



UNIVERSIDADE ESTADUAL DE CAMPINAS
INSTITUTO DE QUÍMICA
DEPARTAMENTO DE QUÍMICA ANALÍTICA

TESE DE DOUTORADO

**SENSORES ÓPTICOS E INSTRUMENTAÇÃO PARA
DETERMINAÇÃO DE CONTAMINANTES EM ÁGUAS**

Kássio Michell Gomes de Lima

Prof. Dr. Ivo M. Raimundo Jr.

Orientador

Prof. Dra. Maria Fernanda D`Oliveira Pimentel

Co-Orientadora

CAMPINAS – SP BRASIL

Abril / 2009

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

L628s	<p>Lima, Kássio Michell Gomes de. Sensores ópticos e instrumentação para determinação de contaminantes em águas / Kássio Michell Gomes de Lima. -- Campinas, SP: [s.n], 2009.</p> <p style="text-align: center;">Orientador: Ivo Milton Raimundo Júnior. Co-orientadora: Maria Fernanda D'Oliveira Pimentel.</p> <p style="text-align: center;">Tese - Universidade Estadual de Campinas, Instituto de Química.</p> <p style="text-align: center;">1. Optodos. 2. BTEX. 3. NIR. 4. Metais. I. Raimundo Júnior, Ivo Milton. II. Pimentel, Maria Fernanda D'Oliveira. III. Universidade Estadual de Campinas. Instituto de Química. IV. Título.</p>
-------	---

Título em inglês: Optical sensors and instrumentations for determination of contaminants in water

Palavras-chaves em inglês: Optodes, BTEX, NIR, Metals

Área de concentração: Química Analítica

Titulação: Doutor em Ciências

Banca examinadora: Ivo Milton Raimundo Júnior (orientador), Mario César Ugulino de Araújo (DQ-UFPB), Ana Paula Silveira Paim (DQ-UFPE), José Alberto Fracassi da Silva (IQ-UNICAMP), Wilson de Figueiredo Jardim (IQ-UNICAMP)

Data de defesa: 01/04/2009

Dedico este trabalho,

Á Deus que me iluminou o caminho percorrido até o final deste trabalho.

Aos meus eternos e amados Pais Rivaldo e Cilene por todo amor, carinho, dedicação, e incomparável doação aos três filhos.

Aos meus amados irmãos Kalill e Kermeson por todo amor que me proporcionaram e pelo imensurável afeto que tanto enriquecem a minha vida.

Em memória aos meus avôs Joaquim Euflauzino, Joaquim Francisco e Maria Deolinda que semearam paz, amor e respeito na minha família.

A minha avó Elza e ao meu tio Valdomiro pelos ensinamentos de vida.

E a você, Danielle Soler, pelo imenso, puro e verdadeiro amor oferecido ao longo da minha vida.

AGRADECIMENTOS

Ao meu orientador e amigo, Prof. Dr. Ivo M. Raimundo Jr., pela orientação segura no desenvolvimento deste trabalho, pela incansável atenção, paciência e pela enorme competência. Também quero agradecer pela amizade e por querer sempre o melhor para as pessoas.

À minha co-orientadora e amiga, Profa. Dra. Maria Fernanda Pimentel, que acompanhou cada etapa deste trabalho e pelas valiosas sugestões.

À Dra. Maria Cruz Moreno-Bondi pela excelente orientação aos trabalhos realizados na Universidade Complutense de Madrid durante o estágio no exterior.

Ao Dr. Guillermo Orellana e ao André dos Santos pelas discussões teóricas e experimentais, que tanto contribuíram no desenvolvimento deste trabalho.

Aos professores Dr. Celio Pasquini e Dr. Jarbas Rodrigues Rohwedder pela amizade, respeito e pelas sugestões a este trabalho.

Aos professores Dr. Zacheu Luis Santos, Dr. Helio Scatena Jr. e Dr. Luis Seixas das Neves que me impulsionaram a minha vinda à Unicamp em 2003.

Aos meus amigos, Eduardo, Evandro, Luis, Leonardo, Wellington e Tinho pela agradável moradia durante estes cinco anos de Unicamp.

À minha grande amiga Andrea Monteiro, pela força e amizade que tanto fizeram parte desta etapa importante da minha vida.

Ao meu rei, Sergio Henrique Frasson Scaffi, pela valiosa amizade e admiração.

Aos meus colegas de laboratório do GIA e LQA.

Aos meus colegas do GSOLFA, em especial aos meus grandes amigos Javier Urraca e Bruno Pedras pela amizade, respeito e grandes momentos de descontração.

Às agências de fomento à pesquisa CAPES (PROCAD 0081/05-1, MEC/DGU-Espanha 125/06) e CNPq pela concessão da bolsa de estudos e pelo auxílio pesquisa.

CURRICULUM VITAE

Nome: Kássio Michell Gomes de Lima

e-mail: kassiolima@hotmail.com

Currículo Lattes: <http://lattes.cnpq.br/6928918856031880>

Formação Acadêmica

1999 – 2003 **Graduação** em Química. Universidade Federal do Rio Grande do Norte, UFRN, Brasil.

2004 – 2009 **Doutorado** em Química Analítica. Instituto de Química/Unicamp, IQ/UNICAMP, Brasil.

Título: Sensores Ópticos e Instrumentação para Determinação de Contaminantes em Águas.

Orientador: Prof. Dr. Ivo M. Raimundo Jr.

Co-Orientadora: Prof. Dra. Maria Fernanda Pimentel

Bolsista: Coordenação de Aperfeiçoamento de Pessoal de Nível Superior, CAPES, Brasil.

Artigos em Revista Científica Indexada

- ✓ Lima, K.M.G.; Raimundo Jr., I.M.; Silva, A.M.S.; Pimentel, M.F.; *Quim. Nova*, **2009**, aceito para publicação.
- ✓ Lima, K.M.G.; Trevisan, M.G.; Poppi, R.J.; Andrade, J.C.; *Quim. Nova*, **2008**, 31, 700.
- ✓ Lima, K.M.G.; Raimundo Jr., I.M.; Pimentel, M.F.; *Sens. Actuators, B*. **2007**, 125, 229.

Apresentação de Trabalhos em Eventos Científicos

- ✓ Saldanha, T.C.B.; Hansil, F.A.; Pasquini, C. Simões, S.S. Lima, K.M.G.; Santos, K.M.; Classification of Brazilian mate tea using wavelet transform and successive

- projection algorithm for variable selection. In: 11th conference on Chemometrics in Analytical Chemistry, **2008**, Montpellier - France.
- ✓ Urraca, J.L.; Lima, K.M.G.; Santos, A.; Orellana, G.; Raimundo Jr. I.M.; Moreno-Bondi, M.C.; Desarrollo de un sensor óptico para la determinación de cobre en aguas. XXI Reunión Nacional de Espectroscopia y V Congreso Ibérico de Espectroscopia, **2008**, Murcia – España.
 - ✓ Santos, K.M.; Moura, M.F.V.; Lima, K.M.G.; Raimundo Jr. I.M.; Pasquini, C.; Classification of Brazilian coffee using near infrared spectroscopy. In: 13th International Conference on Near Infrared Spectroscopy, **2007**, Ume -Vasa.
 - ✓ Rodriguez-Fernandez, J.I.; Carvalho, C.J.B.; Lima, K.M.G.; Pasquini, C.; Avaliação do uso da espectroscopia no infravermelho próximo e ferramentas quimiométricas em entomologia. In: 14º Encontro Nacional de Química Analítica, **2007**, João Pessoa.
 - ✓ Lima, K.M.G.; Raimundo Jr., I.M.; Pimentel, M.F.; Simultaneous determination of BTX in water employing a silicone sensing phase, Near Infrared Spectroscopy and multivariate calibration. In: Europt(r)ode VIII, **2006**, Tubingen.
 - ✓ Lima, K.M.G.; Raimundo Jr., I.M.; Pimentel, M.F.; Determination of low concentrations of aromatic hydrocarbons in water. In: 12th International Conference on Near Infrared Spectroscopy, **2005**, Auckland, New Zealand.
 - ✓ Lima, K.M.G.; Trevisan, M.G.; Poppi, R.J.; Andrade, J.C.; Um experimento empregando espectroscopia no infravermelho próximo e quimiometria para alunos de graduação. In: Encontro Nacional de Química Analítica, 2005, Niterói, **2005**.
 - ✓ Lima, K.M.G.; Raimundo Jr., I.M.; Pimentel, M.F. Um Sistema sensor-NIR para determinação de BTEX em águas. In: 28ª Reunião Anual da Sociedade Brasileira de Química, **2005**, Poços de Caldas.

Atividades Docentes

- ✓ Programa Estágio Docente, Auxiliar Didático, Departamento de Química, UNICAMP, 03/2005 - 08/2005. Disciplina: QA 316 (Química Analítica III). Coordenador: Prof. Dr. Ronei Jesus Poppi.

- ✓ Programa de Estágio Docente, Auxiliar Didático (Nível C), Departamento de Química, UNICAMP, 08/2006 - 12/2006. Disciplina: QA 282 (Química Clássica). Coordenador: Prof. Dr. João Carlos de Andrade.
- ✓ Programa de Estágio Docente, Auxiliar Didático (Nível C), Departamento de Química, UNICAMP, 03/2007 - 07/2007. Disciplina: QA 213 (Química II). Coordenador: Prof. Dr. Ivo. M. Raimundo Jr.

Produtos Tecnológicos

Da Silva, V.L.; Pimentel, M.F.; Lima, K.M.G.; Rohwedder, J.J.R.; Albuquerque, J.S.; Pasquini, C.; Raimundo Jr., I.M.; Dispositivo sensor óptico com fase sensora de silicóna para a determinação de hidrocarbonetos. Instituto Nacional da Propriedade Industrial (INPI), nº 018050002062.

Textos em Jornais de Notícias/Revista

Lima, K.M.G.; Raimundo Jr., I.M.; Sensores detectam e monitoram a contaminação de águas subterrâneas. Jornal da UNICAMP, **2004**, 11, 274.

RESUMO

SENSORES ÓPTICOS E INSTRUMENTAÇÃO PARA DETERMINAÇÃO DE CONTAMINANTES EM ÁGUAS

Este trabalho descreve o desenvolvimento de sensores ópticos para determinação de benzeno, tolueno, etilbenzeno e xilenos (BTEX) e de íons metálicos em águas. Para a determinação de BTEX, monolitos de polidimetilsiloxano (PDMS) foram colocados dentro de um frasco preenchido com soluções aquosas dos compostos BTEX por um determinado tempo. Em seguida, a fase sensora era removida da solução, seca rapidamente e inserida num sistema de medidas, empregando-se um espectrofotômetro FT-NIR. Limites de detecção de 0,079; 0,12; 0,14 e 0,28 mg L⁻¹ para benzeno, tolueno, etilbenzeno e xilenos foram alcançados. A fase sensora foi aplicada a amostras de águas contaminadas por gasolina, quantificando teores de BT (benzeno e tolueno) sem diferença estatística, no nível de 95% de confiança, comparada a técnica GC-FID. A fase sensora também foi usada na determinação simultânea de BTX. Valores de RMSEP (raiz quadrada do erro médio quadrático de previsão) de 0,57 mg L⁻¹ para benzeno, 2,21 mg L⁻¹ para tolueno e 1,23 mg L⁻¹ para xilenos foram alcançados. Um fotômetro no infravermelho próximo baseado em LED (diodos emissores de luz) para a determinação de BTEX total foi desenvolvido. O instrumento desenvolvido opera com dois LED, um fotodiodo, um sistema de fibras ópticas para captação da radiação, célula de transmissão e um programa em Visualbasic.Net para controle e aquisição de dados. O instrumento pode ser uma alternativa viável, de baixo custo para a determinação de BTEX total em águas. Foi avaliado o comportamento do novo reagente luminescente di(hexaflúorofosfato) de bis(1,10-fenantrolina)(2-(1H-imidazo[4,5-f][1,10]fenantrolina)Rutênio (II), abreviadamente [Ru(phen)₂iip](PF₆)₂, no desenvolvimento de um sensor óptico para a determinação de íons metálicos em águas. A imobilização do reagente em matrizes poliméricas revelou que o sensor óptico é seletivo ao íon Cu(II), apresentando limite de detecção 32 µg L⁻¹. O novo complexo de rutênio (II) foi aplicado numa determinação simultânea dos íons metálicos Cu(II) e Hg(II) em solução aquosa, alcançando valores de RMSEP de 2,12 µg L⁻¹ e 0,95 µg L⁻¹, respectivamente.

ABSTRACT

OPTICAL SENSORS AND INSTRUMENTATION FOR DETERMINATION OF CONTAMINANTS IN WATER

This work describes the development of optical sensors for determination of benzene, toluene, ethylbenzene and xylenes (BTEX) and metal ions in water. For the determination of BTEX, monoliths of polydimethylsiloxane (PDMS) were inserted into a bottle filled with aqueous solutions of BTEX compounds for a pre-defined period of time. Afterwards the sensing phase was removed from the solution, dried and placed in the detection system of an FT-NIR spectrophotometer. Detection limits of 0.079, 0.12, 0.14 and 0.28 mg L⁻¹ for benzene, toluene, ethylbenzene and xylenes, respectively, have been achieved. The sensing phase was applied to the determination of benzene and toluene in water samples contaminated by gasoline, providing results that did not show statistical differences from those obtained by GC-FID at a confidence level of 95%. The sensing phase was also applied to the simultaneous determination of BTX in contaminated water, providing RMSEP values (root mean square error of prediction) of 0.57 mg L⁻¹ for benzene, 2.21 mg L⁻¹ for toluene and 1.23 mg L⁻¹ for xylenes. A near infrared photometer based on LED (light emitting diodes) for the determination of total BTEX was developed. The instrument operates with two LED as light sources and a photodiode as detector, a transmission cell connected to an optical fiber bundles; a VisualBasic.Net program was written for control and data acquisition. The instrument performance indicated that it can be a feasible and low cost alternative for the determination of total BTEX in water. Finally, it was evaluated the performance of the new luminescent reagent bis(1,10-phenanthroline)(2-(1H-imidazol-2-yl)-1H-imidazo[4,5-f][1,10]phenanthroline)ruthenium(II) di(hexafluorophosphate) for the development of an optical sensor for the determination of metal ions in water. The immobilization the reagent in the polymeric matrices showed that the optical sensor is selective to Cu (II) ion, providing a detection limit of 32 µg L⁻¹. The new complex of ruthenium (II) was also applied to the simultaneous determination of Cu (II) and Hg (II) in aqueous solution, showing RMSEP values 2.12 µg L⁻¹ and 0.95 µg L⁻¹, respectively.

SUMÁRIO

	Página
LISTA DE ABREVIATURAS	xxi
LISTA DE TABELAS	xxiv
LISTA DE FIGURAS	xxvi
PREFÁCIO	1
CAPÍTULO I	
Sensor Óptico e Instrumentação para Determinação de BTEX em Águas no Infravermelho Próximo	3
I.1. Introdução	5
I.1.1. A Contaminação de Águas Subterrâneas por Hidrocarbonetos BTEX	5
I.1.2. Técnicas Analíticas para Determinação de BTEX em Águas	7
I.1.3. A Espectroscopia no Infravermelho Próximo	14
I.1.3.1. Princípios da Espectroscopia no Infravermelho Próximo	16
I.1.3.2. Instrumentos Portáteis no Infravermelho Próximo Baseados em LED	22
I.2. Objetivos	29
I.3. Experimental	30
I.3.1. Reagentes e Soluções	30
I.3.2. Preparação da Amostra	30
I.3.3. Preparação do monolito de PDMS	30
I.3.4. Instrumentação	31
I.3.5. Procedimento Experimental	32
I.3.6. Conjuntos de Calibração e Validação	33
I.3.7. Calibração Multivariada	34
I.3.8. Determinação de BTEX por Cromatografia Gasosa	35
I.3.9. Fotômetro NIR Baseado em LED	35

I.3.9.1. Fonte de Alimentação	35
I.3.9.2. Arranjo dos LED	36
I.3.9.3. Captação da Radiação NIR	36
I.3.9.4. Circuito Eletrônico do Fotômetro	36
I.3.9.4.1. Acionamento dos LED	36
I.3.9.4.2. Detector	37
I.3.9.5. Padronização dos Sinais dos LED	38
I.3.9.6. Interface e Aquisição de Dados	38
I.3.9.7. Cálculo das Absorbâncias e Visão do Fotômetro NIR	39
I.4. Resultados e Discussão	42
I.4.1. Estudos Preliminares	42
I.4.1.1. A Presença da Banda O–H	42
I.4.1.2. Tempo de Extração dos BTEX	43
I.4.1.3. Tempo de Resposta	44
I.4.1.4. Regeneração da Fase Sensora	45
I.4.1.5. Sistemas de Medida	46
I.4.2. Otimização do Sensor Óptico para Determinação de BTEX em Águas	47
I.4.2.1. Considerações Espectroscópicas	47
I.4.2.2. Posicionamento da Fase Sensora	48
I.4.2.3. Repetibilidade das Medidas	49
I.4.2.4. Precisão das Medidas	51
I.4.2.5. Tamanho da Fase Sensora	51
I.4.2.6. O Efeito <i>Salting Out</i>	52
I.4.2.7. Limite de Detecção	54
I.4.3. Célula Sem Fibras Ópticas	55
I.4.4. Amostras de Água Contaminadas por Gasolina	57
I.4.5. Determinação Simultânea de BTX Empregando o Sensor Óptico	60
I.4.6. Construção e Avaliação do Fotômetro	64
I.4.6.1. Escolha de LED para o Fotômetro no Infravermelho	64

Próximo	
I.4.6.2. Espectros de Emissão e Perfis de Resposta dos LED em Função do Número de Leituras	65
I.4.6.3. LED Empregados para Aplicação do Fotômetro	68
I.4.6.4. Posicionamento da Fase Sensora	69
I.4.6.5. Precisão	69
I.4.6.6. Sensibilidade	70
I.4.6.7. Amostra de Água Contaminada por Gasolina	72
CAPÍTULO II	
Sensor Óptico para Determinação de Íons Metálicos em Águas	75
II.1. Introdução	77
II.1.1. Contaminações de Íons Metálicos no Meio Ambiente	77
II.1.2. Técnicas Analíticas para Determinação de Íons Metálicos em Águas	78
II.1.3. Sensores Químicos de Fibras Ópticas	80
II.1.4. Optodos para Determinação de Íons Metálicos em Águas	83
II.1.5. Complexos de Rutênio (II)	88
II.2. Objetivos	90
II.3. Experimental	91
II.3.1. Reagentes e Soluções	91
II.3.2. Suporte para Membranas	92
II.3.3. Imobilização em Sol-Gel	92
II.3.4. Imobilização em Membranas Poliméricas	93
II.3.5. Instrumentação Analítica	94
II.3.6. Sistema de Medida	94
II.3.7. Procedimento Experimental	95
II.3.8. Análise Multicomponente em Solução	96
II.3.8.1. Determinação Simultânea de Cu(II) e Hg(II)	96
II.4. Resultados e Discussão	97

II.4.1. Novo Complexo Fluorescente: Molécula [Ru(phen) ₂ iip](PF ₆) ₂	97
II.4.1.1. Estrutura Molecular	97
II.4.1.2. Espectros de Absorção e Emissão	98
II.4.1.3. Resposta em Função dos Íons Metálicos	99
II.4.1.4. Constantes de Equilíbrio entre Metal-Ligante	101
II.4.1.5. Determinação Simultânea de Cu(II) e Hg(II) em	102
Solução aplicando-se Métodos de Calibração Multivariada	
II.4.2. Sensor Óptico para Determinação de Íons Metálicos em Água	107
II.4.2.1. Imobilização em Sol-Gel	107
II.4.2.1.1. Resposta a Íons Metálicos	107
II.4.3.1. Imobilização em Membranas Poliméricas	108
II.4.3.1.1. Resposta a Diferentes Íons Metálicos	108
II.4.3.2. Otimização do Sensor Óptico	110
II.4.3.2.1. Efeito do pH	110
II.4.3.2.2. Efeito da Força Iônica	111
II.4.3.2.3. Efeito do Volume e Tempo de Resposta	112
II. 4.3.2.4. Curva Analítica	113
II. 4.3.2.5. Precisão	113
II. 4.3.2.6. Estudo de Interferentes	114
II. 4.3.2.7. Limite de Detecção	115
 CAPÍTULO III	 117
Conclusões e Perspectivas	
 CAPÍTULO IV	 123
Referências	

LISTA DE ABREVIATURAS

AAS	Espectrometria de Absorção Atômica (<i>Atomic absorption spectroscopy</i>)
ABDV	2,2'-azobis-(2,4-dimetilvaleronitrila)
ANN	Redes Neurais Artificiais (<i>artificial neural network</i>)
ANP	Agência Nacional do Petróleo
ATR	Reflectância Total Atenuada (<i>Attenuated total reflection</i>)
Br-PADAP	(2-(5-bromo-2-piridilazo)5-dietilaminofenol) – (2-(5-bromo-2-pyridylaxo)-5-diethylaminophenol)
BTEX	Benzeno, Tolueno, Etilbenzeno e Xilenos
BTX	Benzeno, Tolueno e Xilenos
CP	Componentes Principais
DAI	Injeção Aquosa Direta (<i>Direct Aqueous Injection</i>)
DNR	2,4-Dinitrosoresorcinol
DPC	Difenilcarbazida – (<i>1,5-diphenylcarbazide</i>)
EDTA	Ácido Etilenodiaminotetraacético (<i>Ethylenediaminetetraacetic Acid</i>)
FUNASA	Fundação Nacional de Saúde
FT-NIR	Espectroscopia no Infravermelho Próximo com Transformada de Fourier (<i>Fourier Transform Infrared Spectroscopy</i>)
GC-FID	Cromatografia Gasosa com Ionização em Chama (<i>Gas Chromatograph - Flame Ionization Detector</i>)
GC-MS	Cromatografia Gasosa Acoplada a Espectrometria de Massa (<i>Gas Chromatography-Mass Spectrometry</i>)
GSOLFA	Grupo de Sensores Ópticos e Laboratório de Fotoquímica Aplicada
HEMA	2-Hidroxiethyl Metacrilato (<i>2-Hydroxyethyl Methacrylate</i>)
HEPES	4-(2-Hidroxiethyl)Piperazina-1-Etano-Sulfônico (<i>4-(2-Hydroxyethyl)-1-</i>

Piperazineethanesulfonic Acid)

HPLC	Cromatografia Líquida de Alta Eficiência (<i>High Performance Liquid Chromatography</i>)
ICP OES	Espectrometria de Emissão Atômica com Plasma Acoplado Indutivamente (<i>Inductively Coupled Plasma Optical Emission Spectrometer</i>)
ICP - MS	Espectroscopia de Absorção Atômica Acoplada com Espectrometria de Massas (<i>Inductively Coupled Plasma Mass Spectrometry</i>)
LD	Limite de Detecção
LED	Diodos Emissores de Luz (<i>Light Emission Diodes</i>)
MA	Metacrilamida (<i>Methacrylamide</i>)
MAA	Ácido Metacrílico (<i>methacrylic acid</i>)
MBAA	Metileno bis-acril Amida (<i>N,N-methylene-bis(Acrylamide)</i>)
MIMS	Espectrometria de Massas por Introdução por Membrana (<i>Membrane Introduction Mass Spectrometry</i>)
MIP	Polímeros de Impressão Molecular (<i>Molecularly Imprinted Polymers</i>)
MTEOS	Metiltriétoxissilano (<i>methyltriethoxysilane</i>)
NIR	Infravermelho Próximo (<i>Near Infrared</i>)
PAN	1-(2-piridilazo)2-Naftol (<i>1-(2-pyridylazo)-2-naphthol</i>)
PAR	Sal Monossódico de 4-(2-piridilazo) Resorsinol (<i>4-(2-pyridylazo(resorcinol))</i>)
PAT	Purga e Armadilha (<i>Purge and Trap</i>)
PCR	Regressão por Componentes Principais (<i>Principal Components Regression</i>)
PDMS	Polidimetilsiloxano (<i>Polydimethylsiloxane</i>)
PLS	Mínimos Quadrados Parciais (<i>Partial Least Squares</i>)
PVC	Cloreto de Polivinila (<i>Polyvinyl Chloride</i>)
RMSECV	Erro Médio Quadrático na Validação Cruzada (Root Mean Square Error of

Cross Validation)

RMSEP	Erro Médio Quadrático de Previsão para o Conjunto de Validação Externo (Root Mean Square Error of Prediction)
SBSE	Extração Sortiva em Barra de Agitação (<i>Stir Bar Sorptive Extraction</i>)
SPE	Extração em Fase Sólida (<i>Solid Phase Extraction</i>)
SPME	Micro-Extração em Fase Sólida (<i>Solid Phase Microextraction</i>)
TDMAPP	Tetra(p-dimetilaminofenil)Porfirina (<i>tetra-(4-dimethylaminophenyl)-porphyrin</i>)
TMPyP	Tetraquis-(1-metilpiridina-4-il) Porfina p-toluenosulfonato ($\alpha, \beta, \gamma, \delta$ - <i>tetrakis(4-N-methylpyridyl)porphine</i>)
UV-VIS	Ultravioleta-Visível (<i>Ultraviolet-visible</i>)

LISTA DE TABELAS

Página

CAPÍTULO I

Sensor Óptico e Instrumentação para Determinação de BTEX em Águas no Infravermelho Próximo

Tabela I.1 - Propriedades Físico-Químicas dos compostos BTEX.	5
Tabela I.2 - Comparação dos coeficientes angulares obtidos pelas curvas analíticas do tolueno para ambos sistemas de medidas: célula de transmissão com fibras ópticas e sonda de transflectância.	46
Tabela I.3 - Dados dos sinais analíticos obtidos para 20 fases sensoras.	49
Tabela I.4 - Inclinação das curvas analíticas para o tolueno em função do caminho óptico.	51
Tabela I.5 - Resultados das concentrações (mg L^{-1}) obtidas na contaminação de água com amostras de gasolina sem álcool para os BTEX.	57
Tabela I.6 - Determinação de Benzeno/tolueno total (mg L^{-1}) em águas pelo método proposto e por Cromatografia Gasosa em 3 amostras de águas contaminadas por gasolina A.	59
Tabela I.7 - Número de componentes principais escolhidos por <i>full cross validation</i> para a o benzeno, tolueno e xilenos, componentes principais (CP) e variáveis latentes (VL), RMSEP, coeficientes de correlação nas previsões das concentrações das amostras do conjunto de previsão, coeficiente linear e angular nas modelagens PLS e PCR para BTX.	61
Tabela I.8 - Resultados obtidos na determinação de BTX total em águas, empregando-se diferentes estratégias.	63
Tabela I.9 - Comprimentos de onda nos picos de emissão e larguras de banda a meia altura para os LED empregados no fotômetro.	66
Tabela I.10 - Comparação dos coeficientes angulares obtidos pelas curvas analíticas do benzeno e tolueno para ambos os instrumentos de medidas:	71

espectrofotômetro e fotômetro em 1689 nm.

Tabela I.11 - Determinação de Benzeno/tolueno total (mg L^{-1}) em águas por diferentes instrumentos em 1689. 72

CAPÍTULO II

Sensor Óptico para Determinação de Íons Metálicos em Águas

Tabela II.1 - Constantes de equilíbrio obtidas a partir de modelos baseados nos espectros de absorção e fluorescência para o Cu(II) e para o Hg(II). K_{11} representa a constante de equilíbrio do complexo ML, K_{12} representa a constante de equilíbrio do complexo ML_2 e K_{21} representa a constante de equilíbrio do complexo M_2L . 99

Tabela II.2 - Estudo da precisão do sensor calculada para as soluções de Cu(II) em $2,5 \times 10^{-4}$, $5,0 \times 10^{-5}$ e $7,5 \times 10^{-5} \text{ mol L}^{-1}$, respectivamente. 111

Tabela II.3 - Efeito de distintas espécies interferentes sobre a resposta do sensor a uma solução de Cu(II) $5,0 \times 10^{-5} \text{ mol L}^{-1}$. 111

LISTA DE FIGURAS

Página

CAPÍTULO I

Sensor Óptico e Instrumentação para Determinação de BTEX em Águas no Infravermelho Próximo

- Figura I.1** - Função de Potenciais Harmônicos para um oscilador diatômico 16
- Figura I.2** - Função de Potenciais Harmônicos (--) e Anarmônicos (-) para um oscilador diatômico. 19
- Figura I.3** - Transições entre níveis vibracionais. 20
- Figura I.4** - Analisador portátil para determinação da octanagem da gasolina: (a) seleção do parâmetro; (b) Posicionamento do recipiente e amostra; (c) Impressão do número de octanagem em 20 segundos. 23
- Figura I.5** - O TWmeter: (a) Dimensões do instrumento, 10 cm x 19 cm x 5 cm e pesando 364 gramas; (b) Visão do botão mostrando a porta de reflectância e quatro baterias AA. 23
- Figura I.6** - (a) Instrumento comercial para detecção de células cancerígenas do peito; (b) instrumento desenvolvido pelos autores [51] para a mesma aplicação. 25
- Figura I.7** - Instrumento para determinação do teor de álcool em vinhos baseado em LED na região do NIR 26
- Figura I.8** - Fases sensoras de PDMS cortadas em diferentes tamanhos (2 mm, 5 mm e 10 mm). Diâmetro de 3,2 mm. 30
- Figura I.9** - Ilustração dos sistemas sensor-NIR a) Sonda de transflectância com a fase sensora de PDMS; b) Cella de acrílico usada para medidas de absorbância empregando fibras ópticas; c) Cella de acrílico usada para medidas de absorbância na ausência de fibras ópticas. 31
- Figura I.10** - Circuito eletrônico do fotômetro NIR para o acionamento dos LED. 36
- Figura I.11** - Circuito eletrônico construído para o condicionamento do sinal

do detector de InGaAs.	37
Figura I.12 - Interface ao usuário para o programa de controle do fotômetro: A) Comandos para controlar o tempo de aquisição de dados; B) Aciona os LED para leitura da amostra; C) Aciona os LED para o sinal de referência e sinal do escuro. D) Realiza o cálculo da absorvância; E) Gráfico dos sinais.	38
Figura I.13 - Visão geral do fotômetro NIR: 1) Disposição dos LED e dos feixes de fibras ópticas; 2) Fonte de alimentação; 3) Circuito eletrônico para acionamento dos LED e amplificação do sinal; 4) Cella de transmissão juntamente com a fase sensora de PDMS. 5) Interface USB para aquisição de dados.	40
Figura I.14 - Espectros NIR usando a fase sensora de PDMS em soluções aquosas de tolueno 300 mg L ⁻¹ preparadas em água e metanol 1%, após 60 min de extração empregando-se a sonda de transflectância com caminho óptico de 5 mm.	42
Figura I.15 - Sinal analítico em função do tempo obtido com solução aquosa de tolueno em 400 mg L ⁻¹ (caminho óptico de 5 mm em 2165 nm).	43
Figura I.16 - Comparação entre os tempos de resposta do sensor para os hidrocarbonetos aromáticos empregando-se a sonda de transflectância, caminho óptico de 5 mm, água e 2165 nm.	44
Figura I.17 - Estudos de reversibilidade da fase sensora em duas soluções aquosas de tolueno (50 e 200 mg L ⁻¹) e em ar.	45
Figura I.18 - Espectros NIR usando a fase sensora de PDMS de soluções aquosas de: (a) benzeno; (b) tolueno, (c) etilbenzeno; (d) xilenos. Tempo de 60 min em 80 mg L ⁻¹ .	47
Figura I.19 - Espectros do benzeno, tolueno, etilbenzeno e xilenos obtidos após a extração de uma solução 80 mg L ⁻¹ (caminho óptico de 2,0 mm, tempo de extração de 60 min e célula com fibras ópticas).	48
Figura I.20 - Espectros NIR das 20 fases sensoras de PDMS empregando-se um caminho óptico de 2 mm na célula de transmissão com fibras ópticas.	49
Figura I.21 - Construção de três curvas analíticas obtidas para o tolueno, em	

dias diferentes, na água e em 1675 nm, empregando-se uma fase sensora de 2 mm, 60 minutos de extração e célula com fibras ópticas.	50
Figura I.22 - Curvas analíticas para tolueno obtidas após sua extração em água, NaCl 2,0 mol L ⁻¹ com e sem <i>headspace</i> (caminho óptico de 2,0 mm, extração por 60 min, 2165 nm e célula com fibras ópticas).	52
Figura I.23 - Sinais de absorbância para medidas realizadas em 2165 nm com uma solução 400 mg L ⁻¹ de tolueno em função da concentração de NaCl empregando-se uma fase sensora de 2 mm com a célula de fibras ópticas.	52
Figura I.24 - Curvas analíticas obtidas em 2 mol L ⁻¹ NaCl para benzeno, tolueno, etilbenzeno e xilenos empregando-se a célula de transmissão com fibras ópticas num caminho óptico de: (a) 2 mm; (b) 5 mm.	54
Figura I.25 - Curvas analíticas obtidas em 2 mol L ⁻¹ NaCl para benzeno, tolueno, etilbenzeno e xileno empregando-se a célula de transmissão na ausência de fibras ópticas com 2 mm de caminho óptico e 60 min.	55
Figura I.26 - Comparação de curvas analíticas obtidas em 2 mol L ⁻¹ NaCl e 2 mm de caminho óptico para tolueno empregando-se a célula de transmissão com fibras ópticas e sem fibras.	56
Figura I.27 - (a) Espectros do benzeno e tolueno obtidos após a extração de diferentes concentrações (caminho óptico de 5,0 mm, tempo de extração de 60 min, 2 mol L ⁻¹ NaCl, célula com fibras ópticas); (b) Curva analítica obtida para a extração dos compostos benzeno e tolueno (BT total) em diferentes concentrações.	58
Figura I.28 - Espectro NIR da água contaminada por gasolina A obtidos com a fase sensora (caminho óptico de 5,0 mm, tempo de extração de 60 min, 2 mol L ⁻¹ NaCl e célula de transmissão).	58
Figura I.29 - (a) Conjunto de 57 espectros NIR da mistura BTX; (b) Espectro NIR da 1 ^a derivada (Savitzky Golay, janela de 21 pontos) das 57 misturas dos compostos BTX. (caminho óptico de 5,0 mm, NaCl 2 mol L ⁻¹ , extração por 60 min e célula com fibras ópticas).	60
Figura I.30 - Resultados comparativos na determinação da concentração de	

BTX e BTX total a partir do modelo PLS empregando-se um conjunto externo (●) e um conjunto de calibração (○). Caminho óptico de 5,0 mm, NaCl 2 mol L ⁻¹ , extração por 60 min e célula com fibras ópticas.	62
Figura I.31 - Gráfico dos coeficientes de regressão obtidos pelo modelo PLS para cada um dos casos estudados. (a) benzeno; (b) tolueno; (c) xilenos; (d) BTX total. Caminho óptico de 5,0 mm, NaCl 2 mol L ⁻¹ , extração por 60 min e célula com fibras ópticas.	64
Figura I.32 - Espectros de emissão de seis LED normalizados na região NIR.	65
Figura I.33 - Perfil de intensidade vs leituras para LED com emissão em 1689 nm.	66
Figura I.34 - Construção de três curvas analíticas obtidas para o tolueno, em dias diferentes, extração de 60 minutos, NaCl 2 mol L ⁻¹ , empregando-se uma fase sensora de 5 mm.	69
Figura I.35 - Comparação de curvas analíticas obtida para os benzeno (a) e tolueno (b) construídas pelo fotômetro e espectrofotômetro empregando-se uma fase sensora de PDMS contendo caminho óptico de 5 mm, 2 mol L ⁻¹ NaCl e tempo de extração de 60 minutos.	70

CAPÍTULO II

Sensor Óptico para Determinação de Íons Metálicos em Águas

Figura II.1 - Configurações usuais de sensores químicos de fibras ópticas para medidas de: (a) reflectância; (b) transmitância e (c) ondas evanescentes.	79
Figura II.2 - Fotografia do complexo de rutênio [Ru(phen) ₂ iip](PF ₆) ₂ imobilizado em sol-gel suportado sobre um vidro.	90
Figura II.3 - Fotografia da fase sensora polimérica contendo o complexo de rutênio [Ru(phen) ₂ iip](PF ₆) ₂ suportado sobre uma lamínula de vidro.	91
Figura II.4 - (a) Representação do sistema de medida. (b) célula de medida de fluorescência. A célula possui compartimento para duas fases sensoras, mas apenas um foi utilizado.	92

Figura II.5 - Estrutura bidimensional do cátion $[\text{Ru}(\text{phen})_2\text{iip}](\text{PF}_6)_2^{2+}$.	95
Figura II.6 - Espectros de absorção UV-VIS (a) e de emissão (b) ($\lambda_{\text{exc}} = 450$ nm, fendas 10/10 nm) do complexo $[\text{Ru}(\text{phen})_2\text{iip}](\text{PF}_6)_2$ $1,0 \times 10^{-5}$ mol L ⁻¹ em solução aquosa.	96
Figura II.7 - Espectros de absorção UV-VIS do complexo $[\text{Ru}(\text{phen})_2\text{iip}](\text{PF}_6)_2$ $1,0 \times 10^{-5}$ mol L ⁻¹ em solução aquosa em função de diferentes íons metálicos realizadas em tampão fosfato 50×10^{-3} mol L ⁻¹ , pH 7,0.	97
Figura II.8 - Efeito da supressão de fluorescência dos íons metálicos (50×10^{-6} mol L ⁻¹) no complexo $[\text{Ru}(\text{phen})_2\text{iip}](\text{PF}_6)_2$ ($1,0 \times 10^{-6}$ mol L ⁻¹ e $\lambda_{\text{exc}} = 450$ nm, fendas 10/10 nm) em 605 nm realizadas em tampão fosfato 50×10^{-3} mol L ⁻¹ , pH 7,0.	98
Figura II.9 - Espectros de absorção das misturas (a) e de emissão (b) ($\lambda_{\text{exc}} = 450$ nm, fendas 10/10 nm) das 21 misturas sugeridas pelo planejamento Doehlert.	101
Figura II.10 - Correlação entre os valores previstos e os valores experimentais para o conjunto de validação externa do modelo com duas variáveis latentes para o íon Cu(II) (a) e três variáveis latentes para o íon Hg(II).	102
Figura II.11 - Correlação entre os valores previstos e os valores experimentais para o conjunto de validação externa do modelo com duas variáveis latentes para: (a) Cu(II) e (b) Hg(II).	103
Figura II.12 - a) Espectros de emissão do reagente imobilizado em sol-gel ($\lambda_{\text{exc}} = 457$ nm, fendas 15/20 nm); b) Primeira derivada Savitzky-Golay (janela 11 pontos) dos espectros de emissão. Volume de metais passados pela célula de medidas foi de 10 mL e soluções de EDTA ($0,1$ mol L ⁻¹), para regeneração da membrana.	104
Figura II.13 - a) Espectros de emissão da membrana polimérica contendo o complexo de rutênio; b) Gráfico das intensidades de fluorescência medido em 605 nm. Volume de íons metálicos passados pela célula de medidas foi de 10 mL. Espectros de emissão ($\lambda_{\text{exc}} = 457$ nm, fendas 15/20 nm).	106

- Figura II.14** - Intensidade de fluorescência em função do pH em duas concentrações do tampão: (a) 0,1 mol L⁻¹ e (b) 0,001 mol L⁻¹. Espectros de emissão ($\lambda_{exc} = 457$ nm, fendas 15/20 nm). 107
- Figura II.15** - Representação gráfica do sinal de emissão (605 nm) da fase sensora em função da quantidade de NaCl adicionada a uma solução tampão fosfato (1,0 x 10⁻¹ mol L⁻¹). Espectros de emissão ($\lambda_{exc} = 457$ nm, fendas 15/20 nm). 108
- Figura II.16** - (a) Efeito do volume da solução de Cu(II) (1.0 x 10⁻³ mol L⁻¹) passado pela célula de medidas em função da intensidade relativa de fluorescência. (b) Espectros de emissão ($\lambda_{exc} = 457$ nm, fendas 15/20 nm). 109
- Figura II.17** - (a) Resposta do sensor a distintas soluções de Cu(II) em água; (b) Curva Analítica realizado com o sensor óptico. Espectros de emissão ($\lambda_{exc} = 457$ nm, fendas 15/20 nm). 110

PREFÁCIO

Este trabalho descreve a aplicação de sensores ópticos para a determinação de contaminantes orgânicos (benzeno, tolueno, etilbenzeno e xilenos, conhecidos como BTEX) e inorgânicos (íons metálicos, tais como Cu(II), Hg(II)) em águas. A disponibilidade de novas estratégias para determinação destes compostos, de interesse ambiental em águas, constitui uma alternativa viável nos dias atuais.

