

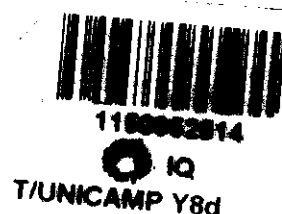
UNICAMP

UNIVERSIDADE ESTADUAL DE CAMPINAS

Instituto de Química

**Desenvolvimento de um Sistema em Fluxo para
Pré-Concentração e Determinação Fotométrica de
Mercúrio**

Dissertação de Mestrado



Aluno: Fernando Seiji Yonehara

Orientador: Prof. Dr. Celio Pasquini

Campinas – SP

Agosto / 2002

|

UNICAMP
BIBLIOTECA CENTRAL

200306603

UNIDADE	I/D
Nº CHAMADA	T/UNICAMP
	Y8d
V	EX
TOMBO BCI	52514
PROC.	124103
C	☐
D	☒
PREÇO	R\$ 11,00
DATA	
Nº CPD	

CM001B0290-7

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

BIB ID 294020

Y8d

Yonehara, Fernando Seiji

Desenvolvimento de um sistema em fluxo para
pré-concentração e determinação fotométrica de
mercúrio / Fernando Seiji Yonehara. -- Campinas,
SP: [s.n], 2002.

Orientador: Celio Pasquini.

Dissertação (mestrado) – Universidade
Estadual de Campinas, Instituto de Química.

1. PAR. 2. MSFA. 3. Efluentes industriais.
I. Pasquini, Celio. II. Universidade Estadual de
Campinas. III. Título.



UNIVERSIDADE ESTADUAL DE CAMPINAS
Instituto de Química

**Desenvolvimento de um Sistema em Fluxo para
Pré-Concentração e Determinação Fotométrica de
Mercúrio**

Fernando Seiji Yonehara

Orientador: Prof. Dr. Celio Pasquini

Dissertação apresentada ao Instituto de Química da Universidade Estadual de Campinas – SP – UNICAMP, como parte dos requisitos para a obtenção do título de Mestre em Química, na Área de Química Analítica.

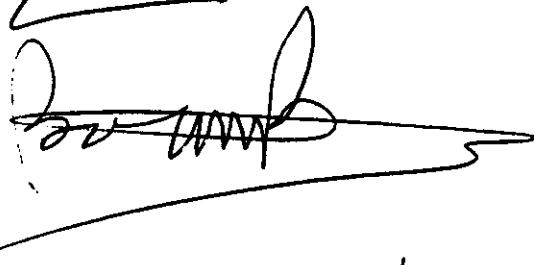
Campinas – SP
Agosto / 2002

BANCA EXAMINADORA

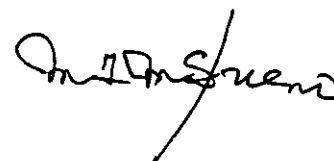
Prof. Dr. Célio Pasquini (Orientador)



Prof. Dr. Boaventura Freire dos Reis (CENA-USP)



Profa. Dra. Maria Izabel Maretti Silveira Bueno (IQ-UNICAMP)



Este exemplar corresponde à redação final da
Dissertação de Mestrado defendida pelo aluno
FERNANDO SEIJI YONEHARA, aprovada pela
Comissão Julgadora em 05 de agosto de 2002.



Prof. Dr. Célio Pasquini
(Presidente da Banca)

*Aos meus pais, Toshiaki e Maria, sem
os quais eu nada seria;
Aos meus irmãos, Lincoln e Lumy, pela
infinita paciência e apoio constante e
incondicional, dedico.*

Agradecimentos

- † À DEUS, criador de tudo e de todos;
- § Ao Prof. Dr. Celio Pasquini, pela orientação segura e pela confiança depositada em minha pessoa;
- ✱ Ao Prof. Dr. Jarbas J. R. Rohwedder, pelas inúmeras dicas, sugestões e esclarecimentos de suma importância (e também pelos momentos de descontração no laboratório);
- ✱ Ao Emerson Vidal de Aquino, pela amizade e inestimável ajuda desde o início do trabalho;
- ☐ Ao Ismael Pereira Chagas, pela amizade e pelos ensinamentos computacionais;
- ☺ Aos amigos do GIA: Alexandre, Bitão, Celeste, Claudete, Eliane, Fabiano, Fernanda, Fernando, Flávia, Márcia e Xaolim, pela amizade e agradável convivência; e aos amigos do LQA: Carlos, Cláudia, Daniela, Efigênia, Fernanda, Gilberto, Gilmar, Gislaine, Márcia e Patrícia, pela amizade;
- 💎 À Profa. Dra. Solange Cadore, pelo apoio constante e ao Prof. Dr. Ivo Milton Raimundo Jr., pelas preciosas dicas;
- 💎 Ao Prof. Dr. Wilson de Figueiredo Jardim e à Profa. Dra. Maria Izabel Maretti Silveira Bueno, pela valiosa contribuição no exame de qualificação;
- 💎 Ao Prof. Dr. Boaventura Freire dos Reis e novamente à Profa. Dra. Maria Izabel Maretti Silveira Bueno, por aceitarem o convite para compor a banca de defesa;

- ☛ Ao Mário (mecânica fina) e ao Marcos (vidraria), pela construção de peças fundamentais à realização do trabalho;
- ☛ À Bel e ao André (secretaria de pós-graduação) sempre prestativos e eficientes nas questões burocráticas;
- ☛ À grande amiga Érica, seu pai Sr. Luiz, sua mãe Dona Marina e seu irmão Newton, minha segunda família;
- ☛ Às amigas Regina e Tatiane pelo apoio irrestrito nos momentos mais difíceis passados em Campinas (e também em Maringá);
- ☛ À amiga e confidente Nicole Louise e à amiga Gisele Luciani;
- ☛ Aos amigos Leila, Odair, Eduardo, Marcelo, Robson, e demais amigos maringenses da Unicamp, pelo grande apoio, sempre;
- A todos os amigos cujos nomes me fogem à memória e a quem peço perdão;
- Aos professores e funcionários do IQ;
- À UNICAMP;
- ☛ A CNPq, pela bolsa de estudos;

Enfim, a todos aqueles que de alguma forma contribuíram, mesmo que em algum detalhe mínimo, para a realização deste trabalho,

MUITO OBRIGADO.

Resumo

O trabalho realizado teve como objetivo o desenvolvimento de um sistema de pré-concentração para determinação de mercúrio reativo, ou seja, a fração de mercúrio suscetível à redução com cloreto estanoso, utilizando análise em fluxo e detecção fotométrica, de forma a apresentar vantagens como: boa estabilidade e reprodutibilidade, custo menor em relação às técnicas espectrométricas, e execução automática de algumas de suas etapas.

O mercúrio reativo é reduzido por Sn(II) e arrastado até um filme de solução de H_2O_2 em meio de ácido nítrico, formado na superfície interna de um tubo de vidro, que oxida o mercúrio metálico, retendo-o como Hg(II) .

O reagente cromogênico empregado foi o 4-(2-piridilazo)resorcinol (PAR), tendo em vista principalmente a sua solubilidade em meio aquoso.

A estabilidade do complexo formado entre o PAR e o mercúrio foi investigada mediante a variação da concentração dos demais reagentes utilizados (ácido nítrico, peróxido de hidrogênio e solução tampão). Na otimização do módulo de pré-concentração, além destes estudos, também foi avaliado o efeito dos demais parâmetros do sistema (vazão e tempo de borbulhamento do gás de arraste na amostra, vazão de bombeamento e volume da amostra, entre outros) sobre o sinal analítico.

O fator de pré-concentração alcançado foi de 148 vezes, valor abaixo daquele calculado teoricamente (1280 vezes), porém compatível àqueles encontrados na literatura, com o diferencial de apresentar as vantagens já citadas. O limite de detecção é de $0,16 \mu\text{g Hg(II) L}^{-1}$, e a curva analítica responde linearmente até a concentração de $20 \mu\text{g Hg(II) L}^{-1}$.

O sistema foi avaliado na determinação de mercúrio reativo em amostras de efluentes e em amostras de água potável. Os resultados obtidos demonstraram boa concordância quando comparados àqueles obtidos por CVAAS, indicando que o mesmo pode ser empregado nestes tipos de análises.

Abstract

The objective of this work was the development of a preconcentration system for reactive mercury (the fraction that can be reduced by stannous chloride) determination, using flow analysis and photometric detection. The system presents some advantages like stability and reproducibility, low cost when compared with spectrometric methods, and automatic execution of some steps.

The reactive mercury is reduced by Sn(II) and carried out to an hydrogen peroxide film, in nitric acid media, formed in the internal surface of a glass tube. The mixture oxidizes the metallic mercury, which is retained as Hg(II).

The chromogenic reagent used was 4-(2-piridilazo)resorcinol (PAR), mainly due its solubility in aqueous media.

The stability of the complex formed with PAR and mercury was investigated varying the concentration of the other reagents (nitric acid, hydrogen peroxide and buffer solution). In the optimization of the preconcentration module, it was also investigated the effect of other parameters (flow rate and bubbling time of carrier gas, system flow rate and sample volume, for example) on the analytical signal.

The preconcentration factor obtained was 148 times, value that is lower than the theoretically calculated (1280 times). However, it is compatible with other values found in literature, while the proposed method presents some advantages, cited above. The detection limit is $0,16 \mu\text{g Hg(II) L}^{-1}$, and a linear analytical curve was obtained up to $20 \mu\text{g Hg(II) L}^{-1}$.

The system was evaluated for determination of reactive mercury in effluent samples and in drinking water samples. The results obtained showed good agreement when compared with those obtained by CVAAS, indicating that the system can be employed in this kind of analysis.

Currículo

Formação Superior

Bacharel em Química

Universidade Estadual de Maringá

Maringá – PR

1996-1999.

Trabalhos apresentados

"Atividades do Grupo PET-DQI/UEM", apresentado na XIII Semana de Química da Universidade Estadual de Maringá - UEM de 16 a 20 de Junho de 1997.

Maringá - PR

"The Flash", apresentado no V Encontro de Química da Região Sul, realizado na Universidade Federal do Rio Grande do Sul - UFRGS, nos dias 16 e 17 de outubro de 1997.

Porto Alegre – RS

Publicações de trabalhos em Revistas

"Pilhas de Cu/Mg Construídas com Materiais de Fácil Obtenção". Noboru Hioka (PQ), Ourides Santin Filho (PQ), Aparecido Junior de Menezes (PET); Fernando Seiji Yonehara (PET); Kleber Bergamaski (PET) e Robson Valentim Pereira (PET); Química Nova na Escola, 11, maio/2000, 40-44.

"Actualidade do Ciclo de Krebs: Alguns Aspectos Recentes", Aparecido Junior de Menezes, Robson Valentim Pereira, J. A. L. da Silva, Fernando Seiji Yonehara, Química (Portugal), 2001, 81, 58-65. (<http://www.spq.pt/boletim/81/index.html>)

ÍNDICE

Dedicatória.....	IV
Agradecimentos.....	V
Resumo.....	VII
Abstract.....	VIII
Currículo.....	IX
Índice.....	X
Lista de Figuras.....	XIII
Lista de Tabelas.....	XVII
Lista de Abreviaturas.....	XVIII
I – INTRODUÇÃO.....	1
I.1 – Determinação de mercúrio.....	3
I.2 – Análise em fluxo monossegmentado (MSFA).....	6
I.3 – Técnicas de pré-concentração.....	9
I.4 – 4-(2-Piridilazo)Resorcinol (PAR).....	11
II – OBJETIVO.....	13
III – EXPERIMENTAL.....	14
III.1 – Instrumentação.....	14
III.1.1 – Circuitos eletrônicos.....	14
III.1.2 – Placa principal.....	15
III.1.2.1 – Estágio de condicionamento de entrada de sinal digital.....	15
III.1.2.2 – Estágio de condicionamento de saída de sinal digital.....	16

III.1.2.3 – Estágio de condicionamento de entrada ou saída de sinal analógico.....	17
III.1.2.4 – Reguladores de tensão.....	18
III.1.3 – Placa auxiliar.....	19
III.1.3.1 – Fonte de alimentação.....	19
III.1.4 – Sistema de injeção de reagentes.....	20
III.1.5 – Unidades de pré-concentração e detecção.....	22
III.2 – Operação do sistema.....	25
III.3 – Materiais, reagentes e soluções.....	28
III.4 – Otimização do sistema.....	29
III.4.1 – Estudo da estabilidade do complexo PAR-Hg(II).....	29
III.4.2 – Otimização do módulo de pré- concentração.....	30
IV – RESULTADOS e DISCUSSÃO.....	31
IV.1 – Estudo da estabilidade do complexo PAR-Hg(II).....	31
IV.1.1 – Efeito da concentração de PAR sobre o sinal do complexo.....	31
IV.1.2 – Efeito da concentração da solução tampão sobre o sinal do complexo.....	35
IV.1.3 – Efeito da concentração de HNO ₃ sobre o sinal do complexo.....	36
IV.1.4 – Efeito da concentração de H ₂ O ₂ sobre o sinal do complexo.....	37
IV.2 – Otimização do módulo de pré-concentração.....	38

IV.2.1 – Efeito da concentração de H_2O_2 sobre o sinal analítico.....	38
IV.2.2 – Efeito da concentração de HNO_3 sobre o sinal analítico.....	38
IV.2.3 – Efeito da vazão do segmento contendo PAR sobre o sinal analítico.....	40
IV.2.4 – Efeito do diâmetro e do comprimento do tubo de vidro sobre o sinal analítico.....	41
IV.2.5 – Efeito da vazão e do tempo de purga do argônio sobre o sinal analítico.....	42
IV.2.6 – Avaliação do sistema de borbulhamento de argônio na amostra.....	43
IV.2.7 – Investigação da eficiência de complexação do PAR sobre o $Hg(II)$ retido no filme.....	44
IV.2.8 – Estudo do efeito do volume da amostra sobre o sinal analítico.....	45
IV.3 – Cálculo do fator de pré-concentração ideal.....	46
IV.4 – Limite de detecção.....	47
IV.5 – Análise de amostras.....	49
V – CONCLUSÕES.....	52
VI – REFERÊNCIAS.....	53

Lista de Figuras

Figura 1 –	Diagrama esquemático de um sistema MSFA típico. (a) Injetor na posição de amostragem; (b) Injetor após a comutação e monossegmento formado no momento da injeção (no detalhe).....	8
Figura 2 –	Forma neutra do PAR.....	11
Figura 3 –	Estrutura do complexo PAR-M(II) 1:1 em pH 6,0 - 12,5.....	12
Figura 4 –	Esquema geral do sistema.....	14
Figura 5 –	Esquema do estágio de condicionamento de entrada de sinal digital.....	15
Figura 6 –	Esquema do estágio de condicionamento de saída de sinal digital.....	16
Figura 7 –	Esquema do estágio de condicionamento de entrada ou saída de sinal analógico.....	17
Figura 8 –	Retificador e reguladores de tensão.....	18
Figura 9 –	Vista superior da placa principal.....	19
Figura 10 –	Esquema da fonte de alimentação de 12 V.....	19
Figura 11 –	Vista superior da placa auxiliar.....	20
Figura 12 –	Sistema de injeção de reagentes. (a) Componentes da mistura oxidante; (b) componentes da mistura complexante.....	21
Figura 13 –	Unidade de pré-concentração e detecção.....	22
Figura 14 –	(a) Sistema de detecção; (b) circuito do fotodiodo; (c) vista dos pinos do fotodiodo.....	23
Figura 15 –	Visão geral do sistema.....	23
Figura 16 –	Fluxograma do programa de controle e aquisição de dados.....	24

Figura 17 –	Formação do filme contendo a mistura oxidante na parede interna do tubo de vidro.....	25
Figura 18 –	Formação do complexo PAR-Hg(II) no interior do tubo de vidro.....	27
Figura 19 –	Característica do sinal analítico obtido no sistema.....	27
Figura 20 –	Espectros de absorbância do complexo PAR-Hg(II); [PAR] = $1,0 \times 10^{-4}$ mol L ⁻¹ ; concentrações de Hg(II) em mg L ⁻¹ ; br – solução “branco”, contendo os reagentes apenas.....	32
Figura 21 –	Espectros de absorbância do complexo PAR-Hg(II); [PAR] = $5,0 \times 10^{-4}$ mol L ⁻¹ ; concentrações de Hg(II) em mg L ⁻¹ ; br – solução “branco”.....	32
Figura 22 –	Espectros de absorbância do complexo PAR-Hg(II); [PAR] = $1,0 \times 10^{-3}$ mol L ⁻¹ ; concentrações de Hg(II) em mg L ⁻¹ ; br – solução “branco”.....	33
Figura 23 –	(a) Sinais obtidos dos padrões de Hg(II); (b) Curva analítica obtida a partir dos máximos dos sinais em (a); br – solução “branco”; u. a. – unidades arbitrárias.....	33
Figura 24 –	Variação do sinal do complexo PAR-Hg(II) em função da concentração de PAR; [Hg(II)] = 4,0 mg L ⁻¹ ; [tampão NH ₃ / NH ₄ Cl] = 4,0 mol L ⁻¹ ; [HNO ₃] = 3,0 mol L ⁻¹ ; [PAR] = $1,0 \times 10^{-3}$ mol L ⁻¹ ; u. a. – unidades arbitrárias.....	34
Figura 25 –	Variação do sinal do complexo PAR-Hg(II) em função da concentração da solução tampão NH ₃ /NH ₄ Cl; [HNO ₃] = 3,0 mol L ⁻¹ ; [Hg(II)] = 4,0 mg L ⁻¹ ; [PAR] = $1,0 \times 10^{-3}$ mol L ⁻¹ ; u. a. – unidades arbitrárias.....	35

Figura 26 – Comportamento do sinal correspondente ao complexo PAR-Hg(II) perante a variação da concentração de ácido nítrico; [Hg(II)] = 4,0 mg L ⁻¹ ; [tampão NH ₃ /NH ₄ Cl] = 4,0 mol L ⁻¹ ; u. a. – unidades arbitrárias.....	36
Figura 27 – Comportamento do sinal do complexo PAR-Hg(II) em função da concentração de peróxido de hidrogênio; [Hg(II)] = 4,0 mg L ⁻¹ ; [PAR] = 1,0 x 10 ⁻³ mol L ⁻¹ ; [HNO ₃] = 3,0 mol L ⁻¹ ; [tampãoNH ₃ /NH ₄ Cl] = 4,0 mol L ⁻¹ ; u. a. – unidades arbitrárias.....	37
Figura 28 – Variação do sinal analítico correspondente ao complexo PAR-Hg(II) mediante variação da concentração de peróxido de hidrogênio; [PAR] = 1,0 x 10 ⁻³ mol L ⁻¹ ; [Hg(II)] = 25 µg L ⁻¹ ; [HNO ₃] = 3,0 mol L ⁻¹ ; [tampãoNH ₃ /NH ₄ Cl] = 4,0 mol L ⁻¹ ; u. a. – unidades arbitrárias.....	39
Figura 29 – Comportamento do sinal obtido do complexo PAR-Hg(II) em função da concentração de HNO ₃ ; [PAR] = 1,0 x 10 ⁻³ mol L ⁻¹ ; [Hg(II)] = 25 µg L ⁻¹ ; [tampãoNH ₃ /NH ₄ Cl] = 4,0 mol L ⁻¹ ; [H ₂ O ₂] = 12 % (m/v); u. a. – unidades arbitrárias.....	39
Figura 30 – Variação do sinal do complexo PAR-Hg(II) em função da vazão do fluido carregador; [PAR] = 1,0 x 10 ⁻³ mol L ⁻¹ ; [Hg(II)] = 25 µg L ⁻¹ ; [tampãoNH ₃ /NH ₄ Cl] = 4,0 mol L ⁻¹ ; [HNO ₃] = 3,0 mol L ⁻¹ ; [H ₂ O ₂] = 12 % (m/v); u. a. – unidades arbitrárias.....	40
Figura 31 – Comportamento do sinal do complexo PAR-Hg(II) em função do comprimento e do diâmetro interno do tubo de vidro; [PAR] = 1,0 x 10 ⁻³ mol L ⁻¹ ; [Hg(II)] = 25 µg L ⁻¹ ; [tampãoNH ₃ /NH ₄ Cl] = 4,0 mol L ⁻¹ ; [HNO ₃] = 3,0 mol L ⁻¹ ; [H ₂ O ₂] = 12 % (m/v); u. a. – unidades arbitrárias.....	41

