

**UNIVERSIDADE ESTADUAL DE CAMPINAS**

Instituto de Química

Dissertação de Mestrado

Abril - 1997

**" ESTUDOS COM DITIZONA IMOBILIZADA, COM  
VISTAS AO DESENVOLVIMENTO DE SENSORES  
QUÍMICOS DE FIBRA ÓPTICA PARA A DETERMINAÇÃO  
DE METAIS PESADOS "**

Autor : Fernando Rodrigo Frederico

Orientador : Prof. Dr. Wallace Alves de Oliveira



FICHA CATALOGRÁFICA ELABORADA PELA  
BIBLIOTECA DO INSTITUTO DE QUÍMICA  
UNICAMP

Frederico, Fernando Rodrigo  
F872e Estudos com ditizona immobilizada, com vistas ao desenvolvimento de sensores químicos de fibra óptica para a determinação de metais pesados / Fernando Rodrigo Frederico. -- Campinas, [SP : s.n.], 1997,

Orientador: Wallace Alves de Oliveira,.

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

1. \*Optodo. 2. \*Constante. 3. \*Fase de reação. 4. Reflexão. I. Oliveira, Wallace Alves de. II. Universidade Estadual de Campinas. Instituto de Química. III. Título.

UNIDADE	IQ
N.º CHAMADA:	F872e
TIPO DE DOCUMENTO	D
N.º DE REGISTRO	31956
DATA DE REGISTRO	28/1/97
C	<input type="checkbox"/>
D	<input checked="" type="checkbox"/>
PREÇO	R\$ 11,00
DATA	22/10/97
N.º CPD	102043-7

Frederico, Fernando Rodrigo

Estudos com ditizona immobilizada, com vistas ao desenvolvimento de sensores químicos de fibra óptica para a determinação de metais pesados / UNICAMP/F872e

(31956/97)

## **AGRADECIMENTOS**

Agradeço :

- ao Prof. Dr. Wallace Alves de Oliveira, orientador deste trabalho, pela dedicação, ajuda e amizade na realização desta pesquisa.

- aos meus pais pelo incentivo e ajuda durante todos estes anos.

- à Maria do Carmo Hespanhol, pela colaboração prestada no início deste projeto de pesquisa.

- aos companheiros do laboratório, Antenor , Pilar, Matias pela ajuda e a convivência.



- Capítulo 3 - Estudos Preliminares .....	21
3.1 - Avaliação da Pureza da Ditizona .....	21
3.2 - Imobilização da Ditizona .....	23
3.2.1 - Determinação da Quantidade de Ditizona Imobilizada .....	24
3.3 - Fotodecomposição da Ditizona .....	24
- Capítulo 4 - Estudos sobre a Influência do pH na formação dos Ditizonatos Imobilizados .....	27
4.1 - Desenvolvimento do Optodo .....	27
4.2 - Procedimento .....	29
4.3 - Resultados da Influência do pH .....	29
4.4 - Estimativa da Constante de Estabilidade .....	35
- Capítulo 5 - Estudos sobre a Reversibilidade do Optodo .....	39
5.1 - Testes Experimentais com o Optodo .....	41
5.1.1 - Procedimento .....	41
5.1.2 - Resultados Obtidos com o Optodo .....	42
- Capítulo 6 - Sensor Óptico de Fase de Reação Renovável para a Determinação de Hg(II) .....	45
6.1 - Desenvolvimento do Injetor .....	45
6.2 - Parte Experimental .....	47
6.3 - Resultados Obtidos com o Sensor Óptico .....	48
- Capítulo 7 - Determinação Reflectométrica Simultânea .....	52
7.1 - Parte Experimental .....	52
7.2 - Resultados Obtidos na Determinação Reflectométrica Simultânea .....	53
- Capítulo 8 - Conclusões .....	56
- Capítulo 9 - Referências Bibliográficas .....	58