A tese, em seu primeiro capítulo, versa sobre o desenvolvimento de um método analítico para determinação de BTEX, em águas, utilizando uma fase sensora constituída de polidimetilsiloxano (PDMS), com detecção na região do infravermelho próximo (NIR). A presença desses compostos em águas tem sido reavaliada de forma contínua e a disponibilidade de novos métodos para determinação desses compostos é necessária nos dias atuais. Ainda neste capítulo, é descrita a construção e o desenvolvimento de um fotômetro portátil baseado em diodos emissores de luz (LED), empregando a fase sensora de PDMS, para determinação de BTEX em águas contaminadas por gasolina. Instrumentos portáteis baseados em LED representam uma tendência na instrumentação analítica nos últimos anos, devido, principalmente, ao valor reduzido na sua confecção quando comparados aos comerciais.

Em seu segundo capítulo é descrito o desenvolvimento de um sensor óptico para determinação de íons metálicos em águas, utilizando um novo reagente luminescente bis(1,10-fenantrolina)(2-2`imidazolimidazol[4,5-f]Rutênio (II) bis hexafluorofosfato, abreviadamente $[\text{Ru}(\text{phen})_2\text{iip}](\text{PF}_6)_2$. Foram empregados diferentes procedimentos para imobilização do reagente luminescente, sendo suas figuras de mérito (tempo de resposta, intervalo dinâmico, precisão e limites de detecção) avaliadas em medidas de fluorescência. Além disso, um método para determinação simultânea de Cu(II) e Hg(II) utilizando o novo complexo foi desenvolvido empregando-se métodos de calibração multivariadas.

No terceiro capítulo, são apresentadas as conclusões finais e perspectivas da tese. E, por último, no quarto capítulo, são apresentadas as referências citadas durante o decorrer do trabalho.

CAPÍTULO I

Sensor Óptico e Instrumentação para Determinação de BTEX em Águas no Infravermelho Próximo

Sonho de Kekulé: “Virei minha cadeira para o fogo e cochilei. Novamente os átomos estavam saltando diante dos meus olhos. Nessa hora, os grupos menores mantinham-se modestamente no fundo. Meu olho mental, que se tornara mais aguçado pelas visões repetidas do mesmo tipo, podia agora distinguir estruturas maiores de conformações múltiplas: fileiras longas, às vezes mais apertadas, todas juntas, emparelhadas e entrelaçadas em movimento como o de uma cobra. Mas veja! O que era aquilo? Uma das cobras havia agarrado sua própria cauda, e essa forma girava zombeteiramente diante dos meus olhos. Acordei como se por um raio de luz; e então, também passei o resto da noite desenvolvendo as conseqüências da hipótese.” (Benfey, Journal of Chemical Education, vol.35, 1958, p.21).

I.1. - Introdução

I.1.1. - A Contaminação de Águas Subterrâneas por Hidrocarbonetos BTEX

Nas últimas décadas, o aumento populacional e o conseqüente aumento das atividades industriais têm contribuído para o agravamento dos problemas ambientais, principalmente com respeito à preservação das águas superficiais e subterrâneas. Em função deste fato, a legislação vem se tornando cada vez mais restritiva e a fiscalização, mais presente. Entretanto, relatos de despejos de toneladas de resíduos em córregos, rios e mares são ainda bastante freqüentes em todo o mundo [1].

A contaminação de solos e águas subterrâneas por BTEX (benzeno, tolueno, etilbenzeno e xilenos) ocorre principalmente devido a vazamentos, derrames e acidentes durante a exploração, refino, transporte e operações de armazenamento do petróleo e seus derivados. Os maiores problemas de contaminação são atribuídos a estes hidrocarbonetos monoaromáticos, que são os constituintes dos combustíveis derivados do petróleo mais solúveis em água e, portanto, com alta mobilidade no meio ambiente. Quando ocorre, por exemplo, um derramamento de gasolina, uma das principais preocupações é a contaminação de aquíferos que são usados como fonte de abastecimento de água para o consumo humano. Por ser pouco solúvel em água, a gasolina derramada, contendo mais de uma centena de poluentes, inicialmente estará presente no subsolo como fase livre não aquosa. Em contato com a água, os compostos BTEX se dissolverão parcialmente, sendo os primeiros contaminantes a atingir o lençol freático. [2].

Os valores máximos permitidos para os diferentes hidrocarbonetos monoaromáticos, de acordo com o estabelecido pela Portaria 518/2004 do Ministério da Saúde (FUNASA, 2004) são 0,005 mg L⁻¹ para o benzeno, 0,17 mg L⁻¹ para o tolueno, 0,2 mg L⁻¹ para o

etilbenzeno e $0,3 \text{ mg L}^{-1}$ para o xileno [3]. Esses compostos são poderosos depressores do sistema nervoso central, apresentando toxicidade crônica, mesmo em pequenas concentrações. O benzeno é reconhecidamente o mais tóxico dos quatro, tratando-se de uma substância comprovadamente carcinogênica, podendo causar leucemia, ou seja, câncer dos tecidos que formam os linfócitos do sangue, se ingerido, mesmo em baixas concentrações, durante períodos de tempo não muito longos. Uma exposição aguda (altas concentrações em períodos curtos) por inalação ou ingestão pode causar até mesmo a morte de uma pessoa. [4].

A Tabela I.1 apresenta as principais características dos compostos BTEX.

Tabela I.1: Propriedades Físico-Químicas dos compostos BTEX

Propriedades	Benzeno	Tolueno	<i>m</i> -Xileno	<i>o</i> -Xileno	<i>p</i> -Xileno	Etilbenzeno
Fórmula Química	C_6H_6	C_7H_8	C_8H_{10}	C_8H_{10}	C_8H_{10}	C_8H_{10}
Massa molar (g mol^{-1})	78	92	106	106	106	106
Solubilidade em água (mg L^{-1})	1700	515	160	180	198	152
Pressão de vapor (em 20°C) (mm Hg)	95,2	28,4	-	6,6	-	9,5
Densidade específica (em 20°C) (g mL^{-1})	0,878	0,866	0,864	0,8802	0,861	0,867
Coefficiente de partição água-octanol (em 20°C) ($\log K_{ow}$)	2,13	2,69	3,20	2,77	3,15	3,15
Constante de Henry (em 25°C) ($\text{kPa m}^3 \text{ mol}^{-1}$)	0,55	0,67	0,70	0,50	0,71	0,80
Ponto de Ebulição ($^\circ\text{C}$)	80,1	109,6-111,6	139	143-145	138	136

Fonte: [5].

Vazamentos em postos de combustíveis provocam graves problemas ao meio ambiente, principalmente com respeito à contaminação de águas subterrâneas. No Brasil, existem aproximadamente 32 000 postos de gasolina [6]. No ano de 2007, o consumo de álcool, gasolina e diesel no país foi de 9, 97,25 e 41,43 bilhões de litros, respectivamente, sendo que este elevado número de postos significa um risco tanto para o meio ambiente como para a população circunvizinha, pois podem ocorrer acidentes sérios, como derrames durante a transferência de combustível para os tanques subterrâneos, vazamentos devido à corrosão interna e/ou externa nestes tanques ou até mesmo devido aos erros operacionais de manutenção e de montagem.

A gasolina comercializada no Brasil é bastante diferenciada de outros países, pois contém em sua composição 25% de etanol. Deste modo, as interações entre o etanol e os compostos BTEX podem causar um comportamento completamente diferente, no deslocamento da pluma, em relação aquele observado em países que utilizam gasolina pura. Os três aspectos principais que podem afetar o comportamento dos hidrocarbonetos monoaromáticos benzeno, tolueno, etilbenzeno e xilenos em sistemas subsuperficiais em presença de etanol são o aumento da solubilidade dos BTEX em água; a possibilidade do aumento da mobilidade dos BTEX dissolvidos na água subterrânea; a possibilidade de que a presença do etanol possa dificultar a biodegradação natural dos BTEX, aumentando a persistência destes compostos na água subterrânea [7].

Em vista da elevada toxicidade dos compostos monoaromáticos (BTEX) e da constante preocupação ambiental em relação a acidentes, torna-se importante o desenvolvimento de métodos analíticos simples e eficientes para determiná-los.

I.1.2. – Técnicas Analíticas para Determinação de BTEX em Águas

A determinação de BTEX em águas é frequentemente baseada em técnicas cromatográficas de separação sendo que a mais empregada para a quantificação desses

compostos é a cromatografia em fase gasosa, pois oferece inúmeras vantagens, entre elas, elevadas resolução e seletividade, boa precisão e exatidão, elevada sensibilidade, alta eficiência na introdução da amostra, baixo ruído de fundo devido à elevada pureza do gás inerte empregado como fase móvel e possibilidade de emprego de padrão interno. No entanto, o sucesso da análise química para esses tipos de compostos consiste na etapa de extração ou pré-concentração da amostra. Essa etapa é responsável pelas maiores fontes de erros, como perdas do analito, contaminações pelo ambiente, extrações incompleta do analito da amostra e alto consumo de tempo.

Devido a sua elevada sensibilidade, a técnica PAT (do inglês, “purge and trap”) é a mais empregada na pré-concentração de BTEX em amostras aquosas [8]. A vantagem inclui, além da sensibilidade, a elevada precisão e possibilidade de automação. Quando aplicado à cromatografia gasosa acoplada a espectrometria de massas permite detectar um grande número de compostos em uma simples corrida. No entanto, a técnica possui um custo relativamente alto, oferecendo dificuldades para o monitoramento em campo.

A técnica extração em fase sólida-SPE (do inglês, “solid phase extraction”) tem sido frequentemente empregada para a extração de hidrocarbonetos de águas contaminadas, dentre eles os BTEX, com concomitante pré-concentração [9]. Para análise, os compostos sorvidos pela fase sólida são extraídos em um pequeno volume de um solvente orgânico adequado, que é, então, injetado no cromatógrafo a gás ou a líquido. Essa técnica apresenta sérios problemas para análise de compostos orgânicos voláteis em águas. Um deles é a perda por volatilidade dos compostos mais voláteis devido às várias etapas na extração. Outro, é a etapa de dessorção do analito aprisionado no cartucho de SPE: ou empregam-se volumes razoáveis de solvente ou emprega-se a dessorção térmica, que requer equipamento especial, geralmente de elevado custo. Outra limitação da SPE tem sido a grande variabilidade na qualidade dos adsorventes de um fabricante para outro, modificando assim a seletividade da técnica. Assim, a mudança de marca de fabricante, mesmo empregando o mesmo tipo de fase estacionária, geralmente demandará adaptações nos volumes dos

solventes para que o método funcione adequadamente. Por isso, essa mudança geralmente requer uma validação do método com todas as suas conseqüências (principalmente econômicas e de tempo).

As técnicas analíticas que não empregam solventes na preparação de amostras estão ganhando cada vez mais aceitação. Uma dessas técnicas é conhecida como DAI (do inglês, “direct aqueous injection”) que elimina as etapas de pré-tratamento e pré-concentração, pois as amostras são injetadas diretamente dentro do dispositivo de injeção do cromatógrafo, minimizando assim as perdas dos analitos por volatilização e as possibilidades de contaminação da amostra. Uma das maiores desvantagens dessa técnica é que a água não é compatível com o filme estacionário das colunas capilares, comprometendo assim a durabilidade das mesmas. Trabalhos relacionados a determinação de BTEX em águas empregando-se esta técnica podem ser encontrados no trabalho de Kubinec e colaboradores [10].

Uma das técnicas mais utilizadas na etapa de extração dos compostos orgânicos voláteis é a técnica por *Headspace* [11,12]. Nesta técnica, o analito deve ser, necessariamente, mais volátil que a matriz, volatilizando-se preferencialmente, podendo ser determinado sem os interferentes dos outros componentes da amostra, pela análise do vapor desprendido. A principal característica da técnica é a possibilidade da determinação de componentes voláteis da amostra a ser estudada de forma direta. As principais vantagens são: (i) não possui altos custos; (ii) não exige instrumentação complexa; (iii) não necessita do uso de solventes. Além disso, a técnica é significativamente eficiente, pois possibilita a introdução da amostra sem pré-tratamento no cromatógrafo a gás. A principal desvantagem está relacionada com as baixas sensibilidades quando comparadas com outros métodos de análise.

Um avanço recente na análise de BTEX e outros compostos orgânicos em águas é a utilização da micro extração em fase sólida-SPME (do inglês, “solid phase microextraction”). A primeira descrição da técnica SPME foi dada por Arthur e

colaboradores [13] e, desde então, essa técnica passou por um rápido desenvolvimento devido à sua simplicidade, rapidez, ausência de solventes, baixo custo e vasto campo de aplicação como alternativa as metodologias tradicionais [14,15]. A técnica consiste na exposição da fibra na amostra em solução ou ao seu espaço confinante (“headspace”) a fim de sorver os analitos contidos na amostra na camada de recobrimento da fibra; os materiais extraídos são transferidos da fibra para um instrumento analítico adequado para a sua separação, identificação e quantificação. Frequentemente, a cromatografia gasosa é a técnica instrumental empregada para as etapas de identificação e quantificação que se seguem à extração por SPME, onde a fibra pode ser introduzida diretamente no injetor aquecido do cromatógrafo, sendo os analitos coletados dessorvidos termicamente e arrastados pelo fluxo de gás de arraste para a coluna.

A extração de analitos por permeação em membranas como técnica de preparação de amostras para análise química foi primeiramente relatada na década de sessenta, para análises de ar e água por espectrometria de massas, utilizando membranas semipermeáveis planas [16]. Este relato motivou a continuidade de pesquisas com a extração em membranas, pela sua potencialidade como método de preparação de amostras, de forma seletiva, eficiente, livre de solventes, simples, rápida, de baixo custo e independente do tipo de instrumento utilizado. Nesta técnica de extração, os compostos orgânicos migram seletivamente da matriz (muitas vezes em soluções aquosas) para uma membrana com características hidrofóbicas que permite concentrá-los e dirigí-los para o instrumento analítico, possibilitando determinações rápidas e monitoramento contínuo direto.

Um exemplo significativo das técnicas de extração é a chamada MIMS (do inglês, “membrane introduction mass spectrometry”, que tem despertado a atenção de pesquisadores [17,18] principalmente devido a algumas vantagens: seletividade, simplicidade, sensibilidade e baixo custo. A membrana pode ser posicionada, basicamente, de duas maneiras diferentes: diretamente na entrada da fonte de íons ou no final da linha de transferência, distante da fonte de íons. O material da membrana mais comumente utilizado

é o polidimetilsiloxano (PDMS), em forma planar ou tubular, mas existe uma grande variedade de materiais empregados. Membranas de PDMS têm a grande vantagem da alta permeabilidade para compostos orgânicos hidrofóbicos, quando comparados com água, sendo então obtidos ótimos limites de detecção. Além da natureza da membrana, os limites de detecção do sistema MIMS, quando emprega a mesma classe de membrana, são muito influenciados pela dimensão da membrana e pela interface entre a membrana e a fonte do íon do espectrômetro de massa.

De acordo com a teoria de extração por sorção por Arthur e colaboradores [13], a quantidade extraída do analito é somente dependente do volume do revestimento da fibra, desde que a sua determinação seja realizada nas mesmas condições experimentais, ou seja, concentração inicial e volume constante. Por esta razão, novas alternativas têm surgido nos últimos anos para a extração de BTEX e compostos orgânicos voláteis em águas, nos quais, por exemplo, empregam maiores volumes de PDMS para atingirem maiores sensibilidades.

Nesse sentido, um método de extração de compostos orgânicos voláteis, chamada de SBSE (do inglês, “stir bar sorptive extraction”) foi introduzido por Baltussen e colaboradores [19], o qual é baseado nos mesmos mecanismos empregados em SPME. Em SBSE, barras para agitação (10 a 40 mm de comprimento) são colocadas dentro de uma jaqueta de vidro, revestidas com um sorvente de PDMS (volume revestido de 55 a 220 μL) e comercialmente chamadas de *Twisters*TM, as quais são introduzidas em amostras aquosas (volume de 10 a 200 mL) onde é promovido o transporte dos analitos para dentro do polímero. Após um determinado período de agitação, remove-se a barra da solução aquosa, que é transferida para um dispositivo de dessorção, onde os analitos são termicamente liberados e transferidos para um GC – MS. Algumas aplicações desenvolvidas com SBSE têm mostrado baixos limites de detecção (níveis de ng L^{-1}) e boa repetitividade, confirmando a grande potencialidade desta técnica de extração [20]. Porém, neste tipo de técnica, existem basicamente dois passos críticos. O primeiro está na remoção da barra da solução, pois as chances de perdas por volatilização podem comprometer a

reprodutibilidade das medidas. O Segundo, como o volume de PDMS é maior se comparado à técnica SPME, os tempos de extração são significativamente maiores.

Técnicas espectroscópicas têm sido propostas para a determinação de hidrocarbonetos aromáticos em amostras aquosas, sendo usualmente menos sensíveis, embora mais simples, que as técnicas cromatográficas.

A determinação direta de BTEX em águas por espectroscopia UV foi proposta por Vogt e colaboradores [21], apresentando como principal desvantagem a interferência da turbidez das amostras aquosas. Este problema pode ser contornado com o uso de um guia de onda de núcleo líquido baseado em Teflon. Este polímero, comercializado na forma de tubo, é preenchido com água, comportando-se como uma fibra óptica. Em contato com a amostra, as substâncias não-polares permeiam através da parede polimérica, sendo pré-concentradas na água contida no tubo. A construção de uma cela deste material com longo caminho óptico permite aumentar a sensibilidade do método [22].

A espectroscopia de reflectância total atenuada (ATR) com detecção no infravermelho médio tem sido empregada por Karlowatz e colaboradores [23] para determinação de BTEX em águas. Um elemento de ATR a base de ZnSe recoberto com um filme de etileno/propileno de 4,2 μm propiciou limites de detecção de 45, 80 e 20 $\mu\text{g L}^{-1}$ para benzeno, tolueno e *p*-xileno, respectivamente, os quais podem ser determinados simultaneamente em medidas na região de impressão digital (800 a 650 cm^{-1}). Heglund e colaboradores [24] e Merschman e colaboradores [25] empregaram Parafilm M e filmes de polidimetilsiloxano (PDMS), respectivamente, como fases sensoras para extração e pré-concentração de hidrocarbonetos aromáticos, seguidas de detecção na região do infravermelho. Limites de detecção de 182 e 66 $\mu\text{g L}^{-1}$ para benzeno e *p*-xileno, respectivamente, foram obtidos com o uso de um parafilm M, enquanto o valor de 4400 $\mu\text{g L}^{-1}$ foi alcançado para o *p*-xileno quando o PDMS foi empregado. Silva e colaboradores [26] investigaram o comportamento de filmes de PVC para determinação de BTEX em

águas na região do MID. Limites de detecção de 5,0; 6,9; 9,0 e 4,0 mg L⁻¹ para benzeno, tolueno, etilbenzeno e xilenos, respectivamente, foram alcançados.

A espectroscopia Raman com a SPME foi empregada por Jager e colaboradores [27] para determinar hidrocarbonetos totais, entre eles os BTEX, em matrizes aquosas sintéticas. As determinações foram realizadas colocando-se monolitos de PDMS, confeccionados pelos autores, em um frasco de 250 mL totalmente preenchido com a solução aquosa de hidrocarbonetos, deixado sob agitação constante, por uma hora, para a extração dos mesmos. Após esta etapa, o monolito era removido da solução, colocado num tubo de vidro (preenchido com uma mistura analito/água) para ser colocado no caminho óptico do laser. O método forneceu limites de detecção entre 8 a 12 mg L⁻¹ para os compostos estudados.

Uma alternativa para a determinação de BTEX em águas está relacionada com o emprego de sensores ópticos intrínsecos. Este tipo de sensor vale-se das propriedades das ondas evanescentes, que penetram na casca da fibra, interagindo com a mesma [28]. A casca de polidimetilsiloxano (PDMS) de uma fibra óptica de núcleo de sílica atua como fase extratora dos compostos orgânicos dissolvidos na água contaminada. Com a absorção destes compostos, a radiação que é transmitida através do núcleo é atenuada devido à variação do índice de refração da casca, que altera a abertura numérica da fibra, ou por absorção da radiação pelo composto orgânico. Este tipo de sensor apresenta alguns inconvenientes, como, por exemplo, a necessidade de uma fibra óptica de comprimento longo, sustentada em um suporte de alumínio. Além disso, é necessário a remoção da capa de nylon da fibra, usando geralmente o solvente 1,2-propanodiol aquecido a 165°C, pois a fibra sem esta proteção não é encontrada comercialmente. Estes aspectos evidenciam a necessidade do desenvolvimento de um novo tipo de fase sensora, mais versátil, de fabricação simples, fácil operação, de custo baixo, com possibilidade de miniaturização para uso em campo.

Sensores ópticos baseados em ondas evanescentes com detecção no infravermelho próximo têm sido freqüentemente usados para a determinação de BTEX em águas [29,30]. Nestes trabalhos, os autores alcançaram limites de detecção de 0,9 e 0,4 mg L⁻¹ para tolueno e *p*-xileno, respectivamente, empregando uma fibra óptica de 11 metros de comprimento revestida com uma casca de PDMS.

Recentemente, Albuquerque e colaboradores [31], propuseram o uso de uma fase sensora de silicone para detecção de BTEX em águas. Foi empregada uma sonda de transfectância com um caminho óptico de 10 mm foi empregada, em que um monolito de silicone foi adaptado na sonda, e realizando-se medidas na região entre 850 e 1800 nm resultaram em limites de detecção de 8,0; 7,0; 2,6; e 3,0 mg L⁻¹ para benzeno, tolueno, etilbenzeno e *m*-xileno, respectivamente.

I.1.3. – A Espectroscopia no Infravermelho Próximo

A radiação na região do infravermelho próximo, em inglês, *Near-Infrared* (NIR), foi descoberta pelo cientista inglês, alemão de nascimento, Frederick William Herschel em 1800. Herschel estava fazendo um experimento para descobrir qual a contribuição individual das cores provenientes da decomposição da luz branca no aumento da temperatura. Ao contrário do senso comum, ele continuou observando o que acontecia com a temperatura colocando o termômetro além do espectro visível. Surpreendentemente, ele verificou que a temperatura aumentava. Hercshel utilizava em seus experimentos termômetros de bulbo preto e prismas de vidro que são transparentes à radiação NIR de menor comprimento de onda e publicou suas descobertas se referenciando a região dos *raios caloríficos* [32,33]. Esta região foi denominada mais tarde de *infravermelho*, usando o prefixo grego que significa abaixo.

Embora Herschel tenha descoberto a radiação no infravermelho próximo em 1800, muitos espectroscopistas na primeira metade do último século ignoravam esta região para algum interesse analítico. As aplicações mais recentes da espectroscopia NIR foram relatadas por volta dos anos de 1950 e tornaram-se ainda mais evidentes quando o grupo dirigido por Norris, em 1970, aplicou na área da agricultura. O desenvolvimento da instrumentação, da eletrônica, dos componentes ópticos, o advento dos computadores capazes de processamento e armazenamento de dados foram fatores que facilitaram a expansão desta técnica em diversas áreas [34].

A literatura reflete as mudanças no potencial da espectroscopia NIR. Desse modo, Wetzel em 1923 afirmou “O adormecido entre as técnicas espectroscópicas” relatando seu elevado potencial, mas com pouca utilização [35]. McClure, em 1994, publicou um artigo intitulado “O gigante retorna com força”, devido ao alto número de aplicações em diferentes campos [36]. Davies, em 1998, apresentou os avanços da técnica e aplicações “De uma técnica adormecida para a estrela Dalva da espectroscopia” [37].

A Espectroscopia no Infravermelho Próximo (NIR) tem sido uma importante ferramenta analítica que pode ser aplicada em muitas áreas, tais como na agricultura [38], indústria alimentícia [39], farmacêutica [40], petróleo [41], análises do meio ambiente [30], entre outros. Embora a complexidade do espectro NIR não possa contribuir tanto para a elucidação estrutural como acontece com o infravermelho médio, a espectroscopia NIR apresenta uma série de vantagens, altamente atraentes, dos quais pode se destacar:

- ✓ a possibilidade de ensaio sem preparação de amostra;
- ✓ a rapidez para a obtenção dos espectros, cálculos e apresentação dos resultados;
- ✓ o fato de ser um método não-destrutivo, permitindo o uso posterior da amostra para outros ensaios;
- ✓ o fato de ser uma técnica não invasiva, porém com alta penetração do feixe de radiação (cerca de 1 a 3 mm);

- ✓ a quase universalidade das aplicações, considerando que pode ser aplicada a qualquer molécula que possua ligações C-H, N-H, S-H ou O-H;
- ✓ a possibilidade de determinações simultâneas empregando ferramentas de calibração multivariada;
- ✓ a possibilidade do desenvolvimento de aplicações em linha (analisadores de processo);

Como toda técnica analítica, a espectroscopia NIR apresenta limitações nas suas aplicações, tais como:

- ✓ a técnica não é muito sensível;
- ✓ as medidas no NIR são pouco seletivas, então, é necessário o uso de técnicas quimiométricas para extrair a informação relevante;
- ✓ a água apresenta bandas de absorção de sobretom e combinação O-H, que são bastante intensas, cobrindo quase toda a região do NIR. Essas bandas são mais intensas que as bandas de absorção C-H dos compostos orgânicos, prejudicando a determinação direta dessas espécies em água.

I.1.3.1. – Princípios da Espectroscopia no Infravermelho Próximo

A radiação no NIR absorvida por uma molécula faz seus átomos vibrarem com maior amplitude, de maneira similar a um oscilador diatômico. O espectro NIR contém informações relacionadas com a diferença entre as forças de ligações químicas, espécies químicas presentes, eletronegatividade e a presença de ligação de hidrogênio. A luz pode interagir com a amostra por meio de reflexão, refração, absorção, espalhamento, difração e transmissão. A perda no sinal pode ocorrer por reflectância difusa especular, espalhamento interno e completa absorção.

O conceito básico da espectroscopia vibracional se baseia no comportamento de uma molécula diatômica semelhante a um oscilador harmônico. Para um oscilador harmônico ideal, a energia potencial E seria descrita por uma equação quadrática simples:

$$E = \frac{1}{2}k(r - r_e)^2 = \frac{1}{2}kx^2 \quad (\text{I.1})$$

Onde k é a constante de força da ligação, r é a distância internuclear, r_e é a distância internuclear de equilíbrio e $x = (r - r_e)$ é a coordenada de deslocamento. A Figura I.1 representa a forma como a energia potencial de um oscilador harmônico varia com a amplitude da vibração.

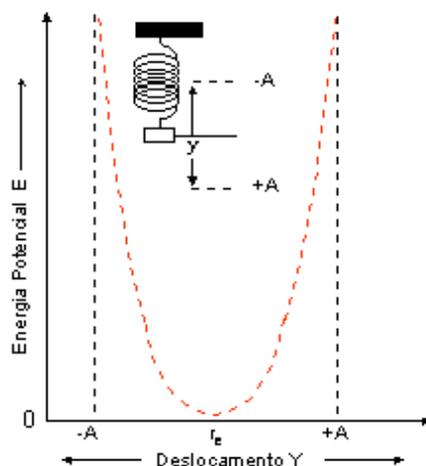


Figura I.1. Função de Potenciais Harmônicos para um oscilador diatômico. A é a amplitude máxima do oscilador.

A energia potencial assume a forma de uma parábola e tem um comportamento simétrico em torno da distância internuclear de equilíbrio, r_e . A frequência de vibração de um oscilador harmônico depende da força da ligação e das massas dos átomos que estão ligados. A energia total da ligação é proporcional à frequência de vibração. O modelo de um simples oscilador harmônico é baseado na Lei de Hooke, onde a frequência vibracional (ν) é definida como:

$$\nu = \frac{1}{2\pi} \sqrt{\frac{k}{\mu}} \quad (\text{I.2})$$

onde μ é a massa reduzida ($\mu = m_1 \cdot m_2 / (m_1 + m_2)$).

O tratamento da mecânica quântica sobre o modelo simples do oscilador harmônico mostra que o nível de energia vibracional entre dois átomos de uma molécula é quantizado. Estes níveis de energia são dados por:

$$E_{\text{vib}} = \hbar \nu \left(v + \frac{1}{2} \right) \quad (\text{I.3})$$

onde \hbar é a constante de Planck, ν é a frequência vibracional clássica e v é o número quântico vibracional.

A absorção (ou emissão) de radiação no NIR por um sistema é devida à variação periódica do seu momento dipolo elétrico (μ), sendo a frequência da radiação absorvida (ou emitida) idêntica à da oscilação do dipolo.

O momento de dipolo pode ser expresso pela expressão:

$$\mu = \mu_0 \left(\frac{d\mu}{dx} \right) e^x \quad (\text{I.4})$$

onde μ_0 é o vetor do momento de dipolo à distância internuclear de equilíbrio e a derivada é considerada em relação à posição de equilíbrio. A absorção no infravermelho implica

$\left(\frac{d\mu}{dx} \right) e \neq 0$ pelo menos para uma das componentes μ_x , μ_y ou μ_z .

Quando uma molécula absorve a radiação infravermelha, alguns de seus átomos vibram de acordo com o modo de vibração. A transição só será permitida para um momento de transição de dipolo diferente de zero. Isto só ocorre se a vibração é acompanhada de uma

variação no momento de dipolo, o que implica que entre as moléculas diatômicas, apenas as que são heteronucleares é que poderão exibir um espectro de transição no infravermelho.

Na mecânica quântica, quando se utiliza o modelo do oscilador harmônico, há uma restrição segundo a qual o número quântico vibracional só poderá variar de uma unidade. Assim, as transições entre mais de um nível de energia são proibidas pela mecânica quântica para um oscilador harmônico. Portanto, as transições só serão permitidas se, e somente se:

$$\left(\frac{d\mu}{dx}\right)_e \neq 0 \text{ e } \Delta v = \pm 1 \quad (\text{I.5})$$

À temperatura ambiente, existem mais moléculas no nível vibracional fundamental $v = 0$, e conseqüentemente a transição permitida $v = 0 \rightarrow v = 1$, denominada transição fundamental ou 1º harmônico, domina o espectro de absorção do infravermelho. Se os níveis energéticos vibracionais se comportassem como previsto para um oscilador harmônico, estes seriam igualmente espaçados. Na prática, os níveis de energia quantizados não são igualmente espaçados, porque as moléculas desviam da idealidade comportando-se como um oscilador anarmônico.

Diferente do oscilador harmônico, os níveis de energia no oscilador anarmônico não são igualmente espaçados e é previsto uma energia de dissociação (os dois átomos estão a uma distância tão grande que a ligação não existe mais) que é descrita pela equação de Morse.

$$E = D_e (1 - e^{-a(r-r_e)})^2 \quad (\text{I.6})$$

Onde a é uma constante molecular, D_e é a energia de dissociação, r_e é a distância interatômica de equilíbrio e r é a distância interatômica num dado instante.

A Figura I.2 apresenta a forma do potencial anarmônico para um sistema diatômico.

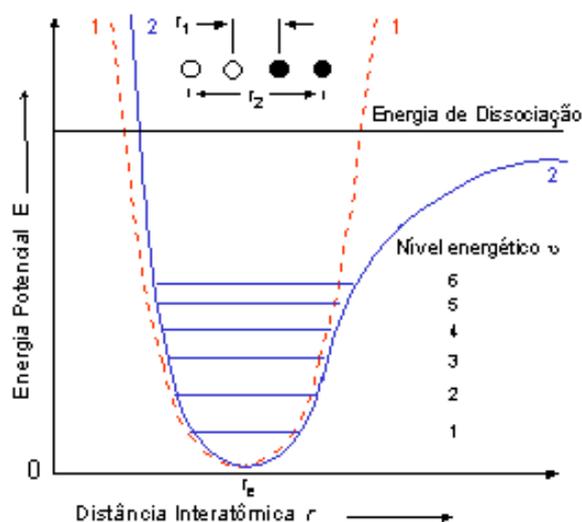


Figura I.2. Função de Potenciais Harmônicos (--) e Anarmônicos (-) para um oscilador diatômico.

Evidências experimentais mostram que as moléculas se comportam como osciladores anarmônicos. Primeiro, porque as bandas de transição denominadas “Hot Bands” ou Bandas Quentes, que são as transições originárias de níveis vibracionais excitados ($v \neq 0$) $v=1 \rightarrow v=2$, $v=2 \rightarrow v=3$,... não possuem a mesma frequência da banda fundamental. Isto se deve ao fato de que os níveis de energia vibracionais não são igualmente espaçados. As bandas de transição denominadas bandas quentes apresentam intensidade muito menor que a fundamental, pois a população dos níveis diminui com o aumento do número quântico. O aumento da temperatura provoca um aumento na quantidade de moléculas no estado vibracional excitado. Para o modelo de oscilador harmônico, as bandas quentes têm o mesmo número de onda que a transição fundamental.

A segunda evidência experimental é que as transições denominadas sobretons correspondentes às transições entre níveis energéticos que diferem de duas ou três unidades para o nível quântico vibracional como $v = 0 \rightarrow v = 2, 3, 4, \dots$, são permitidas (Figura I.3). O comportamento anarmônico conduz a desvios de duas espécies. Em números quânticos altos, ΔE se torna menor, e a regra de seleção não é seguida rigorosamente; como resultado,

transições de $\Delta v = \pm 2$ ou ± 3 são observadas. Tais transições são as responsáveis pelo aparecimento de linhas harmônicas (não fundamentais) em frequências duas ou três vezes a da linha fundamental; a intensidade de absorção dessas linhas harmônicas é frequentemente pequena e os picos podem não ser observados.