Figura 32 – Variação do sinal do complexo PAR-Hg(II) em função do tempo de purga do argônio; [PAR] = $1,0 \times 10^{-3}$ mol L ⁻¹ ; [Hg(II)] = 25 µg L ⁻¹ ; [tampão _{NH3/NH4Cl}] = 4,0 mol L ⁻¹ ; [HNO ₃] = 3,0 mol L ⁻¹ ; [H ₂ O ₂] = 12 % (m/v); u. a. – unidades arbitrárias.....	42
Figura 33 – Sinais do complexo PAR-Hg(II) obtidos em função da vazão de argônio; [PAR] = $1,0 \times 10^{-3}$ mol L ⁻¹ ; [Hg(II)] = 25 µg L ⁻¹ ; [tampão _{NH3/NH4Cl}] = 4,0 mol L ⁻¹ ; [HNO ₃] = 3,0 mol L ⁻¹ ; [H ₂ O ₂] = 12 % (m/v); u. a. – unidades arbitrárias.....	43
Figura 34 – Sistema de borbulhamento de argônio na amostra; (a) tubo de Teflon® de 0,8 mm d.i.; (b) tubo de vidro de 5,0 mm d.i. com extremidade contendo vidro sinterizado.....	44
Figura 35 – Variação do sinal analítico após múltiplas extrações pelo segmento complexante; [PAR] = $1,0 \times 10^{-3}$ mol L ⁻¹ ; [Hg(II)] = 25 µg L ⁻¹ ; [tampão _{NH3/NH4Cl}] = 4,0 mol L ⁻¹ ; [HNO ₃] = 3,0 mol L ⁻¹ ; [H ₂ O ₂] = 12 % (m/v); u. a. – unidades arbitrárias.....	45
Figura 36 – Comportamento do sinal analítico mediante a variação do volume da amostra; [PAR] = $1,0 \times 10^{-3}$ mol L ⁻¹ ; [tampão _{NH3/NH4Cl}] = 4,0 mol L ⁻¹ ; [HNO ₃] = 3,0 mol L ⁻¹ ; [H ₂ O ₂] = 12 % (m/v); u. a. – unidades arbitrárias.....	46
Figura 37 – Curva analítica obtida a partir os padrões de Hg(II) e utilizada para o cálculo do limite de detecção do sistema; [PAR] = $1,0 \times 10^{-3}$ mol L ⁻¹ ; [tampão _{NH3/NH4Cl}] = 4,0 mol L ⁻¹ ; [HNO ₃] = 3,0 mol L ⁻¹ ; [H ₂ O ₂] = 12 % (m/v); u. a. – unidades arbitrárias.....	48

Lista de Tabelas

Tabela 1	Algumas das propriedades químicas e físicas do mercúrio...	3
Tabela 2 –	Limites de detecção de algumas técnicas analíticas para a determinação de mercúrio (Adaptado de [6]).....	5
Tabela 3 –	Espécies iônicas do PAR (adaptado de [51]).....	11
Tabela 4 –	Faixas de concentração avaliadas no estudo da estabilidade do complexo.....	29
Tabela 5 –	Faixas de estudo para cada parâmetro avaliado.....	30
Tabela 6 –	Valores dos sinais correspondentes às cinco medidas da solução “branco”.....	48
Tabela 7 –	Resultados obtidos para as amostras de efluentes cedidas pelo Laboratório de Química Ambiental da UNICAMP.....	49
Tabela 8 –	Resultados obtidos para as amostras de água de torneira, após adição de quantidades conhecidas de Hg(II).....	50

Lista de abreviaturas

GFAAS	Espectrometria de Absorção Atômica em Forno de Grafite
CVAAS	Espectrometria de Absorção Atômica do Vapor Frio
CVAFS	Espectrometria de Fluorescência Atômica do Vapor Frio
ICP MS	Espectrometria de Massas com Plasma Acoplado Indutivamente
ICP AES	Espectrometria de Emissão Atômica com Plasma Acoplado Indutivamente
GC	Cromatografia Gasosa
HPLC	Cromatografia Líquida de Alta Eficiência
MSFA	Análise em Fluxo Monossegmentado
CFA	Análise em Fluxo Contínuo
FIA	Análise por Injeção em Fluxo
R1, R2, Rn	Resistores
C1, C2, Cn	Capacitores
D1, D2, Dn	Diodos
pot1, pot2, potn	Trimpots (Resistores ajustáveis)
+V	Tensão Positiva
-V	Tensão Negativa
PTFE	Politetrafluoretileno (Teflon®)
LED	Diodo Emissor de Luz
PAR	4-(2-Piridilazo)-Resorcinol
d. i.	Diâmetro Interno
C_{Hg}	Concentração de Mercúrio
LD	Limite de Detecção
u. a.	Unidades Arbitrárias
LQA	Laboratório de Química Ambiental – Unicamp

I – INTRODUÇÃO

O mercúrio é uma substância presente em todos os compartimentos do ambiente, sendo liberado na forma de $\text{Hg}(0)$ a partir de fontes naturais (vulcões, por exemplo) e antropogênicas (queima de combustíveis, produtos comerciais, por exemplo). A forma dominante na atmosfera é a gasosa elementar ($\text{Hg}(0)$), relativamente pouco solúvel em água. A velocidade de remoção do mercúrio da atmosfera depende de vários processos químicos e físicos, que transformam ou promovem a partição entre seus vários estados de oxidação ($\text{Hg}(0)$, $\text{Hg}(\text{II})$) e estados físicos (gasoso, particulado, dissolvido ou adsorvido), com subsequente deposição na superfície terrestre. Na superfície terrestre, o mercúrio pode ser depositado em solos e/ou corpos aquáticos. Nestes últimos, o metal sofre modificações físico-químicas e fotoquímicas, de ordem biótica e/ou abiótica, que podem biodisponibilizar o mercúrio [1]. As formas predominantes do mercúrio em solos e corpos aquáticos são os íons mercúrico ($\text{Hg}(\text{II})$) e mercurioso ($\text{Hg}(\text{I})$). O mesmo metal pode formar muitos complexos estáveis com compostos orgânicos. O mercúrio inorgânico pode ser metilado por microorganismos presentes em solos, sedimentos, água doce ou salgada. O metilmercúrio é o composto organomercurial que apresenta a maior toxicidade, sendo também a forma mais comumente encontrada em tecidos animais [2]. O mercúrio reativo, objeto de estudo do presente trabalho, é definido como a fração de mercúrio suscetível à redução com cloreto estânico. O mercúrio reativo inclui espécies inorgânicas dissolvidas e frações orgânicas lábeis, além do mercúrio que pode ser liberado pela matéria particulada, caso esta se encontre presente na amostra [3].

A absorção de mercúrio no organismo humano ocorre principalmente através dos pulmões. Cerca de 90 a 100% do vapor de mercúrio é absorvido desta maneira. Já o mercúrio metálico em sua forma líquida, quando em contato com a pele ou intestino é absorvido em uma escala menor, cerca de 15%, porém as doses às quais estes órgãos estão expostos geralmente são mais altas. Algumas transformações bioquímicas de mercúrio inorgânico a formas orgânicas de cadeia curta (metilmercúrio e etilmercúrio) ocorrem em microorganismos presentes na boca e no intestino; a absorção destas

espécies é relativamente eficiente, de 80 a 100%. A distribuição do mercúrio absorvido ocorre rapidamente através da corrente sanguínea para todos os órgãos, incluindo cérebro e tecidos nervosos, os quais tem uma alta afinidade com as formas orgânicas[2].

Enquanto o tempo de meia vida do mercúrio no sangue tem sido estimado em cerca de três dias, o mercúrio nos tecidos celulares é eliminado lentamente, com um tempo de meia vida de cerca de noventa dias. Deste modo, a interrupção à exposição não terá resultados benéficos imediatamente, no caso de envenenamento por mercúrio; os benefícios poderão ser vistos após cerca de um ano apenas [2].

Tanto os compostos orgânicos como os inorgânicos têm uma grande afinidade grupos tióis (-SH) e esta é a propriedade que os torna tóxicos. A maioria das proteínas e todas as enzimas possuem estes grupos, o que explica a capacidade de ligação do mercúrio a todos os tecidos do corpo e muitos dos efeitos biológicos. A maioria dos compostos de mercúrio são potentes inibidores enzimáticos, porém não específicos, afetando a permeabilidade das membranas celulares, condução dos impulsos nervosos e respiração dos tecidos celulares [2].

A eliminação da carga de mercúrio do organismo é realizada através da urina e das fezes, embora minúsculas quantidades sejam detectáveis no ar expirado. A excreção através do fígado ocorre na bile e a reabsorção de parte desse mercúrio pode ocorrer. Porém, o rim é o maior responsável pela eliminação de metais tais como o mercúrio, pois possui um mecanismo eficiente para tal. O tecido do rim contém uma proteína rica em grupos tióis, denominada metalotioneína; a exposição a metais tóxicos aciona a produção desta proteína, a qual liga-se ao metal, retendo-o sob uma forma inofensiva. Uma pequena proporção de todo o mercúrio absorvido é excretado sob várias formas diretamente na urina, sem estar ligada à proteína. Em casos nos quais há exposição a baixas doses por um longo período, a urina reflete de forma precisa a carga total de mercúrio no organismo, tornando o monitoramento deste fluido muito importante, por exemplo em dentistas que trabalham com amálgama de mercúrio para restaurações. Altas doses agudas, ou um aumento na dose crônica pode ocasionar falha renal, um dos sintomas clássicos de envenenamento por mercúrio [2].

Sintomas característicos de exposição a baixas doses crônicas são: eretismo (nervosismo, irritabilidade, instabilidade no humor, rubor), tremor, mudança de personalidade, tendência ao suicídio, confusão auditiva, desordem na fala, distúrbio visual, reflexos anormais, distúrbio locomotivo, danos renais, infertilidade, infecção dos pulmões, câncer de cérebro e disfunção dos sistema imunológico. Sintomas característicos de exposição a altas doses agudas são: gastroenterite, dor bucal, dor abdominal, vômito, salivação excessiva, anúria, nefrite, anorexia e ataxia [2].

Algumas das propriedades químicas e físicas do mercúrio estão na Tabela 1.

Tabela 1 – Algumas das propriedades químicas e físicas do mercúrio

Símbolo	Hg
Número atômico	80
Massa molar (g mol^{-1})	200,59
Ponto de fusão ($^{\circ}\text{C}$)	- 38,87
Ponto de ebulição ($^{\circ}\text{C}$)	356,58
Densidade à 25 $^{\circ}\text{C}$ (g cm^{-3})	13,456
Isótopos naturais	Hg-194, Hg-196, Hg-197, Hg-198, Hg-199, Hg-200, Hg-201, Hg-202, Hg-203, Hg-204, Hg-206

I.1 – Determinação de mercúrio

O descarte de mercúrio ao meio ambiente tornou-se crescente acompanhando paralelamente o desenvolvimento industrial. Após alguns incidentes envolvendo a morte de milhares de pessoas, sendo o mais conhecido destes o episódio ocorrido na Baía de Minamata (sudoeste do Japão, meados da década de 1950) [4]. Após este incidente houve proibição, por parte das nações industrializadas, do descarte de mercúrio em águas, com conseqüente decréscimo da contribuição antrópica, e diminuição dos níveis de compostos de mercúrio em lagos, rios e baías que haviam recebido tais descartes.

Esta diminuição, aliada ao crescente interesse na determinação deste metal para avaliar seu impacto sobre o meio ambiente (sistema aquático, vegetação e seres humanos), levou a um grande progresso no desenvolvimento de métodos de análise de mercúrio [5,6].

Técnicas mais sensíveis e precisas são necessárias para sua determinação em diferentes amostras, uma vez que este metal apresenta alta toxicidade, além de ser volátil e ter facilidade em se associar a outros compostos [6]. Algumas destas técnicas analíticas e os respectivos limites de detecção para a determinação de mercúrio estão na Tabela 2. Dentre os métodos citados na Tabela 2, a espectrometria de absorção atômica do vapor frio (CVAAS) é a mais utilizada para a detecção de mercúrio em baixas concentrações. Porém, a espectrometria de fluorescência atômica do vapor frio (CVAFS), devido a sua instrumentação simples e melhores limites de detecção, teve sua importância aumentada nos últimos anos [6].

O método colorimétrico é considerado o mais tradicional para a determinação de Hg, tendo sido bastante utilizado devido a sua simplicidade, baixo custo e rapidez, porém sofre interferência de diversos elementos, o que exige várias etapas de separação. O reagente cromogênico mais utilizado é a ditizona. Apesar da substituição dos métodos colorimétricos pelos métodos de absorção atômica ter sido constatada já na década de 1970, os primeiros ainda permanecem como métodos oficiais opcionais para determinação de Hg em água potável em concentrações superiores a $2 \mu\text{g L}^{-1}$ [6].

Os limites de detecção para Hg, utilizando as técnicas de espectrometria de emissão atômica e espectrometria de massas, ambas com plasma acoplado indutivamente (ICP AES e ICP MS, respectivamente), são limitadas pelo alto potencial de ionização deste elemento, o qual não pode ser atingido eficientemente na maioria dos plasmas. Exceções são o plasma de He induzido por microondas (MIP) e o plasma de descarga de anel (corrente contínua), os quais combinados com a espectrometria de emissão atômica atingem limites de detecção comparáveis àqueles da CVAAS e da CVAFS. Uma vantagem destes métodos é sua capacidade de análise multielementar simultânea [5].

Tabela 2 – Limites de detecção de algumas técnicas analíticas para a determinação de mercúrio (Adaptado de [6])

Método		Limite de Detecção Relatado
Método Colorimétrico		0,01 $\mu\text{g g}^{-1}$
Espectrometria de Absorção Atômica	Forno de Grafite (GFAAS)	1 ng g^{-1}
	Vapor Frio (CVAAS)	0,01 ng g^{-1}
Espectrometria de Fluorescência Atômica – Vapor Frio (CVAFS)		0,001 ng g^{-1}
Cromatografia Gasosa	Detector de Emissão Atômica	0,05 ng g^{-1}
	Espectrometria de Massa	0,1 ng g^{-1}
	CVAAS / CVAFS	0,01 ng g^{-1}
Cromatografia Líquida de Alta Eficiência	Detector de Ultravioleta	1 ng mL^{-1}
	CVAAS	0,5 ng mL^{-1}
	CVAFS	0,08 ng mL^{-1}
	Eletroquímico	0,1 ng mL^{-1}
Plasma Acoplado Indutivamente	Espectrometria de Massa (ICP MS)	0,01 ng mL^{-1}
	Espectrometria de Emissão Atômica (ICP AES)	2 ng mL^{-1}
Fluorescência de Raio X		5 ng g^{-1}
Métodos Eletroquímicos		0,1 $\mu\text{g g}^{-1}$

Outras vantagens dos métodos espectrométricos são a possibilidade de automação e utilização com métodos cromatográficos. A utilização da cromatografia para separação e especiação das diferentes formas (orgânicas e inorgânicas) de Hg é de grande importância, já que as mesmas apresentam diferentes graus de toxicidade, como citado anteriormente [5].

Métodos eletroquímicos oferecem instrumentação barata e simplicidade de operação, mas geralmente não são capazes de realizar especiação e determinação em concentrações abaixo de $\mu\text{g L}^{-1}$. Métodos baseados em radiação de alta energia

oferecem análise não destrutiva com alta sensibilidade e um número menor de reagentes, mas não são amplamente utilizados devido ao alto custo dos equipamentos e instrumentação necessários [5].

Limites de detecção mais baixos sem perda de analito e contaminação continuam sendo as principais dificuldades a serem transpostas na determinação de Hg, principalmente na análise de amostras naturais, tais como sedimentos e tecidos biológicos. Além disso, mais recentemente tem aumentado a importância das técnicas ultra-limpas de amostragem, estocagem, manipulação, análise e preparo de padrões de calibração, para que se obtenham resultados confiáveis nas determinações de metais em baixas concentrações. A não obediência aos protocolos apropriados leva ao questionamento dos resultados obtidos, tanto que atualmente quase todas, senão todas, as determinações de metais em amostras marinhas anteriores a 1975 são consideradas inválidas [5].

Geralmente a determinação de Hg envolve as seguintes etapas: coleta da amostra, pré-tratamento/preservação/estocagem, liberação do mercúrio da matriz, extração/purificação/pré-concentração, separação das espécies de mercúrio de interesse e quantificação [6].

1.2 – Análise em fluxo monossegmentado (MSFA)

O primeiro sistema de análise em fluxo monossegmentado (MSFA) foi proposto por PASQUINI e OLIVEIRA para a determinação espectrofotométrica de cromo, amônia e fósforo [7]. Tal sistema possui como principal característica a inserção da amostra entre duas bolhas, formando o monossegmento. Esta segmentação permite que haja uma diminuição significativa da dispersão, e tempos de residência maiores, por manter a integridade da amostra. Estas características tornam-se muito importantes em reações que possuem cinética lenta, e não necessariamente comprometem a frequência de amostragem, pois as amostras podem ser inseridas sequencialmente. Em comparação à análise em fluxo contínuo (CFA), introduzida por SKEGGS [8], o sistema

em MSFA possui uma maior simplicidade, um menor consumo de amostra e reagentes e maior frequência analítica. Em relação à análise por injeção em fluxo (FIA), proposta por RÜZICKA e HANSEN [9], sua principal vantagem é a possibilidade de utilizar tempos de residência maiores. A Figura 1 apresenta um diagrama esquemático de um sistema MSFA típico.

A introdução da amostra no sistema é feita através de um injetor proporcional construído em acrílico [10], I, quando o mesmo é comutado (Figura 1b). O fluido carregador, C, empurra o ar, A, contido na alça L_1 , que por sua vez empurra a amostra, S, cujo volume é determinado pelo tamanho da alça de amostragem, L_s , e esta empurra o ar presente na alça L_2 . Deste modo, a amostra fica entre as duas bolhas, que a mantém isolada do fluido carregador. Os fluidos são bombeados/aspirados por uma bomba peristáltica, P, e a reação ocorre na bobina reacional, T. As bolhas podem ser retiradas de várias maneiras, tais como a utilização de cela de permeação ou aspiração diferenciada, J, antes da detecção, realizada pelo espectrofotômetro, D. Em seguida a amostra vai para o descarte.

Novas amostras podem ser inseridas, bastando para tanto a comutação do injetor para a posição de amostragem (Figura 1a). Esta possibilidade de inserir várias amostras (ou uma amostra várias vezes) torna a MSFA uma técnica com alta frequência analítica (até 120 amostras/hora) [7].

Uma outra vantagem da MSFA é a possibilidade de localização do monossegmento no sistema [11], visualmente e/ou através de chaves ópticas, sensíveis à mudança do índice de refração (fluido carregador/bolha/amostra), no caso de sistemas automáticos, permitindo a adição de reagentes em qualquer posição do monossegmento ou a definição do momento em que será realizada a detecção.

Devido a estas e outras vantagens, a MSFA vem sendo utilizada para as mais diversas aplicações analíticas, tais como titulações automáticas [12-18] e extração líquido-líquido [19-24]. Por possibilitar tempos de residência mais longos, também têm sido realizados trabalhos com reações enzimáticas [25-27], reações catalíticas [28-31] e outros tipos de reações que apresentam cinética lenta [32-35].

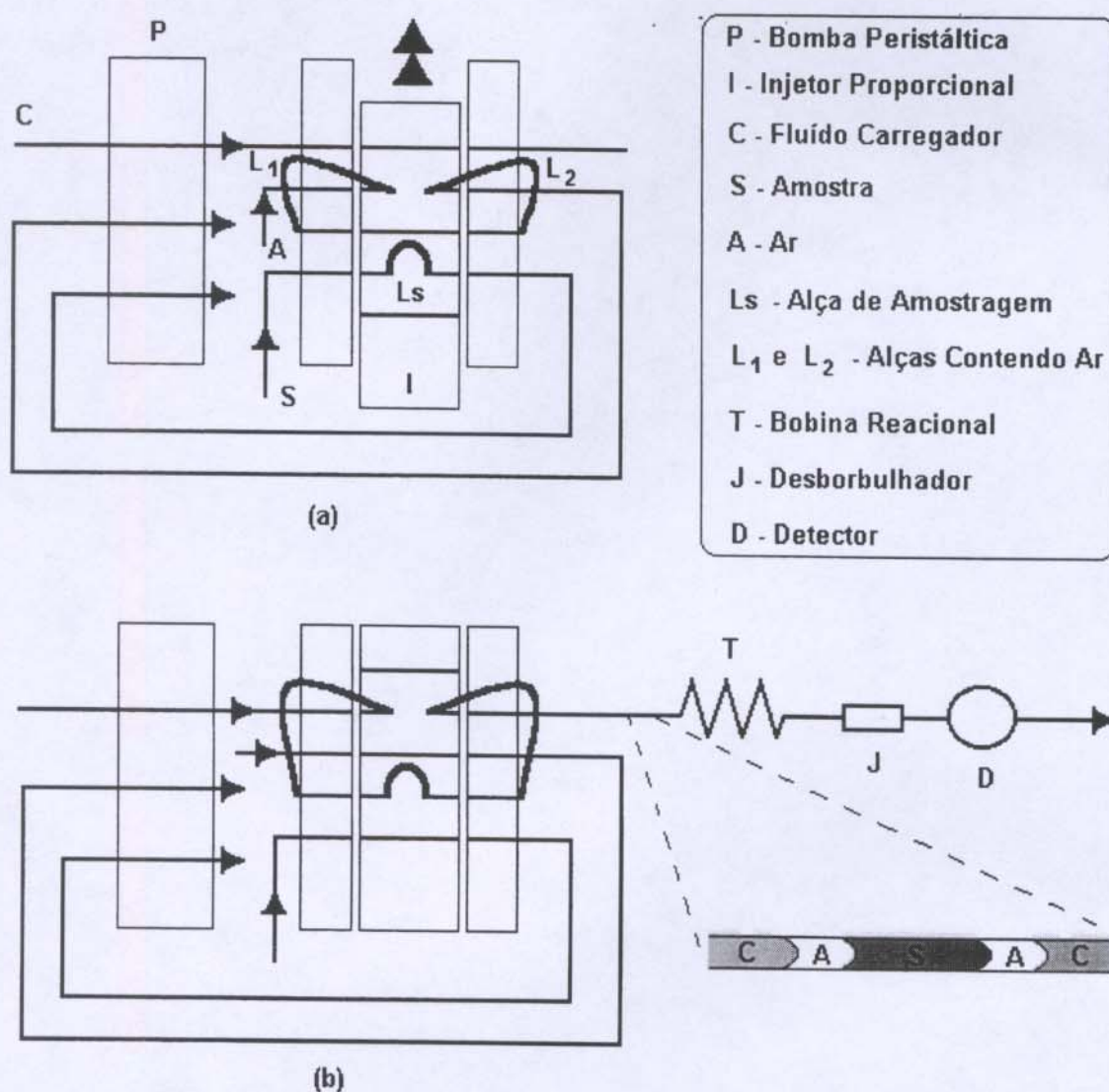


Figura 1 – Diagrama esquemático de um sistema MSFA típico. (a) Injetor na posição de amostragem; (b) injetor após a comutação e monossegmento formado no momento da injeção (no detalhe).

