas separações por eletroforese, e conseqüentemente no sistema de BDES, as soluções tampão são de fundamental importância, uma vez que fornecem bom um controle do pH, permite modificar a mobilidade das espécies de interesse, além de fornecer suficiente condutividade para permitir a passagem da corrente elétrica, necessária para a migração dos analitos.

Os estudos realizados até o presente momento foram feitos empregando como sistema tamponante Tris/HCl (ST1), onde o reagente Tris apresenta um valor de pK de 8,06. Com o objetivo de promover uma melhora na pré-concentração da espécie As(V), outros dois sistemas tamponantes foram também testados, sendo eles: glicina + hidróxido de sódio (ST2) e ácido bórico + hidróxido de sódio (ST3), onde a glicina e o ácido bórico apresentam valores de pK de 9,78 e 9,23, respectivamente. Esses reagentes foram selecionados para compor o sistema tamponante devido a fácil disponibilidade no nosso laboratório e também pelo fato de que os valores de pKs serem próximos do pK do Tris. A concentração da solução tampão suporte foi de $0,1 \text{ mol L}^{-1}$, em pH 9,0, enquanto que a concentração da solução tampão presente na ponte salina foi de $0,5 \text{ mol L}^{-1}$ (pH 9,0). Esses valores foram estabelecidos de acordo com trabalho prévio [9] e foram os mesmos utilizados para o tampão Tris/HCl.

Os resultados obtidos para As(V) usando ST1, ST2 e ST3 foram respectivamente, $32 \pm 2 \mu\text{g L}^{-1}$ (FPC=3,6), $17 \pm 2 \mu\text{g L}^{-1}$ (FPC=1,9) e $43 \pm 2 \mu\text{g L}^{-1}$ (FPC=4,8).

Os resultados observados para o tampão glicina/NaOH podem ser explicados devido a viscosidade da glicina. Considerando os valores de pK do grupo carboxila e amina como sendo 2,35 e 9,78, respectivamente, o ponto isoelétrico é alcançado a pH 6,1. A este valor de pH as moléculas de glicina não se movem quando um campo elétrico é aplicado, enquanto que para valores maiores do que 6,1, as moléculas de glicina estão desprotonadas, ou seja, no pH utilizado neste experimento, as moléculas da glicina comportam-se como ânions [49]. Esperava-se, dessa forma, um aumento no FPC do As(V) quando este sistema tamponante fosse empregado. O baixo FPC obtido com esta solução tampão provavelmente pode estar relacionado com a alta viscosidade da glicina, a qual dificulta a migração do As(V) para o ânodo.

De acordo com os resultados obtidos, ácido bórico/NaOH foi selecionado para futuros experimentos.

Com a solução tampão já definida, a próxima etapa foi estudar a sua concentração. Neste caso, a concentração da solução tampão (ácido bórico/NaOH) foi estudada no intervalo de 0,05 a 0,2 mol L⁻¹. Resultados similares a 0,1 mol L⁻¹ foram obtidos para As(V) ($43,5 \pm 3,5 \mu\text{g L}^{-1}$) quando se empregou o tampão à concentração de 0,05 mol L⁻¹ (Figura I.8).

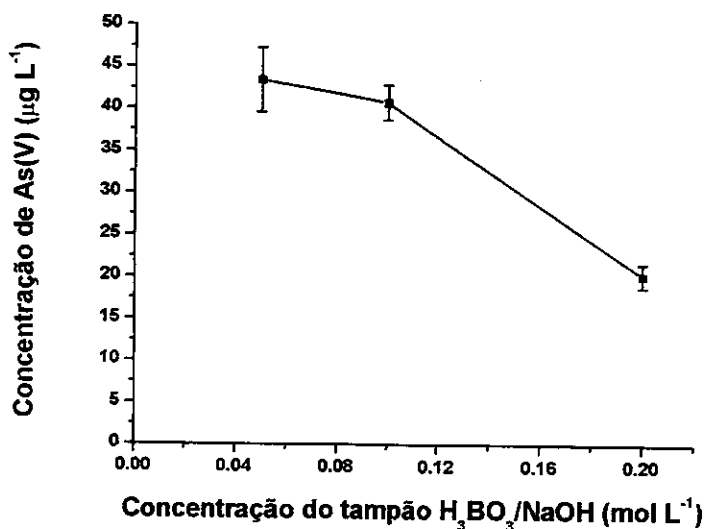


Figura I.8: Variação da concentração de As(V) em função da variação da concentração do tampão $\text{H}_3\text{BO}_3/\text{NaOH}$ (n=3). Condições: $9,0 \mu\text{g L}^{-1}$ (pH 7) de As(V); solução tampão $\text{H}_3\text{BO}_3/\text{NaOH}$ (pH 9), TA: 4,1 cm de comprimento; 750 V; 20 min.

Com o aumento da concentração da solução tampão suporte $\text{H}_3\text{BO}_3/\text{NaOH}$ ($0,2 \text{ mol L}^{-1}$), ouve uma diminuição da resposta analítica. Provavelmente existem interações entre a espécie de As(V) e os íons da solução tampão, assim como ocorreu durante a etapa de otimização do pH da solução tampão (seção 4.4). Essas interações são advindas da presença de íons Na^+ . Com o aumento da concentração de H_3BO_3 ($0,2 \text{ mol L}^{-1}$), existe também um aumento da concentração de NaOH e consequentemente mais íons Na^+ estavam presentes na solução. Espécie de As(V) tornam-se rodeadas por uma atmosfera de cargas positivas. Isso provoca uma diminuição de velocidade de migração do As(V) para o ânodo, ocorrendo uma diminuição da pré-concentração de As(V) . Outro fator que pode contribuir para a diminuição da resposta analítica, pode ser o aumento na viscosidade do meio reacional quando se trabalha com soluções mais concentradas do tampão. Provavelmente, essa mudança na viscosidade diminuiu a mobilidade da espécie As(V) , fazendo com que essa espécie não fosse pré-concentrada tão eficientemente quando se trabalha, por exemplo, com concentrações menores do tampão (soluções menos viscosas).

Neste sentido, a concentração da solução tampão-suporte ácido bórico/ NaOH foi fixada em $0,05 \text{ mol L}^{-1}$ e $0,5 \text{ mol L}^{-1}$ para solução tampão presente no eletrodo. Esses valores foram selecionados para manter uma grande diferença na concentração entre as duas soluções tampão, consequentemente melhorando o desempenho do sistema de “electrostacking” e o FPC.

4.6. Estudo da influência do tempo de aplicação do potencial na pré-concentração de As(V) empregando o tampão $\text{H}_3\text{BO}_3/\text{NaOH}$

Nesta parte do trabalho foi avaliado como o tempo de aplicação do potencial influencia na pré-concentração da espécie As(V) empregando o tampão $\text{H}_3\text{BO}_3/\text{NaOH}$. O mesmo intervalo de tempo estudado para o tampão Tris/HCl foi usado neste estudo, porém avaliamos também o tempo de 30 e 40 min. A voltagem aplicada foi fixada em 750 V.

De acordo com a teoria do “electrostacking”, o aumento do tempo de BDES é de grande vantagem para pré-concentrar íons em uma amostra. Por outro lado, ele também resulta num aumento da difusão térmica. Essa difusão corresponde na dispersão da espécie de interesse por meio do desenvolvimento de correntes de convecção ao longo do tubo do tampão-suporte. Os dois efeitos, “electrostacking” e difusão térmica trabalham em “sentidos” contrários [26]. Isto pode ser visto na Figura 1.9 no qual a concentração de As(V)

aumentou inicialmente com o aumento do tempo de aplicação do potencial e, então, diminuiu com aumento excessivo do tempo. O máximo de FPC foi alcançado em 20 min (PF=4,3).

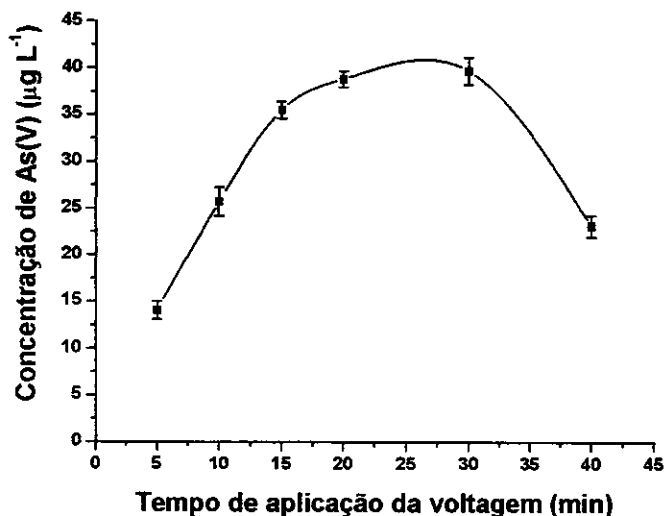


Figura I.9: Variação da concentração de As(V) em função do tempo de aplicação do potencial ($n=3$). Condições: $9,0 \mu\text{g L}^{-1}$ (pH 7) de As(V); solução tampão $\text{H}_3\text{BO}_3/\text{NaOH}$ $0,05 \text{ mol L}^{-1}$ (pH 9), TA: 4,1 cm de comprimento; 750 V.

Esse resultado era esperado, pois a velocidade de migração da espécie analítica é proporcional à força do campo elétrico e também ao tempo de aplicação desta força. Porém, com tempos excessivos de “electrostacking”, neste caso 40 min, começa predominar a difusão térmica. Assim como foi observado para o tampão Tris/HCl, uma grande quantidade de bolhas eram formadas durante o processo de pré-concentração devido ao aumento de temperatura.

4.7. Avaliação do desempenho analítico

Nas condições experimentais estabelecidas, isto é, voltagem aplicada de 750 V, tempo de aplicação de 20 min, tubo da amostra de 4,1 cm, pH 7,0 da amostra, concentração da solução tampão-suporte ácido bórico/NaOH fixada em $0,05 \text{ mol L}^{-1}$, o sistema BDES mostrou-se bastante robusto. Após um período de 8 h de trabalho, a inclinação da curva analítica apresentou poucas variações ($< 8\%$). Com o sistema de “electrostacking”, a curva analítica apresentou uma inclinação de 0,0061 com coeficiente de

correlação de 0,991. A precisão para uma solução de referência de $9,0 \mu\text{g L}^{-1}$ foi estimada como 5,0 % ($n = 9$ como repetibilidade) e 7,0 % ($n = 9$ como precisão intermediária).

Os limites de detecção e quantificação do método foram $0,3 \mu\text{g L}^{-1}$ e $1,2 \mu\text{g L}^{-1}$, respectivamente, de acordo com as definições da IUPAC [51], sendo que a técnica ETAAS apresenta como limites de detecção e quantificação $2,0 \mu\text{g L}^{-1}$ e $7 \mu\text{g L}^{-1}$, respectivamente. O método apresentou linearidade de até $50 \mu\text{g L}^{-1}$ e FPC cerca de 5 vezes.

4.8. Determinação de As total em amostras de água

Oito amostras de água mineral foram empregadas para avaliar a aplicabilidade do método. Duas dessas amostras de água mineral, que eram gaseificadas, foram sonicadas durante 30 min para eliminar o excesso de gás. Fez-se o ajuste do pH e da condutividade de todas as amostras de água mineral, e estes apresentaram os seguintes valores: $7,0 \pm 0,2$ e $220 - 350 \mu\text{S cm}^{-1}$, respectivamente.

Uma certa quantidade de uma solução de referência de As(V) foi adicionada a cada amostra de água mineral para obter uma concentração final de As(V) de $10,0 \mu\text{g L}^{-1}$. A recuperação obtida variou de 91 a 110% com RSD entre 3,0 e 7,0 % ($n=4$), como ilustra a Tabela I.3. Os FPC obtidos nessas amostras foram de 2,0 - 4,9. Quatro amostras de água apresentaram fatores de pré-concentração bastante próximos, sendo eles de 2,0 - 2,6.

Tabela I.3: Testes de adição e recuperação na determinação de As em água mineral empregando o sistema de BDES

Amostras de água mineral	Concentração de As adicionado ($\mu\text{g L}^{-1}$)	Concentração de As encontrado ^a ($\mu\text{g L}^{-1}$)	Recuperação ^b (%)	Fator de pré-concentração	Condutividade ($\mu\text{S cm}^{-1}$)
Água A	0	$2,5 \pm 0,3$	-		
	10	$13,7 \pm 1,7$	110	2,6	285
Água B	0	— ^c	-		
	10	$10,2 \pm 2,0$	95	3,4	230
Água C	0	$1,6 \pm 0,2$	-		
	10	$10,6 \pm 0,5$	91	4,9	220
Água D	0	— ^c	-		
	10	$9,6 \pm 0,6$	96	2,3	300
Água E	0	— ^c	-		
	10	$11,6 \pm 0,2$	109	4,0	240
Água F	0	$1,2 \pm 0,06$	-		
	10	$11,7 \pm 0,4$	104	2,2	340
Água G	0	— ^c	-		
	10	$10,6 \pm 0,3$	102	4,0	245
Água H	0	— ^c	-		
	10	$10,7 \pm 0,2$	107	2,0	350

^a Resultados expressos como valores médios $\pm$ desvio padrão (n=4).

^b Recuperação obtida em amostras “dopadas”.

^c < LQ.

A diferença nos valores dos FPC pode ser explicada bom base na condutividade das amostras. Segundo Yang *et al.* [26] amostras que possuem altos valores de condutividade tendem a apresentar maiores correntes elétrica. Conseqüentemente, esse aumento na corrente reduz ou prejudica a pré-concentração das espécies de interesse. Segundo esses mesmos autores, é aconselhável controlar a condutividade das amostras para, no máximo, $200 \mu\text{S cm}^{-1}$. Neste trabalho de Tese, as amostras listadas na Tabela I.3 apresentaram valores de condutividade entre 220 e $350 \mu\text{S cm}^{-1}$.

Neste trabalho de Tese, não foi realizado um estudo com interferentes para a determinação de arsênio utilizando a técnica de BDES. No entanto, as amostras de água mineral empregadas nos estudos de adição e recuperação apresentam diversas espécies químicas que podem interferir na pré-concentração do arsênio. A Tabela I.4 mostra as concentrações de algumas espécies químicas presentes nessas amostras de água mineral analisadas conforme descritas nos rótulos, e a razão entre o As(V) adicionado ($10 \mu\text{g L}^{-1}$) e as diversas espécies químicas (I = Interferente) presentes nestas amostras. Estas amostras são as mesmas citadas na Tabela I.3.

Tabela I.4: Composição química das amostras de água analisadas e a razão entre o arsênio adicionado ($10 \mu\text{g L}^{-1}$) e as diversas espécies químicas (possíveis interferentes) presentes nestas amostras.