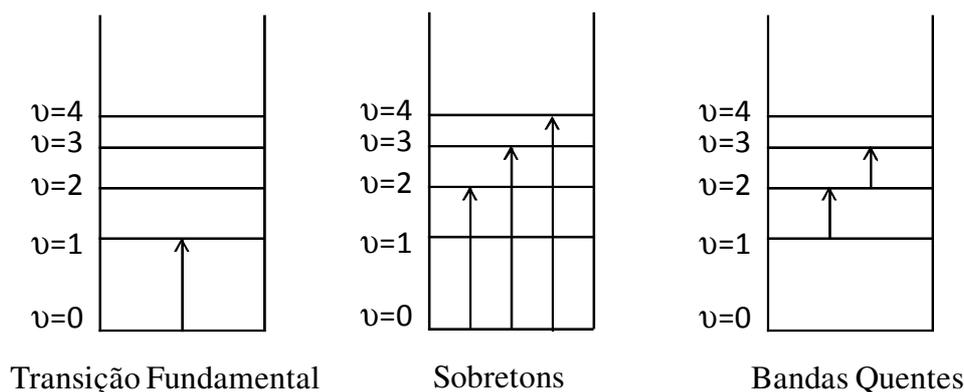


Figura I.3. Transições entre níveis vibracionais.

Sendo assim, no modelo anarmônico, a energia dos níveis vibracionais pode ser calculada através da equação a seguir:

$$E = h\nu\left(v + \frac{1}{2}\right) - \chi_m h\nu\left(v + \frac{1}{2}\right)^2 \quad (\text{I.7})$$

onde χ_m = Constante de anarmonicidade.

A constante de anarmonicidade, em geral, é maior para vibrações que envolvem átomos leves, onde a amplitude de vibração é maior e é menor para vibrações que envolvem átomos pesados. Há também a chamada anarmonicidade elétrica, que é responsável pelo surgimento no espectro de infravermelho, de bandas de sobretons ou harmônicas (“overtones”) correspondentes às transições entre níveis energéticos que diferem de duas ou três unidades para o nível quântico vibracional ($\Delta v = +2, +3, \dots$).

$$\mu = \mu_0 + \left(\frac{d\mu}{dx}\right)_e x + \frac{1}{2!} \left(\frac{d^2\mu}{dx^2}\right)_e x^2 + \frac{1}{3!} \left(\frac{d^3\mu}{dx^3}\right)_e x^3 + \dots \quad (\text{I.8})$$

Para o surgimento do primeiro sobretom é suficiente se considerar apenas até o termo quadrático. Para o segundo sobretom é necessário considerar o termo cúbico. Para sobretoms de ordem superior será necessário a consideração de derivadas de maior ordem, no desenvolvimento da série.

Os espectros vibracionais são ainda mais complicados pelo fato que duas vibrações diferentes em uma molécula podem interagir para dar picos de absorção com frequências que são aproximadamente as somas ou as diferenças das duas frequências fundamentais. Este fenômeno gera as *bandas de combinação* originadas quando um fóton excita simultaneamente dois modos vibracionais. Esse fenômeno ocorre quando um quantum de energia é absorvido por dois modos de vibração em vez de um [42].

I.1.3.2. – Instrumentos Portáteis no Infravermelho Próximo Baseados em LED

A tendência de diminuir o tamanho dos instrumentos para que possam ser utilizados em campo fez com que o uso de LED (do inglês, “Light Emission Diodes”) aumentasse muito nos instrumentos ópticos. Dentre suas principais vantagens, de acordo com uma revisão sobre LED realizado por Dasgupta e colaboradores [43], podemos destacar:

- ✓ A intensidade de luz emitida por um LED é cerca de 5 vezes maior do que a intensidade de um feixe proveniente da fenda de saída de um monocromador;
- ✓ O tempo de vida útil de trabalho contínuo para um LED é tipicamente de 50.000 horas (variando entre 20.000 a 100.000 horas), enquanto que para uma lâmpada de tungstênio é de 1000 – 2000 horas;

- ✓ A colocação do LED diretamente na cela fotométrica permite superar problemas de colimação, focalização e alinhamento do feixe de luz, e isso é de interesse especial quando se trabalha com constituinte na faixa de micro ou traços;
- ✓ Baixo consumo de energia e a alta estabilidade, o que dispensa a necessidade de circuitos eletrônicos caros e especiais para controlar a fonte de radiação.

Nos últimos anos, com o desenvolvimento de LED que emitem radiação do ultravioleta ao infravermelho, e com o surgimento de fibras ópticas que permitem a obtenção de feixes, a construção de fotômetros multicanais baseados em LED tornou-se relativamente simples [44].

Nestes novos instrumentos, o acionamento seqüencial dos emissores e a concomitante leitura dos sinais individuais permitem realizar medidas em vários comprimentos de onda, em intervalos de tempo bastante reduzidos (da ordem de décimos de segundos), tal como em um espectrofotômetro *diode array*. Empregando-se LED que emitem radiação em comprimentos de onda previamente escolhidos através de uma seleção de variáveis adequada, a informação gerada por um fotômetro multi-LED pode ser suficiente para o seu uso em análises discriminatórias ou em determinações simultâneas baseadas em métodos de análise multivariada.

Devido às qualidades dos LED descritas anteriormente, muitos fotômetros baseados nestes dispositivos têm sido desenvolvidos nos últimos anos. Nesta seção, alguns destes instrumentos, especialmente na região do NIR, e suas respectivas aplicações serão apresentadas.

Uma empresa norte-americana, Zeltex [45], desenvolveu um analisador portátil para determinação da octanagem em gasolinas no qual incorporam um total de 39 LED. Os fabricantes relatam que após 20 segundos o valor da octanagem é calculado e impresso pelo próprio instrumento. O instrumento opera com baterias. A Figura I.4 abaixo mostra uma ilustração desse instrumento.

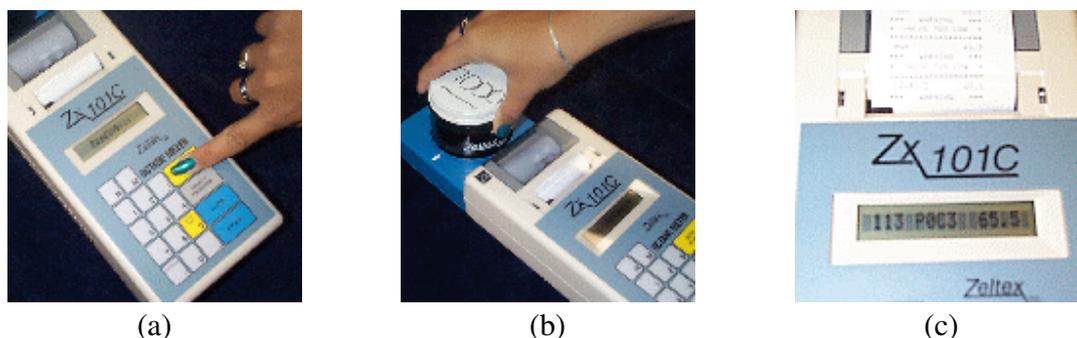


Figura I.4: Analisador portátil para determinação da octanagem da gasolina: (a) seleção do parâmetro; (b) Posicionamento do recipiente e amostra; (c) Impressão do número de octanagem em 20 segundos.

McClure e colaboradores [46] desenvolveram um fotômetro NIR portátil, chamado pelos autores de “TWmeter”, empregando três LED com emissão máxima em 700, 880 e 940 nm para a determinação de clorofila em plantas e umidade em papéis. Neste trabalho foi utilizada calibração multivariada através da regressão linear múltipla na determinação de clorofila, resultando um erro de previsão de 0,99 mg/cm² da superfície da folha, um intervalo dinâmico de 1-8 mg/cm² e para umidade um intervalo de 30-65%. Segundo os autores, a construção do “TWmeter” custou menos de 300 dólares demonstrando o baixo custo na construção do instrumento. O instrumento “TWmeter” é representado na Figura I.5.

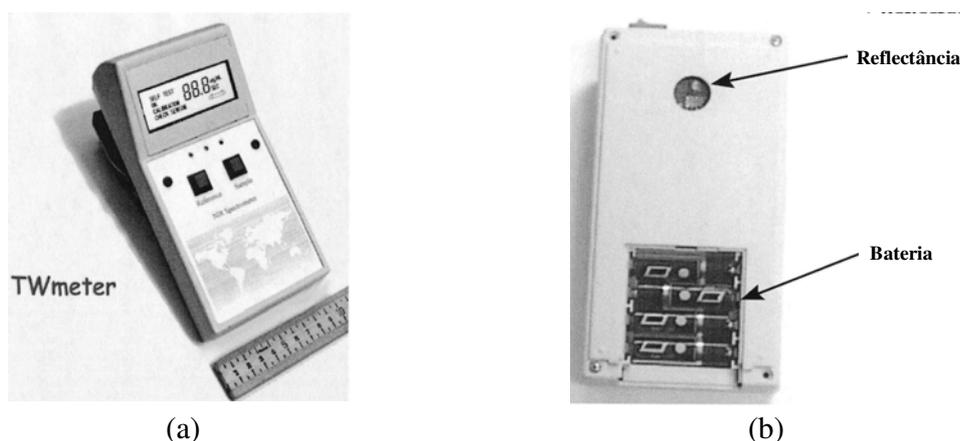


Figura I.5: O TWmeter: (a) Dimensões do instrumento, 10 cm x 19 cm x 5 cm e pesando 364 gramas; (b) Visão da porta de reflectância e quatro baterias AA.

Recentemente, Gaião e colaboradores [47] propuseram um fotômetro NIR portátil à base de LED, de baixo custo, para análise da adulteração de gasolinas comerciais brasileiras por querosene. O fotômetro trabalha com um LED com emissão máxima em 1550 nm e o sistema de detecção do instrumento é um fotoresistor de PbSe controlado por um microcontrolador. Os autores mostraram que o instrumento é capaz de detectar amostras de gasolinas contaminadas com querosene ao nível de 5% (v/v).

Hyvarinen e colaboradores [48] desenvolveram dois fotômetros NIR para determinação de umidade em turfa. Esse fotômetro emprega uma integração do detector e filtros de interferência com bandas estreitas num único semiconductor. Lysaght e colaboradores [49] produziram um espectrômetro portátil NIR com fibras ópticas. Esse instrumento, pesando aproximadamente 9 kg e apresentando uma razão sinal/ruído de $1,24 \times 10^{-5}$ AU, foi testado com uma mistura de três hidrocarbonetos no modo de transflectância.

Malinen e colaboradores [50] apresentaram um espectrofotômetro baseado em um arranjo de LED e uma grade de difração, cobrindo a região entre 832 a 1048 nm com 32 LED. O instrumento pode operar em temperaturas entre 5°C e 50°C utilizando para isso um controle de temperatura por um Peltier. O detector empregado no instrumento foi um diodo de silício que apresenta baixo ruído. O instrumento pode ser empregado tanto na análise de alimentos, como na agricultura ou na indústria petroquímica, sendo a principal limitação do instrumento a falta de LED em algumas regiões do espectro NIR.

Na área médica, Chance e colaboradores [51] publicaram um fotômetro NIR para detecção de células cancerígenas em pacientes empregando quatro LED, sendo dois com máximo de emissão em 800 nm e os demais, em 760 e 850 nm, respectivamente. No sistema de detecção foi empregado um total de 16 fotodiodos de silício e através de estudos de imagem foi demonstrada a metodologia de detecção de células cancerígenas. A Figura I.6 ilustra uma comparação entre o instrumento desenvolvido pelos autores e um comercial.



Figura I.6: (a) Instrumento comercial para detecção de células cancerígenas do peito; (b) instrumento desenvolvido pelos autores [51] para a mesma aplicação.

Outro trabalho desenvolvido no mesmo grupo de Chance [51] foi realizado por Lin e colaboradores [52] ao propor um fotômetro NIR empregando apenas três LED (730 nm, 805 nm e 850 nm) para detecção de variações do volume sanguíneo e desoxigenação em atividades musculares de pacientes.

Um instrumento NIR portátil a base de LED e um pequeno arranjo de detecção para determinação do teor de álcool em vinhos foi proposto pela empresa Anton-Paar [53], conforme ilustrado na Figura I.7. O instrumento opera entre 1170 nm e 1200 nm, exatamente na região referente ao segundo sobreton do estiramento da ligação C–H. A radiação oriunda dos LED passa através da cela de amostragem, com temperatura controlada por um Peltier, e por uma fenda, sendo então dispersa através de uma grade até o detector. Uma linha base pode ser determinada usando os pontos isobésticos do sistema água-álcool nesta região. O instrumento não possui partes móveis e se trata de outro exemplo de um instrumento dedicado a analisar um determinado parâmetro usando LED como fonte de radiação.



Figura I.7: Instrumento para determinação do teor de álcool em vinhos baseado em LED na região do NIR.

Um sensor para determinação de CO_2 foi desenvolvido pela Vaisala [54], que empregou LED como fonte de radiação, transmitindo a luz através de uma célula para gases, seguindo para um interferômetro e detector. O filtro de interferência, Fabrit-Pérot, foi operado para transmissão de dois comprimentos: um para a linha base e o outro para a banda de absorção do CO_2 . De acordo com a empresa do instrumento, os sensores são bastante estáveis e exigem uma calibração a cada cinco anos. O sensor completo com a parte eletrônica mede 96 mm x 60 mm e somente o módulo do sensor, incluindo a célula de gás, é de aproximadamente 20 mm x 20 mm.

Chagas e colaboradores [55] desenvolveram um fotômetro portátil NIR para determinação do teor de água em álcool combustível e teor de etanol na gasolina. Foram avaliados detectores baseados em um fotoresistor de PbS e um fotodiodo de InGaAs. Como transdutor de saída do instrumento foi empregado um microcontrolador PIC com um display de cristal líquido e também dois LED (vermelho e verde) indicando se o combustível estava dentro ou fora da especificação.

Portanto, de maneira geral, instrumentos baseados em LED apresentam uma montagem simples e de baixo custo, sendo também versáteis e podendo ser empregado para

a determinação de vários parâmetros químicos apresentando resultados bastante promissores.

I.2. - Objetivos

O objetivo deste trabalho é o desenvolvimento de um sensor óptico e de um fotômetro portátil a base de diodos emissores de luz (LED), na região do infravermelho próximo (NIR), para a determinação dos compostos BTEX em águas.

É objetivo também o desenvolvimento de um método analítico baseado na extração dos compostos BTEX de águas contaminadas, usando-se o efeito *salting-out* como forma de aumentar a sensibilidade. O uso de técnicas de calibração multivariada (PLS e PCR) serão também avaliadas com o objetivo de se obter um método para a determinação simultânea desses compostos.

I.3. – Experimental

I.3.1. – Reagentes e Soluções

Benzeno, tolueno, etilbenzeno e xilenos (grau espectroscópico) foram adquiridos da Merck e usados sem prévia purificação. Metanol (grau espectroscópico, Merck) foi usado para preparar as soluções estoques dos hidrocarbonetos aromáticos BTEX. Cloreto de sódio (Vetec) foi usado para ajustar a salinidade das amostras. Silastic T2 e um agente reticulante foram fornecidos pela Dow Corning. Água destilada desionizada foi utilizada para preparar as amostras aquosas contaminadas.

I.3.2. – Preparação da Amostra

Inicialmente foram preparadas soluções padrão de benzeno e tolueno 50 000 mg L⁻¹ e 10 000 mg L⁻¹ de etilbenzeno e xilenos em metanol. Em seguida, uma alíquota de 5,00 mL dessas soluções foi transferida para um balão volumétrico de 500 mL, sendo o volume completado com água desionizada. As soluções estoques resultantes representam padrões de 500 mg L⁻¹ de benzeno e tolueno e 100 mg L⁻¹ para etilbenzeno e xilenos com 1% de metanol.

I.3.3. – Preparação do monolito de PDMS

A fase sensora polimérica foi constituída de uma silicona à base de polidimetilsiloxano (PDMS). Foi realizada uma mistura entre o monômero e o agente reticulante numa proporção 10:1, respectivamente. A homogeneização foi realizada no ultra-som para retirar as bolhas de ar formadas nesta mistura durante aproximadamente 3 minutos e em seguida a mistura foi transferida para recipientes de Teflon® moldados na forma

de disco. Esses recipientes de Teflon foram levados a um dessecador à vácuo durante 30 minutos para eliminar as bolhas que ainda permaneciam durante a etapa de homogeneização da mistura. Após a etapa de desaeração, o material polimérico foi deixado por 36 horas para a cura dentro de um recipiente de plástico bem vedado. Após esse tempo, a fase sensora polimérica foi levada à estufa por 6 horas, a 60° C para a completa reticulação. Finalmente, a fase sensora foi removida dos moldes de Teflon e cortadas em vários tamanhos (2 mm, 5 mm e 10 mm) e mesmo diâmetro (3,2 mm), conforme mostrado na Figura I.8.

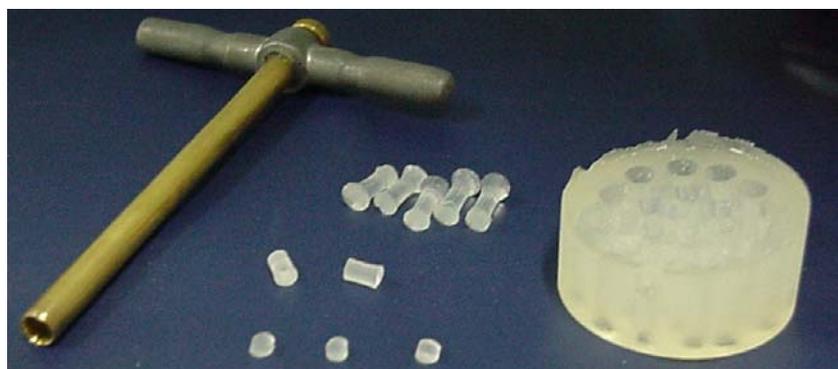


Figura I.8. Fases sensoras de PDMS cortadas em diferentes tamanhos (2 mm, 5 mm e 10 mm). Diâmetro de 3,2 mm.

I.3.4. – Instrumentação

Um espectrofotômetro FT-NIR Bomem MB 160 foi usado para as medidas na região de 800 nm a 2500 nm. Os dados foram obtidos usando o software Win-Bomem Easy 3.04. Cada espectro foi registrado como sendo média de 100 varreduras com resolução de 8 cm⁻¹. Uma sonda de transfectância Hellma, como mostra a Figura I.9a, foi usada para estudos preliminares da fase sensora. Foram confeccionadas duas celas de transmissão em nosso laboratório para uso com e sem fibras ópticas, mostradas na Figura I.9b e I.9c. O caminho óptico das celas é determinado por espaçadores que também foram confeccionados em diferentes tamanhos (1 mm, 2 mm, 5 mm e 10 mm).

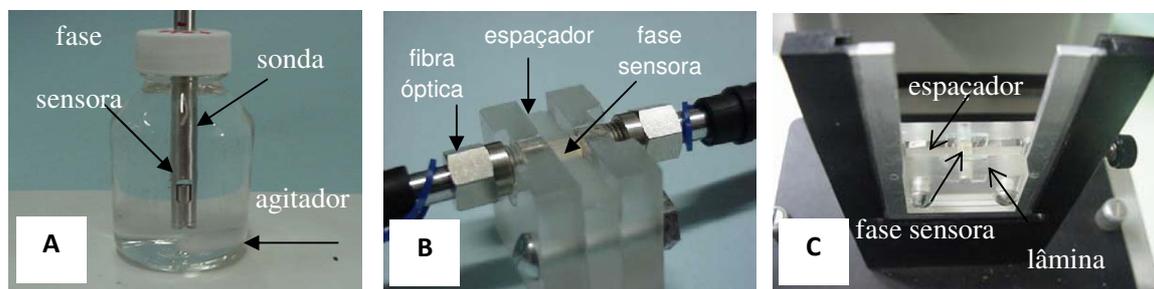


Figura 1.9. Ilustração dos sistemas sensor-NIR a) Sonda de transflectância com a fase sensora de PDMS; b) Cella de acrílico usada para medidas de absorbância empregando fibras ópticas; c) Cella de acrílico usada para medidas de absorbância na ausência de fibras ópticas.

Um cromatógrafo a gás, Modelo GC-2010, da *Shimadzu Corporation*, Japão, acoplado a um detector de ionização em chama (FID) e uma coluna capilar Petrocol 100 m x 0,25 mm x 0,5 μm , da SupelcoTM, foi empregado para as construções de curvas analíticas dos BTEX em água e na quantificação do teor de BTEX em gasolinas, cedidas pela Central Analítica do Instituto de Química da Universidade Estadual de Campinas. A temperatura da coluna foi mantida a 100°C por 15 min. Hélio (30 mL min⁻¹) foi o gás de arraste. A temperatura do injetor (operada no modo split, na razão de 1/100) foi de 220°C e do detector de 250°C.

I.3.5. – Procedimento Experimental

As determinações foram realizadas introduzindo-se um monolito de PDMS em frasco de 85 mL totalmente preenchido com a solução aquosa do hidrocarboneto aromático e deixado sob agitação constante por um determinado tempo para a extração do hidrocarboneto. Após esta etapa, o monolito era removido da solução, rapidamente seco com papel absorvente e inserido na cela de transmissão para medidas de absorbância. Para estudos de salinidade, uma quantidade adequada de NaCl era transferida para o frasco a ser totalmente preenchido com a solução do hidrocarboneto. Todas as extrações foram feitas em frascos selados, sem espaço confinante. O espectro do PDMS, previamente imerso em

solução aquosa contendo 1% de metanol, foi empregado como referência para as medidas de absorvância.

I.3.6. – Conjuntos de Calibração e Validação

Um planejamento Doehlert [56], foi empregado como base na definição dos níveis de concentração das amostras para compor os conjuntos de calibração e de validação externa no desenvolvimento dos modelos de calibração multivariada para determinação simultânea dos compostos BTEX e de hidrocarbonetos totais (soma das concentrações dos compostos em estudo). Os pontos da matriz Doehlert correspondem aos vértices de um hexágono gerado de um simplex regular e, em geral, o número total de pontos experimentais no planejamento é igual a $k^2 + k + pc$, em que k é o número de fatores e pc é o número de experimentos no ponto central. No planejamento Doehlert o número de níveis (n) não é o mesmo para cada variável, o que permite avaliar as variáveis consideradas mais importantes, ou seja, que apresentam efeitos mais pronunciados em um número maior de pontos no espaço estudado. Com três variáveis, por ex., o número de níveis é de 5, 6 e 3 e o número total de experimentos é de 13, o que permite avaliar as variáveis consideradas mais importantes, ou seja, que apresentam efeitos mais pronunciados em um número maior de pontos no espaço estudado. Além disso, este tipo de planejamento necessita de um menor número de experimentos em relação ao planejamento composto central sendo, portanto, mais eficiente.

O planejamento Doehlert descreve um domínio circular para duas variáveis, esférico para três e hiperesférico para mais de três variáveis, o que acentua a uniformidade no espaço envolvido. Cada planejamento é definido considerando o número de variáveis e os valores codificados (x_i) da matriz experimental. A relação entre os valores experimentais e os valores codificados é dada pela equação I.9:

$$x_i = \left(\frac{z_i - z_i^0}{\Delta z_i} \right) \beta_d \quad (\text{I.9})$$

O termo x_i é o valor codificado para o nível do fator i ; z_i é o seu experimental: Δz_i é a distância entre o valor experimental no ponto central e o experimental no nível superior ou inferior, β_d é o maior valor limite codificado na matriz para cada fator e z_i^0 é o valor experimental no ponto central.

I.3.7. – Calibração Multivariada

Na determinação dos compostos BTEX e de hidrocarbonetos totais, os dados espectrais foram organizados em uma matriz \mathbf{X} (a,m), com a linhas e m colunas, onde cada linha representa uma mistura e cada coluna corresponde a absorvância em cada comprimento de onda. Os valores de concentração das misturas foram organizados em uma matriz \mathbf{Y} (a,p), com a linhas e p colunas, onde cada linha representa a mistura e cada coluna corresponde a um componente BTEX. O programa Unscrambler 9.6 (CAMO) foi empregado para realizar o pré-processamento dos dados espectrais e a construção dos modelos empregando os métodos de calibração multivariada por PLS (mínimos quadrados parciais) e PCR (regressão por componentes principais).

O conjunto total de espectros foi dividido em dois subconjuntos: um de calibração e outro de validação externa. Para se determinar o número de variáveis latentes utilizadas nos modelos foi feita uma validação cruzada completa (*full cross validation*). A qualidade dos modelos foi avaliada pelo erro médio quadrático na validação cruzada – RMSECV (do inglês, “root mean square error of cross validation”) e pelo erro médio quadrático de previsão para o conjunto de validação externo – RMSEP (do inglês, “root mean square error of prediction”). O RMSEP é definido como:

$$RMSEP = \sqrt{\frac{\sum_{i=1}^{n_p} \left(\hat{y}_{i, val} - y_{i, val} \right)^2}{n_p}} \quad (I.10)$$

Onde $\hat{y}_{i, val}$ é o valor previsto pelo modelo para o conjunto de validação externo, $y_{i, val}$ é o valor de referência e n_p o número de amostras no conjunto de validação.

Também foram avaliados os coeficientes de determinação entre os valores de concentração de BTEX e hidrocarbonetos totais estimados pelo modelo e os valores de referência, além, do número de variáveis latentes.

I.3.8. – Determinação de BTEX por Cromatografia Gasosa

Prepararam-se soluções aquosas saturadas de gasolina a partir de uma mistura na proporção de 2,5 mL de gasolina para 100 mL de água. Essa solução foi preparada em um funil de separação, o qual agitou-se por aproximadamente 5 minutos e deixou-se, em repouso, por 10 horas para total separação das fases. Em seguida, 20 mL da fase aquosa foi recolhido em um recipiente de vidro totalmente vedado (*vial*) que foi inserido dentro de uma estufa a 70°C por 25 minutos. Com o auxílio de uma seringa de cromatografia para gás de 100 µL, foram retirados 100 µL da fase gasosa do *vial* e inseridos na porta do injetor do Cromatógrafo.

I.3.9. – Fotômetro NIR Baseado em LED

I.3.9.1 – Fonte de Alimentação

O instrumento utilizou uma fonte de alimentação comercial produzida pela Mean Well e distribuída pela LR Informática Industrial [57]. A fonte empregada foi a PD-2512, com saída simétrica de ± 12 V.

I.3.9.2. – Arranjo dos LED

Seis LED que emitem radiações em faixas distintas do espectro NIR foram adquiridos junto a Roithner Lasertechnik [58]. Os comprimentos de onda nos máximos de emissão, indicados pelo fabricante foram de 1200 nm, 1300 nm, 1550 nm, 1650 nm, 2150 nm e 2350 nm. Cada LED foi fixado em um conector metálico e o arranjo dos LED foi fixado em uma placa de acrílico devidamente trabalhada.

I.3.9.3. – Captação da Radiação NIR

Feixes contendo 24 fibras ópticas poliméricas com 200 μm de diâmetro cada, da Ocean Optics [59], foram fixados e conectados a cada LED, para guiar as radiações individuais dos emissores. Estes feixes foram agrupados em um único feixe de saída contendo 144 fibras, que foi conectado diretamente a cela de transmissão.

I.3.9.4. – Circuito Eletrônico do Fotômetro

I.3.9.4.1. - Acionamento dos LED

O circuito desenvolvido para o acionamento dos LED permite empregar um arranjo com até 6 diodos. O circuito, como mostrado na Figura I.10, é composto por resistores limitadores de corrente e por *drivers* (comumente chamadas de chaves transistorizadas) para acionamento dos LED que apresentam a característica de possuir alta impedância, virtualmente infinita, entre a sua entrada e a sua saída. Este fato garante que sobre tensões ou curto-circuito ocorridos no acionamento dos LED não atinjam a interface de aquisição,

protegendo o microcomputador. Os drivers utilizados são do tipo Darlington (chip ULN2001), produzido pela Texas Instruments [60]. Resistores de 68 ohms e resistores variáveis com resistência máxima de 1 k Ω foram empregados para determinar a corrente através dos LED. Com os resistores variáveis é possível ajustar as intensidades de emissão dos LED de acordo com a sensibilidade do detector (fotodiodo G8373), o que permite obter um nível comum de sinal para emissão de todos os LED.

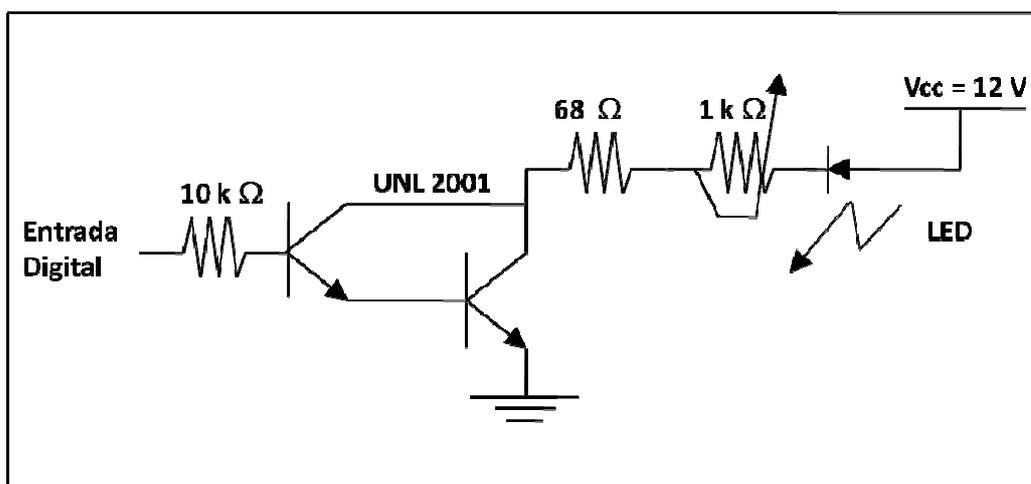


Figura I.10. Circuito eletrônico do fotômetro NIR para o acionamento dos LED.

I.3.9.4.2. - Detector

Neste fotômetro foi empregado como sensor um fotodiodo de InGaAs modelo G8373, produzido pela Hamamatsu [61]. O circuito eletrônico empregado para o condicionamento do sinal do fotodiodo está esquematizado na Figura I.11. Associado ao fotodiodo de InGaAs foi construído um conversor de corrente-voltagem (Módulo I) que opera também como um primeiro estágio de amplificação. Em seguida, o sinal é novamente amplificado (Módulo II).

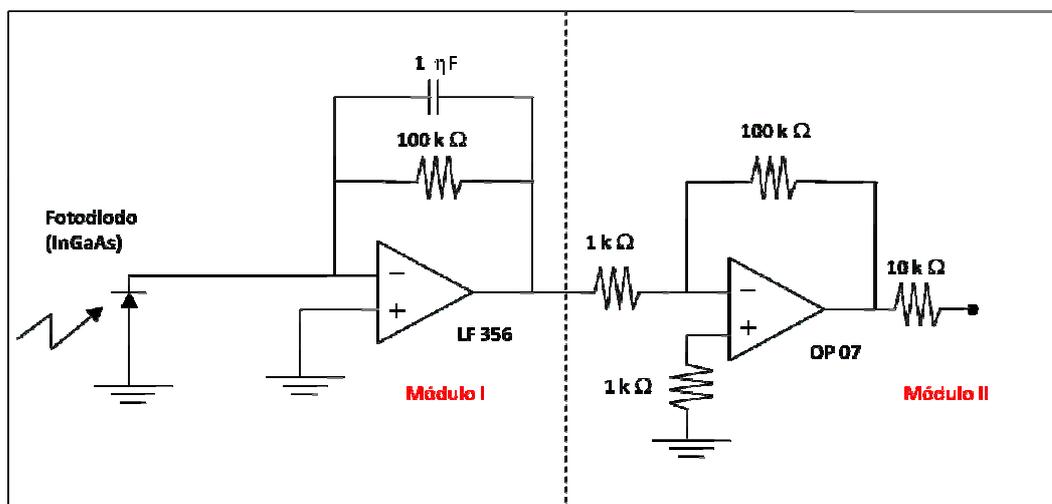


Figura I.11. Circuito eletrônico construído para o condicionamento do sinal do detector de InGaAs.

I.3.9.5. – Padronização dos Sinais dos LED

Os LED empregados no desenvolvimento do fotômetro não apresentaram as mesmas intensidades de emissão em uma dada corrente. Além disso, a sensibilidade do fotodiodo não é uniforme para toda a região na qual os LED emitem radiação. Para minimizar a dependência entre os sinais de emissão, os LED foram padronizados em um nível comum. Para isto, foram realizadas medidas individuais de cada LED na cela de medidas contendo a fase sensora. Durante estas medidas, o resistor variável que controla a corrente através do dispositivo foi ajustado para cada LED, permitindo a padronização.

I.3.9.6. – Interface e Aquisição de Dados

A interface utilizada neste fotômetro tem a função de trabalhar conjuntamente com o software dedicado no controle e aquisição dos dados. Seis de suas doze saídas digitais foram utilizadas no acionamento dos LED, fornecendo o nível lógico baixo para aqueles que devem permanecer desligados e nível lógico alto para aqueles que devem ser acionados. Uma de suas 12 entradas do conversor analógico-digital (conversor A/D) foi

utilizada na aquisição dos dados vindos do fotodiodo. A interface utilizada foi do tipo USB-6009, da Nacional Instruments [62].

Um programa foi escrito em VisualBasic.NET para controlar o fotômetro e adquirir os dados do fotodiodo através da interface eletrônica, a qual dispõe de um conversor analógico/digital (A/D) de 14 bits. O programa aciona os LED e a obtém a leitura dos sinais. A interface do programa é apresentada na Figura I.12.

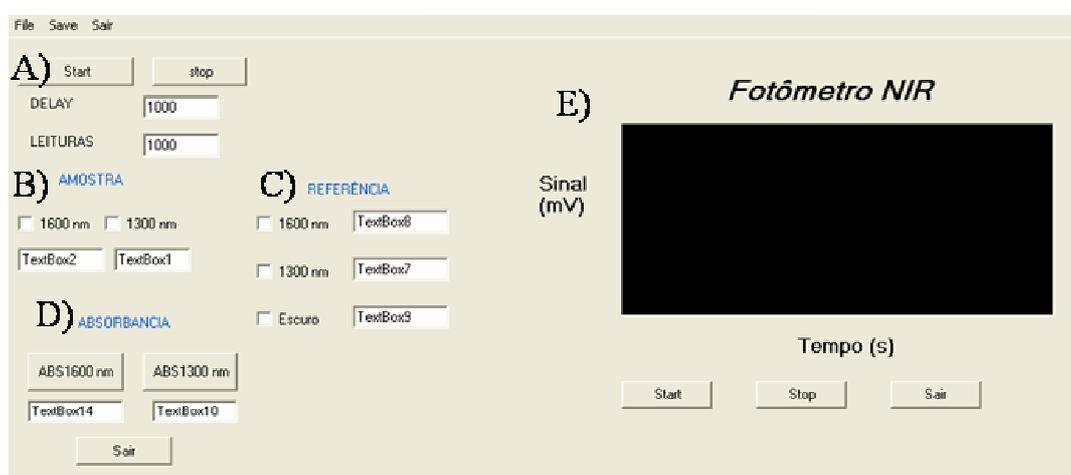


Figura I.12. Interface ao usuário para o programa de controle do fotômetro: A) Comandos para controlar o tempo de aquisição de dados; B) Seleção do LED a ser acionado para leitura da amostra; C) Aciona os LED para o sinal de referência e sinal do escuro. D) Realiza o cálculo da absorvância; E) Gráfico dos sinais.

I.3.9.7. – Cálculo das Absorvâncias e Visão do Fotômetro NIR

As equações I.11 e I.12 mostram o cálculo da absorvância para dois LED (1689 nm e 1300 nm).

$$A_{1689} = -\log\left(\frac{I_{1689} - Esc}{R_{1689} - Esc}\right) \quad (I.11)$$

$$A_{1300} = -\log\left(\frac{I_{1300} - Esc}{R_{1300} - Esc}\right) \quad (I.12)$$

onde I é a média dos sinais referentes às medidas da amostra (fase sensora em contato com os compostos BTEX), R é a média dos sinais referentes às medidas de referência (apenas a fase sensora) e Esc é a média dos sinais referentes às medidas do escuro (ausência de radiação).

A absorvância em cada medida foi realizada através da diferença entre as absorvâncias conforme está descrito pela equação I.13.

$$A = A_{1689} - A_{1300} \quad (\text{I.13})$$

Finalmente, a Figura I.13 mostra um esquema geral do fotômetro NIR desenvolvido. O fotodiodo de InGaAs foi acoplado diretamente à outra face da fibra óptica, com a finalidade de coletar diretamente a radiação proveniente do LED acionado e evitar maior perda dessa radiação.