## LISTA DE TABELAS

Tabela	Página
3-1 : Valores de $E_{620}$ obtidos para as amostras de ditizona .....	23
4-1 : Variação com o pH, da reflectância normalizada, reflectância absoluta e função de Kubelka-Munk para o ditizonato de zinco(II) .....	31
4-2 : Valores da reflectância normalizada, reflectância absoluta e função de Kubelka-Munk e a variação do pH para o ditizonato de chumbo(II) .....	32
4-3 : Valores da reflectância normalizada, reflectância absoluta e função de Kubelka-Munk e a variação do pH para o ditizonato de cádmio(II) .....	33
4-4 : Comparação entre os valores das constantes de estabilidade condicional para ditizonatos em solução e imobilizados .....	36
4-5 : Comparação entre os valores das constantes de estabilidade obtidos usando-se $R_n$ e $F(R)$ .....	38
6-1 : Valores de reflectância relativa obtidos com o sensor de mercúrio(II) em função do $\text{Log } C$ .....	49
7-1 : Comparação das concentrações de zinco(II) e cádmio(II) determinadas pelo método reflectométrico com as concentrações colocadas nas amostras .....	54

## LISTA DE FIGURAS

Figura	Página
1-1 : Ilustração dos fenômenos de refração e reflexão .....	03
1-2 : Esquema do mecanismo de condução da luz pela fibra óptica, mostrando o ângulo de aceitação .....	04
1-3 : Arranjos de fibras ópticas usados nos sensores extrínsecos .	07
2-1 : Representação esquemática da instrumentação usada .....	19
3-1 : Espectro da ditizona ( amostra B ) em $\text{CCl}_4$ .....	22
3-2 : Representação esquemática da cela de fluxo .....	24
3-3 : Espectros de reflectância difusa obtidos com ditizona imobilizada colocada na cela de fluxo .....	25
4-1 : Representação esquemática do optodo de ditizona, sensível à concentração de íons metálicos .....	28
4-2 : Espectros experimentais de reflectância difusa obtidos com o optodo carregado inicialmente com ditizonato de cádmio e, depois da regeneração, com ditizona .....	30
4-3 : Variação da reflectância normalizada com o pH para os ditizonatos de zinco(II), chumbo(II) e cádmio(II) .....	34
5-1 : Respostas do optodo, para variações da concentração de Zn(II) .....	42
5-2 : Curva analítica para o optodo de zinco(II) .....	43
6-1 : Representação esquemática da introdução da fase sensora no injetor .....	46
6-2 : Representação esquemática da posição do injetor durante a análise da amostra .....	47
6-3 : Curva analítica para a determinação de Hg(II) .....	50

## RESUMO

Título : Estudos com ditizona imobilizada, com vistas ao desenvolvimento de sensores químicos de fibra óptica para a determinação de metais pesados.

Autor : Fernando Rodrigo Frederico

Orientador : Prof. Dr. Wallace Alves de Oliveira

Descreve-se, no presente trabalho, estudos visando investigar novas alternativas e possibilidades analíticas para determinação de metais pesados, usando sensores químicos de fibra óptica e ditizona imobilizada.

Inicialmente, realizou-se um estudo sobre a influência do pH na formação dos ditizonatos de zinco(II), chumbo(II) e cádmio(II). A partir deste estudo, foi possível obter as constantes de estabilidade condicionais dos respectivos complexos imobilizados.

Com o valor da constante de estabilidade foi possível fazer uma previsão teórica do pH do meio e da faixa de concentração onde o optodo deveria funcionar reversivelmente. A previsão teórica foi confirmada experimentalmente. A curva analítica apresentou um coeficiente de correlação de 0,996 e um desvio médio de 0,02 em termos de reflectância normalizada.

Verificou-se que a determinação do Hg(II) tem boa seletividade em meio bastante ácido ( ácido sulfúrico 0,5 mol/L ). Por esta razão, foi desenvolvido um sensor óptico de fase de reação renovável para a determinação do Hg(II).

Um outro ponto do trabalho foi verificar a possibilidade da determinação reflectométrica simultânea dos metais pesados, usando o estudo feito sobre a influência do pH.

## ABSTRACT

Title : "Studies with immobilized dithizone, with the goal of developing fiber-optic chemical sensors for the determination of heavy metals"

Author: Fernando Rodrigo Frederico

Supervisor: Prof. Dr. Wallace Alves de Oliveira

Studies with the aim of investigating new analytical possibilities for the determination of heavy metals, using fiber-optic chemical sensors and immobilized dithizone, are described in the present work.

Initially, the effect of pH on the formation of the dithizonates of zinc(II), lead(II) and cadmium(II) was studied. Based on this study, it was possible to obtain the values of the conditional stability constants for the immobilized complexes.

With the values of stability constants, it was possible to predict, theoretically, the pH and concentration range where the optode should work reversibly. The theoretical prediction was confirmed experimentally. The analytical curve yielded a correlation coefficient of 0,996. The average deviation of measurements was 0,02 normalized reflectance.