Interf.	Água mineral A		Água mineral B		Água mineral C		Água mineral F	
	Conc. (mg L^{-1})	Razão As:I	Conc. (mg L^{-1})	Razão As:I	Conc. (mg L^{-1})	Razão As:I	Conc. (mg L^{-1})	Razão As:I
Ca^{2+}	6,22	1:622	13,23	1:1323	16,40	1:1640	26,40	1:2640
Mg^{2+}	9,06	1:906	4,96	1:496	8,34	1:834	10,30	1:1030
K^{+}	1,83	1:183	1,90	1:190	0,80	1:80	2,08	1:208
Na^{+}	22,36	1:2236	10,23	1:1023	1,20	1:120	34,48	1:3448
PO_4^{-3}	0,75	1:75	0,06	1:6	-	-	-	-
SO_4^{-2}	1,20	1:120	0,82	1:82	-	-	13,85	1:1385
HCO_3^{-}	122,12	1:12212	90,72	1:9072	95,44	1:9544	151,89	1:15189
F^{-}	0,52	1:52	0,06	1:6	-	-	0,138	1:13,80
NO_3^{-}	-	-	2,76	1:276	0,60	1:60	9,65	1:965
Cl^{-}	-	-	0,67	1:67	0,21	1:21	28,19	1:2819

As amostras de água mineral A, B, C e F apresentam FPC de 2,6, 3,4, 4,9 e 2,2, respectivamente. Pela Tabela I.4, podemos observar que as amostras A e F são as que apresentam maiores proporções entre o As: Na^{+} (1:2236 e 1:3448, respectivamente) e são também as que apresentam menores FPC. Assim como foi observado nos estudos do pH da amostra (seção 4.4) parece que Na^{+} é um interfere em potencial na pré-concentração de As(V). No entanto, os resultados obtidos experimentalmente mostram que o método

proposto pode ser aplicado em amostras para a pré-concentração de As(V) mesmo na presença de outras espécies químicas que possivelmente poderiam atuar como interferentes e comprometer a migração da espécie de arsênio para o ânodo.

4.9. Especificação de As(III) e As(V)

A metodologia otimizada empregando o sistema de BDES na pré-concentração da espécie de As(V) foi aplicada para a pré-concentração de As(III). No entanto, de acordo com testes preliminares foi observado que este sistema não é eficiente para a pré-concentração de As(III). Isto pode ser explicado, uma vez que essa espécie encontra-se como uma molécula neutra em quase toda a faixa de pH (até próximo de 10,0) [43]. A Tabela I.5 mostra os resultados obtidos para duas soluções padrão contendo As(III) nas concentrações de 5,0 e 10,0 $\mu\text{g L}^{-1}$, determinadas diretamente pelo ETAAS (sem utilizar o sistema de BDES), e utilizando o BDES seguido da determinação de As(III) por ETAAS. Neste caso, para avaliar a aplicabilidade do sistema BDES para As(III), essas mesmas soluções padrão foram inseridas no BDES e as coletas foram realizadas tanto no tubo da amostra quanto na saída do sistema de BDES (Figura I.3).

Tabela I.5: Concentrações de As(III), em $\mu\text{g L}^{-1}$, determinadas sem o sistema de BDES e com o sistema de BDES (n=3).

Sem BDES	com BDES	
	Frascos de coleta	Tubo da amostra
5,3 $\pm$ 0,1	1,0 $\pm$ 0,5	4,3 $\pm$ 0,5
11 $\pm$ 0,1	2,6 $\pm$ 0,8	8,6 $\pm$ 0,1

Os resultados comprovaram que As(III) realmente não é pré-concentrado pelo sistema de BDES, pois praticamente quase todo As(III) (cerca de 78%) permaneceu no tubo da amostra, sem sofrer migração para o ânodo. Uma saída encontrada para realizar a pré-concentração de As(III) por este sistema foi a de oxidar esta espécie a As(V). A oxidação foi conduzida empregando 500 μL de uma solução de referência de 10,0 $\mu\text{g L}^{-1}$ de As(III) e 1,5 mL de KMnO_4 (10,0 mg L^{-1}) em meio ácido (3,0 mL de H_2SO_4 0,01 mol L^{-1}). A eficiência dessa oxidação pelo KMnO_4 foi verificada preparando diariamente, e por cinco

dias seguidos, todas as soluções necessárias para a oxidação do As(III), inclusive a própria solução de referência de arsênio. A Tabela I.6 ilustra os resultados obtidos.

Tabela I.6: Resultados obtidos para uma solução de referência de $10,0 \mu\text{g L}^{-1}$ na oxidação de As(III) a As(V) empregando KMnO_4 em meio ácido.

Número de dias	Concentração de As(V) ($\mu\text{g L}^{-1}$)	
	Solução de referência	"Branco" analítico
1	48,2	0,98
2	52,8	0,83
3	53,3	0,95
4	51,1	0,88
5	49,4	0,80
Média dos resultados	$51,0 \pm 2,18$	$0,89 \pm 0,08$

Podemos observar que houve um aumento na concentração da solução de referência de As(III) de $10,0 \mu\text{g L}^{-1}$ para $51,0 \pm 2,18 \mu\text{g L}^{-1}$, ou seja, o FPC foi de 5 vezes. Vale ressaltar que de acordo com a metodologia otimizada para As(V), uma solução de referência de $10,0 \mu\text{g L}^{-1}$ dessa espécie apresenta um FPC de 5 vezes. Assim, os resultados mostrados na Tabela I.6 ilustra que houve uma oxidação efetiva do As(III) a As(V), apresentando uma eficiência de oxidação que variou entre 75,0 a 85,0 %. Essa oxidação não foi de 100% pois de acordo com a Tabela I.5, uma pequena quantidade de As(III) ($2,6 \pm 0,84 \mu\text{g L}^{-1}$) é encontrada nos frascos de coleta (essa concentração equivale a 22% de uma solução padrão de $11,0 \mu\text{g L}^{-1}$).

Soluções do "branco analítico" foram também preparadas em paralelo, as quais indicaram que não ocorreu contaminação [$0,89 \pm 0,08 \mu\text{g L}^{-1}$ de As(III)] advinda dos reagentes utilizados.

Esse procedimento de oxidação foi empregado para realizar a especiação de arsênio em cinco amostras de água provenientes da cidade de Ouro Preto, definidas na Tabela I.7 como amostras de água vindas de mineração (amostras 1, 2 e 3), de rio (amostra 4) e de chafariz (amostra 5). A concentração de As(III) foi calculada pela diferença da concentração de As total e As(V).

Tabela 1.7: Determinação de As(V) e As total em amostras de água coletadas na região de Ouro Preto (n=3).

Amostras	As total ($\mu\text{g L}^{-1}$)	As (III) ($\mu\text{g L}^{-1}$)	As (V) ($\mu\text{g L}^{-1}$)
1	$9,88 \pm 0,16$	$5,77 \pm 0,21$	$4,11 \pm 0,21$
2	$10,53 \pm 0,08$	$6,37 \pm 0,25$	$4,16 \pm 0,16$
3	$9,38 \pm 0,13$	$5,30 \pm 0,10$	$4,08 \pm 0,15$
4	$8,47 \pm 0,22$	--- ^a	$8,47 \pm 0,20$
5	$7,52 \pm 0,15$	$4,65 \pm 0,22$	$2,87 \pm 0,10$

^a < LD.

Antes de realizar a etapa de oxidação, foi determinada primeiramente a concentração de arsênio total nas amostras listadas na Tabela 1.7, as quais apresentaram valores de 106, 202, 94, 29, 17 $\mu\text{g L}^{-1}$ para as amostras de número 1, 2, 3, 4 e 5, respectivamente. A fim de realizar a especiação de arsênio nessas amostras e, conseqüentemente determinar a concentração de cada espécie inorgânica, foi realizada uma diluição em cada amostra, as quais apresentaram concentração de arsênio variando entre 7,52 e 10,53 $\mu\text{g L}^{-1}$, conforme ilustra a Tabela 1.7.

Como pode ser observado, somente na amostra de número 4 a concentração de As(III) está abaixo do limite de detecção do método. Todas as outras amostras apresentaram em maior quantidade a espécie As(III), a qual variou de 4,65 a 6,37 $\mu\text{g L}^{-1}$. Levando-se em conta as diluições ocorridas com essas amostras, suas concentrações, em termos de As(III), são 9,30 a 127 $\mu\text{g L}^{-1}$.

Vários trabalhos sugerem que em amostras de água sub-terrânea, a espécie As(V) prevalece sobre as demais [30]. Existem outros trabalhos os quais mostram que a espécie As(III) é predominantemente encontrada em amostras de águas [52]. Vários argumentos são empregados para explicar este fenômeno. De acordo com Hall *et al.*, a provável presença de As(III) em relação ao As(V) se deve a sua redução preferencial por bactérias presentes em águas [53]. Outros autores sugerem que o mecanismo que promove a mobilidade do As(III) em águas sub-terrâneas está nas condições de redução no qual óxidos de ferro reagem com arsênio [54]. Outro parâmetro essencial que pode influenciar nos estudos de especiação do arsênio envolve a apropriada preservação das amostras e o tempo de armazenagem. Nesta Tese, as amostras empregadas para especiação de As(III)

e As(V) ficaram estocadas durante 4 meses sob refrigeração. Esse longo tempo de armazenamento pode ter favorecido a redução das espécies de arsênio a As(III).

5. Conclusões parciais

O sistema de “electrostacking” bidirecional trata-se de um sistema alternativo e promissor para pré-concentração de espécies iônicas. Com exceção da fonte de alimentação e das bombas peristálticas, os materiais empregados na sua confecção são de baixo custo. Esse sistema pode ser empregado para separar e/ou pré-concentrar outras espécies catiônicas e aniônicas, como, por exemplo, chumbo e cromo.

Os resultados apresentados mostraram que as condições experimentais, como concentração da solução tampão-suporte, podem afetar a migração das espécies para fronteira amostra/solução tampão-suporte. Sendo assim, as melhores condições obtidas na pré-concentração de As(V) foram: voltagem aplicada de 750 V durante 20 min e empregando o tampão $\text{H}_3\text{BO}_3/\text{NaOH}$ como solução tampão-suporte na concentração de $0,05 \text{ mol L}^{-1}$. Nessas condições, foi possível obter um fator de pré-concentração cerca de 5 vezes.

6. Referências bibliográficas

- [1] Weinberger, R.; ***Practical Capillary Electrophoresis***, ed. Academic Press Inc., Califórnia, 1993.
- [2] Melvin, M.; ***Electrophoresis***, ed. Jonh Wiley & Sons, Londres, Inglaterra, 1987.
- [3] Altria, K. D; Elder, D.; Overview of the status and applications of capillary electrophoresis to the analysis of small molecules. *J. Chromatogr. A* **1023** (2004) 1 - 14.
- [4] Fritz, J. S.; Breadmore, M. C.; Hilder, E. F.; Haddad, P. R.; Use of ionic polymers as stationary and pseudo-stationary phases in the separation of ions by capillary electrophoresis and capillary electrochromatography. *J. Chromatogr. A* **942** (2002) 11 - 32.
- [5] Yang, Y.; Kang, J.; Lu, H.; Ou, Q.; Liu, F.; Determination of trace level anions in snow samples by capillary electrophoresis with sample stacking. *J. Chromatogr. A* **834** (1999) 387 - 391.
- [6] Shihabi, Z. K.; Stacking in capillary zone electrophoresis. *J. Chromatogr. A* **902** (2000) 107 - 117.

- [7] Mikkers, F. E. P.; Everaerts, F. M.; Verheggen, T. P. E. M.; High-performance zone electrophoresis. *J. Chromatogr. A* **169** (1979) 11 - 20.
- [8] Friedberg, M. A.; Hinsdale, M.; Shihabi, Z. K.; Effect of pH and ions in the sample on stacking in capillary electrophoresis. *J. Chromatogr. A* **781** (1997) 35 - 42.
- [9] He, Y. Z.; Cervera, M. L.; Garrido-Ecija, M. I.; de la Guardia, M.; On-line bidirectional electrostacking of chromium(III) and chromium(VI) for flame atomic absorption spectrometry determination. *Anal. Chim. Acta* **421** (2000) 57 - 65.
- [10] Skoog, D. A.; Holler, F. J.; Nieman, T. A.; **Princípios de Análise Instrumental**, ed. Bookman, 2002, 5ª edição.
- [11] Fritz, J. S.; Recent developments in the separation of inorganic and small organic ions by capillary electrophoresis. *J. Chromatogr. A* **884** (2000) 261 - 275.
- [12] Tomlinson, A. J.; Benson, L. M.; Guzman, N. A.; Naylor, S.; Preconcentration and microreaction technology on-line with capillary electrophoresis. *J. Chromatogr. A* **744** (1996) 3 - 15
- [13] Buchberger, W.; Ferdig, M.; Sommer, R.; Vo, T. D. T.; A novel technique for on-capillary preconcentration of anionic compounds applied to the trace analysis of rapamycin in human blood by capillary electrophoresis. *Electrophoresis* **26** (2005) 161 - 165.
- [14] Choi, K.; Kim, Y.; Chung, D. S.; Liquid-phase microextraction as an on-line preconcentration method in capillary electrophoresis. *Anal. Chem.* **76** (2004) 855 - 858.
- [15] Xu, Z. Q.; Nishine, T.; Arai, A.; Hirokawa, T.; Performance of electrokinetic supercharging for high-sensitivity detection of DNA fragments in chip gel electrophoresis. *Electrophoresis* **25** (2004) 3875 - 3881.
- [16] Mohan, D.; Lee, C. S.; On-line coupling of capillary isoelectric focusing with transient isotachopheresis-zone electrophoresis: A two-dimensional separation system for proteomics. *Electrophoresis* **23** (2002) 3160 - 3167.
- [17] Li, K.; Li, S. F. Y.; Speciation of selenium and arsenic compounds in natural-waters by capillary zone electrophoresis after on-column preconcentration with field-amplified injection. *Analyst* **120** (1995) 361 - 366.
- [18] Rovio, S.; Mantynen, M.; Siren, H.; Determination of bromide and potassium in saline groundwaters by capillary electrophoresis without prior dilution. *Appl. Geochem.* **19** (2004) 1331 - 1337.

- [19] Tavares, M. F. M.; Separation mechanisms in capillary electrophoresis. *Quim. Nova* **20** (1997) 493 - 511.
- [20] Chien, R. L.; Burgi, D. S.; On-column sample concentration using field amplification in CZE. *Anal. Chem.* **64** (1992) 489A - 496A.
- [21] Bachmann, K.; Gottlicher, B.; Haag, I.; Hannina, M.; Hensel, W.; Sample stacking for charged phenol derivatives in capillary electrophoresis. *Fresenius J. Anal. Chem.* **350** (1994) 368 - 371.
- [22] Wojtusik, M. J.; Harrold, M. P.; Factors influencing trace ion analysis with preconcentration by electrostacking. *J. Chromatogr. A* **671** (1994) 411 - 417.
- [23] Yang, L.; He, Y. Z.; Gan, W.; Deng, N.; Li, M.; Lin, X. Q.; Application of portable electrokinetic flow analysis system for determination of chromium(VI) and cadmium(II) in mineral water. *Chin. J. Anal. Chem.* **29** (2001) 555 - 557.
- [24] Yang, L.; He, Y. Z.; Gan, W.; Lin, X. Q.; Zhang, H. C.; Determination of nitrate in pure water by electrodynamic flow analysis system. *Chin. J. Anal. Chem.* **28** (2000) 248 - 252.
- [25] He, Y.; Cervera, M. L.; Pastor, A.; de la Guardia, M.; Determination of chromium(III) and chromium(VI) in mineral water by bidirectional electrostacking and electrothermal atomic absorption spectrometry. *Anal. Chim. Acta.* **447** (2001) 135 - 142.
- [26] Yang, L.; He, Y. Z.; Gan, W.; Li M.; Qu, Q. S.; Lin X. Q.; Determination of chromium(VI) and lead(II) in drinking water by electrokinetic flow analysis system and graphite furnace atomic absorption spectrometry. *Talanta* **55** (2001) 271 - 279.
- [27] Anderson, R. K.; Thompson, M.; Culbard, E.; Selective reduction of arsenic species by continuous hydride generation. Part 1. Reaction media. *Analyst* **111** (1986) 1143-1152.
- [28] Burguera, M.; Burguera, J. L.; Brunetto, M. R.; de la Guardia, M.; Salvador, A.; Flow-injection atomic spectrometric determination of inorganic arsenic(III) and arsenic(V) species by use of an aluminum-column arsine generator and cold-trapping arsine collection. *Anal. Chim. Acta* **261** (1992) 105 -113.
- [29] Chatterjee, A.; Das, D.; Mandal, B. K.; Chowdhury, T. R.; Samanta, G.; Chakraborti, D.; Arsenic in ground-water in 6 districts of West-Bengal, India - the biggest arsenic calamity in the world .1. arsenic species in drinking-water and urine of the affected people. *Analyst* **120** (1995) 643 - 650.
- [30] Borba, R. P.; Figueiredo, B. R.; Cavalcanti, J. A.; Arsênio na água subterrânea em Ouro Preto e Mariana, Quadrilátero Ferrífero (MG). *Rev. Esc. Minas* **57** (2004) 45 - 51.