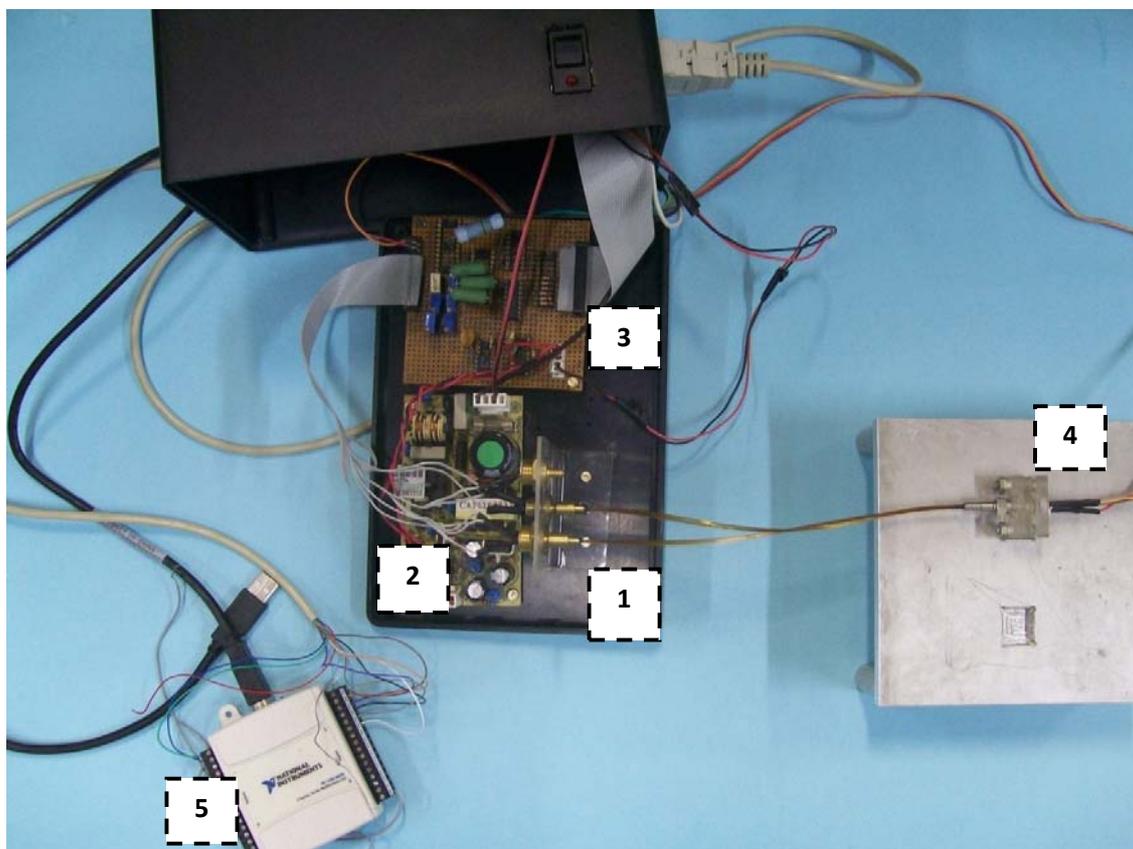


Figura I.13: Visão geral do fotômetro NIR: 1) Disposição dos LED e dos feixes de fibras ópticas; 2) Fonte de alimentação; 3) Circuito eletrônico para acionamento dos LED e amplificação do sinal; 4) Cella de transmissão juntamente com a fase sensora de PDMS. 5) Interface USB para aquisição de dados.

I.4. – Resultados e Discussão

I.4.1. – Estudos Preliminares

Inicialmente, foram realizados experimentos empregando-se a sonda de transflectância (Figura I.9a) e soluções aquosas de tolueno (menor toxicidade em relação aos compostos aromáticos em estudo).

I.4.1.1. – A Presença da Banda O–H

A presença da banda larga de absorção da ligação O-H da água em 1450 nm, 1940 nm e 2250 nm sobrepondo-se as bandas de absorção da ligação C-H dos hidrocarbonetos torna inviável a determinação desses compostos em matrizes aquosas na região do Infravermelho Próximo empregando-se a técnica de transmissão convencional. Além disso, a baixa sensibilidade da técnica dificulta este procedimento, uma vez que os hidrocarbonetos são pouco solúveis em água (< 0,15 %) [31].

Estudos preliminares utilizando a sonda de transflectância (5 mm de caminho óptico) com soluções aquosas de tolueno, 300 mg L⁻¹, mostraram que a presença de 1,0 % de metanol não afeta a extração quando comparados com os espectros obtidos em água, como mostrados na Figura I.14. A estratégia de empregar soluções preparadas em metanol foi adotada por conveniência, pois este solvente auxilia a solubilização dos hidrocarbonetos aromáticos em água, tornando mais fácil e confiável a preparação das soluções de referência. Por esta razão, o metanol foi empregado no preparo das soluções durante todas as medidas.

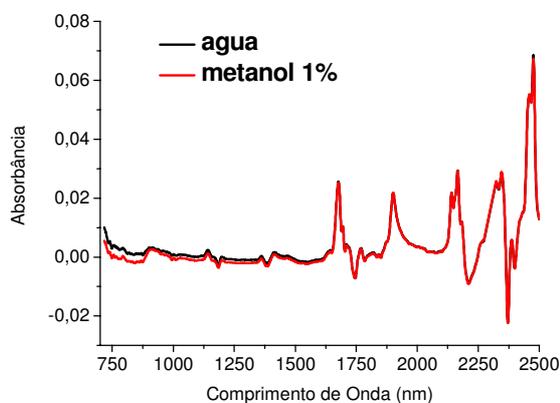


Figura I.14: Espectros NIR usando a fase sensora de PDMS em soluções aquosas de tolueno 300 mg L^{-1} preparadas em água e metanol 1%, após 60 min de extração empregando-se a sonda de transflectância com caminho óptico de 5 mm.

I.4.1.2. – Tempo de Extração dos BTEX

A escolha do tempo de extração dos compostos BTEX, na etapa de pré-concentração, foi avaliada monitorando-se o sinal analítico em função do tempo, em intervalos de 5 min, empregando-se a sonda de transflectância, solução aquosa de tolueno 400 mg L^{-1} e caminho óptico de 5 mm até atingir o estado de equilíbrio, como mostra a Figura I.15. Escolheu-se o comprimento de onda de 2165 nm para se observar o comportamento do sinal por apresentar o maior valor de absorbância. Após 120 min de contato da fase sensora com a solução, o sinal indica que o estado de equilíbrio está praticamente atingido. Nesse estágio, apesar de possibilitar a construção de curvas analíticas mais sensíveis, torna-se inviável a aplicação do sensor devido ao longo tempo de análise dos compostos. Entretanto, analisando-se três tempos de extração em 30, 60 e 90 min, mostrados nesta Figura, observou-se que em 60 min a intensidade do sinal é suficiente para a realização dos estudos desejados e este tempo de extração foi fixado em todos os outros experimentos.

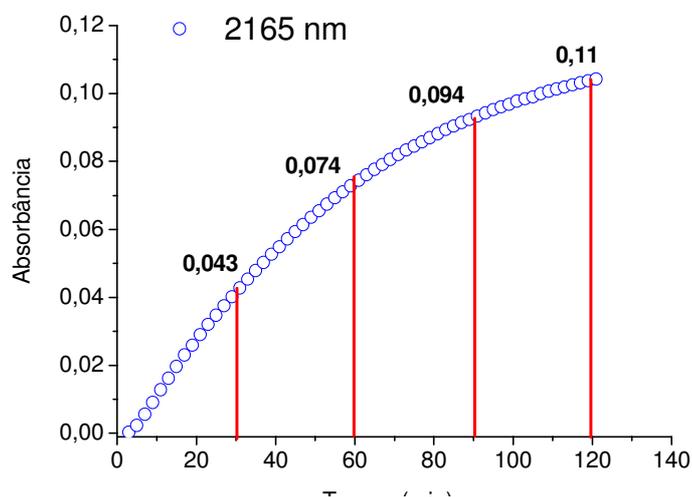


Figura I.15: Sinal analítico em função do tempo obtido com solução aquosa de 400 mg L^{-1} de tolueno (caminho óptico de 5 mm em 2165 nm).

I.4.1.3. – Tempo de Resposta

Para facilitar a comparação entre os diferentes hidrocarbonetos aromáticos em relação ao tempo de resposta, os valores de absorbância de cada composto foram normalizados e estão mostrados na Figura I.16. A normalização foi realizada tomando-se o valor máximo do sinal analítico no comprimento de onda de 1675 nm para todos os compostos BTEX. Verifica-se que o sensor responde diferentemente para cada espécie, sendo que o tempo de resposta aumenta na seguinte ordem: benzeno, tolueno, etilbenzeno e xilenos.

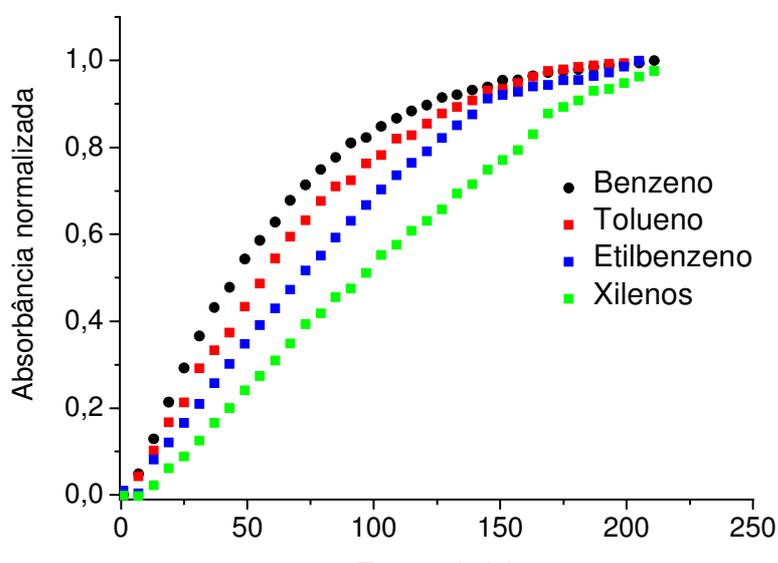


Figura I.16. Comparação entre os tempos de resposta do sensor para os hidrocarbonetos aromáticos (300 mg L^{-1}) empregando-se a sonda de transflectância, caminho óptico de 5 mm, água e 2165 nm.

A diferença nos tempos de resposta para os compostos BTEX é atribuída, provavelmente, à conformação dessas moléculas. O benzeno, por exemplo, possui conformação livre de impedimento estérico e por esta razão apresentou o menor tempo de resposta. Os xilenos, por apresentarem dois grupos metila ligados ao anel aromático, a sua conformação levou, provavelmente, a um fluxo de massa mais lento na superfície polimérica da fase sensora.

I.4.1.4. – Regeneração da Fase Sensora

A fase sensora mostrou-se reversível à temperatura ambiente, muito embora tenha apresentado um tempo de regeneração longo como mostra a Figura I.17. Este tempo pode ser reduzido colocando-se a fase sensora em estufa a 60° C durante 30 min possibilitando o seu uso em novas medidas. Apesar da fase sensora possuir um custo bastante reduzido,

podendo ser descartada após o uso, os resultados obtidos indicam a possibilidade de sua reutilização, fato que também minimiza a geração de resíduos nas análises.

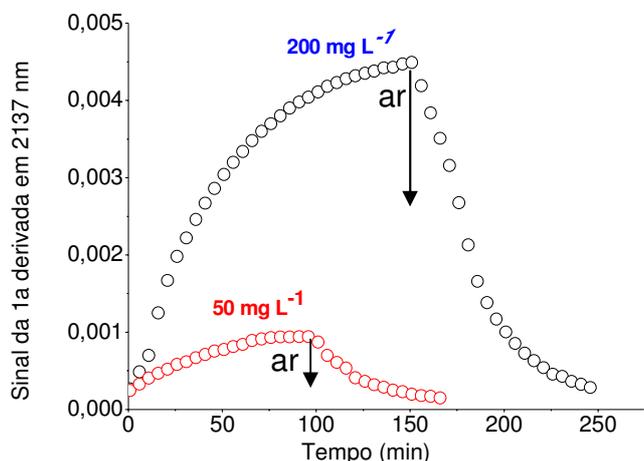


Figura I.17: Estudos de reversibilidade da fase sensora em duas soluções aquosas de tolueno (50 e 200 mg L⁻¹) e em ar.

I.4.1.5. – Sistemas de Medida

A sensibilidade dos dois sistemas de medida, sonda e cela com fibras ópticas, foi avaliada comparando-se os coeficientes angulares das curvas analíticas do tolueno, construídas nas mesmas condições experimentais, ou seja, 5 mm de caminho óptico, 60 min de extração. Conclui-se que nos quatro picos mais intensos de absorção do tolueno (1675 nm, 2140 nm, 2165 nm e 2183 nm) a sensibilidade do sistema de medida empregando-se a célula de transmissão com fibras ópticas é aproximadamente 2,5 vezes maior que a sensibilidade do sistema com sonda de transflectância, como pode ser observado na Tabela I.2, devido a maior quantidade de radiação envolvida na célula de transmissão.

Tabela I.2: Comparação dos coeficientes angulares das curvas analíticas do tolueno para dois sistemas de medidas: célula de transmissão com fibras ópticas e sonda de transfectância.

Sistema de Medida	Comprimento de Onda (nm)			
	1675	2140	2165	2183
Célula com fibras	$5,43 \times 10^{-4}$	$4,87 \times 10^{-4}$	$6,71 \times 10^{-4}$	$3,42 \times 10^{-4}$
Sonda	$2,02 \times 10^{-4}$	$1,88 \times 10^{-4}$	$2,62 \times 10^{-4}$	$1,31 \times 10^{-4}$

A célula com fibras ópticas, Figura I.9b, além de apresentar uma maior sensibilidade, apresenta baixo custo e de simples confecção quando comparada à sonda de transfectância. Por estas razões, os estudos de otimização da fase sensora foram realizados com a célula de transmissão com fibras ópticas.

I.4.2. – Otimização do Sensor Óptico para Determinação de BTEX em Águas

I.4.2.1. – Considerações Espectroscópicas

Na Figura I.18, são apresentados os espectros NIR da fase sensora após imersão em soluções aquosas dos hidrocarbonetos aromáticos em estudo. Estes espectros foram registrados usando uma fase sensora de PDMS com caminho óptico de 2 mm e 80 mg L^{-1} para cada hidrocarboneto aromático, após 60 min de extração, com a célula de transmissão com fibras ópticas.

A região do 1º sobretom do estiramento C-H do anel aromático fica bastante evidente, por volta de 1670 nm para o benzeno; em 1674 nm para o tolueno e etilbenzeno; 1676 nm para os xilenos. Com exceção do benzeno, os espectros dos hidrocarbonetos aromáticos mostrados nesta Figura são caracterizados pela presença de grupos metila (-

CH₃) ligadas ao anel aromático, sendo verificadas bandas de absorção atribuídas aos grupos metila na região de 2250 nm a 2400 nm.

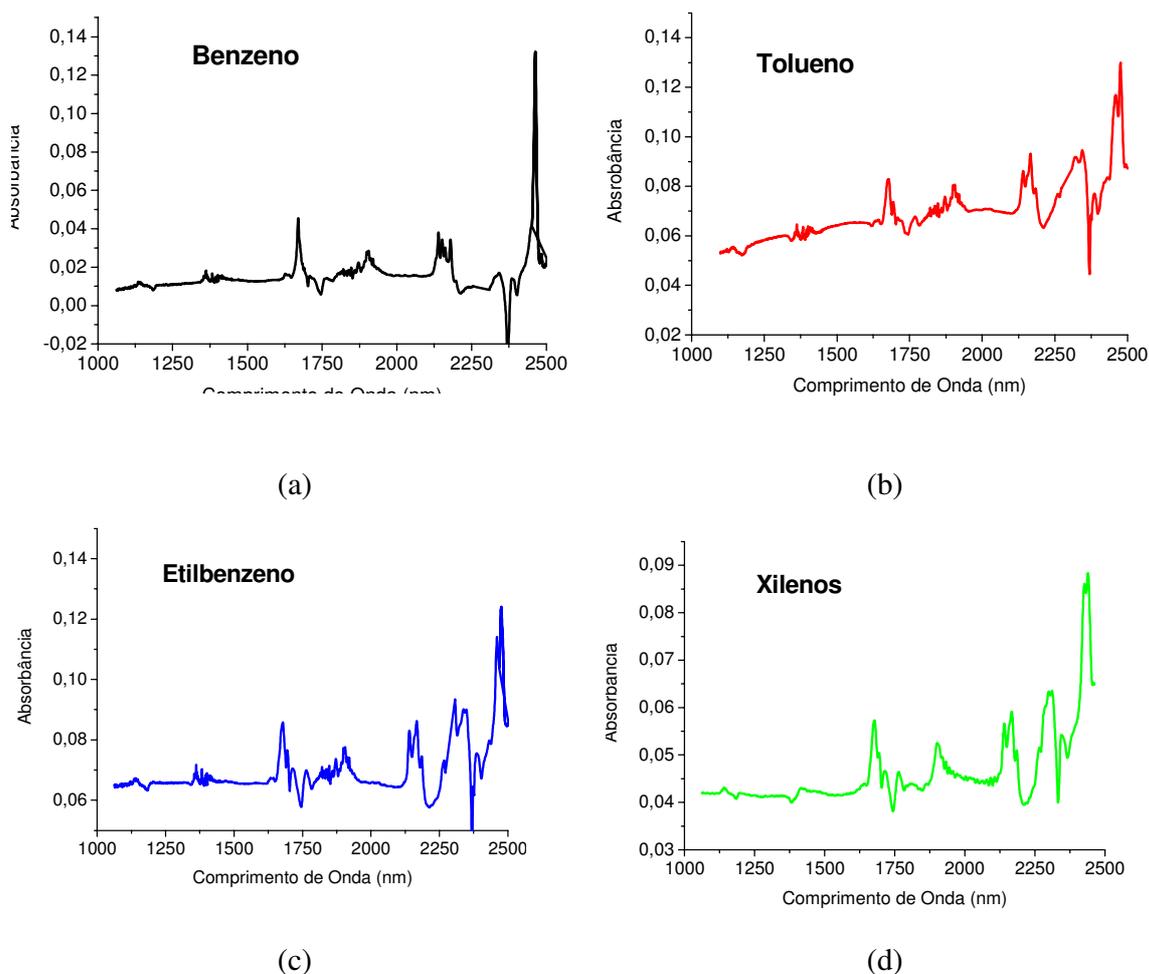


Figura I.18: Espectros NIR usando a fase sensora de PDMS de soluções aquosas de: (a) benzeno; (b) tolueno, (c) etilbenzeno; (d) xilenos. Tempo de 60 min em 80 mg L^{-1} .

I.4.2.2. – Posicionamento da Fase Sensora

A posição da fase sensora na célula de transmissão com fibras ópticas afeta a linha base do espectro, como pode ser visto na Figura I.19, que mostra espectros de absorvância

do benzeno, tolueno, etilbenzeno e xilenos. Após a extração, verifica-se que os compostos BTEX não absorvem radiação por volta de 1300 nm e, portanto, a variação da intensidade de sinal nessa região reflete o diferente posicionamento da fase sensora. Conseqüentemente, o valor de absorbância em 1297 nm pode ser tomado como referência para correção de linha base e todos os valores de absorbância foram obtidos pela diferença entre a intensidade de absorbância de interesse e o valor em 1297 nm.

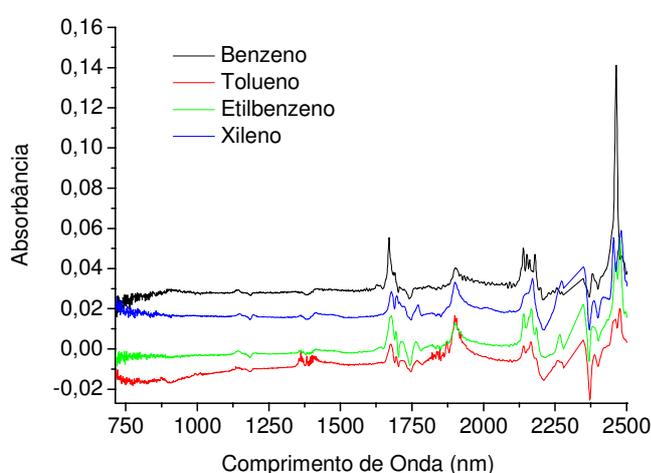


Figura I.19. Espectros do benzeno, tolueno, etilbenzeno e xilenos obtidos após a extração de uma solução 80 mg L^{-1} (caminho óptico de 2,0 mm, tempo de extração de 60 min e célula com fibras ópticas).

I.4.2.3. – Repetibilidade das Medidas

A operação de inserir e retirar a fase sensora na célula de transmissão com fibras ópticas foi realizada para avaliar a precisão das medidas em condições de repetitividade. Foram empregadas 20 fases sensoras de 2 mm que tiveram seus espectros NIR registrados utilizando o ar como referência, mostrados na Figura I.20.

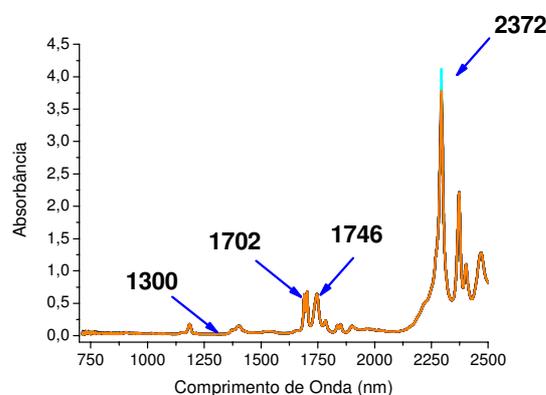


Figura I.20. Espectros NIR das 20 fases sensoras de PDMS empregando-se um caminho óptico de 2 mm na célula de transmissão com fibras ópticas.

Com base nesta Figura foram calculadas as médias das absorbâncias nos três comprimentos de onda mais intensos (1702, 1746 e 2372 nm) e em 1300 nm como mostradas na Tabela I.3.

Tabela I.3: Dados dos sinais analíticos obtidos para 20 fases sensoras

Comprimento de onda (nm)	Média (absorbância)	Desvio Padrão	Desvio Padrão Relativo (%)
1300	0,0231	0,0004	1,8
1702	0,61456	0,00015	0,02
1746	0,57247	0,00027	0,04
2372	2,0513	0,0053	0,3

Os resultados apresentados na Tabela I.3 mostram que, nos três comprimentos de onda mais intensos da fase sensora de PDMS, há uma boa precisão nas medidas de absorbância. Um desvio padrão relativo de 1,8% em 1300 nm reflete a influência do posicionamento da fase sensora nas medidas.

I.4.2.4. – Reprodutibilidade das Medidas

A reprodutibilidade do método proposto foi avaliada pela construção de três curvas analíticas para tolueno, na faixa de 0 – 80 mg L⁻¹, empregando-se a célula de transmissão com fibras ópticas, como mostra a Figura I.21. Duas destas curvas foram construídas no mesmo dia e uma após três dias com novas soluções padrão. Obteve-se um desvio padrão relativo de 5,8% associado a inclinação destas curvas.

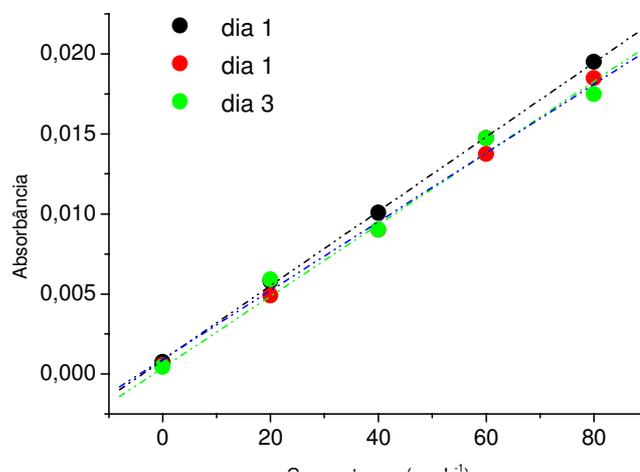


Figura I.21: Construção de três curvas analíticas obtidas para o tolueno, em dias diferentes, na água e em 1675 nm, empregando-se uma fase sensora de 2 mm, 60 minutos de extração e célula com fibras ópticas.

I.4.2.5. – Tamanho da Fase Sensora

Os monolitos de PDMS com alturas de 2,0, 5,0 e 10 mm, que definem o caminho óptico, foram avaliados em função das sensibilidades, estimadas pelos coeficientes angulares das curvas analíticas para o tolueno, construídas na faixa de 0 – 400 mg L⁻¹, empregando-se a célula de transmissão com fibras ópticas. Observa-se, na Tabela I.4, que a mais alta sensibilidade é obtida com um caminho óptico de 5 mm. O caminho óptico de 10

mm não apresentou um bom resultado devido à alta absorção de radiação pelo monolito de sílica.

Tabela I.4. Inclinação das curvas analíticas para o tolueno em função do caminho óptico.

Caminho óptico (mm)	Comprimento de Onda (nm)			
	1675	2140	2165	2183
2,0	$1,6 \times 10^{-4}$	$1,4 \times 10^{-4}$	$1,9 \times 10^{-4}$	$1,0 \times 10^{-4}$
5,0	$5,4 \times 10^{-4}$	$4,9 \times 10^{-4}$	$6,7 \times 10^{-4}$	$3,4 \times 10^{-4}$
10,0	$5,0 \times 10^{-5}$	$2,4 \times 10^{-5}$	$4,1 \times 10^{-5}$	$7,9 \times 10^{-5}$

I.4.2.6. – O Efeito *Salting Out*

O *salting out* é largamente empregado em SPME, onde a salinidade da solução reduz a solubilidade dos compostos orgânicos voláteis em água, enriquecendo a fase gasosa. Este efeito foi aplicado no presente trabalho com o objetivo de aumentar a detectabilidade do método. Experimentos realizados com a célula de transmissão com fibras ópticas, nos quais foram empregadas soluções aquosas de referência com $2,0 \text{ mol L}^{-1}$ de NaCl, em frascos com espaço confinante, mostraram que os hidrocarbonetos são transferidos preferencialmente para o ar, em vez de serem absorvidos pela fase sensora de PDMS. Além disso, foi verificado que o cloreto de sódio deve ser adicionado diretamente ao frasco de medida para minimizar as perdas dos compostos orgânicos voláteis para o ar durante a preparação da amostra. A Figura I.22 mostra três curvas analíticas obtidas em água, em solução de NaCl $2,0 \text{ mol L}^{-1}$ com e sem *headspace*, indicando que a sensibilidade do método pode ser melhorada se o *headspace* é evitado durante as medidas.

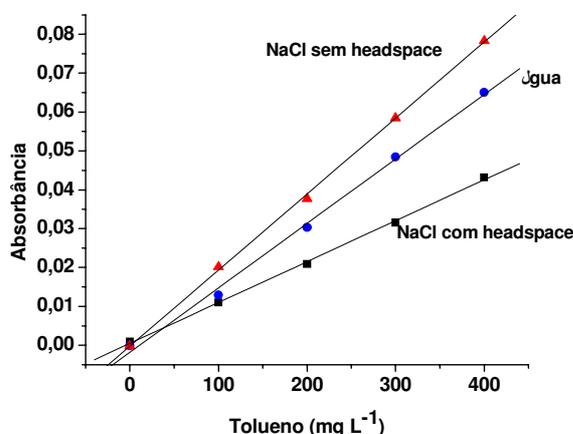


Figura I.22. Curvas analíticas para tolueno obtidas após sua extração em água, NaCl 2,0 mol L⁻¹ com e sem *headspace* (caminho óptico de 2,0 mm, extração por 60 min, 2165 nm e célula com fibras ópticas).

A Figura I.23 mostra o comportamento dos sinais obtidos para uma solução 400 mg L⁻¹ de tolueno, na qual a concentração de NaCl variou de 0 a 2 mol L⁻¹. Percebe-se que as intensidades dos sinais aumentam quando a concentração de sal também aumenta e que para concentrações maiores que 2,0 mol L⁻¹ há uma tendência de saturação. Embora sinais mais intensos possam ser obtidos com soluções de NaCl mais concentradas, o valor de 2,0 mol L⁻¹ foi escolhido, pois se mostra suficiente para demonstrar a aplicabilidade do sensor.

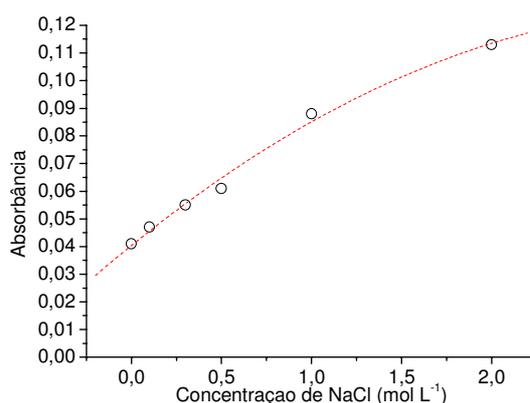


Figura I.23: Sinais de absorvância para medidas realizadas em 2165 nm com uma solução 400 mg L⁻¹ de tolueno em função da concentração de NaCl, empregando-se uma fase sensora de 2 mm com a célula de fibras ópticas.

I.4.2.7. – Limite de Detecção

Os limites de detecção foram estimados empregando-se a seguinte equação:

$$LD = \frac{3SD_{\text{referência}}}{b} \quad (\text{I.14})$$

Onde LD é o limite de detecção do método, $SD_{\text{referência}}$ é o desvio padrão da medida da referência e b é a inclinação da curva analítica construída para cada composto BTEX.

A Figura I.24 mostra as curvas analíticas obtidas para os compostos BTEX na faixa de 0 a 80 mg L⁻¹, cujas medidas foram realizadas em NaCl 2,0 mol L⁻¹, caminho óptico de 2 mm, fornecendo limites de detecção de 0,6; 0,7; 0,6; e 0,7 mg L⁻¹ para benzeno, tolueno, etilbenzeno e xileno, respectivamente (Figura I.24a). Limites de 1,1; 1,8; 1,1; e 1,1 mg L⁻¹, respectivamente, foram obtidos quando as soluções de referência foram preparadas em água sem adição de NaCl. Embora esses valores sejam mais altos do que outros descritos na literatura [30], deve ser enfatizado que podem ser melhorados, aumentando-se o tempo de extração de 60 min para 90 min, o caminho óptico da célula de transmissão de 2 mm para 5 mm, eliminando as fibras ópticas da célula ou aumentando a concentração de NaCl para concentrações maiores de 2 mol L⁻¹. Por exemplo, limites de detecção de 0,079; 0,1221; 0,1434 e 0,2769 mg L⁻¹ para benzeno, tolueno, etilbenzeno e xilenos, respectivamente, foram alcançados empregando-se um monolito de PDMS com 5 mm de comprimento, NaCl 2 mol L⁻¹, observados no comprimento de onda de 1675 nm (Figura I.24b).

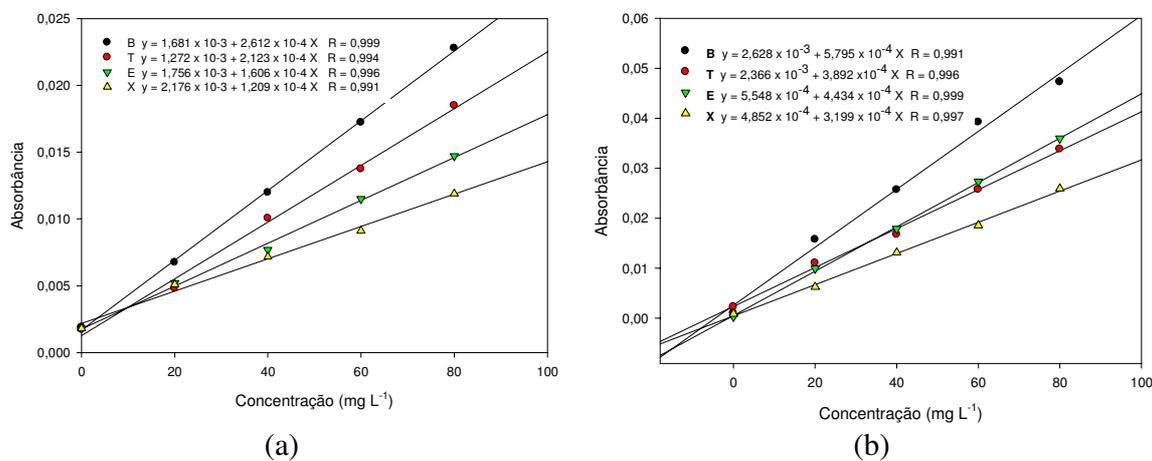


Figura I.24. Curvas analíticas obtidas em 2 mol L^{-1} NaCl para benzeno, tolueno, etilbenzeno e xilenos empregando-se a célula de transmissão com fibras ópticas num caminho óptico de: (a) 2 mm; (b) 5 mm.

I.4.3. – Célula Sem Fibras Ópticas

Foram construídas curvas analíticas para os compostos BTEX, como mostra a Figura I.25, através de um terceiro sistema de medidas, uma célula de transmissão sem fibras ópticas, como mostrado na Figura I.9c. Nesse caso, as condições de ajuste do posicionamento da célula e conseqüentemente, da fase sensora em relação ao feixe de radiação do instrumento foram otimizadas.

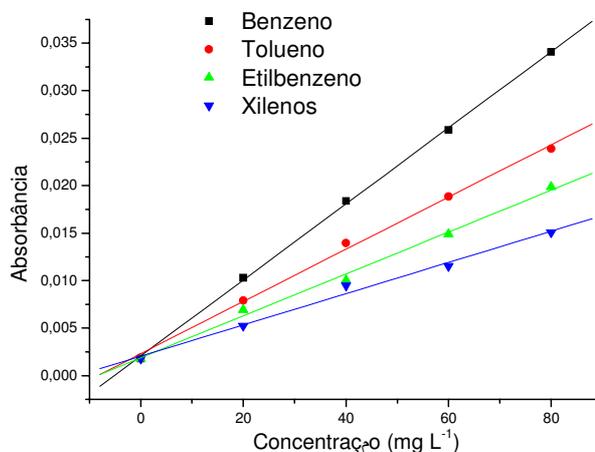


Figura I.25. Curvas analíticas obtidas em 2 mol L⁻¹ NaCl para benzeno, tolueno, etilbenzeno e xileno empregando-se a célula de transmissão na ausência de fibras ópticas com 2 mm de caminho óptico e 60 min, em 1675 nm.

Empregando-se a cela de transmissão sem fibras ópticas, 2 mm de caminho óptico, 60 min de extração e 2 mol L⁻¹ de NaCl foram obtidos limites de detecção de 0,1; 0,25; 0,34 e 0,58 mg L⁻¹ para benzeno, tolueno, etilbenzeno e xilenos, respectivamente. Além disso, a sensibilidade do método, empregando-se uma fase sensora de 2 mm, foi melhorada em 55% quando comparada com a célula de transmissão com fibras ópticas nas mesmas condições experimentais (2 mm de caminho óptico, 60 min de extração e 2 mol L⁻¹ de NaCl), como ilustrado na Figura I.26. Este fato evidencia que uma quantidade significativa de radiação é atenuada devido ao uso de fibras ópticas.

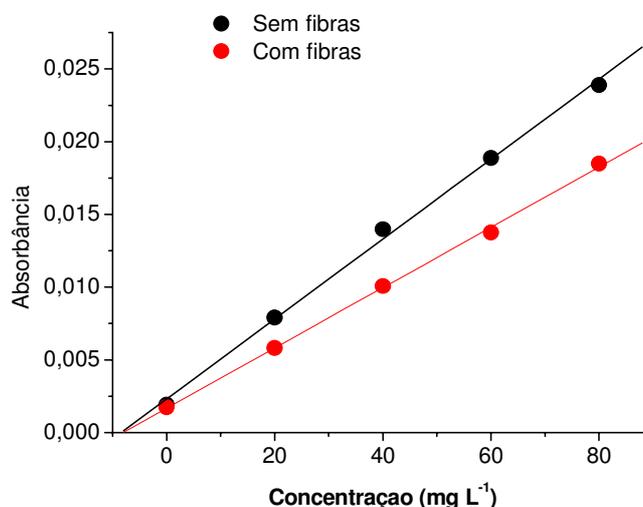


Figura I.26. Comparação de curvas analíticas obtidas em 2 mol L⁻¹ NaCl e 2 mm de caminho óptico para tolueno empregando-se a célula de transmissão com fibras ópticas e sem fibras.

No entanto, apesar do aumento de sensibilidade do método empregando-se a célula de transmissão sem fibras ópticas, a mesma não é viável para o desenvolvimento do fotômetro NIR.

I.4.4. – Amostras de Água Contaminadas por Gasolina

Foram determinadas as concentrações de BTEX presente em águas contaminadas com gasolinas comerciais do tipo A (sem adição de etanol) cedidas pela Central Analítica do Instituto de Química da Unicamp. Os resultados obtidos foram comparados com a técnica de cromatografia gasosa com ionização em chama (GC-FID) e extração por *headspace* estático. A Tabela I.5 mostra os valores de concentração de BTEX encontrados em três diferentes amostras de gasolinas comerciais, numa contaminação de 2,5 % (v/v) em água.

Tabela I.5. Resultados das concentrações (mg L^{-1}) obtidas por CG-FID na contaminação de água com amostras de gasolina sem álcool para os BTEX.

Amostras	Benzeno	Tolueno	Etilbenzeno	Xilenos
1	48 ± 8	74 ± 3	11 ± 2	4 ± 1
2	51 ± 6	71 ± 4	13 ± 1	4 ± 1
3	48 ± 7	76 ± 4	10 ± 2	4 ± 1

De acordo com a Tabela I.5, o tolueno é o composto que apresenta maior concentração nesse tipo de contaminação em águas. Este fato é atribuído a ele ser um dos compostos majoritários presentes em gasolinas comerciais e também a sua relativa mais alta solubilidade em água. O benzeno é o segundo em concentração, devido a sua elevada solubilidade em água, a maior entre os compostos estudados. Os demais compostos, etilbenzeno e xilenos, por possuírem menores solubilidades em água quando comparadas com os compostos benzeno e tolueno, apresentaram pequenos níveis de concentração.

