



UNICAMP

**UNIVERSIDADE ESTADUAL DE CAMPINAS
INSTITUTO DE QUÍMICA**

***TITULAÇÃO, ADIÇÃO DE PADRÃO E DIFUSÃO
GASOSA EMPREGANDO SISTEMAS DE ANÁLISE
EM FLUXO MONOSSEGMENTADO***

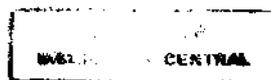
Dissertação de Mestrado



MARGARETE ASSALI DE KONING

Orientador : Prof.Dr. Ivo Milton Raimundo Junior

Julho, 1998



UNIDADE	<u>IQ</u>
N.º CHAMADA:	<u>T/UNICAMP</u>
	<u>K836t</u>
V.	Ex.
TOMBO BC/	<u>35488</u>
PROC.	<u>395/98</u>
C	<input type="checkbox"/>
D	<input checked="" type="checkbox"/>
PREÇO	<u>R\$ 11,00</u>
DATA	<u>6/10/98</u>
N.º CPO	<u>0.100.112.193-1</u>

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

K836t Koning, Margarete Assali de
 Titulação, adição de padrão e difusão gasosa empregando
 Sistemas de análise em fluxo monossegmentado/ Margarete
 Assali de Koning – Campinas, [SP:, s.n.], 1998.

Orientador: Ivo Milton Raimundo Jr.

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

1. Injeção múltipla simultânea. 2. Análise em fluxo.
3. * MSFA. I. Raimundo Jr, Ivo Milton . II. Universidade Estadual de Campinas. III. Título

**Dedico esta dissertação ao Maurice,
pelo amor, paciência e pelo incentivo
de começar e terminar este trabalho...**

**Agradeço especialmente ao Ivo,
pela orientação, pela amizade e
pelo apoio que me foi dedicado.**

Muito Obrigado.

Agradecimentos

Aos professores : Jarbas, Marco Zezzi e Lauro que muito me apoiaram e colaboraram com discussões construtivas para a elaboração deste trabalho e, especialmente, ao Celio e ao Wilson pela colaboração com reagentes e instrumentos.

Às minhas amigas Cláudia e Ileana, pela amizade sincera.

Aos colegas do grupo de instrumentação e do laboratório de química ambiental: Pilar, Fernando, Ricardo, Jonas, Emerson, Carminha, Henrique, Ismael, Renato Guchardi, Saliba, Fernanda, Martha, Pedro, Raquel Sofia, Roberta, Cristina, Rosana, Raquel Nogueira, e Tuca.

Aos meus colegas da UNICAMP: Solange, Bell Bueno, Edvaldo, Rose, Cida, Noemi, Eduardo, Cleidiane, Marcelo, Paulo, Viviane, Vânia, Lorena, Renato Sanches e Airton. A todos, com muito carinho.

Aos funcionários do instituto de química: Bell, Toninho, Nelson, Denise, Lena, André, D. Iara e D. Paula, sempre atenciosos e competentes.

À Elaine e à Alessandra, pela amizade duradoura e verdadeira.

Ao Josélis que, com muito carinho, compreensão e paciência, colaborou para a elaboração da redação desta dissertação.

Resumo

TITULAÇÃO, ADIÇÃO DE PADRÃO E DIFUSÃO GASOSA EMPREGANDO SISTEMAS DE ANÁLISE EM FLUXO MONOSSEGMENTADO

Aluna : Margarete Assali de Koning

Orientador : Prof. Dr. Ivo Milton Raimundo Junior

Este trabalho descreve a implementação das técnicas de titulação, adição de padrão e difusão gasosa em um sistema de análise em fluxo monossegmentado (MSFA) automático, empregando a injeção múltipla simultânea (IMS). A IMS consiste na injeção simultânea de duas ou mais soluções, delimitadas por duas bolhas de ar, em um sistema de fluxo, cujo fluido é propelido continuamente em direção ao detector. Na titulação ou na adição de padrão, que simulam um procedimento manual, são injetados volumes constantes das soluções de amostra e de titulante ou solução de referência, respectivamente. Os volumes destas duas soluções (amostra e titulante ou solução de referência) são determinados em função da diluição que se deseja efetuar com a amostra. Diferentes concentrações do titulante ou da solução de referência no monossegmento são obtidas, empregando-se uma válvula solenóide de três vias, que em cada injeção permite que quantidades crescentes destas soluções sejam adicionadas à amostra. A titulação foi avaliada com a determinação de Fe(II) com KMnO_4 em amostras de medicamentos e a adição de padrão com a determinação de Cr(VI), através da reação com difenilcarbazida, em amostras de águas naturais. Na difusão gasosa foram combinados o sistema FIA, onde é formada a espécie volátil, com o MSFA, cuja a amostra é recolhida por um fluido aceptor e inserida no analisador entre duas bolhas de ar. Este sistema foi avaliado com a determinação de amônia em águas naturais, empregando-se a reação de Berthelot, obtendo-se uma sensibilidade cerca de 5 vezes superior às encontradas em sistemas similares de análise por injeção em fluxo (FIA). Os resultados obtidos com as técnicas desenvolvidas mostraram uma boa concordância com as respectivas metodologias de referência, ao nível de 95 % de confiança.

Abstract

Titration, Standard Addition and Gas Diffusion in a Monosegmented Flow System

Author : Margarete Assali de Koning

Supervisor : Prof. Dr. Ivo Milton Raimundo Junior

This work describes the development of the titration, standard addition and gas diffusion techniques in an automatic monosegmented flow system (MSFA), employing simultaneous multiple injection (SMI). SMI consists in a simultaneous injection of two or more solutions delimited by two air bubbles in a flow system. In the titration and in the standard addition techniques, constant volumes of sample solution and titrand or standard solutions are injected, simulating the conventional manual procedure. The volumes of these solutions (sample and titrand or standard solution) are determined as a function of the request dilution. Known additions of titrand or standard solution are achieved utilizing a three-way solenoid valve which delivery increasing volumes of these solutions in to the sample for each injection. The titration with KMnO_4 has been employed for the determination of Fe(II) in pharmaceutical samples. Furthermore, standard addition was used for the determination of Cr(VI) in water samples with diphenylcarbazide. In the gas diffusion, a flow injection system (FIA) in which the volatile species is formed, was combined with the MSFA system, where the sample is absorbed by an acceptor fluid and inserted into the analyzer between two air bubbles. This system was evaluated for ammonia determination employing the Berthelot reaction. The sensitivity was 5 times better than others similar FIA system. The results obtained with the proposed techniques agreed with the reference methodologies within a 95% confidence level.

Índice

	APRESENTAÇÃO	01
I.	CAPÍTULO 1	
	TITULAÇÃO EM FLUXO	06
I.1.	INTRODUÇÃO	06
I.2.	EXPERIMENTAL	11
I.2.1.	PREPARAÇÃO E PADRONIZAÇÃO DAS SOLUÇÕES	11
I.2.2.	O ANALISADOR	12
I.3.	RESULTADOS E DISCUSSÃO	13
II.	CAPÍTULO 2	
	ADIÇÃO DE PADRÃO EM FLUXO	23
II.1.	INTRODUÇÃO	23
II.2.	EXPERIMENTAL	28
II.2.1.	PREPARAÇÃO E PADRONIZAÇÃO DAS SOLUÇÕES	28
II.2.2.	ADIÇÃO DE PADRÃO NO ANALISADOR	28
II.3.	RESULTADOS E DISCUSSÃO	30
III.	CAPÍTULO 3	
	DIFUSÃO GASOSA EM FLUXO	36
III.1.	INTRODUÇÃO	36
III.2.	EXPERIMENTAL	39
III.2.1.	PREPARAÇÃO DAS SOLUÇÕES	39
III.2.2.	DIFUSÃO GASOSA ATRAVÉS DE MEMBRANA NO ANALISADOR	40
III.3.	RESULTADOS E DISCUSSÃO	41
	CONCLUSÕES E PERSPECTIVAS	51
	REFERÊNCIAS	53
	ÍNDICE DE FIGURAS	57
	ÍNDICE DE TABELAS	59

APRESENTAÇÃO

ANÁLISE EM FLUXO MONOSSEGMENTADO

Os sistemas de análise em fluxo têm sido largamente utilizados em Química Analítica, pois permitem que sejam obtidos resultados em um curto intervalo de tempo, com graus de precisão e exatidão bastante altos. Estas vantagens vêm sendo bastante exploradas, principalmente nas áreas de química ambiental e clínica onde a demanda por análises vem aumentando continuamente. Além disso, vários dispositivos têm sido desenvolvidos e contribuem para a versatilidade destes sistemas, diminuindo o número de operações unitárias e o desgaste do analista.

Os sistemas de análise em fluxo monossegmentado (MSFA) foram introduzidos em 1985 por Pasquini e Oliveira [1] e combinam as vantagens oferecidas pelo sistema desenvolvido por Skeggs [2] com as dos sistemas FIA [3]. No trabalho original, assim como em algumas aplicações [4-7], a amostra era previamente misturada aos reagentes antes de ser injetada em um fluido transportador inerte entre duas bolhas de ar. Estas bolhas, que permitem que longos tempos de residência sejam alcançados, eram retiradas antes da amostra atingir o detector, sofrendo, portanto, apenas uma pequena dispersão.

Na MSFA não é requerido que as medidas sejam feitas em estado estacionário, embora esta situação possa ser alcançada. Apesar das vantagens oferecidas, como reprodutibilidade, maior frequência de amostragem, longos tempos de residência, o sistema originalmente proposto não permitia o estudo de reações

no qual era necessária a adição de reagentes após a injeção do monossegmento no analisador, sem que ocorresse sua descaracterização. Além disto, em uma avaliação preliminar deste sistema [8], algumas possíveis limitações eram apontadas, como por exemplo a impossibilidade de se efetuar a titulação e a necessidade de uma avaliação mais criteriosa com respeito a extração por solventes, diálise e determinações cinéticas.

Em 1994, Facchin e colaboradores descreveram um sistema MSFA para extração por solventes em fase única [9]. A extração em fase única é feita, injetando-se no monossegmento uma mistura ternária contendo ternoil-trifluoroacetona em metil isobutil cetona (IBMK-TTA), uma solução aquosa contendo a espécie de interesse (metal) e etanol. Ao ser injetada no fluido transportador, rapidamente, a amostra reage com o agente complexante, numa fase única. Subseqüentemente, esta fase contendo TTA é separada em duas fases adicionando-se uma solução saturada de NaNO_3 . Ao final do percurso do monossegmento, empregando-se um reator na forma de "U", por diferença de densidades, ocorre a separação das fases orgânica/aquosa dentro do monossegmento, passando por um detector espectrofotométrico, sem a necessidade da remoção das bolhas de ar.

Posteriormente, Facchin e Pasquini [10], propuseram a extração empregando-se duas fases, onde a amostra contendo um metal (Cd, Zn ou Cu), é injetada no monossegmento, percorrendo um reator de vidro, nas paredes do qual este metal é adsorvido. Após a injeção de um monossegmento, uma porção de um solvente orgânico, contendo um complexante adequado, é injetado no fluido

transportador, extraíndo o metal adsorvido. Este sistema mostrou resultados satisfatórios atingindo uma recuperação de até 80%.

Silva e Pasquini [11] propuseram um sistema MSFA para a determinação de espécies em amostras gasosas no qual, diferentemente dos sistemas MSFA propostos anteriormente, as bolhas de ar são empregadas como amostra. Assim, através de sensores ópticos, são monitorados os volumes da amostra antes e depois da inserção de reagentes no monossegmento. Todo o sistema foi controlado por um microcomputador, que também foi empregado para a aquisição dos dados. Este princípio foi avaliado para medidas de O_2 e CO_2 e em misturas contendo ambas as espécies, mostrando resultados satisfatórios, com erros absolutos desprezíveis e uma freqüência de amostragem de $40h^{-1}$.

Em 1997, Raimundo Jr e Pasquini [12] construíram um analisador automático empregando um módulo de adição de reagentes, possibilitando, então, o emprego de reações seqüenciais em MSFA. Isto foi feito utilizando-se sensores ópticos, que permitiam a localização exata do monossegmento no reator e o acionamento de válvulas solenóides, de forma que a adição de reagentes fosse efetuada apenas na amostra, sem fragmentar o monossegmento e economizando reagentes. Este sistema, inicialmente, foi aplicado para a determinação de creatinina, uréia e glicose em soro e plasma sangüíneos. A dupla amostragem [13], posteriormente denominada de injeção múltipla simultânea [14], pode ser empregada para se efetuar a diluição destas amostras como também para a determinação de nitrito em águas naturais[14]. Este método consiste em injetar, simultaneamente, duas ou mais soluções entre as bolhas de ar, através de um injetor proporcional. Para a determinação de glicose, creatinina e uréia, o

monossegmento é composto por: ar/fluido diluidor/amostra/fluido diluidor/ar e, para a determinação de nitrito o monossegmento constituído de ar/amostra/reagente/amostra/ar. A Figura 1 mostra como o injetor proporcional é empregado para a inserção deste monossegmento no fluido transportador, efetuando-se a diluição da amostra.

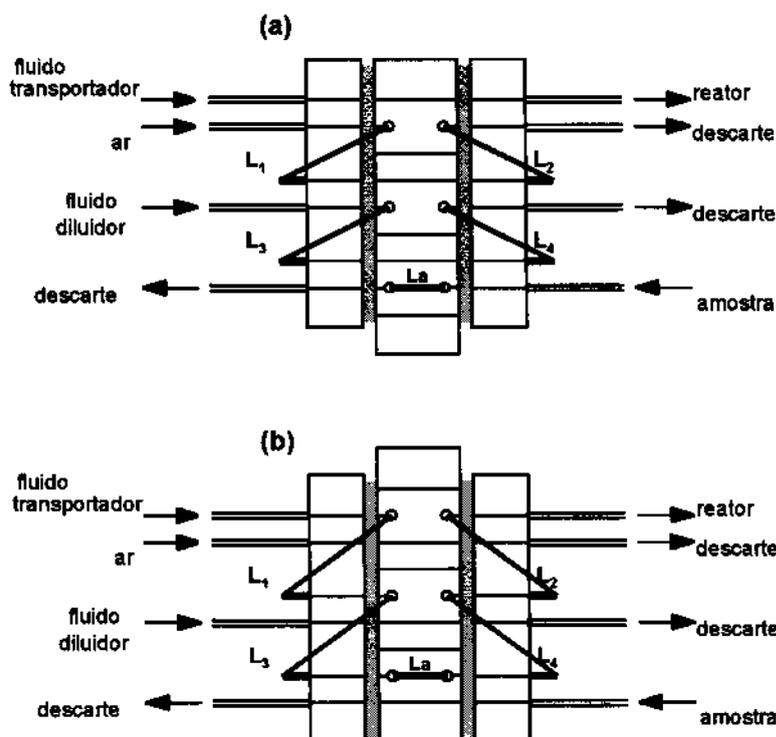


Figura 1 - Diagrama do esquema da válvula amostradora empregada para a injeção múltipla simultânea em MSFA (a) posição de amostragem, (b) posição de injeção.

Dentro desta realidade, este trabalho tem como objetivo implementar as técnicas de titulação, adição de padrão e difusão gasosa, empregando-se MSFA e a injeção múltipla simultânea, explorando as propriedades que este sistema oferece. Para isto, será utilizado um analisador automático, construído no laboratório [13], empregando-se um espectrofotômetro multicanal como detector.