Recentemente a formação de filmes sobre a superfície interna de tubos de vidro em sistemas mono e bissegmentados foi explorada na determinação de espécies gasosas como NO₂, CO₂ e O₂ [36-38].

O sistema desenvolvido neste trabalho assemelha-se muito a um sistema MSFA, com o diferencial de que o fluido carregador utilizado é o ar, dispensando o uso das alças para a inserção de bolhas no sistema, descaracterizando assim o sistema monossegmentado propriamente dito. Além disto, o presente trabalho faz uso, também, de filmes líquidos reativos, empregados, neste caso, para re-oxidar o mercúrio metálico a íons mercúricos.

1.3 – Técnicas de pré-concentração

Em análises de rotina, muitas vezes a concentração da espécie química de interesse está abaixo dos limites de detecção dos métodos analíticos convencionais. Para transpor esse obstáculo, recorre-se a técnicas de pré-concentração, que oferecem como vantagem a separação do analito de sua matriz, diminuindo o risco de interferências. Todavia, a execução manual das etapas de pré-concentração mostra-se morosa e sujeita a erros operacionais, não apresentando precisão satisfatória. Assim, a automatização do processo de pré-concentração tem sido foco de vários estudos, que objetivam contornar essas limitações. Deste modo, os sistemas que utilizam a pré-concentração e separação em linha acoplados a técnicas de análise em fluxo, têm se tornado uma das opções mais viáveis e promissoras, devido a sua grande versatilidade, aliada à facilidade de automatização [39].

A determinação direta de mercúrio apresenta problemas quanto à sensibilidade, quando os níveis de mercúrio estão na ordem de nanogramas por litro (ng L^{-1}). No entanto, os limites de detecção das diversas técnicas analíticas podem ser melhorados através da combinação com vários métodos de pré-concentração antes da medida final do mercúrio. Amalgamação com metais, tais como cobre, prata e ouro, empregados em diferentes formatos (filme, fio), e o uso de variados “traps” líquidos, como solução de bromo, solução ácida de KMnO_4 , nitrogênio líquido, resina quelante e trocador quelante líquido são descritos na literatura [40].

Um fator de pré-concentração de 200 vezes, com um limite de detecção de 4 ng L^{-1} , foi obtido por DE WUILLOUD e colaboradores [41], utilizando como método de pré-concentração a extração no ponto de névoa (CPE) e determinação por geração de vapor frio em sistema de injeção em fluxo acoplado a um equipamento de espectrometria de emissão óptica com plasma acoplado indutivamente (FI-CV-ICP OES). O mesmo fator foi obtido por MAHMOUD e colaboradores [42], utilizando pré-concentração seletiva (sílica gel impregnada com ditizona), extração em fase sólida, e determinação por CVAAS, com um limite de detecção de 20 ng L^{-1} .

MANZOORI e colaboradores [43] alcançaram um fator de pré-concentração de 100 vezes, utilizando ditizona imobilizada em alumina recoberta por surfactante e determinação por CVAAS. O limite de detecção obtido foi de 44 ng L^{-1} para água de origem fluvial e $28,1 \text{ ng L}^{-1}$ para água de torneira.

BLOXHAM e colaboradores [44] obtiveram um fator de pré-concentração de 50 vezes e um limite de detecção de 17 ng L^{-1} , utilizando uma resina de ditiocarbamato e determinação por cromatografia líquida acoplado com espectrômetro de massas com plasma acoplado indutivamente (ICP MS).

SHIOWATANA e colaboradores [45] chegaram a um fator de pré-concentração de 1000 vezes com um limite de detecção de $2,0 \text{ ng L}^{-1}$, utilizando adsorção em carbono ativado, amostragem em suspensão e determinação por ETAAS. SHIMIZU e colaboradores [46] obtiveram um fator de pré-concentração de 15000 vezes e um limite de detecção de $1,3 \text{ ng L}^{-1}$, através da técnica de concentração em gota única de solvente e determinação por GFAAS. Apesar de atingirem altos fatores de pré-concentração, estes dois últimos trabalhos empregam instrumentação cara e sofisticada. Além disso, o trabalho de SHIMIZU e colaboradores emprega solventes orgânicos (dimetil sulfóxido e tetracloreto de carbono).

Realizando a determinação de Hg (II) espectrofotometricamente, MA e colaboradores [47] obtiveram fatores de pré-concentração de no máximo 111 vezes. O limite de detecção alcançado foi de $5,0 \text{ } \mu\text{g Hg(II) L}^{-1}$ para amostras de águas naturais após adição de padrões de Hg(II).

1.4 – 4-(2-Piridilazo)Resorcinol (PAR)

O PAR [48-50] cuja forma neutra é mostrada na Figura 2 é um sólido amorfo de cor alaranjada, geralmente obtido na forma de seus sais mono e dissódicos. É solúvel em soluções aquosas alcalinas, e em água na proporção de 5 mg / 100 mL de solução a 10 °C. Soluções aquosas deste composto são estáveis por mais de um ano. Dependendo do pH, o PAR pode apresentar-se na forma de seis espécies em solução, conforme pode ser observado na Tabela 3 [51].

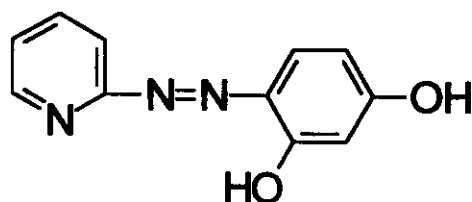


Figura 2 – Forma neutra do PAR.

Tabela 3 – Espécies iônicas do PAR (adaptado de [51])

Espécie predominante *	Meio	Máximo de absorvância (nm)
H_5L^{3+}	H_2SO_4 90% (v/v)	433
H_4L^{2+}	H_2SO_4 50% (v/v)	390
H_3L^+	pH < 2,5	395
H_2L	pH 3,0 – 5,5	385
HL^-	pH 6,0 – 12,5	413
HL^{2-}	pH > 12,5	490

* L = PAR

O PAR complexa com metais através de ligações com o átomo de nitrogênio do anel piridínico, o átomo de nitrogênio do grupo azo mais distante do anel heterocíclico e o grupo orto-hidroxila [52], como pode ser observado na Figura 3. O PAR reage com

Hg(II) em pH 9,0 para formar um complexo de cor alaranjada (1:1), que apresenta máximo de absorção em 510 nm [53].

A determinação direta de Hg(II) em meio aquoso com PAR sofre interferência de muitos metais, como Mn(II), Co(II), Ni(II), Cu(II), Pb(II) e Fe(III), por exemplo, além de CN^- , EDTA^{2-} e F^- [54].

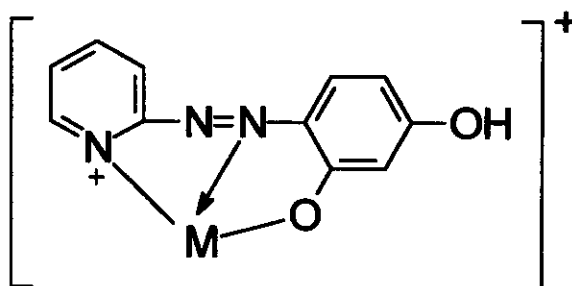


Figura 3 – Estrutura do complexo $[\text{PAR-M(II)}]^+$ 1:1 em pH 6,0 - 12,5.

II – OBJETIVO

O objetivo do presente trabalho é o desenvolvimento de um sistema de pré-concentração de mercúrio reativo em efluentes, utilizando a análise em fluxo e sua posterior determinação fotométrica. Tal sistema deve apresentar sensibilidade, seletividade, baixo custo e execução automática das etapas mais críticas em relação à reprodutibilidade.

III – EXPERIMENTAL

III.1 - Instrumentação

A instrumentação utilizada é composta por um microcomputador do tipo PC Pentium® 100 MHz, que controla os demais componentes através de uma interface paralela PC-Lab 711S (Advantec), um sistema de fluxo, uma unidade de pré-concentração e uma unidade de detecção fotométrica.

A Figura 4 apresenta um esquema geral dos componentes do sistema.

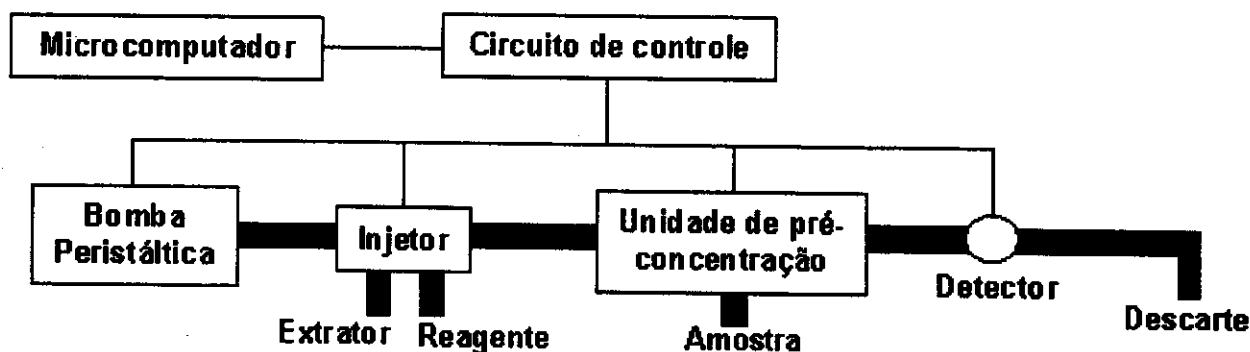


Figura 4 - Esquema geral do sistema.

III.1.1 - Circuitos eletrônicos

O circuito eletrônico para o controle do sistema foi montado em um kit contendo duas placas. Este kit foi concebido com o objetivo de substituir as montagens em "wire-wrap", com vantagens em termos de produtividade, qualidade de sinal e mesmo estética.

A placa principal consiste em 4 estágios de entrada de sinal digital para condicionamento a nível TTL, 4 estágios de saída de sinal digital para acionamento de equipamentos e 4 estágios de condicionamento de entrada ou saída de sinal analógico,

além de uma área para "wire-wrap". Também estão disponíveis locais para os reguladores de tensão, positivo e negativo, responsáveis pela alimentação de todos os estágios (analógicos e digitais).

A placa auxiliar disponibiliza locais para a fonte de alimentação, retificador e filtros para tensão positiva e negativa, além de 4 reguladores de tensão positiva, para alimentação dos estágios de condicionamento de saída digital.

III.1.2 - Placa principal

III.1.2.1 - Estágio de condicionamento de entrada de sinal digital

Este estágio tem por finalidade receber sinais digitais, no caso, provenientes do(s) sensor(es) óptico(s) ("opto-switch"), e ajustá-los para aquisição pela interface. A Figura 5 apresenta um diagrama esquemático desse estágio.

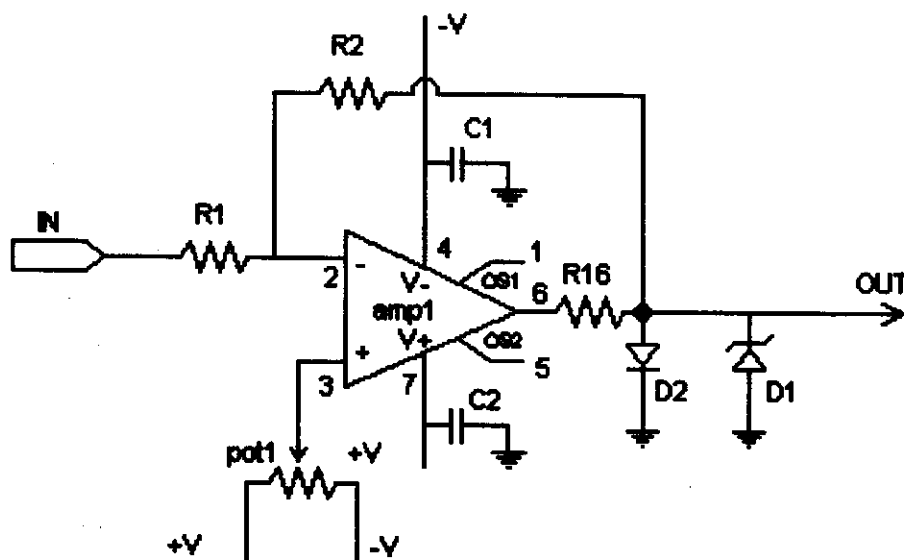


Figura 5 - Esquema do estágio de condicionamento de entrada de sinal digital.

Os componentes utilizados na montagem desse estágio foram:

- amplificador operacional: LF356, encapsulamento DIP8;
- R1: 1 k Ω , 1/8 W;
- R2: 1 M Ω , 1/8 W;
- R16: 10 K Ω , 1/8 W;
- C1, C2: 100 nF, poliéster;
- D1: Zener 5,1 V;
- D2: 1N4148;
- pot1: 5 k Ω ;
- +V, -V: +12 V, -12 V.

III.1.2.2 - Estágio de condicionamento de saída de sinal digital

As saídas digitais tem como função o acionamento de válvulas ou motores de passo, através do fornecimento de tensão e corrente adequadas para estes dispositivos. Um esquema geral desse estágio é mostrado na Figura 6.

Nesse estágio foram utilizados os seguintes componentes:

- chaveador: transistor Darlington NPN TIP121;
- R11: 10 k Ω , 1/8 W;

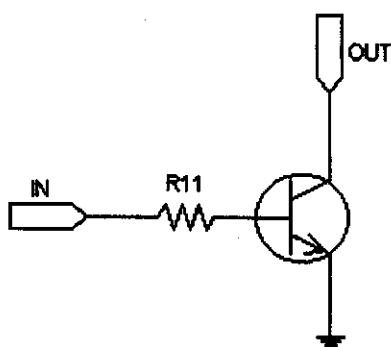


Figura 6 - Esquema do estágio de condicionamento de saída de sinal digital.

III.1.2.3 - Estágio de condicionamento de entrada ou saída de sinal analógico

Neste estágio o sinal analógico, no caso proveniente do detector, é condicionado para aquisição pela interface, onde é convertido para sinal digital. Inversamente, um sinal digital proveniente da interface pode ser enviado a algum equipamento de instrumentação. Na Figura 7 é apresentado um esquema desse estágio.

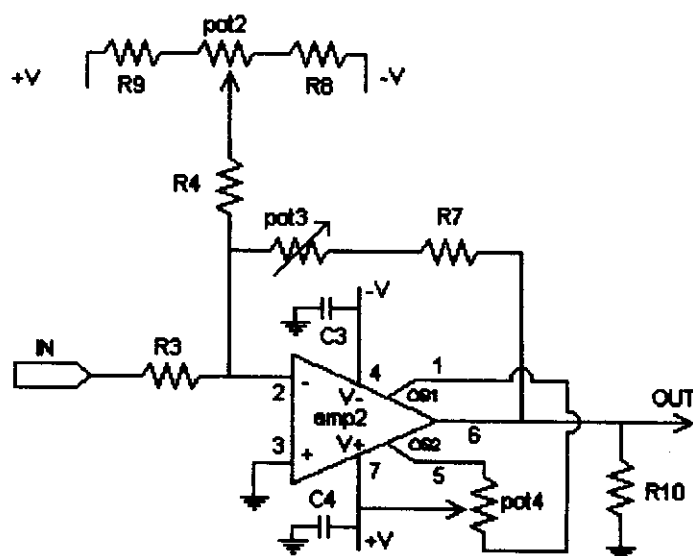


Figura 7 - Esquema do estágio de condicionamento de entrada ou saída de sinal analógico.

Os seguintes componentes foram utilizados nesse estágio:

- amplificador operacional: OP07, encapsulamento DIP8;
- R3: 10 K Ω , 1/8 W;
- R4: R7: 1 k Ω , 1/8 W;
- R8, R9, R10: 5,1 k Ω , 1/8 W;
- C3, C4: 100 nF, poliéster;
- pot 2: 10 k Ω ;
- pot3: 100 k Ω ;
- pot4: 20 k Ω ;
- +V, -V: +12 V, -12 V.

III.1.2.4 - Reguladores de tensão

Os reguladores ajustáveis de tensão utilizados na montagem do sistema foram o LM317, para tensão positiva e o LM337, para tensão negativa. Na Figura 8 é mostrado um esquema contendo os reguladores e o retificador de tensão.

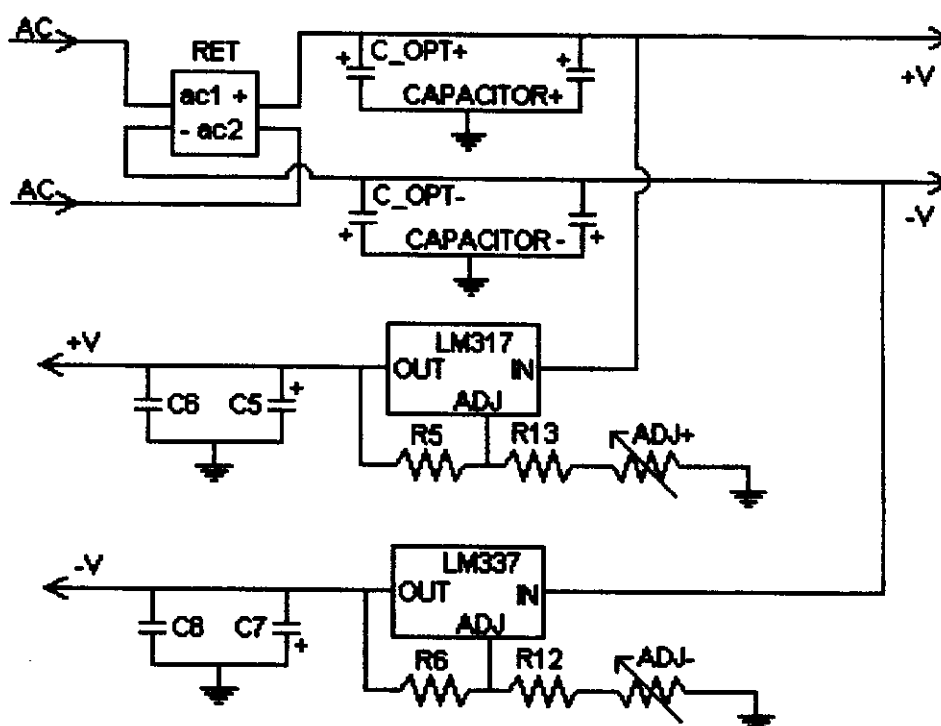


Figura 8 - Retificador e reguladores de tensão.

Os demais componentes utilizados foram:

- R5, R6: 330 Ω , 1/8 W;
- R12, R13: 220 Ω , 1/8 W;
- C5, C7: 4,7 μ F, eletrolítico;
- C6, C8: 100 nF, poliéster;
- ADJ+, ADJ-: trimpot 10 k Ω .

A Figura 9 mostra uma visão superior da placa principal.

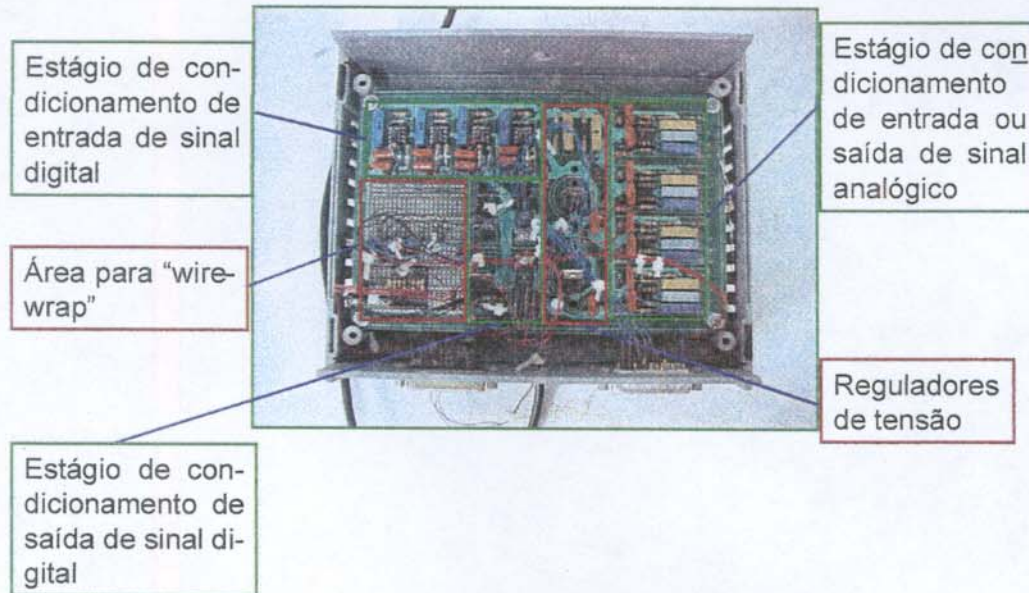


Figura 9 – Vista superior da placa principal.