Determination of Hg(II) have good selective in acid medium ( 0.5 mol/L sulfuric acid ). Thus, it was develop an optical sensor of renewable phase for the determination of Hg(II).

Another part of this work was to verify the possibility for the simultaneous reflectometric determination of heavy metals, based on the study of the effect of pH.

## INTRODUÇÃO

Os métodos ópticos<sup>1</sup> abrangem algumas das mais antigas e melhores técnicas estabelecidas para medidas em química analítica. O desenvolvimento de fibras ópticas<sup>2,3</sup> de alta qualidade e baratas, para o setor de comunicação, possibilitou o surgimento de nova tecnologia, que são os sensores químicos de fibra óptica (SQFO)<sup>4,7</sup>. Tem sido relatado<sup>8</sup> que, provavelmente, foi Hesse<sup>9</sup> o primeiro a descrever um sensor de fibras ópticas para espécies químicas. Desde então, consideráveis esforços têm sido gastos no desenvolvimento desses sensores<sup>10</sup>.

### 1.1 - Sensores Químicos de Fibra Óptica

Os sensores químicos de fibra óptica são também chamados de *optodos*<sup>11-13</sup> ou *optrodos*<sup>14,15</sup>.

A concepção básica<sup>16,17</sup> dos SQFO é simples. A luz de uma fonte adequada é lançada na fibra e direcionada para a região onde a luz interage com a fase sensora<sup>18,19</sup>. Esta interação resulta na modificação do sinal óptico, o qual é coletado pela mesma ou por outra fibra óptica e guiado até um sistema de detecção<sup>20-22</sup>.

O monitoramento óptico das espécies químicas é baseado na interação destas com a luz. Quando a luz colide com as espécies químicas, uma variedade de interações<sup>23-24</sup> podem ocorrer entre os fótons da radiação eletromagnética e os átomos ou moléculas contidas nas espécies químicas. Essas interações envolvem uma troca de energia e podem dirigir-se para absorção, transmissão, emissão, espalhamento ou reflexão da luz. A quantificação desta energia transferida promove informações acerca da composição do sistema e tem sido explorada nos SQFO. Estes sensores são constituídos basicamente por fibra óptica e fase sensora, que serão relatadas com mais detalhes a seguir.

### 1.1.1 - *Fase Sensora*

Também chamada de fase de reação é o constituinte mais importante dos SQFO, 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 óptico proporcional à concentração do analito. As fases sensoras são frequentemente desenvolvidas em fase sólida, devido a maior conveniência de manejo, e elas são localizadas na região de monitoramento da fibra pela deposição direta na fibra ou por outro tipo de imobilização.

#### 1.1.1.1 - Imobilização do Reagente

A preparação da fase sensora envolve a imobilização<sup>24,25</sup> do reagente químico num suporte sólido estável e inerte. A imobilização do reagente pode ser feita por métodos físicos ou químicos. Os métodos físicos de imobilização incluem: oclusão<sup>26</sup>, adsorção<sup>27-31</sup> e atração eletrostática<sup>32-34</sup>. Na oclusão o reagente é imobilizado dentro do espaço intersticial na grade de um gel polimérico, como poliacrilamida ou gelatina. Na adsorção e atração eletrostática o reagente é preso na superfície de um suporte sólido. Adsorção pode envolver a formação de complexos de transferência de carga ou pontes de hidrogênio entre as moléculas do reagente e as moléculas da superfície do suporte. A atração eletrostática envolve a formação de pares iônicos entre o reagente carregado e os centros iônicos do suporte sólido.

O método químico de imobilização<sup>35-37</sup> é baseado na formação de ligações covalentes entre as moléculas do reagente e uma forma ativa ou funcionalizada de um suporte sólido polimérico. Este método é o mais eficiente dos métodos de imobilização, mas requer várias etapas na preparação da fase sensora.

#### 1.1.1.2 - Reações Usadas

As reações empregadas como base de sensores ópticos podem ser classificadas<sup>7</sup> como "*estequiométricas*" ou "*de indicadores*".