Devido a questões de sensibilidade da técnica NIR, descrita anteriormente e as baixas concentrações de etilbenzeno e xilenos obtidas da contaminação real em águas, a aplicação do sensor óptico desenvolvido foi realizada apenas na determinação da quantidade total de benzeno e tolueno, que são os compostos majoritários neste nível de contaminação. Nesse sentido, foram construídas curvas analíticas contendo apenas os compostos benzeno e tolueno, numa proporção de 30:70, respectivamente. A Figura I.27a mostra os espectros NIR do benzeno e tolueno, nestas condições, medidos pelo sensor (5,0 mm, $2,0 \text{ mol L}^{-1}$ NaCl, durante 60 minutos cada extração, em 1675 nm) e a Figura I.27b a curva analítica referente para BT total (soma das concentrações de benzeno e tolueno).

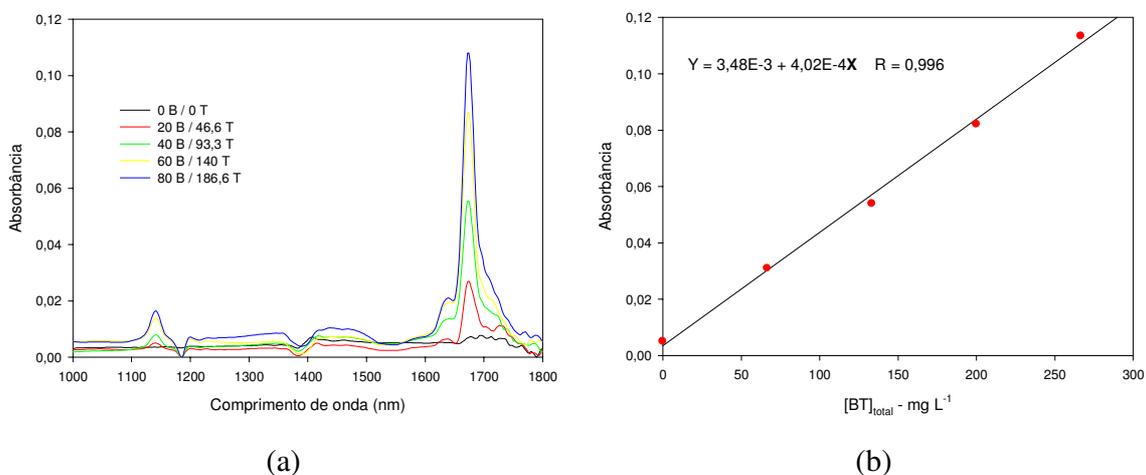


Figura I.27: (a) Espectros do benzeno e tolueno obtidos após a extração de diferentes concentrações (caminho óptico de 5,0 mm, tempo de extração de 60 min, 2 mol L^{-1} NaCl, célula com fibras ópticas); (b) Curva analítica obtida para a extração dos compostos benzeno e tolueno (BT total) em diferentes concentrações.

Em seguida, realizando o mesmo procedimento adotado para construção da curva analítica benzeno e tolueno total, foram inseridas as fases sensoras nas águas contaminadas por gasolina, as quais foram determinadas pelo método cromatográfico. A Figura I.28 mostra um espectro NIR obtido a partir da fase sensora, para uma das amostras de água contaminada após a etapa de extração.

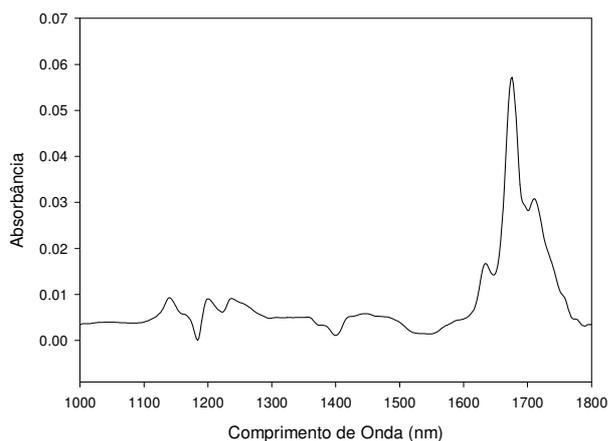


Figura I.28: Espectro NIR da água contaminada por gasolina A obtidos com a fase sensora (caminho óptico de 5,0 mm, tempo de extração de 60 min, 2 mol L^{-1} NaCl e célula de transmissão).

A Tabela I.6 apresenta os resultados para três determinações do teor de benzeno e tolueno total presentes em uma amostra de água contaminada empregando o sensor óptico desenvolvido. Estes resultados foram comparados com os valores obtidos pela técnica cromatográfica. Através de testes t, não foram observadas diferenças estatisticamente significativas, no nível de 95% de confiança, entre os dois métodos.

Tabela I.6: Determinação total de Benzeno/tolueno (mg L^{-1}) em águas pelo método proposto e por Cromatografia Gasosa em 3 amostras de águas contaminadas por gasolina A.

Amostras	Sensor Óptico	Cromatografia Gasosa
1	128 ± 11	122 ± 8
2	126 ± 11	122 ± 7
3	129 ± 14	124 ± 8

I.4.5. – Determinação Simultânea de BTX Empregando o Sensor Óptico

Os níveis de concentração para os analitos, definidos segundo o planejamento Doehlert, foram selecionados tendo como base as concentrações estimadas por Cromatografia Gasosa dos compostos BTEX em águas contaminadas por gasolina. Inicialmente foi realizada a calibração para os quatro analitos (BTEX). Entretanto, para o composto etilbenzeno, os modelos construídos não apresentaram resultados confiáveis, demonstrado pelos altos erros de previsão. Este fato pode estar associado a baixa concentração encontrada do etilbenzeno nas amostras de água contaminadas por gasolina.

Com isto, o etilbenzeno permaneceu fora do planejamento de calibração, resultando em três analitos (agora, BTX), no qual o novo planejamento Doehlert requer a realização, no mínimo de 13 misturas. Assim, foram preparadas 13 misturas, conforme definido pelo planejamento Doehlert, acrescidas de 44 misturas que representam pontos internos adicionais a matriz Doehlert de planejamento, constituindo um total de 57 misturas. O

conjunto de calibração foi composto por 35 misturas (13 misturas definidas pelo planejamento Doehlert acrescidas de 22 misturas internas adicionais escolhidas ao acaso) e 22 misturas foram utilizadas para compor o conjunto de validação externo.

Foram avaliadas várias técnicas de pré-processamentos espectral, como a utilização de filtros digitais do tipo Savitzky-Golay, espectros de primeira e segunda derivada (empregando o algoritmo Savitzky-Golay) com diferentes janelas. No entanto, os melhores resultados a este conjunto de dados corresponderam aos espectros derivativos de 1ª ordem com filtro Savitzky Golay (janela de 21 pontos). Os modelos de calibração (PLS e PCR) foram construídos usando uma faixa espectral correspondente a região de 1100 a 2250 nm, eliminando duas regiões espectrais bastante ruidosa (entre 815 nm – 1100 nm e 2250 nm – 2500 nm).

Dessa forma, os espectros NIR originais e derivativos pela 1ª derivada (Savitzky Golay, janela de 21 pontos) para as 57 misturas de BTX são mostrados na Figura I.29a e Figura I.29b. Os espectros obtidos no infravermelho próximo apresentaram um acentuado desvio de linha base entre as amostras, que pode ser visualizado na Figura I.29a e que foram corrigidos com aplicação da 1ª. derivada.

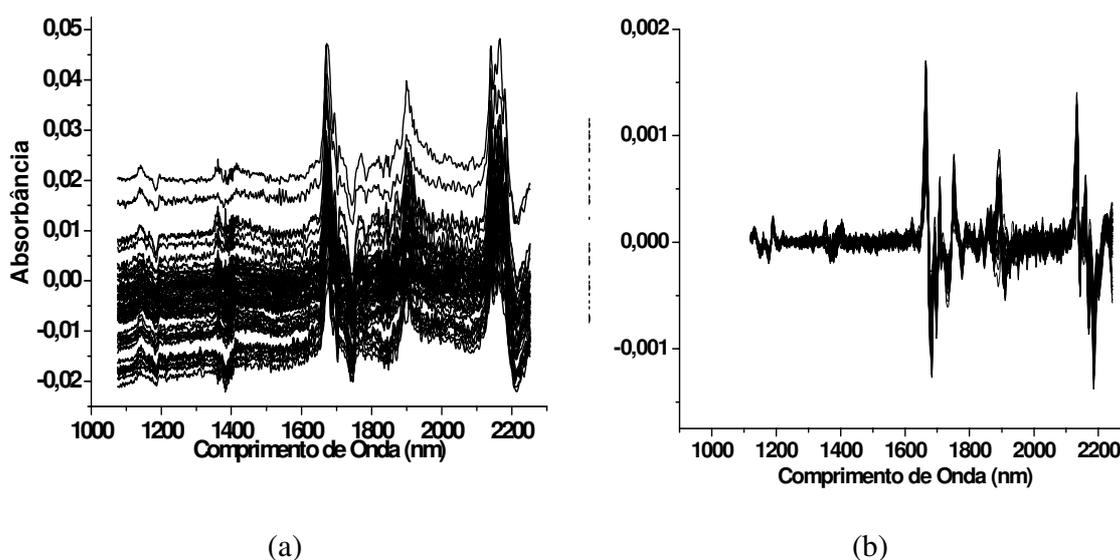


Figura I.29. (a) Conjunto de 57 espectros NIR da mistura BTX; (b) Espectro NIR da 1ª derivada (Savitzky Golay, janela de 21 pontos) das 57 misturas dos compostos BTX. (caminho óptico de 5,0 mm, NaCl 2 mol L⁻¹, extração por 60 min e célula com fibras ópticas).

A avaliação dos modelos construídos foi realizada considerando os seguintes parâmetros de desempenho: i) menor RMSEP, equação I.15, (raiz quadrada do erro médio quadrático de previsão; ii) coeficiente de correlação (R^2) o mais próximo de um e iii) complexidade do modelo, avaliada pelo número de variáveis latentes. Levando em consideração estes fatores, que são mostrados na Tabela I.7, pode-se concluir que dentre os modelos construídos, aquele que apresentou os melhores resultados foi o método PLS.

Tabela I.7: Número de variáveis latentes (VL) dos modelos PLS e PCR construídos para o benzeno, tolueno e xilenos; RMSEP; coeficientes de determinação (R^2) para a reta construída com os valores previstos pelo modelo na validação externa e os valores de referência.

Parâmetros	Benzeno		Tolueno		Xilenos	
	PLS	PCR	PLS	PCR	PLS	PCR
VL	4	5	4	8	7	8
RMSEP (mg L ⁻¹)	0,57	1,17	2,21	1,93	1,23	2,19
R^2	0,99	0,99	0,97	0,98	0,90	0,72

A Figura I.30 mostra os valores de concentração previstos pelo modelo PLS dos compostos benzeno, tolueno, xilenos e BTX total para as 35 amostras usadas na calibração e as 22 amostras usadas na validação externa. Observa-se que existe uma boa concordância entre os valores previstos e medidos para todos os casos estudados. Analisando-se os resultados obtidos nas determinações simultâneas dos hidrocarbonetos e dos BTX total pode-se dizer que é possível a utilização da fase sensora de PDMS para analisar águas contaminadas por BTX. Observa-se que os erros médios quadráticos de previsão (RMSEP) obtidos na determinação simultânea de BTX e hidrocarbonetos totais são baixos, podendo ser aplicados a uma contaminação real destes compostos em águas.

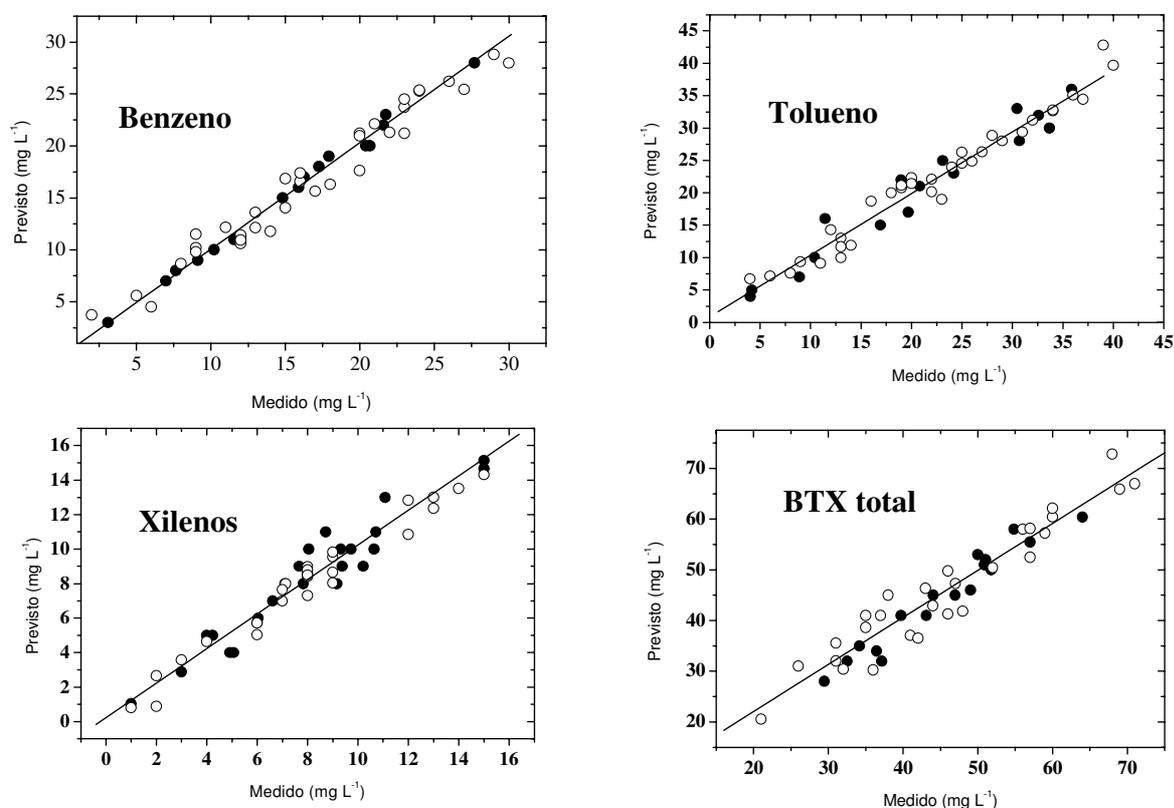


Figura I.30: Resultados comparativos na determinação da concentração de BTX e BTX total a partir do modelo PLS empregando-se um conjunto externo (●) e um conjunto de calibração (○). Caminho óptico de 5,0 mm, NaCl 2 mol L⁻¹, extração por 60 min e célula com fibras ópticas.

Para a determinação de BTX total, os modelos de calibração PLS e PCR foram avaliados utilizando-se os mesmos critérios empregados para a determinação simultânea de BTX, ou seja, o menor valor de RMSEP, o valor do R^2 mais próximo de 1 e menor número de variável latente. Com base nestes parâmetros, mostrados na Tabela I.8, os resultados obtidos para os modelos PLS e PCR foram muito semelhantes. Porém, os modelos PLS também apresentaram melhores resultados.

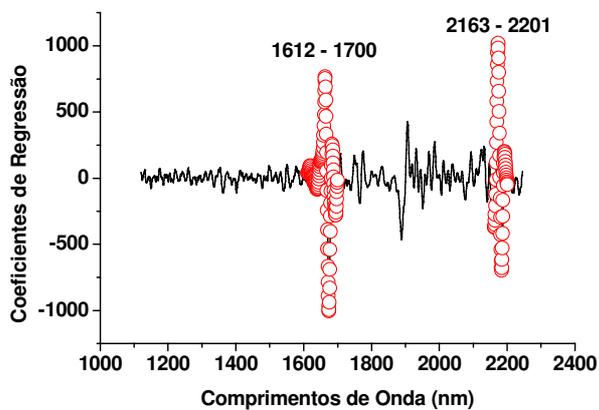
Tabela I.8: Número de variáveis latentes (VL) dos modelos PLS e PCR construídos para hidrocarbonetos totais; RMSEP; coeficientes de determinação (R^2) para a reta construída com os valores previstos pelo modelo na validação externa e os valores de referência.

Modelo	VL	RMSEP mg L ⁻¹	R ²
PLS	2	2,32	0,969
PCR	3	4,38	0,966

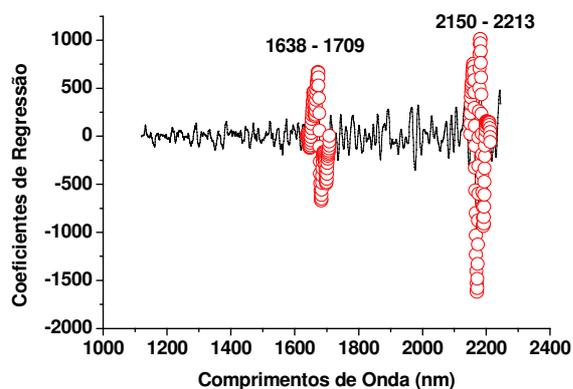
I.4.6. – Construção e Avaliação do Fotômetro

I.4.6.1. - Escolha de LED para o Fotômetro no Infravermelho Próximo

A análise dos coeficientes de regressão obtidos a partir do modelo PLS, principalmente nas regiões compreendidas ente 1660 nm a 1750 nm e 2092 nm a 2220 nm, conforme mostrados na Figura I.31, indicaram os comprimentos de onda mais informativos para a construção do modelo e serviram de guia para escolha dos LED do fotômetro NIR.



(a)



(b)

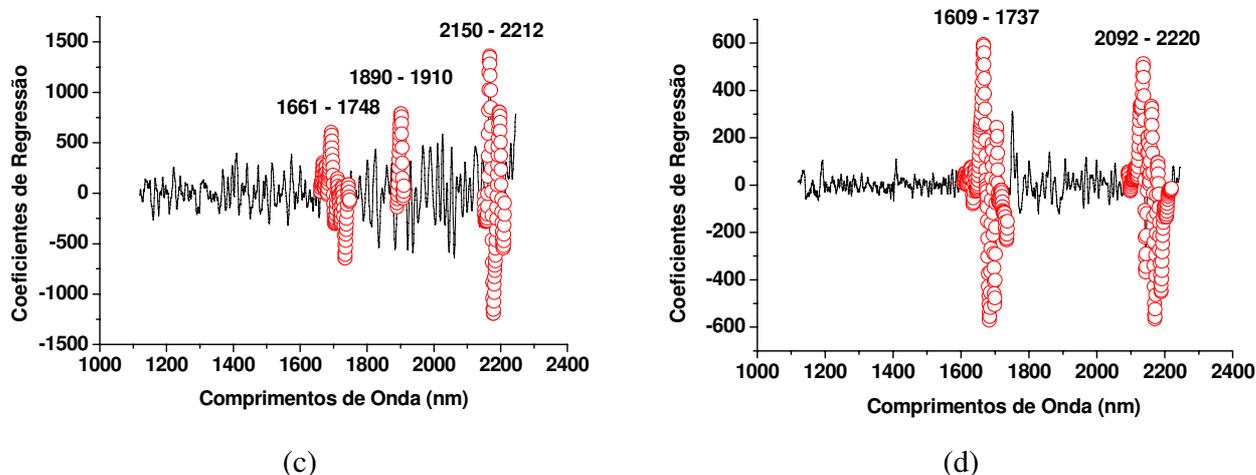


Figura I.31: Gráfico dos coeficientes de regressão obtidos pelo modelo PLS para cada um dos casos estudados. (a) benzeno; (b) tolueno; (c) xilenos; (d) BTX total. Caminho óptico de 5,0 mm, NaCl 2 mol L⁻¹, extração por 60 min e célula com fibras ópticas.

De acordo com a disponibilidade do mercado de LED e com as informações espectroscópicas dos compostos BTEX no NIR foram selecionados os seguintes LED: 1200, 1300, 1500, 1650, 2150 e 2350 nm. Os LED correspondentes a 1200 nm e 1300 nm seriam utilizados para correção do posicionamento da fase sensora na célula de medidas e os demais LED seriam aqueles que apresentam informações espectrais dos compostos BTEX no NIR.

I.4.6.2. – Espectros de Emissão e Perfis de Resposta dos LED em Função do Número de Leituras

Com o auxílio de um espectrofotômetro desenvolvido em nosso laboratório, os espectros de emissão dos seis LED foram obtidos. A Figura I.32 mostra o perfil dos espectros dos LED após normalização. Estes seis LED apresentam emissões NIR nas regiões mais informativas para tal aplicação.

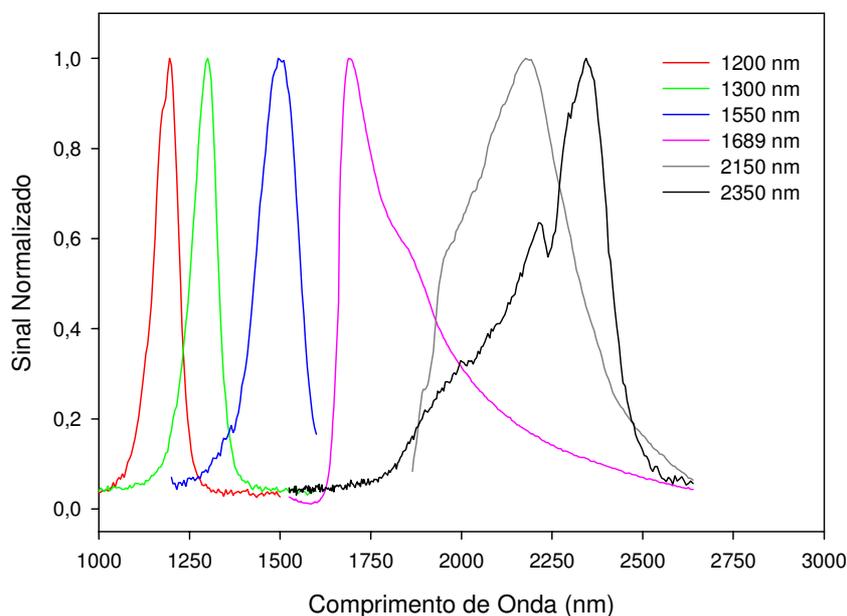


Figura I.32: Espectros de emissão de seis LED normalizados na região NIR.

A Tabela I.9 apresenta os comprimentos de onda nos picos de emissão e as larguras efetivas de banda a meia altura encontradas para cada um dos dispositivos. Os comprimentos de onda nominais (indicados pelos fabricantes) também são apresentados nesta Tabela. Os resultados mostrados na Tabela I.9 mostram pequenos desvios, menores que 2 %, para os comprimentos de onda dos seis LED em relação aos valores nominais. As variações em relação aos comprimentos de onda nominais podem ser atribuídas a possíveis não uniformidades nos processos de fabricação e/ou à calibração do espectrofotômetro. No entanto, as larguras de banda a meia altura para os LED de maiores comprimentos de onda (1689 nm, 2150 nm e 2350 nm) são maiores que os demais, mostrando uma perda da monocromaticidade destes LED.

Tabela I.9: Comprimentos de onda nos picos de emissão e larguras de banda a meia altura para os LED empregados no fotômetro.

Comprimento de onda nominal (nm)	Comprimento de onda encontrado (nm)	Erro relativo (%)	Largura efetivas de banda a meia altura (nm)
1200	1197	-0,25	100
1300	1301	+0,07	100
1550	1504	+0,26	180
1650	1689	+1,78	240
2150	2186	+1,64	373
2350	2344	-0,25	248

Os perfis intensidade de emissão *versus* número de leituras para todos os LED foram traçados a partir dos sinais encontrados nos picos de emissão de 1000 leituras obtidas logo após o acionamento dos emissores de forma seqüencial. A Figura I.33 mostra o perfil de intensidade para o LED com emissão máxima em 1689 nm. Para estes dispositivos, a intensidade dos LED torna-se constante depois que seu valor mínimo é atingido. O sinal em tempo “zero” foi obtido imediatamente após o acionamento do LED. Foi detectado que a intensidade do sinal decresce cerca de 4,1% após alcançar o seu valor máximo, atingindo a estabilidade por volta de 80 s após o acionamento.

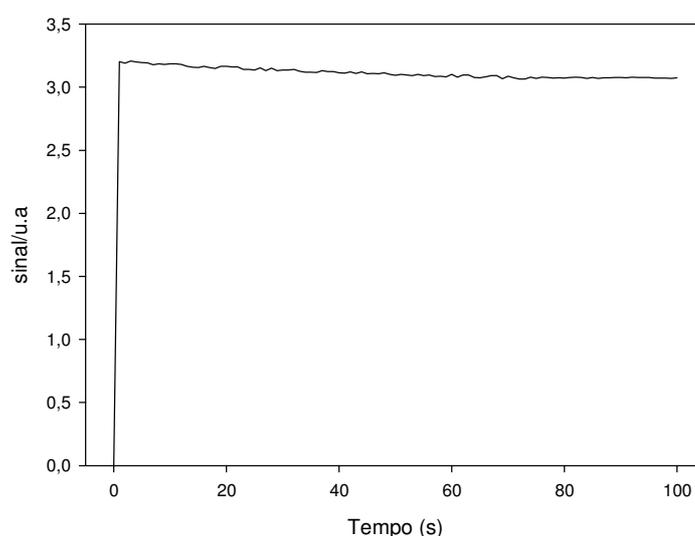


Figura I.33: Perfil de intensidade vs tempo para LED com emissão em 1689 nm.

I.4.6.3. – LED Empregados para Aplicação do Fotômetro

Conforme discutido, os picos de absorção mais intensos encontrados para os compostos BTEX no NIR são 1675 nm, 2140 nm, 2165 nm e 2340 nm. Como foi notado que os compostos BTEX não absorvem radiação por volta de 1300 nm e que a variação da intensidade do sinal nessa região reflete apenas o posicionamento da fase sensora, seria necessário o emprego de mais um LED.

Dessa forma, foi avaliado, inicialmente, o comportamento dos LED com emissão máxima em 1689 nm no fotômetro utilizando a célula de medidas com fase sensora de PDMS (5 mm de caminho óptico). Aqueles com emissão 1500, 2150 nm e 2350 nm apresentaram valores de intensidades extremamente baixos, indicando que praticamente toda a radiação emitida era absorvida pela fase sensora. Por esta razão, estes LED não foram utilizados nesta aplicação. O comportamento do LED com intensidade máxima em 1689 nm forneceu intensidades maiores e foi útil na construção do fotômetro devido a ser uma região no espectro NIR que está relacionado com o 1º. sobreton do estiramento C-H dos compostos BTEX.

O comportamento dos LED com emissão máxima em 1200 nm e 1300 nm foram semelhantes aos observados para o de 1689 nm. Como foram realizadas as curvas analíticas no espectrofotômetro para determinação de BTEX utilizando apenas os comprimentos de onda (1300 nm e 1675 nm), foram selecionados para esta aplicação, os LED com intensidade máxima em 1300 nm e 1689 nm. Portanto, o LED com emissão máxima em 1300 nm foi empregado na construção das curvas analíticas dos compostos BTEX no fotômetro como sinal de referência e o LED com intensidade máxima de emissão em 1689 nm foi empregado para o sinal dos analitos.

I.4.6.4. – Posicionamento da Fase Sensora

O posicionamento da fase sensora na célula de medidas construída para o fotômetro NIR foi avaliada observando-se os valores de absorvância nos dois LED selecionados, ou seja, 1300 e 1689 nm. Todas as fases sensoras utilizadas nesta etapa, com caminho óptico fixo de 5 mm, apresentaram uma marcação com o auxílio de um cortador na extremidade da fase sensora. Dessa forma, as fases sensoras foram posicionadas na célula de medidas sempre na mesma posição, tanto para os espectros de referência, como para os da amostra, tornando a medida reprodutível. O cálculo dos desvios das absorvâncias nos dois LED (1300 nm e 1689 nm), para dez determinações, revelou desvios padrão relativo de 1,8% e 1,3%, respectivamente, indicando uma boa precisão nas medidas.

I.4.6.5. – Precisão

A precisão do método proposto utilizando-se o fotômetro NIR foi avaliada pela construção de três curvas analíticas para tolueno, na faixa de 0 – 400 mg L⁻¹, empregando-se a célula de transmissão com fibras ópticas, como mostra a Figura I.34, obtendo-se uma inclinação média com desvio padrão relativo de 11,8 % e para o coeficiente linear, um desvio padrão relativo de 7,64%. Cada uma destas curvas foi construída em dias diferentes e com novas soluções padrão. Estes resultados indicam que o método proposto necessita de calibração diária, principalmente, devido às inclinações das curvas analíticas serem elevadas.

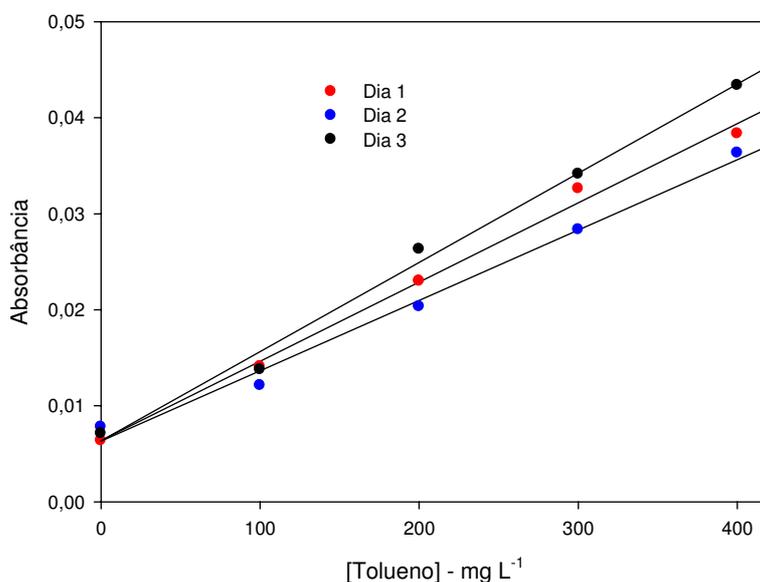
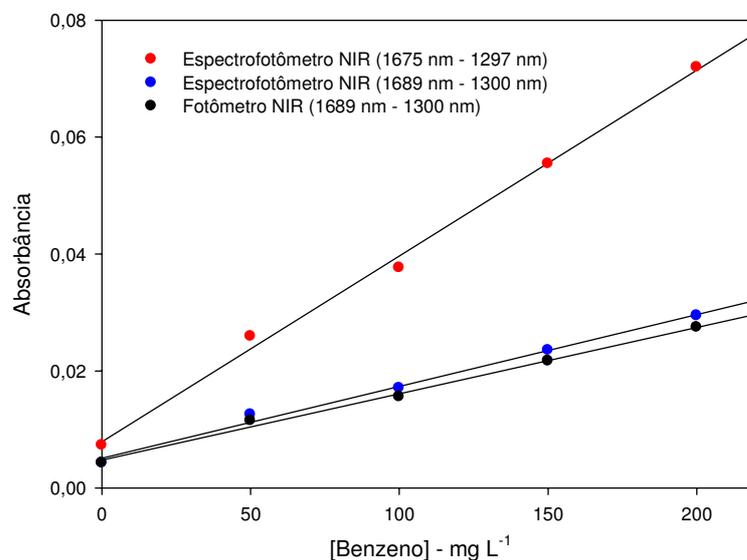


Figura I.34: Construção de três curvas analíticas obtidas para o tolueno, em dias diferentes, extração de 60 minutos, NaCl 2 mol L⁻¹, empregando-se uma fase sensora de 5 mm.

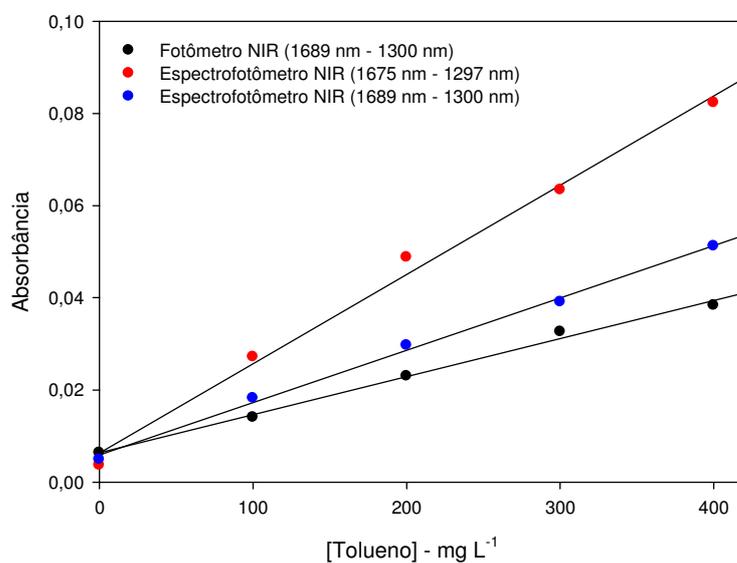
I.4.6.6. – Sensibilidade

Foram construídas curvas analíticas para os compostos benzeno e tolueno utilizando o fotômetro nas seguintes condições experimentais: caminho óptico de 5 mm, 2 mol L⁻¹ NaCl e tempo de 60 minutos de extração dos compostos. Neste caso, para comparação da sensibilidade, foram realizadas as medidas em dois instrumentos: fotômetro NIR e pelo instrumento comercial (FT-NIR) de forma seqüencial. Após o registro do sinal pelo fotômetro empregando-se os LED em emissão máxima em 1689 nm e 1300 nm, a fase sensora foi retirada da célula de transmissão do fotômetro e imediatamente inserida numa outra célula de transmissão semelhante acoplada ao espectrofotômetro comercial para o registro dos espectros. A Figura I.35a mostra as curvas analíticas obtidas para os compostos benzeno na faixa de 0 a 200 mg L⁻¹ e na Figura I.35b para o tolueno na faixa de 0 a 400 mg L⁻¹. Para efeito comparativo, são mostrados os dados referentes às determinações realizadas

em 1675 nm, que expressa exatamente o comprimento de onda de máxima absorção da banda do 1º sobreton do estiramento C–H dos compostos estudados.



(a)



(b)

Figura I.35. Comparação de curvas analíticas obtida para o benzeno (a) e tolueno (b) construídas pelo fotômetro e espectrofotômetro empregando-se uma fase sensora de PDMS contendo caminho óptico de 5 mm, 2 mol L⁻¹ NaCl e tempo de extração de 60 minutos.

Conforme pode se observar nas Figuras acima, a sensibilidade obtida pelo espectrofotômetro em 1675 nm é aproximadamente 2,6 maior para benzeno e 1,7 vezes maior para tolueno quando comparados aos resultados obtidos observando o máximo de emissão do LED em 1689 nm. Comparando as sensibilidades entre os dois instrumentos em 1689 nm, de acordo com a Tabela I.10, conclui-se que a sensibilidade referente aos dois instrumentos é bastante semelhante. Idealmente, a sensibilidade seria bastante melhorada se o máximo de emissão do LED estivesse exatamente em 1675 nm.

Tabela I.10: Comparação dos coeficientes angulares obtidos pelas curvas analíticas do benzeno e tolueno para ambos os instrumentos de medidas: espectrofotômetro e fotômetro em 1689 nm.

Compostos	Instrumentos	
	Espectrofotômetro	Fotômetro
Benzeno	$1,22 \times 10^{-4}$	$1,13 \times 10^{-4}$
Tolueno	$1,13 \times 10^{-4}$	$8,25 \times 10^{-5}$

Além disso, os limites de detecção para os compostos benzeno e tolueno, para o fotômetro NIR, foram calculados a partir das curvas analíticas mostrada na Figura I.35, como sendo 1,2 e 1,7 mg L⁻¹, respectivamente.

I.4.6.7. – Amostra de Água Contaminada por Gasolina

Para avaliar o comportamento do fotômetro NIR desenvolvido frente a um nível de contaminação real foram contaminadas amostras de água com gasolina do tipo A (proporção de 2,5 % (v/v)). A Tabela I.11 apresenta os resultados para três amostras em triplicata do teor de benzeno e tolueno total empregando o sensor óptico desenvolvido para os dois instrumentos: Fotômetro NIR e Espectrofotômetro, ambos em 1689 nm.

Tabela I.11: Determinação de Benzeno/tolueno total (mg L^{-1}) em águas por diferentes instrumentos em 1689.

Amostras	Fotômetro NIR	Espectrofotômetro NIR
1	156 ± 11	149 ± 14
2	145 ± 16	140 ± 10
3	157 ± 14	147 ± 11

Realizando-se testes t para comparar as médias dos resultados obtidos com os dois instrumentos (Fotômetro e Espectrofotômetro) observa-se que, a um nível de confiança de 95%, não são evidenciadas diferenças estatisticamente significativas. Portanto, o fotômetro NIR a base de LED pode ser considerado uma alternativa viável, de baixo custo, que pode ser utilizado na determinação de benzeno e tolueno totais em águas.