- [31] Saxe, J. K.; Beck, B. D.; Comment on "Anthropogenic sources of arsenic and copper to sediments in a suburban lake, Northern Virginia. *Environ. Sci. Technol.* **37** (2003) 2625 - 2625.
- [32] Hung, D. Q.; Nekrassova, O.; Compton, R. G.; Analytical methods for inorganic arsenic in water: a review. *Talanta* **64** (2004) 269 - 277.
- [33] Smedley, P. L.; Kinniburgh, D.G.; Macdonald, D.M.J.; Nicolli, H. B.; Barros, A. J.; Tullio, J. O.; Pearce, J. M.; Alonso, M. S.; Arsenic associations in sediments from the loess aquifer of La Pampa, Argentina. *Applied Geochem.* **20** (2005) 989 - 1016.
- [34] WHO. Arsenic in drinking water. 2001b. Fact Sheet n° 210.
- [35] USEPA. National Primary Drinking Water Regulations, Arsenic and Clarifications to Complicance and New Source Contaminants Monitorang; Proposed Rule. Federal Register, 65 (2000) 38888-38983.
- [36] WHO. United Nations Synthesis Report on Arsenic in Drinking Water, Geneve, World Health Organization. 2001a.
- [37] Benramdane, L.; Bressolle, F.; Vallon, J. J.; Arsenic speciation in humans and food products: A review. *J. Chromatogr. Sci.* **37** (1999) 330 - 344.
- [38] de la Guardia, M.; Cervera, M. L.; Morales-Rubio, A.; **Speciation studies by atomic spectroscopy in Advances in Atomic Spectroscopy**, JAI Press Inc., 1999.
- [39] Shrivastava, A. K.; Speciation of trace elements in environmental samples. *Rev. Anal. Chem.* **14** (1995) 143 - 166.
- [40] Welz, B.; Speciation analysis. The future of atomic absorption spectrometry - invited lecture. *J. Anal. At. Spectrom.* **13** (1998) 413 - 417.
- [41] Vassileva, E.; Becker, A.; Broekaert, J. A. C.; Detemination of arsenic and selenium species in groundwater and soil extracts by ion chromatography coupled to inductively coupled plams mass spectrometry. *Anal. Chim. Acta* **441** (2001) 135 - 146.
- [42] Bundaleska, J. M.; Stafilov, T.; Arpadjan, S.; Direct analysis of natural waters for arsenic species by hydride generation atomic absorption spectrometry. *Inter. J. Environ. Anal. Chem.* **85** (2005) 199 - 207.
- [43] Lowry, J. D.; Lowry, S. B.; EPA/600/R-01/102 (2002).
- [44] Petit de Peña, Y.; Vielma, O.; Burguera, J. L.; Burguera, M.; Rondón, C.; Carrero, P.; On-line determination of antimony(III) and antimony(V) in liver tissue and whole blood by

flow injection - hydride generation - atomic absorption spectrometry. *Talanta* **55** (2001) 743 - 754

[45] Silva, M. A. M.; Frescura, V. L. A.; Curtius, A. J.; Determination of trace elements in water samples by ultrasonic nebulization inductively coupled plasma mass spectrometry after cloud point extraction. *Spectrochim. Acta B* **55** (2000) 801 - 811.

[46] Manzoori, J. L.; Bavili-Tabrizi, A.; Cloud point preconcentration and flame atomic absorption spectrometric determination of Cd and Pb in human hair. *Anal. Chim. Acta* **470** (2002) 215 - 221.

[47] Paleologos, E. K.; Stalikas, C. D.; Tzouwara-Karayanni, S. M.; Pilidis, G. A.; Karayannis, M. I.; Micelle-mediated methodology for speciation of chromium by flame atomic absorption spectrometry. *J. Anal. At. Spectrom.* **15** (2000) 287 - 291.

[48] Silva, M. A. M.; Frescura, V. L. A.; Aguilera, F. J. N.; Curtius, A. J.; Determination of Ag and Au in geological samples by flame atomic absorption spectrometry after cloud point extraction. *J. Anal. At. Spectrom.* **13** (1998) 1369 - 1373.

[49] Zweig, G.; Whitaker, J. R.; **Paper chromatography and electrophoresis**, ed. Academic Press Inc., New York, 1967.

[50] Kang, M.; Kawasaki, M.; Tamada, S.; Kamei, T.; Magara, Y.; Effect of pH on the removal of arsenic and antimony using reverse osmosis membranes. *Desalination* **131** (2000) 293 - 298.

[51] Analytical Methods Committee, Recommendations for the definition, estimation and use of detection limit, *Analyst* **112** (1987) 199 - 204.

[52] Coelho, N. M. M.; Silva, A. C.; Silva, C. M.; Determination of As(III) and total inorganic arsenic by flow injection hydride generation atomic absorption spectrometry. *Anal. Chim. Acta* **460** (2002) 227 - 233.

[53] Hall, G. E. M.; Pelchat, J. C.; Gauthier, G.; Stability of inorganic arsenic(III) and arsenic(V) in water samples. *J. Anal. Atom. Spectrom.* **14** (1999) 205 - 212.

[54] Korte N. E.; Fernando Q.; A review of arsenic (III) in groundwater. *Crit. Rev. Environ. Control.* **21** (1991) 1 - 39.

CAPÍTULO 2

APLICAÇÃO DO PONTO NUVEM PARA A EXTRAÇÃO E PRÉ-CONCENTRAÇÃO DE CÁDMIO E DETERMINAÇÃO POR ESPECTROMETRIA DE ABSORÇÃO ATÔMICA COM CHAMA

1. Revisão bibliográfica

1.1. Surfactantes

Uma molécula de surfactante (ou tensoativo) possui uma extremidade polar e uma parte não polar, constituída por uma longa cadeia alquílica, normalmente com 8 a 18 átomos de carbonos (Figura II.1). Moléculas que têm extremidades polares e apolares e, além disso, são suficientemente grandes para que cada extremidade apresente um comportamento próprio relativo à solubilidade em diversos solventes denominam-se anfipáticas [1].



Figura II.1: Representação da estrutura de uma molécula de surfactante.

A palavra surfactante é derivada do inglês “surface active agents”, o que significa que essas substâncias possuem a propriedade de reduzir a tensão superficial de líquidos. Dependendo da parte polar (grupo cabeça) dos surfactantes, esses podem ser classificados como aniônicos, catiônicos, não-iônicos ou anfóteros [1].

Os surfactantes aniônicos contêm geralmente grupos polares como carboxilato, sulfonato, sulfato ou fosfato. Dentro desta classificação, encontram-se compostos como alquil benzeno sulfonato e os alquil sulfatos (derivados do petróleo), os quais apresentam grande utilização na indústria de sabões e detergentes. Os surfactantes catiônicos, geralmente empregados em cosméticos e detergentes, possuem, como grupo cabeça, nitrogênio terciário ou quaternário, enquanto os não-iônicos apresentam cadeias de polioxietileno ou polioxipropileno como grupo polar. Nos surfactantes anfóteros existem tanto cargas positiva como negativa na molécula. Dependendo do pH da solução e da estrutura, pode prevalecer a espécie aniônica, catiônica ou neutra. Os surfactantes anfóteros mais comuns incluem N-alquil e C-alquil betaina como também álcool amino fosfatidil [2]. Alguns exemplos das classes mais comuns de surfactantes são apresentados no Quadro II.1.

Quadro II.1: Estrutura de surfactantes de diferentes classes.

Surfactante	Fórmula estrutural	Classe
Dodecilsulfato de sódio (SDS)	$\text{CH}_3(\text{CH}_2)_{11}\text{SO}_4^-\text{Na}^+$	Aniônico
Brometo de hexadeciltrimetilamônio (HDTB)	$\text{CH}_3(\text{CH}_2)_{15}\text{N}^+(\text{CH}_3)_3\text{Br}^-$	Catiônico
Octilfenoxipolietoxietanol (Triton X-114)	$(\text{CH}_3)_3\text{CCH}_2\text{C}(\text{CH}_3)_2(\text{C}_6\text{H}_4)\text{O}(\text{OCH}_2\text{CH}_2)_7$	Não-iônico
4-(dodecildimetilamônio)butirato (DAB)	$\text{CH}_3(\text{CH}_2)_{11}\text{N}^+(\text{CH}_3)_2(\text{CH}_2)_3\text{COO}^-$	Anfótero

Os surfactantes podem se associar em meio aquoso ou orgânico e formar vários tipos de agregados, como micelas, vesículas, microemulsões, monocamadas e bicamadas [2]. A termodinâmica da formação desses agregados é regida por forças eletrostáticas entre as moléculas, forças de solvatação, forças hidrofóbicas e de tensão superficial, que determinam o melhor empacotamento das moléculas que depende também da geometria da molécula e da estrutura do solvente [3].

As micelas são formadas quando moléculas anfipáticas se associam a partir de uma determinada concentração, conhecida como concentração micelar crítica (CMC). A CMC é muitas vezes referida como uma concentração única, quando de fato, é uma faixa estreita de concentrações acima da qual algumas propriedades da solução são alteradas [1, 2, 4]. Abaixo da CMC, o surfactante apresenta-se na forma de monômeros; quando a concentração está acima, porém próxima da CMC, existe um equilíbrio dinâmico entre monômeros e micelas (Figura II.2). Em concentrações acima da CMC, as micelas possuem um diâmetro entre 3-6 nm o que representa de 30-200 monômeros. A CMC depende da estrutura do surfactante (tamanho da cadeia do hidrocarboneto) e das condições experimentais do meio (concentração iônica, contra-íons, temperatura etc.) [2, 4, 5].

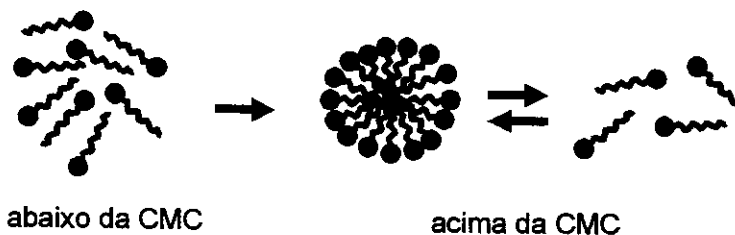


Figura II.2: Representação da formação do agregado micelar.

Dependendo do meio onde se encontra, as micelas podem ser normais ou reversas. Em uma micela normal, os monômeros individuais estão orientados com a região hidrofílica em contato com a fase aquosa e a região hidrofóbica comprimida no interior do agregado, formando um núcleo central não polar. As micelas reversas são formadas quando os surfactantes se associam em meios não aquosos. A parte hidrofóbica do monômero se estende pelo solvente não polar, enquanto a parte polar está unida com os outros para formar o núcleo hidrofílico [2, 6]. A Figura II.3 mostra um esquema representativo de micela normal e reversa.



Figura II.3: Esquema representativo de uma micela normal (a) e reversa (b).

As micelas são frequentemente empregadas para modificar o meio reacional, permitindo solubilizar espécies que apresentam baixa solubilidade, ou promover um novo meio que pode modificar a velocidade reacional, a posição de equilíbrio das reações químicas e, em alguns casos, a estereoquímica destas dependendo da natureza da reação, do tipo de reativo (eletrofílico, nucleofílico, etc) e do tipo e forma da micela (catiônica, aniônica, etc) [1, 7]. Os mecanismos que envolvem essas modificações são complexos e não totalmente estabelecidos, sendo que várias teorias descrevem o que pode ocorrer durante este processo [8, 9]. Uma das propriedades mais importantes destas estruturas organizadas é a capacidade que elas possuem de solubilizar solutos de diferentes características e naturezas. Esses solutos podem interagir com as micelas eletrostaticamente, hidrofobicamente ou pela combinação de ambos efeitos [10]. No caso de íons metálicos, pelo fato deles não possuírem afinidade com as micelas, estes precisam estar ligados a reagentes complexantes, como, por exemplo, 1-(2-piridilazo) 2-naftol (PAN) [11], O,O - dietil ditiofosfato de amônio (DDTP) [12], entre outros, os quais podem ser

solubilizados no interior das micelas de surfactantes não-iônicos. Assim, quando as duas fases se separam fisicamente, torna possível concentrar e separar metais em um pequeno volume, de maneira similar a extração líquido-líquido [13].

Devido a essas propriedades, as micelas são empregadas em vários campos da química analítica com intuito de melhorar a sensibilidade e a seletividade. Algumas das aplicações mais importantes e práticas das micelas estão no processo de separação, principalmente por meio do fenômeno do ponto nuvem.

1.2 Fenômeno do ponto nuvem

Soluções aquosas de muitas micelas de surfactantes não-iônicos tornam-se turvas quando aquecidas a uma determinada temperatura, conhecida como ponto nuvem. Acima desta temperatura, a solução se separa em duas fases distintas: uma fase de pequeno volume e rica em surfactante (denominada fase rica), e a outra fase, denominada fase aquosa ou fase pobre (Figura II.4), contendo a concentração do surfactante próxima a CMC [14].

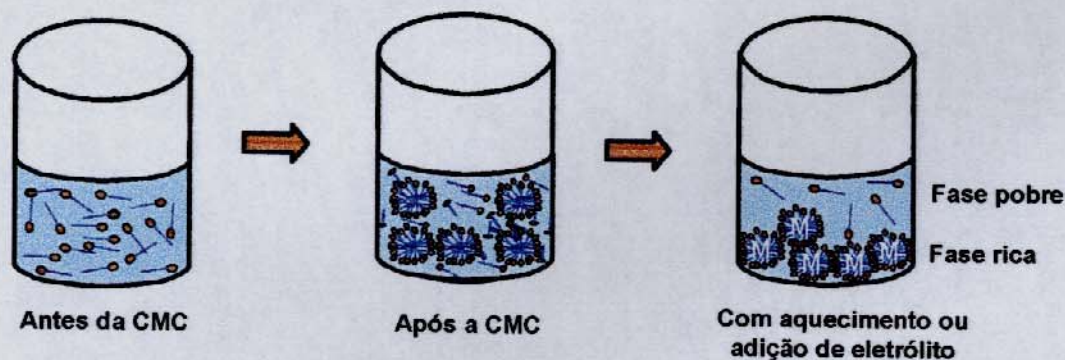


Figura II.4: Representação da formação e agregação das micelas; M: metal complexado.

A temperatura na qual a separação de fases ocorre, depende da estrutura do surfactante [4]. O volume da fase rica e consequentemente o fator de pré-concentração depende da natureza do surfactante, da sua concentração e da temperatura de separação [15]. Além da temperatura, a alteração de outras condições experimentais, como pressão e presença de eletrólitos pode induzir à separação de fases de surfactantes não-iônicos [6].