Nas reações estequiométricas o analito reage de forma completa com um excesso de reagente, para produzir um produto opticamente detectável, ou seja :



onde A é o analito, R é o reagente e AR é o produto opticamente detectável. Este tipo de reação tem como vantagem, medidas de alta sensibilidade. Como desvantagens, cita-se o fato de a fase sensora formar um produto cuja quantidade aumentará continuamente com o tempo, até que o analito seja totalmente esgotado;

produz-se, assim, sensores que são, em geral, irreversíveis . Outras características deste tipo de reação são: o sinal óptico está relacionado com a quantidade total do analito, há uma dependência da velocidade de transferência de massa do analito dentro da fase sensora, além de serem independentes da constante de equilíbrio.

Nas reações de indicador, o analito ( A ) reage com o reagente ( B ) para formar o produto ( AB ) :



Os sensores, que utilizam este tipo de reação, podem ser baseados nas propriedades ópticas de ( B ) ou de ( AB ). As principais características deste tipo de reação são: dependência da constante de equilíbrio, permitem monitoramento contínuo e respostas reversíveis.

### 1.1.2 - Fibra Óptica

As fibras ópticas<sup>2,3,38-40</sup> são formadas por material dielétrico transparente e flexível ( vidro, sílica ou plástico ). A fibra óptica é formada por um núcleo, com índice de refração ,  $n_1$ , envolto por uma casca cujo índice de refração,  $n_2$ , é menor que  $n_1$ . A transmissão da luz baseia-se no fenômeno da reflexão interna total.

A reflexão interna total pode ser explicada no seguinte contexto. Quando um raio de luz incide na interface de dois meios com índices de refração diferentes, este pode ser refratado e/ou refletido, dependendo do seu ângulo de incidência,  $\theta$ . Existe um ângulo, chamado de ângulo crítico,  $\theta_c$ , onde o ângulo do raio refratado,  $\theta_r$ , é  $90^\circ$ . Quando o ângulo de incidência é maior que  $\theta_c$ , a luz é refletida ( Figura 1-1 ).

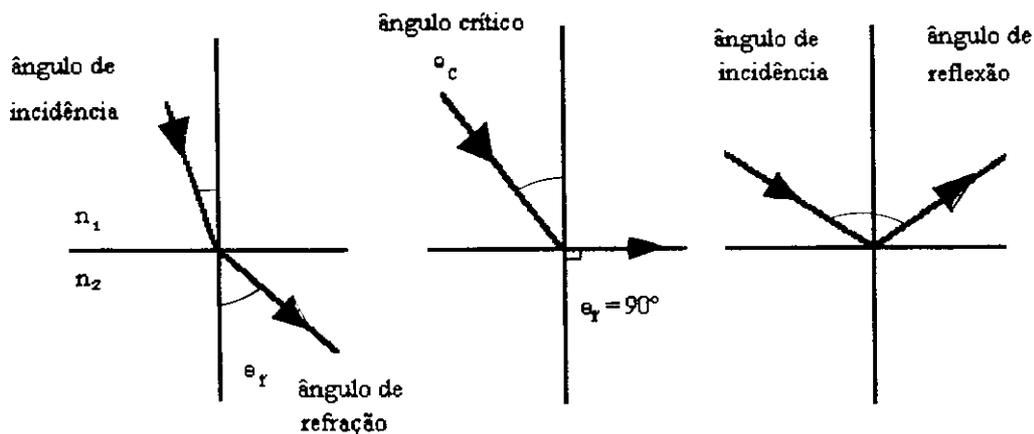


Figura 1-1 : Ilustração dos fenômenos de refração e reflexão (  $n_2 < n_1$  ).

Segundo a lei de Snell o ângulo crítico depende só dos índices de refração dos meios de propagação, ou seja :

$$n_1 \text{ sen } \theta_c = n_2 \text{ sen } \theta_R \quad (1-3)$$

Assim temos:

$$\text{sen } \theta_c = \frac{n_2}{n_1} \quad (1-4)$$

As fibras ópticas apresentam algumas propriedades importantes que são relatadas a seguir.

### 1.1.2.1 - Abertura Numérica

A abertura numérica é muito útil para medir a capacidade da fibra de captar e de transmitir a luz . É baseada num ângulo de incidência limite no qual os raios de luz podem ser transmitidos através do núcleo da fibra. Acima deste valor, os raios de luz não satisfazem as condições de reflexão interna total e, portanto, não são transmitidos. Esse ângulo, mostrado na Figura 1-2, é chamado de *ângulo de aceitação*,  $\theta$ ; é deduzido da lei de Snell, e está relacionado com a abertura numérica (AN), pela seguinte equação :

$$AN = n_0 \text{ sen } \theta = (n_1^2 - n_2^2)^{1/2} \quad (1-5)$$

onde  $n_0$  é o índice de refração do meio onde está a fibra ( geralmente, o ar, onde  $n_0 = 1$  ). O ângulo de aceitação determina o cone de aceitação da fibra óptica.