CAPÍTULO II

Sensor Óptico para Determinação de Íons Metálicos em Águas

“Há oito dias descobri que o enxofre ganha massa, na combustão, ao invés de perdê-la, portanto é possível dizer que a partir de uma libra de enxofre pode-se obter mais de uma libra de ácido vitriólico, considerando que este ácido tenha sido produzido pela mistura do enxofre com o ar. O mesmo ocorre com o fósforo. O aumento de massa provém da extraordinária quantidade de ar que é fixada durante a combustão. Esta descoberta, demonstrada através de experimentos que considero decisivos, me fez crer que o que é observado na combustão do enxofre e do fósforo poderia muito bem ocorrer no caso de todos os corpos que ganham massa na combustão ou na calcinação [...] Os experimentos confirmaram plenamente as minhas conjecturas.”

Antoine-Laurent Lavoisier

II.1. – Introdução

II.1.1. – Contaminações de Íons Metálicos no Meio Ambiente

Os íons metálicos, entre eles Cu(II), Hg(II), Pb(II), Cr(III), surgem nas águas naturais devido aos lançamentos de efluentes industriais tais como os gerados em indústrias extrativistas de metais, indústrias de tintas e pigmentos e, especialmente, as galvanoplastias, que se espalham em grande número nas periferias das grandes cidades. Além destas, estes íons podem ainda estar presentes em efluentes de indústrias químicas, indústrias de couros, peles e produtos similares, indústrias do ferro e do aço, lavanderias e indústria de petróleo. Os íons metálicos constituem contaminantes químicos nas águas, pois em pequenas concentrações trazem efeitos adversos à saúde [63].

O lançamento de alguns íons metálicos em ambientes aquáticos pode afetar o comportamento (químicos, físicos e biológicos) tanto do corpo receptor, como do próprio íon metálico. Dependendo das condições ambientais, o íon metálico pode variar a densidade, a diversidade, a estrutura da comunidade e a composição das espécies de populações existentes no ambiente aquático. O grau de variação dependerá amplamente da concentração destes íons na água, por exemplo. As alterações nas características do meio aquático pelo aporte de íons metálicos por fontes antropogênicas podem provocar efeitos deletérios à biota aquática [64].

Geralmente os metais-traço são persistentes, tóxicos, bioacumulativos e estão cada vez mais presentes em ambientes aquáticos, em função de atividades antrópicas. Em ambientes aquáticos os metais-traços existem em solução na forma de íons hidratados livres ou complexados por ligantes orgânicos e inorgânicos. Podem ainda estar presentes na forma sólida, devido a várias associações com sedimentos ou material particulado suspenso. Os metais diferenciam-se dos compostos orgânicos tóxicos, por serem absolutamente não-degradáveis, de maneira que podem se acumular nos componentes do ambiente onde manifestam sua toxicidade [65].

O desenvolvimento de procedimentos analíticos que permitam determinar íons metálicos em águas é de extremo interesse e vem sendo objeto de estudo em química analítica. Portanto, a importância do monitoramento de íons, tais como Cd(II), Hg(II), Cu(II), Pb(II), dentre outros, em águas, é devido as suas características nocivas ao desenvolvimento normal das espécies animais e vegetais e, sobretudo, das capacidades de bioacumulação e biomagnificação que alguns destes metais apresentam.

II.1.2. – Técnicas Analíticas para Determinação de Íons Metálicos em Águas

Algumas técnicas para determinação de metais em águas são comumente empregadas. Entre elas, incluem a espectrometria de absorção atômica (AAS) (do inglês, “atomic absorption spectroscopy”) [66], espectroscopia de absorção atômica acoplada com espectrometria de massas (ICP-MS) (do inglês, “inductively coupled plasma mass spectrometry”) [67], espectrometria de emissão atômica com plasma acoplado indutivamente (ICP OES) (do inglês, “inductively coupled plasma optical emission spectrometer) [68], espectrofotometria na região UV-VIS [69] e voltametria [70].

De forma geral, a maioria destas técnicas apresenta algumas vantagens, tais como:

- ✓ determinação de elementos em baixas concentrações, presentes numa variedade de amostras, sejam estas líquidas, sólidas, em suspensão, e até mesmo gasosas, podendo estar associada a sistemas de análise em fluxo e permitir estudos de especiação;
- ✓ baixos limites de detecção;
- ✓ elevadas sensibilidades;
- ✓ elevadas faixa de trabalho;

- ✓ análise multielementar, podendo determinar dezenas de elementos em uma única operação;

Dentre algumas desvantagens apresentadas por estas técnicas, destacam-se:

- ✓ altos custos e pessoal especializado;
- ✓ necessidade de, algumas vezes, realizar etapas de pré-concentração e pré-tratamento das amostras;
- ✓ dificuldade no monitoramento de determinações *on-line* ou *in-field*;

O desenvolvimento de sensores químicos, que são dispositivos pequenos, robustos, portáteis, de fácil manipulação e que não necessitam da adição contínua de reagentes para a sua operação podendo, assim, fornecer informações confiáveis continuamente. Isto tem atraído o interesse de químicos, biólogos, bioquímicos e químicos ambientais nos últimos anos para a quantificação de espécies biológica e ambientalmente importantes, especialmente os íons metálicos.

O sensor químico tem sido um elemento chave na instrumentação analítica dispensando, em muitos casos, a utilização de instrumentos complexos e a necessidade de uma enorme infra-estrutura de suporte. De maneira geral, as características de um sensor químico ideal são: reversibilidade e respostas rápidas, alta seletividade e sensibilidade, reprodutibilidade, baixo custo e portabilidade.

Uma classe importante de sensores químicos empregada na determinação de íons metálicos em águas são os sensores eletroquímicos. Estes têm apresentado maior desenvolvimento nos últimos anos, devido à crescente necessidade de testes analíticos simples, rápidos e baratos para a determinação de compostos químicos e biológicos em concentrações muito baixas. Os principais sensores eletroquímicos podem ser classificados como: potenciométricos, amperométricos, voltamétricos e condutométricos. Os sensores potenciométricos, por exemplo, apresentam uma fase sensora que é geralmente uma

membrana íon-seletiva no qual encontra-se o reagente seletivo à espécie de interesse. Estes sensores mostram vantagens importantes como baixo custo, precisão, possibilidade de determinação seletiva de várias espécies, entre outras.

Na continuação de sensores químicos, a seguir, serão considerados outros tipos de sensores químicos, os chamados de sensores químicos de fibras ópticas.

II.1.3. – Sensores Químicos de Fibras Ópticas

Outra classe de sensores químicos, os sensores químicos de fibras ópticas, também conhecidos como optodos ou optodos, têm sido empregados na determinação de íons metálicos em águas. Nestes sensores, a luz de uma fonte apropriada é introduzida em uma fibra óptica e é guiada para interagir com a fase sensora. Esta interação resulta numa alteração do sinal óptico (que está relacionado com a informação química desejada). Em seguida, o sinal retorna pela mesma ou por outra fibra e é conduzida até um sistema de detecção de luz, para ser medido.

Os optodos oferecem vantagens [71,72] relacionadas às propriedades inerentes destes sensores, como não necessitar de um sinal de referência; não sofrem interferências elétricas ou eletromagnéticas; são seguros para monitoramento *in vivo*; permitem a transmissão de sinais ópticos a grandes distâncias; realizam detecção em ambientes perigosos, tóxicos, radioativos ou em locais de difícil acesso. São facilmente miniaturizáveis, o que constitui uma vantagem em termos de concepção de dispositivos portáteis para análise *in vivo* e também quando se dispõe de volume reduzido da amostra. Adicionalmente, podem responder a mais de um analito simultaneamente, usando vários reagentes imobilizados, com resposta em diferentes comprimentos de onda [73].

Os sensores ópticos também apresentam inconvenientes, sofrendo interferência da radiação ambiente, o que obriga, muitas vezes, à modulação do sinal; os reagentes

utilizados são suscetíveis a sofrerem fotodecomposição e lixiviação, o que limita o tempo de vida do sensor [74]; o número de reações reversíveis é limitado, necessitando regenerar o sinal de referência a cada medida; apresentam uma faixa de resposta limitada, exceto para a transdução fluorimétrica. Apesar dessas limitações, os sensores ópticos configuram-se como uma alternativa promissora aos procedimentos convencionais e têm sido largamente aplicados em diferentes áreas.

Com relação à função exercida pela fibra óptica, os sensores podem ser classificados como extrínsecos (Figuras II.1a e II.1b) ou intrínsecos (Figura II.1c). Nos sensores extrínsecos, o reagente pode estar posicionado na extremidade da fibra, que serve apenas para conduzir a luz da fonte até a fase reagente e, então, retornar com o sinal até o detector. Nos sensores intrínsecos, a fase reagente está localizada no corpo da fibra e causa uma modificação nas propriedades de transmissão da luz, em decorrência da interação com o analito. A imobilização do reagente pode ser feita por métodos físicos (oclusão, adsorção e atração eletrostática) ou por meio de ligação química covalente.

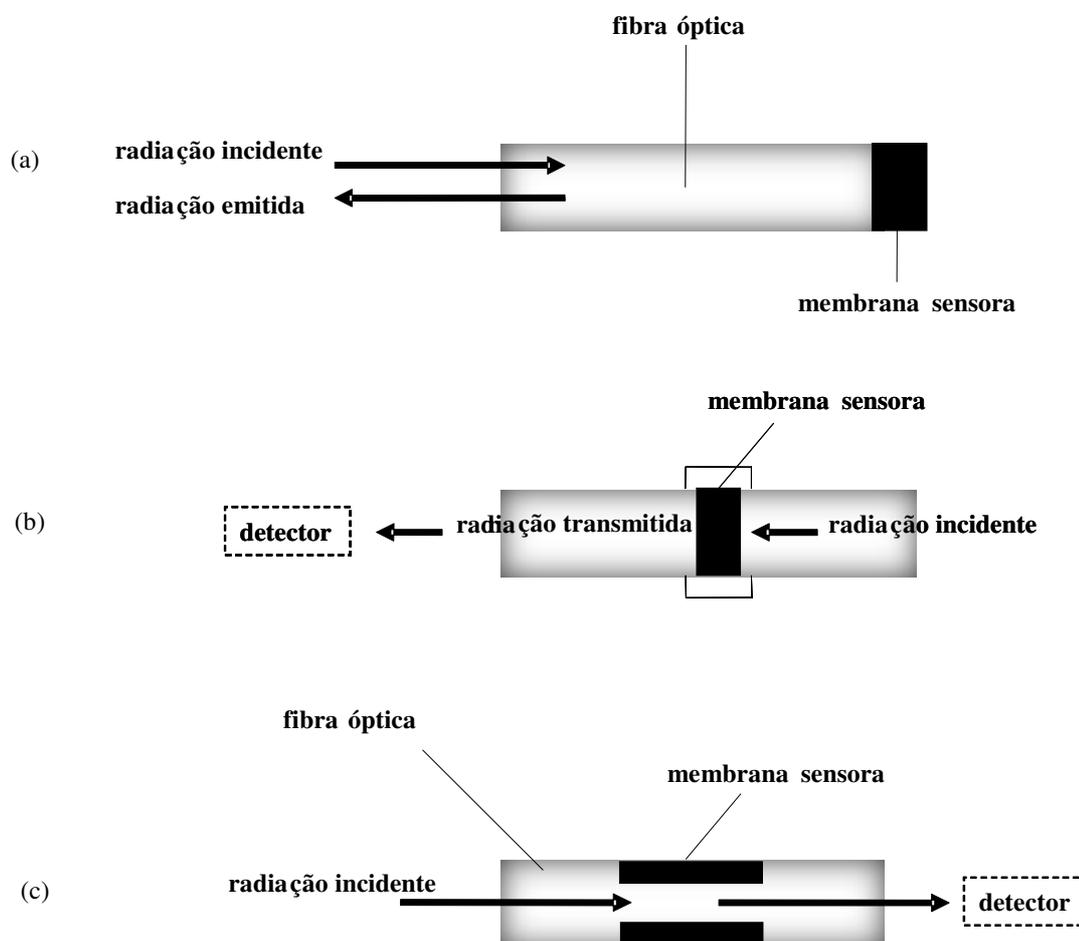


Figura II.1. Configurações usuais de sensores químicos de fibras ópticas para medidas de: (a) refletância; (b) transmitância e (c) ondas evanescentes.

Nestes sensores, a fase sensora é o constituinte mais importante, pois é onde está o reagente imobilizado, que ao reagir com a espécie a ser determinada sofre uma mudança na propriedade óptica e provoca a geração do sinal proporcional à concentração do analito. As fibras ópticas são comumente empregadas neste tipo de sensor para transmitir a radiação eletromagnética. Essas fibras ópticas apresentam baixo custo e possuem facilidade de miniaturização [75].

A imobilização do reagente é uma etapa importante na construção dos optodos. Geralmente, os reagentes sensíveis a um dado analito são imobilizados em suportes sólidos

e adaptados nas extremidades das fibras ópticas [76]. Estes reagentes imobilizados sofrem alteração na propriedade óptica ou na coloração na presença do analito. A obtenção de suporte adequado para imobilização de determinado reagente é uma das dificuldades para a obtenção do optodo, pois o suporte deve produzir boa interação com o reagente dificultando assim a sua lixiviação. Quanto maior for a força da ligação do reagente com o suporte, menor será a lixiviação do reagente durante a utilização do sensor. O tempo de vida do sensor está na dependência direta com o fator da lixiviação. Portanto, com base nestas informações a respeito dos sensores químicos de fibras ópticas, serão detalhados alguns trabalhos relevantes para a determinação de íons metálicos em águas.

II.1.4. – Optodos para Determinação de Íons Metálicos em Águas

O desenvolvimento de sensores ópticos é uma clara alternativa na determinação de íons metálicos em águas e vem atraindo a atenção de muitos pesquisadores devido ao fato de apresentarem diversas vantagens quando comparados, por exemplo, aos sensores eletroquímicos convencionais. Os sensores ópticos para determinação de íons metálicos podem ser fabricados empregando-se diversos tipos de reagentes, sendo os mais comuns, os cromogênicos, entre eles, alaranjado de xilenol, ditizona, 4-(2-piridilazo) resorsinol (PAR), 1-(2-piridilazo)2-naftol (PAN) e 2-(5-bromo-2-piridilazo)5-dietilaminofenol (Br-PADAP). Estes reagentes imobilizados apresentam desempenhos analíticos satisfatórios com relação à reprodutibilidade, à sensibilidade e à exatidão. Sensores baseados em reagentes luminescentes, por exemplo, porfirinas e compostos de rutênio, também têm sido empregados na determinação de íons metálicos, proporcionando sensibilidades e limites de detecção melhores que os sensores ópticos que empregam reagentes cromogênicos.

Oter e colaboradores [77] propuseram um sensor óptico baseado em medidas de fluorescência, utilizando uma semicarbazona imobilizada em matrizes de PVC e celulose para determinação de Cu(II) em águas. Após estudar a influência do pH e da força iônica, o sensor apresentou linearidade no intervalo de concentração $1,0 \times 10^{-9}$ a $3,0 \times 10^{-4}$ mol L⁻¹,

limite de detecção de $4,3 \mu\text{g L}^{-1}$, um tempo de resposta entre 4 e 7 minutos, sendo facilmente regenerado com soluções de EDTA em pH 7,0.

Yari e colaboradores [78] sintetizaram um novo cromóforo baseado num derivado de tioxantona imobilizada numa matriz de PVC para determinação de Cu(II) em águas na região do visível. As principais figuras de mérito do trabalho foram: um grande intervalo dinâmico de concentração, $1,6 \times 10^{-7}$ a $1,3 \times 10^{-2} \text{ mol L}^{-1}$, limite de detecção de $25,1 \mu\text{g L}^{-1}$, tempo de resposta inferior a 1 minuto, reversibilidade em HCl, possuindo uma durabilidade de aproximadamente 6 meses. Zhang e colaboradores [79] descreveram a potencialidade de dois cromóforos derivados de aminas como um sensor óptico para determinação Zn(II) em águas baseado em medidas de fluorescência.

Malcik e colaboradores [80], investigaram alguns reagentes, entre eles, 1-nitroso-2-naftol (NN), PAR, 2,4-dinitrosoresorcinol (DNR) e PAN com a finalidade de desenvolver sensores ópticos para a determinação de íons metálicos em ambientes aquáticos, nos quais incluem Co(II), Cu(II), Ni(II), Fe(III), Cd(II), Zn(II), Pb(II) e Hg(II). Neste trabalho, os autores descreveram diferentes matrizes poliméricas, as quais foram utilizadas como suporte das membranas e suas características na presença e na ausência de íons metálicos em solução. Parâmetros como pH, concentração do reagente, reversibilidade/regeneração, limite de detecção e intervalo de concentração com resposta linear foram investigados para diferentes íons.

Um sensor óptico para determinação de íon Hg(II) em águas foi proposto por Yang e colaboradores [81]. O reagente tetra(p-dimetilaminofenil)porfirina (TDMAPP) foi imobilizado numa membrana PVC e a presença do íon Hg(II) provocava uma forte supressão da fluorescência, devido a formação do complexo entre o TDMAPP e o Hg(II). O sensor apresentou um intervalo linear de $4,0 \times 10^{-8} \text{ mol L}^{-1}$ a $4,0 \times 10^{-6} \text{ mol L}^{-1}$ e um limite de detecção foi de $1,6 \times 10^{-3} \text{ mg L}^{-1}$. O sensor foi aplicado com sucesso à determinação de Hg(II) em amostras de água. Ensafi e colaboradores [82], também determinaram Hg(II) em águas empregando uma mistura entre os reagentes hexatiaciclodecano e um cromoionóforo

V numa matriz de PVC suportada em vidro, baseado em medidas de fluorescência. O sensor proposto, após ter sido otimizado, apresentou um intervalo linear de $2,1 \times 10^{-7}$ a $1,2 \times 10^{-4} \text{ mol L}^{-1}$ com um limite de detecção de $4,0 \times 10^{-2} \text{ mg L}^{-1}$ para Hg(II).

Sensores ópticos para a detecção de íons metálicos foram descritos por Vaughan e colaboradores [83]. Neste trabalho, os autores investigaram dois métodos para imobilização do reagente Br-PADAP. Este reagente, imobilizado no suporte XAD-4, apresentou resposta reversível, reprodutível e bons limites de detecção para vários íons, entre eles, $31 \times 10^{-3} \text{ mg L}^{-1}$ para Zn(II) com tempo total de análise de 6 minutos. No entanto, o mesmo reagente imobilizado em matrizes de PVC apresentou respostas irreversíveis para quase todos os íons estudados.

Compostos macrocíclicos polipirrólicos sintéticos, conhecidos como porfirinas expandidas (devido à estrutura análoga, porém de tamanho maior), têm sido propostos por Wong e colaboradores para a determinação de íons Ag(I) [84] e Hg(II) [85-87]. Nesses casos, a excitação ocorre na região do visível (absorção em 514 nm), e a emissão ocorre com grande deslocamento de Stokes, acima de 900 nm, que é suprimida na presença destes íons, com grande seletividade. O fluoróforo bis(2-piridil)-boratriazaindacenos foi sintetizado por Coskun e colaboradores [86], apresentando uma alta seletividade para íons Hg(II). O reagente livre em solução metanólica, excitado a 660 nm, apresenta um máximo de fluorescência em 682 nm, que decresce com a adição de Hg(II), produzindo um aumento de fluorescência em 720 nm. Esta propriedade permite que a razão de intensidades de fluorescência nestes dois comprimentos de onda seja empregada como parâmetro analítico, compensando, por exemplo, problemas referentes à lixiviação do reagente imobilizado.

Zhu e colaboradores [84] sintetizaram um cromoionóforo derivado de ditio-dioxo-monoazo-éter-coroa também seletivo a íons Hg(II), o qual causa um deslocamento de 122 nm no máximo de absorção do indicador (de 695 nm para 817 nm). O reagente pode ser também empregado como um indicador fluorescente, cuja intensidade de fluorescência (em 775 nm, com excitação em 695 nm) decresce com a adição do íon. Uma sonda molecular, obtida pela reação entre um derivado propil-substituído de tricarbocianina com

dipicolilamina, foi proposta por Tang e colaboradores [88] para medidas de Zn(II) intracelular. Os íons Fe(II), Fe(III) Co(II), Ni(II) e Hg(II), provocam um pequeno aumento na fluorescência da sonda, que não é afetada por Na(I), K(I), Ca(II) e Mg(II), íons que existem em altas concentrações em células. A sonda, na presença de Zn(II), apresenta uma intensa fluorescência em 780 nm, quando excitada a 731 nm.

Com recentes avanços em materiais mesoestruturados e da nanotecnologia, novos métodos estão surgindo para a construção de nano sensores ópticos, com elevadas sensibilidades [89]. De acordo com estes autores, moléculas cromóforas esféricas e com cavidades e superfícies nanométricas estão sendo imobilizadas com sucesso a alguns materiais disponíveis comercialmente, tais como, difenilcarbazida (DPC) e tetraquis-(1-metilpiridina-4-il) porfina p-toluenosulfonato (TMPyP). Além disso, a determinação colorimétrica de íons Cd(II) a níveis de concentração na faixa de 10^{-9} a 10^{-10} mol L⁻¹ é possível e características como reversibilidade, estabilidade do sinal e rápidas respostas foram alcançadas.

A determinação simultânea de íons metálicos empregando métodos de calibração multivariada juntamente com os sensores ópticos é outra área crescente entre os pesquisadores, especialmente pela dificuldade de se encontrar reagentes específicos para cada componente. Outro grande fator que tem impulsionado as pesquisas nesta área se deve ao imenso progresso na instrumentação analítica em que enormes quantidades de dados podem ser adquiridos, armazenados e tratados num curto intervalo de tempo. Esta situação exigiu o desenvolvimento de métodos matemáticos e estatísticos para extrair a informação de todos os dados, aumentando o crescimento do campo dos métodos quimiométricos.

Os métodos de calibração multivariada como o método de regressão por mínimos quadrados parciais (PLS), regressão por componentes principais (PCR) e redes neurais artificiais (ANN) têm sido largamente empregados na determinação simultânea de íons metálicos em diferentes matrizes. Agentes complexantes, tais como PAN, PAR, e Br-

PADAP têm sido empregados em determinações simultâneas de íons metálicos em conjunto com métodos quimiométricos.

A determinação simultânea de Fe(III), Ni(II) e Co(II) baseado na formação de seus complexos com o reagente PAN, utilizando PLS como método de calibração foi descrito por Zarei e colaboradores [90]. Embora os complexos formados pelo PAN com os íons citados mostrassem uma forte sobreposição espectral, o método multivariado foi aplicado com sucesso. A faixa de trabalho foi 0,30 – 4,50 $\mu\text{g mL}^{-1}$ para Co(II), 0,20 – 3,00 $\mu\text{g mL}^{-1}$ para Ni(II) e 0,30 – 5,00 $\mu\text{g mL}^{-1}$ para Fe(III). Foi utilizado um duplo sistema cromogênico entre PAR e Br-PADAP para determinação simultânea de Co(II), Ni(II), Cu(II), Zn(II) e Fe(III) no intervalo de concentração entre 0 e 400 $\mu\text{g L}^{-1}$, com erros de previsão de 7,1% para PCR e 7,9% para PLS através de Ni e colaboradores [91]

Blanco e colaboradores [92], determinaram Fe(III), Co(II) e Zn(II), empregando o reagente PAR utilizando redes neurais artificiais. Esses íons foram determinados no intervalo de 0 a 5,5 mg L^{-1} , com erros relativos de previsão menores do que 0,26 mg L^{-1} . O reagente Br-PADAP foi utilizado na determinação simultânea espectrofotométrica de diversos íons metálicos. Gao e colaboradores [93] desenvolveram um método para determinação simultânea de Mn(II), Zn(II) e Co(II) empregando PLS, os quais forneceram RMSEP de 2,5%. Este mesmo reagente imobilizado em XAD-4 foi estudado por Kuswandi e colaboradores [94], para determinação simultânea de Zn(II) e Cd(II) em misturas sintéticas aquosas.

Raimundo Jr. e colaboradores [95], descreveram também o uso de redes neurais artificiais (ANN) como ferramenta para determinação simultânea de Zn(II), Cd(II) e Hg(II) em águas, empregando um optodo baseado em Br-PADAP imobilizado numa resina XAD-4. Os estudos foram realizados com misturas binárias ou ternárias na faixa de concentração de 0 – 3,0 mg L^{-1} . Os erros encontrados foram de 0,14 para Cd(II), 0,31 para Hg(II) e 0,36 para Zn(II).

II.1.5. –Complexos de Rutênio (II)

As pesquisas em fotoquímica inorgânica têm apresentado um progresso extraordinário tanto em área de atuação como em importância, após a publicação da monografia de Balzani e colaboradores [96]. Durante a década de 70, o campo de atuação da fotoquímica dos complexos de transição cresceu rapidamente e em muitas direções. Foi estudada a fotoquímica de novas famílias de complexos do tipo Werner [97], tais como os de Rh(III), Ir(III) e Ru(II), dos complexos com polipiridinas e dos sistemas envolvendo S e P coordenados com novos tipos de macrociclos, incluindo aqueles de interesse biológico.

De maneira geral, os complexos de rutênio apresentam as seguintes características: (i) elevada luminescência; (ii) tempos de vida relativamente longos referente a transferência de carga metal-ligante no estado excitado; (iii) fortes absorções no espectro visível; (iv) elevada estabilidade fotoquímica; (v) grandes deslocamentos Stokes.

Nesse sentido, a imobilização destes compostos em várias matrizes para formação de novos sensores ópticos tem sido bastante explorada na literatura nos últimos anos. Na área de sensores ópticos, as aplicações mais encontradas com os complexos de rutênio são: determinação de oxigênio dissolvido [98], pH [99], umidade [100] e dióxido de carbono [101].

Tem sido demonstrado que o método sol-gel apresenta-se como uma técnica de imobilização dos complexos de rutênio bastante interessante para a construção de sensores ópticos na detecção de oxigênio [102]. Materiais poliméricos [103] e sol-gel [100] podem fornecer ótimos suportes para imobilização dos complexos de rutênio desde que estes apresentem algumas características: (i) estabilidade térmica; (ii) estabilidade fotoquímica; (iii) transparência óptica na região da luz visível. McGaughey e colaboradores [100] propuseram um sensor óptico, utilizando um complexo de rutênio, conhecido como difenilfentantrolina-dipiridilfenazina, para determinação da umidade relativa baseado nas mudanças de fluorescência e nos tempos de vida deste complexo de rutênio. O complexo de

rutênio foi imobilizado com sucesso numa matriz de sol-gel e o sensor desenvolvido foi aplicado em sistemas para monitoração da qualidade do ar, desde 0 – 100% de umidade relativa com limite de detecção de 0,35%.

Burke e colaboradores [101], descreveram um sensor óptico para detecção de CO₂, utilizando um complexo de rutênio, Ru(dpp)₃²⁺, tris(4,7-difenil-1,10-fenantrolina) rutênio II dicloreto, imobilizado em matriz de sol-gel. Neste trabalho, os autores encontraram limites de detecção de aproximadamente 0,308 mg L⁻¹. Complexos de rutênio baseados em polipiridinas foram imobilizadas em matriz de sol-gel como sensores para pH no trabalho de Malins e colaboradores [99]. Mudanças abaixo de 0,1 unidades de pH foram detectadas usando o complexo imobilizado em matrizes de sol-gel e intervalos lineares entre pH 3-9 foram observados.

Portanto, os complexos de rutênio constituem uma classe de compostos que apresentam grandes potencialidades na construção de novos sensores ópticos.

II.2. - Objetivos

O objetivo deste trabalho é a avaliação de um novo complexo luminescente bis(1,10-fenantrolina)(2-2`imidazolimidazol[4,5-f]Rutênio (II) bis hexafluorofosfato, abreviadamente $[\text{Ru}(\text{phen})_2\text{iip}](\text{PF}_6)_2$ no desenvolvimento de um sensor óptico para a determinação de íons metálicos em águas. Nesse caso, o desempenho do sensor foi investigado com dois diferentes tipos de imobilização e para caracterização da fase sensora foram avaliados alguns parâmetros como pH, força iônica, tempo de resposta, faixa de resposta linear, precisão e limite de detecção.

II.3. – Experimental

II.3.1. – Reagentes e Soluções

Nitrato de cádmio, 98% (Riedel-de-Haen), sulfato de cobre, 98% (Aldrich), cloreto de mercúrio, 99,5% (Sigma), acetato de zinco, 98% (Panreac), sulfato de níquel, 99% (Aldrich), nitrato de prata, 99% (Panreac), cloreto de cobalto, 99% (Merck), nitrato de chumbo, 99% (Merck), nitrato de cromo III, 98% (Probus), cloreto de ferro III, 98% (Carlo Erba) foram utilizados para a preparação das soluções padrão ($1,0 \times 10^{-3} \text{ mol L}^{-1}$). Água destilada desionizada foi utilizada para preparar as soluções aquosas dos íons metálicos.

A solução do complexo bis(1,10-fenantrolina)(2,2'-imidazolimidazol[4,5-f]rutênio (II) bis hexafluorofosfato, abreviadamente $[\text{Ru}(\text{phen})_2\text{iip}](\text{PF}_6)_2$, foi preparada em metanol (99,8% para HPLC) a uma concentração de $1,0 \times 10^{-3} \text{ mol L}^{-1}$. Em seguida, por diluição, foram preparadas soluções de $1,0 \times 10^{-5} \text{ mol L}^{-1}$ em água com 1% de metanol.

Ácido metacrílico (MAA) (Sigma-Aldrich), metacrilamida (MA) (Sigma-Aldrich), 2-hidroxietil metacrilato (HEMA) (Sigma-Aldrich), metileno bis-acril amida (MBAA) (Sigma-Aldrich), 2,2'-azobis-(2,4-dimetilvaleronitrila) (ABDV) (Sigma-Aldrich), metiltrietoxisilano (MTEOS) (Sigma-Aldrich), glicidoxipropiltrimetoxisilano (Sigma-Aldrich) foram os reagentes utilizados na preparação das membranas.

Outros reagentes utilizados neste trabalho: hidróxido de sódio, 99% p.a (Merck), ácido clorídrico, 35% p.a. (Panreac), etanol, 96% v/v (Panreac), dimetilsulfóxido, > 99,8% para HPLC, cloreto de Sódio, 99% p.a (Aldrich), monohidrogênio fosfato de sódio, 99% p.a (Aldrich), dihidrogênio fosfato de sódio, 99% p.a (Aldrich), fosfato de sódio, 99% p.a (Aldrich), ácido fosfórico, 85% (Fluka), 4-(2-hidroxietil)piperazina-1-etano-sulfônico, HEPES 99% p.a (Aldrich), ácido etilenodiaminotetraacético, EDTA 99% p.a (Aldrich).

II.3.2. – Suporte para Membranas

Os suportes de vidros foram obtidos cortando-se lâminas para microscopia com tamanho de 9,0 mm por 1,0 mm. Estes suportes foram inicialmente lavados com uma solução aquosa de NaOH 2 mol L⁻¹, durante 30 minutos, a 80°C. Depois, foram adicionados numa mistura contendo 20 mL de HCl concentrado e 100 mL de água durante 15 minutos. Logo após, foram colocados em contato com uma mistura de 15 mL de HCl concentrado, 15 mL de H₂O₂ 30% e 90 mL de água durante 15 minutos. Os suportes de vidro foram lavados duas vezes com acetona e secos com nitrogênio. Finalmente, foram submetidos a uma lavagem com tolueno e postos em contato com uma mistura de 1,5 mL metacriloxipropiltrimetoxisilano, 0,15 mL de trietilamina e 75 mL de tolueno durante 24 horas.

II.3.3. – Imobilização em Sol-Gel

A preparação das membranas de sol-gel utilizando o complexo [Ru(phen)₂iip](PF₆)₂ foi realizada segundo o procedimento descrito por Wencel e colaboradores [103]. A preparação do sol-gel envolveu a mistura dos produtos de catálise ácida com os de uma catálise básica. Na catálise ácida, o precursor, MTEOS, foi misturado com etanol absoluto, seguindo a adição de pequenas quantidades de ácido clorídrico (pH 1,0), sob agitação constante, durante 20 minutos. A mistura final da catálise ácida apresentava uma razão molar entre o precursor, etanol, água e ácido clorídrico de 1:6,25:4:0,007, respectivamente. Numa segunda rota, realizou-se uma catálise básica utilizando o composto glicidoxipropiltrimetoxisilano com a adição de pequenas quantidades de NaOH (0,1 mol L⁻¹). Por último, as duas soluções contendo os produtos das catálises foram misturadas a 1,0 mg de complexo [Ru(phen)₂iip](PF₆)₂ até a sua completa dissolução.

Para a deposição da solução final contendo o complexo de rutênio no suporte de vidro foi empregado a técnica de *dip-coating*, cujo controle da velocidade de emersão, de

100 mm/min, foi realizada através do computador. A Figura II.2 mostra uma fotografia do complexo de rutênio immobilizado na matriz sol-gel.

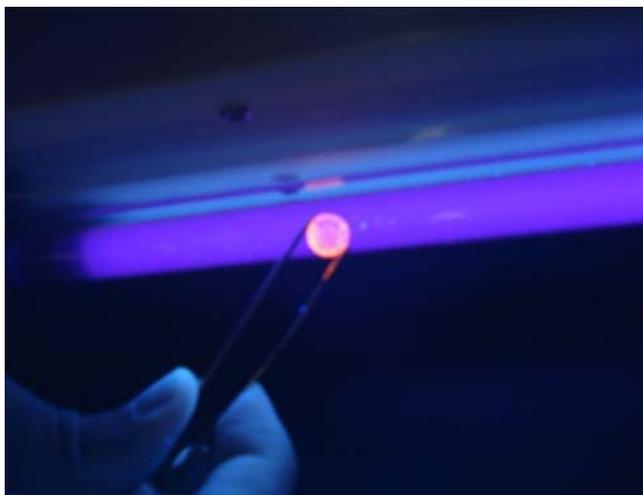


Figura II.2: Fotografia do complexo de rutênio $[\text{Ru}(\text{phen})_2\text{iip}](\text{PF}_6)_2$ immobilizado em sol-gel suportado sobre um vidro.

II.3.4. – Imobilização em Membranas Poliméricas

Devido a uma solicitação de patente europeia por parte do grupo GSOLFA (Grupo de Sensores Ópticos e Laboratório de Fotoquímica Aplicada) da Universidade Complutense de Madrid, o procedimento empregado para a preparação da membrana polimérica não poderá ser mencionada.

A membrana polimérica foi preparada a partir de uma solução em DMSO de uma mistura de metacrilamida, ácido metacrílico, N-N'-metilenbisacrilamida e 2-hidroxietilenometacrilato, 2,2'-azobis-(2,4-dimetilvaleronitrila) e o reagente luminescente. A membrana foi preparada em um suporte de vidro (lamínula para microscopia), cuja fotografia é mostrada na Figura II.3.

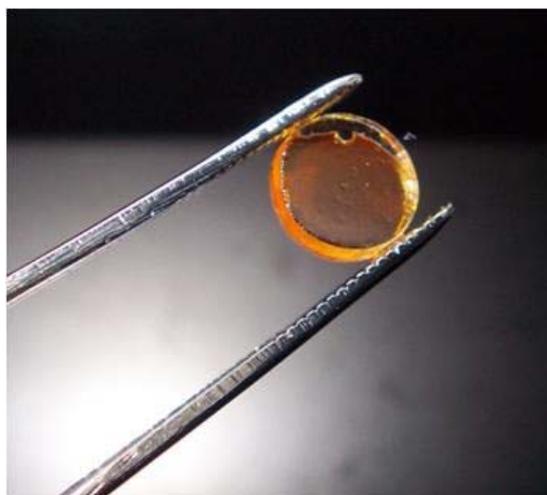


Figura II.3: Fotografia da fase sensora polimérica contendo o complexo de rutênio $[\text{Ru}(\text{phen})_2\text{iip}](\text{PF}_6)_2$ suportado sobre uma lamínula de vidro.

II.3.5. – Instrumentação Analítica

Foi utilizado um espectrofotômetro Varian modelo Cary-3 Bio para aquisição dos espectros de absorvância (UV-Vis). Foi empregado um espectrofluorímetro Perkin-Elmer modelo LS-50 dotado de uma lâmpada pulsada de xenônio ($10 \mu\text{s}$ largura de pulso, 50 Hz) como fonte de excitação e uma fotomultiplicadora Hamamatsu R-928, de resposta estendida ao vermelho, com alimentação fixa em 775 V. O instrumento foi conectado a um computador para armazenamento e tratamento de dados. O controle de temperatura ($\pm 0,5$ °C) foi realizado com um banho termostático Polyscience 9015.

II.3.6. – Sistema de Medida

As medidas de fluorescência empregadas neste trabalho foram realizadas em um sistema de análise em fluxo. Para a aquisição do sinal analítico foi confeccionada uma célula de medida com medidas em fluorescência. A membrana é adaptada na célula em um compartimento específico para o posicionamento da sonda, com entrada e saída para

soluções (água, EDTA, solução aquosa dos íons metálicos). As soluções são transportadas dos frascos apropriados até a célula de medida com o auxílio de uma bomba peristáltica. A Figura II.4 mostra um esquema do sistema de medidas e da célula confeccionada para este trabalho.