III.1.3 - Placa auxiliar

III.1.3.1 - Fonte de alimentação

Para o sistema construído foi montada uma fonte de alimentação de -12 V, +12 V (1 A), para o funcionamento dos circuitos analógicos e uma fonte de 5 V (1 A), para alimentação dos circuitos digitais. Na Figura 10 está representado o esquema da fonte de alimentação de 12 V.

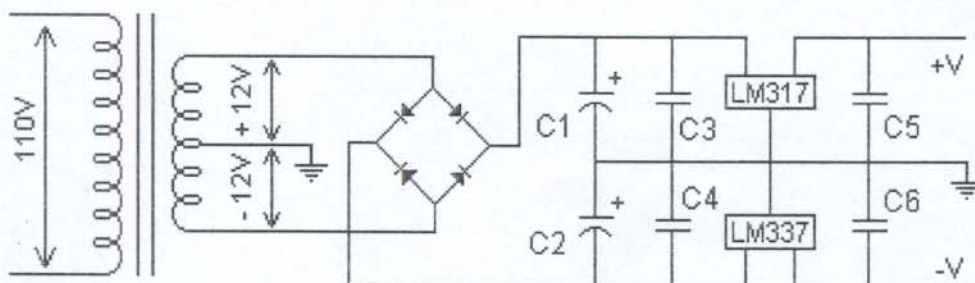


Figura 10 - Esquema da fonte de alimentação de 12 V.

Na figura:

- C1, C2: 4700 μ F, eletrolítico;
- C3, C4: 100 nF, poliéster;
- C5, C6: 4,7 μ F, poliéster.

Na Figura 11 está uma visão superior da placa auxiliar.

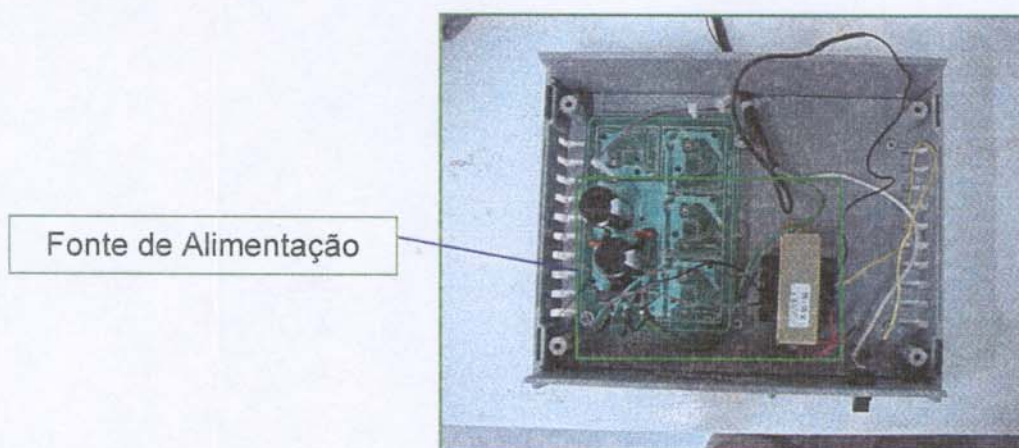


Figura 11 – Vista superior da placa auxiliar.

III.1.4 – Sistema de injeção de reagentes

O sistema de injeção de reagentes foi montado de acordo com a Figura 12, similar àquela descrita por BRITO e RAIMUNDO JR para injeção múltipla simultânea [55]. Para a propulsão das soluções oxidante, extratora e de limpeza, foi utilizada uma bomba peristáltica de oito canais (Ismatec IPC-N-8 V2.02). Tais soluções foram bombeadas/aspiradas através de tubos de Tygon® (Cole-Parmer / Ismatec). Para o transporte das soluções foram utilizados tubos de Teflon® (Cole-Parmer, 0,8 mm de diâmetro interno). Os mesmos tubos foram utilizados nas alças de amostragem.

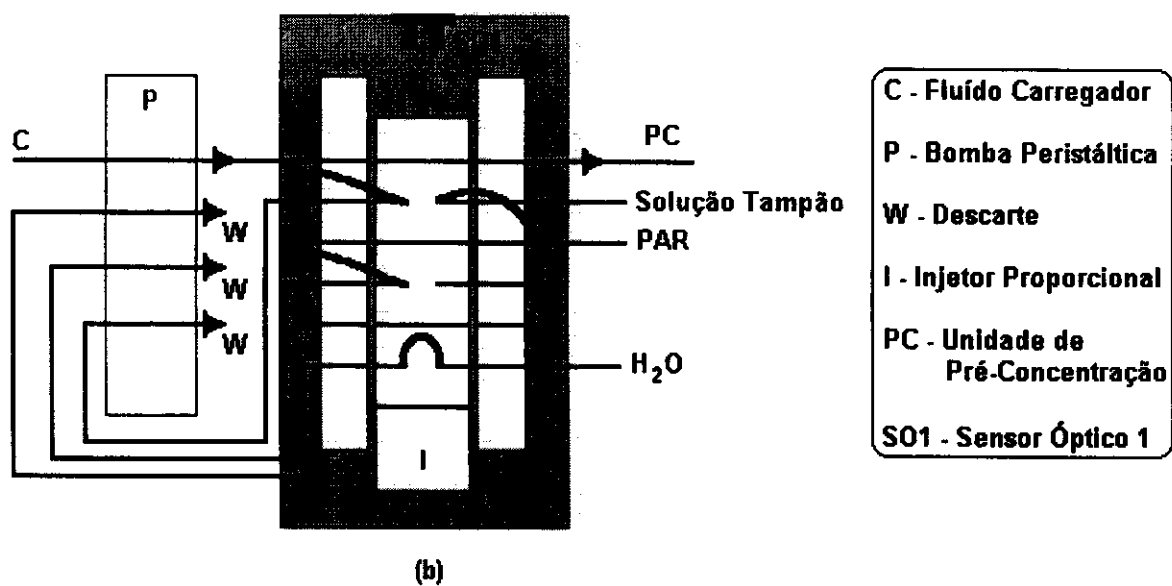
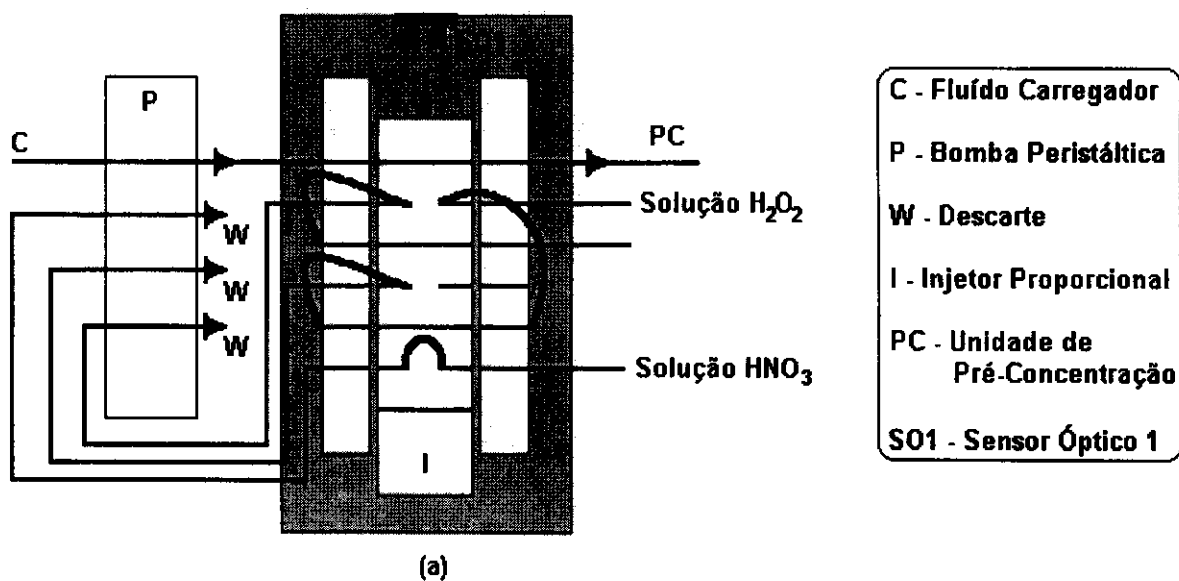


Figura 12 – Sistema de injeção de reagentes.(a) Componentes da mistura oxidante; (b) componentes da mistura complexante.

III.1.5 – Unidades de pré-concentração e detecção

A unidade de pré-concentração conforme ilustrada na Figura 13 consiste em um tubo de vidro Pyrex® VBTR (borossilicato termo-resistente), posicionado num ângulo de aproximadamente 15°, no interior do qual é formado o filme do reagente oxidante. Sensores ópticos (PCST-2.003) são utilizados para monitorar a passagem dos reagentes e assim determinar o instante em que as operações devem ser realizadas sob o comando do programa de controle desenvolvido em Microsoft Visual Basic 3.0 (fluxograma, Figura 16). Válvulas solenóides de três vias (PTFE, 12 V, 80 mA, N Research), tem a função de desviar o fluxo em direção ao detector (V_2), em direção aos traps de KMnO_4 (V_3) e o gás de arraste em direção ao tubo de vidro (V_1 e V_4).

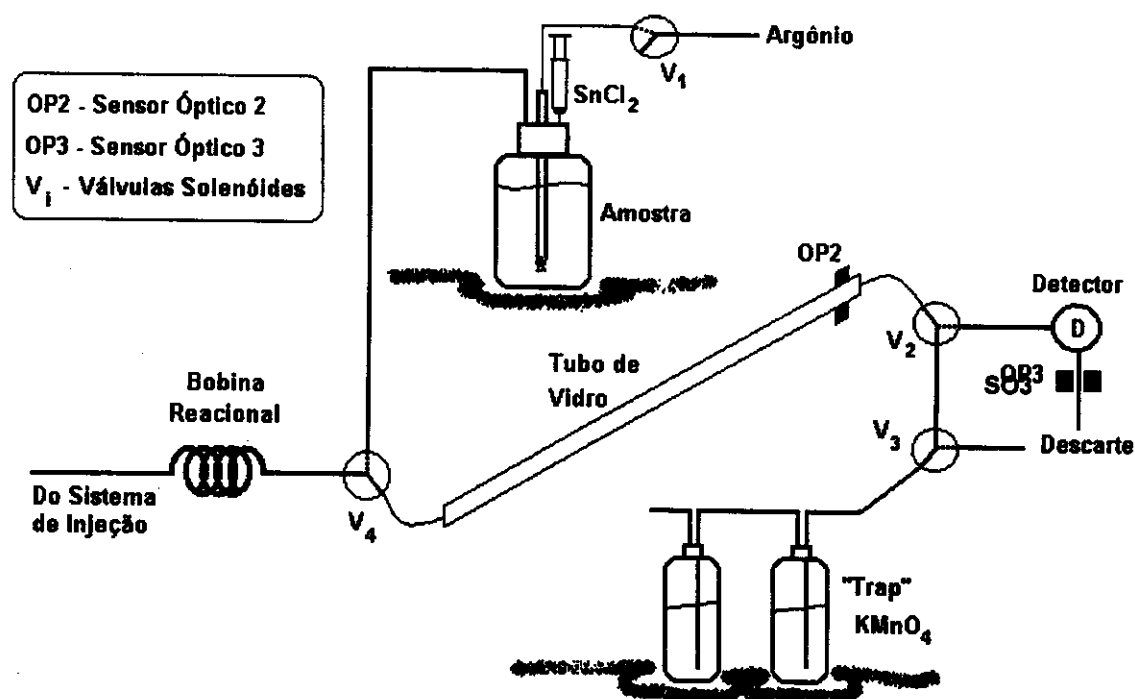


Figura 13 – Unidade de pré-concentração e detecção.

Para assegurar uma mistura mais eficiente dos reagentes, foi colocada uma bobina reacional de Teflon® (Cole-Parmer, 1,48 mm de diâmetro interno e 1,50 m de comprimento) entre o injetor proporcional e o tubo de vidro, que pode ser visualizada na Figura 13.

O sistema de detecção utilizado é composto de um diodo emissor de luz, LED (RS, $\lambda_{\text{máx}} = 525 \text{ nm}$) que age como fonte de radiação e um fotodiodo (RS, OSI5K). Ambos estão posicionados em um suporte de Teflon[®] grafitado, como mostra a Figura 14.

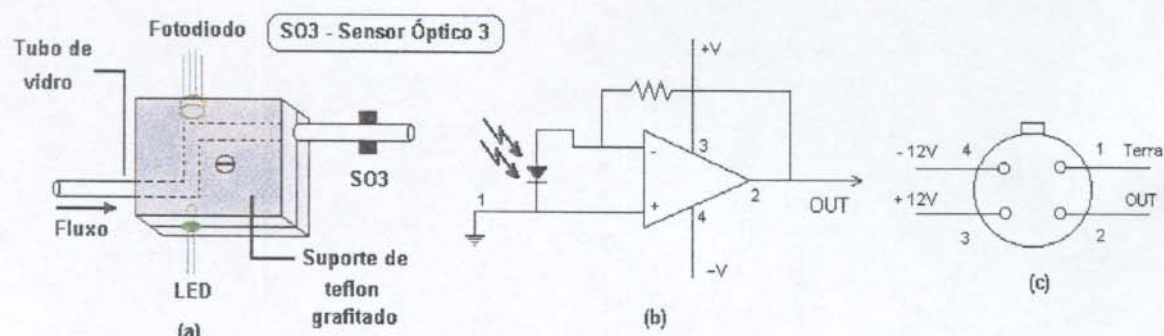
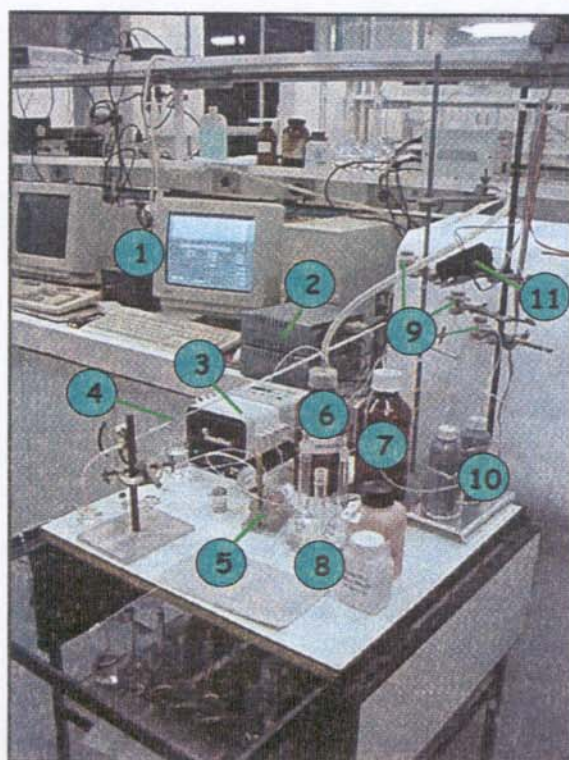


Figura 14 – (a) Sistema de detecção; (b) circuito do fotodiodo; (c) vista dos pinos do fotodiodo.

A Figura 15 mostra uma visão geral dos componentes do sistema desenvolvido.

- 1 – Microcomputador
- 2 – Caixa de controle
- 3 – Bomba peristáltica
- 4 – Tubo de vidro
- 5 – Injetor proporcional
- 6 – Frasco da amostra
- 7 – Descarte



- 8 – Reagentes
- 9 – Válvulas solenóides
- 10 – "Trap"
- 11 – Detector

Figura 15 - Visão geral do sistema.

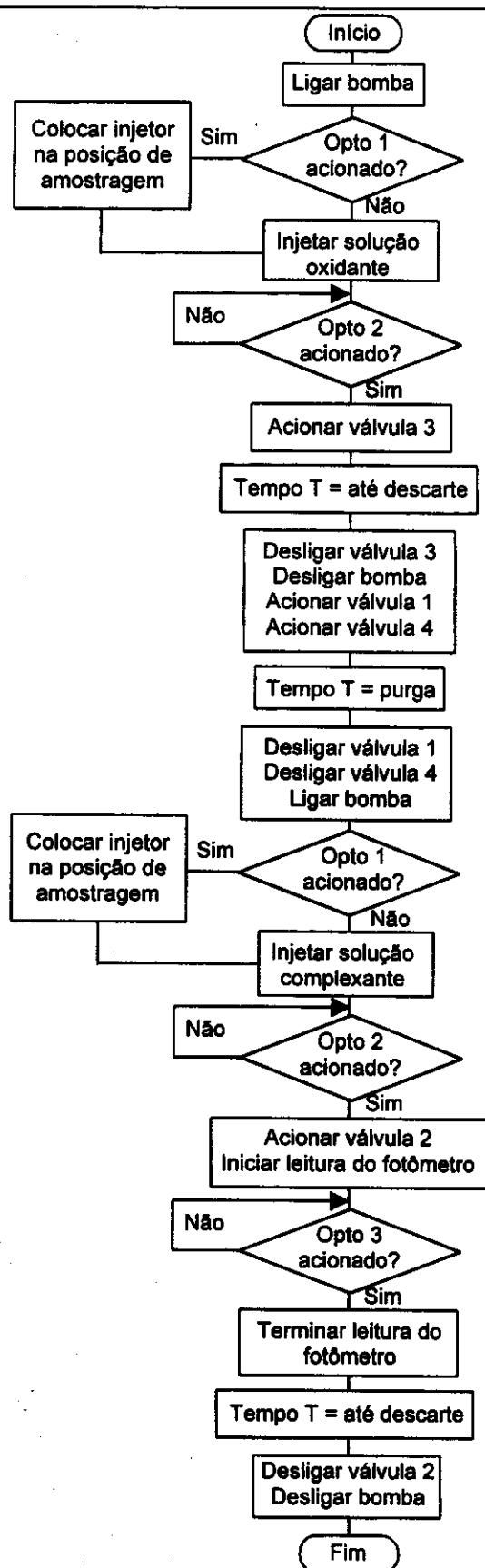


Figura 16 – Fluxograma do programa de controle e aquisição de dados.

III.2 – Operação do sistema

Para um melhor entendimento geral do sistema, todas as etapas serão descritas a seguir.

Ao ser dado o comando para o início do procedimento, a bomba peristáltica (P) é acionada. O sensor óptico 1 (SO1) monitora a posição do injetor proporcional (I). Caso esteja acionado, uma mensagem aparecerá na tela do computador, alertando para que o mesmo seja colocado em posição de amostragem (opto não acionado). Após as alças estarem preenchidas com o ácido e o peróxido é feita a injeção manual da mistura oxidante. Ao passar pelo tubo de vidro, essa mistura vai se aderindo à parede interna do mesmo, formando um filme (Figura 17).

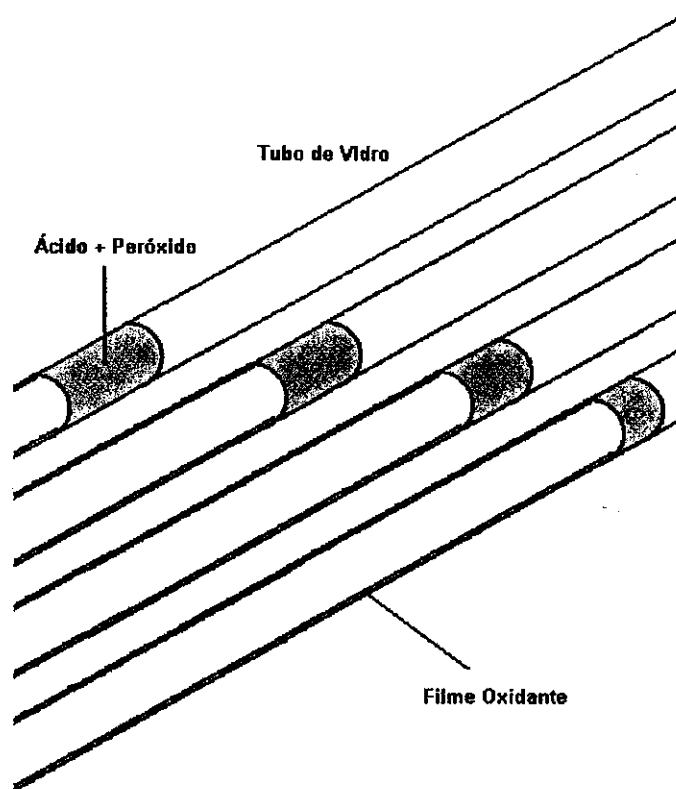


Figura 17 – Formação do filme contendo a mistura oxidante na parede interna do tubo de vidro.