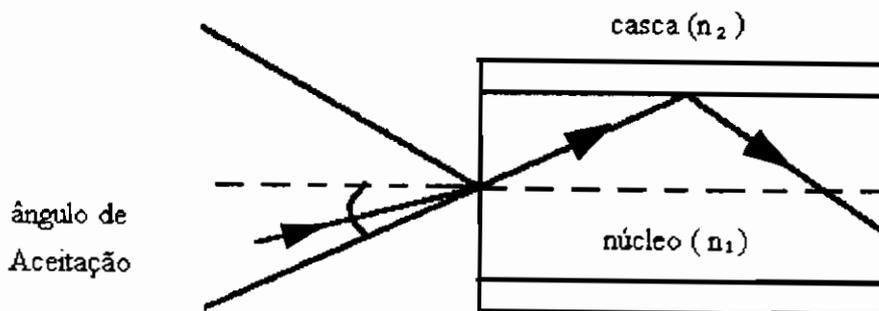


Figura 1-2 : Esquema do mecanismo de condução da luz pela fibra óptica, mostrando o ângulo de aceitação.

### 1.1.2.2. - Atenuação

A atenuação ( A ) indica a perda da potência óptica da fibra durante a transmissão da luz. Esta propriedade varia com o comprimento de onda da luz transmitida e é comumente expressa<sup>41</sup> em unidades de decibéis ( dB ) pela equação :

$$A = \frac{10}{L} \log \frac{P_s}{P_E} \quad (1-6)$$

onde L é o comprimento da fibra e P<sub>S</sub> e P<sub>E</sub> são as potências ópticas de saída e entrada, respectivamente.

As perdas ópticas são, geralmente, causadas por absorção e espalhamento de radiação, além de haver perdas devido a curvaturas, emendas e conexões entre segmentos de fibras com a fonte e com os fotodetectores.

### 1.1.2.3 - Classificação das fibras ópticas

As fibras podem ser classificadas por três critérios, tais como: o material usado na sua fabricação, o modo de propagação da luz e o perfil do índice de refração.

O primeiro critério é com base no material usado na fabricação e por este as fibras podem ser: totalmente de plástico ( núcleo e casca de plástico); totalmente de vidro ( núcleo e casca de vidro ou sílica ); e mista ( com núcleo de vidro e casca de plástico).

O segundo é com base no modo de propagação da luz dentro da fibra e por este critério as fibras podem ser: *Monomodo*, onde temos apenas um modo de propagação. Estas fibras apresentam um núcleo com diâmetro muito pequeno e casca com diâmetro suficientemente grande para fornecer dureza mecânica à fibra. *Multimodo*, onde temos mais de um modo de propagação; nestas fibras os núcleos apresentam dimensões maiores.

O terceiro é com base no perfil do índice de refração e por este critério as fibras podem ser: *índice degrau*, onde existe uma variação abrupta entre os valores dos índices de refração do núcleo e da casca; estas fibras são as mais usadas em sensores devido a facilidade de sua fabricação, ou de *índice gradual*, onde a variação entre os valores dos índices de refração do núcleo e da casca é gradual.

### 1.1.3 - Classificação dos SQFO

Existem dois tipos de SQFO, que são os sensores extrínsecos e os intrínsecos.

#### 1.1.3.1 - Sensores Extrínsecos

Nos sensores extrínsecos, a fase sensora está posicionada na extremidade de um arranjo de fibras ópticas, e estas servem apenas para conduzir a luz da fonte até a fase sensora e, então, retornar com o sinal até o detector. Considerando que a fibra óptica serve apenas como guia de luz, nestes sensores, os principais parâmetros a serem considerados são eficiência do transporte e o cone de aceitação da luz.

Os sensores extrínsecos são os mais comuns devido a maior facilidade de construção, sendo muito utilizados.

Existem vários arranjos de fibras ópticas, que podem ser usados nos sensores extrínsecos. Um desses arranjos é o que utiliza uma única fibra, ( Figura 1-3.A ). Neste caso a luz é fornecida e recolhida por uma só fibra, sendo que a separação da luz é efetuada com a ajuda de um divisor de feixe.