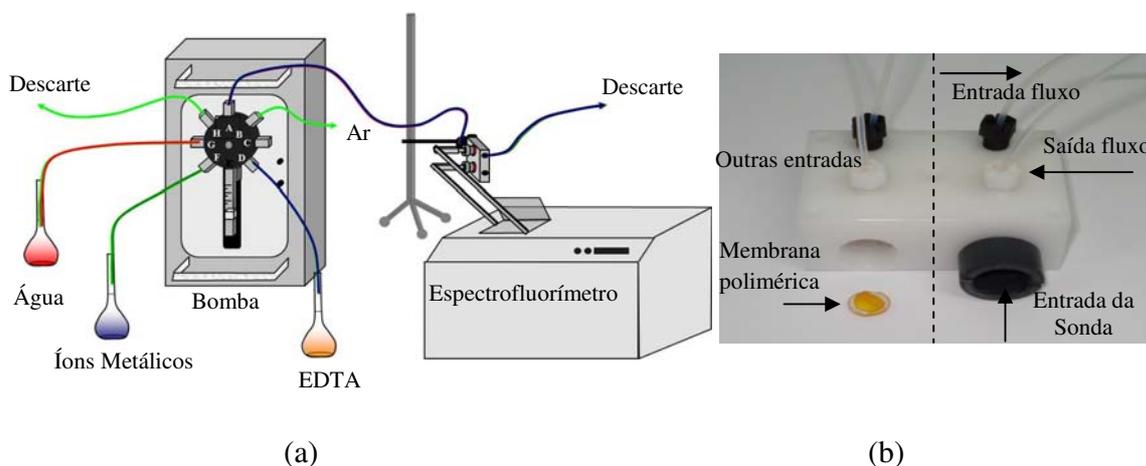


Figura II.4: (a) Representação do sistema de medida. (b) célula de medida de fluorescência. A célula possui compartimento para duas fases sensoras, mas apenas um foi utilizado.

II.3.7. – Procedimento Experimental

Foram preparadas soluções estoque ($1,0 \times 10^{-3} \text{ mol L}^{-1}$) de cada um dos íons metálicos. Diluições apropriadas foram realizadas em tampão fosfato ($50 \times 10^{-3} \text{ mol L}^{-1}$) para cada uma das soluções utilizadas nos experimentos. Os experimentos realizados no estudo da determinação da estequiometria e das constantes de equilíbrio entre os íons (Cu(II) e Hg(II)) e o ligante (complexo de rutênio) foram realizadas mantendo-se a concentração do complexo de rutênio fixa em $1,0 \times 10^{-5} \text{ mol L}^{-1}$ e em tampão fosfato $50 \times 10^{-3} \text{ mol L}^{-1}$. Cubetas de quartzo de 10 mm de caminho óptico foram utilizadas para os experimentos de absorção e emissão em solução. Com auxílio de uma bomba peristáltica,

sob vazão constante de 3,0 mL min⁻¹, as soluções (íons metálicos e tampão) foram conduzidas até a célula de medidas e em seguida para o descarte apropriado.

II.3.8. – Análise Multicomponente em Solução

II.3.8.1. – Determinação Simultânea de Cu(II) e Hg(II)

Foi adotado um planejamento experimental do tipo Doehlert, para definir os níveis de concentração dos conjuntos de calibração e validação na determinação simultânea dos íons Cu(II) e Hg(II) em solução aquosa, na presença do complexo de rutênio empregando calibração multivariada. No planejamento inicial foram levados em consideração os dados obtidos em experimentos prévios por meio da resposta espectroscópica (absorção e emissão) dos diferentes íons metálicos com o complexo [Ru(phen)₂iip](PF₆)₂. Foram produzidas 16 misturas binárias para compor o conjunto de calibração e cinco misturas foram usadas na validação externa. O intervalo de concentração para o íon Cu(II) utilizado foi de 3,0 – 38 µg L⁻¹ e 0,5 – 10 µg L⁻¹ para o Hg(II), o complexo de rutênio [Ru(phen)₂iip](PF₆)₂ teve a concentração fixa em 1,0 x 10⁻⁵ mol L⁻¹ e o tampão HEPES 1,0 x 10⁻³ mol L⁻¹ (pH 7,0).

II.4. – Resultados e Discussão

Nesta seção, serão descritas os principais estudos realizados com o reagente luminescente, bis(1,10-fenantrolina)(2-2`imidazolimidazol[4,5-f]rutênio (II) bis hexafluorofosfato, abreviadamente $[\text{Ru}(\text{phen})_2\text{iip}](\text{PF}_6)_2$, sintetizado e caracterizado no Laboratório de Fotoquímica Aplicada (GSOLFA) da Universidade Complutense de Madrid (UCM).

Inicialmente, procedeu-se o estudo do novo reagente em solução, empregando-se as técnicas analíticas de absorção molecular e fluorescência, antes de imobilizá-lo num suporte adequado para o desenvolvimento de um sensor óptico visando à determinação de íons metálicos em águas. O novo complexo de rutênio foi imobilizado em duas matrizes: sol-gel e membranas poliméricas.

II.4.1. – Novo Complexo Fluorescente: Molécula $[\text{Ru}(\text{phen})_2\text{iip}](\text{PF}_6)_2$

II.4.1.1. – Estrutura Molecular

Na construção do sensor para a determinação de íons metálicos em águas foi utilizado como indicador o complexo luminescente $[\text{Ru}(\text{phen})_2\text{iip}](\text{PF}_6)_2$. Entre outras características, este complexo apresenta quatro átomos de nitrogênio heterocíclico que não estão envolvidos na coordenação com o átomo metálico, como se pode observar na Figura II.5a e II.5b, onde se representam as estruturas bidimensionais e tridimensionais do composto.

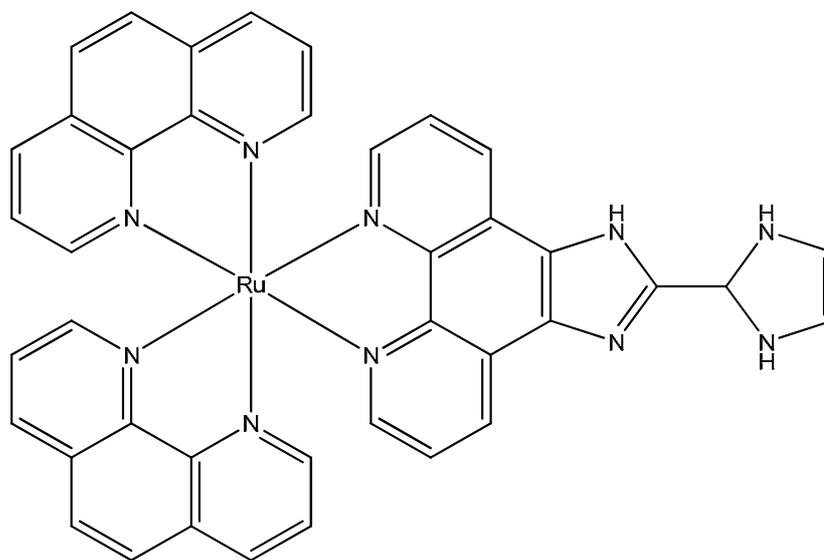


Figura II.5. Estrutura bidimensional do cátion $[[\text{Ru}(\text{phen})_2\text{iip}](\text{PF}_6)_2]$.

II.4.1.2. – Espectros de Absorção e Emissão

A Figura II.6 mostra um espectro de absorção do complexo $[\text{Ru}(\text{phen})_2\text{iip}](\text{PF}_6)_2$ $1,0 \times 10^{-5} \text{ mol L}^{-1}$ e um espectro de emissão do complexo na mesma concentração. Como pode ser visualizado na Figura II.6a, o complexo apresenta três intensas bandas de absorção centradas em 222 nm, 263 nm e 452 nm e uma intensa banda de emissão em 605 nm conforme mostrado na Figura II.6b.

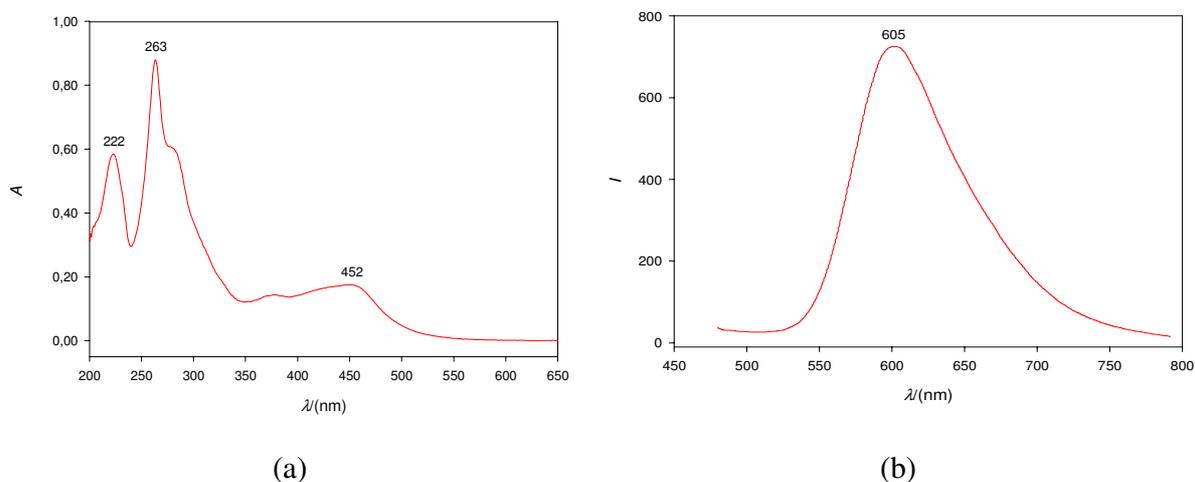


Figura II.6: Espectros de absorção UV-VIS (a) e de emissão (b) ($\lambda_{exc} = 450$ nm, fendas 10/10 nm) do complexo $[\text{Ru}(\text{phen})_2\text{iip}](\text{PF}_6)_2$ $1,0 \times 10^{-5}$ mol L^{-1} em solução aquosa.

II.4.1.3. – Resposta em Função dos Íons Metálicos

O efeito dos principais íons metálicos em solução na presença do complexo de rutênio foi investigado através das técnicas de absorção e fluorescência. Em ambas as técnicas, a concentração do complexo foi mantida em $1,0 \times 10^{-5}$ mol L^{-1} em tampão fosfato 50×10^{-3} mol L^{-1} a pH 7,0. Foram adicionadas quantidades fixas dos principais íons metálicos junto ao complexo de rutênio de modo que a concentração final fosse de 50×10^{-6} mol L^{-1} . Na Figura II.7 apresenta-se o espectro de absorção eletrônica do composto $[\text{Ru}(\text{phen})_2\text{iip}](\text{PF}_6)_2$ na presença de diferentes íons metálicos.

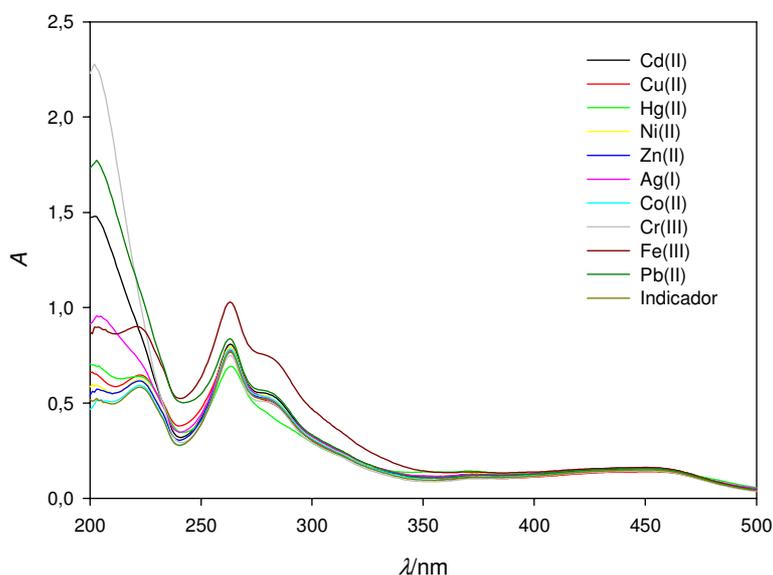


Figura II.7: Espectros de absorção UV-VIS do complexo $[\text{Ru}(\text{phen})_2\text{iip}](\text{PF}_6)_2$ $1,0 \times 10^{-5}$ mol L^{-1} em solução aquosa em função de diferentes íons metálicos realizadas em tampão fosfato 50×10^{-3} mol L^{-1} , pH 7,0.

Com base nesses resultados, percebe-se que existe a formação de novos complexos pela interação do complexo de rutênio com os íons metálicos. Basicamente, a região compreendida entre 200 e 250 nm reflete as absorções dos próprios íons metálicos assim como seus contra-íons. No entanto, a região compreendida aproximadamente entre 290 e 400 nm se caracteriza pelo aparecimento de novas bandas espectrais, conseqüentemente, de novos complexos.

As mesmas soluções empregadas para o registro dos espectros de absorção, comentadas anteriormente, foram tomadas para o registro dos espectros de emissão. Na Figura II.8 está representada a intensidade de emissão, registrada em 605 nm, dos diferentes íons metálicos na presença do complexo de rutênio.

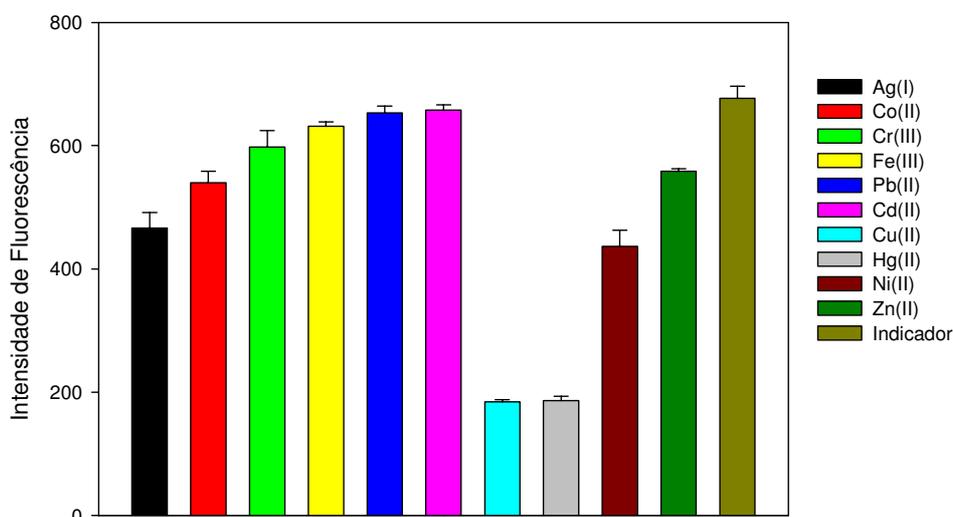


Figura II.8: Efeito da supressão de fluorescência dos íons metálicos ($50 \times 10^{-6} \text{ mol L}^{-1}$) no complexo $[\text{Ru}(\text{phen})_2\text{iip}](\text{PF}_6)_2$ ($1,0 \times 10^{-6} \text{ mol L}^{-1}$ e $\lambda_{\text{exc}} = 450 \text{ nm}$, fendas 10/10 nm) em 605 nm realizadas em tampão fosfato $50 \times 10^{-3} \text{ mol L}^{-1}$, pH 7,0.

Como se pode observar na Figura acima, os íons metálicos Cu(II) e Hg(II) causaram as maiores supressões de fluorescência do complexo de rutênio. Por esta razão, as informações existentes nos espectros de emissão juntamente com os dados existentes nos espectros de absorção mostram ser viável desenvolver um sensor óptico para a determinação destes íons metálicos em águas.

II.4.1.4. – Constantes de Equilíbrio entre Metal-Ligante

A formação de novos complexos resultantes da interação entre os íons metálicos. Cu(II) e Hg(II) com o complexo de rutênio foi motivo da determinação das constantes de equilíbrio e da natureza estequiométrica entre estes íons e o ligante.

As constantes de equilíbrio obtidas em ambos os experimentos de absorção e emissão, tanto para o íon Cu(II) como para o Hg(II), estão sumarizadas na Tabela II.1. Os ajustes dos modelos e o detalhamento experimental estão presentes no trabalho de

doutorado de André dos Santos realizado no Departamento de Química Orgânica da Universidade Complutense de Madrid. O estudo mostrou que os íons metálicos investigados apresentam múltiplos equilíbrios com o ligante, de forma que para o íon Cu(II) a estequiometria ML(metal-ligante) é de 1:2 e para o íon Hg(II) é de 2:1.

Tabela II.1: Constantes de equilíbrio obtidas a partir de modelos baseados nos espectros de absorção e fluorescência para o Cu(II) e para o Hg(II). K_{11} representa a constante de equilíbrio do complexo ML, K_{12} representa a constante de equilíbrio do complexo ML_2 e K_{21} representa a constante de equilíbrio do complexo M_2L .

Parâmetros	Absorção		Fluorescência	
	Cu(II)	Hg(II)	Cu(II)	Hg(II)
K_{11} (M^{-1})	$2,23 \times 10^5$	$9,76 \times 10^5$	$2,83 \times 10^5$	$1,57 \times 10^5$
K_{12} (M^{-2})	$2,33 \times 10^5$	-----	$2,12 \times 10^5$	-----
K_{21} (M^{-2})	-----	$7,59 \times 10^4$	-----	$1,66 \times 10^4$

II.4.1.5. – Determinação Simultânea de Cu(II) e Hg(II) em Solução aplicando-se Métodos de Calibração Multivariada

Com base nas informações espectrais (absorção e fluorescência) dos complexos metálicos foi investigada a possibilidade de realizar uma determinação simultânea, baseada em modelos de calibração multivariada.

Nesse sentido, na etapa de calibração do modelo multivariado, os dados instrumentais obtidos a partir dos espectros de absorção e fluorescência foram dispostos na forma de uma matriz 16 x 700. Esta matriz apresenta 16 amostras, que foram definidas pelo planejamento experimental Doehlert (sete amostras definidas pelo Doehlert mais 9 pontos adicionais). Ao todo foram 700 comprimentos de onda oriundos dos espectros de absorção

(400 comprimentos de onda) e de fluorescência (300 comprimentos de onda). As colunas desta matriz são formadas pelos sinais analíticos em cada comprimento de onda e as linhas correspondem as amostras definidas pelo planejamento Doehlert. Outra matriz de dimensões 16 x 2, foi formada com os valores de concentrações dos metais Cu(II) e Hg(II) em $\mu\text{g L}^{-1}$, que corresponde a matriz Y. Na fase de previsão foram utilizadas cinco amostras dispostas numa matriz 5 x 700 (validação externa).

Foram realizados vários tipos de pré-processamentos dos dados obtidos, tais como: filtros do tipo Savitzky-Golay (para melhorar a relação sinal/ruído) e a transformação da primeira e segunda derivada empregando o algoritmo Savitzky-Golay (para correção da linha base). Basicamente foram testados dois métodos de calibração multivariada: PCR e PLS. Os sinais instrumentais (absorbância e intensidade de fluorescência) foram centrados na média.

Os modelos finais foram construídos baseados na primeira derivada Savitzky-Golay com janela de 31 pontos. Os modelos PLS forneceram menores erros de previsão e menor número de variáveis latentes quando comparados aos modelos PCR. A escolha da região espectral foi realizada de modo a obter o melhor conjunto de comprimentos de onda que fornecesse os menores erros de previsão. Desse modo, foram eliminados comprimentos de onda compreendidos entre 200 e 300 nm devido a fortes absorções dos próprios íons Cu(II) e Hg(II) e seus contra-íons.

Os espectros referentes às 21 amostras analisadas, sem processamento matemático, estão mostradas na Figura II.9a para absorção e a Figura II.9b para emissão.

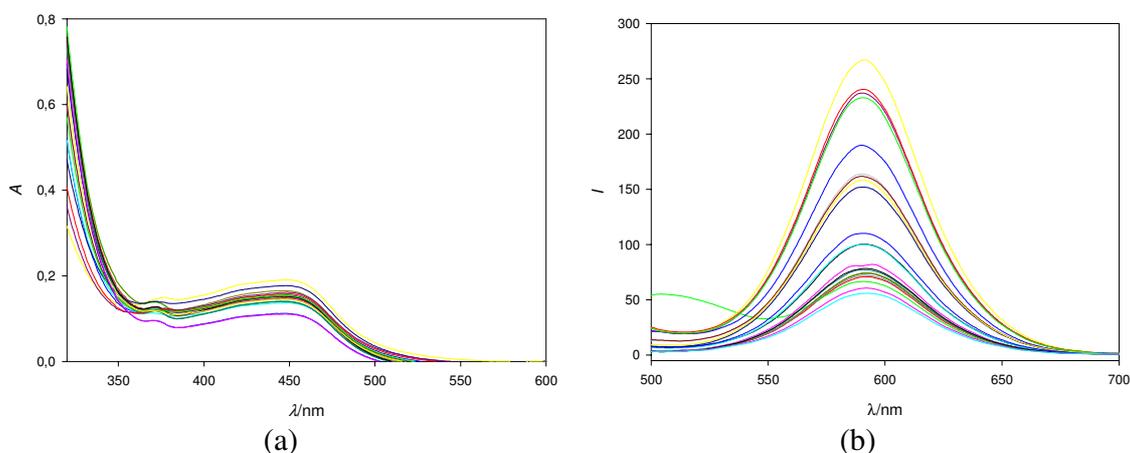


Figura II.9: Espectros de absorção (a) e de emissão (b) das 21 misturas sugeridas pelo planejamento Doehlert. ($\lambda_{exc} = 450$ nm, fendas 10/10 nm)

Os espectros foram importados para o programa computacional Unscrambler® 9.6 (CAMO). Os modelos PLS foram construídos com duas variáveis latentes para o Cu(II) e três para o Hg(II) (o número de variáveis latentes foi selecionado empregando validação cruzada completa. O número de variáveis latentes para o modelo do Cu(II) se comporta idealmente devido a existência de apenas dois analitos no sistema químico. No entanto, o Hg(II) necessita de três variáveis latentes para a construção do modelo, indicando possivelmente, neste caso, uma complexidade maior ao trabalhar em baixas concentrações ($0,5 - 10 \mu\text{g L}^{-1}$) ou devido a alguma não-linearidade do sistema químico estudado.

O modelo desenvolvido, então, foi avaliado pelas amostras do conjunto de validação externo cujos resultados estão mostrados nas Figuras II.10a e II.10b para os íons Cu(II) e Hg(II), respectivamente.

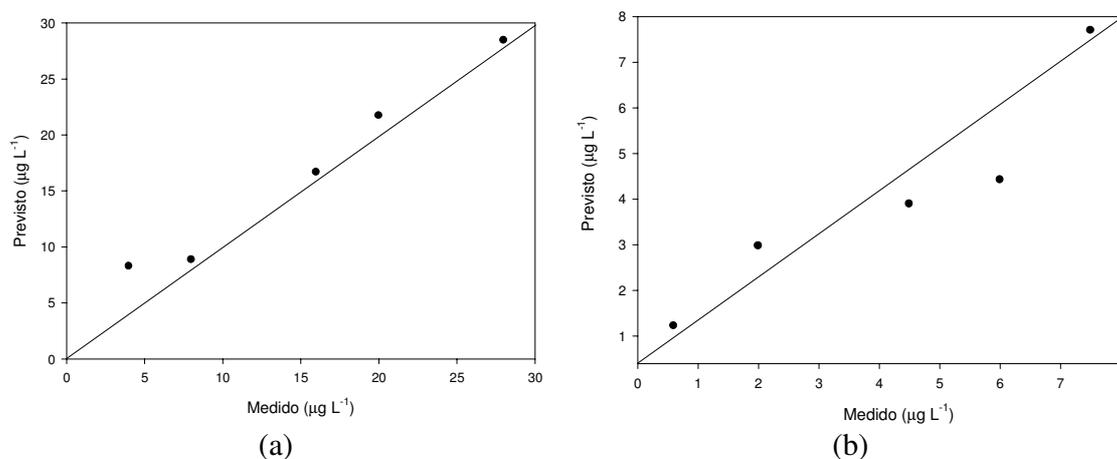


Figura II.10: Correlação entre os valores previstos e os valores experimentais para o conjunto de validação externa do modelo com duas variáveis latentes para o íon Cu(II) (a) e três variáveis latentes para o íon Hg(II).

A baixa dispersão dos valores de previsão em torno da bissetriz revela uma boa capacidade preditiva do modelo, tanto para o íon Cu(II) como para o íon Hg(II). O RMSEP encontrado para os íons metálicos Cu(II) e Hg(II) foi de $2,1 \mu\text{g L}^{-1}$ e $0,95 \mu\text{g L}^{-1}$, respectivamente. Portanto, valores de RMSEP inferiores a 10% do intervalo de concentração dos metais estudados, revelam que é possível determinar de forma simultânea os íons metálicos Cu(II) e Hg(II) em águas em baixas concentrações empregando-se o novo complexo de rutênio em solução.

Na tentativa de encontrar valores de RMSEP mais baixos para os íons metálicos Cu(II) e Hg(II), foi realizado um outro planejamento Doehlert, ampliando a faixa de concentração dos íons metálicos. O conjunto de calibração empregado para construção de novos modelos de calibração multivariada apresentou intervalos de concentração do íon Cu(II) entre 5 e $50 \mu\text{g L}^{-1}$ e para o íon Hg(II) entre 5 e $65 \mu\text{g L}^{-1}$.

Os modelos PLS neste novo conjunto de dados foram construídos seguindo as mesmas condições de pré-processamento e número de amostras em cada conjunto de calibração e validação do experimento anterior, exceto ao empregar o logaritmo na matriz instrumental e na matriz de concentração. O gráfico da correlação entre os valores previstos

e os valores experimentais para o conjunto de validação externa, utilizando duas variáveis latentes para cada íon, é representado na Figura II.11.

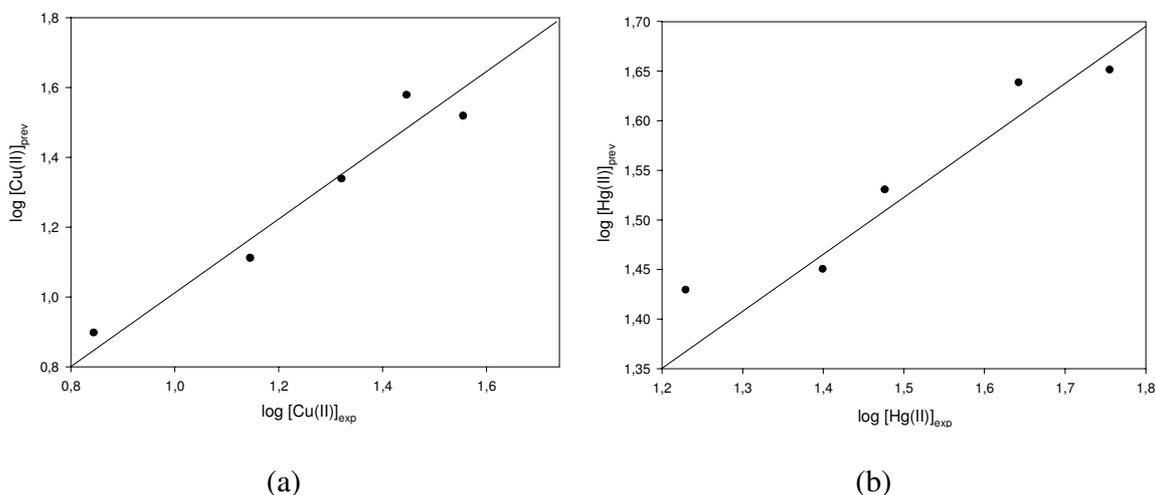


Figura II.11: Correlação entre os valores previstos e os valores experimentais para o conjunto de validação externa do modelo com duas variáveis latentes para: (a) Cu(II) e (b) Hg(II).

Neste modelo foram modificadas duas variáveis comparadas com o modelo anterior: o intervalo de concentração estudado para os íons metálicos maior e a aplicação do logaritmo nas concentrações dos íons. Nestas condições, duas variáveis latentes para cada íon foram necessárias, usando PLS, e os valores de RMSEP encontrados para os íons metálicos Cu(II) e Hg(II) foi de $1,6 \mu\text{g L}^{-1}$ e $1,30 \mu\text{g L}^{-1}$, respectivamente. A aplicação do logaritmo pode ter corrigido problemas de não-linearidades nos modelos. Dessa forma, valores de RMSEP inferiores a 5% da concentração do intervalo de utilizado para os íons metálicos estudados confirmam um bom modelo para determinação simultânea em águas empregando-se o novo indicador em solução.

II.4.2. – Sensor Óptico para Determinação de Íons Metálicos em Água

II.4.2.1. – Imobilização em Sol-Gel

II.4.2.1.1. – Resposta a Íons Metálicos

O primeiro teste para avaliar o comportamento do sensor óptico para metais pesados em água, em que o complexo de rutênio está imobilizado em sol-gel, foi observar as variações provocadas pelos diversos íons metálicos ($1,0 \times 10^{-3} \text{ mol L}^{-1}$), Ag(I), Cd(II), Co(II), Cr(III), Cu(II), Hg(II), Ni(II), Pb(II) e Zn(II) nos espectros de fluorescência da fase sensora. Na Figura II.12 estão representados os espectros de emissão da fase sensora contendo o reagente imobilizado em sol-gel.

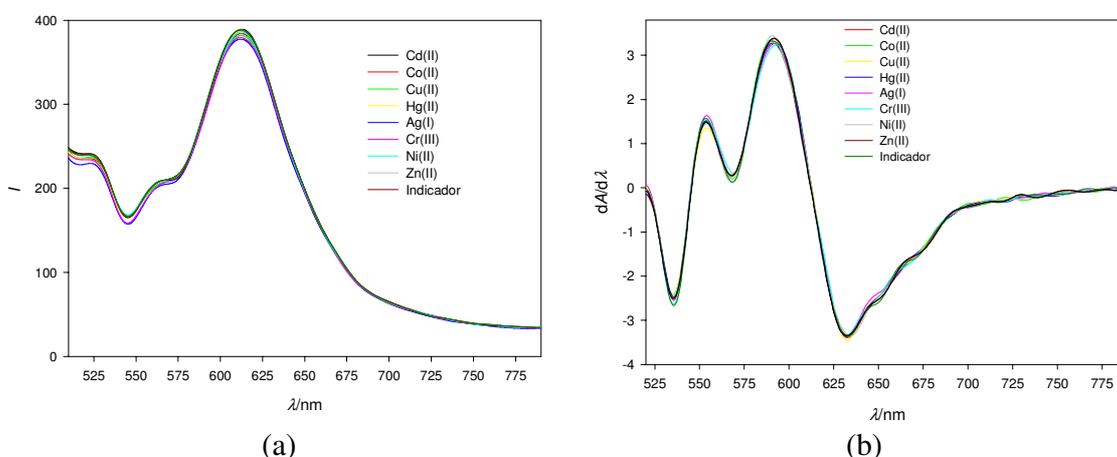


Figura II.12. a) Espectros de emissão do reagente imobilizado em sol-gel ($\lambda_{\text{exc}} = 457 \text{ nm}$, fendas 15/20 nm); b) Primeira derivada Savitzky-Golay (janela 11 pontos) dos espectros de emissão. Volume de metais passados pela célula de medidas foi de 10 mL e soluções de EDTA ($0,1 \text{ mol L}^{-1}$), para regeneração da membrana.

Como pode-se perceber na Figura II.12, o espectro de emissão da membrana contendo indicador imobilizado em sol-gel quando em contato com os íons metálicos estudados, apresenta pequenas variações do sinal de fluorescência. Pequenos poros na superfície do sol-gel pode ser uma explicação para este comportamento, pois a entrada do

íon metálico na membrana torna-se mais difícil e, neste caso, o sinal de fluorescência será mantido constante.

Para tentar contornar este comportamento, foram preparadas novas membranas em sol-gel, buscando aumentar tamanho de poros e, dessa forma, permitir uma maior entrada dos íons metálicos na estrutura da membrana. Nesse sentido, alterou-se a razão molar do procedimento da catálise ácida para 1:6,25:4:0,5 entre o precursor (MTEOS), etanol, água e ácido clorídrico, respectivamente. Infelizmente, os resultados encontrados após essa mudança continuaram a apresentar pequenas variações no sinal de emissão para cada um dos diferentes metais.

II.4.2.2. – Imobilização em Membranas Poliméricas

II.4.2.2.1. – Resposta a Diferentes Íons Metálicos

Como realizado anteriormente para as membranas em sol-gel, foram avaliados as respostas espectrais nos espectros de emissão do reagente, imobilizado numa matriz polimérica a base de acrilatos, com relação a presença de nove íons metálicos (Ag(I), Cd(II), Co(II), Cr(III), Cu(II), Hg(II), Ni(II), Pb(II) e Zn(II)). A Figura II.13a mostra os espectros de emissão após reação com diferentes íons metálicos e Figura II.13b suas respectivas intensidades de emissão (605 nm).

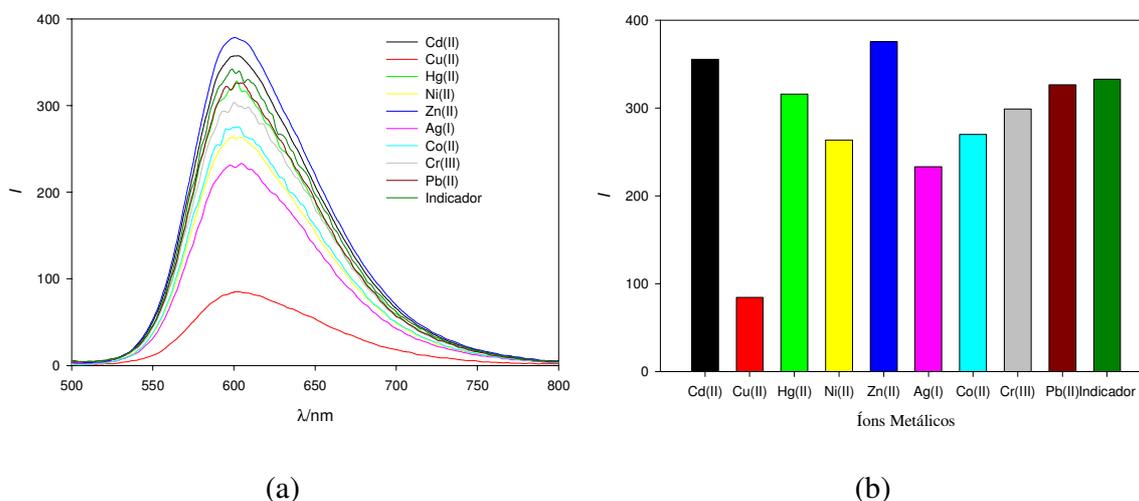


Figura II.13. a) Espectros de emissão da membrana polimérica contendo o complexo de rutênio; b) Gráfico das intensidades de fluorescência medido em 605 nm. Volume de íons metálicos passados pela célula de medidas foi de 10 mL. Espectros de emissão ($\lambda_{\text{exc}} = 457$ nm, fendas 15/20 nm).

Percebe-se claramente que o complexo de rutênio imobilizado na membrana polimérica responde de forma seletiva ao íon metálico Cu(II). Apesar do íon metálico Hg(II), nos estudos em solução, ter causado uma supressão de fluorescência do complexo praticamente na mesma intensidade do íon Cu(II), quando imobilizado o reagente em membrana, o efeito foi diferente. Uma possível explicação para este fato pode estar relacionado com a maior tamanho do íon Hg(II) ser elevado e, neste caso, a difusão para o interior da estrutura polimérica tenha sido dificultada.

Devido ao fato da fase sensora ter apresentado uma resposta seletiva ao íon Cu(II) em águas, foram investigados alguns dos principais parâmetros para a construção de um sensor óptico, tais como pH, força iônica, volume necessário, sensibilidade, precisão e limites de detecção, para determinação de Cu(II) em águas.

II.4.2.2.2. – Otimização do Sensor Óptico

II.4.2.2.2.1. – Efeito do pH

É sabido que a reação entre íons metálicos e reagentes complexantes é dependente do pH, uma vez que uma desprotonação do reagente está envolvida. Para cada íon metálico existe uma faixa de pH adequada, para ser usada na sua determinação. Por causa do importante papel que o pH representa, foi estudado o efeito sobre a formação do novo complexo de rutênio imobilizado.

A Figura II.14 mostra os perfis das intensidades de fluorescência (medidos a 605 nm) das membranas poliméricas em função do pH (tampão fosfato) em duas concentrações: $0,1 \text{ mol L}^{-1}$ e $0,001 \text{ mol L}^{-1}$. O intervalo de pH empregado, neste estudo, foi aproximadamente entre 5,0 e 9,0.