O mecanismo exato, por meio do qual a separação de fases ocorre, não é completamente elucidado; no entanto, alguns autores consideram que este mecanismo de separação pode ser atribuído aos segmentos de óxido de etileno presentes nas micelas

que se repelem a baixas temperaturas quando eles estão hidratados, e se atraem a altas temperaturas devido a desidratação das micelas. Esse efeito causa uma diminuição efetiva na área ocupada pelo grupo polar, aumentando, assim, o tamanho da micela e resultando na separação de fases [16, 17]. Outros autores sugerem que a separação de fases resulta de uma competição entre a entropia, a qual favorece a miscibilidade das micelas na água, e a entalpia, que favorece a separação das micelas da água [18].

A primeira aplicação analítica para a separação de fases baseada no fenômeno do ponto nuvem foi descrita por Watanabe e Tanaka [13] para a pré-concentração de Zn(II) usando PAN como ligante e PONPE 7.5 (poli-oxietileno-nonil-fenil-éter) como surfactante. Desde então, o emprego do ponto nuvem como uma estratégia para separação e pré-concentração, englobando vários elementos, como também diversas proteínas em diferentes matrizes, vêm se tornando uma ferramenta bastante útil [19].

Para uma série homóloga de surfactantes não-iônicos polioxietilados, o ponto nuvem aumenta com a redução do comprimento da cadeia de hidrocarbonetos ou com aumento do comprimento do segmento oxietileno [20]. A Figura II.5 ilustra a estrutura do surfactante não iônico, Triton X-114, utilizado nos experimentos deste segundo capítulo.

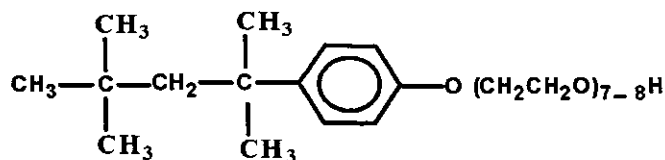


Figura II.5: Estrutura do surfactante Triton X-114.

Um surfactante para ser empregado na extração por ponto nuvem deve apresentar algumas características desejáveis, como, por exemplo, baixa temperatura de separação de fases e alta densidade, que facilitam a separação de fases e disponibilidade comercial e baixo custo [21].

O uso de sistemas micelares como uma alternativa a outras técnicas de separação/extração, como, por exemplo, a extração líquido-líquido convencional, oferece algumas vantagens [22, 23]:

- alta capacidade de pré-concentrar (fatores de pré-concentração na ordem de 10 a 100)
- uma ampla variedade de analitos, o que resulta em melhora na sensibilidade;

- são requeridas quantidades menores das amostras aquosas (normalmente de 8 a 100 mL) para se obter os mesmos fatores de pré-concentração obtidos com cerca de 1 litro de amostra para os procedimentos clássicos de extração líquido-líquido;
- o procedimento de extração é mais simples e conveniente do que o empregado para a extração líquido-líquido;
- a disposição final dos resíduos é facilitada, uma vez que estes podem ser incinerados;
- o uso de pequenas quantidades de surfactantes (que apresentam menor toxicidade) elimina a manipulação de grandes volumes de solventes orgânicos e inflamáveis e minimiza também os custos, tornando os procedimentos mais seguros e econômicos;

As principais limitações da extração por ponto nuvem estão no baixo coeficiente de partição de muitas espécies neutras de quelatos metálicos e na baixa solubilidade dos agentes complexantes em soluções aquosas. Isso impõe um limite na quantidade de agentes complexantes que pode ser empregada neste sistema [4, 15].

1.3. Aplicações analíticas do ponto nuvem

As extrações por ponto nuvem já foram empregadas para a pré-concentração de diferentes tipos de íons metálicos, como Ni e Zn [24], Ag e Au [25] e especiação de Cr [26]. A metodologia de extração por ponto nuvem também tem sido utilizada para remoção de poluentes orgânicos, como pesticidas, em amostras ambientais de solo [27 - 28] e suas determinações por cromatografia líquida [29] e eletroforese capilar [30].

Fang *et al.* [31] foram os primeiros a empregar a extração por ponto nuvem juntamente com sistema em fluxo. Anteriormente, todos os trabalhos que envolviam essas duas ferramentas analíticas eram realizados com a extração por ponto nuvem fora de linha e, posteriormente, o sistema em fluxo era empregado para facilitar a manipulação da fase rica ou para a adição de algum reagente [32]. Paleologos *et al.* [33] aplicaram os princípios descritos por Fang *et al.* [31] para o desenvolvimento de um método de pré-concentração e separação em linha na determinação de Cu(II), Zn(II), Co (II), Fe(II), Al(III) e Cr(III) em amostras de água por reação de quimiluminescência. O meio micelar era composto por dois surfactantes: SDS e Triton X-114.

Tang *et al.* [22] foram os pioneiros na utilização da eletroforese capilar juntamente com o ponto nuvem na pré-concentração de metais. Neste trabalho, PAN foi empregado

como agente complexante para Co(II) e Cu(II), e Triton X-114 foi usado como surfactante. Os limites de detecção para Co(II) e Cu(II) foram 0,12 e 0,26 $\mu\text{g L}^{-1}$, respectivamente.

Akita e Takeuchi [34] investigaram a extração de compostos orgânicos em soluções aquosas utilizando o ponto nuvem. A eficiência do surfactante não-iônico PONPE 10 foi avaliada. A adição do eletrólito NaCl melhorou a separação de fases, e três derivados de piridina puderam ser extraídos sob condições neutras e alcalinas.

Outra aplicação da extração por ponto nuvem é a possibilidade de se realizar a especiação juntamente com a pré-concentração. Neste caso, um método desenvolvido por Zhu *et al.* [35] foi um procedimento para determinação de Cr(VI) e Cr total utilizando dibromofenilfluorona como agente complexante. O Cr(III) foi determinado pela diferença do Cr total e do Cr(VI) e o método foi aplicado para diferentes amostras de água.

Arsênio foi outra espécie metálica pré-concentrada pelo sistema de ponto nuvem onde foi possível realizar a sua especiação [36]. Neste caso, o método foi baseado na reação do As(V) com molibdato, formando um complexo amarelo, que foi quantitativamente extraído para a fase rica. O arsênio inorgânico total (III, V) foi extraído similamente após oxidação do As(III) a As(V) com KMnO_4 e o As(III) calculado por diferença do As total e As(V). Após otimização, o limite de detecção e o FPC foram de 0,01 $\mu\text{g L}^{-1}$ e 52,5 $\mu\text{g L}^{-1}$, respectivamente.

Métodos que empregam a extração por ponto nuvem como técnica de separação e pré-concentração estão em crescente desenvolvimento por várias vantagens que o meio micelar oferece.

1.4. Cádmio: ocorrência, toxicidade e aplicações

O cádmio ocorre na natureza geralmente associado a outros metais, como o zinco e o chumbo. Do processo de extração e processamento do zinco e do chumbo, resulta uma quantidade significativa de cádmio, na forma de CdO (óxido de cádmio). O cádmio ocorre apenas em seu estado de oxidação 2+ e não forma alquil-compostos ou qualquer composto organometálico de efeitos toxicológicos conhecidos, ao contrário do que ocorre com o mercúrio. Seus principais minerais são o sulfeto de cádmio CdS e óxido de cádmio CdO, associados a outros minerais [37].

O cádmio foi descoberto em 1817 e suas aplicações industriais demoraram a ser bem difundidas. Somente após 50 anos de sua descoberta, as valiosas propriedades

metalúrgicas deste elemento químico foram evidenciadas, sendo que, entre elas, destacam-se a alta resistência à corrosão e a sua aplicação no processo da galvanização. Outras aplicações também foram evidenciadas, como por exemplo, seu emprego no pigmento amarelo para tintas e, mais recentemente, em baterias recarregáveis de níquel - cádmio [37].

A extração, a produção e a aplicação de cádmio continuam a crescer, e a poluição ambiental é uma grande preocupação, pois atualmente, menos de 5% do metal está sendo reciclado [37].

O carvão e outros fósseis de petróleo também contêm cádmio e a combustão destes materiais expõe os trabalhadores de fundições, e outros que trabalham em fábricas para o processamento deste metal, às altas concentrações do cádmio presente no ar. A população também está exposta à contaminação proveniente dos alimentos. A água potável não contribui significativamente para a entrada de cádmio no organismo, mas o fumo do cigarro sim. Um único cigarro contém de 1 a 2 μg de cádmio, sendo que de 10 a 40% deste montante são absorvidos pelos pulmões. Um fumante que consome um maço de cigarros por dia parece absorver em seu organismo (por meio do sistema respiratório) 1mg de cádmio por ano [37].

O cádmio é pouco absorvido por meio do trato gastrointestinal. A absorção pelo sistema respiratório parece ser mais eficiente. Após a absorção, o metal é transportado pelo sangue, ligando-se às células sangüíneas. O cádmio se distribui primeiro no fígado e depois se redistribui lentamente para os rins, na forma de um complexo de cádmio-metalotioneína. Depois desta redistribuição, aproximadamente 50% do total de cádmio no corpo encontra-se alojado nos rins e no fígado [38].

A metalotioneína é uma proteína com alta afinidade por metais como cádmio e zinco. Essa proteína pode ser induzida a complexar-se a vários metais, incluindo-se o cádmio e, assim, elevadas concentrações desta proteína podem proteger e prevenir, via complexação, a interação dos íons cádmio com outras macromoléculas funcionais importantes para o organismo [38].

O tempo de meia-vida do cádmio no sangue é de 10 a 30 anos. Consequentemente, com a exposição ao meio ambiente, a concentração do metal nos tecidos cresce no decorrer da vida. O corpo de um homem de 50 anos de idade carrega cerca de 30 mg de cádmio. Geralmente, a eliminação fecal em forma de sulfeto é mais importante que a

excreção urinária do metal. A eliminação urinária de cádmio torna-se significativa somente após uma substancial intoxicação e acumulação deste metal nos rins [39]. Um dos primeiros efeitos do metal é a irritação no local onde ocorre a absorção. Nos casos de ingestão oral, os efeitos incluem náuseas, vômito, salivação excessiva, diarreia e dores abdominais. Os efeitos tóxicos de uma longa exposição ao cádmio incluem danos nos sistemas gastrointestinal, respiratório e também nos rins. Pesquisas realizadas são suficientes para classificar o cádmio como um agente carcinogênio para o ser humano [37].

2. Objetivos

O objetivo desta parte do trabalho de Tese foi desenvolver uma metodologia relativamente simples para a pré-concentração de cádmio empregando procedimentos baseados no ponto nuvem. Foram investigados dois complexantes, o (1-(2-piridilazo) 2-naftol (PAN) e o O,O - dietil ditiofosfato de amônio (DDTP). Triton X-114 foi usado como surfactante. Avaliamos também a presença do eletrólito NaCl com o objetivo de induzir a formação do ponto nuvem sem a necessidade de aquecimento. Os efeitos de vários outros fatores também foram avaliados. Após a metodologia otimizada, a mesma foi aplicada para a pré-concentração de cádmio em amostras de cigarro (tabaco), água de lagoa, água mineral e soro fisiológico, sendo a quantificação de cádmio realizada empregando o espectrômetro de absorção atômica por chama.

3. Parte Experimental

3.1. Instrumentação e acessórios

As determinações de Cd na fase rica e na fase pobre utilizando o procedimento proposto por ponto nuvem foram realizadas por meio de um espectrômetro de absorção atômica com chama da Perkin-Elmer modelo AAnalyst 300, equipado com um corretor de fundo de deutério. Foi usada como fonte de radiação uma lâmpada de descarga sem eletrodo (EDL) operada a 228,8 nm. A corrente da lâmpada e a abertura da fenda foram 4 mA e 0,7 nm, respectivamente. As vazões do acetileno e do ar, bem como a altura do queimador, foram ajustadas para obter um máximo de sinal de absorbância. Para avaliar a exatidão da metodologia desenvolvida, os resultados das amostras obtidos pelo FAAS foram comparados com aqueles obtidos pelo ETAAS (Perkin-Elmer, modelo AAnalyst 600).

Uma centrífuga da marca Nova Técnica (Piracicaba, Brasil) modelo NT 811 foi usada para melhorar o processo de separação de fases. Os valores de pH foram medidos usando um potenciômetro Digimed DM20 (São Paulo, Brasil), equipado com um eletrodo de vidro. Uma chapa de aquecimento da marca Marconi MA 4025 (Piracicaba, Brasil) foi usada para aquecer as soluções. Um forno de microondas modelo DGT Plus 100 (Provecto, Jundiaí, Brasil), com um magnetron de 2450 ± 13 MHz e uma potência nominal de 1750 W, foi usado para digerir as amostras de tabaco.

3.2. Reagentes e soluções de referência

Todas as soluções foram preparadas utilizando-se água desionizada (18,2 M Ω cm) obtida do sistema de purificação Milli-Q (Millipore, Bedford, EUA) e reagentes de grau analítico foram empregados. Os reagentes utilizados estão listados a seguir:

- 1-(2-piridilazo) 2-naftol (PAN), $C_{15}H_{11}N_3O$, MM=249,27 g mol⁻¹ (Merck, Darmstadt, Alemanha).
- O,O - dietil ditiofosfato de amônio (DDTP), $(C_2H_5O)_2P(S)SNH_4$, MM=203,26 g mol⁻¹ (Aldrich, Milwaukee, USA).
- Octilfenoxipolietoxietanol (Triton X-114), (Sigma, Saint Louis, EUA). Esse reagente é um *p*-octilfenol com média de oito unidades de óxido de etileno [19].
- Borato de sódio, $Na_2B_4O_7 \cdot 10H_2O$, MM=381,37 g mol⁻¹, (Mallinckrodt, Xalostoc, México).
- Hidróxido de sódio, NaOH, MM=40 g mol⁻¹ (Merck, Rio de Janeiro, RJ, Brasil).
- Ácido clorídrico, HCl 37% m/v, $d=1,19$ g mL⁻¹, MM= 36,45 g mol⁻¹ (Mallinckrodt, Xalostoc, México).
- Álcool etílico anidro absoluto, C_2H_6O , MM= 46,07 g mol⁻¹ (J T Baker, Xalostoc, México).
- Solução de referência de Cd 1000 mg L⁻¹ (Tec-Lab, São Paulo, Brasil).

Todas as soluções foram preparadas e armazenadas em frascos de polietileno previamente descontaminados. Os frascos plásticos e as vidrarias foram descontaminados em banho de HCl 10 % v/v por 10 h. Depois, o material foi lavado várias vezes com água Milli-Q e em seguida seco a temperatura ambiente.

A solução estoque de Triton X-114 20% (m/v) foi preparada pesando-se 20 g deste reagente e fazendo-se a diluição com água desionizada em balão volumétrico de 100 mL. Embora o Triton X-114 esteja na forma líquida, ele é um reagente que apresenta alta viscosidade. Portanto, isso dificulta seu preparo por meio da medida de volumes. As

soluções de trabalho de Triton X-114 (0,25 - 5,7 % m/v) foram preparadas por diluições apropriadas da solução estoque.

Solução estoque intermediária de Cd de $10,0 \text{ mg L}^{-1}$ foi preparada pela diluição de $500 \mu\text{L}$ da solução estoque de 1000 mg L^{-1} com água desionizada em balão volumétrico de 50 mL. As soluções de referência de $5,0 - 400,0 \mu\text{g L}^{-1}$ foram preparadas diluindo quantidades apropriadas da solução estoque. A solução de $144,0 \mu\text{g L}^{-1}$ foi empregada para otimizar os parâmetros envolvidos na metodologia proposta.