Outro arranjo, ( Figura 1-3.B ), é o que utiliza um feixe bifurcado de fibras ópticas. Nesta configuração o feixe de fibra óptica é composto de duas partes. Uma parte bifurcada onde existem dois feixes de fibras ópticas independentes, que fazem com que a luz incidente e a luz modificada viagem em feixes diferentes. A outra parte é formada por um feixe comum, onde as fibras ligadas à fonte e as ligadas ao detector estão distribuídas aleatoriamente.

Um outro arranjo, ( Figura 1-3.C ), é o que utiliza dois cabos de fibra óptica, sendo que a luz da fonte e a modificada na fase sensora viajam ao longo de fibras diferentes. Neste caso, o cone de aceitação das fibras ópticas tem que coincidir e envolver toda a fase sensora. Esta coincidência dos feixes depende do ângulo formado entre as duas fibras e da distância em que se encontra a fase sensora em relação à posição das fibras ópticas. Por exemplo, em artigo da literatura<sup>42</sup>, chegou-se a um ângulo de  $55^\circ$  entre as fibras com abertura numérica de 0,46 e distância de 0,5 mm da fase sensora ao arranjo de fibras. Como cada tipo de fibra óptica tem um valor de abertura numérica, que define o cone de aceitação, e, portanto, o ângulo formado entre as fibras também varia, devendo ser determinado experimentalmente.

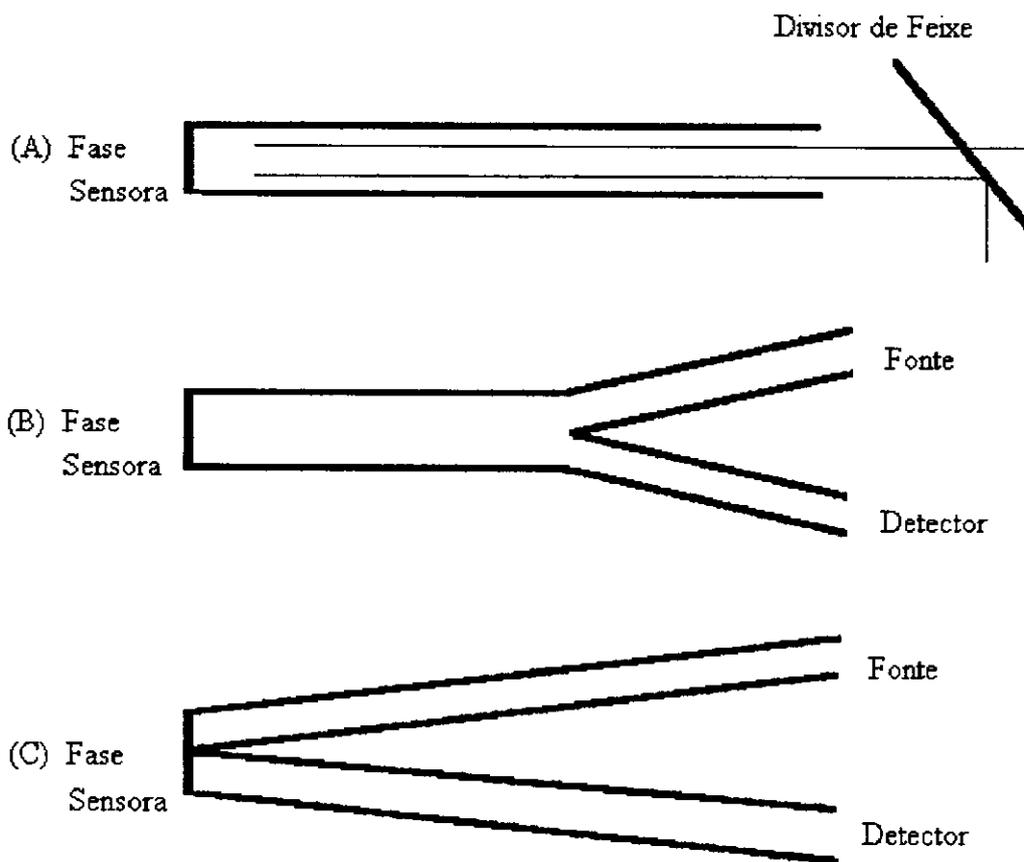


Figura 1-3 : Arranjos de fibras ópticas usados nos sensores extrínsecos. ( A ) Fibra única; ( B ) Feixe bifurcado; ( C ) Dois cabos de fibra óptica.