O sensor óptico 2 (SO2) monitora a passagem da mistura na extremidade final do tubo, e quando isso ocorre, a válvula solenóide 3 (V3) é acionada por um tempo pré-determinado, para que a mesma possa atingir o descarte. Após o término deste tempo, a válvula solenóide 3 e a bomba peristáltica são desligadas, e as válvulas solenóides 1 e 4 (V1 e V4) são acionadas estabelecendo o fluxo de argônio. A solução de cloreto estanoso (II) é manualmente injetada no frasco contendo a amostra, promovendo a redução do mercúrio reativo presente na amostra, segundo a reação abaixo:



O argônio realizará o arraste do mercúrio reduzido através do tubo contendo o filme de solução oxidante, por um tempo pré-determinado (purga), onde o metal é (re)oxidado e retido. A reação de oxidação é mostrada a seguir:



Após passado o tempo de purga, as válvulas solenóides 1 e 4 são desligadas e a bomba peristáltica é novamente ligada. O sensor óptico 1 novamente monitora a posição do injetor proporcional. Quando o mesmo estiver em posição de amostragem e as alças preenchidas, a mistura complexante (PAR + solução tampão) é injetada manualmente. Ao passar pelo tubo de vidro o PAR reage com o mercúrio oxidado pelo filme contendo a mistura de reagentes oxidantes, formando o complexo (Figura 18).

O sensor óptico 2 agora monitora a passagem do complexo formado. Quando isso ocorre, a válvula solenóide 2 (V2) e o fotômetro são acionados e o sinal correspondente do complexo é adquirido (Figura19). O sensor óptico 3 (SO3) está posicionado após o fotômetro, de modo que a válvula solenóide 2 e a bomba peristáltica sejam desligadas após o tempo necessário para que o complexo atinja o descarte.

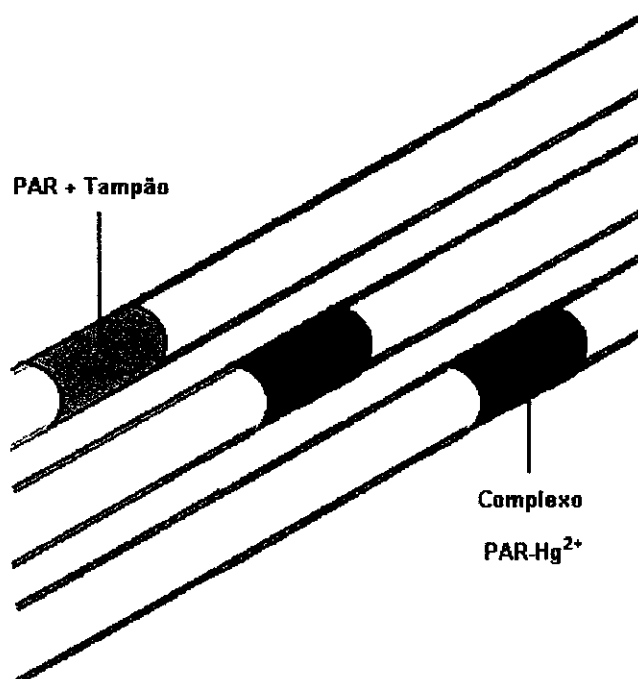


Figura 18 – Formação do complexo PAR-Hg(II) no interior do tubo de vidro.

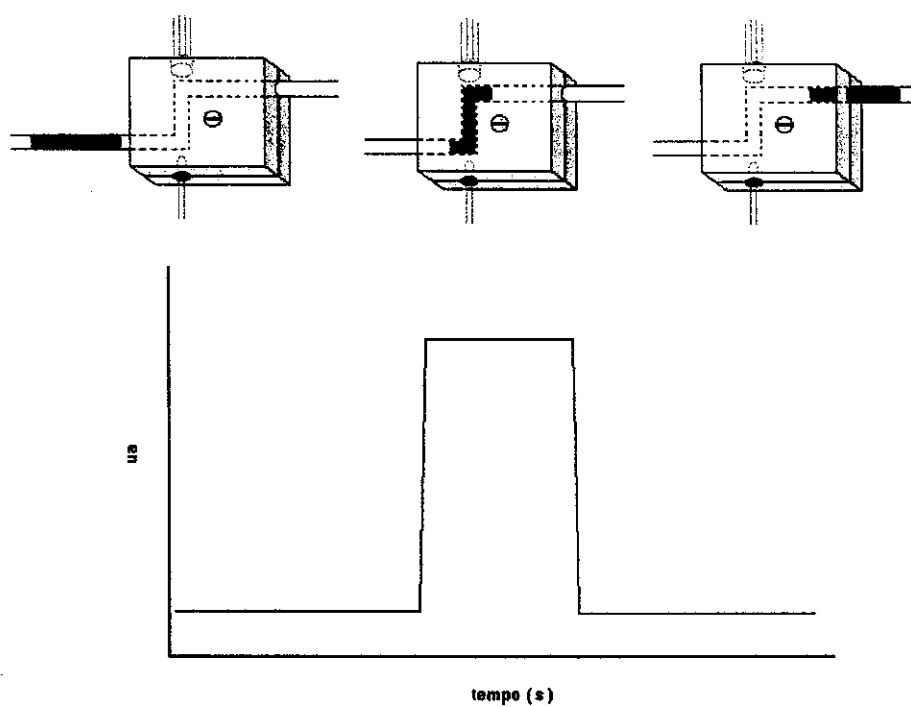


Figura 19 – Característica do sinal analítico obtido no sistema.

III.3 – Materiais, reagentes e soluções

Todo o material utilizado no preparo e armazenamento das soluções foi previamente descontaminado através de lavagem inicial, por pelo menos cinco vezes com água deionizada, imersão em solução de ácido nítrico $4,0 \text{ mol L}^{-1}$ durante 48 horas e nova lavagem com água deionizada por pelo menos cinco vezes.

Os reagentes utilizados no preparo das soluções foram todos de grau analítico (P. A.). A água utilizada na preparação/diluição das soluções foi obtida de um sistema de deionização Milli-Q® Plus (Ultra Pure Water System – Millipore, resistividade maior que $18,2 \text{ M}\Omega \text{ cm}^{-1}$).

A solução padrão estoque de Hg(II) (1000 mg L^{-1}) utilizada foi preparada a partir da dissolução de $1,3535 \text{ g}$ de HgCl_2 (CARLO HERBA / NORMEX) em 1000 mL de água deionizada e estocada em frasco de polietileno. As soluções para análise utilizadas na construção das curvas analíticas foram obtidas a partir da diluição da solução padrão estoque.

A solução redutora de cloreto de estanho (II) $20 \text{ \% (m/v)}$ [1] foi preparada diariamente pela dissolução de $23,80 \text{ g}$ de $\text{SnCl}_2 \cdot \text{H}_2\text{O}$ (SYNTH) em 100 mL de água deionizada e purgada por 30 minutos com N_2 purificado.

Como agente oxidante foram utilizadas soluções de peróxido de hidrogênio, preparadas pela diluição de $\text{H}_2\text{O}_2 \text{ 30 \% (SYNTH)}$. Para aumentar o poder oxidante do peróxido, foram preparadas soluções de HNO_3 (SYNTH), as quais foram injetadas juntamente com o peróxido.

O reagente complexante utilizado foi o PAR (4-(2-piridilazo)resorcinol, ALDRICH / SIGMA), a partir do qual foram preparadas soluções nas concentrações de 1×10^{-4} , 5×10^{-3} e $1 \times 10^{-3} \text{ mol L}^{-1}$.

Foram utilizadas soluções tampão $\text{NH}_3 / \text{NH}_4\text{Cl}$, preparadas a partir da mistura de $8,0 \text{ mL}$ de uma solução de NH_3 (SYNTH) e $2,0 \text{ mL}$ de uma solução de NH_4Cl (VETEC), ambas nas concentrações de $1,0$, $2,0$, $3,0$ e $4,0 \text{ mol L}^{-1}$, completando-se o volume para 100 mL .

III.4 – Otimização do sistema

Inicialmente o sistema de detecção utilizado consistiu de um espectrofotômetro com arranjo de diodos. Esse sistema foi utilizado apenas para a observação do espectro de absorção e da região onde ocorre o máximo de absorbância do complexo PAR-Hg(II). Após determinada essa região, o sistema de detecção foi substituído pelo proposto inicialmente no trabalho, ou seja, composto por um LED como fonte de radiação e um fotodiodo como detector.

Foram realizadas duas etapas distintas, a saber: estudo da estabilidade do complexo PAR-Hg(II), e otimização do módulo de pré-concentração.

III.4.1 – Estudo da estabilidade do complexo PAR-Hg(II)

Nesta etapa, padrões de Hg(II) (mg L^{-1}) foram injetados juntamente com o PAR e a solução tampão diretamente no tubo de vidro, e a estabilidade do complexo formado foi avaliada perante a variação das concentrações de PAR, solução tampão, peróxido de hidrogênio e ácido nítrico. Vale lembrar que o procedimento de pré-concentração não foi realizado nesta etapa. Na Tabela 4 estão as faixas de concentração para cada reagente estudado.

Tabela 4 – Faixas de concentração avaliadas no estudo da estabilidade do complexo

Reagentes	Faixa estudada
PAR	$1,0 \times 10^{-4} - 1,0 \times 10^{-3} \text{ mol L}^{-1}$
Solução tampão	$1,0 - 4,0 \text{ mol L}^{-1}$
HNO ₃	$1,0 - 5,0 \text{ mol L}^{-1}$
H ₂ O ₂	$3 - 24 \% \text{ (m / v)}$

III.4.2 – Otimização do módulo de pré-concentração

Após realizado o estudo da estabilidade do complexo PAR-Hg(II), foram realizados os estudos para obtenção dos melhores parâmetros para o funcionamento do módulo de pré-concentração. Nestes estudos foram avaliados os efeitos da variação das concentrações de peróxido de hidrogênio e ácido nítrico, vazão de bombeamento do sistema, diâmetro e comprimento do tubo de vidro, vazão e tempo de purga do argônio na amostra, número de extrações e volume da amostra sobre o sinal analítico correspondente à uma solução de $25 \mu\text{g Hg(II) L}^{-1}$. Vale ressaltar que nesta etapa foi incluído o procedimento de pré-concentração, o que não ocorreu no estudo da estabilidade do complexo. As faixas de estudo de cada parâmetro avaliado estão na Tabela 5.

Tabela 5 – Faixas de estudo para cada parâmetro avaliado

Parâmetro	Faixa de estudo
H ₂ O ₂	3 – 24 % (m/v)
HNO ₃	1,0 - 5,0 mol L ⁻¹
Vazão de bombeamento do sistema	0,5 – 3,0 mL min ⁻¹
Comprimento do tubo de vidro	30 – 90 cm
Diâmetro interno do tubo de vidro	3,0 e 5,0 mm
Tempo de purga	5 – 40 min
Vazão de argônio	0,1 – 1,0 L min ⁻¹
Número de extrações	1 – 5 extrações
Volume da amostra	100 – 1000 mL

IV – RESULTADOS e DISCUSSÃO

IV.1 – Estudo da estabilidade do complexo PAR-Hg(II)

O sistema utilizado para o estudo dos efeitos dos reagentes responsáveis pela formação do complexo utilizado no estudo de sua estabilidade é o mesmo ilustrado na Figura 12.

IV.1.1 – Efeito da concentração de PAR sobre o sinal do complexo

O reagente complexante escolhido foi o PAR, devido à sua solubilidade em meio aquoso. Os demais reagentes comumente utilizados na determinação colorimétrica de metais em sua maioria são solúveis apenas em meio orgânico, em geral tóxico. Os espectros obtidos do complexo formado utilizando as três concentrações de PAR testadas ($1,0 \times 10^{-4}$, $5,0 \times 10^{-4}$ e $1,0 \times 10^{-3}$ mol L⁻¹) e soluções de Hg(II) de 1 a 10 mg L⁻¹ estão nas Figuras 20, 21 e 22.

Observando-se as Figuras 20, 21 e 22, pode-se notar que há um aumento no valor do máximo de absorbância do complexo PAR-Hg(II) quando a concentração do reagente complexante é aumentada. Deste modo, decidiu-se trabalhar com a solução de PAR na concentração de $1,0 \times 10^{-3}$ mol L⁻¹. Também pode ser observado que o máximo de absorção do complexo ocorre em uma região do espectro visível entre 495 e 520 nm.

A partir de então foi adotado um LED que emite radiação nesta região ($\lambda_{\text{máx}} = 525$ nm), como fonte de radiação e um fotodiodo como detector. Diariamente foram realizadas novas leituras dos padrões de Hg(II) (Figura 23a) e, a partir da diferença entre os sinais correspondentes aos padrões de Hg(II) e o sinal correspondente à solução “branco” (contendo apenas PAR em meio tamponado), foram construídas curvas analíticas (Figura 23b).

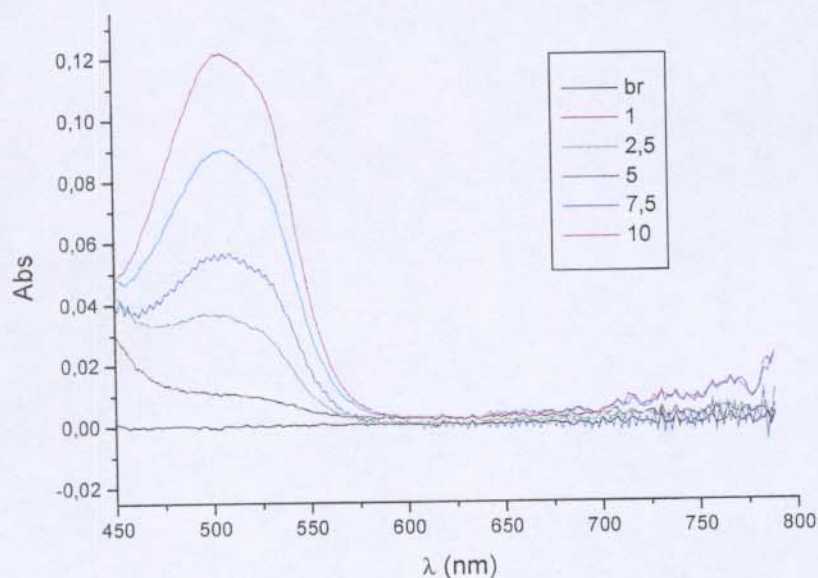


Figura 20 – Espectros de absorvância do complexo PAR-Hg(II); [PAR]=1,0x10⁻⁴ mol L⁻¹; concentrações de Hg(II) em mg L⁻¹; br – solução “branco”, contendo os reagentes somente.

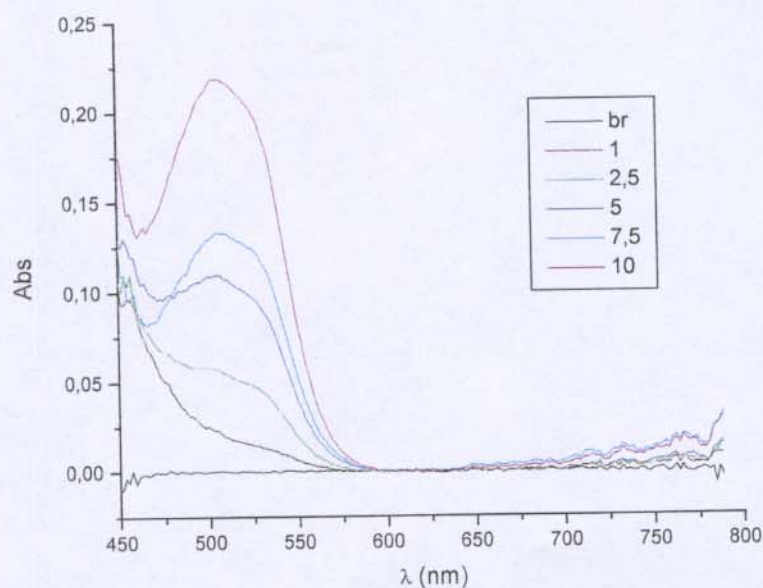


Figura 21 – Espectros de absorvância do complexo PAR-Hg(II); [PAR]=5,0x10⁻⁴ mol L⁻¹; concentrações de Hg(II) em mg L⁻¹; br – solução “branco”.

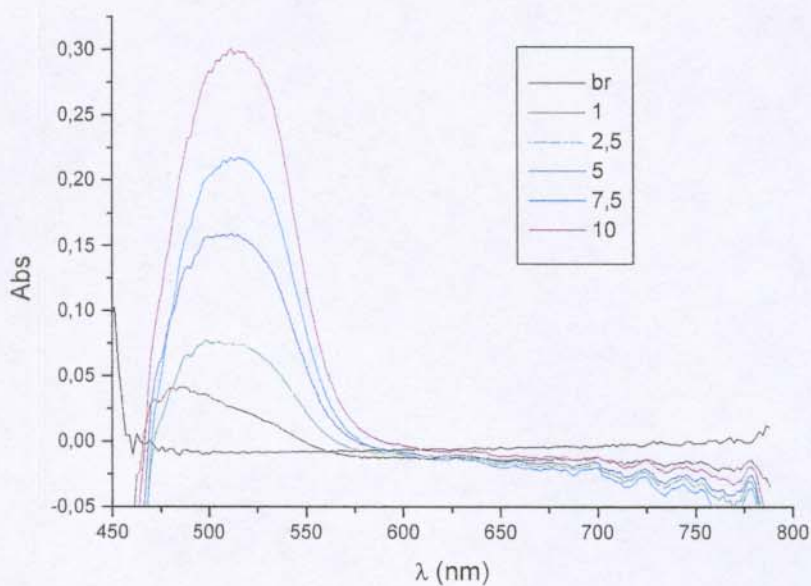
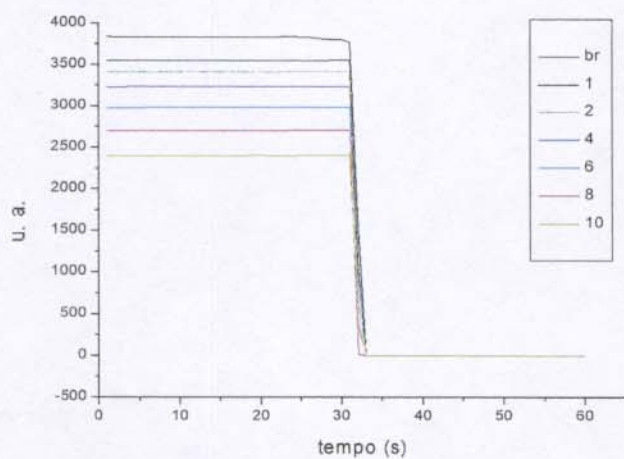
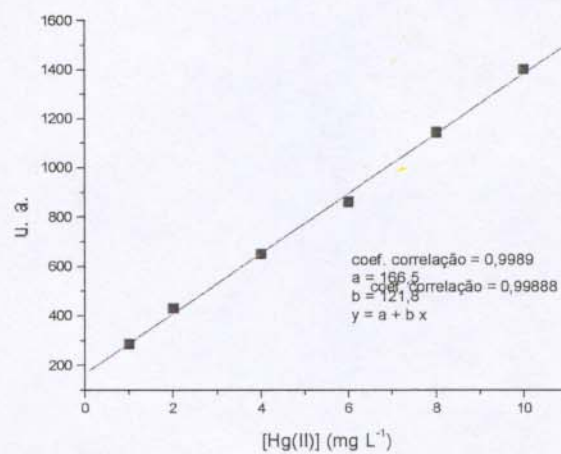


Figura 22 – Espectros de absorvância do complexo PAR-Hg(II); [PAR]= $1,0 \times 10^{-3}$ mol L⁻¹; concentrações de Hg(II) em mg L⁻¹; br – solução “branco”.



(a)



(b)

Figura 23 – (a) Sinais obtidos dos padrões de Hg(II); (b) Curva analítica obtida a partir dos máximos dos sinais em (a); br – solução “branco”; u. a. – unidades arbitrárias.

Após a mudança do sistema de detecção foi realizado novamente o estudo do efeito da concentração de PAR sobre o sinal analítico do complexo. A Figura 24 mostra a variação dos sinais do complexo PAR-Hg(II) em função das diversas concentrações de PAR ($[Hg(II)] = 4,0 \text{ mg L}^{-1}$). Os valores estão em unidades arbitrárias e correspondem à diferença em relação ao sinal de uma solução "branco", isto é, contendo apenas o reagente complexante e a solução tampão, sem o metal.

Pode ser observado na Figura 24 que há um ganho no sinal do complexo com o aumento da concentração de PAR, assim como observado no estudo anterior. Soluções com concentrações maiores do reagente complexante não foram testadas, devido ao aumento na dificuldade de solubilização do mesmo, além do aumento em seu consumo.