A titulação e a adição de padrão em MSFA empregando-se a injeção múltipla simultânea permitem simular um procedimento manual, pois a amostra é injetada no monossegmento em um volume definido e constante em todas as medidas, sendo que, em cada injeção, diferentes alíquotas de uma solução de referência são adicionadas no monossegmento, através de uma válvula solenóide de três vias. Para a titulação, as alças L_3 e L_4 são empregadas para a adição de titulante, sendo que uma válvula solenóide é utilizada para a adição de diferentes alíquotas da solução de referência e a alça L_2 é empregada para a amostra. Este sistema será avaliado para a determinação de Fe(II) com $KMnO_4$. Na adição de padrão, as alças L_3 e L_4 são preenchidas com a amostra e a alça L_2 é utilizada para a adição da solução de referência, similarmente à titulação e a determinação de Cr(VI) pela reação com difenilcarbazida será empregada para a avaliação desta técnica. A difusão gasosa, através de uma combinação dos sistemas FIA (para a formação e permeação da espécie de interesse) e MSFA, para a introdução da amostra no fluido transportador e posterior reação, será avaliada na determinação da amônia, empregando-se a reação de Berthelot. Com isto, este sistema permite uma etapa de pré-concentração e o monitoramento de uma reação cineticamente lenta, melhorando a sensibilidade.

Capítulo 1

TITULAÇÃO EM FLUXO

I.1. INTRODUÇÃO

Os métodos titulométricos incluem um amplo grupo de procedimentos que são baseados na medida da quantidade de um reagente de concentração conhecida que é consumido pela espécie de interesse (analito), sendo que o ponto de equivalência, isto é, o ponto onde esta quantidade de reagente é igual, em proporções estequiométricas, a do analito, é detectado por um sistema apropriado (indicador visual, pHmetro, condutivímetro, detector espectrofotométrico, etc.). Embora estes métodos ofereçam vantagens como seletividade e boa precisão, constituem em tarefas bastante desgastantes, sendo inviáveis para determinações com alta demanda.

Um dos primeiros trabalhos realizados utilizando um titulador automático foi feito por Ziegel [15], em 1914, onde uma bureta era controlada por um dispositivo eletromagnético. Em 1948, Lingane [16] também construiu um titulador automático, em que a bureta era controlada por um pistão, sendo hoje bastante popular em laboratórios de rotina [17].

Com o surgimento dos sistemas de análise em fluxo, vários trabalhos envolvendo processos de titulação têm sido publicados, empregando principalmente sistemas de análise por injeção em fluxo (FIA) e que são baseados na geração de gradientes de concentração [18-22]. As titulações em fluxo combinam as vantagens

da análise em fluxo (como reprodutibilidade, repetibilidade, mistura eficiente, tempos de análise mais curtos) com os da titulação (como precisão e exatidão). Estes processos têm como vantagens uma alta frequência de amostragem e um baixo consumo de reagentes e a desvantagem de que muitas vezes é necessária uma etapa de calibração com padrões.

Fleet e Ho [19] propuseram um dos primeiros sistemas de fluxo contínuo multissegmentado empregando gradiente de concentração. Neste trabalho, o fluxo da amostra conflui com o titulante e a mistura resultante é monitorada continuamente através de um eletrodo de íon seletivo. Nestas condições, a concentração do titulante aumenta linearmente devido ao gradiente de concentração. Como a vazão da amostra e do titulante são mantidas constantes, este procedimento permite que sempre seja monitorado um mesmo volume, análogo ao de uma titulação convencional. O sistema foi avaliado para a determinação de íons sulfeto utilizando como sensor uma membrana de Ag_2S e como titulante HgCl_2 . A largura do sinal obtido é proporcional à concentração da amostra, sendo estimado através de uma calibração prévia.

A titulação em sistemas FIA, primeiramente proposta por Ruzicka e colaboradores [20], utiliza um sistema de fluxo no qual a amostra é inserida em um fluido transportador e dirigida à uma câmara de dispersão, misturando-se, então, com o titulante. Neste procedimento, assim como no sistema de Fleet e Ho [19], a largura do pico é proporcional à concentração da amostra, sendo também necessária uma etapa de calibração utilizando uma série de soluções de referência.

As titulações automáticas baseadas em variações de vazão de titulante e de amostra têm se mostrado bastante viáveis. Geralmente, a vazão da amostra é

mantida constante enquanto que a do reagente é variada, através de duas bombas peristálticas, sendo as mais modernas controladas por computador. Para se obter resultados mais precisos é necessário que estas vazões durante a titulação sejam conhecidas com bastante exatidão e, devido à deterioração dos tubos de bombeamento, é necessário uma freqüente calibração do sistema de fluxo [18,21,23-25].

Para contornar este tipo de problema, Yarnitzky e colaboradores [21] propuseram sistemas que utilizam um fluxo exponencial alternado, empregando duas bombas peristálticas. Na primeira bomba, a vazão aumenta continuamente enquanto que na segunda diminui proporcionalmente, propulsionando, respectivamente, amostra e titulante. Através de uma válvula de três vias, este ciclo pode ser revertido de modo que o titulante e a amostra são carregados, respectivamente, pela primeira e segunda bombas. Com este procedimento não é necessário a etapa de calibração e é eliminado o erro causado pela deterioração dos tubos, já que isto é compensado quando ocorre a troca de vazões. Além disto, há um baixo consumo de amostra por determinação (~ 2 mL) e a freqüência é cerca de 20 - 40 amostras/hora. Como as concentrações da amostra e do reagente estão relacionadas com as velocidades de rotação das bombas, estes valores devem ser conhecidos com bastante exatidão. Próximo ao ponto de equivalência, é necessário diminuir a taxa de variação da vazão devido à própria configuração do sistema causar um erro na titulação. Isto porque o reator e o detector estão distantes um do outro, causando um "atraso" na detecção do ponto final, de modo que isto se torna uma limitação para a implementação de um sistema automático.

A técnica de titulação triangular programada, onde a concentração do titulante é aumentada linearmente e, depois, simetricamente decrescida, desenvolvida por Nagy e colaboradores [22], tem sido aplicada em vários sistemas utilizando geração coulométrica de reagentes, com corrente programada [26,27] e em sistemas de gradiente linear de fluxo [17,23], sendo também nestes casos, desnecessário a etapa de calibração.

Outro sistema de fluxo que explora o uso de gradientes de concentração foi proposto por Valcárcel e colaboradores [24,25]. Neste caso, são combinadas uma bomba peristáltica de vazão fixa com uma bomba de vazão variável, programada por computador. Desta forma, o fluxo resultante produz um gradiente não linear, podendo ser aplicado às titulações ácido-base, complexométricas e redox.

Com o desenvolvimento da amostragem binária [28], Kom e colaboradores [29] propuseram um novo método de introdução de amostra e reagente em fluxo. Neste caso, é utilizada uma bomba peristáltica e três válvulas solenóides que são empregadas para a introdução da amostra, reagente e transportador em linha única, além de um microcomputador que é responsável pelo controle das válvulas, aquisição e processamento dos dados. Neste sistema, porções de amostra e reagente são intercaladas no fluido transportador, através de válvulas de três vias, para a realização da titulação, sendo que o ponto final é determinado através de um método chamado procura binária [29]. Este método é baseado em tentativas em que as condições estequiométricas são variadas passo a passo através da variação das quantidades de amostra e reagentes adicionadas, mantendo-se sempre um volume total constante. Neste sistema pode-se adicionar

alíquotas de até 0,5 μL , para um volume constante de 283 μL , sendo necessário sincronizar a bomba peristáltica e a abertura da válvula para se obter uma boa precisão na amostragem. O sistema foi avaliado através da reação de titulação ácido-base empregando indicadores.

Araújo e colaboradores [30], recentemente, desenvolveram um sistema que descreve o emprego do gradiente de concentração em FIA para a determinação dos pontos onde a concentração do titulante e da amostra estão numa razão estequiométrica. A calibração é feita empregando-se uma solução de referência, para converter o sinal analítico obtido, em valores de concentração. Um microcomputador é empregado para controlar o sistema de fluxo e obter os dados, que são tratados para se localizar os pontos onde a amostra e o titulante se encontram em razões estequiométricas de concentração. Estes pontos são determinados pela mudança abrupta na curva sinal analítico x concentração obtida. O sistema foi avaliado para a determinação de Fe(II) com KMnO_4 , empregando-se detecção espectrofotométrica e para a determinação de ácido acético, a detecção condutométrica.

No presente trabalho, propõe-se o uso da injeção múltipla simultânea em MSFA para se efetuar titulação, com detecção espectrofotométrica, que será avaliada através da determinação de Fe(II) com KMnO_4 . Assim, como mostrado na Figura 1, as alças L_3 e L_4 são utilizadas para a adição do titulante, empregando-se uma válvula solenóide de três vias, onde, em cada injeção, quantidades crescentes de titulante são adicionados a um volume constante de amostra determinado pela alça L_a . Aumentando-se a quantidade de titulante adicionada a cada injeção, pode-se obter uma curva de titulação espectrofotométrica análoga à convencional. A

vantagem deste sistema é que apenas uma solução de referência é necessária durante todo o processo de titulação, empregando-se apenas uma bomba peristáltica e os cálculos envolvidos também são menos complexos.

I.2. EXPERIMENTAL

I.2.1. PREPARAÇÃO E PADRONIZAÇÃO DAS SOLUÇÕES

- Solução de KMnO_4 $0,0200 \text{ mol L}^{-1}$. Preparou-se e padronizou-se de acordo com o descrito por Baccan e colaboradores [31].
- Soluções de Fe^{2+} : As soluções foram preparadas dissolvendo-se $\text{Fe}(\text{NH}_4)_2(\text{SO}_4)_2$ em H_2SO_4 $1,0 \text{ mol L}^{-1}$ e padronizadas utilizando solução padrão de KMnO_4 .
- Solução de $\text{Ce}(\text{SO}_4)_2$ $0,100 \text{ mol L}^{-1}$: Preparou-se a solução como descrito em USP (United States Pharmacopoeia) [32] e padronizou-se utilizando uma solução padrão de Fe^{2+} .
- Solução de Zimmermann: Mistura contendo H_3PO_4 , H_2SO_4 e MnSO_4 , preparada de acordo com o descrito por Baccan e colaboradores [31].
- amostras: Fer - in - Sol (solução oral) - Laboratório Mead Jonhson.
Sulfato Ferroso (Xarope) - Laboratório Bunker.
Sulfato Ferroso (comprimidos) - Laboratório Bunker.
Iberin (ácido fólico)
Sulfato Ferroso (drágeas) - Fontovit

Para a titulação visual, pesou-se $2,5 \text{ g}$ ($\pm 0,1\text{mg}$) de amostra, adicionou-se 10 mL de água destilada, sendo que, para a titulação com KMnO_4 foram adicionados 10 mL da solução de Zimmermann.

Para as medidas feitas no analisador, pesou-se 1,0 g (\pm 0,1mg) de amostra em um balão volumétrico de 100,0 mL, adicionou-se 25 mL da solução de Zimmermann, completando-se o volume com água desionizada.

1.2.2 O ANALISADOR

O analisador construído por Raimundo Jr. [13] foi adaptado para o sistema de titulação, como mostra a Figura 2.

Todo o sistema é controlado por um microcomputador PC - AT 386, através de uma interface paralela (analisador) e outra serial RS232 (espectrofotômetro multicanal-PDAS). Um programa computacional, escrito em Quick Basic 4.5, foi utilizado no controle e aquisição dos dados. Este programa permite ao operador definir no espectrofotômetro multicanal o comprimento de onda desejado (neste caso, 525 nm), número de varreduras para o cálculo de uma média (de 1 a 5) e tempo de varredura de cada espectro. Além disto, pode-se selecionar o número de pontos da curva (onde se determina o tempo de abertura da válvula, em segundos, para cada ponto) e o número de replicatas para cada ponto (de 1 a 3).

Como pode ser visto na Figura 2, a adição de titulante para cada injeção é feita através da válvula solenóide e o volume da amostra é mantido constante. Para se obter a curva analítica ($[KMnO_4]$ x tempo de amostragem), na primeira injeção, preenche-se todas as alças com o titulante, cuja concentração é conhecida, medindo-se a respectiva absorbância. Nas injeções subsequentes, preenche-se a alça de amostra (L_3) com água e adicionam-se quantidades crescentes de titulante em L_3/L_4 , através do aumento do tempo de abertura da válvula solenóide.

A titulação é feita na mesma condição que a curva analítica, preenchendo-se L_5 com a amostra. Necessariamente, o ponto final deve estar dentro da faixa de tempo estabelecida por esta curva. Para todas as medidas foi utilizado H_2SO_4 $0,1 \text{ mol L}^{-1}$ como fluido transportador com uma vazão de $2,4 \text{ mL min}^{-1}$. Os tubos empregados foram de PTFE, com diâmetro interno de $0,8 \text{ mm}$ para as alças L_1, L_2, L_3, L_4 e L_5 e de $1,6 \text{ mm}$ de diâmetro para o reator.

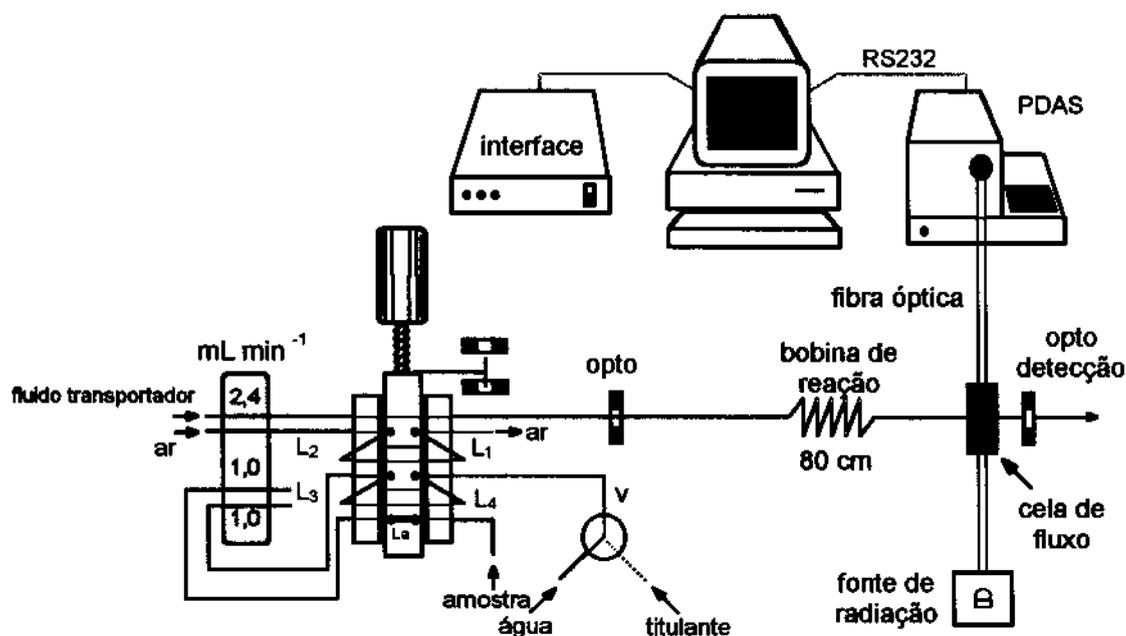
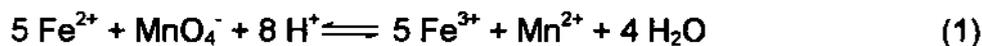


Figura 2 - Esquema do sistema utilizado para a titulação em análise por injeção em fluxo monossegmentado.