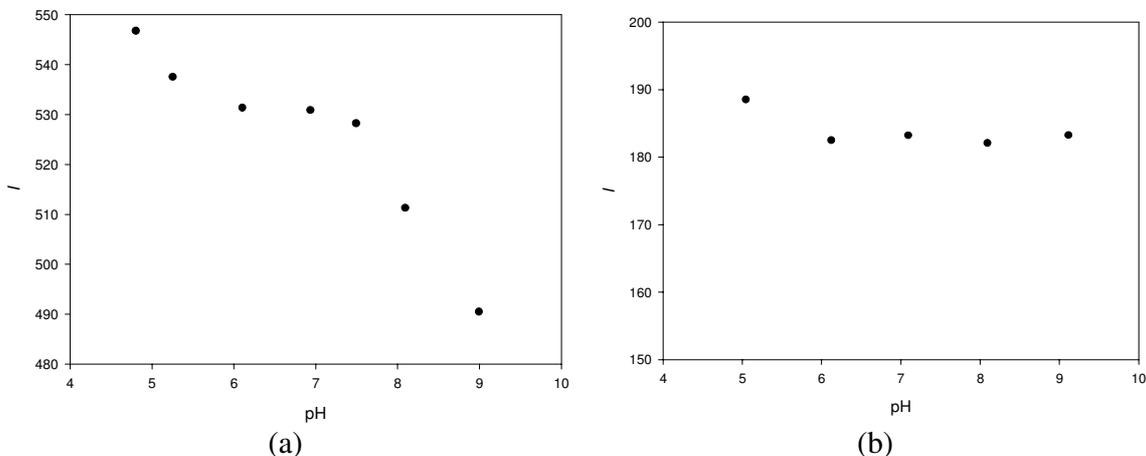


Figura II.14. Intensidade de fluorescência em função do pH em duas concentrações do tampão: (a) $0,1 \text{ mol L}^{-1}$ e (b) $0,001 \text{ mol L}^{-1}$. Espectros de emissão ($\lambda_{\text{exc}} = 457 \text{ nm}$, fendas 15/20 nm).

Como pode-se observar na Figura II.14a, o pH afeta os sinais de emissão principalmente em valores menores que 6,0 e maiores que 7,5. Os intervalos de pH abaixo de 6,0 e acima de 9,0 foram considerados críticos, pois, soluções ácidas e básicas

provocaram lixiviação do reagente e, por isso, foram intervalos descartados para o desenvolvimento do sensor óptico. A Figura II.14b mostra que, para baixas concentrações de tampão, praticamente o sinal de emissão da fase sensora permanece constante. Apesar de apresentar um largo intervalo de pH sem alteração do sinal na fase sensora, a baixa capacidade de tamponamento pode tornar inviável a sua utilização.

II.4.2.2.2. – Efeito da Força Iônica

A força iônica, que está relacionada à concentração total de eletrólitos, influencia a atividade dos íons em solução. Normalmente, espera-se que a adsorção de íons seja menor, em valores maiores de força iônica, devido à competição entre íons pelos sítios de troca e também pela diminuição de suas atividades. No caso da fase sensora em estudo, foi verificado o efeito da força iônica pela adição de NaCl uma solução tampão fosfato 0,1 mol L⁻¹, mantida a pH 7,0. A Figura II.15 mostra o perfil do sinal analítico da fase sensora em função da quantidade adicionada de NaCl em mol L⁻¹.

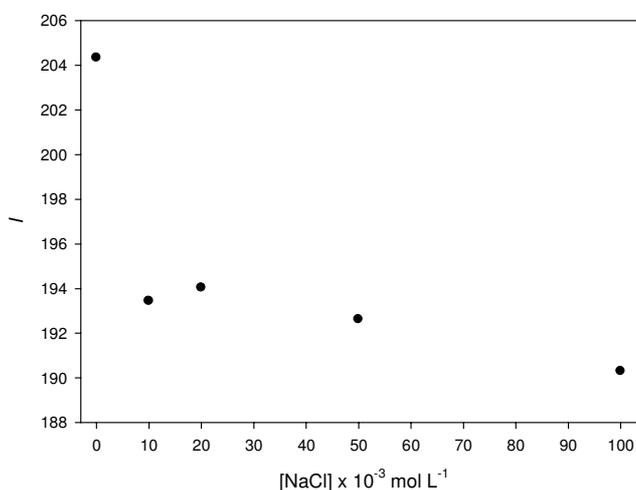


Figura II.15: Representação gráfica do sinal de emissão (605 nm) da fase sensora em função da quantidade de NaCl adicionada a uma solução tampão fosfato (1,0 x 10⁻¹ mol L⁻¹). Espectros de emissão ($\lambda_{exc} = 457$ nm, fendas 15/20 nm).

Como pode ser percebido na Figura II.15, a partir de $0,01 \text{ mol L}^{-1}$ de NaCl, a variação do sinal analítico torna-se praticamente constante em função da adição do eletrólito ao sistema. Isto indica que a presença de eletrólitos neste nível de concentração, ao redor de $0,01 \text{ mol L}^{-1}$, a adsorção de íons metálicos na fase sensora pode ser diminuída.

II.4.2.2.3. – Efeito do Volume e Tempo de Resposta

No estudo do efeito de volume de analito, foi injetada uma solução transportadora de Cu(II) $1,0 \times 10^{-3} \text{ mol L}^{-1}$ no sistema de medidas. Foram testados volumes de soluções de Cu(II) de 2,0 mL, 5,0 mL, 10,0 mL e 20,0 mL conforme mostrado na Figura II.16. Além disso, com base neste estudo de volume, foi possível investigar o comportamento do tempo de resposta da fase sensora (Figura II.16b). Este tempo é definido como sendo o tempo necessário para que ocorra uma mudança do sinal analítico, normalmente equivalente a 90% do sinal total.

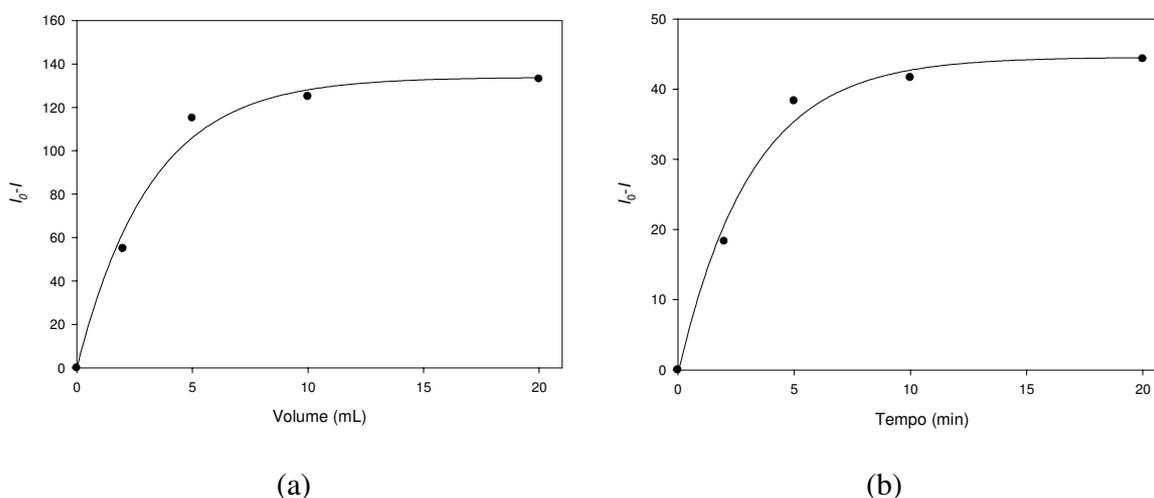


Figura II.16: (a) Efeito do volume da solução de Cu(II) ($1,0 \times 10^{-3} \text{ mol L}^{-1}$) passado pela célula de medida em função da intensidade relativa de fluorescência. (b) Espectros de emissão ($\lambda_{\text{exc}} = 457 \text{ nm}$, fendas 15/20 nm).

Um volume de 5 mL de amostra pode ser considerado um valor otimizado para o uso do sensor para determinação de Cu(II) em águas, pois acima deste valor praticamente

atinge-se a região de saturação da fase sensora. O tempo de resposta ($t_{90\%}$) foi estimado como sendo igual a 3,8 minutos.

II.4.2.2.2.4. – Curva Analítica

A Figura II.17a mostra o comportamento da resposta do sensor a distintas soluções de Cu(II) em água, regeneradas com EDTA ($0,1 \text{ mol L}^{-1}$) e um volume de 5 mL de amostra. A curva analítica obtida para o cobre apresenta uma faixa linear de resposta de 10^{-5} a $10^{-4} \text{ mol L}^{-1}$, conforme mostrado na Figura II.17b.

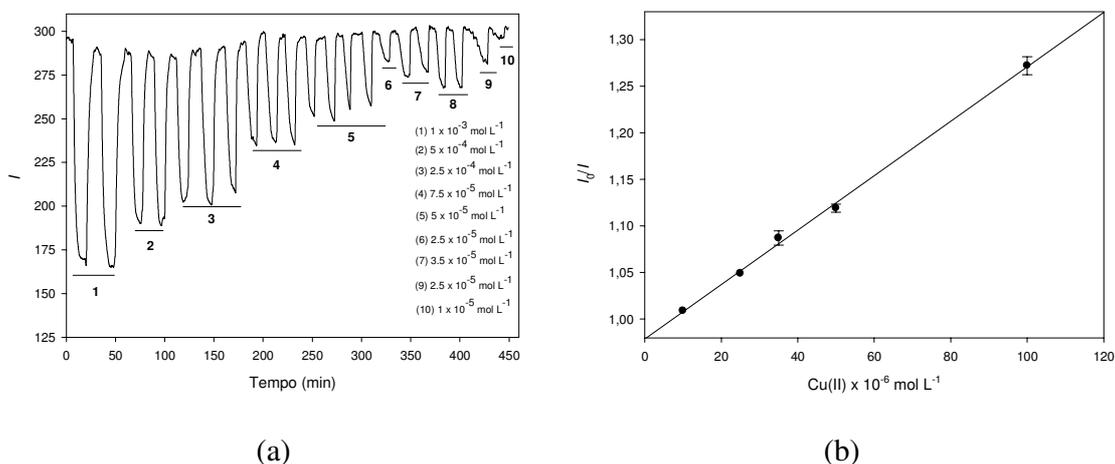


Figura II.17: (a) Resposta do sensor a distintas soluções de Cu(II) em água; (b) Curva analítica construída com o sensor óptico. Espectros de emissão ($\lambda_{\text{exc}} = 457 \text{ nm}$, fendas 15/20 nm).

II.4.2.2.2.5. – Precisão

A precisão do sensor, baseado em medidas de intensidade de luminescência, foi avaliada em termos do desvio padrão relativo do sinal de emissão para três determinações com amostras de distintas concentrações, $2,5 \times 10^{-4}$, $5,0 \times 10^{-5}$ e $7,5 \times 10^{-5} \text{ mol L}^{-1}$ de Cu(II). Obteve-se um desvio padrão abaixo de 2%, conforme sumarizado na Tabela II.2.

Tabela II.2. Estudo da precisão do sensor calculada para as soluções de Cu(II) em $2,5 \times 10^{-4}$, $5,0 \times 10^{-5}$ e $7,5 \times 10^{-5}$ mol L⁻¹, respectivamente.

Cu(II), mol L ⁻¹	Desvio Padrão, %
$2,5 \times 10^{-4}$	1,6
$5,0 \times 10^{-5}$	0,9
$7,5 \times 10^{-5}$	0,5

II.4.2.2.6. – Estudo de Interferentes

Foi realizado um estudo de interferentes com diversos íons metálicos que poderiam afetar as medidas do sensor óptico para determinação de Cu(II). Para isso, realizaram-se medidas fixando-se a concentração de Cu(II) $5,0 \times 10^{-5}$ mol L⁻¹ nas amostras e adicionando quantidades definidas dos íons metálicos. Os resultados obtidos estão mostrados na Tabela II.3, onde se apresenta a fluorescência relativa do sensor em função de cada metal analisado como possível interferente.

Tabela II.3: Efeito de distintas espécies interferentes sobre a resposta do sensor a uma solução de Cu(II) $5,0 \times 10^{-5}$ mol L⁻¹.

Metais	Concentração (mol L ⁻¹)	Erro Relativo (%) $(I-I_0)/I_0 \times 100$
Ag(I)	$1,0 \times 10^{-4}$	-1,5
Cd(II)	$1,0 \times 10^{-4}$	-1,0
Co(II)	$1,0 \times 10^{-4}$	9,0
Zn(II)	$1,0 \times 10^{-4}$	-0,6
Ni(II)	$1,0 \times 10^{-4}$	8,0
Hg(II)	$1,0 \times 10^{-4}$	-3,0
Pb(II)	$1,0 \times 10^{-4}$	3,0
Cr(III)	$1,0 \times 10^{-4}$	-5,0
Mg(II)	$1,0 \times 10^{-3}$	-2,2
Ca(II)	$1,0 \times 10^{-3}$	1,0
Al(III)	$1,0 \times 10^{-3}$	-5,0

⁽¹⁾ I e I_0 são as intensidades de fluorescência com e sem a presença do interferente, respectivamente.

De acordo com a Tabela acima, tanto os íons metálicos Ni(II) e Co(II) apresentaram como possíveis interferentes na determinação de Cu(II) com o sensor óptico desenvolvido, pois seus desvios foram superiores a 5%. Uma alternativa para contornar este efeito é a utilização de métodos de calibração multivariada, pois, pode-se determinar o analito mesmo na presença do interferente.

II.4.2.2.7. – Limite de Detecção

O limite de detecção do optodo foi calculado a partir de três determinações correspondente ao desvio padrão da reta de regressão e o coeficiente angular da equação linear da curva analítica [104], resultando um limite de detecção para determinação de Cu(II) em água correspondente a $32 \mu\text{g L}^{-1}$.

CAPÍTULO III

Conclusões e Perspectivas

Assim, no que concerne à natureza da matéria – tome-se um pedaço de madeira, ou ferro, ou pedra, que eu acredito, como qualquer outra pessoa o faria, ser matéria, e que eu creio se manifeste aos sentidos como uma espécie *particular* de matéria *através de suas propriedades*; pois não há outra forma de se conhecer a matéria, quer de maneira geral quer específica, a não ser pelas propriedades que ela exhibe. Mas tais propriedades pertencem a ela em virtude das *forças* que lhe pertencem e de nenhuma outra maneira; pois, com o consentimento de todos os filósofos naturais, a palavra “força”, ou “forças”, é usada para expressar aquilo que lhes confere suas propriedades e poderes. Assim, por exemplo, o *peso* ou a *gravitação* de um corpo depende da força a que chamamos atração; e essa força não é alguma coisa à parte ou separada da matéria, nem a matéria é separada da força; a força é uma propriedade ou parte essencial da matéria e, falando de modo um tanto absurdo, a matéria sem força não seria matéria. Ou, se reconhecemos a matéria por sua *dureza*, o que faríamos senão reconhecer através de nossas sensações uma força exercida por ela? Pressiono meu dedo contra um vidro e porque meu dedo sofre sua resistência é que digo que ele é *duro*; mas como surge essa dureza ou resistência? Por uma *força de repulsão* que, existindo nas partículas do vidro e nas partículas de meu dedo, impede que se aproximem mutuamente mais do que uma certa distância, fixada pelas circunstâncias, mas variando quando as circunstâncias variam. Eu reafirmo que o vidro é *duro*, porque suas partículas resistem ao deslocamento; não que elas sejam tocadas por alguma superfície sólida imaginária, pois podemos facilmente colocar as partículas mais perto ou mais longe, umas das outras, por meio da pressão, do calor etc., mas sim porque são as forças das partículas que as mantêm, sob tais circunstâncias, a uma *dada* distância e em uma *dada* posição.

Michael Faraday, 19 de fevereiro de 1844

O desenvolvimento do sensor óptico para determinação de BTEX em águas utilizando a técnica NIR consistiu da etapa de preparação da fase sensora polimérica e de otimização das condições experimentais. O tempo de extração dos compostos BTEX escolhido foi de 60 minutos. O ajuste da salinidade da solução extratora foi mantida a concentração de 2 mol L^{-1} de NaCl. Dentre as principais figuras de méritos do sensor óptico para BTEX, foram obtidas repetibilidades melhores que 2%, precisão melhor que 5,8%, com limites de detecção de 0,079; 0,1221; 0,1434 e $0,2769 \text{ mg L}^{-1}$ para benzeno, tolueno, etilbenzeno e xilenos, respectivamente, empregando-se um monolito de PDMS com 5 mm (medidas realizadas em 1675 nm). O sistema constituído de pequenos frascos e um agitador magnético numa etapa de pré-concentração, mostrou-se bastante versátil e eficiente. A cela de transmissão com fibras ópticas apresentou melhor desempenho, acessibilidade e baixo custo quando comparada com os demais sistemas de estudo.

O estudo do efeito da adição de NaCl nas soluções contendo os compostos BTEX foi muito importante devido ao aumento da sensibilidade. Esse procedimento, embora seja bastante empregado em cromatografia gasosa quando se utiliza a técnica de *headspace*, não consta na literatura empregando-se sensores.

Foi demonstrado que a fase sensora de PDMS pode ser aplicada na determinação simultânea dos compostos benzeno, tolueno, xilenos e de BTX total em águas, em baixas concentrações (na faixa de 2 a 70 mg L^{-1}), empregando-se a espectroscopia do Infravermelho Próximo com o auxílio de técnicas quimiométricas de calibração multivariada. Valores de RMSEP (mg L^{-1}) de 0,57; 2,2; 1,2 foram encontrados para benzeno, toluenos e xilenos, respectivamente. Os coeficientes de regressão estimados pelo modelo PLS, foram empregados para indicar alguns dos comprimentos de onda que se apresentaram adequados para o desenvolvimento do fotômetro NIR.

Foram investigadas as potencialidades de um fotômetro NIR multicanal baseado em um arranjo de LED na determinação de BTEX em águas contaminadas por gasolina, utilizando-se a fase sensora de PDMS. O fotômetro baseado em LED apresenta uma montagem simples e de baixo custo, cujo valor é bastante inferior ao encontrado no

mercado para a maioria dos espectrofotômetros NIR, indicando que o instrumento desenvolvido pode ser uma alternativa econômica e simples para a aplicação estudada.

O indicador luminescente bis(1,10-fenantrolina)(2,2'-imidazolimidazol[4,5-f]rutênio (II) bis hexafluorofosfato, abreviadamente [Ru(phen)₂iip](PF₆)₂, sintetizado e caracterizado pelo Laboratório de Fotoquímica Aplicada da Universidade Complutense de Madrid (UCM), foi estudado com referência a resposta espectroscópica (absorção e emissão molecular) na presença de diferentes íons metálicos.

Foi observado que o indicador responde seletivamente aos íons Cu(II) e Hg(II) em solução. O método para determinação simultânea destes íons metálicos, utilizando os espectros de absorção e emissão, empregando PLS, mostrou-se satisfatório, apresentando baixos valores de RMSEP (em µg L⁻¹), de 2,1 e 0,95 para os íons cobre e mercúrio, respectivamente, para medidas na faixa de 0,5 a 38 µg L⁻¹.

O complexo Ru(phen)₂iip(PF₆)₂ foi estudado na forma imobilizada em duas matrizes: uma polimérica a base de acrilatos e a outra a base de sol-gel. Utilizando-se suportes de vidro, foi observado que as membranas poliméricas a base de acrilatos respondem seletivamente ao Cu(II), com pequenas interferências do Ni(II) e Co(II). Na otimização do sensor para determinação de Cu(II) em águas, foi observada pequeno efeito na resposta na faixa de pH entre 5,0 e 9,0. O volume de solução empregado foi de 5 mL e o tempo de resposta (t_{90%}) foi estimado como sendo igual a 3,8 minutos. Com relação as principais figuras de mérito do sensor para cobre, o intervalo dinâmico foi de 10⁻⁵ a 10⁻⁴ mol L⁻¹, a precisão melhor que 2 % e limite de detecção de 32 µg L⁻¹. Estes resultados demonstram que o sensor desenvolvido apresenta potencialidades na determinação de Cu(II) em águas. Infelizmente, as membranas confeccionadas a partir da matriz de sol-gel não forneceram bons resultados, principalmente devido ao controle de poros que é um dos pontos críticos na fabricação destas membranas.

Como perspectivas para este trabalho, seria a aplicação da membrana sensora de PDMS na determinação dos compostos BTEX em amostras de água contaminadas com

gasolinas tipo C. Estudos preliminares revelaram que o efeito de co-solvência do etanol (aumento da transferência dos compostos BTEX presentes na gasolina para a fase aquosa), dificulta a determinação destes compostos, devido à mudança no coeficiente de partição destes hidrocarbonetos aromáticos entre o PDMS e a água. Nesse sentido, um estudo mais detalhado sobre esta influência abrangeria o método para outros tipos de contaminação.

Os hidrocarbonetos aromáticos interagem com nanotubos de carbono, como tem sido descrito na literatura. Desta forma, o desempenho de uma fase sensora modificada com nanotubos poderia ser estudado, verificando, principalmente, se o limite de detecção para o benzeno pode ser melhorado, de forma a atender os limites impostos pela legislação.

Com relação ao fotômetro, LED mais intensos poderiam ser avaliados, ampliando os comprimentos de onda empregados, com o objetivo de se possibilitar a determinação simultânea de BTEX em águas contaminadas, como era uma das propostas iniciais deste trabalho.

Ainda como perspectivas, o complexo de rutênio, que se mostrou seletivo a Cu(II) quando imobilizado em uma matriz acrílica, poderia ser estudado em uma matriz do tipo MIP (do inglês, “molecularly imprinted polymers”) , sintetizada com o objetivo de aumentar a seletividade para o íon Hg(II), cuja toxicidade é muito maior que a do Cu(II), devendo, portanto, ter um controle mais rigoroso. Mesmo que essa fase sensora responda aos dois íons metálicos, métodos quimiométricos poderiam ser utilizados para a determinação simultânea destas espécies. Da mesma maneira, outras matrizes sol-gel também poderiam ser estudadas com o mesmo objetivo.

CAPÍTULO IV

Referências

“Pegamos então o nitro comum e, pelo modo usual de solução, filtração e coagulação, o reduzimos a cristais. Colocamos quatro onças desse nitro purificado num forte cadinho novo, no qual (o vaso estando primeiro bastante aquecido para evitar a quebra e coberto para evitar que caia alguma coisa dentro que possa em hora imprópria incandescer o salitre) nós fundimos até se transformar num licor límpido e enquanto estava em fusão juntamos a isso um pequeno carvão em brasa que imediatamente incandesceu, e fez borbulhar o líquido, sibilou e acendeu por alguns instantes. Depois disso, juntamos outro carvão incandescente que o fez fulminar novamente; e, depois disso, juntamos um terceiro e um quarto e, então, continuamos a operação até que o nitro nem fulminasse nem incandescesse mais. Depois disso continuamos a mantê-lo num fogo forte por aproximadamente um quarto de hora, de modo que se ainda permanecesse uma parte volátil ela pudesse ser evaporada”

Robert Boyle, 1672

1. Tiburtius, E.R.L.; Peralta-Zamora, P.; Leal, E.S.; *Quim. Nova.* **2004**, 27, 441.
2. Silva, R.L.B.; Barra, C.M.; Monteiro, T.C.N.; Brilhante, O.M. *Caderno de Saúde Pública RJ*, **2002**, 18, 1599.
3. http://www.funasa.gov.br/sitefunasa/legis/pdfs/portarias_m/pm_518_2004, acessada em outubro de 2008.
4. Alegretti, A.P.; Thiesen, F.V.; Maciel, G.P. *J. Chromatogr. A.* **2004**, 809, 183.
5. TPHCWG - *Total Petroleum Hydrocarbon Criteria Working Group*. Group Series. Vol 3, Amherst Scientific Publishers, 1997.
6. http://www.anp.gov.br/conheca/anuario_2003.asp#secao_2., acessada em fevereiro de 2005.
7. Santos, R.F.; Montenegro, M.A.P.; Luz, L.B.; Corseuil, H.X.; Influência do Etanol da Biodegradação do Benzeno em Aquíferos Contaminados com Derramamentos de Gasolina. In: 3º Simpósio Ítalo-Brasileiro de Engenharia Sanitária e Ambiental, Gramado (1996).
8. Wu, Z.; Fung, Y.S.; *Intern. J. Environ. Anal. Chem.* **2002**, 82, 431.
9. Gioia, M.L.Di.; Leggio, A.; Pera, A.L.; Liguori, A.; Napoli, A.; Siliciano, C.; *Chromatographia*, **2004**, 60, 319.
10. Kubinec, R.; Adamuscin, J.; Jurdakova, H.; Foltin, H.; Ostrovsky, I.; Kraus, A.; Sojak, L.; *J. Chromatogr. A.* **2005**, 1084, 90.
11. Zwank, L.; Frimmel, F.H.; *Fresenius J. Anal. Chem.* **1998**, 360, 820.
12. Serrano, A.; Gallego, M.; *J. Chromatogr. A*, **2004**, 1045, 181.
13. Arthur, C.L.; Pawliszyn, J.; *Anal. Chem.* **1990**, 62, 2145.
14. Arambarri, I.; Lasa, M.; Garcia, R.; Millán, E.; *J. Chromatogr. A* **2004**, 1033, 193.
15. Meurer, E.C.; Tomazela, D.M.; Silva, R.C.; Augusto, F.; Eberlin, M.N.; *Anal. Chem.* **2002**, 74, 5688.
16. Hoch, G.; Kob, B.; *Arch. Biochem. Biophys.* **1963**, 101, 160.
17. Allen, T.M.; Cisper, M.E.; Hemberger, P.H.; Wilkerson Jr.; C.W.; *In. J. Mass*

- Spectrom.* **2001**, 212, 197.
18. Mendes, M.A.; Eberlin, M.N.; *Analyst* **2000**, 125, 21.
 19. Baltussen, E.; Sandra, P.; David, F.; Janssen, H.-G.; Cramers, C.A.; *Anal. Chem.* **1999**, 71, 5213.
 20. Popp, P.; Bauer, C.; Wenrich, L.; *Anal. Chim. Acta.* **2001**, 436, 1.
 21. Vogt, F.; Tacke, M.; Jakusch, M.; Mizaikoff, B.; *Anal. Chim. Acta.* **2000**, 422, 187.
 22. Larsson, H.; Dasgupta, P.K.; *Anal. Chim. Acta.* **2003**, 485, 155.
 23. Karlowatz, M.; Kraft, M.; Mizaikoff, B.; *Anal. Chem.* **2004**, 76, 2643.
 24. Heglund, D.L.; Tilotta, D.C.; *Environ. Sci. Technol.* **1996**, 30, 1212.
 25. Merschman, S.A.; Lubbad, S.H.; Tilotta, D.C.; *J. Chromatogr. A* **1998**, 829, 377.
 26. Silva, A.M.S.; Pimentel, M.F.; Raimundo, I.M.; Almeida, Y.M.B.; *Vib. Spectrosc.* **2008**, 46, 39.
 27. Jager, J.M.; McClintic, D.P.; Tilotta, D.C.; *Appl. Spectrosc.* **2000**, 54, 1617.
 28. Geladi, P.; Barring, H.; Dabakk, E.; Trygg, J.; Antti, H.; Wold, S.; Karlberg, B.; *J. Near Infrared Spectrosc.* **1999**, 7, 251.
 29. Conzen, J.P.; Bürck, J.; Ache, H.J.; *Appl. Spectrosc.* **1993**, 47, 753.
 30. Buerck, J.; Roth, S.; Kraemer, K.; Scholz, M.; Klaas, N.; *J. Hazard. Mater.* **2001**, 83, 11.
 31. Albuquerque, J.S.; Pimentel, M.F.; Silva, V.L.; Raimundo Jr., I.M.; Rohwedder, J.J.R.; Pasquini, C.; *Anal. Chem.* **2005**, 77, 72.
 32. Hershel, W.; *Phill Trans. Roy. Sco. London* **1800**, Part II, 255.
 33. Hershel, W.; *Phill Trans. Roy. Sco. London* **1800**, Part II, 284.
 34. Blanco, M.; Villarroya, I.; *Trends Anal. Chem.* **2002**, 21, 240.
 35. Wetzel, D.L.; *Anal. Chem.* **1983**, 55, 1165A.
 36. McClure, W.F.; *Anal. Chem.* **1994**, 66, 43A.
 37. Davies, T.; *Analisis.* **1998**, 26, 43A.
 38. Confalonieri, M.; Fornasier, F.; Ursino, A.; Boccardi, F.; Pintus, B.; Odoardi, M.; *J. Near Infrared Spectrosc.* **2001**, 9, 123.
 39. Barthus, R.C.; Poppi, R.J.; *Vibr. Spectrosc.* **2001**, 26, 99.

40. Scafi, S.H.F.; Pasquini, C.; *Analyst*. **2001**, 126, 2218.
41. Tipparat, P.; Lapanantnoppakum, S.; Jakmune, J.; Grudpan, K.; *Talanta*, **2001**, 53, 1199.
42. Coates, J.; *Appl. Spectr. Rev.* **1998**, 33, 267.
43. Dasgupta, P.K., Bellamy, H.S., Liu, H., Lopez, J.L.; Loree, E.L.; Morris, K., Petersen, K., Mir, K.A., *Talanta*. **1993**, 40, 53.
44. Raimundo Jr. I.M.; Fonseca, A.; *Anal. Chim. Acta*. **2004**, 522, 223.
45. <http://www.zeltex.com/>, acessada em outubro de 2008.
46. McClure, W.F., Moody, D., Stanfield, D.L., Kinoshita, O., *Appl. Spectrosc.* **2002**, 56, 720.
47. Gaião, E.N., Dos Santos, S.R.B., Dos Santos, V.B., Nascimento, E.C.L., Lima, R.S.; Araújo, M.C.U., *Talanta*. **2008**, 75, 792.
48. Hyvarinen, T.; Niemela, P.; *SPIE (Process Optical Measurements and Industrial Methods)*, **1990**, 99, 1266.
49. Lysaght, M.J.; Zee, J.A.; Callis, J.B.; *Rev. Sci. Instrum.* **1991**, 62, 507.
50. Malinen, J.; Kansakoski, M.; Rikola, R.; Eddison, C.G.; *Sens. Actuators, B.* **1998**, 51, 220.
51. Chance, B.; Zhao, Z.; Wen, S.; Chen, Y.; *Rev. Sci. Instrum.* **2006**, 77, 064301
52. Lin, Y.Q.; Lech, G.; Nioka, S.; Intes, X.; Chance, B.; *Rev. Sci. Instrum.* **2006**, 77, 3065
53. <http://www.anton-paar.com/>, acessada em outubro de 2008.
54. <http://www.vaisala.com>, acessada em outubro de 2008.
55. Chagas, I.P.; *Tese de Doutorado*, Universidade Estadual de Campinas, Brasil, 2006.
56. Ferreira, S.L.C.; Dos Santos, W.N.L.; Quintella, C.M.; Neto, B.B.; Bosque-Sendra, J.A.; *Talanta* **2004**, 63, 1061.
57. <http://lri.com.br>, acessada em outubro de 2008.
58. <http://roithner-laser.com>, acessada em outubro de 2008.
59. <http://www.oceanoptics.com>, acessada em outubro de 2008.
60. <http://www.ti.com>, acessada em outubro de 2008.

61. <http://www.hamamatsu.com>, acessada em outubro de 2008.
62. <http://www.ni.com>, acessada em outubro de 2008.
63. <http://www.cetesb.sp.gov.br>, acessada em janeiro de 2009.
64. Velasquez, I.B.; Jacinto, G.S.; Varela, F.S.; *Marine Pollution Bulletin.*, **2002**, 45, 210.
65. Bard, A.; Zoski, C.G.; *Anal. Chem.* **2002**, 72, 364 A.
66. Pourreza, N.; Hveizavi, R.; *Anal. Chim. Acta* **2005**, 549, 124.
67. Becker, J.S.; Zoriv, M.V.; Pickhardt, C.; Palomero-Gallagher, N.; Zilles, K.; *Anal. Chem* **2005**, 77, 3208.
68. Otero-Romani, J.; Moreda-Pineiro, A.; Bermejo-Barrera, A.; Bermejo-Barrera, P.; *Anal. Chim. Acta.* **2005**, 536, 213.
69. Pinto, J.J.; Moreno, C.; Garcia-Vargas, M.; *Talanta* **2004**, 64, 562.
70. Beni, V.; Ogurtsov, V.I.; Bakumin, N.V.; Arrigan, D.W.M.; Hill, M.; *Anal. Chim. Acta* **2005**, 552, 190.
71. Newcombe, D.T.; Cardwell, T.J.; Cattrall, R.W.; Kolev, S.D.; *Anal. Chim. Acta* **1999**, 401, 137.
72. Pinheiro, S.C.L.; Raimundo Jr., I.M.; *Quim. Nova* **2005**, 28, 932.
73. Skibsted, E.; Lindemann, C.; Roca, C.; Olsson, L.; *J. Biotechnol.* **2001**, 88, 47.
74. Taib, M. N.; Narayanaswamy, R.; *Analyst* **1995**, 120, 1617.
75. Wolfbeis, O. S.; *Fiber Optic Chemical Sensors and Biosensors*, CRC Press: Boca Raton, 1991, vol. I.
76. Sotomayor, M.D.P.T.; *Tese de Doutorado*, UNICAMP, Brasil, 2000.
77. Oter, O.; Ertekin, K.; Kirilmis, C.; Koca, M.; *Anal. Chim. Acta.* **2007**, 584, 308.
78. Yari, A.; Afshari, N.; *Sens. Actuators, B.* **2006**, 119, 531.
79. Zhang, G.Q.; Yang, G.Q.; Zhu, L.N.; Chen, Q.Q.; Ma, J.S.; *Sens. Actuators, B.* **2006**, 114, 995.
80. Malcik, N.; Oktar, O.; Ozser, M.E.; Caglar, P.; Bushby, L.; Vaughan, A.; Kuswandi, B.; Narayanaswamy, R.; *Sens. Actuators, B.* **1998**, 53, 211.

81. Yang, Yu.; Jiang, J.; Shen, G.; Yu, R.; *Anal. Chim. Acta.* **2009**, In press.
82. Ensafi, A.E.; Fouladgar, M.; *Sens. Actuators, B.* **2008**, In press.
83. Vaughan, A.A.; Narayanaswamy, R.; *Sens. Actuators, B.* **1998**, 51, 368.
84. Zhu, X.; Fu, S.; Wong W-K.; Wong, W-Y.; *Tetrahedron Lett.* **2008**, 49, 1843.
85. Zhu, X-J.; Fu, S-T.; Wong, W-K.; Guo, J-p.; Wong, W-Y.; *Angew. Chem. Int. Ed.* **2006**, 45, 3150.
86. Coskum, A.; Yilmaz, M.D.; Akkaya, E.U.; *Org. Lett.* **2007**, 9, 607.
87. Zhu, M.; Yuan, M.; Liu, X.; Xu, J.; Lv, J.; Huang, C.; Liu, H.; Li, Y.; Wang, S.; Zhu, D.; *Org. Lett.* **2008**, 10, 1481.
88. Tang, Bo.; Huang, H.; Xu, K.; Tong, L.; Yang, G.; Liu, X.; An, L.; *Chem. Commun.* **2006**, 34, 3609.
89. El-Safty, S.A.; Prabhakaran, D.; Ismail, A.A.; Matsunaga, H.; Mizukami, F.; *Adv. Funct. Mater.* **2007**, 17, 3731.
90. Zarei, K.; Atabati, M.; Malekshabani, Z.; *Anal. Chim. Acta.* **2006**, 556, 254.
91. Ni, Y.; *Anal. Chim. Acta.* **1993**, 277, 289.
92. Blanco, M.; Coelho, J.; Iturriaca, H.; MasPOCH, S.; Redón, M.; *Anal. Chem.* **1995**, 67, 4477.
93. Gao, L.; Ren, S.X.; *J. Autom. Chem.* **1998**, 20, 179.
94. Kuswandi, B.; Vaughan, A.A.; Narayanaswamy, R.; *Anal. Sci.* **2001**, 17, 181.
95. Raimundo Jr., I.M.; Narayanaswamy, R.; *Sens. Actuators, B.* **2003**, 90, 189.
96. Balzani, V.; Carassiti, V.; *Photochemistry of Coordination Compounds*; Academic Press, London, 1970.
97. Ford, P.C.; *Rev. Chem. Int.* **1979**, 2, 267.
98. Wang, B.; Liu, Y.; Li, B.; Yue, S.; Wenlian, L.; *Journal of Luminescence*, **2008**, 128, 341.

99. Malins, C.; Glever, H.G.; Keyes, T.E.; Vos, J.G.; Dressick, W.J.; MacCraith, B.D.; *Sens. Actuators, B.* **2000**, 67, 89.
100. McGaughey, O.; Ros-Lis, J.V.; Guckian, A.; McEvoy, A.K.; McDonagh, C.; MacCraith, B.D.; *Anal. Chim. Acta.* **2006**, 570, 15.
101. Burke, C.S.; Markey, A.; Nooney, R.I.; Byrne, P.; McDonagh, C.; *Sens. Actuators, B.* **2006**, 119, 288.
102. Jeong, Y. C.; Sohn, O-J.; Rhee, J.; Lee, S.; Kim, H.J.; *Bull. Korean Chem. Soc.* **2007**, 28, 883.
103. Wencel, D.; Higgins, C.; Klukowska, A.; MacCraith, D.; McDonagh, C.; *Materials Science-Poland* **2007**, 25, 767.
104. Miller, J. C.; Miller, J. N.; *Statistics for Analytical Chemistry*, 3rd ed., Ellis Horwood: New York, 1993.