Soluções do complexante PAN ($2,0 \times 10^{-5} - 2,0 \times 10^{-4} \text{ mol L}^{-1}$) foram preparadas pela dissolução apropriada da solução estoque de PAN em Triton X-114 0,25 % (m/v), completando o volume com água desionizada em balões volumétricos de 25,0 mL.

Para o preparo da solução tampão $\text{Na}_2\text{B}_4\text{O}_7 \cdot 10\text{H}_2\text{O}$ /NaOH (pH 10), fez-se a adição de 50 mL de uma solução $0,1 \text{ mol L}^{-1}$ de borato de sódio e 18,3 mL de uma solução $0,4 \text{ mol L}^{-1}$ de NaOH em balão volumétrico de 100,0 mL, completando o volume com água desionizada [40].

A solução de HCl $8,0 \text{ mol L}^{-1}$ foi preparada pela diluição apropriada do ácido concentrado.

A solução do complexante DDTP $3,0 \text{ mol L}^{-1}$ foi preparada pela dissolução de 15,50 g deste reagente em água desionizada, e o volume completado para 25,0 mL com água desionizada. Soluções de trabalho deste complexante ($0,08 - 1,56 \text{ mol L}^{-1}$) foram preparadas por diluições apropriadas da solução de $3,0 \text{ mol L}^{-1}$.

Soluções de etanol em ácido nítrico 9:1 (v/v) foram preparadas pela diluição de 90 mL de uma solução de etanol 6,0 % em 10 mL de uma solução de HNO_3 $1,0 \text{ mol L}^{-1}$, obtendo uma concentração final de 5,0 % (v/v) e $0,1 \text{ mol L}^{-1}$ de etanol e HNO_3 , respectivamente. Essas soluções foram empregadas para diluição das micelas.

3.3. Metodologia analítica

As variáveis que influenciam na pré-concentração do cádmio pelo ponto nuvem e que foram avaliadas neste capítulo foram:

- tempo de complexação do cádmio com PAN ou DDTP;
- natureza do complexante (PAN e DDTP);
- concentração dos complexantes;
- concentração do surfactante Triton X-114;

- relação de volumes entre as soluções de referência contendo Cd e Triton X-114;
- concentração de NaCl;
- volume de etanol.

Para os experimentos, foram usados tubos de ensaio de 15 mL, onde o volume final, após a adição de todos os reagentes, foi de 11,5 mL. Nestes tubos, fez-se a adição de 8,0 mL da solução de referência de Cd (obtendo uma concentração final de $100 \mu\text{g L}^{-1}$), da solução do complexante (1,5 mL), e do tampão (0,5 mL) ou do HCl (0,5 mL) para ajuste do pH. Após o tempo de complexação necessário sob estudo, fez-se a adição da solução do surfactante (1,5 mL). Os tubos foram vedados com parafilme, manualmente agitados para homogeneização da solução, e depois submetidos ao aquecimento em banho Maria a 40°C durante 15 min. No entanto, quando uma solução de NaCl era usada para induzir a formação do ponto nuvem, o sistema não era aquecido. Em seguida, os tubos foram centrifugados a 2500 rpm por 10 min. Uma fase rica de $20 \mu\text{L}$ foi obtida e a fase aquosa foi removida com o uso de uma pipeta de Pasteur. Com intuito de obter um volume do concentrado satisfatório para ser introduzido no FAAS e também para diminuir a viscosidade da fase rica, a mesma foi diluída com uma solução 9:1 (v/v) de etanol (5,0 %) e HNO_3 ($0,1 \text{ mol L}^{-1}$), obtendo um volume final de 0,4 mL. O Cd foi determinado em ambas as fases por FAAS por meio de aspiração convencional. As condições experimentais do aparelho utilizadas para a determinação de Cd foram as recomendadas pelo fabricante. “Branco” analíticos, submetidos ao mesmo procedimento, eram sempre medidos em paralelo com as amostras.

3.4. Amostras

Amostras de água mineral e soro fisiológico (contendo 0,9 % m/v de NaCl) foram adquiridas em supermercados e farmácias da região de Campinas. Para essas amostras, o cádmio foi adicionado para obter uma concentração final de 10 e $20 \mu\text{g L}^{-1}$. Após este procedimento, o método do ponto nuvem foi aplicado e FAAS foi utilizado para a determinação de cádmio.

A amostra de água da lagoa, coletada no campus da Unicamp, foi filtrada em membranas de acetato de celulose ($0,45 \mu\text{m}$) sob vácuo, e, enriquecida com cádmio para

obter uma concentração final de 10 e 20 $\mu\text{g L}^{-1}$. Em seguida, a referida amostra foi estocada em frasco de polietileno para análise imediata.

Amostras de cigarro (tabaco) também foram adquiridas em supermercados da região de Campinas e empregadas para a determinação de cádmio. Aproximadamente 400 mg de tabaco proveniente das amostras de cigarro foram pesadas, em triplicata, decompostas com ácido nítrico concentrado (4,5 mL) e H_2O_2 30 % v/v (0,5 mL) empregando um forno de microondas. Após a decomposição, as amostras digeridas foram aquecidas em uma chapa de aquecimento (cerca de 60 °C) até quase a secura. Essas amostras foram filtradas por meio de um papel de filtro quantitativo e diluídas para 25,0 mL com água desionizada. Em seguida, essas amostras de tabaco digeridas foram submetidas à pré-concentração por ponto nuvem e o cádmio determinado por FAAS.

Para checar a exatidão dos resultados obtidos pela pré-concentração por ponto nuvem e para avaliar a aplicabilidade do procedimento proposto, todas as amostras de tabaco também foram analisadas por ETAAS. Além disso, foram empregados testes de recuperação para assegurar a exatidão do método proposto. Deste modo, o cádmio foi adicionado em todas as amostras de tabaco para obter uma concentração final de 4 $\mu\text{g L}^{-1}$. Vale ressaltar que essa adição de Cd foi realizada antes das amostras serem digeridas pelo forno de microondas.

4. Resultados e discussão

4.1. Efeito do pH na complexação do cádmio

Na metodologia do ponto nuvem, a eficiência da extração da espécie de interesse depende do pH no qual a formação do complexo é conduzida. De acordo com trabalho prévio [11], a eficiência de extração do Cd complexado com o PAN, empregando o tampão $\text{Na}_2\text{B}_4\text{O}_7 \cdot 10\text{H}_2\text{O}/\text{NaOH}$ a pH 10, é próximo de 100%. Já a formação do complexo entre Cd e DDTP ocorre sob condições de menores valores de pH, uma vez que a estabilidade deste agente complexante é melhor em meio ácido [11]. Borges *et al* [41] encontraram que a eficiência de extração do complexo Cd-DDTP pelo ponto nuvem independe da faixa de concentração ácida estudada. No entanto, para assegurar uma eficiência na extração do analito, eles selecionaram a concentração de 0,32 mol L^{-1} de HCl.

Neste trabalho, o pH utilizado para a complexação para ambos sistemas complexantes (PAN e DDTP) não foi otimizado; porém, com base nos resultados obtidos nos dois trabalhos citados [11, 41], as mesmas condições de acidez e basicidade foram empregadas aqui.

4.2. Efeito do tempo na complexação do cádmio

Os íons metálicos para serem extraídos e pré-concentrados pelo ponto nuvem devem ser primeiramente convertidos em alguma substância menos hidrofílica por meio de reação com agentes complexantes solúveis em água [22]. É importante garantir a formação do complexo antes que ocorra a separação de fases, e que esta formação seja quantitativa. Desta forma, foi avaliado o efeito do tempo de complexação sobre a eficiência da pré-concentração de Cd, o qual foi estudado para valores variando entre 0 a 20 min. Para garantir que o agente complexante não tivesse nenhuma interação com o surfactante, garantindo assim que todo complexante adicionado reagisse apenas com o Cd, esse tempo medido foi o decorrido entre as adições do complexante e do surfactante. Durante a otimização dessa variável, alguns parâmetros foram fixados. Os complexantes PAN e DDTP foram adicionados e suas concentrações presentes no tubo de ensaio eram de $1,0 \times 10^{-5} \text{ mol L}^{-1}$ e $0,05 \text{ mol L}^{-1}$, respectivamente. Para a complexação do Cd pelo DDTP, foi adicionada uma solução de Triton X-114 de concentração de 5,0 % (m/v). Levando-se em conta as diluições que ocorrem após a adição de todos os reagentes, essa concentração correspondia a 0,87 % (m/v). A relação de volumes entre o Triton X-114 e a solução de referência de Cd foi de 2,0:7,5 (v/v), respectivamente, e uma solução de HCl de concentração de $8,0 \text{ mol L}^{-1}$ foi adicionada. Após a adição de todos os reagentes, a concentração de HCl presente nos tubos de ensaio foi de $0,32 \text{ mol L}^{-1}$. No caso da complexação do Cd pelo PAN a concentração do surfactante presente no tubo de ensaio foi de 0,25 % (m/v), a relação entre os volumes de Triton X-114 e de Cd foi de 2,0:7,5 (v/v), respectivamente, e o tampão $\text{Na}_2\text{B}_4\text{O}_7 \cdot 10\text{H}_2\text{O}/\text{NaOH}$ a pH 10.

Os resultados obtidos mostraram que os valores de FPC, para ambos sistemas complexantes, permaneceram praticamente constantes na faixa de tempo avaliada, os quais enfatizam a formação instantânea do complexo Cd-PAN e Cd-DDTP. Esse resultado é bastante favorável, uma vez que não há necessidade de longos tempos de espera para completar a reação de complexação.

4.3. Efeito da concentração dos complexantes

Neste trabalho, foram investigados como agentes complexantes PAN e DDTP.

O DDTP apresenta-se como um cristal de coloração branca, com odor desagradável, sendo instável na presença de agentes oxidantes fortes (como HNO_3) [22]. DDTP foi estudado por Bode e Arnsald [42], os quais demonstraram que este ligante complexa vários íons metálicos de transição e semi-metais em meio ácido, e não reage com metais alcalinos e alcalinos terrosos. Devido a sua estabilidade em meio ácido, o uso de tampões não é necessário [22]. Este reagente possui suficiente hidrofobicidade para ser usado como um agente complexante na extração por ponto nuvem [25]. A Figura II.6 ilustra a estrutura do complexante DDTP.

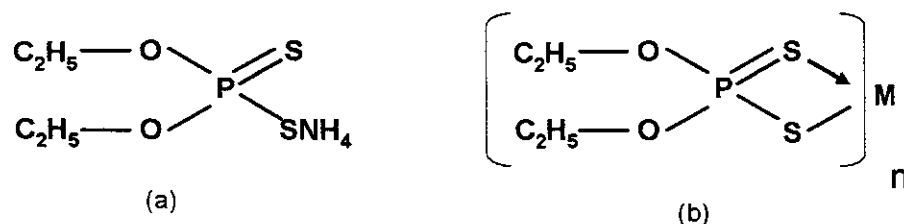


Figura II.6: Estrutura do complexante DDTP (a) e do seu quelato com um metal M (b).

O ligante cromogênico PAN é um dos compostos mais utilizados em extrações líquido-líquido. É um composto sólido amorfo e de cor alaranjada. É bastante solúvel em solventes orgânicos ou em soluções aquosas bastante ácidas ou alcalinas ($\text{pH} < 2,5$ ou > 12), onde se encontra nas formas protonada ou aniônica, respectivamente. Em toda faixa de pH compreendida entre 2,5 e 12,0 o composto se apresenta predominantemente na forma neutra [26, 43] e é capaz de reagir com íons metálicos, levando à formação de complexos coloridos, os quais, em sua grande maioria, apresentam coloração avermelhada (Figura II.7b).

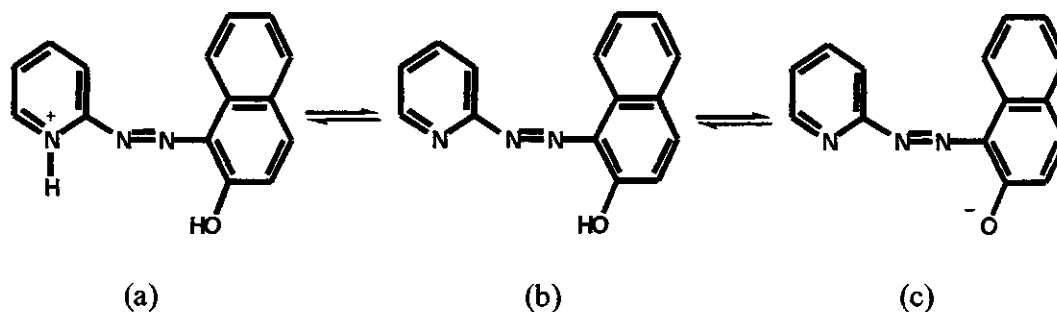


Figura II.7: Equilíbrio ácido-base do ligante PAN. (a) forma protonada, $\text{pH} < 2,5$; (b) forma neutra, $2,5 < \text{pH} < 12$; (c) forma aniônica, $\text{pH} > 12$.

A concentração de DDTP foi estudada para valores variando de 0,08 a 1,56 mol L⁻¹. Levando-se em conta as diluições que ocorrem após a adição de todos os reagentes necessários para a formação do ponto nuvem, essas concentrações correspondem a 0,01 - 0,2 mol L⁻¹. A concentração de PAN foi estudada na faixa de 2×10^{-5} - 2×10^{-4} (sendo que $2,7 \times 10^{-6}$ a $2,7 \times 10^{-5}$ mol L⁻¹ correspondem as concentrações presentes no tubo de ensaio após a adição de todos os reagentes). Os resultados destas variáveis sobre o aumento da concentração de Cd (em µg L⁻¹) estão ilustrados na Figura II.8.

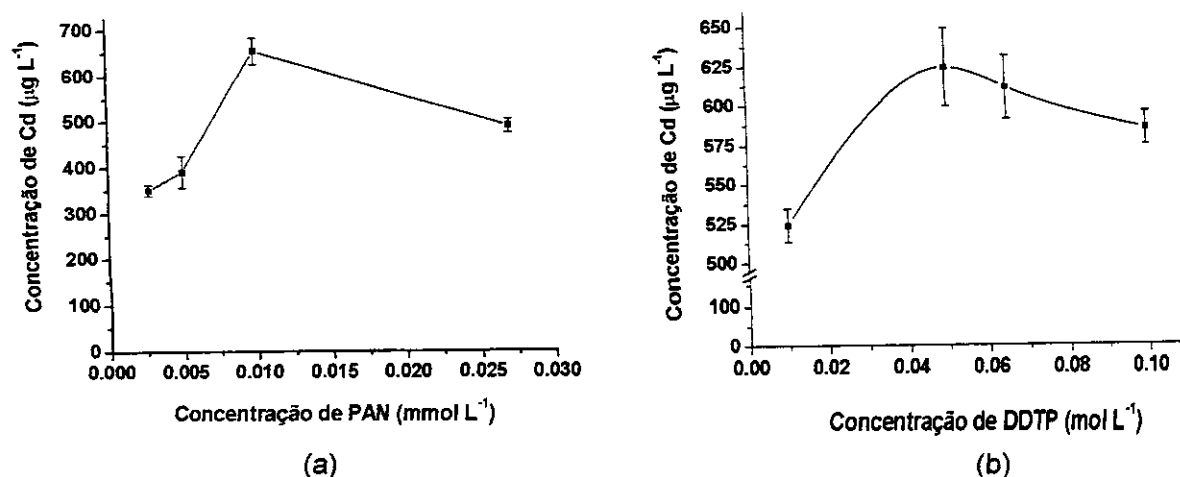


Figura II.8: Variação da concentração de Cd em função da concentração dos complexantes PAN (a) e DDTP (b) (n=3). Condições: 0,25 % (m/v) de Triton X-114 para Cd-PAN e 0,87 % (m/v) de Triton X-114 para Cd-DDTP.