1.3. RESULTADOS E DISCUSSÃO

Para a avaliação do sistema de titulação, foi empregada a reação de óxi-redução entre $Fe(II)$ e $KMnO_4$, que pode ser representada pela seguinte equação:



Foi empregado o comprimento de onda de máxima absorção do titulante (525 nm), assumindo-se desprezível a absorbância dos produtos da reação. Desta forma, antes do ponto final, o titulante adicionado é consumido e, após, o excesso de KMnO_4 deve produzir uma relação linear entre absorbância e volume adicionado, desde que a lei de Beer seja obedecida.

Primeiramente, foi feita uma avaliação do espectrofotômetro, através de uma curva analítica empregando soluções de referência de KMnO_4 de concentrações que variaram de $3,0 \times 10^{-5}$ a $3,0 \times 10^{-3}$ mol L^{-1} . Estas soluções preenchem totalmente as três alças que são empregadas para a adição de titulante e amostra (alças L_3 , L_4 , L_a da Figura 2). Deve-se salientar que o volume final do monossemento não interfere no valor da absorbância medida, pois a dispersão da amostra é desprezível [12]. A resposta linear obtida foi de até $7,5 \times 10^{-4}$ mol L^{-1} , como mostra a Figura 3, tornando a concentração de titulante na calibração no final da titulação limitada até esta faixa.

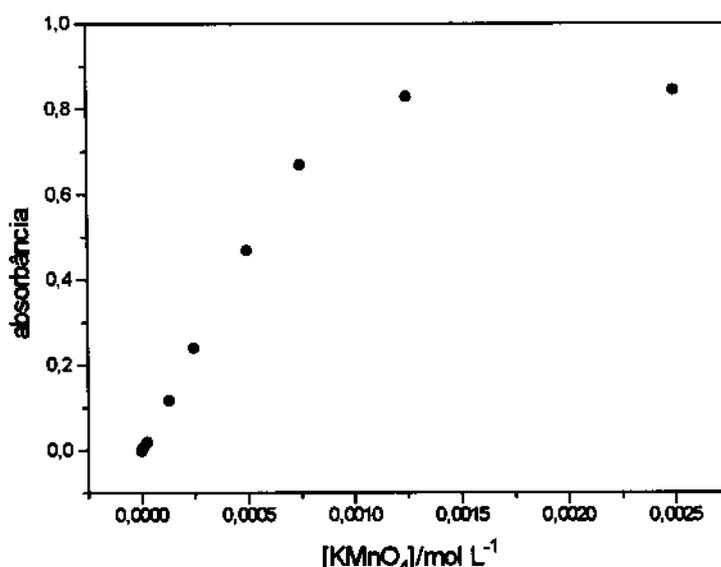


Figura 3 - Curva analítica obtida relacionando concentração de KMnO_4 x absorbância, utilizando o espectrofotômetro PDA.

Alguns parâmetros do espectrofotômetro foram estudados, como tempo de varredura de cada espectro (100 a 180ms), número de espectros por medida (1 a 5) e abertura da fenda, sendo que estes parâmetros não afetaram os resultados obtidos.

O sistema de titulação desenvolvido simula um processo manual, onde em cada injeção, diferentes alíquotas de titulante são adicionadas a um volume constante de amostra. A válvula solenóide é utilizada na adição de titulante nas alças L_3 e L_4 , de modo que o volume da final da solução do titulante adicionado na amostra também é mantido constante.

A curva analítica, mostrada na Figura 4, é utilizada para se determinar a concentração de $KMnO_4$ no monossegmento para cada tempo de abertura válvula. Para se obter esta curva, relaciona-se o tempo de abertura da válvula em cada injeção com o valor de absorbância obtido. Assumindo que a lei de Beer é obedecida, e que o volume de $KMnO_4$ é proporcional ao tempo de abertura da válvula, este valor de absorbância está relacionado com a concentração do $KMnO_4$ no monossegmento. Primeiramente, é feita a leitura de absorbância A_0 , onde todas as alças (L_3 , L_4 e L_2) são preenchidas com a solução de referência que será empregada na titulação. Faz-se então, a razão da absorbância medida para cada tempo de abertura da válvula solenóide pelo valor A_0 que, multiplicado pelo valor da concentração da solução de referência fornece o valor da concentração do titulante no monossegmento. Entretanto, é importante observar que, no intervalo de tempo máximo para a abertura da válvula, o titulante não deve preencher totalmente as alças L_3 e L_4 . Outro fato que deve ser ressaltado é que a distância entre a saída da

válvula e o injetor (Figura 2) deve ser a menor possível para minimizar a dispersão da solução de referência, devido ao "volume morto" que é formado por este canal.

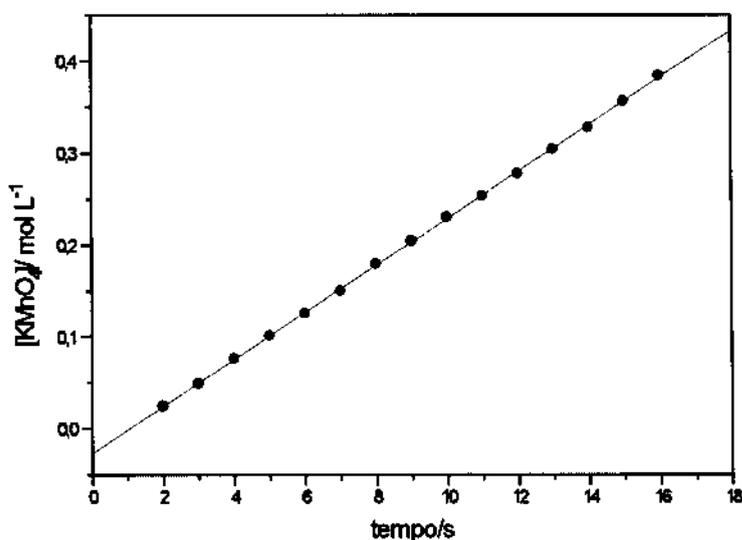


Figura 4 - Curva analítica de $[\text{KMnO}_4]$ x tempo de amostragem, utilizando-se uma solução de KMnO_4 $7,00 \times 10^{-4} \text{ mol L}^{-1}$ ($[\text{KMnO}_4] = -2,7959 \times 10^{-5} + 2,6709 \times 10^{-5} t$, $r = 0,9999$)

A abertura da válvula solenóide e, portanto, a precisão do volume de KMnO_4 adicionado, está relacionada com a precisão do "clock" do microcomputador, que é da ordem de 50 ms. Como no programa utilizado os tempos de abertura estão limitados a valores discretos e, sendo que o menor tempo empregado foi de 2 s, espera-se uma precisão melhor que 2,5 % considerando-se apenas esta variável. Entretanto, a reprodutibilidade da adição do titulante é também dependente das condições de bombeamento (vazão constante, pulsação da bomba e deterioração dos cabos de bombeamento) e, para este caso, estes fatores foram desprezíveis. Isto foi observado, obtendo-se curvas analíticas antes e depois das titulações realizadas e comparando os resultados obtidos por ambas as curvas. A curva analítica mostrada na Figura 5 indica os desvios padrão relativos para três

replicatas, sendo que cada replicata foi obtida individualmente.

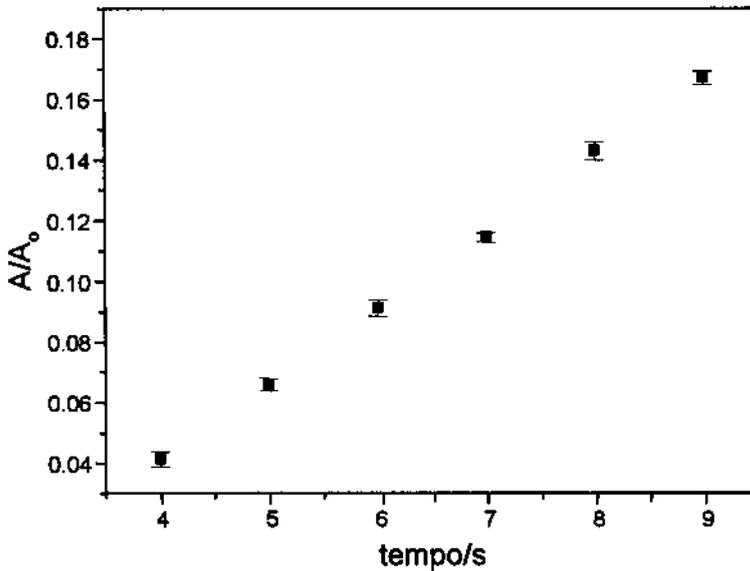


Figura 5 - Curva analítica de A/A_0 x tempo de amostragem, utilizando-se uma solução KMnO_4 $7,00 \times 10^{-4} \text{ mol L}^{-1}$, ($y = -6,0 \times 10^{-5} + 2,5 \times 10^{-5} t$, $r = 0,99975$), medidas em triplicata.

As configurações empregadas utilizam um volume total de titulante (L_3 e L_4) de $265 \mu\text{L}$ e um volume de amostra de $50 \mu\text{L}$. Estes volumes podem variar dependendo da quantidade de titulante que se deseja adicionar e o volume da amostra também pode ser alterado, dependendo da concentração da espécie de interesse.

Como o analisador simula uma titulação manual em virtude das bolhas de ar que limitam a dispersão, a determinação da concentração de Fe^{2+} é realizada pela intersecção das duas retas obtidas na curva de titulação (antes e depois do ponto final). Neste caso, o valor é obtido em segundos e é convertido pelo valor de concentração de titulante descrito anteriormente (Figura 4). A Figura 6, mostra uma curva analítica obtida para uma amostra sintética de Fe(II) .

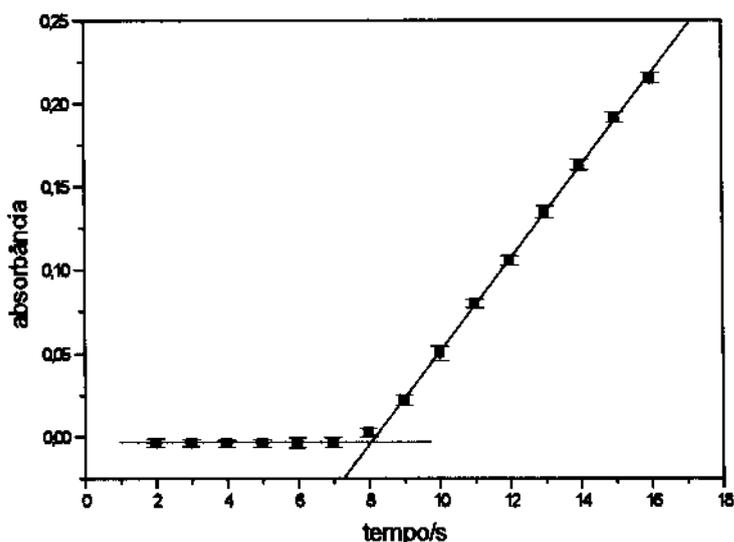


Figura 6 - Curva de titulação de uma amostra sintética de Fe(II) $5,18 \times 10^{-3} \text{ mol L}^{-1}$ empregando-se uma solução KMnO_4 $7,50 \times 10^{-4} \text{ mol L}^{-1}$ em triplicata.

Porém, como em cada injeção a amostra sofre a diluição devido ao volume das alças L_3 e L_4 , é necessário se conhecer a diluição que ocorre quando a amostra é injetada no monossegmento. Esta medida é feita através da razão da absorvância A_1 (quando todas as alças estão preenchidas com o titulante) pela absorvância A_2 (quando a alça de amostra L_a é preenchida com o titulante e as alças L_3 e L_4 são preenchidas com água). Este fator deve ser medido sempre que houver remoção das alças no injetor, pois estas não são recolocadas exatamente na mesma posição, reproduzindo o volume do monossegmento. Deste modo, a concentração de Fe^{2+} pode ser calculada pela seguinte equação:

$$C_{\text{Fe}} = C_{\text{KMnO}_4, \text{p. final}} \times 5 \times f \quad (2)$$

onde $C_{\text{KMnO}_4, \text{p. final}}$ é a concentração de KMnO_4 no ponto final, determinada através da curva analítica e f é a diluição da amostra no monossegmento e o valor 5 corresponde à estequiometria da reação entre o Fe^{2+} e o MnO_4^- .

O tempo de residência da amostra foi estudado, variando-se o comprimento da bobina de reação e verificou-se que para tempos de residência menores que 80s o ponto final da titulação não é bem definido, devido à reação incompleta entre titulante e titulado. Como pode ser visto na Figura 7, apesar de nos sistemas MSFA, em muitos casos, não ser necessário se atingir o estado estacionário, neste caso, a extrapolação das curvas obtidas para um processo de titulação incompleta, fornece um desvio negativo no valor de concentração e dificulta a determinação do ponto final. Isto porque, como a reação não se completa, ocorrendo um excesso de titulante antes do ponto final da titulação real.

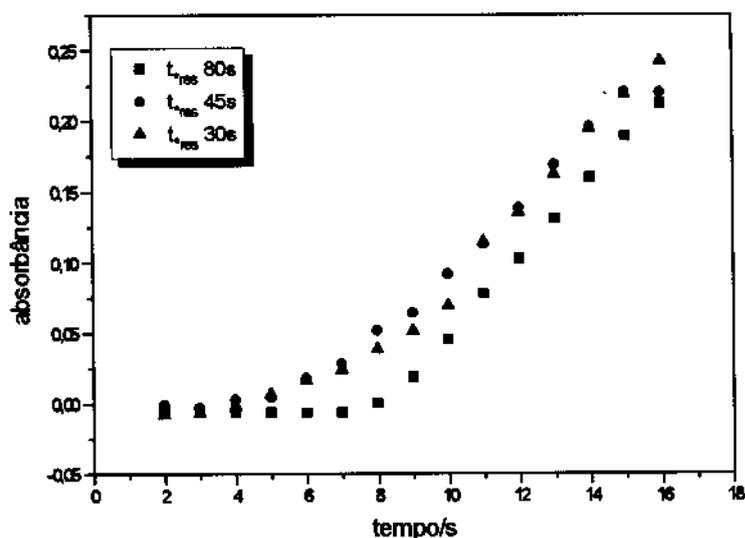


Figura 7 - Curvas de titulação de uma solução de Fe^{2+} $5,0 \times 10^{-3} \text{ mol L}^{-1}$ em diferentes tempos de residência (t_{res}).

A adição da solução de Zimmermann que é indicado nesta titulação [31], tem a função de acondicionar apropriadamente o meio da reação (meio ácido), eliminar a coloração amarela devido à formação de Fe^{3+} e inibir a oxidação dos íons Cl^- pelo MnO_4^- , que podem estar presentes no meio.

Para o tempo de residência de 80 s, três monossegmentos residem simultaneamente no analisador. A frequência de amostragem obtida para esta configuração foi de 120 injeções por hora (12 a 15 amostras h^{-1} , quando são empregados 10 e 8 pontos para se realizar a titulação, respectivamente) com um consumo de 1,0 mL de amostra por determinação.

Para a avaliação do sistema proposto, amostras sintéticas foram determinadas e seus resultados comparados ao da titulação visual. A Tabela 1 mostra os resultados obtidos pelo sistema MSFA comparados com a titulação visual, sendo que estes valores não apresentam uma diferença significativa a um nível de confiança de 95%.