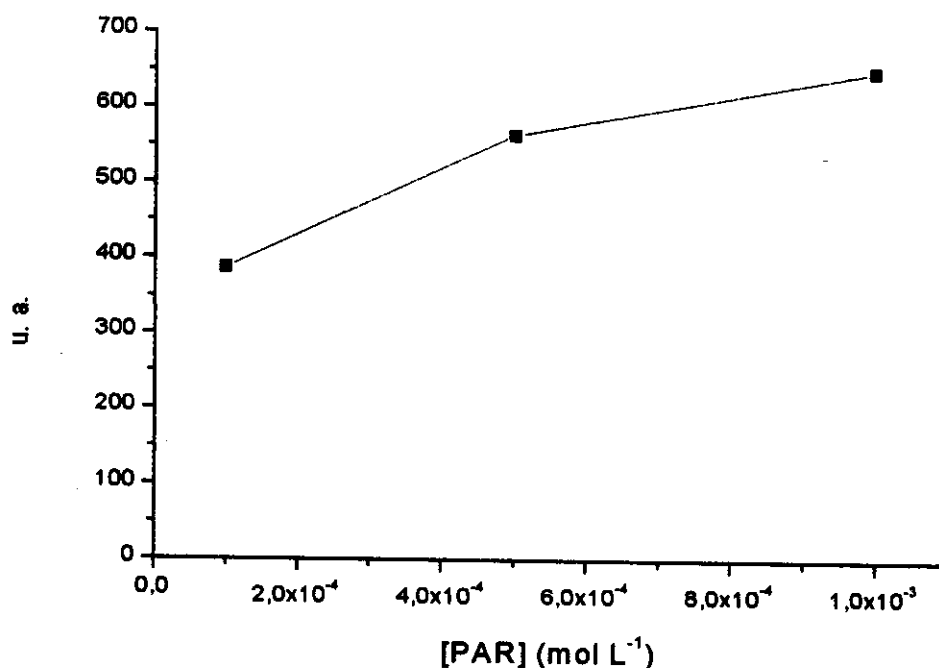


Figura 24 – Variação do sinal do complexo PAR-Hg(II) em função da concentração de PAR; $[Hg(II)] = 4,0 \text{ mg L}^{-1}$; $[tampão \text{ NH}_3 / \text{NH}_4\text{Cl}] = 4,0 \text{ mol L}^{-1}$; $[\text{HNO}_3] = 3,0 \text{ mol L}^{-1}$; $[\text{PAR}] = 1,0 \times 10^{-3} \text{ mol L}^{-1}$; u. a. – unidades arbitrárias.

IV.1.2 – Efeito da concentração da solução tampão sobre o sinal do complexo

No estudo do efeito da concentração da solução tampão $\text{NH}_3 / \text{NH}_4\text{Cl}$ sobre o sinal do complexo pode-se notar a importância do pH sobre a complexação do metal (Hg(II)) pelo PAR. As diferenças entre os sinais analíticos do complexo e da solução "branco" estão ilustradas na Figura 25.

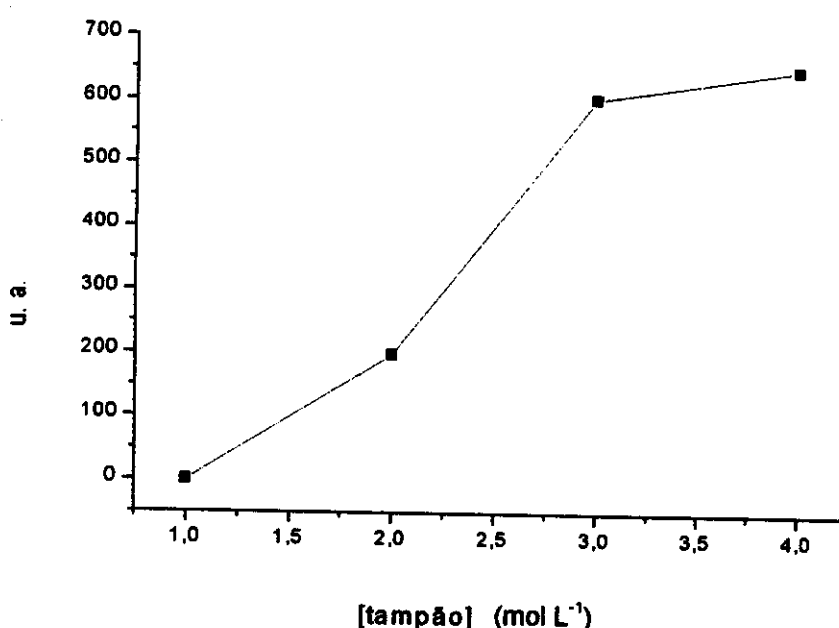


Figura 25 – Variação do sinal do complexo PAR- Hg(II) em função da concentração da solução tampão $\text{NH}_3/\text{NH}_4\text{Cl}$; $[\text{HNO}_3] = 3,0 \text{ mol L}^{-1}$; $[\text{Hg(II)}] = 4,0 \text{ mg L}^{-1}$; $[\text{PAR}] = 1,0 \times 10^{-3} \text{ mol L}^{-1}$; u. a. – unidades arbitrárias.

Observando-se a Figura 25, é possível notar que em concentrações abaixo de $2,0 \text{ mol L}^{-1}$ da solução tampão $\text{NH}_3/\text{NH}_4\text{Cl}$, praticamente não é verificada a presença do complexo, indicando a instabilidade do mesmo nestas concentrações da solução tampão. A partir da concentração de $3,0 \text{ mol L}^{-1}$ da mesma solução, o complexo tende a permanecer estável. Para os demais estudos optou-se pela concentração de $4,0 \text{ mol L}^{-1}$ da solução tampão, para que a estabilidade do complexo formado fosse assegurada.

IV.1.3 – Efeito da concentração de HNO_3 sobre o sinal do complexo

O comportamento do sinal correspondente ao complexo PAR-Hg(II) perante a variação da concentração de ácido nítrico está ilustrado na Figura 26.

Pela observação da Figura 26, nota-se que o complexo mantém-se estável até a concentração de $4,0 \text{ mol L}^{-1}$ de ácido nítrico e a partir dessa concentração há um decréscimo do sinal.

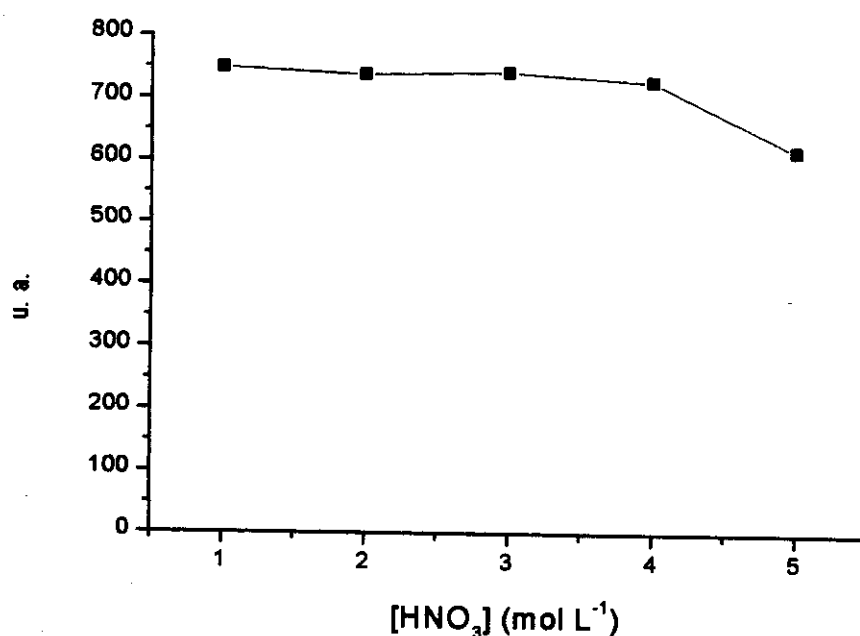


Figura 26 – Comportamento do sinal correspondente ao complexo PAR-Hg(II) perante a variação da concentração de ácido nítrico; $[\text{Hg(II)}] = 4,0 \text{ mg L}^{-1}$; $[\text{tampão}_{\text{NH}_3 / \text{NH}_4\text{Cl}}] = 4,0 \text{ mol L}^{-1}$; $[\text{PAR}] = 1,0 \times 10^{-3} \text{ mol L}^{-1}$; u. a. – unidades arbitrárias.

IV.1.4 – Efeito da concentração de H_2O_2 sobre o sinal do complexo

O efeito da variação da concentração de peróxido de hidrogênio sobre estabilidade do complexo em estudo foi avaliada na faixa de 3 a 24 % (m/v). O comportamento do sinal do complexo PAR-Hg(II) é mostrado na Figura 27.

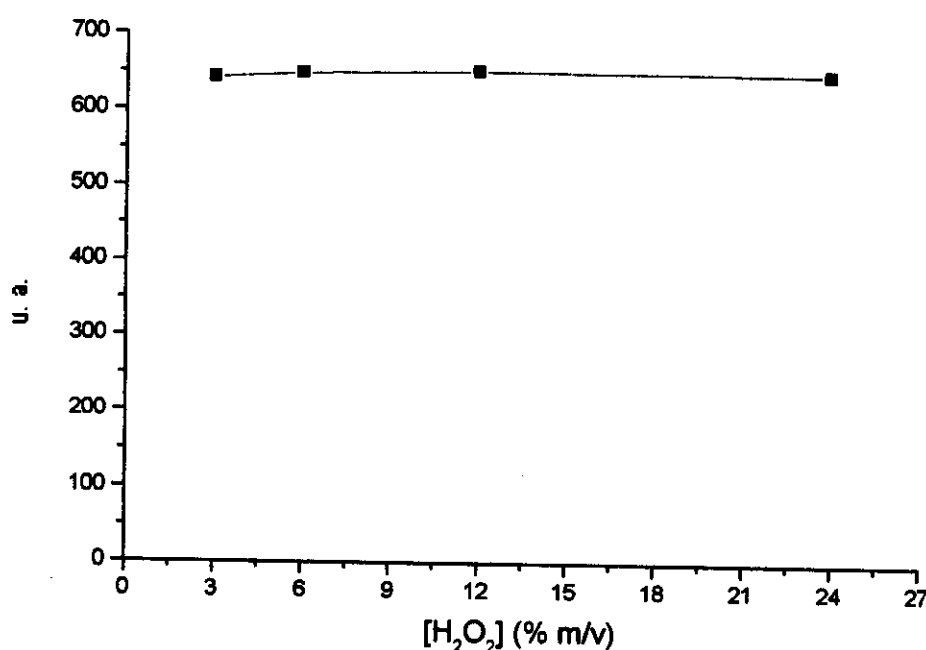


Figura 27 – Comportamento do sinal do complexo PAR-Hg(II) em função da concentração de peróxido de hidrogênio; $[\text{Hg(II)}] = 4,0 \text{ mg L}^{-1}$; $[\text{PAR}] = 1,0 \times 10^{-3} \text{ mol L}^{-1}$; $[\text{HNO}_3] = 3,0 \text{ mol L}^{-1}$; $[\text{tampão}_{\text{NH}_3/\text{NH}_4\text{Cl}}] = 4,0 \text{ mol L}^{-1}$; u. a. – unidades arbitrárias.

Pode ser observado que a concentração do peróxido não afeta significativamente o sinal correspondente ao complexo, evidenciando a estabilidade do mesmo perante esse reagente.

IV.2 – Otimização do módulo de pré-concentração

A fim de se investigar a eficiência da pré-concentração, foi utilizada uma solução de 25 µg de Hg(II) L⁻¹ e as mesmas condições otimizadas para a formação do complexo PAR-Hg(II).

IV.2.1 – Efeito da concentração de H₂O₂ sobre o sinal analítico

Em relação à concentração do reagente oxidante (H₂O₂), foram estudadas quatro soluções, de concentrações 3, 6, 12 e 24 % m/v. A Figura 28 mostra os sinais obtidos em função da concentração de peróxido. Pela observação da Figura 28, nota-se que há um aumento no sinal correspondente ao complexo PAR-Hg(II) quando a concentração do peróxido é aumentada. Optou-se trabalhar com a concentração de 12 % (m/v), já que o ganho obtido no sinal (cerca de 10 %) quando foi utilizada a solução de 24 % (m/v), foi pequeno, considerando-se o aumento na quantidade de reagente, e também porque a concentração desse reagente não afeta a estabilidade do complexo formado, como foi visto em estudo anterior.

IV.2.2 – Efeito da concentração de HNO₃ sobre o sinal analítico

Foram testadas diversas concentrações de ácido nítrico como auxiliar na oxidação do mercúrio previamente reduzido pelo cloreto estanoso. As diferenças em relação à solução do “branco” estão no gráfico da Figura 29. Observando-se esta figura, pode-se notar que há um aumento no sinal do complexo formado, quando a concentração do ácido é aumentada de 1,0 mol L⁻¹ para 2,0 mol L⁻¹, e a partir desta concentração não há um aumento significativo do sinal. A concentração de 3,0 mol L⁻¹ foi a escolhida, para garantir um auxílio eficiente ao peróxido, ao mesmo tempo em que esta concentração não afeta de maneira significativa a estabilidade do complexo formado.

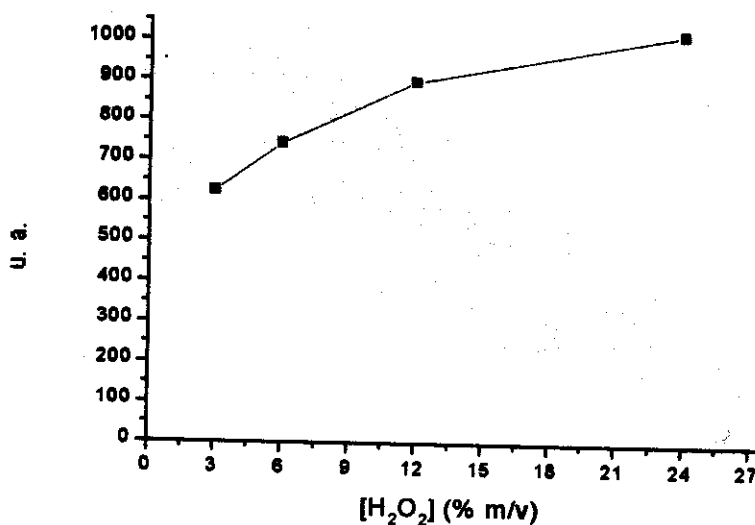


Figura 28 – Variação do sinal analítico correspondente ao complexo PAR-Hg(II) mediante variação da concentração de peróxido de hidrogênio; [PAR] = $1,0 \times 10^{-3}$ mol L⁻¹; [Hg(II)] = 25 µg L⁻¹; [HNO₃] = 3,0 mol L⁻¹; [tampão_{NH₃/NH₄Cl}] = 4,0 mol L⁻¹; u. a. – unidades arbitrárias.

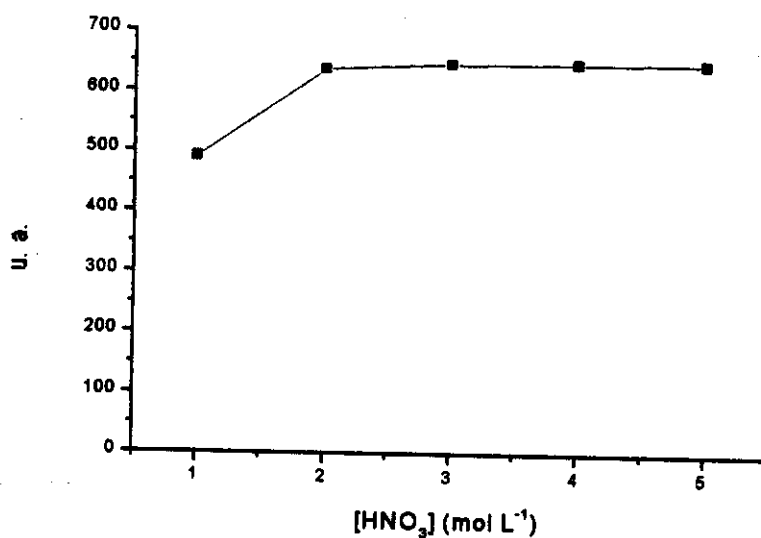


Figura 29 – Comportamento do sinal obtido do complexo PAR-Hg(II) em função da concentração de HNO₃; [PAR] = $1,0 \times 10^{-3}$ mol L⁻¹; [Hg(II)] = 25 µg L⁻¹; [tampão_{NH₃/NH₄Cl}] = 4,0 mol L⁻¹; [H₂O₂] = 12 % (m/v); u. a. – unidades arbitrárias.

IV.2.3 - Efeito da vazão do segmento contendo PAR sobre o sinal analítico

A Figura 30 apresenta a variação do sinal do complexo em função da vazão. A menor vazão do fluido carregador apresentou o melhor sinal, conforme ilustrado na mesma figura. Isto devido ao maior tempo de contato entre o segmento complexante e o mercúrio oxidado e retido no filme contendo a mistura oxidante. Porém, o tempo decorrido desde a injeção do reagente oxidante, somado ao tempo de purga e posterior injeção do reagente complexante foi muito grande, fato este que foi determinante na escolha da maior vazão para os demais testes, mesmo esta vazão apresentando o menor sinal.

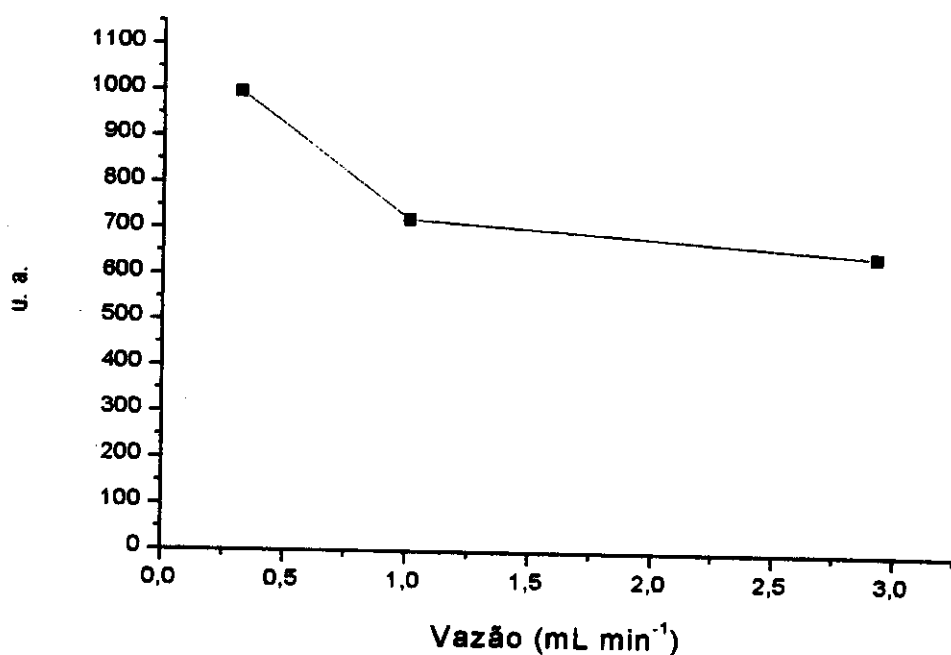


Figura 30 – Variação do sinal do complexo PAR-Hg(II) em função da vazão do fluido carregador; [PAR] = $1,0 \times 10^{-3}$ mol L⁻¹; [Hg(II)] = 25 µg L⁻¹; [tampão_{NH₃/NH₄Cl}] = 4,0 mol L⁻¹; [HNO₃] = 3,0 mol L⁻¹; [H₂O₂] = 12 % (m/v); u. a. – unidades arbitrárias.

IV.2.4 – Efeito do diâmetro e do comprimento do tubo de vidro sobre o sinal analítico

Quando variou-se o comprimento do tubo de 30 a 90 cm e o diâmetro interno do mesmo entre 3 e 5 mm, o melhor sinal obtido foi com o tubo de 90 cm de comprimento e diâmetro interno de 3 mm. Porém, o comprimento adotado para os experimentos subsequentes foi o de 60 cm, já que, como pode ser observado na Figura 31, o aumento no sinal do complexo (cerca de 10 %) é pequeno, levando-se em consideração o aumento no comprimento do tubo de vidro (50 %). Além disso, quando é utilizado um tubo de 90 cm de comprimento, observa-se um aumento significativo no tempo de análise.

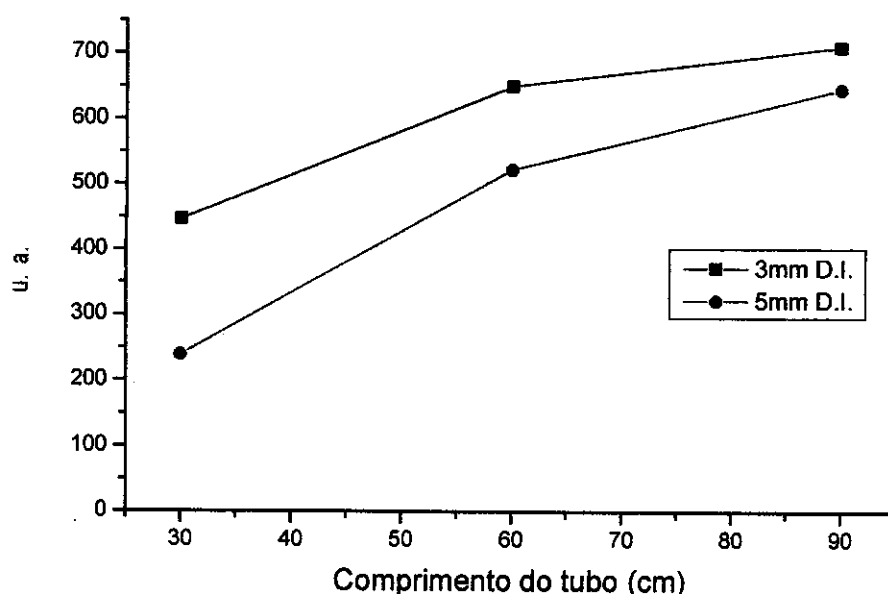


Figura 31 – Comportamento do sinal do complexo PAR-Hg(II) em função do comprimento e do diâmetro interno do tubo de vidro; $[\text{PAR}] = 1,0 \times 10^{-3} \text{ mol L}^{-1}$; $[\text{Hg(II)}] = 25 \text{ } \mu\text{g L}^{-1}$; $[\text{tampão}_{\text{NH}_3/\text{NH}_4\text{Cl}}] = 4,0 \text{ mol L}^{-1}$; $[\text{HNO}_3] = 3,0 \text{ mol L}^{-1}$; $[\text{H}_2\text{O}_2] = 12 \text{ } \%$ (m/v); u. a. – unidades arbitrárias.