Os resultados obtidos, variando a concentração dos complexantes, estão ilustrados de acordo com a mudança da concentração de Cd. Essa concentração foi calculada empregando uma curva analítica preparada em uma solução 9:1 (v/v) de etanol (5,0 %) e HNO₃ (0,1 mol L⁻¹).

No caso do complexante DDTP podemos observar que a concentração de Cd (625 µg L⁻¹) foi maior quando empregou-se DDTP a 0,05 mol L⁻¹, indicando que o Cd é eficientemente complexado à esta concentração do complexante. Para concentrações maiores de DDTP (0,1 mol L⁻¹), o sinal diminuiu. Deve ser mencionado que este complexo possui a composição 1:2 (ML₂). Quando o sinal diminuiu, provavelmente espécies ML₃⁻ foram formadas devido ao excesso de DDTP [25]. Além disso, sabe-se que em qualquer método de extração líquido-líquido é necessário que a espécie de interesse esteja na forma

neutra antes da sua extração para a fase orgânica [1]. Assim, era de se esperar que o sinal diminuísse com o aumento da concentração de DDTP. Outro fator que pode ter contribuído para a diminuição da resposta analítica, é o fato das moléculas do DDTP que não se ligaram ao íon metálico, estarem interagindo com o surfactante, e consequentemente competindo com as moléculas do complexo formado [44].

Para o complexo Cd-PAN podemos observar um aumento na concentração de Cd à medida que há um aumento na concentração do complexante, ocorrendo, em seguida, uma diminuição na resposta analítica. Um máximo de concentração de Cd ($650 \mu\text{g L}^{-1}$) foi obtido quando empregamos PAN a $1,0 \times 10^{-5} \text{ mol L}^{-1}$, seguido de uma diminuição quando a concentração de PAN foi aumentada para $2,7 \times 10^{-5} \text{ mol L}^{-1}$, conforme mostra a Figura II.2a. Neste caso, esse comportamento ocorre, provavelmente, porque moléculas do PAN que não se ligaram ao íon metálico, interagem com o tensoativo, e competem com as moléculas do complexo formado [44].

Para menores concentrações de DDTP ($0,01 \text{ mol L}^{-1}$) e de PAN ($2,7 \times 10^{-5} \text{ mol L}^{-1}$) o sinal diminuiu, provavelmente porque a quantidade do agente complexante foi insuficiente para promover a ligação com o Cd. Para a concentração de $0,2 \text{ mol L}^{-1}$ de DDTP ocorreu a formação do ponto nuvem, porém, durante a etapa de centrifugação, o mesmo se desfazia, impossibilitando a extração de Cd para a fase rica. Assim, a concentração de DDTP de $0,05 \text{ mol L}^{-1}$ foi selecionada para ser aplicada em todas as determinações, e no caso do PAN, o valor de concentração de $1 \times 10^{-5} \text{ mol L}^{-1}$ foi o que produziu a melhor resposta.

4.4. Efeito da concentração do surfactante

O efeito da concentração de Triton X-114 sobre a eficiência na pré-concentração de Cd também foi avaliada, com concentrações deste reagente variando de 0,25 a 5,7 % (m/v). Esses valores correspondem a 0,04 - 0,19 % (m/v) para o complexo Cd-PAN e 0,04 - 1,0 % (m/v) para o complexo Cd-DDTP, após a adição de todos os reagentes necessários para a formação do ponto nuvem. A Figura II.9 ilustra os resultados obtidos para a variação do aumento da concentração do cádmio em função da concentração de Triton X-114 usando PAN (a) e DDTP (b) como agentes complexantes.

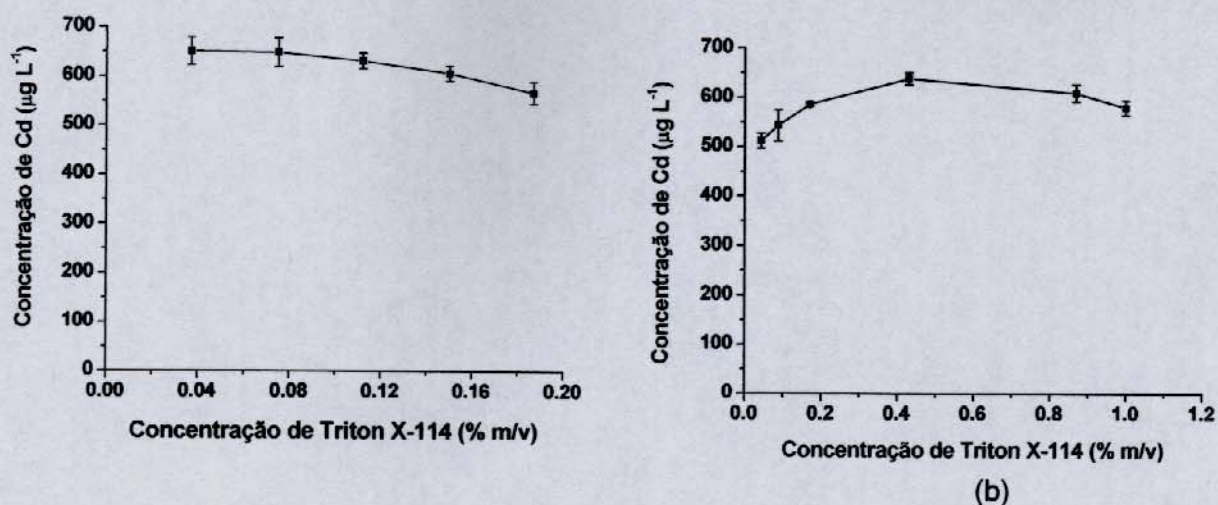


Figura II.9: Variação da concentração de Cd em função da concentração de Triton X-114 usando PAN (a) e DDTP (b) como agentes complexantes ($n=3$). Condições: $1,0 \times 10^{-5} \text{ mol L}^{-1}$ de PAN e $0,05 \text{ mol L}^{-1}$ de DDTP.

Na Figura II.10 podemos visualizar a formação do complexo Cd-PAN e também o tamanho da fase rica empregando diferentes concentrações de Triton X-114.

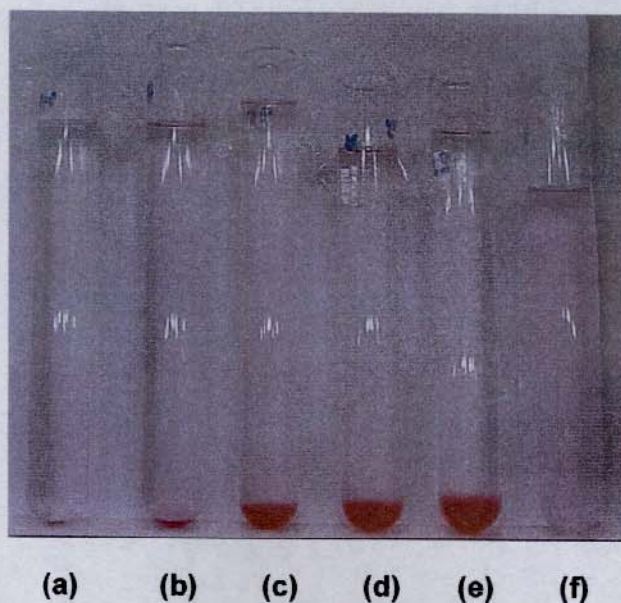


Figura II.10: Visualização da fase rica para diferentes concentrações de Triton X-114: (a) 0,25; (b) 0,50; (c) 0,75; (d) 2,55 e (e) 5,0% m/v depois de centrifugar e (f) 2,55 % (m/v) antes de centrifugar.

Podemos observar que menores volumes de fase rica são obtidos quando trabalha-se com menores concentrações do surfactante. No tubo (a) pode-se observar o pequeno volume da fase rica obtido. Esse volume corresponde a aproximadamente 20 μL .

Para baixas concentrações de Triton X-114 (menor que 0,04 % m/v para ambos sistemas complexantes) não foi possível observar a pré-concentração de Cd, talvez porque a quantidade de surfactante foi insuficiente para extrair quantitativamente o complexo formado, além da concentração do surfactante está abaixo da CMC.

Para o sistema complexante Cd-PAN, foi observado uma diminuição nas concentrações de Cd com o aumento nas concentrações do surfactante. Isso pode ser explicado pelo fato de que com aumento na quantidade de surfactante ocorre também um aumento no volume da fase rica, fazendo com que o Cd complexado esteja distribuído em um volume maior. Em termos de FPC, podemos observar uma queda de 6,5 para 5,7 quando a concentração de Triton X-114 foi de 0,04 para 0,19 % m/v.

No caso do sistema complexante Cd-DDTP, como ilustra a Figura II.9b, maiores concentrações de Cd ($625 \mu\text{g L}^{-1}$) foram obtidas quando se empregou 0,43 % (m/v) de Triton X-114. Diminuindo a concentração de Triton X-114 para 0,04 % (m/v) o sinal foi reduzido para $508 \mu\text{g L}^{-1}$. Para maiores concentrações de surfactante (1,0 % m/v) o sinal diminui. Como foi observado para o complexo Cd-PAN, quando foram empregados altas quantidades de surfactante existe um aumento no volume da fase rica; além disso, a viscosidade da fase rica também aumenta resultando em uma pobre detectabilidade [11].

Para o complexo Cd-DDTP, embora 0,43 % (m/v) de Triton X-114 apresentou maior sinal analítico, a concentração do surfactante de 0,04 % (m/v) foi selecionada como ótima, uma vez que a diferença, em termos de FPC, não foi muito significativa (6,3 e 5,1, respectivamente). Além do mais, a concentração de 0,04 % (m/v) é dez vezes menor, e, neste sentido, existe menor consumo do reagente.

4.5. Efeito da relação de volumes entre soluções de referência contendo cádmio e Triton X-114 sobre a pré-concentração de cádmio

Foi verificado o efeito da relação de volumes entre as soluções contendo o analito e o surfactante. O objetivo era avaliar se a proporção empregada de 7,5 mL de solução de Cd e 2,0 mL da solução de Triton X-114 era a proporção ótima, ou se ainda era possível

otimizar esta variável. Desta forma, foram realizados cinco experimentos que consistiram em modificar a proporção de volumes entre Cd e Triton X-114, mantendo, no entanto, a soma do volume final fixo dessas duas soluções em 9,5 mL para todos os experimentos. Nas cinco condições avaliadas (Tabela II.1), soluções de Cd com diferentes concentrações eram adicionadas afim de obter uma concentração final de Cd presente nos tubos de ensaio de $100 \mu\text{g L}^{-1}$. Uma solução de Triton X-114 de concentração de 0,25 % (m/v) era adicionada nos tubos de ensaio.

As proporções de Cd e Triton X-114 avaliadas foram: 5,0:4,5 - 6,0:3,5 - 7,5:2,0 - 8,0:1,5 - 9,0:0,5 (v/v), respectivamente. A Tabela II.1 mostra os resultados obtidos em termos de concentração de Cd ($\mu\text{g L}^{-1}$) para $n=3$.

Tabela II.1: Estudo da relação de volumes entre as soluções de referência de Cd e Triton X-114. Resultados de Cd complexado expressos em $\mu\text{g L}^{-1}$ ($n=3$).

	Cd:TX-114 (v/v) (mL)	Cd-PAN ($\mu\text{g L}^{-1}$)	Cd-DDTP ($\mu\text{g L}^{-1}$)
Condição 1	5,0 : 4,5	665 ± 28	530 ± 33
Condição 2	6,0 : 3,5	635 ± 24	522 ± 14
Condição 3	7,5 : 2,0	639 ± 17	540 ± 23
Condição 4	8,0 : 1,5	650 ± 26	508 ± 17
Condição 5	9,0 : 0,5	Ponto nuvem não foi observado	

Empregando-se a condição de 9,0 mL de Cd e 0,5 mL de Triton X-114 não foi possível observar a separação de fases. Provavelmente, a quantidade de Triton X-114 presente era insuficiente para permitir a formação das micelas. Os efeitos dos outros quatro experimentos sobre a concentração de Cd foram bastante similares. Neste sentido, e por razões de menor consumo de reagente, a razão de volumes de 8,0:1,5 (v/v) foi empregada em todas as determinações de Cd em ambos sistemas complexantes.

4.6. Efeito da concentração de NaCl

Vários autores têm investigado o efeito de vários aditivos sobre o comportamento do ponto nuvem [44, 45, 46]. Normalmente, os aditivos investigados na literatura incluem

surfactantes aniônicos e eletrólitos como NaCl, MgCl_2 e KNO_3 entre outros. Tem sido estabelecido que eletrólitos que promovem o efeito "salting-out" diminuem o ponto nuvem de surfactantes não-iônicos por desidratação das micelas, conduzindo à precipitação das mesmas [46]. Eletrólitos que promovem efeito "salting-in" trabalham de modo oposto. Como exemplo, podemos citar os surfactantes aniônicos que formam micelas mistas com os surfactantes não-iônicos. Eles aumentam a repulsão de carga entre as micelas, consequentemente conduzindo a um aumento da solubilidade do surfactante não-iônico à uma dada temperatura resultando em um aumento do ponto nuvem.

Gu e Galera-Gómez [45] estudaram a influência de vários eletrólitos, entre eles o NaCl, sobre o ponto nuvem do Triton X-114 na presença e ausência de surfactanes iônicos. O ponto nuvem de Triton X-114 diminuiu de 25 para 22°C quando a concentração de NaCl aumentou de 0,03 para 0,12 mol L^{-1} .

Baseado nesta discussão, empregamos o eletrólito NaCl com o objetivo de obter o ponto nuvem sem a necessidade de aquecimento. A concentração de NaCl foi estudada para valores variando de 0,5 a 5,0 % (m/v). As mesmas condições experimentais descritas na seção da metodologia (item 3.3) foram aplicadas aqui, com exceção da etapa de aquecimento, que foi substituída pela adição de NaCl. A Figura II.11 ilustra os resultados obtidos.

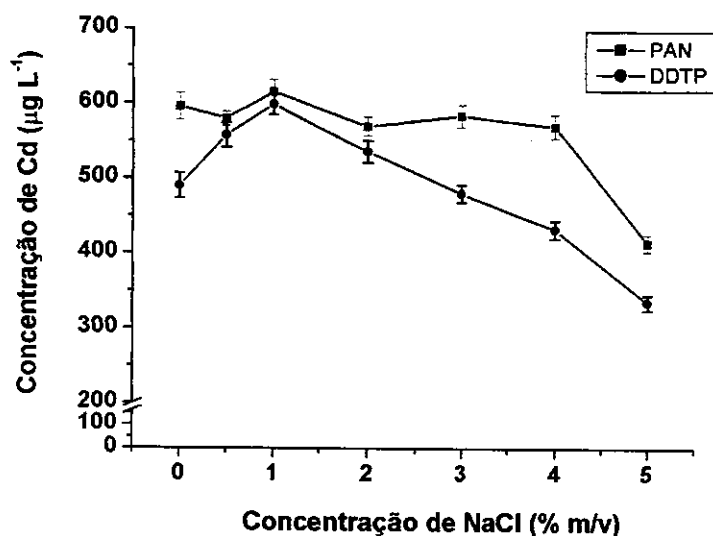


Figura II.11: Variação da concentração de Cd em função da concentração de NaCl. A concentração de NaCl de 0% (m/v) corresponde à pré-concentração de Cd induzida por aquecimento. Condições: para o complexo Cd-PAN, $1,0 \times 10^{-5} \text{ mol L}^{-1}$ de PAN e 0,25 % (m/v) de Triton X-114; para o complexo Cd-DDTP, $0,05 \text{ mol L}^{-1}$ de DDTP e 0,25 % (m/v) de DDTP.