Tabela 1 - Comparação entre os valores obtidos pelo sistema MSFA e pela titulação visual, medidos em triplicata.

$[Fe^{2+}]_{MSFA} / mol L^{-1}$	$[Fe^{2+}]_{visual} / mol L^{-1}$
$(1,03 \pm 0,02) \times 10^{-3}$	$(1,00 \pm 0,02) \times 10^{-3}$
$(5,18 \pm 0,09) \times 10^{-3}$	$(5,15 \pm 0,03) \times 10^{-3}$
$(1,08 \pm 0,04) \times 10^{-2}$	$(1,02 \pm 0,00) \times 10^{-2}$

Para a determinação de Fe^{2+} em amostras de medicamentos, foi utilizada a titulação visual empregando Ce^{4+} como titulante, como recomenda o método oficial descrito pela Farmacopéia Americana [32]. Neste caso, a ferroína é usada como indicador, sendo que esta reação não pode ser empregada no analisador pois o ponto final não pode ser definido por uma curva analítica espectrofotométrica. A Tabela 2 lista os resultados obtidos na determinação de Fe^{2+} em medicamentos,

comparados com o procedimento oficial e a Figura 8 ilustra uma curva de titulação empregando o sistema MSFA para uma das amostras.

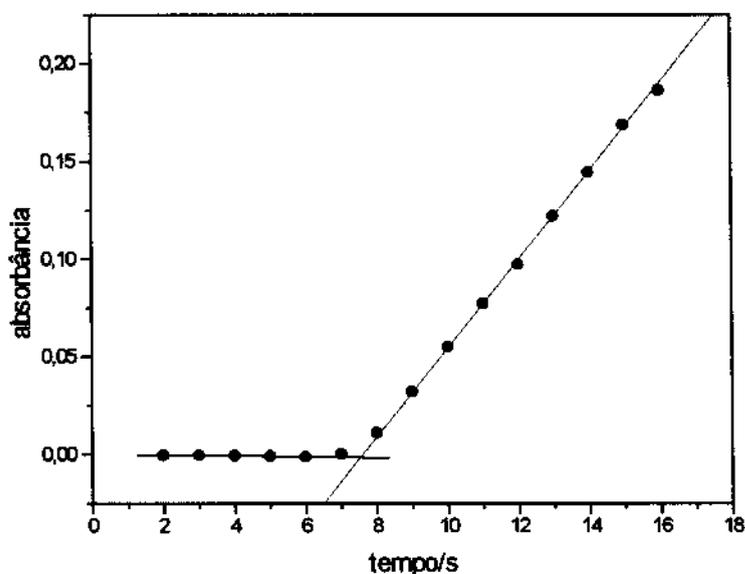


Figura 8 - Curva de titulação obtida para uma amostra de Iberin com KMnO_4 $7,73 \times 10^{-4}$ mol.L⁻¹

Tabela 2 - Comparação entre os valores obtidos pelo sistema MSFA e pelo método oficial para as amostras de medicamentos, medidos em triplicata.

Amostra	%Fe ²⁺ (MSFA)	%Fe ²⁺ (método oficial)	Erro _{relativo} %	Erro _{absoluto} %
Iberin	21,67 ± 0,32	19,63 ± 0,26	+10,4	2,03
Sulfato Ferroso (Bunker)	12,62 ± 0,97	12,28 ± 0,71	+2,7	0,34
Sulfato Ferroso (Fontovit)	8,05 ± 0,05	7,82 ± 0,03	+2,9	0,23
Fer-in-Sol	2,28 ± 0,09	2,02 ± 0,01	+3,0	0,263
Sulfato Ferroso Xarope	1,06 ± 0,03	0,932 ± 0,02	+13,9	0,13

Como pode ser observado, os resultados obtidos foram bastante satisfatórios, não apresentando uma diferença significativa quando aplicado o teste-

t pareado com nível de 95% de confiança. Este sistema apresenta a vantagem de se utilizar apenas um padrão, simulando uma titulação espectrofotométrica convencional, sem a necessidade de correção da absorbância, já que o monossegmento possui um volume constante em todas as injeções. Embora a frequência analítica obtida seja inferior aos valores descritos na literatura [30], o sistema proposto necessita a preparação de apenas uma solução de referência e emprega somente uma bomba peristáltica, ao contrário de vários outros sistemas, que utilizam gradientes de concentração, onde são necessárias pelo menos duas bombas [17,21,23,24].

Capítulo 2

ADIÇÃO DE PADRÃO EM FLUXO

II.1. INTRODUÇÃO

Geralmente, a determinação da concentração de uma espécie é feita de forma indireta, a partir da estimativa de uma curva analítica, sendo esta construída a partir de soluções de referência que nem sempre refletem o meio da amostra. Isto significa que estas amostras podem conter substâncias que geram um sinal analítico sistemático, de forma que a curva analítica obtida com as soluções de referência possui uma sensibilidade diferente da correspondente na amostra, causando resultados errôneos. Uma das maneiras de se minimizar, ou até mesmo eliminar, estes efeitos indiretos, chamados efeitos de matriz, é realizar a diluição da amostra. Entretanto, quando a concentração do analito é baixa, este procedimento pode ser inviável e, neste caso, a técnica de adição de padrão torna-se uma alternativa para se contornar este problema. O procedimento manual de adição de padrão consiste em construir uma curva analítica, na qual quantidades conhecidas da solução de referência são adicionadas à amostra, sem porém causar uma diluição significativa compensando, assim, esses efeitos. A concentração da amostra, então, é determinada pela extrapolação da abscissa da curva sinal analítico x quantidade adicionada, onde obtém-se o valor da concentração da espécie de interesse sem a adição da solução de referência. Este procedimento

requer a preparação de vários padrões que devem ser adicionados à amostra, tornando-o limitado em aplicações onde tem-se uma grande demanda de análises.

Os sistemas de fluxo têm sido implementados de forma a agilizar o processo de adição da solução de referência na amostra, sendo que um dos primeiros trabalhos propostos com este objetivo foi publicado por Tyson [33]. Este sistema foi desenvolvido para medidas de absorção atômica, onde a amostra é utilizada como fluido transportador, sendo bombeada até o nebulizador e quantidades constantes de soluções de referência são injetadas na amostra.

Assim como na titulação, o gradiente de concentração é bastante empregado, já que o perfil de dispersão nestes sistemas de fluxo são bastante reprodutíveis [34-36]. Em um destes sistemas, proposto por Giné e colaboradores [36], foi empregado a reamostragem da zona dispersa, no qual apenas uma porção da solução de referência que é injetada no fluido transportador é adicionada à amostra. Neste procedimento, a porção da solução de referência reamostrada, definida pelo tempo após a injeção no fluido transportador, contém, então, diferentes quantidades desta solução. Assim, através de uma etapa de calibração, é conhecida a concentração da solução de referência em função do tempo, que é adicionada à amostra em fluxo. A vantagem neste sistema é o emprego de uma única solução de referência, que permite a construção da curva analítica.

Harrow e Janata [37] construíram um sistema de fluxo, aplicado à adição de padrão, empregando 5 válvulas que são usadas para o fluido transportador, amostra e solução de referência,. Similarmente ao trabalho de Giné e colaboradores [36], porém utilizando um sistemas com válvulas, apenas uma parte da região dispersa é empregada e o tempo em que uma válvula fica aberta para a adição da

solução de referência determina a concentração desta na amostra. Para se garantir que a coalescência da amostra com a solução de referência seja completa e reprodutível em todas as adições, foi então empregada uma solução de referência concentrada e numa vazão baixa comparada à da amostra. Isto porque a adição da solução de referência estava relacionada com o tempo do pulso necessário para manter a válvula aberta, de modo que nestas condições, foram empregados os menores valores possíveis.

No sistema de linha única proposto por Beuchemin [38], empregando-se ICP-MS, é feita a injeção da amostra em dois diferentes fluidos transportadores: em solução de HNO_3 1% v/v (branco) e em uma solução de referência que deve ter uma concentração maior do que a da espécie de interesse na amostra. Além disto, é feita uma terceira medida, obtida com a injeção desta solução de referência no branco. Os sinais transientes obtidos são, então, empregados em um série de equações, que permitem estimar a concentração da espécie de interesse na amostra. É considerado, neste caso, que o efeito causado pela matriz seja invariável em função da concentração da solução de referência.

Agudo e colaboradores [39] utilizaram um sistema de fluxo não segmentado que minimiza o efeito de dispersão durante o processo de mistura após adição da solução de referência na amostra. Para isto, foi empregado um loop, formado por duas válvulas solenóides, onde foram adicionados a amostra e diferentes quantidades da solução de referência, que era utilizado para a homogeneização da mistura. Uma das válvulas foi utilizada para que fossem adicionadas quantidades conhecidas da solução de referência e da amostra, e outra para que fosse mantido um volume constante até que a solução resultante fosse

homogeneizada. Ocorre portanto, apenas uma pequena dispersão durante o trajeto da mistura resultante do "loop" para o sistema de detecção. Este sistema foi aplicado em reações enzimáticas para a determinação de glicose e frutose, com uma frequência de amostragem de 2 a 15 h⁻¹ dependendo do número de adições que eram feitas (1 a 5).

Outros trabalhos empregam o método de adição padrão generalizada (GSAM), que normalmente é aplicado em amostras onde, além dos efeitos de matriz, ocorre também interferências diretas devido à presença de outras espécies. Este método tem como limitação a necessidade de um número de detectores igual ou maior que a quantidade de analitos que se deseja determinar [34, 40-43]. Porém, permite que mais de uma espécie seja determinada simultaneamente. O GSAM utiliza todas as medidas feitas para cada adição para a previsão da concentração das espécies de interesse, permitindo também a detecção de sinais 'outliers'. A solução destes sistemas é baseada na solução dos mínimos quadrados, sendo geralmente empregado o PLS (Partial Least-Squares). A desvantagem deste método é que são necessários também um grande número de medidas para se obter os diferentes níveis de adição e abranger toda a faixa de concentração de interesse. Neste aspecto, novamente os sistemas FIA, combinados com o sistema de zonas coalescentes, mostram sua versatilidade, já que em uma única injeção é possível se obter vários níveis de adição [34, 41, 43].

Bechmann e colaboradores [40] construíram um sistema de fluxo com zonas confluentes para obter o gradiente de concentração, empregando um arranjo de fotodiodos como detector, utilizando o método GSAM. Para garantir que a amostra não sofra diferentes diluições durante o processo de adição de padrão, o

coeficiente de dispersão é mantido constante. A amostra bombeada continuamente conflui com o fluido transportador, ao qual é injetado a solução de referência, de forma que o gradiente formado, produz uma série de medidas contendo diferentes concentrações da solução de referência. Este sistema foi aplicado em amostras de indicadores (alaranjado de metila, azul de bromotimol, e vermelho de metila), contendo uma ou duas espécies e amostras com interferentes diretos.

Neste trabalho, a análise em fluxo monossegmentado, empregando-se a injeção múltipla simultânea, similar ao sistema empregado na titulação, permite que, através de uma válvula solenóide, quantidades conhecidas da solução de referência sejam adicionadas em um volume constante de amostra, sendo a dispersão da amostra minimizada e mantida constante, simulando um processo manual. Este sistema será avaliado através da determinação de Cr(VI) em águas naturais empregando-se a reação com a difenilcarbazida, Para minimizar a diluição da amostra e, portanto, manter as propriedades da matriz, ao contrário da titulação, as alças L_3 e L_4 mostradas na Figura 1, são utilizadas para a amostra e a alça L_a , será utilizada para a adição da solução de referência, onde através de uma válvula solenóide de três vias, quantidades crescentes da solução são adicionados à amostra.

II.2. EXPERIMENTAL

II.2.1. PREPARAÇÃO DAS SOLUÇÕES

- Solução estoque de Cr(VI) 1000 mg L^{-1} : Preparou-se a partir do padrão primário $\text{K}_2\text{Cr}_2\text{O}_7$ dissolvido em água deionizada, de acordo com o procedimento do "Standard Methods" [44].
- Soluções de referência de Cr(VI): Preparadas a partir da diluição da solução estoque de Cr(VI) 1000 mg L^{-1} .
- Solução de H_2SO_4 $2,0 \text{ mol L}^{-1}$.
- Solução de difenilcarbazida $0,25 \%$ (m/v) em ácido acético 25% (v/v).

II.2.2. ADIÇÃO DE PADRÃO NO ANALISADOR

Para a implementação do sistema de adição de padrão, algumas modificações foram feitas no analisador aplicado à titulação. Como pode ser visto na Figura 9, duas válvulas solenóides foram adicionadas ao sistema para a adição dos reagentes. A válvula v_1 é então utilizada para adição da solução de referência e é calibrada de forma semelhante à da titulação. Neste caso, as alças L_3 e L_4 ($250 \mu\text{L}$) são preenchidas com amostra e L_5 ($80 \mu\text{L}$) é preenchida com água. A válvula v_1 é, então, ligada por um tempo previamente estabelecido pelo usuário e uma quantidade conhecida da solução de referência (neste caso, $10,0 \text{ mg L}^{-1}$ de Cr(VI)) é adicionada à amostra, de modo que o volume total e a diluição da amostra são mantidos constantes. A amostra é então injetada e, quando o sensor óptico OS4 detecta a primeira bolha de ar do monossegmento, o injetor retorna para a posição de amostragem e as válvulas v_2 e v_3 são ligadas até que a segunda bolha de ar

atinja o sensor óptico OS3, o que permite a adição de reagentes (R_1 , difenilcarbazida 0,25% e R_2 , H_2SO_4 2,0 mol L^{-1}) apenas na amostra do monossegmento. Para a determinação de Cr(VI) com difenilcarbazida, utilizou-se o comprimento de onda de máxima absorção do complexo formado, ou seja, 540 nm.

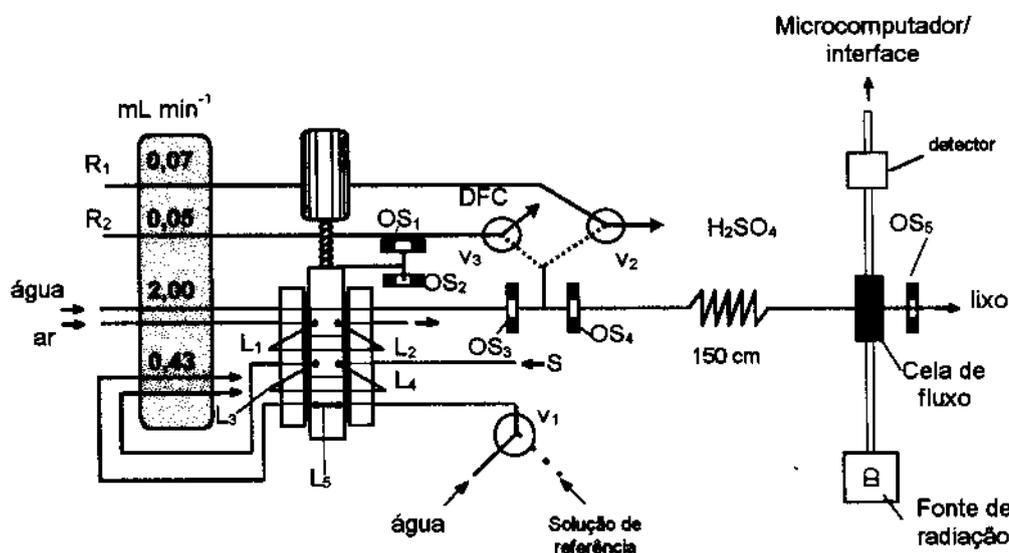


Figura 9 - Esquema do sistema utilizado para a adição de padrão em análise em fluxo monossegmentado.