IV.2.5 – Efeito da vazão e do tempo de purga do argônio sobre o sinal analítico

Os outros parâmetros estudados foram a vazão e o tempo de purga do gás de arraste (argônio). Os sinais obtidos estão nas Figuras 32 e 33. O tempo de purga foi avaliado entre 5 e 40 minutos e escolheu-se o tempo de 10 minutos, pois a diferença em relação ao sinal obtido após 20 minutos (cerca de 5 %) é muito pequena, mesmo o tempo tendo sido dobrado. A vazão de argônio mais adequada foi a de $0,2 \text{ L min}^{-1}$, já que não houve uma perda significativa no sinal com o aumento da vazão de $0,2$ a $1,0 \text{ L min}^{-1}$.

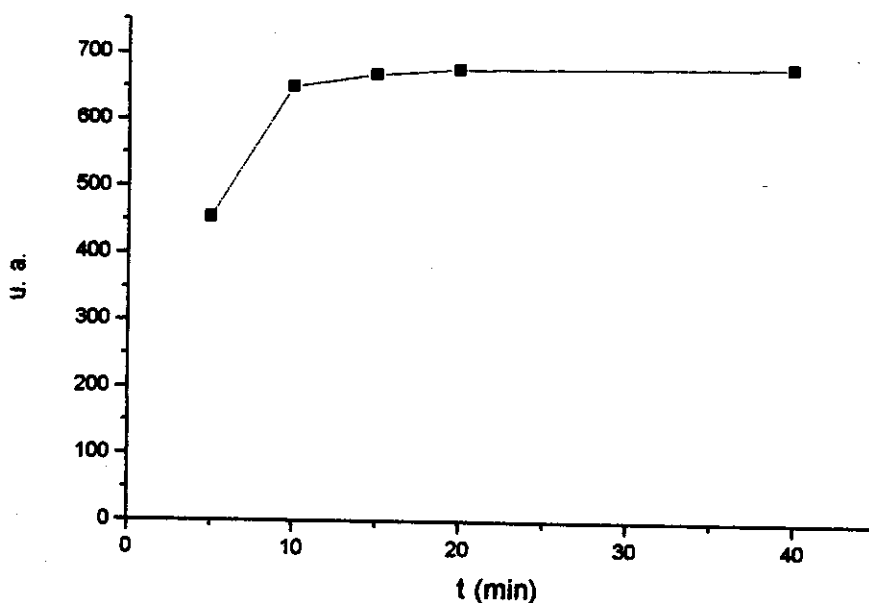


Figura 32 – Variação do sinal do complexo PAR-Hg(II) em função do tempo de purga do argônio; $[\text{PAR}] = 1,0 \times 10^{-3} \text{ mol L}^{-1}$; $[\text{Hg(II)}] = 25 \text{ } \mu\text{g L}^{-1}$; $[\text{tampão}_{\text{NH}_3/\text{NH}_4\text{Cl}}] = 4,0 \text{ mol L}^{-1}$; $[\text{HNO}_3] = 3,0 \text{ mol L}^{-1}$; $[\text{H}_2\text{O}_2] = 12 \text{ } \%$ (m/v); u. a. – unidades arbitrárias.

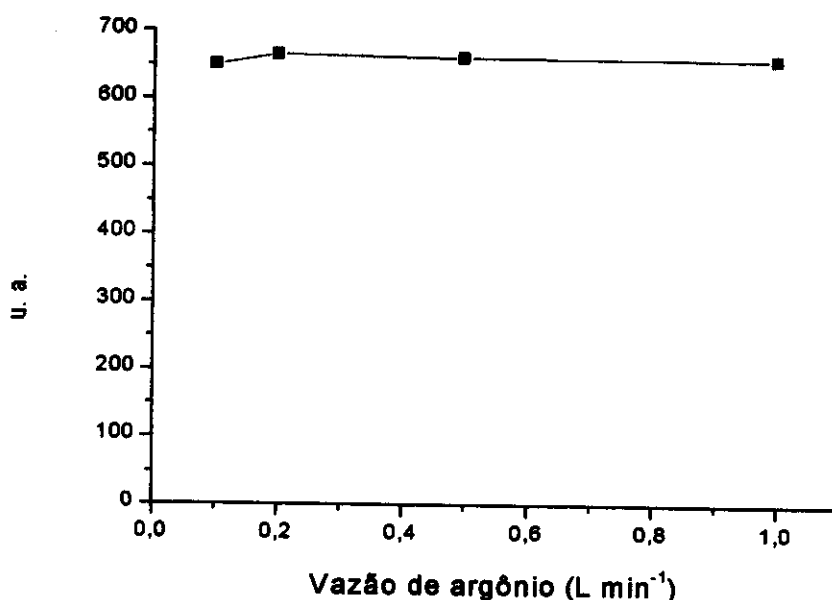


Figura 33 – Sinais do complexo PAR-Hg(II) obtidos em função da vazão de argônio; $[\text{PAR}] = 1,0 \times 10^{-3} \text{ mol L}^{-1}$; $[\text{Hg(II)}] = 25 \text{ } \mu\text{g L}^{-1}$; $[\text{tampão}_{\text{NH}_3/\text{NH}_4\text{Cl}}] = 4,0 \text{ mol L}^{-1}$; $[\text{HNO}_3] = 3,0 \text{ mol L}^{-1}$; $[\text{H}_2\text{O}_2] = 12 \text{ } \%$ (m/v); u. a. – unidades arbitrárias.

IV.2.6 – Avaliação do sistema de borbulhamento de argônio na amostra

O borbulhamento de argônio na amostra foi realizado inicialmente com um tubo de Teflon® de 0,8 mm de diâmetro interno, conforme ilustrado na Figura 34 (a). Posteriormente esse sistema foi substituído por um tubo de vidro de 5,0 mm de diâmetro interno com a extremidade contendo vidro sinterizado (Figura 34 b). Esta mudança ocasionou um aumento de cerca de 15 % no sinal analítico obtido para o complexo de Hg(II), o que ocorreu provavelmente devido a uma melhor distribuição do gás e consequentemente um arraste mais eficiente do mercúrio.

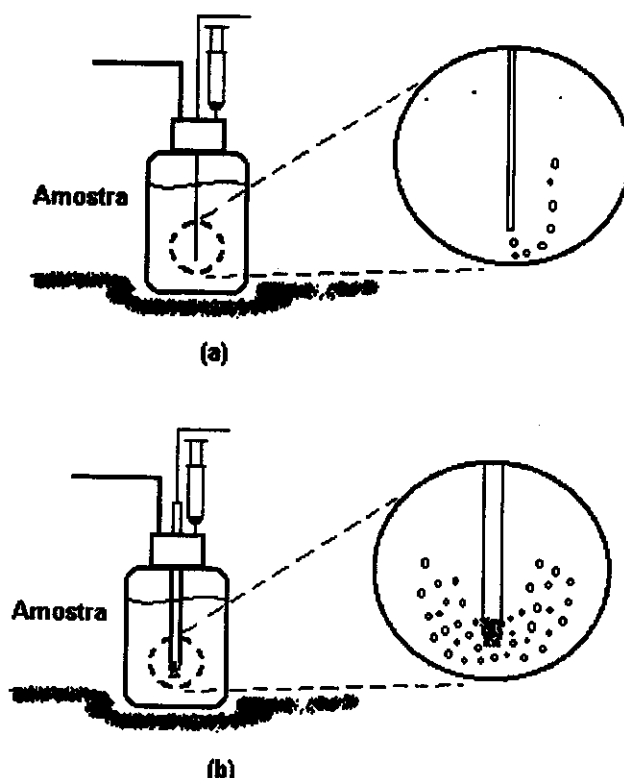


Figura 34 – Sistema de borbulhamento de argônio na amostra; (a) tubo de Teflon® de 0,8 mm d.i.; (b) tubo de vidro de 5,0 mm d.i. com extremidade contendo vidro sinterizado.

IV.2.7 – Investigação da eficiência de complexação do PAR sobre o Hg(II) retido no filme

Este estudo consistiu em realizar múltiplas extrações com o mesmo segmento complexante, através da inversão do fluxo de bombeamento. O procedimento consistiu na inversão da direção do fluxo quando o segmento complexante atingisse a extremidade superior do tubo de vidro, e posterior retomada desse fluxo ao sentido inicial quando o mesmo segmento atingisse novamente a extremidade inferior do tubo, sendo então o complexo levado à leitura. Teoricamente, se realizado uma vez, o procedimento descrito corresponderia a três extrações de Hg(II) pelo PAR, se repetido duas vezes, corresponderia a cinco extrações, e assim sucessivamente.

Como pode ser observado na Figura 35, o sinal aumenta com as extrações múltiplas (cerca de 30 %), de modo que pode ser afirmado que uma parte do mercúrio permanece no filme, mesmo após a passagem do segmento complexante. Porém, novamente esse aumento no sinal acarreta uma perda na frequência analítica, já que o tempo total de análise de uma amostra passa de aproximadamente 12 minutos (extração única) para aproximadamente 45 minutos (5 extrações), de modo que optou-se por continuar o trabalho com a passagem única do segmento contendo PAR.

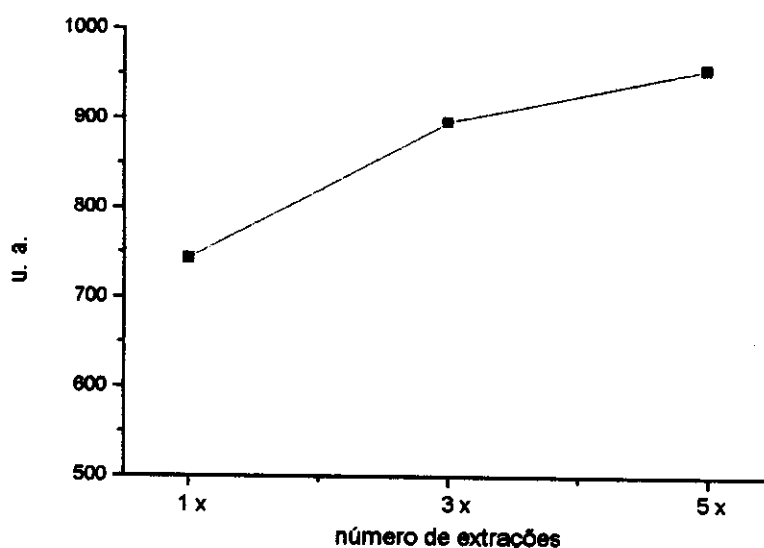


Figura 35 – Variação do sinal analítico após múltiplas extrações pelo segmento complexante; $[\text{PAR}] = 1,0 \times 10^{-3} \text{ mol L}^{-1}$; $[\text{Hg(II)}] = 25 \text{ } \mu\text{g L}^{-1}$; $[\text{tampão}_{\text{NH}_3/\text{NH}_4\text{Cl}}] = 4,0 \text{ mol L}^{-1}$; $[\text{HNO}_3] = 3,0 \text{ mol L}^{-1}$; $[\text{H}_2\text{O}_2] = 12 \text{ \% (m/v)}$; u. a. – unidades arbitrárias.

IV.2.8 – Estudo do efeito do volume da amostra sobre o sinal analítico

Todos os estudos anteriores foram realizados com um volume de amostra fixo em 1,0 L. Então foi avaliado o comportamento do sinal analítico mediante a diminuição deste volume. Foram investigados volumes de 100, 200 e 500 mL, sempre mantendo a concentração final de Hg(II) em $25 \text{ } \mu\text{g L}^{-1}$. Os sinais obtidos para cada volume estão na Figura 36.

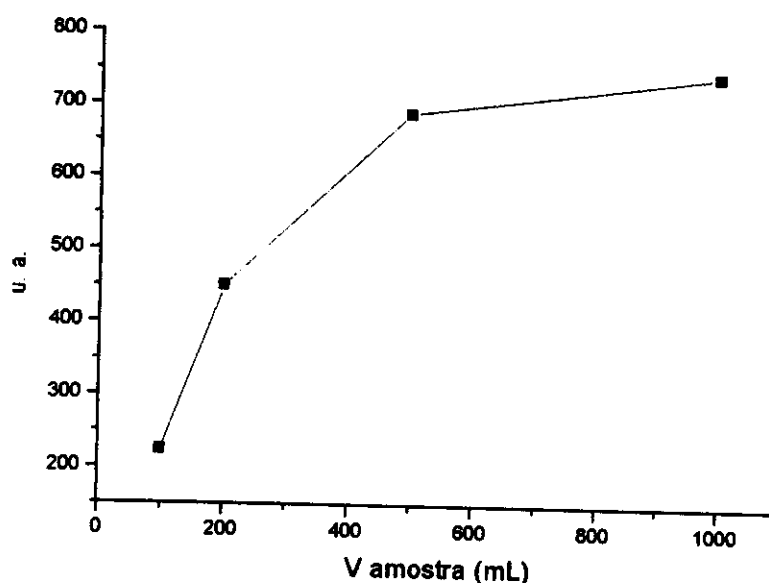


Figura 36 – Comportamento do sinal analítico mediante a variação do volume da amostra; $[PAR] = 1,0 \times 10^{-3} \text{ mol L}^{-1}$; $[\text{tampão}_{\text{NH}_3/\text{NH}_4\text{Cl}}] = 4,0 \text{ mol L}^{-1}$; $[\text{HNO}_3] = 3,0 \text{ mol L}^{-1}$; $[\text{H}_2\text{O}_2] = 12 \% \text{ (m/v)}$; u. a. – unidades arbitrárias.

Pode ser observado na Figura 36 que o sinal correspondente ao volume de 500 mL de amostra, quando comparado ao sinal correspondente ao volume utilizado inicialmente (1,0 L), apresenta uma perda muito pequena (cerca de 8%). Já para os demais volumes a queda foi mais significativa, como pode ser observado na mesma figura. Teoricamente, a diminuição no volume deveria apresentar uma diminuição proporcional no sinal analítico, porém, como observado experimentalmente, isso não ocorre, evidenciando que o fator determinante é a massa de mercúrio contida na amostra e não sua concentração. O volume de 500 mL foi escolhido para os demais experimentos.

IV.3 – Cálculo do fator de pré-concentração teórico

Para este cálculo, considerou-se uma amostra ($V = 500 \text{ mL}$) contendo $1,0 \mu\text{g L}^{-1}$ de Hg(II) . Supondo que todo esse mercúrio seja reduzido pelo cloreto estano, arrastado pelo argônio, (re)oxidado e retido pelo filme contendo a mistura oxidante, a

concentração de mercúrio no filme, cujo volume determinado experimentalmente é de 41,6 μL , seria

$$C_{\text{Hg}} = \frac{0,5 \mu\text{g}}{41,6 \mu\text{L}}$$

ou seja, 12,0 mg L^{-1} .

Supondo que o segmento contendo o agente complexante ($V = 350 \mu\text{L}$) estabeleça o equilíbrio de concentração com o filme, a concentração de mercúrio nesse segmento (que se torna a mesma do filme), seria

$$C_{\text{Hg}} = \frac{12,0 \text{ mg L}^{-1} \times 41,6 \mu\text{L}}{391,6 \mu\text{L}}$$

ou seja, 1,28 mg L^{-1} .

Deste modo, o fator de pré-concentração teórico é de 1280 vezes.

Para 500 mL de uma amostra contendo 25 $\mu\text{g Hg(II) L}^{-1}$ (concentração utilizada nos estudos), a concentração final teórica de mercúrio seria de 31,9 mg L^{-1} .

Nos estudos realizados, esta solução apresentou um sinal correspondente a uma solução de 3,7 mg L^{-1} , ou seja, o fator de pré-concentração obtido foi de 148 vezes, o que representa cerca de 11,6 % do valor do fator previsto teoricamente. O ganho alcançado fica muito abaixo do teórico, porém, frente aos valores encontrados na literatura é um ganho considerável.

Porém caso decida-se por uma maior sensibilidade e não haja problemas quanto ao tempo de análise, pode-se adotar os parâmetros que apresentaram melhor resposta analítica, dentre aqueles avaliados no presente trabalho.

IV.4 – Limite de detecção

Após o registro do sinal correspondente à solução “branco” por cinco vezes, foi calculado o desvio padrão dessas medidas. Os valores dos sinais obtidos estão na Tabela 6.

Tabela 6 – Valores dos sinais correspondentes às cinco medidas da solução “branco”

N	Sinal (u. a.)
1	3840
2	3837
3	3839
4	3844
5	3838

O desvio padrão calculado ($n = 5$) para essas medidas foi de 2,7 unidades arbitrárias.

A seguir, construiu-se uma curva analítica com padrões de Hg(II) entre 0,5 e 10 $\mu\text{g L}^{-1}$. A Figura 37 apresenta a curva analítica.

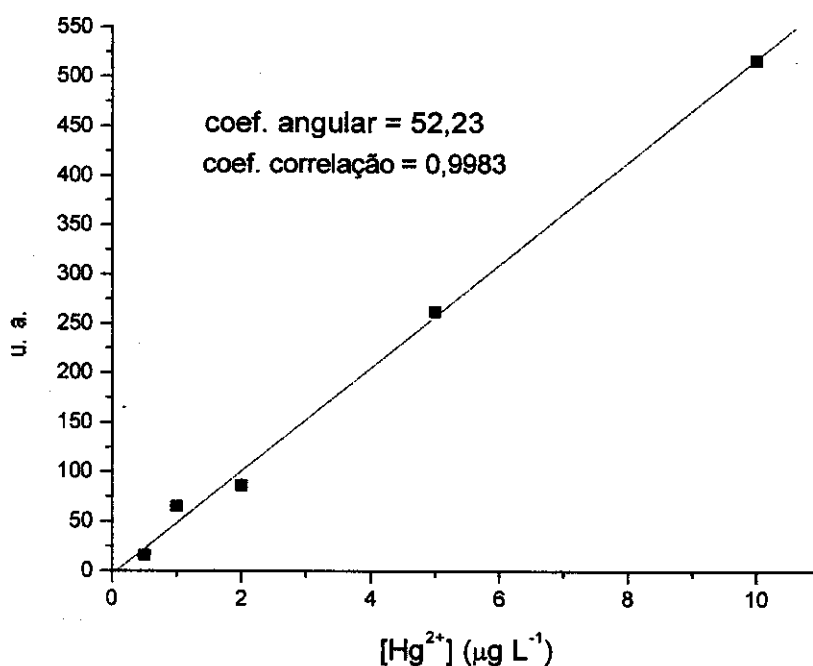


Figura 37 – Curva analítica obtida a partir os padrões de Hg(II) e utilizada para o cálculo do limite de detecção do sistema; $[\text{PAR}] = 1,0 \times 10^{-3} \text{ mol L}^{-1}$; $[\text{tampão}_{\text{NH}_3/\text{NH}_4\text{Cl}}] = 4,0 \text{ mol L}^{-1}$; $[\text{HNO}_3] = 3,0 \text{ mol L}^{-1}$; $[\text{H}_2\text{O}_2] = 12 \text{ \% (m/v)}$; u. a. – unidades arbitrárias.

O limite de detecção foi então calculado:

$$LD = \frac{3 \times \text{desvio padrão do "branco"}}{\text{coeficiente angular da curva analítica}}$$

ou seja, $0,16 \mu\text{g L}^{-1}$.

IV.5 – Análise de amostras

O método proposto foi aplicado na determinação de mercúrio reativo em amostras de efluentes coletadas em uma empresa de recuperação de mercúrio da região de Campinas – SP e cedidas pelo Laboratório de Química Ambiental (LQA – Unicamp). Os resultados obtidos através do sistema proposto foram comparados àqueles obtidos por CVAAS acoplado a um sistema FIA [56] e estão na Tabela 7.

Tabela 7 – Resultados obtidos para as amostras de efluentes cedidas pelo Laboratório de Química Ambiental da UNICAMP

Amostra	[Hg(II)] ($\mu\text{g L}^{-1}$)		
	Após adição de padrão	CVAAS	Sistema em fluxo **
1	-	8,0 *	$7,6 \pm 0,1$
2	-	2,0 *	$1,5 \pm 0,2$
3	2,5	$2,4 \pm 0,2$ **	$2,3 \pm 0,1$
4	5,0	$4,8 \pm 0,1$ **	$4,7 \pm 0,2$
5	10,0	$9,8 \pm 0,2$ **	$9,6 \pm 0,3$

* Resultados fornecidos pelo LQA

** Resultados médios de três determinações

Também foram analisadas amostras de água de torneira através do método proposto e pelo método padrão, CVAAS. Às amostras de água de torneira foram

adicionadas quantidades conhecidas de Hg(II) de modo que as concentrações desse metal ficaram iguais a 10,0, 15,0 e 20,0 $\mu\text{g L}^{-1}$. Os resultados obtidos também foram comparados àqueles encontrados por CVAAS e estão na Tabela 8.