Como mostra a Figura II.11, foram obtidas maiores concentrações de Cd quando empregou-se 1,0 % (m/v) de NaCl. Aumentando a concentração de NaCl de 2,0 % a 5,0 % m/v, o sinal diminuiu consideravelmente, principalmente para o sistema complexante Cd-DDTP. Provavelmente, quando a concentração de NaCl é bastante elevada ocorre uma alteração na estrutura molecular do surfactante e, conseqüentemente, o processo de formação das micelas também é alterado. Além do mais, existe a possibilidade do cádmio formar compostos com cloreto (CdCl_2) e alguns outros complexos. A formação destes compostos desfavorece a ligação do Cd com DDTP, e conseqüentemente prejudica a extração e pré-concentração.

É necessário enfatizar que soluções do “branco analítico” foram avaliadas, e nenhum sinal analítico significativo foi obtido para as concentrações de cádmio (0,001 e 0,009 absorbância para Cd-PAN e Cd-DDTP, respectivamente). Isto comprova que no procedimento proposto não ocorre contaminações provenientes dos reagentes empregados para realizar a extração por ponto nuvem. A concentração de NaCl de 1,0 % (m/v) foi empregada em todos os experimentos. Vale ressaltar que foi possível realizar a pré-concentração de Cd pelo ponto nuvem sem a necessidade de aquecimento. Isto representa uma grande vantagem para a metodologia proposta, uma vez que elimina a etapa de aquecimento.

4.7. Efeito do volume de etanol

Uma vez que a fase rica obtida possui alta concentração de Triton X-114, é necessário diminuir a viscosidade da mesma para facilitar a sua introdução no nebulizador do espectrômetro, além de que este procedimento de diluição aumenta o volume da fase rica, desde que seu volume original é extremamente pequeno (aproximadamente 20 μL). Assim, etanol (5,0 %) contendo ácido nítrico ($0,1 \text{ mol L}^{-1}$) foi adicionado à fase rica após a separação de fases. Foram avaliados volumes de etanol/ HNO_3 adicionados de 400 a 1800 μL . A Figura II.12 mostra as mudanças no sinal analítico (FPC normalizado) como função do volume de etanol adicionado.

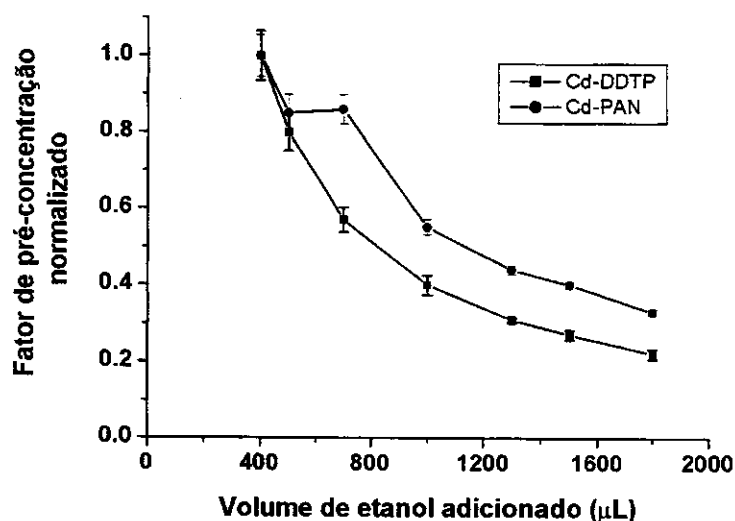


Figura II.12: Variação da concentração de Cd em função do volume de etanol (n=3); valores normalizados. Condições: para o complexo Cd-PAN, $1,0 \times 10^{-5}$ mol L⁻¹ de PAN, 0,25 % (m/v) de Triton X-114 e 1,0% (m/v) de NaCl; para o complexo Cd-DDTP, 0,05 mol L⁻¹ de DDTP, 0,25 % (m/v) de Triton X-114 e 1,0 % (m/v) de NaCl.

Os resultados mostram que 400 µL de etanol/HNO₃ corresponde ao melhor fator de pré-concentração para o Cd, sendo observado um FPC de 16 e 19 vezes quando empregou Cd-PAN e Cd-DDTP, respectivamente. Para menores volumes de etanol adicionado não foi possível realizar a transferência quantitativa da fase rica dos tubos de ensaio para os tubos graduados. Para maiores volumes de etanol, existiu claramente uma redução do sinal, uma vez que predomina a diluição das micelas. Deste modo, o volume de etanol de 400 µL foi usado.

Desde que os volumes de etanol/HNO₃ implicam em fatores de diluição diferenciados para cada condição estudada, uma alternativa para avaliar a eficiência da etapa de pré-concentração foi utilizar o FPC normalizado. Desta forma foi possível eliminar as diferenças nas diluições para cada condição. Esse parâmetro foi calculado considerando-se a concentração de Cd obtida como sendo 100% quando trabalhou-se com 400 µL de etanol/HNO₃. Como o fator de diluição nesta condição foi de 20 vezes (400µL/20µL), os demais fatores de pré-concentração normalizados foram calculados por meio deste valor.

4.8. Estudo dos possíveis interferentes para ambos os sistemas complexantes

Existem dois grupos de possíveis interferentes que podem afetar o processo de pré-concentração do cádmio empregando a metodologia do ponto nuvem e utilizando o PAN como agente complexante. Em um deles, íons metálicos de carga positiva podem reagir com o PAN, e, no outro, seria o caso das espécies que podem formar complexos com o cádmio, como por exemplo, os ácidos húmicos, presentes em amostras de água [11]. Pinto *et al.* [11] conduziram estudos de interferentes para o cádmio complexado ao PAN em extrações por ponto nuvem empregando Triton X-114 como surfactante. Neste caso, as espécies metálicas com carga positiva investigadas foram: alumínio(III), cálcio(II), magnésio(II), chumbo(II), ferro(III), níquel(II) e zinco(II). Essas espécies foram investigadas na razão interferente/cádmio de 1, 10 e 100 vezes, sendo que a concentração de cádmio estava em $18 \mu\text{g L}^{-1}$. A etapa de pré-concentração foi realizada com 0,25% (m/v) de Triton X-114 e o PAN estava na concentração de $4,8 \times 10^{-5} \text{ mol L}^{-1}$.

Neste trabalho de Tese, as concentrações de cádmio, Triton X-114 e PAN foram $100 \mu\text{g L}^{-1}$, 0,25% (m/v) e $1,0 \times 10^{-5} \text{ mol L}^{-1}$, respectivamente. Embora neste caso a concentração de Cd esteja 5,5 vezes maior em relação ao trabalho de Pinto *et al.*, a concentração de PAN está 4,8 vezes menor. Deste modo, pode-se concluir que ambos os trabalhos apresentam praticamente as mesmas condições.

De acordo com os resultados obtidos por Pinto *et al.*, nenhuma interferência (erro menor do que 3,0%) foi detectada na presença desses cátions nos níveis descritos acima. Esses mesmos autores realizaram também estudos de interferentes produzidos pela presença de ânions (sulfato, cloreto, cianeto e amônia) e agentes complexantes, como EDTA e ácido húmico. A razão interferentes/cádmio foi a mesma descrita acima e os resultados obtidos neste estudo de interferentes mostraram que os ânions investigados não causam interferência significativa (erro menor do que 3,0%). No entanto, a presença de EDTA mostrou uma interferência negativa próxima de 80% devido à formação do complexo Cd-EDTA. Para os estudos de interferência do ácido húmico sobre o cádmio ($10 \mu\text{g L}^{-1}$), uma diminuição de 15% no sinal analítico ocorreu para uma diluição de 1:2 entre o cádmio e o ácido húmico, e para uma solução 1:1 a redução do sinal foi de 25% [11].

Manzoori e Bavili-Tabrizi [47] realizaram estudos de interferentes para o cádmio na presença do complexante DDTP e do surfactante Triton X-114. Estudos de interferentes foram aqueles relacionados a cátions que podem reagir com DDTP ou espécies que podem reagir com o cádmio e diminuir a eficiência da extração. Para realizar esse estudo, várias soluções contendo 0,05% (v/v) de Triton X-114, 0,01 mol L⁻¹ DDTP e 10 mL de uma solução padrão de 100 µg L⁻¹ de cádmio e o interferente em diferentes concentrações (razão interferente : metal) foram preparadas, e a metodologia de extração/pré-concentração foi aplicada. O Quadro II.2 mostra os resultados obtidos para os estudos dos interferentes no limite de tolerância indicados para uma diminuição no sinal menor do que 5%.

Neste trabalho de Tese, as concentrações de cádmio, Triton X-114 e DDTP foram 100 µg L⁻¹, 0,25% (m/v) e 0,04 mol L⁻¹, respectivamente. Pode-se observar que a concentração de DDTP neste trabalho de tese está 4 vezes maior em relação ao trabalho de Manzoori e Bavili-Tabrizi.

Quadro II.2: Limites de tolerância das espécies interferentes na determinação de 100µg L⁻¹ de cádmio (erro menor que 5%).

Razão interferente : analito	Espécies interferentes
1000 : 1	Zn ²⁺ , Mn ²⁺ , Co ²⁺ , Cr ³⁺ , F ⁻ , uréia, tiuréia
750 : 1	I ⁻ , SO ₄ ²⁻ , CO ₃ ²⁻ , citrato, tartrato, acetato, glicina
500 : 1	Ni ²⁺ , EDTA
200 : 1	Pb ²⁺ , Ag ⁺ , As ³⁺
100 : 1	Bi ³⁺
50 : 1	Cu ²⁺ , Fe ³⁺ , Mo(VI)

Pode-se observar que as principais espécies que mostram maior interferência sobre o cádmio são o Cu²⁺, Fe³⁺, Mo(VI).

Neste capítulo, não foi conduzido o estudo dos interferentes uma vez que na literatura existem trabalhos feitos a esse respeito [11, 47]. Por meio desses trabalhos, ficou evidenciado que, no caso do Cd complexado ao PAN, nenhuma interferência foi observada ao nível de 5%, com exceção do EDTA e dos ácidos húmicos, que apresentaram interferência significativa sobre o complexo Cd-PAN (próxima de 80%). No caso do Cd complexado ao DDTP, também não foi observado interferência significativa ao nível de 5%,

com exceção do Cu^{2+} , Fe^{3+} , Mo(VI) , que apresentaram interferência na proporção interferente : analito de 50 : 1.

4.9. Avaliação do desempenho analítico

Foram obtidos gráficos da curva analítica de calibração pela pré-concentração de 8,0 mL da solução padrão de Cd na presença de 1,5 mL de Triton X-114, sob as mesmas condições experimentais especificadas na metodologia, e para ambos sistemas complexantes. As soluções foram introduzidas no FAAS por aspiração convencional. Os resultados obtidos são apresentados na Tabela II.2, juntamente com a precisão do método (resultados expressos como RSD e obtidos à partir de uma solução de Cd de concentração final de $100,0 \mu\text{g L}^{-1}$, $n=11$).

Tabela II.2: Características analíticas dos métodos desenvolvidos empregando ponto nuvem na presença do eletrólito NaCl (1% m/v).

	Método do PAN	Método do DDTP
Equação da reta	$Y = 0,0007 + 0,0017X$	$Y = 0,0026 + 0,0018X$
R	0,998	0,997
Faixa linear ($\mu\text{g L}^{-1}$)	5 - 200	3 - 400
Limite de detecção ($\mu\text{g L}^{-1}$)	1,6	0,9
Limite de quantificação ($\mu\text{g L}^{-1}$)	5,3	2,9
Precisão (repetibilidade)	3,0 %	4,0 %
Fator de pré-concentração	16	19

Limites de detecção e quantificação, calculados de acordo com as definições da IUPAC [48], foram obtidos e são apresentados na Tabela II.2. Para a técnica de espectrometria de absorção atômica por chama, sem a etapa de pré-concentração, os limites de detecção e quantificação foram $50 \mu\text{g L}^{-1}$ e $165 \mu\text{g L}^{-1}$, respectivamente. Com os valores obtidos pelos métodos desenvolvidos, estes podem ser empregados para avaliar o grau de contaminação de cádmio em amostras de água potável, cujo valor máximo estipulado pela Agência Nacional de Vigilância Sanitária (ANVISA) é $5,0 \mu\text{g L}^{-1}$ [49].

4.10. Determinação de cádmio em amostras de água, soro fisiológico e tabaco

A aplicabilidade do método de pré-concentração usando ponto nuvem induzido por NaCl para determinação de cádmio em amostras foi demonstrada em água mineral, soro fisiológico, água de lagoa e tabaco. Boas recuperações (93 - 107 %) foram obtidas para todas as amostras analisadas (Tabelas II.3 e II.4).

Tabela II.3: Determinação de Cd em amostras de água mineral, soro fisiológico, água da lagoa e digeridos de tabaco empregando o método Cd-DDTP e adição de NaCl.

Amostras	Concentração de cádmio adicionado ($\mu\text{g L}^{-1}$)	Concentração de cádmio encontrado ^a ($\mu\text{g L}^{-1}$)	Recuperação ^b (%)
Água mineral	0	— ^c	-
	10	$10,7 \pm 1,8$	107
	20	$20,7 \pm 4,8$	104
Água da lagoa	0	— ^c	-
	10	$11,4 \pm 1,0$	114
	20	$22,0 \pm 1,8$	110
Soro fisiológico	0	— ^c	-
	10	$10,5 \pm 1,5$	105
	20	$18,6 \pm 0,2$	93
Tabaco 1	0	$10,9 \pm 1,0$	-
	4	$15,3 \pm 1,4$	103
Tabaco 2	0	$8,7 \pm 0,7$	-
	4	$13,4 \pm 1,6$	106
Tabaco 3	0	$7,1 \pm 0,5$	-
	4	$11,5 \pm 0,5$	104
Tabaco 4	0	$4,3 \pm 0,4$	-
	4	$8,6 \pm 0,6$	103

^a Resultados expressos como valores médios $\pm$ desvio padrão (n=4).

^b Recuperação obtida em amostras "dopadas".

^c < LQ.

Tabela II.4: Determinação de Cd em água mineral e soro fisiológico empregando o método Cd-PAN.

Amostras	Concentração de cádmio adicionado ($\mu\text{g L}^{-1}$)	Concentração de cádmio encontrado ^a ($\mu\text{g L}^{-1}$)	Recuperação ^b (%)
Água mineral	0	— ^c	-
	10	$9,3 \pm 0,2$	93
	20	$19,6 \pm 0,6$	98
Soro fisiológico	0	— ^c	-
	10	$9,9 \pm 0,6$	100
	20	$20 \pm 1,0$	102

^a Resultados expressos como valores médios $\pm$ desvio padrão (n=3).

^b Recuperação obtida em amostras “dopadas”.

^c < LQ.

O ETAAS foi empregado para avaliar a exatidão da metodologia Cd-DDTP (Tabela II.5). A aplicação do teste *t* para ambos conjuntos de resultados mostrou que não existe diferença significativa ao nível de 95% do intervalo de confiança.

Tabela II.5: Determinação de Cd em amostras de tabaco (n=4) empregando FAAS e ETAAS.