Primeiramente é feita uma etapa de calibração, utilizando-se uma solução de $KMnO_4$ $7,0 \times 10^{-4}$ mol L^{-1} , no canal empregado para a solução de referência e água deionizada em R_1 e R_2 . A primeira leitura (A_0) é feita preenchendo-se as alças L_3 , L_4 e L_5 com a solução de $KMnO_4$. As medidas subsequentes (A_t) são feitas preenchendo-se as alças L_3 e L_4 com água desionizada e, quantidades crescentes de $KMnO_4$ são adicionadas em função do tempo de abertura da válvula v_1 . Neste caso, o comprimento de onda utilizado é de 545 nm. Assim, para cada tempo de abertura da válvula v_1 , obtém-se a razão das absorbâncias medidas pela

absorbância (A_0) medida quando todas as alças são preenchidas com KMnO_4 e que são relacionadas com o tempo de abertura da válvula para a construção da curva analítica.

A adição de padrão é realizada nas mesmas condições, sendo substituída a solução de KMnO_4 pela solução de referência de Cr(VI) 10 mg L^{-1} , e nas linhas R_1 e R_2 são colocados os reagentes (difenilcarbazida 0,25% e ácido acético 25%). O valor de absorbância medido é utilizado com o comprimento de onda de 540 nm. A concentração de Cr(VI) no monossegmento é determinada pelos valores das razões de absorbâncias obtidas na curva analítica.

II.3. RESULTADOS E DISCUSSÃO

Para se determinar a quantidade da solução de referência adicionada ao monossegmento, foi feita uma curva analítica de forma similar à titulação, isto é, relacionando-se o tempo de abertura da válvula v_1 com a razão da absorbância (A_0), medida quando todo o monossegmento é preenchido com uma solução de KMnO_4 , pela absorbância (A_t) obtida com as quantidades crescentes desta solução adicionada na alça L_5 , em função do tempo. Para a obtenção desta curva é adicionada água deionizada através das válvulas v_2 e v_3 no lugar dos reagentes, mantendo-se, assim, as mesmas condições experimentais usadas em uma determinação. Deve-se notar também que, ao contrário da titulação, a alça utilizada para a adição da solução de referência na amostra é menor, para minimizar o efeito de diluição que pode modificar significativamente a matriz, embora a diluição fosse constante em todas as injeções. A Figura 10 mostra uma curva de calibração obtida

nestas condições. Assim a concentração da solução de referência em função do tempo, pode ser representada pela seguinte equação:

$$[\text{Cr(VI)}] (t) = A_t/A_o \times [\text{Cr(VI)}]_{s,r} \quad (3)$$

onde, $[\text{Cr(VI)}]_{s,r}$ é a concentração da solução de referência utilizada na adição pela válvula v1.

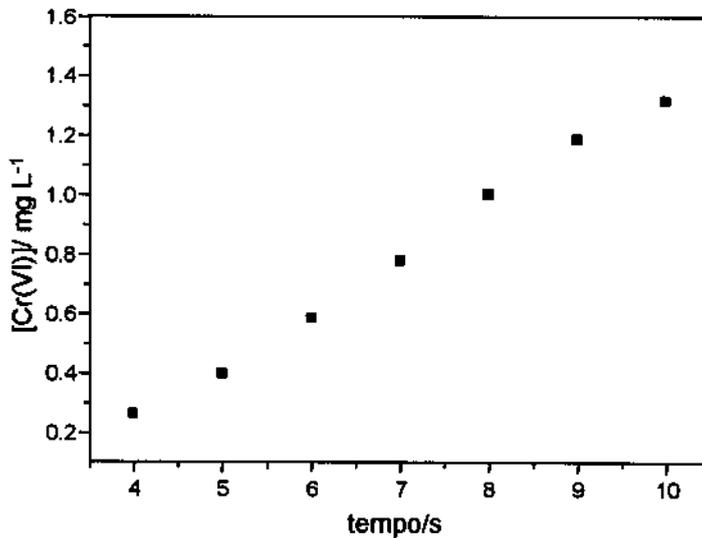


Figura 10 -Curva analítica relacionando a concentração de Cr(VI) (mg L^{-1}) em função do tempo de abertura da válvula v₁.

Conhecendo-se, então, a concentração da solução de referência no monossegmento em função do tempo de abertura da válvula solenóide v₁, é possível obter a curva mostrada na Figura 11, típica de uma adição de padrão. A solução de referência empregada nestes experimentos é de Cr(VI) $10,0 \text{ mg L}^{-1}$.

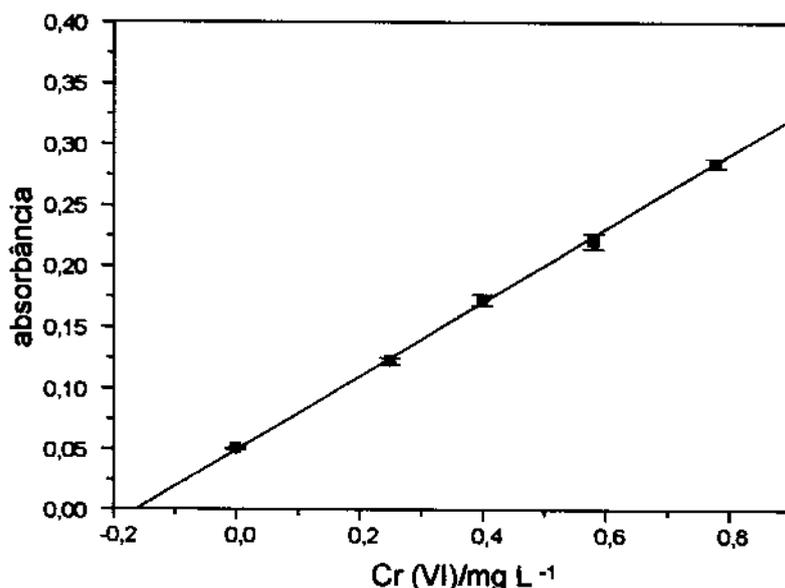


Figura 11 -Curva analítica obtida para uma amostra sintética de 0,200 mg L⁻¹ de Cr(VI) ($y = (0,049 \pm 0,002) + (0,300 \pm 0,005) x$; $r = 0,9996$), média de 3 replicatas.

Como a amostra ao ser injetada sofre uma diluição constante devido ao volume da alça L₅, que contém a solução de referência, é necessário medir e calcular a constante k para a correção do valor da concentração de Cr(VI) obtida a partir da curva analítica. A adição dos reagentes não causa uma diluição significativa, pois o volume adicionado é desprezível em relação ao volume total do monossegmento, sendo ainda, constante em todas as medidas. O valor da constante k é obtida da mesma forma que na titulação e é dada pela razão entre a absorbância quando as alças da amostra são preenchidas com uma solução de KMnO₄ e a alça L₅ é preenchida com água pela absorbância obtida quando todas as alças são preenchidas com a solução de KMnO₄. Assim, a concentração de Cr(VI) pode ser calculada pela equação abaixo, onde [Cr(VI)]_{ext.} é o valor obtido pela razão dos coeficientes linear e angular da curva analítica.

$$[\text{Cr(VI)}]_{\text{reel}} = [\text{Cr(VI)}]_{\text{ext.}} \cdot k \quad (4)$$

Deve-se salientar que a vazão da solução de referência é menor que da titulação, sendo que são necessários aproximadamente 4 s para que a solução de referência atinja a alça L_5 , para o menor volume "morto" possível. O volume desta alça também foi determinado de modo que fosse simultaneamente o menor possível e que permitisse pelo menos 5 adições para a construção da curva analítica. Para isto, foi empregado uma vazão menor que a da titulação, de modo que estes requisitos fossem alcançados, necessitando, portanto, de um tempo maior para que a solução de referência atingisse a alça L_5 . Esta estratégia foi adotada porque o programa computacional permitia que a abertura da válvula fosse realizada apenas em intervalos de tempo inteiros. A Tabela 3 mostra os resultados obtidos com as amostras sintéticas.

Tabela 3 - Resultados obtidos pelo sistema MSFA para as amostras sintéticas de Cr(VI), medidos em triplicata.

[Cr(VI)] (mg L^{-1})	[Cr(VI)] (mg L^{-1}) MSFA	Erro relativo %
0,400	0,404	+ 0,92
0,800	0,823	+ 2,9
1,000	0,999	- 0,1%

As amostras de águas naturais estudadas mostraram um efeito de matriz, onde se observa a variação do coeficiente angular das curvas analíticas, indicadas na Figura 12. Os resultados dos testes de recuperação para as amostras avaliadas (com a adição de $0,4 \text{ mg L}^{-1}$ de Cr(VI)), foram comparados aos obtidos com curvas analíticas convencionais utilizando MSFA. Com isto verificou-se que, com o método

de adição de padrão, é possível contornar o problema do efeito de matriz, levando a resultados mais satisfatórios para a recuperação, conforme indicado na Tabela 4

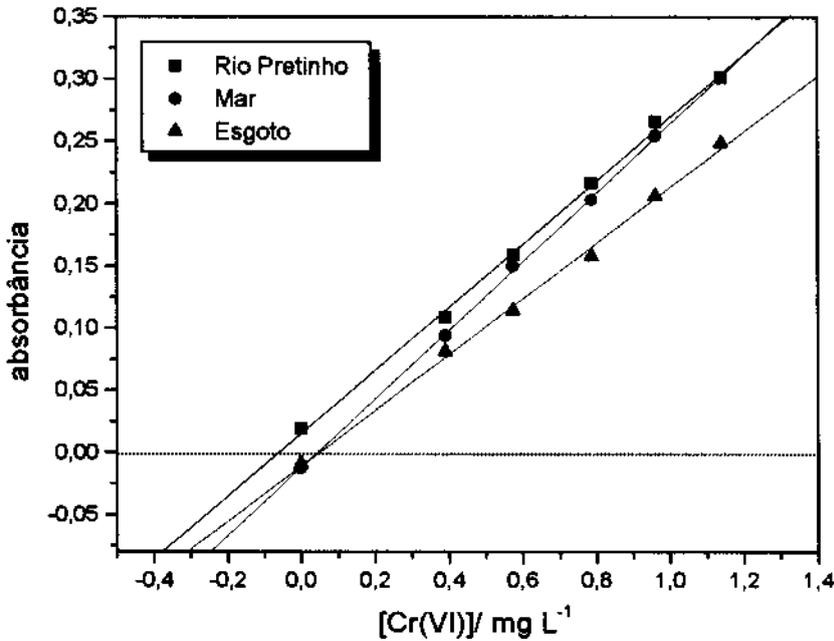


Figura 12 -Curvas analíticas obtidas para as amostras de águas de várias procedências.

Tabela 4 - Resultados obtidos pelo sistema MSFA comparados ao método convencional para as amostras de águas naturais, medidos em triplicata.

Amostra*	Quantidade Recuperada (%)	
	MSFA	Método Convencional
Mar	91,2 ± 0,5	93,4 ± 1,0
Esgoto	85,9 ± 0,8	80,7 ± 4,4
Rio Pretinho	108,2 ± 1,8	78,9 ± 0,7

* [Cr(VI)] abaixo do limite de detecção

A precisão dos resultados está diretamente relacionada com a adição da solução de referência, que é função do tempo de abertura da válvula. Neste caso,

como afirmado anteriormente, o sistema construído apenas permite valores de tempo inteiros, sendo portanto, uma limitação do sistema. Além disto, o sistema proposto pode ser avaliado com outras técnicas como AAS ou ICP, nos quais os efeitos de matriz também podem ser pronunciados. Para as configurações empregadas, este sistema permitiu uma frequência de amostragem de 72 h^{-1} , com uma precisão de 3% a um nível de 95% de confiança. O consumo de amostra para cada determinação é de 1,5 mL, o que é relativamente baixo comparado com os sistemas FIA que, geralmente, bombeiam a amostra continuamente [36, 45-46]. O consumo da solução de referência também é relativamente baixo (cerca de 0,50 mL por determinação) sendo um valor interessante para medidas de metais pesados ou substâncias tóxicas, por exemplo. A configuração proposta é uma alternativa para amostras onde a concentração do analito é baixa, podendo, porém, ser modificada de forma similar à titulação, onde as alças L_3 e L_4 seriam empregadas para a adição da solução de referência. Esta outra configuração pode ser utilizada quando a matriz puder sofrer uma maior diluição.

Capítulo 3

DIFUSÃO GASOSA EM FLUXO

III.1. INTRODUÇÃO

A difusão gasosa é uma técnica seletiva, empregada em medidas de fluxo, para a separação e determinação de espécies voláteis como por exemplo CO_2 [47-50], H_2S [50, 51], cianetos [52] e NH_3 [53-55], e para medidas indiretas na determinação de nitrito e nitrato [56]. Na análise por injeção em fluxo, a amostra é geralmente confluída com uma solução adequada de modo que a espécie formada difunde pela membrana, passando então para um fluido receptor. O emprego de membranas tem, portanto, a vantagem de tornar o método seletivo mas, devido a transferência da espécie volátil para o fluido receptor não ser completa, há um comprometimento da sensibilidade e do limite de detecção, que pode ser compensado com uma etapa de pré-concentração, por exemplo.

A determinação de amônia tem uma atenção especial, principalmente em medidas de amostras naturais, por estar intimamente relacionada em várias questões ambientais e por exercer um papel importante no ciclo do nitrogênio em vários processos biológicos e industriais [55]. A concentração de amônia em águas naturais está tipicamente entre 50 e 200 $\mu\text{g L}^{-1}$ N - NH_3 , e suas principais origens são devido a desaminação de compostos orgânicos nitrogenados e hidrólise da uréia [44]. Concentrações mais altas de amônia são, portanto, indicativos de

poluição, como por exemplo, deficiente tratamento de esgotos e decaimento anaeróbico da matéria orgânica.

Para a determinação de amônia em fluxo, os métodos mais utilizados são os condutométricos [52, 56,57] e os que empregam a reação de Berthelot [58-61]. O método espectrofotométrico, baseado na utilização de indicadores de pH, para o monitoramento da variação do pH no fluido receptor é um dos métodos mais sensíveis para determinação de íons amônio, sendo empregado em uma ampla variedade de amostras [62]. A reação de Berthelot, porém, é a mais empregada, devido à alta sensibilidade e relativa especificidade ao íon amônio. Como esta reação é relativamente lenta, várias modificações foram propostas para viabilizar sua utilização em sistemas de fluxo.

Krug e colaboradores [59] propuseram um sistema de aprisionamento de amostra, em que uma porção da zona da amostra é removida do fluido transportador por um tempo previamente determinado e posteriormente reintroduzida neste fluido. Este sistema foi avaliado na determinação de amônia em águas naturais, empregando a reação de Berthelot modificada. A porção da amostra aprisionada é mantida em um banho termostatizado a 38° C, de modo que 80% da reação é completada, sem um comprometimento da freqüência de amostragem, permitindo um aumento no tempo de residência e com efeito de dispersão minimizados. Os banhos termostatizados também foram aplicados nos trabalhos desenvolvidos por Oms [63] e Schulze e colaboradores [61], com o objetivo de se obter um aumento na velocidade da reação.