### 1.1.3.2 - Sensores Intrínsecos

Nos sensores intrínsecos, a fase sensora está localizada no corpo da fibra óptica e causa uma modificação nas propriedades de transmissão da luz, em decorrência da interação com o analito. Por esta razão, a fibra funciona como o elemento ativo do sensor, onde o analito a ser medido afeta as características da fibra óptica. O pré-requisito para a construção deste tipo de sensor é que a fibra esteja em contato direto com a amostra.

Os sensores intrínsecos podem ser do tipo<sup>43</sup> interferométrico, ou usar o reagente no núcleo ou, então, na casca da fibra óptica. Neste último caso os sensores são baseados no fenômeno da *onda evanescente*<sup>23</sup>. Quando a luz é propagada através da fibra, em cada reflexão interna total, a interferência entre o modo incidente e o raio totalmente refletido cria uma onda constante, não propagante, perpendicular à superfície de reflexão. Esta onda harmônica penetra uma pequena distância dentro do meio circulante e é chamada de onda evanescente.

Além dos sensores intrínsecos e extrínsecos, alguns autores<sup>18,44</sup> consideram também como SQFO os sistemas analíticos que possuem apenas as fibras ópticas e não incluem um reagente imobilizado ( fase sensora ). Entretanto, outros autores<sup>5,7</sup> preferem chamar este arranjo de espectroscopia remota, não o incluindo no grupo dos SQFO.

### 1.1.4 - Princípios Ópticos Usados nos SQFO

O monitoramento óptico de espécies químicas é baseado nas suas interações com a luz. Nos sensores químicos de fibra óptica, as técnicas mais comumente empregadas para medidas são: absorção, emissão, reflectância e espalhamento de luz.

#### 1.1.4.1 - SQFO Baseados em Absorvância

Estes sensores possuem uma fase sensora, que ao ser imersa numa solução contendo o analito sofre uma mudança no seu espectro de absorvância. Esta mudança é usada para se determinar quantitativamente o analito. O princípio óptico usado neste tipo de sensor é baseado no fato de que quando um raio de luz atravessa a fase

sensora ocorre absorção de energia. Esta absorção promove uma diminuição da intensidade da radiação incidente que passa através da fase sensora. O decréscimo na intensidade da luz é determinado pela concentração,  $C$ , das espécies na trajetória,  $L$ , do raio de luz, segundo a equação de Lambert-Beer<sup>45</sup>

$$A = E L C \quad (1-7)$$

onde  $A$  é a absorvância e  $E$  é a absortividade molar.

#### 1.1.4.2 - SQFO Baseados em Fluorescência<sup>46-49</sup>

Estes sensores possuem uma fase sensora fluorescente, que absorve luz num determinado comprimento de onda, passando para um estado excitado. Ao retornar ao estado de menor energia emite uma radiação num comprimento de onda específico. A intensidade desta luz detectada está relacionada à quantidade fluorescente do indicador, e que por sua vez está relacionada à concentração do analito na solução testada.

#### 1.1.4.3 - SQFO Baseados em Reflectância<sup>50-52</sup>

A reflexão pode ocorrer por dois processos diferentes: *reflexão especular* e a *reflectância difusa*.

A reflexão especular surge na interface de um meio com superfície polida ( do tipo espelho) e onde não há transmissão.

A reflectância difusa ocorre em superfícies não polidas e granulares. Ela é consequência do reaparecimento de uma luz incidente, após sofrer absorção parcial e espalhamento múltiplo dentro da fase sensora.

Do ponto de vista analítico, a reflectometria baseia-se na reflectância difusa, sendo a reflectância especular considerada como interferência. Vários autores<sup>53-55</sup> têm estudado os princípios e as técnicas das medidas quantitativas de reflectância difusa.

Vários modelos teóricos<sup>56-57</sup> têm sido propostos para relacionar a reflectância difusa com a concentração do analito. As teorias mais usadas são a de *Kubelka-Munk*, de *Rozemberg* e de *Pitts-Giovanelli*. Para sistemas semelhantes às fases sensoras usadas em muitos SQFO, a teoria de Kubelka-Munk foi considerada a melhor<sup>58</sup>.