Amostra	FAAS ($\mu\text{g g}^{-1}$)	ETAAS ($\mu\text{g g}^{-1}$)
Tabaco 1	$0,546 \pm 0,050$	$0,479 \pm 0,038$
Tabaco 2	$0,437 \pm 0,036$	$0,437 \pm 0,013$
Tabaco 3	$0,353 \pm 0,022$	$0,364 \pm 0,019$
Tabaco 4	$0,229 \pm 0,022$	$0,250 \pm 0,025$

5. Conclusões parciais

A metodologia do ponto nuvem desenvolvida nesta etapa do trabalho de Tese foi aplicada com sucesso para a pré-concentração de cádmio antes de sua determinação por FAAS.

Foram avaliados dois sistemas complexantes: PAN e DDTP. Embora ambos apresentaram fatores de pré-concentração bastante próximos, o complexante DDTP possui a vantagem de ser estável em meio ácido. Assim, uma vez que amostras líquidas são conservadas em meio ácido, e amostras sólidas são decompostas usando soluções ácidas, este ligante pode ser empregado diretamente sem a necessidade de tamponamento do meio reacional.

O volume obtido da fase rica (aproximadamente 20 μL) juntamente com as quantidades de reagentes adicionados mostra que o ponto nuvem trata-se de uma ferramenta analítica que gera poucos resíduos químicos em relação a outras técnicas de extração, as quais empregam solventes orgânicos altamente tóxicos.

O Triton X-114 foi selecionado para a formação da fase rica devido as suas características físico-químicas: alta densidade ($1,37 \text{ g mL}^{-1}$), o que facilita a separação de fases por centrifugação, disponibilidade comercial e preço relativamente baixo.

A metodologia proposta é simples, prática e rápida, podendo ser realizada em batelada, sem exigir equipamentos e vidrarias sofisticados, altos tempos de extração e agitação vigorosa. O fato de a separação ocorrer em temperatura ambiente agiliza ainda mais o processo, pois não são requeridos longos tempos de aquecimento.

6. Conclusões gerais

A tendência da Química Analítica é a elaboração de métodos simples, ecologicamente seguros, apresentando boa sensibilidade e de baixo custo. O sistema de "electrostacking" bidirecional e a extração por ponto nuvem apresentam a maioria dessas características.

O procedimento desenvolvido empregando o sistema de BDES permite uma alternativa à pré-concentração e especiação de As(III) e As(V) em amostras de água e amostras de baixa condutividade. Com exceção da fonte de alimentação e das bombas peristálticas, os materiais empregados na sua confecção são de baixo custo.

Os resultados apresentados mostraram que as condições experimentais, como concentração da solução tampão-suporte, pode afetar a migração das espécies para fronteira amostra/solução tampão-suporte. Sendo assim, as melhores condições obtidas na pré-concentração de As(V) foram: voltagem aplicada de 750 V durante 20 min e empregando o tampão $\text{H}_3\text{BO}_3/\text{NaOH}$ como solução tampão-suporte na concentração de $0,05 \text{ mol L}^{-1}$. Nessas condições, foi possível obter um fator de pré-concentração cerca de 5 vezes. Embora o fator de pré-concentração apresentou-se relativamente baixo, o sistema de BDES apresenta-se como uma ferramenta inovadora contribuindo para estudos de especiação, como observado neste trabalho de Tese. Além do mais, esse sistema pode ser empregado para separar e/ou pré-concentrar outras espécies catiônicas e aniônicas, como, por exemplo, chumbo e cromo.

A grande vantagem que o método do ponto nuvem proposto neste trabalho de Tese oferece é a baixa toxicidade, pois não existe a necessidade de usar solventes orgânicos inflamáveis e tóxicos, como na extração líquido-líquido convencional. Como uma consequência, a poluição ambiental é reduzida. Outras vantagens que essa metodologia proporciona são a simplicidade, o baixo custo e a rapidez, além do pequeno volume da fase rica obtida (aproximadamente $20 \mu\text{L}$). A formação do ponto nuvem induzido pela adição de NaCl tornou o método mais versátil, principalmente para análises de rotina.

O sistema de extração/pré-concentração gera pequenas quantidades de resíduos e reduz a insalubridade da operação. O consumo médio para cada extração, empregando DDTP como complexante, é de: 8,0 mL da amostra, 0,5 mL de HCl, 1,5 mL de DDTP, 1,5 mL de Triton X-114 e 0,2 mL de NaCl. Para o complexante PAN, esses valores são: 8,0 mL da amostra, 0,5 mL de tampão, 1,5 mL de PAN/Triton X-114 e 0,2 mL de NaCl.

Selecionando um agente complexante adequado, outros íons metálicos podem facilmente ser pré-concentrados utilizando o ponto nuvem.

7. Referências bibliográficas

- [1] Pelizzetti, E.; Pramauro, E.; Analytical applications of organized molecular assemblies. *Anal. Chim. Acta* **169** (1985) 1 - 29
- [2] Maniasso, N.; Ambientes Micelares em Química Analítica. *Quim. Nova* **24** (2001) 87 - 93.

- [3] Opatowski, E.; Lichtenberg, D.; Kozlov, M. M.; The heat of transfer of lipid and surfactant from vesicles into micelles in mixtures of phospholipid and surfactant. *Biophysical J.* **73** (1997) 1458 - 1467.
- [4] Hinze, W. L.; Pramauro, E.; A critical review of surfactant-mediated phase separations (Cloud-Point Extractions): Theory and applications. *Crit. Rev. Anal. Chem.* **24** (1993) 133 - 177.
- [5] Tesarova, E; Tuzar, Z.; Nesmerák, K.; Bosáková, Z.; Gas, B.; Study on the aggregation of teicoplanin. *Talanta* **54** (2001) 643 - 653.
- [6] McIntire, G. H.; Micelles in analytical chemistry. *Crit. Rev. Anal. Chem.* **21** (1990) 257 - 278.
- [7] Porter, M. R., **Recent developments in the analysis of surfactants**. Critical reports on applied chemistry, N. Y., vol 32, Ed. Elsevier Science Ltda, 1978.
- [8] Cabane B.; Zemb, T.; Water in the hydrocarbon core of micelles. *Nature* **314** (1985) 385 - 392.
- [9] Menger, F. M.; Molecular conformations in surfactant micelles. *Nature* **313** (1985) 603 - 611.
- [10] Carabias-Martínez, R.; Rodríguez-Gonzalo, E.; Moreno-Cordero, B.; Pérez-Pavón, J. L.; García-Pinto, C.; Laespada, E. F.; Surfactant cloud point extraction and preconcentration of organic compounds prior to chromatography and capillary electrophoresis. *J. Chromatogr. A* **902** (2000) 251 - 265.
- [11] Pinto, C. G.; Pávon, J. L. P.; Cordero, B. M.; Beato, E. R.; Sánchez, S. G.; Cloud point preconcentration and flame atomic absorption spectrometry: application to the determination of cadmium. *J. Anal. At. Spectrom.* **11** (1996) 37 - 41.
- [12] Manzoori, J. L; Bavili-Tabrizi, A.; The application of cloud point preconcentration for the determination of Cu in real samples by flame atomic absorption spectrometry. *Microchem. J.* **72** (2002) 1 - 7.
- [13] Watanabe, H.; Tanaka, H.; Nonionic surfactant as a new solvent for liquid-liquid - extraction of zinc(II) with 1-(2-pyridylazo)-2-naphthol. *Talanta* **25** (1978) 585 - 589.
- [14] Tani H., Kamidate T., Watanabe H.; Micelle-mediated extraction. *J. Chromatogr. A* **780** (1997) 229 - 241.

- [15] J. Szymanowski, Surfactante enhanced non-classical extraction, *J. Radioanal. Nuclear Chem.* **246** (2000) 635 - 642.
- [16] Corti, M.; Minero, C.; Degiorgio, V.; Cloud point transition in nonionic micellar solutions. *J. Phys. Chem.* **88** (1984) 309 - 317.
- [17] Hiller, G. K.; Von Wandruszka, R.; Anisotropy changes of a fluorescent probe during the micellar growth and clouding of a nonionic detergent. *J. Coll. Interf. Sci.* **177** (1996) 156 - 161.
- [18] Liu, C. L.; Nikas, Y. J.; Blankschtein, D.; Novel bioseparations using two-phase aqueous micellar systems. *Biotechnol. Bioeng.* **52** (1996) 185 - 192.
- [19] Saitoh, T.; Tani, H.; Kamidate, T.; Watanabe, H.; Phase-separation in aqueous micellar solutions of nonionic surfactants for protein separation. *Trends Anal. Chem.* **14** (1995) 213 - 217.
- [20] Attwood, D.; Florence, A. T.; **Surfactant Systems: their chemistry, pharmacy and biology**, Chapman and Hall, New York, 1983.
- [21] Stalikas, C. D.; Micelle-mediated extraction as a tool for separation and preconcentration in metal analysis. *Trends Anal. Chem.* **21** (2002) 343 - 355.
- [22] Tang, A. N.; Jiang, D. Q.; Yan, X. P.; Cloud point extraction for high-performance liquid chromatographic speciation of Cr(III) and Cr(VI) in aqueous solutions. *Anal. Chim. Acta* **507** (2004) 199 - 204.
- [23] Mitall K. L.; Fendler, E. J.; **Solution behavior os surfactants**, Plenum Press, New York, 1982.
- [24] Oliveros, M. C. C.; de Blas, O. J.; Pavón, J. L. P.; Cordero, B. M.; Cloud point preconcentration and flame atomic absorption spectrometry: application to the determination of nickel and zinc. *J. Anal. At. Spectrom.* **13** (1998) 547 - 550.
- [25] Silva, M. A. M.; Frescura, V. L. A.; Aguilera, F. J. N.; Curtius, A. J.; Determination of Ag and Au in geological samples by flame atomic absorption spectrometry after cloud point extraction. *J. Anal. At. Spectrom.* **13** (1998) 1369 - 1373.
- [26] Paleologos, E. K.; Stalikas, C. D.; Tzouwara-Karayanni, S. M.; Pilidis, G. A.; Karayannis, M. I.; Micelle-mediated methodology for speciation of chromium by flame atomic absorption spectrometry. *J. Anal. At. Spectrom.* **15** (2000) 287 - 291.
- [27] Evdokimov, E.; von Wandruszka, R.; Decontamination of DDT-polluted soil by washing cloud point extraction. *Anal. Lett.* **31** (1998) 2289-2298.

- [28] Hiller, G. K.; Von Wandruszka, R.; Decontamination of oil-polluted soil by cloud point extraction. *Talanta* **42** (1995) 83 - 88.
- [29] Revia, R. L.; Makharadze, G. A.; Cloud-point preconcentration of fulvic and humic acids. *Talanta* **48** (1999) 409 - 413.
- [30] Martínéz, R. C.; Gonzalo, E. R.; Alvarez, J. D.; Méndez, J. H.; Cloud point extraction as a preconcentration step prior to capillary electrophoresis. *Anal. Chem.* **71** (1999) 2468 - 2474.
- [31] Fang, Q.; Du, M.; Huie, C. W.; On-line incorporation of cloud point extraction to flow injection analysis. *Anal. Chem.* **73** (2001) 3502 - 3505.
- [32] Ortega, C.; Gomez, M. R.; Olsina, R. A.; Silva, M. F.; Martinez, L. D.; On-line cloud point preconcentration and determination of gadolinium in urine using flow injection inductively coupled plasma optical emission spectrometry. *J. Anal. Atomic Spectrom.* **17** (2002) 530 - 533.
- [33] Paleologos, E. K.; Vlessidis, A. G.; Karayannis, M. I.; Evmiridis, N. P.; On-line sorption preconcentration of metals based on mixed micelle cloud point extraction prior to their determination with micellar chemiluminescence - Application to the determination of chromium at ng L⁻¹ levels. *Anal. Chim. Acta* **477** (2003) 223 - 231.
- [34] Akita, S.; Takeuchi, H.; Equilibrium distribution of aromatic compounds between aqueous solution and coacervate of nonionic surfactants. *Sep. Sci. Technol.* **31** (1996) 401 - 412.
- [35] Zhu, X. S.; Hu, B. Jiang, Z. C.; Li, M. F. Cloud point extraction for speciation of chromium in water samples by electrothermal atomic absorption spectrometry. *Water Research* **39** (2005) 589-595.
- [36] Shemirani, F.; Baghdadi, M.; Ramezani, M.; Preconcentration and determination of ultra trace amounts of arsenic(III) and arsenic(V) in tap water and total arsenic in biological samples by cloud point extraction and electrothermal atomic absorption spectrometry. *Talanta* **65** (2005) 882 - 887.
- [37] Massabni, A. C.; Melnikov, P.; Cuin, A.; Corbi, P. P.; Corbi, J. J.; O cádmio e seus efeitos no homem e no meio ambiente. *J. Bioquím. Méd.* (2002) 5-6.
- [38] Friberg, L.; Nordberg, G. F.; Vouk, V. B.; **Handbook of toxicology of metals**, Elsevier, Amsterdam, v. 2, 1986.

- [39] Seiler, H. G.; Sigel, H.; **Handbook of toxicity of inorganic compounds**, Ed Marcel Dekker, INC, New York, 1988.
- [40] Perrin, D. D.; Dempsey, B.; **Buffers for pH and metal ion control**, J. W. Arrowsmith Ltda, Bristol, Great Britain, 1983.
- [41] Borges, D. L. G.; da Veiga, M. A. M. S.; Frescura, V. L. A.; Welz, B.; Curtius, A. J.; Cloud-point extraction for determination of Cd, Pb and Pd in blood by electrothermal atomic absorption spectrometry, using Ir or Ru as permanent modifiers. *J. Anal. Atomic Spectrom.* **18** (2003) 501 - 507.
- [42] Bode, H.; Amswald, W.; Substituted dithiophosphates II. Formation of metal diethyldithiophosphates and extraction from mineral acid solutions. *Fresenius' Z. Anal. Chem.* **185** (1962) 179 - 201.
- [43] Shibata, S.; **2-Pyridylazo Compounds in Analytical Chemistry**, IN: H. A. Flaschka, A. J. Jr. Bamard, eds. Chelates in Analytical Chemistry, volume IV, Ed. Marcel Dekker, New York, USA, 1972.
- [44] Nascentes, C. C.; Arruda, M. A. Z.; Cloud point formation based on mixed micelles in the presence of electrolytes for cobalt extraction and preconcentration. *Talanta* **61** (2003) 759 - 768.
- [45] Gu, T.; Galera-Gómez, P. A.; Clouding of Triton X-114-the effect of added electrolytes on the cloud point of Triton X-114 in the presence of ionic surfactants. *Colloids Surf. A: Physicochem. Eng. Aspects* **104** (1995) 307 - 312.
- [46] Goel, S. K.; Critical phenomena in the clouding behavior of nonionic surfactants induced by additives. *J. Colloid Interface Sci.* **212** (1999) 604 - 606.
- [47] Manzoori, J. L.; Bavili-Tabrizi, A.; Cloud point preconcentration and flame atomic absorption spectrometric determination of Cd and Pb in human hair. *Anal. Chim. Acta* **470** (2002) 215 - 221.
- [48] Analytical Methods Committee, Recommendations for the definition, estimation and use of detection limit, *Analyst* **112** (1987) 199 - 204.
- [49] Ministério da Saúde. Agência Nacional de Vigilância Sanitária (ANVISA). Portaria nº 518, de 25 de março de 2004. <http://legis.bvs.br/leisref/public/showAct.php> (acessada em junho de 2005).