Tryzell e Karlberg [54] estudaram a eficiência de diversas membranas em sistemas de fluxo para a determinação de amônia. A vazão do fluido receptor é

um dos fatores que está diretamente relacionado com a quantidade de amônia que pode ser recolhida, de modo que há uma relação entre a frequência de amostragem e eficiência na transferência de amônia, sendo que um aumento na vazão do fluido receptor causa um decréscimo no sinal analítico. Foi feita uma otimização deste sistema, em três níveis, avaliando-se alguns parâmetros como volume de amostra injetado, tamanho da célula, concentração da solução de NaOH, tipo de membrana, geometria da bobina de reação, vazão do fluido receptor, do reagente e do fluido transportador. Destes fatores, os que influenciam significativamente na sensibilidade foram o volume de amostra, tamanho da cela de difusão, concentração de hidróxido de sódio e qualidade da membrana.

A análise por injeção seqüencial (SIA) oferece uma flexibilidade nos sistemas de fluxo, de forma mais simples, permitindo diferentes configurações de fluxo, sem a necessidade de modificação do sistema. Assim, com este sistema, o método de parada de fluxo [64], por exemplo, pode ser implementado de forma simples, e longos tempos de residência podem ser alcançados obtendo-se um aumento da sensibilidade em reações cineticamente lentas. van Staden e Taljaard [64] utilizaram este sistema para a determinação de amônia, empregando a reação de Berthelot. Uma bobina de reação armazenava porções definidas de amostra e reagentes e a mistura resultante era mantida nesta bobina por um tempo determinado, suficiente para a formação do produto, sofrendo, portanto, a dispersão apenas durante o trajeto da amostra até o detector. O uso do fluxo reverso, acoplado ao uso de membranas em sistemas SIA, também tem sido propostos como forma de pré-concentração.[63,65].

Neste trabalho, a análise em fluxo monossegmentado (MSFA) combinada com a análise por injeção em fluxo (FIA) será avaliada na determinação de amônia, através de uma cela de difusão gasosa, empregando a reação de Berthelot. No sistema FIA, a amostra é confluída com uma solução de hidróxido de sódio e a mistura resultante passa por uma cela de difusão. A amônia formada é coletada por um fluido receptor, que finalmente é inserido no fluido transportador entre duas bolhas de ar. Empregando-se um analisador automático, pode-se adicionar os reagentes apenas no monossegmento, de modo que este conjunto permite explorar a propriedade que este sistema oferece, onde longos tempos de residência são alcançados, aumentando a sensibilidade.

III.2. EXPERIMENTAL

III.2.1. PREPARAÇÃO DE SOLUÇÕES

- Solução estoque de N- NH_3 1000 mg L^{-1} : preparada a partir de NH_4Cl em água deionizada.
- Solução de fenol 6% (m/v) e nitroprussiato de sódio 1% (m/v), em água deionizada.
- Solução de hipoclorito de sódio 1,5% (v/v) em hidróxido de sódio 2,0 mol L^{-1} .
- Solução de NaOH 0,01 mol L^{-1} (fluido transportador).
- Solução de H_2SO_4 0,005 mol L^{-1} (fluido receptor).

III.2.2. DIFUSÃO GASOSA ATRAVÉS DE MEMBRANA NO ANALISADOR

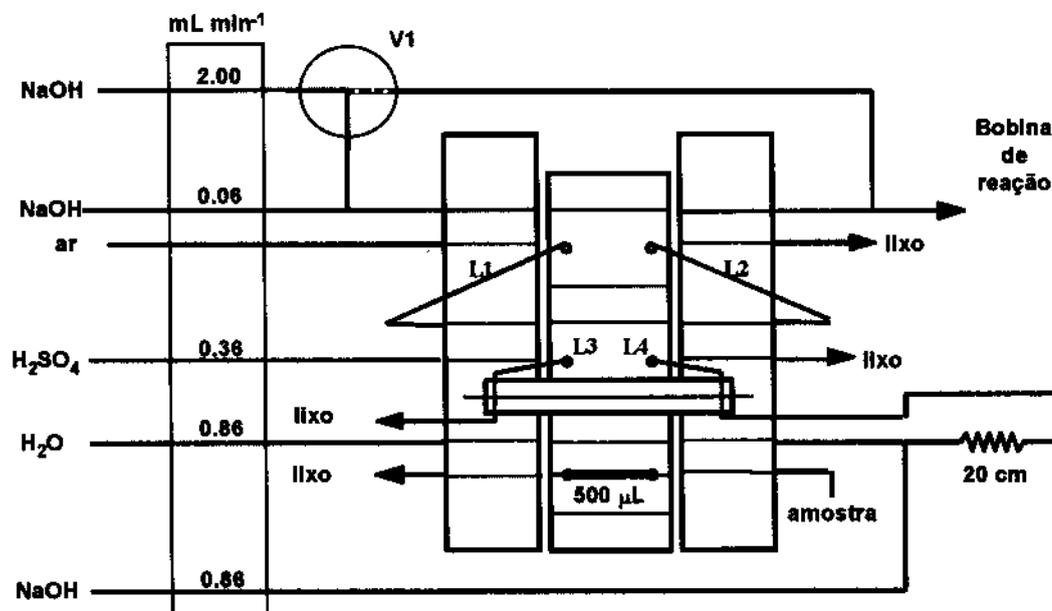


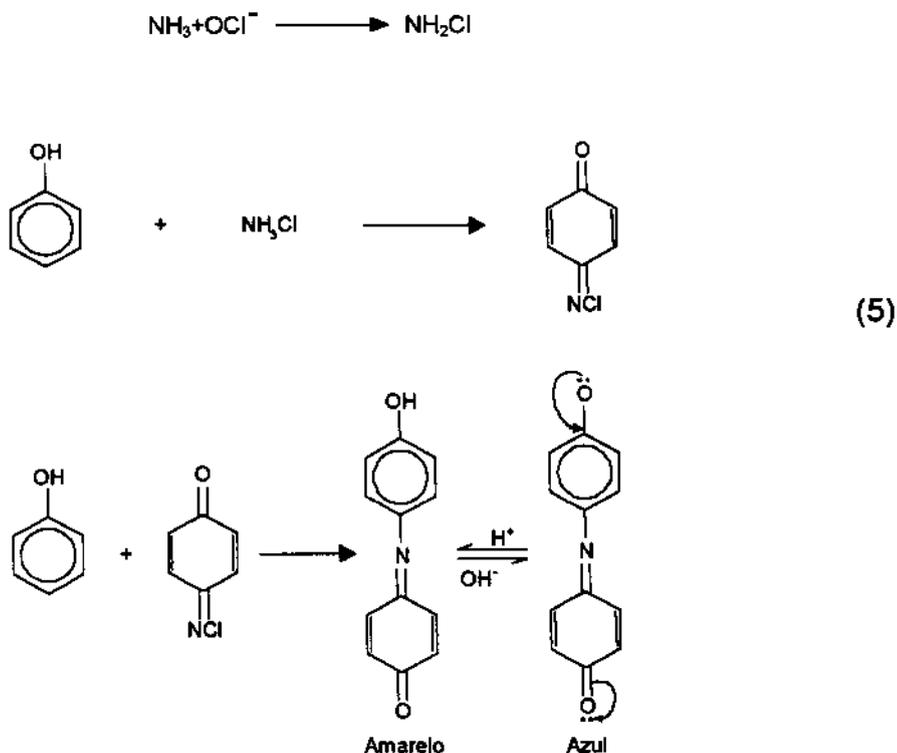
Figura 13 -Esquema da válvula de amostragem utilizada no sistema de difusão gasosa através de membrana em MSFA ($L_3 = 100\mu\text{L}$, $L_4 = 20\mu\text{L}$).

A Figura 13 mostra o esquema da válvula de amostragem utilizada, que permite a separação e difusão da amônia para o monossegmento e sua introdução no fluido transportador. Após a injeção da amostra, a válvula v_1 é ligada de modo que o fluido transportador ($2,00 \text{ mL min}^{-1}$) é desviado e apenas uma vazão relativamente baixa ($0,06 \text{ mL min}^{-1}$) passa pela válvula de amostragem, impelindo o monossegmento em direção à bobina de reação, passando pela cela de difusão. Neste intervalo, a amostra conflui com a solução de NaOH e a amônia formada difunde-se pela cela, sendo recolhida pelo fluido receptor. Quando a válvula é desligada, o monossegmento é então propelido a uma vazão de $2,06 \text{ mL min}^{-1}$. A adição dos reagentes é feita de forma similar à descrita na adição de padrão (Figura 9). No canal R_1 o reagente empregado é uma mistura de NaOH $2,0 \text{ mol L}^{-1}$ e hipoclorito de sódio 1% ($0,16 \text{ mL min}^{-1}$) e em R_2 uma solução de fenol 6% e

nitroprussiato de sódio 1% ($0,16 \text{ mL min}^{-1}$). As dimensões da cela de difusão são: 50 mm de comprimento, 0,4 mm de profundidade e 5,0 mm de largura e a membrana utilizada é de PTFE comercial. O comprimento de onda utilizado neste caso foi de 630 nm.

III.3. RESULTADOS E DISCUSSÃO

Este sistema foi avaliado empregando-se a reação de Berthelot para a determinação de amônia. A reação de Berthelot é baseada na formação do corante indofenol, devido a reação da amônia, hipoclorito e fenol. Apesar dos mecanismos desta reação não serem bem esclarecidos, sabe-se que esta reação é bastante seletiva e mais sensível que o método de Nessler. Um dos mecanismos desta reação é proposto por Bolleter e colaboradores [66], descrito abaixo:



A amônia reage com o hipoclorito, formando a cloroamina. Este produto reage com o fenol, formando um intermediário, que novamente combina-se com o fenol, formando o corante indofenol.

Inicialmente, foi empregado para a avaliação da difusão gasosa em MSFA a permeação de NH_3 em um fluido receptor estacionário. Neste caso, o sistema não utilizava o fluido transportador (NaOH , $0,06 \text{ mL min}^{-1}$) mostrada na Figura 13. Devido a diferença de pressão nos dois lados da membrana, os resultados não se mostraram satisfatórios, pois a amostra não passava de forma reprodutível pela membrana, comprometendo significativamente a reprodutibilidade, como pode ser observado na Figura 14. Desta forma, foi adicionado um fluido transportador de vazão de $0,06 \text{ mL min}^{-1}$ para que durante o processo de difusão, a vazão do fluido receptor diminuísse de forma que, apenas uma pequena vazão passasse pela membrana durante o período em que a amônia era coletada. Assim, este sistema permitiu que houvesse a renovação da superfície receptora lentamente, durante o período de amostragem, obtendo-se maior reprodutibilidade e sensibilidade (Figura 15).

O volume da alça de amostragem L_3 está limitado ao tempo em que a válvula v_1 fica ligada, pois, empregando-se um volume inferior ao necessário, ocorre a passagem da bolha de ar da alça L_1 , não havendo portanto, recolhimento da amostra no monossegmento. A alça L_4 empregada foi a de menor volume possível, para diminuir o efeito de diluição no monossegmento, pois o fluido receptor que preenche esta alça, não passa pela cela de difusão, causando apenas a diluição da amônia recolhida.

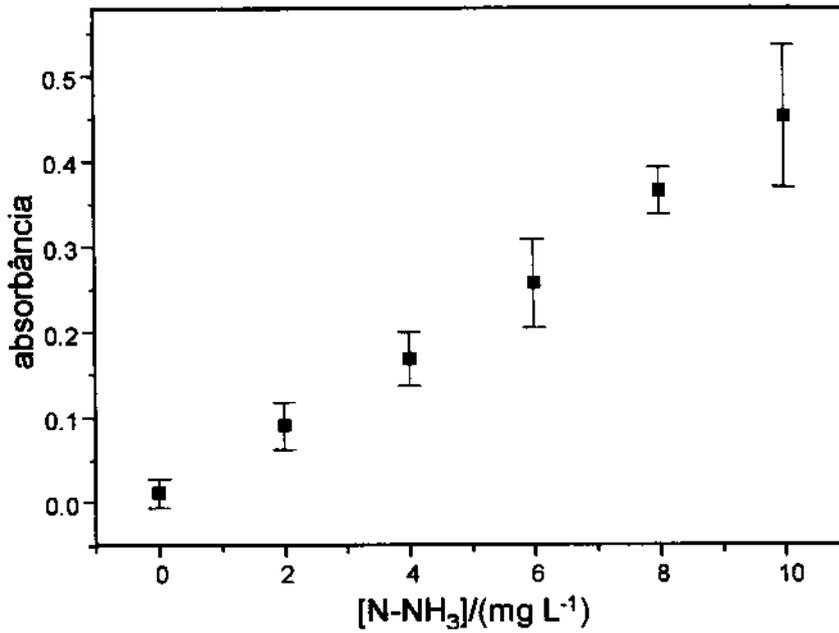


Figura 14 -Curva analítica obtida para o sistema de fluxo, empregando-se um fluido receptor estacionário (H_2SO_4 $1,0 \times 10^{-2}$ mol L^{-1}), medida em triplicata.

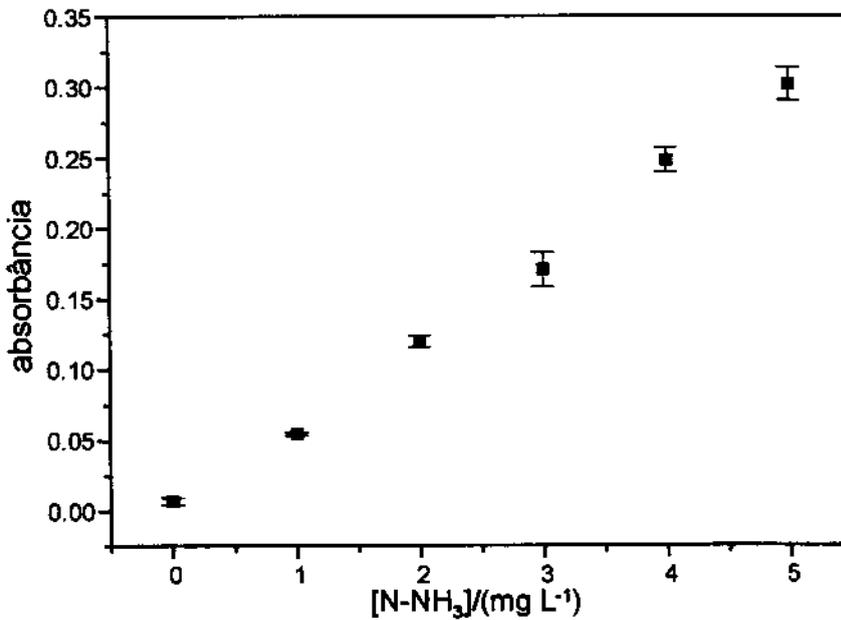


Figura 15 -Curva analítica obtida empregando-se um fluido receptor não estacionário, medida em triplicata (tempo de difusão de 60s, cela de 5cm, e H_2SO_4 $5,0 \times 10^{-3}$ mol L^{-1}).

Por estar relacionado com a formação da espécie de interesse, o comprimento da bobina empregada para a mistura da amostra com a solução de

NaOH foi avaliado e verificou-se que, acima de 20 cm, não há uma variação significativa na sensibilidade, como ilustrado na Figura 16. A partir deste comprimento, consegue-se o máximo de rendimento de formação de amônia. Deve-se salientar que, neste caso, a dispersão sofrida pela amostra neste reator é desprezível desde que toda a amostra passe pela cela de difusão.