Tabela 8 – Resultados obtidos para as amostras de água de torneira, após adição de quantidades conhecidas de Hg(II)

Amostra	[Hg(II)] ($\mu\text{g L}^{-1}$)		
	Após adição de padrão	CVAAS *	Sistema em fluxo *
1	10,0	$9,7 \pm 0,2$	$9,3 \pm 0,5$
2	15,0	$14,3 \pm 0,4$	$14,0 \pm 0,3$
3	20,0	$19,5 \pm 0,7$	$18,7 \pm 0,4$

* Resultados médios de três determinações.

Os resultados obtidos demonstram a boa concordância entre o método proposto e o método padrão na determinação de Hg(II) em amostras de águas residuais. O método proposto pode ser aplicado à análise de águas residuais, já que a concentração máxima permitida deste metal neste tipo de amostra é de 10 $\mu\text{g L}^{-1}$ segundo a portaria nº 20 (18/06/1986) do CONAMA (Conselho Nacional do Meio Ambiente). O mesmo sistema também pode ser utilizado na análise de água potável, porém com uma margem de segurança menor, já que a concentração máxima permitida de Hg(II) é de 2 $\mu\text{g L}^{-1}$, valor mais próximo do limite de determinação do método proposto.

Pode ser observado ainda a ocorrência de erro sistemático nas análises realizadas em amostras de água potável, de modo que todos os valores encontrados pelo método proposto estão abaixo dos valores adicionados. Porém, o método CVAAS também registrou uma tendência à valores menores que os reais, como se observa na Tabela 7.

Para a obtenção de uma estimativa aproximada da quantidade de mercúrio retida pelo filme contendo a mistura oxidante e também adsorvida na parede interna do tubo de vidro, todo o procedimento de pré-concentração foi repetido, porém, a extração

sendo realizada com uma solução de ácido nítrico $1,0 \text{ mol L}^{-1}$. Após o processo de extração, o segmento resultante foi diluído em um balão volumétrico de 50 mL e levado para determinação por CVAAS. Foram utilizadas soluções de Hg(II) , com concentrações de $12,5$ e $25 \mu\text{g L}^{-1}$ e realizadas extrações únicas, sempre em triplicata. Os resultados obtidos demonstraram um aumento no fator de pré-concentração de 148 vezes (cerca de 11% do fator teórico) para 445 vezes (cerca de 30% do fator teórico), indicando que aproximadamente 20 % de Hg(II) permanece retido no filme oxidante presente na parede interna do tubo de vidro ou adsorvido no vidro, no procedimento fotométrico, mesmo após a passagem do segmento contendo a solução complexante.

Os últimos experimentos abrem novas perspectivas quanto à melhoria da sensibilidade, através de extração prévia, em meio ácido, e posterior adição de reagentes em meio tamponado. Porém, essa mudança acarretaria num aumento considerável da complexidade do sistema, fato este que diverge do objetivo do sistema proposto.

Quanto ao estudo de interferentes na determinação de mercúrio através da técnica de geração de vapor frio, utilizando SnCl_2 como agente redutor, tem sido reportadas na literatura interferências na análise de águas que contém sulfeto, cloreto, cobre e telúrio. De um modo geral, há menor interferência por parte de íons de metais pesados quando SnCl_2 é utilizado, em comparação ao uso de NaBH_4 como agente redutor [57]. Também é preferível a determinação de mercúrio em soluções acidificadas, já que o pré-tratamento geralmente é realizado com solução de ácido sulfúrico [58].

Contudo, a maioria das interferências ocorre somente quando a espécie interferente está presente em concentrações muito maiores em relação ao mercúrio, sendo estas interferências praticamente desprezíveis em análises de águas de rios e lagos, água potável e efluentes [57-59].

O sistema proposto poderia ser aplicado à outras espécies, como aquelas que formam hidretos voláteis, o que poderá estender a sua utilização à pré-concentração seguida de determinação de Sn(IV) , Sb(III) , Se(IV) , As(III) , Bi(III) e Ge(IV) , dentre outros elementos.

V – CONCLUSÕES

A otimização do sistema foi realizada em duas etapas distintas: estudo da estabilidade do complexo PAR-Hg(II) e otimização do módulo de pré-concentração. Foram verificadas as influências de todos os reagentes utilizados (PAR, tampão NH_3/NH_4 , HNO_3 , H_2O_2) bem como dos demais fatores (diâmetro e comprimento do tubo de vidro, vazão, tempo de purga e sistema de borbulhamento de argônio na amostra, vazão de bombeamento do sistema, redução do volume da amostra e múltiplas extrações com o mesmo segmento complexante).

O sistema desenvolvido apresentou boa estabilidade e reprodutibilidade, após sua otimização.

O fator de pré-concentração obtido (148 vezes), apesar de estar abaixo do teórico (1280 vezes), é comparável aos valores encontrados na literatura, com a vantagem de que a instrumentação utilizada apresenta maior simplicidade e baixo custo. O limite de detecção estimado para o método fotométrico desenvolvido é de $0,16 \mu\text{g L}^{-1}$. O tempo de análise para uma amostra até a obtenção do sinal fotométrico é de 12 minutos.

As análises realizadas demonstraram boa concordância entre os valores obtidos no sistema e aqueles obtidos por CVAAS, de modo que o sistema desenvolvido pode ser seguramente utilizado na análise de efluentes e com alguma cautela na análise de água potável.

Estudos adicionais demonstraram a possibilidade de melhoria quanto à sensibilidade, porém tendo como consequência um aumento significativo na complexidade do sistema.

VI – REFERÊNCIAS

- 1 - Fadini, P. S. "Comportamento Biogeoquímico do Mercúrio na Bacia do Rio Negro (AM)", *Tese de Doutorado, Universidade Estadual de Campinas, Campinas, 1999.*
- 2 - ALT Inc. – Affinity Labeling Technologies / Affinity Laboratory Technologies; "Mercury in the Environment". Disponível em: <http://www.altcorp.com/hgenvironment.htm>; acesso em 14 de junho de 2002.
- 3 - Dalziel, J. A. "Reactive Mercury in the Eastern North Atlantic and Southeast Atlantic", *Mar. Chem.*, **49(4)**, 307-314. 1995.
- 4 - Lacerda, L. D. "Minamata: Livre do Mercúrio", *Ciência Hoje*, **23**, 24-31, 1997.
- 5 - Clevenger, W. L.; Smith, B. W.; Winefordner, J. D. "Trace Determination of Mercury: A Review", *Crit. Rev. Anal. Chem.*, **27(1)**, 1-26, 1997.
- 6 - Micaroni, R. C. D. M.; Bueno, M. I. M. S.; Jardim, W. F. "Mercury Compounds. Review on Determination, Treatment and Disposal Methods", *Quim. Nova*, **23(4)**, 487-495, 2000.
- 7 - Pasquini, C.; Oliveira, W. A. "Monosegmented System for Continuous Flow Analysis. Spectrophotometric Determination of Chromium(IV), Ammonia, and Phosphorus", *Anal. Chem.*, **57**, 2575-2579, 1985.
- 8 - Skeggs Jr., L. T. "An Automatic Method for Colorimetric Analysis", *Am. J. Clin. Pathol.* **28**, 311-322, 1957.

- 9 – Ruzicka, J.; Hansen, E. H. "Flow Injection Analysis. 1. A New Concept of Fast Continuous Flow Analysis", *Anal. Chim. Acta*, **78**, 145-157, 1975.
- 10 – Reis, B. F.; Zagatto, E. A. G.; Jacintho, A. O.; Krug, F. J.; Bergamin, H. "Merging Zones in Flow-Injection Analysis. 4. Simultaneous Spectrophotometric Determination of Total Nitrogen and Phosphorus in Plant-Materials", *Anal. Chim. Acta*, **119(2)**, 305-311, 1980.
- 11 – Raimundo Jr, I. M. "Construção de um Espectrofotômetro Multicanal e de um Analisador Automático de Fluxo Monossegmentado", *Tese de Doutorado, Universidade Estadual de Campinas, Campinas*, 1995.
- 12 – Assali, M.; Raimundo Jr, I. M.; Facchin, I. "Simultaneous Multiple Injection to Perform Titration and Standard Addition in Monosegmented Flow Analysis", *J. Autom. Method. Manag.*, **23(3)**, 83-89, 2001.
- 13 – de Aquino, E. V.; Rohwedder, J. J. R.; Pasquini, C. "Monosegmented Flow Titrator", *Anal. Chim. Acta*, **438(1-2)**, 67-74, 2001.
- 14 – Carlsson, K.; Karlberg, B. "Micro-volume Flow Titration and Screening the Dissociation Constants (pK_a) of Weak Acids", *Anal. Chim. Acta*, **434(1)**, 149-156, 2001.
- 15 – Borges, E. P.; Martelli, P. B.; Reis, B. F. "Automatic Stepwise Potentiometric Titration in a Monosegmented Flow System", *Mikrochim. Acta*, **135(3-4)**, 179-184, 2000.
- 16 – Honorato, R. S.; Araújo, M. C. U.; Veras, G.; Zagatto, E. A. G.; Lapa, R. A. S.; Lima, J. L. F. C. "A Monosegmented Flow Titration for the Spectrophotometric Determination of Total Acidity in Vinegar", *Anal. Sci.*, **15(7)**, 665-668, 1999.

- 17 – Martelli, P. B.; Reis, B. F.; Korn, M.; Lima, J. L. F. C. "Automatic Potentiometric Titration in Monosegmented Flow System Exploiting Binary Search", *Anal. Chim. Acta*, **387(2)**, 165-173, 1999.
- 18 – Ganzarolli, E. M.; Lehmkuhl, A.; de Queiroz, R. R. R.; de Souza, I. G. "Automated Potentiometric Titrator Based in Monosegmented Flow System", *Quim. Nova*, **22(1)**, 53-57, 1999.
- 19 – Carlsson, K.; Karlberg, B. "Monosegmented Micro-volume Liquid-liquid Flow Extraction System Based on Intermittent Pumping and Spectroscopic Detection", *Anal. Chim. Acta*, **415(1-2)**, 1-7, 2000.
- 20 – Facchin, I.; Pasquini, C. "Liquid-liquid Extraction in Flow Systems", *Quim. Nova*, **21(1)**, 60-68, 1998.
- 21 – Facchin, I.; Rohwedder, J. J. R.; Pasquini, C. "An Automated System for Liquid-liquid Extraction in Monosegmented Flow Analysis", *J. Autom. Chem.*, **19(2)**, 33-38, 1997.
- 22 – Facchin, I.; Pasquini, C. "2-Phase Liquid-liquid Extraction in Monosegmented Flow Analysis – Determination of Cadmium with 1-(2'-Pyridylazo)Naphthol", *Anal. Chim. Acta*, **308(1-3)**, 231-237, 1995.
- 23 – Facchin, I.; Martins, J. W.; Zamora, P. G. P.; Pasquini, C. "Single-phase Liquid-liquid Extraction in Monosegmented Flow Systems", *Anal. Chim. Acta*, **285(3)**, 287-292, 1994.

- 24 – de Aquino, E. V. "Extração Líquido-Líquido em Sistemas de Análise em Fluxo Monossegmentado: Investigação Sobre o Efeito da Composição da Fase Orgânica e do Ligante Extrator", *Dissertação de Mestrado, Universidade Estadual de Campinas, Campinas, 2000.*
- 25 – Tumang, C. A.; Borges, E. P.; Reis, B. F. "Multicommutation Flow System for Spectrophotometric L(+)Lactate Determination in Silage Material Using an Enzymatic Reaction", *Anal. Chim. Acta*, **438(1-2)**, 59-65, 2001.
- 26 – Araujo, A. N.; Catita, J. A. M.; Lima, J. L. F. C. "Monosegmented Flow Analysis of Serum Cholesterol", *Farmaco*, **54(1-2)**, 51-55, 1999.
- 27 – Araujo, A. N.; Catita, J. A. M.; Lima, J. L. F. C.; Zagatto, E. A. G. "Monosegmented Flow Analysis of Slow Enzymatic Reactions: Determination of Triglycerides in Serum", *Fresen. J. Anal. Chem.*, **360(1)**, 100-103, 1998.
- 28 – Cavicchioli, A.; Gutz, I. G. R. "In-line TiO₂-assisted Photodigestion of Organic Matter in Aqueous Solution for Voltametric Flow Analysis of Heavy Metals in Water Samples", *Anal. Chim. Acta*, **445(2)**, 127-138, 2001.
- 29 – Pereira, E. R.; Mello, C.; Costa, P. A.; Arruda, M. A. Z.; Poppi, R. J. "Neuro-genetic Approach for Optimisation of the Spectrophotometric Catalytic Determination of Cobalt", *Anal. Chim. Acta*, **433(1)**, 111-117, 2001.
- 30 – de Andrade, J. C.; Bruns, R. E.; Eiras, S. D. "Catalytic Determination of Molybdenum (VI) in Plants Using Monosegmented Continuous Flow Analysis and Spectrophotometric Detection", *Analyst*, **118(2)**, 213-217, 1993.

- 31 – de Andrade, J. C.; Eiras, S. D.; Bruns, R. E. "Study of the Mo (VI) Catalytic Response in the Oxidation of Iodide by Hydrogen-Peroxide Using a Monosegmented Continuous Flow System", *Anal. Chim. Acta*, **255(1)**, 149-155, 1991.
- 32 – Smiderle, M.; Reis, B. F.; Rocha, F. R. P. "Monosegmented Flow System Exploiting Multicommutation Applied to Spectrophotometric Determination of Manganese in Soybean Digests", *Anal. Chim. Acta*, **386(1-2)**, 129-135, 1999.
- 33 – Raimundo Jr, I. M.; Pasquini, C. "Automated Monosegmented Flow Analyser. Determination of Glucose, Creatinine and Urea", *Analyst*, **122(10)**, 1039-1044, 1997.
- 34 – de Faria, L. C.; Pasquini, C. "Spectrophotometric Determination of Creatinine by Monosegmented Continuous Flow Analysis", *J. Autom. Chem.*, **14(3)**, 97-100, 1992.
- 35 – de Andrade, J. C.; Ferreira, M.; Baccan, N.; Bataglia, O. C. "Spectrophotometric Determination of Boron in Plants Using Monosegmented Continuous Flow Analysis", *Analyst*, **113(2)**, 289-293, 1988.
- 36 – da Silva, M. D. H.; Pasquini, C. "Determination of Gaseous Species by Monosegmented Flow Systems. Volumetric Determination of Oxygen and Carbon Dioxide", *Anal. Chim. Acta*, **349(1-3)**, 377-384, 1997.
- 37 – da Silva, M. D. H.; Rohwedder, J. J. R.; Pasquini, C. "Determination of CO₂ in Gaseous Samples Using a Monosegmented Flow System and Conductimetric Detection", *Anal. Chim. Acta*, **366(1-3)**, 223-229, 1998.

- 38 – da Silva, M. D. H.; Pasquini, C. "Bisegmented Flow System for Determination of Low Concentrations of Gaseous Constituents in Gaseous Samples", *Anal. Chim. Acta*, **393**(1-3), 121-129, 1999.
- 39 – dos Reis B. F.; Miranda, C. E. S.; Baccan, N. "Preconcentration by Liquid Phase Extraction in Flow Analysis Systems with Spectrometric Detection", *Quim. Nova*, **19**(6), 623-635, 1996.
- 40 – Morita, H.; Tanaka, H.; Shimomura, S. "Atomic Fluorescence Spectrometry of Mercury: Principles and Developments", *Spectrochim. Acta B*, **50**(1), 69-84, 1995.
- 41 – de Wuilloud, J. C. A.; Wuilloud, R. G.; Silva, M. F.; Olsina, R. A.; Martinez, L. D. "Sensitive Determination of Mercury in Tap Water by Cloud Point Extraction Pre-Concentration and Flow Injection-Cold Vapor-Inductively Coupled Plasma Optical Emission Spectrometry", *Spectrochim. Acta B*, **57**:(2), 365-374, 2002.
- 42 – Mahmoud, M. E.; Osman, M. M.; Amer, M. E. "Selective Pre-Concentration and Solid Phase Extraction of Mercury (II) from Natural Water by Silica Gel-Loaded Dithizone Phases", *Anal. Chim. Acta*, **415**(1-2), 33-40, 2000.
- 43 – Manzoori, J. L.; Sorouraddin, M. H.; Shabani, A. M. H. "Determination of Mercury by Cold Vapour Atomic Absorption Spectrometry After Preconcentration with Dithizone Immobilized on Surfactant-Coated Alumina", *J. Anal. Atom. Spectrom.*, **13**(4), 305-308, 1998.
- 44 – Bloxham, M. J.; Gachanja, A.; Hill, S. J.; Worsfold, P. J. "Determination of Mercury Species in Sea-Water by Liquid Chromatography with Inductively Coupled Plasma Mass Spectrometric Detection", *J. Anal. Atom. Spectrom.*, **11**(2), 145-148, 1996.

- 45 – Shiowatana, J.; Siripinyanond, A.; Waiyawat, W.; Nilmanee, S. "Determination of Total Mercury in Natural Gas Liquid and Condensate by Carbon Adsorption and Slurry Sampling ETAAS", *Atom. Spectrosc.*, **20(6)**, 224-229, 1999.
- 46 – Shimizu, T.; Ohya, K.; Shijo, Y. "Graphite-Furnace AAS Determination of Mercury in Water Samples After Preconcentration with One-Drop Solvent", *Bunseki Kagaku*, **43(11)**, 971-976, 1994.
- 47 – Ma, W. X.; Liu, F.; Li, K. A.; Chen, W.; Tong, S. Y. "Preconcentration, Separation and Determination of Trace Hg(II) in Environmental Samples with Aminopropylbenzoylazo-2-Mercaptobenzotiazol Bonded to Silica Gel", *Anal. Chim. Acta*, **416(2)**, 191-196, 2000.
- 48 - Snell, F. D. **Photometric and Fluorometric Methods of Analysis. Metals. Part 1**, Nova Iorque: John Wiley & Sons, 1978.
- 49 – Onishi, H. **Photometric Determination of Traces of Metals. Part II B**, 4ª ed., Nova Iorque: John Wiley & Sons, 1989.
- 50 – Marczenko, Z.; Horwood, E. **Spectrophotometric Determination of Elements**, Nova Iorque: John Wiley & Sons, 1976.
- 51 – Sandell, E. B.; Onishi, H. **Photometric Determination of Traces of Metals**, 4ª ed., Nova Iorque: John Wiley & Sons, 1989.
- 52 – Anderson, R. G.; Nickless, G. "Heterocyclic Azo Dyestuffs in Analytical Chemistry – A Review", *Analyst*, **92(1093)**, 207-238, 1967.

- 53 – Mori, I.; Fujita, Y.; Fujita, K.; Nakahashi, Y.; Kato, K.; Nakamura, T. "Color Reaction Between 4-(2-Pyridylazo)Resorcinol and Mercury(II) in the Presence of Surfactant, and Improved Spectrophotometric Determinations of Mercury(II) and Cyanide Ion with Its Coloring", *Anal. Lett.*, **21(12)**, 2359-2379, 1988.
- 54 – Eshwar, M. C.; Nagarkar, S. G. "Photometric Determination of Mercury(II) with 4-(2-Pyridylazo)-Resorcinol", *Fresen. Z. Anal. Chem.*, **260(4)**, 289-8, 1972.
- 55 – Brito, V. O.; Raimundo Jr, I. M. "Simultaneous Multiple Injection in Monosegmented Flow Analysis", *Anal. Chim. Acta*, **371(2-3)**, 317-324, 1998.
- 56 – Pasquini, C.; Jardim, W. F.; Faria, L. C.; Adaptation of a Cold Vapor Mercury Analyser to Flow Injection Analysis, *J. Autom. Chem.*, **10(4)**, 188-191, 1988.
- 57 – Guo, T. Z.; Baasner, J. "Technical Note: Using FIMS to Determine Mercury Content in Sewage Sludge, Sediment and Soil Samples", *J. Autom. Chem.*, **18(6)**, 221-223, 1996.
- 58 – Yamada, E.; Yamada, T.; Sato, M. "Determination of Trace Mercury in the Environmental Water Containing Iodide by Using Cold-Vapor Atomic Absorption Spectrometry", *Anal. Sci.*, **8(6)**, 863-868, 1992.
- 59 – Sakamoto, H.; Taniyama, J.; Yonehara, N. "Determination of Ultra-Trace Amounts of Total Mercury by Gold Amalgamation-Cold Vapor AAS in Geothermal Water Samples by Using Ozone as Pretreatment Agent", *Anal. Sci.*, **13(5)**, 771-775, 1997.
- 60 – Mateo, M. D.; Forteza, R.; Cerdá, V.; Spectrophotometric Determination of Mercury(II) by Flow Injection Analysis. *Intern. J. Environm Anal. Chem.*, **41(1-2)**, 39-46, 1990.

- 61 – Morita, M., Yoshinaga, J., Edmonds, J. S.; The Determination of Mercury Species in Environmental and Biological Samples, *Pure & Appl. Chem.*, **70(8)**, 1585-1615, 1998.