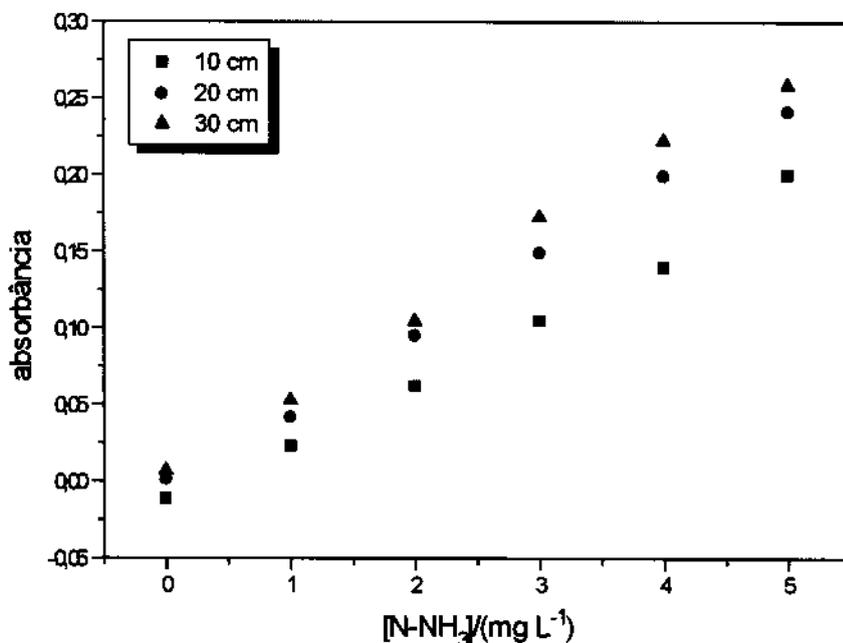


Figura 16 -Curvas analíticas obtidas para o sistema MSFA, empregando-se diferentes comprimentos de bobina, com um tempo de difusão de 60s e fluido receptor, H_2SO_4 $5,0 \times 10^{-3}$ mol L⁻¹.

O emprego de soluções ácidas diluídas como fluido receptor também foi um dos parâmetros estudados sendo que, a utilização de ácido sulfúrico como fluido receptor, mostrou um aumento significativo na sensibilidade (cerca de 3 vezes), já que este favorece a difusão da amônia devido ao deslocamento do equilíbrio, melhorando também a linearidade. Este efeito está ilustrado na Figura 17. Soluções mais concentradas de H_2SO_4 não proporcionaram um aumento no sinal analítico.

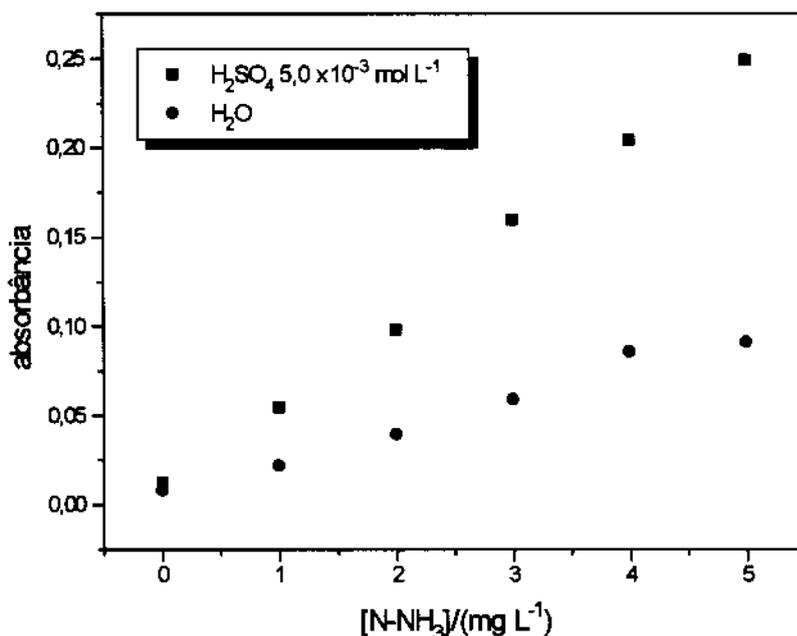


Figura 17 -Curvas analíticas obtidas variando-se o fluido receptor, com tempo de difusão de 60s e cela de 5 cm.

O tempo empregado para a difusão de NH_3 está relacionado com a passagem da zona de amostra pela cela de difusão e foi um dos fatores investigados. Como mostrado na Figura 18, observa-se que ele está diretamente relacionado com a sensibilidade do método pois, enquanto a válvula v_1 fica ligada, a superfície receptora da membrana é renovada, diminuindo a concentração de amônia na superfície da membrana e, conseqüentemente, favorecendo a difusão da amostra para o monossegmento. Este tempo também está limitado ao volume da alça L_3 e deve ser suficiente para que toda a amostra passe pela cela. Neste caso, acima de 60s de difusão não foram observadas variações significativas na sensibilidade, quando empregado uma cela de difusão de 5 cm.

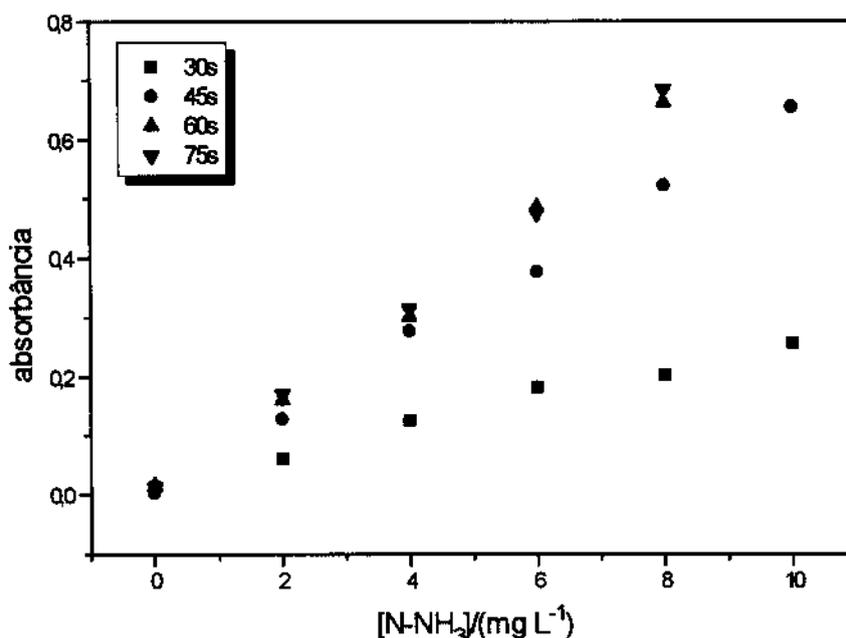


Figura 18 -Estudo do efeito do tempo de difusão sobre a sensibilidade da curva analítica.

Apesar do aumento do tamanho da cela aumentar a sensibilidade em sistemas FIA, a cela difusão de 10 cm não mostrou resultados satisfatórios no sistema MSFA, devido a instabilidade da bolha que passa pela cela, que geralmente era quebrada antes de sair da cela, descaracterizando o monossegmento. Além disto, deve-se salientar que, como a amostra é recolhida no monossegmento, em um volume independente do tamanho da cela e que para o tempo de difusão empregado, toda a zona de amostra passou pela cela de difusão, este fator não é limitante na sensibilidade.

O uso de apenas uma camada da membrana também causou instabilidade da bolha que passa pela cela, não sendo viável seu emprego neste sistema, pois permitia que a bolha de ar da alça L_1 permeasse pela membrana. Os resultados obtidos empregando-se uma dupla camada de membrana mostraram-se mais satisfatórios, permitindo a estabilidade da passagem desta bolha de ar, sem o

comprometimento da sensibilidade. Foi verificado também que, para estas condições, empregando-se a membrana dupla, cerca de 38% da espécie de interesse passa pela membrana quando se utiliza o H_2SO_4 como fluido receptor. Este fator foi calculado pela razão da sensibilidade da curva analítica obtida empregando-se a cela da difusão, pela obtida na injeção direta da solução de referência, sem passar pela cela (Figura 19).

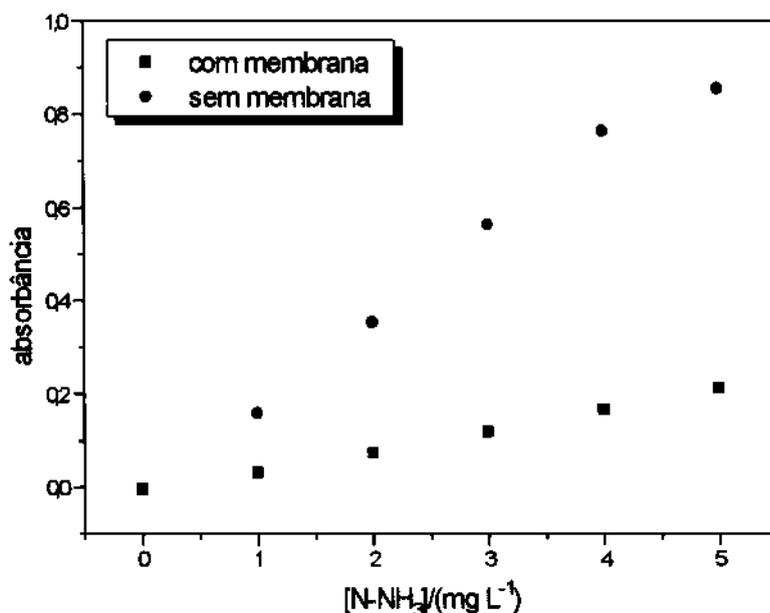


Figura 19 - Curvas analíticas obtidas com e sem a cela de difusão no sistema MSFA.

Foi também avaliado a influência das concentrações de hipoclorito de sódio e hidróxido de sódio no sinal analítico. Para o hipoclorito de sódio, foram feitas medidas de concentrações variando-se de 0,5 a 3%, e foi observado que acima de 1,5% não ocorreram variações significativas na sensibilidade (Figura 20). Para o uso da solução de 0,5%, ocorre um decréscimo de 30% na sensibilidade. No caso da solução de hidróxido de sódio, as concentrações utilizadas foram 0,5; 1,0; 2,0 e 4,0 mol L⁻¹. Acima de 2,0 mol L⁻¹ também não foram obtidos melhores resultados de sensibilidade.

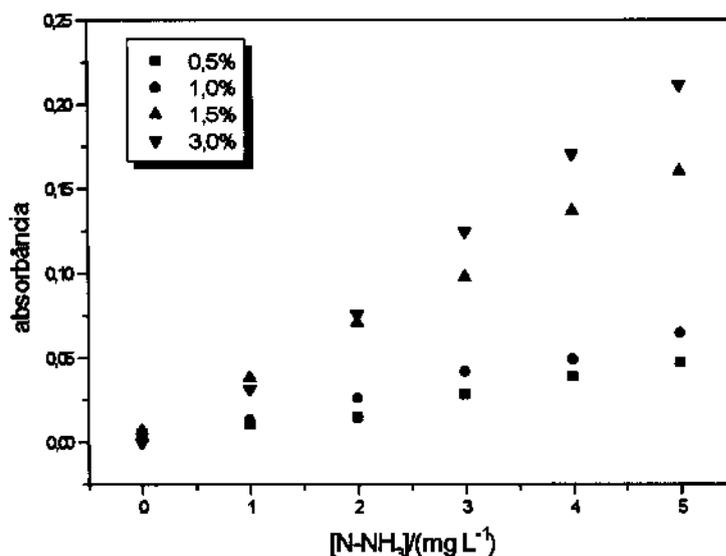


Figura 20 -Curvas analíticas obtidas para diferentes concentrações de hipoclorito de sódio.

Com estes resultados, optou-se por utilizar como reagentes a solução de hipoclorito de sódio 1,5% (v/v) e hidróxido de sódio 2 mol L⁻¹, H₂SO₄ 5,0 x 10⁻³ mol L⁻¹ e com tempo de abertura da válvula v_1 de 60 s para cada injeção. O tempo de residência, neste sistema, necessário para que a reação se complete foi de 5 min., de acordo com o trabalho de Pasquini e Oliveira [1], sendo que a frequência de amostragem é de 45 h⁻¹ quando empregado um tempo de difusão de 60 s.

Os resultados obtidos pelo sistema MSFA para as amostras estudadas, mostraram ser bastante satisfatórios, quando comparados ao método manual [44] como pode ser observado na Tabela 5. Para as amostras de água de torneira, mar, lago e Rio Pretinho, foram feitas adições de 1,00; 2,00; 3,00 e 4,00 mg L⁻¹ de N-NH₃, respectivamente sendo que a concentração inicial de amônia nessas amostras foram desprezíveis. A amostra de esgoto foi diluída 5 vezes, para que sua concentração estivesse dentro da faixa linear de ambos os métodos.

Tabela 5 - Comparação entre os resultados obtidos para a determinação de amônia por MSFA e pelo método manual, medidos em triplicata.

Amostra	$[\text{NH}_3]/\text{mg L}^{-1}$ MSFA	$[\text{NH}_3]/\text{mg L}^{-1}$ Standard Methods ⁽⁴⁴⁾	Erro relativo %
Torneira	$1,15 \pm 0,04$	$1,13 \pm 0,06$	+ 1,7
Lago	$2,80 \pm 0,20$	$2,62 \pm 0,05$	+ 6,9
Rio Pretinho	$4,10 \pm 0,30$	$4,10 \pm 0,30$	-
Esgoto	$49,00 \pm 0,70$	$46,3 \pm 0,20$	+ 5,7

Com este sistema, para as configurações utilizadas, obteve-se um limite de detecção de $120 \mu\text{g N-NH}_3 \text{ L}^{-1}$, uma faixa linear até $10 \text{ mg N-NH}_3 \text{ L}^{-1}$, com uma precisão de 3%, expresso como desvio padrão relativo obtido para dez replicatas de uma solução $2,0 \text{ mg N-NH}_3 \text{ L}^{-1}$. Comparando-se essas características analíticas com as descritas pela literatura [63,64,67], a metodologia proposta neste trabalho apresentou um limite de detecção similar aos sistemas FIA sem a etapa de difusão gasosa e pelo menos 5 vezes melhor quando esta etapa é empregada. O limite de detecção não é comparável com os obtidos nos sistemas baseados em indicadores ácido-base com detecção espectrofotométrica [55], porém esses sistemas tem limitações devido a absorção de CO_2 no fluido receptor. O sistema SIA proposto por van Staden e Taljaard [64] em que é utilizado o método de parada de fluxo, sem o emprego da cela difusão, a frequência de amostragem é de $16 \text{ amostras h}^{-1}$ com um limite de detecção de $360 \mu\text{g L}^{-1}$. Em uma avaliação dos métodos empregados para a determinação de amônia feita por Cerdà e colaboradores [67], os resultados empregando-se a reação de Berthelot, com parada de fluxo, utilizando a difusão

gasosa, alcançam um limite de detecção de $500 \mu\text{g L}^{-1}$, muito acima do obtido neste trabalho.

Dentro deste contexto, a implementação do sistema FI/MSFA proposto para a determinação de amônia, oferece uma boa alternativa, sendo que longos tempos de residência podem ser alcançados, aumentando a sensibilidade.

Conclusões e Perspectivas

As novas metodologias propostas para a análise em fluxo monossegmentado mostraram que sua versatilidade não está limitada apenas a um aumento na sensibilidade devido à baixa dispersão.

A titulação em MSFA apresenta a vantagem de se utilizar apenas um padrão, simulando um procedimento manual de uma titulação espectrofotométrica convencional, sem a necessidade de correção da absorbância, pois o monossegmento possui um volume constante em todas as injeções. Além disto, com um ajuste no programa responsável pelo controle do analisador e pela aquisição dos dados, pode-se ainda implementar um sistema automático de titulação, onde, primeiramente, faz-se uma previsão da concentração da amostra, através da adição de um excesso de titulante, para posteriormente definir os intervalos de tempo empregados na titulação.

A adição de padrão proposta, precisa ser melhor avaliada em outros sistemas de detecção, onde os efeitos de matriz são mais pronunciados. Porém, o consumo de amostra e de solução de referência para cada determinação é de 1,5 mL e 1,0 mL respectivamente, que é relativamente baixo comparado com os geralmente empregados em sistemas FIA. A modificação em relação aos volumes de amostra e solução de referência, é uma alternativa para amostras onde a concentração da espécie de interesse é baixa, podendo-se empregar a configuração similar à da titulação, quando a amostra precisar, ou puder, sofrer uma diluição maior.

A difusão gasosa mostrou a possibilidade de combinação dos sistemas FIA e MSFA, aplicados a medidas de espécies gasosas. Com este sistema, para as configurações utilizadas, os resultados obtidos foram comparáveis aos dos sistemas FIA, que não empregam a etapa de difusão e maior quando a cela de difusão é empregada, devido à baixa dispersão sofrida pela amostra. Estes resultados mostram que os sistemas MSFA são uma ferramenta útil para a determinação de espécies cuja metodologia é baseada em reações cineticamente lentas, pois alia altas sensibilidade e velocidade analítica. Além disto, fica indicada a possibilidade de implementação de técnicas similares, como a diálise, que seria importante no desenvolvimento de um analisador automático dedicado às análises clínicas.

Finalmente, é importante ressaltar que as três técnicas implementadas podem dispensar o uso do microcomputador para serem usadas em MSFA. A titulação e a adição de padrão podem ser realizadas manualmente desde que seja empregado um conjunto de soluções de titulante e de referência, respectivamente. A permeação gasosa pode ser implementada realizando-se a adição dos reagentes com o uso de alças adicionais empregando a injeção múltipla simultânea.

Referências

1. C. Pasquini and W.A. Oliveira, *Anal. Chem.*, 57 (1985), 2575.
2. L.T. Skeggs, Jr, *The American Journal of Clinical Pathology*, 28 (1957), 311.
3. J. Ruzicka and E.H. Hansen, *Anal. Chim. Acta*, 78 (1975), 145.
4. A.R.A. Nogueira, S.M.B. Brienza, E.A.G. Zagatto, J.L.F. Costa Lima and A.N. Araujo, *Anal. Chim. Acta*, 276 (1993) 121.
5. J.C. Andrade, M. Ferreira, N. Baccan and O.C. Bataglia, *Analyst*, 113, (1988), 289.
6. L.C. Faria and C. Pasquini, *J. Autom. Chem.*, 14, (1992), 97.
7. J.C. Andrade, R.E. Bruns and S.P. Eiras, *Analyst*, 118 (1993), 213.
8. C. Pasquini, *Instrumentação e Metodologia para Análise em Fluxo Contínuo. Desenvolvimento de um Entalpímetro de Fluxo, de um Sistema Monossegmentado e Construção de um Circuito Retentor de Picos*, Tese de Doutorado, UNICAMP, 1984.
9. I. Facchin, J.W. Martins, P.G.P. Zamora and C. Pasquini, *Anal. Chim. Acta*, 285 (1994), 287.
10. I. Facchin and C. Pasquini, *Anal. Chim. Acta*, 308 (1995), 231.
11. M.D.H. da Silva and C. Pasquini, *Anal. Chim. Acta*, 349 (1997), 377.
12. I.M. Raimundo Jr. and C. Pasquini, *Analyst*, 122 (1997), 1039.
13. I.M. Raimundo Jr., *Construção de um Espectrofotômetro Multicanal e de um Analisador Automático de Fluxo Monossegmentado*, Tese de Doutorado, UNICAMP, 1995.
14. V. Brito, I.M. Raimundo Jr., *Anal. Chim. Acta*, no prelo.
15. H.Z. Ziegel, *Anal. Chem.*, 53 (1914), 755.
16. J.J. Lingane, *Anal. Chem.*, 20 (1948), 285.

17. C.N. Yarnitzky, N. Klein, O. Cohen, *Instrum. Sci. Technol.*, 23(2) (1995), 91.
18. B. Fuhrmann and U. Spohn, *J. Autom. Chem.*, 15(6) (1993), 209.
19. B. Fleet and A.Y.W. Ho, *Anal. Chem.*, 46(1) (1974), 9.
20. J. Ruzicka, E.H. Hansen, H. Mosback, *Anal. Chim. Acta*, 91 (1977), 87.
21. C.N. Yarnitzky, N. Klein, O. Cohen, *Talanta*, 40 (1993), 1937.
22. G. Nagy, K. Tóth and E. Pungor, *Anal. Chem.*, 47(8) (1975), 1460.
23. I.L. García, P. Viñas, N. Campillo, M.H. Córdoba, *Anal. Chim. Acta*, 308 (1995), 67.
24. J. Marcos, A. Ríos and M. Valcárcel, *Anal. Chim. Acta*, 261 (1992), 489.
25. J. Marcos, A. Ríos and M. Valcárcel, *Anal. Chim. Acta*, 261 (1992), 495.
26. G. Nagy, K. Tóth and E. Pungor, *Anal. Chem.*, 26 (1979), 1143.
27. G. Nagy, K. Tóth and E. Pungor, *Anal. Chem.*, 46 (1979), 5.
28. B.F. Reis, M.F. Giné, E.A.G. Zagatto, J.F.C. Lima, R.A. Lapa, *Anal. Chim. Acta*, 293 (1994), 129.
29. M. Korn, L.F.B.P. Gouveia, E. Oliveira and B.F. Reis, *Anal. Chim. Acta*, 313 (1995), 177.
30. M.C.U. Araújo, A.V. Santos and R.S. Honorato, *J. Aut. Chem.*, 19(5) (1997), 157.
31. N. Baccan, J.C. Andrade, O.E.S. Godinho, e J.S. Barone, "Química Analítica Quantitativa Elementar", Editora Edgard Blücher Ltda, 1979, p.192.
32. The U. S. Pharmacopeia; The National Formulary, Rockville, U.S. Pharmacopeia Convention, 1985.
33. J.F. Tyson, *Anal Proc.*, 18, (1981) 542.
34. M.C.U. Araújo, C. Pasquini, R.E. Bruns, *Anal. Chim. Acta*, 171 (1985) 337-343.
35. I. Israel, R.M. Barnes, *Analyst*, 114 (1989) 843.
36. M.F. Giné, B.F. Reis, E.A.G. Zagatto, F.J. Krug, A.O. Jacintho, *Anal. Chim. Acta.*, 155 (1983) 131.

37. J.J. Harrow, J. Janata, *Anal. Chim. Acta*, 174 (1985) 123.
38. D.Beauchemin, *Anal Chem.*, 67 (1995) 1553.
39. M. Agudo, A. Ríos, M. Valcárcel, *Anal. Chim. Acta*, 308 (1995) 77.
40. I.E. Bechmann, L. Nørgaard, C. Ridder, *Anal. Chim. Acta*, 304 (1995) 229.
41. B.E.H. Saxberg, B.R. Kowalski, *Anal. Chem.*; 51 (1979) 1031.
42. C. Jochum, P. Jochum, B.R. Kowalski, *Anal. Chem.*, 513 (1981) 85.
43. E.A.G. Zagatto, A.O. Jacintho, F.J. Krug, B.F. Reis, R.E. Bruns and M.C.U. Araújo, *Anal. Chim. Acta*, 145 (1983) 169.
44. Standard Methods for the Examination of Water and Waste Water, American Public Health Association, Washington, D.C, 18th ed. 1992.
45. E.C Silva, M.C.U. Araújo, R. Honorato, J.L.F.C. Lima, E.A.G. Zagatto, S.M.B. Brienza, *Anal. Chim. Acta*, 319 (1996) 153.
46. Y. Israel, R.M. Barnes, *Anal. Chem.*, 56 (1984) 1192.
47. E. Ljunggreen and B. Karlberg, *J. Autom. Chem.* , 17 (1995) 105.
48. V. Kubán and P.K. Dasgupta, *Talanta*, 40 (1993), 831.
49. W.F. Jardim, C. Pasquini, J.R. Guimarães and L.C. Faria, *Wat. Res.*, 24 (1990) 351.
50. P. Linares, M.D. Luque de Castro and M. Valcárcel, *Anal Chim. Acta*, 225 (1989) 443.
51. J. Bartroli, M. Escalada, C.J. Jorquera and J. Alonso, *Anal. Chem.*, 63 (1991) 2532.
52. E. Miralles, D. Prat, R. Compañó and M. Granados, *Analyst*, 123 (1998) 217.
53. J.J.R. Rohwedder, C.Pasquini, *Analyst*, 116 (1991) 841.
54. R. Tryzell and B. Karlberg, *Anal. Chim. Acta*, 308 (1995) 206.
55. J.R. Clinch, P.J. Worsfold and F.W. Sweeting, *Anal. Chim. Acta*, 214 (1988) 281.
56. L.C. Faria, C.Pasquini, *Anal. Chim. Acta*, 245 (1991) 183.

57. L.C. Faria, C. Pasquini, G. Oliveira Neto, *Analyst*, 116 (1991) 357.
58. P.L. Searle, *Analyst*, 109 (1984) 549.
59. F.J. Krug, B.F. Reis, M.F. Gine, E.A.G. Zagato; J.R. Ferreira, A.O. Jacintho, *Anal. Chim. Acta*, 151 (1983) 39.
60. E.H. Hansen, F.J. Krug, A.K. Ghose, J. Ruzicka, *Analyst*, 102 (1977) 714.
61. G. Schulze, C.Y. Liu, M. Brodowski, O. Elsholz, *Anal. Chim. Acta*, 214 (1988) 121.
62. R. Nakata, T. Kawamura, H. Sakashita and A. Nitta, *Anal. Chim. Acta*, 208 (1988) 81.
63. M.T. Oms, A. Cerdà, A. Cladera, V. Cerdà, R. Forteza, *Anal. Chim. Acta*, 318 (1996) 251.
64. J.F. van Staden, R.E. Taljaard, *Anal. Chim. Acta*, 344 (1997) 281.
65. I. Lukkari, J. Ruzicka and G. Christian, *Fres. J. Anal. Chem.*, 346 (1993) 813.
66. W.T. Bolleter, C.J. Bushman and P.W. Tidwell, *Anal. Chem.*, 14 (1961) 592.
67. A. Cerdà, M.T. Oms, R. Forteza, V. Cerdà, *Anal. Chim. Acta*, 311 (1995) 165.

Índice de Figuras

FIGURA	CAPÍTULO	DESCRIÇÃO	PÁGINA
1	Apresentação	Diagrama do esquema da válvula amostradora empregada para a injeção múltipla simultânea em MSFA (a) posição de amostragem, (b) posição de injeção.	04
2	I.2.2	Esquema do sistema utilizado para a titulação em análise por injeção em fluxo monossegmentado.	13
3	I.3	Curva analítica obtida relacionando concentração de KMnO_4 x absorvância, utilizando o espectrofotômetro PDA.	14
4	I.3	Curva analítica de $[\text{KMnO}_4]$ x tempo de amostragem, utilizando-se uma solução de KMnO_4 $7,00 \times 10^{-4} \text{ mol L}^{-1}$ ($[\text{KMnO}_4] = -2,7959 \times 10^{-5} + 2,6709 \times 10^{-5} t$, $r = 0,9999$).	16
5	I.3	Curva analítica de A/A_0 x tempo de amostragem, utilizando-se uma solução KMnO_4 $7,00 \times 10^{-4} \text{ mol L}^{-1}$, ($y = -6,0 \times 10^{-5} + 2,5 \times 10^{-5} t$, $r = 0,99975$), medidas em triplicata.	17
6	I.3	Curva de titulação de uma amostra sintética de Fe(II) $5,18 \times 10^{-3} \text{ mol L}^{-1}$ empregando-se uma solução KMnO_4 $7,50 \times 10^{-4} \text{ mol L}^{-1}$ em triplicata.	18
7	I.3	Curvas de titulação de uma solução de Fe^{2+} $5,0 \times 10^{-3} \text{ mol L}^{-1}$ em diferentes tempos de residência (t_{res}).	19
8	I.3	Curva de titulação obtida para uma amostra de Iberin com KMnO_4 $7,73 \times 10^{-4} \text{ mol.L}^{-1}$	21
9	II.2.2	Esquema do sistema utilizado para a adição de padrão em análise em fluxo monossegmentado.	29
10	II.3	Curva analítica relacionando a concentração de Cr(VI) (mg L^{-1}) em função do tempo de abertura da válvula v_1 .	31

FIGURA	CAPÍTULO	DESCRIÇÃO	PÁGINA
11	II.3	Curva analítica obtida para uma amostra sintética de $0,200 \text{ mg L}^{-1}$ de Cr(VI) ($y = (0.049 \pm 0.002) + (0.300 \pm 0.005) x$; $r = 0,9996$), média de 3 replicatas.	32
12	II.3	Curvas analíticas obtidas para as amostras de águas de várias procedências.	34
13	III.2.2	Esquema da válvula de amostragem utilizada no sistema de difusão gasosa através de membrana em MSFA ($L_3 = 100\mu\text{L}$, $L_4 = 20\mu\text{L}$).	40
14	III.3	Curva analítica obtida para o sistema de fluxo, empregando-se um fluido receptor estacionário (H_2SO_4 $1,0 \times 10^{-2} \text{ mol L}^{-1}$), medida em triplicata.	43
15	III.3	Curva analítica obtida empregando-se um fluido receptor não estacionário, medida em triplicata (tempo de difusão de 60s, cela de 5cm, e H_2SO_4 $5,0 \times 10^{-3} \text{ mol L}^{-1}$).	43
16	III.3	Curvas analíticas obtidas para o sistema MSFA, empregando-se diferentes comprimentos de bobina, com um tempo de difusão de 60s e fluido receptor, H_2SO_4 $5,0 \times 10^{-3} \text{ mol L}^{-1}$.	44
17	III.3	Curvas analíticas obtidas variando-se o fluido receptor, com tempo de difusão de 60s e cela de 5 cm.	45
18	III.3	Estudo do efeito do tempo de difusão sobre a sensibilidade da curva analítica.	46
19	III.3	Curvas analíticas obtidas com e sem a cela de difusão no sistema MSFA.	47
20	III.3	Curvas analíticas obtidas para diferentes concentrações de hipoclorito de sódio.	48

Índice de Tabelas

TABELA	CAPÍTULO	DESCRIÇÃO	PÁGINA
1.	I.3	Comparação entre os valores obtidos pelo sistema MSFA e pela titulação visual, medidos em triplicata.	20
2.	I.3	Comparação entre os valores obtidos pelo sistema MSFA e pelo método oficial para as amostras de medicamentos, medidos em triplicata.	21
3.	II.3	Resultados obtidos pelo sistema MSFA para as amostras sintéticas de Cr(VI), medidos em triplicata.	33
4.	II.3	Resultados obtidos pelo sistema MSFA comparados ao método convencional para as amostras de águas naturais, medidos em triplicata.	34
5.	III.3	Comparação entre os resultados obtidos para a determinação de amônia por MSFA e pelo método manual, medidos em triplicata	49