### 1.1.4.3.1 - Teoria de Kubelka-Munk

O modelo de Kubelka-Munk é algumas vezes chamado<sup>59</sup> de " a lei de Lambert-Beer da espectroscopia de reflectância ". A função de Kubelka-Munk,  $F(R)$ , é dada pela equação:

$$F(R) = \frac{(1 - R)^2}{2R} = \frac{E}{S} C \quad (1-8)$$

onde  $E$  é a absorvidade molar,  $S$  é o coeficiente de espalhamento,  $C$  é a concentração e  $R$  representa a reflectância absoluta de uma camada infinitamente espessa da amostra. Experimentalmente, a medida destes valores absolutos de reflectância exige a comparação com substâncias padrão ( por exemplo,  $MgO$  ou  $BaSO_4$  )<sup>60</sup>.

Para calcular a reflectância absoluta usa-se a equação<sup>61</sup> :

$$R = R_1 R_2 y \quad (1-9)$$

onde  $R_1$  é o valor experimental da reflectância do sistema ( reagente mais suporte ) em relação à reflectância do suporte;  $R_2$  é o valor experimental da reflectância do suporte relativo ao padrão; e  $y$  é o valor da reflectância absoluta do padrão. Todos estes valores devem ser obtidos no mesmo comprimento de onda.

Como o interesse é apenas em relação à reflectância do reagente com o analito,  $F(R_{reag})$ , devemos eliminar a contribuição do suporte, usando a equação:

$$F(R_{reag}) = F(R_1 R_2 y) - F(R_2 y) \quad (1-10)$$

A relação entre a função de Kubelka-Munk com a concentração é dada pela equação ( 1-8), ou seja:

$$F(R_{reag}) = K C \quad (1-11)$$

Onde  $K$  é uma constante que depende do coeficiente de espalhamento e da absorvidade molar.

#### 1.1.4.3.2 - Procedimentos Empíricos para a Reflectância Difusa

Estes modelos empíricos são usados devido a dificuldade experimental de relacionar as medidas feitas pelo optodo com um padrão de reflectância absoluta. Os principais procedimentos empíricos consistem em se calcular a reflectância normalizada ou a reflectância relativa.

A reflectância normalizada,  $R_N$ , é definida pela equação<sup>62</sup> :

$$R_N = \frac{R_e - R_{\min}}{R_{\max} - R_{\min}} \quad (1-12)$$

Onde  $R_e$  é a reflectância experimental, isto é, o sinal de resposta do sensor e  $R_{\min}$  e  $R_{\max}$  representam o limite mínimo e máximo de  $R_e$ , respectivamente. A apresentação de curvas analíticas desta maneira é bastante comum<sup>16,17,34,63</sup>.

A reflectância relativa<sup>28</sup> é o sinal analítico obtido como a diferença ( em unidades arbitrárias ) entre a reflectância produzida pela espécie que se quer determinar e aquela do composto antes da reação. A reflectância relativa também se refere à diferença entre a reflectância produzida pela espécie que se quer determinar e aquela devido ao suporte sozinho<sup>34</sup>.

#### 1.1.5 - Vantagens e Limitações dos SQFO<sup>64</sup>

Em comparação com outros tipos de sensores, os SQFO apresentam as seguintes vantagens: imunidade a interferência elétrica e eletromagnética, possibilidade de medidas à distância ( remotamente ), facilidade para miniaturização, resistência à corrosão, possibilidade de várias determinações simultâneas e dispensa de sinal de referência.

Existem, também, algumas desvantagens no uso desses sensores, devendo-se citar que a luz ambiente pode interferir, a vida útil do sensor pode ser pequena, o tempo de resposta pode ser longo e certos sensores apresentam linearidade limitada.

### 1.1.6 - Aplicações dos SQFO

Em decorrência de suas características favoráveis, os SQFO têm encontrado usos em várias áreas, incluindo:

a) Análises Biomédicas<sup>65-67</sup> : Optodos para espécies químicas presentes no sangue, por exemplo, têm sido usados *in vivo* para monitoramento contínuo de pacientes em estado grave e usados *in vitro* para testar amostras de sangue.

b) Monitoramento Ambiental<sup>68-70</sup> : tem-se demonstrado, por exemplo, o uso de SQFO na determinação de metais pesados<sup>63</sup>, hidrocarbonetos poliaromáticos<sup>71</sup>, monóxido de carbono<sup>42</sup> e óxidos de nitrogênio<sup>70</sup>.

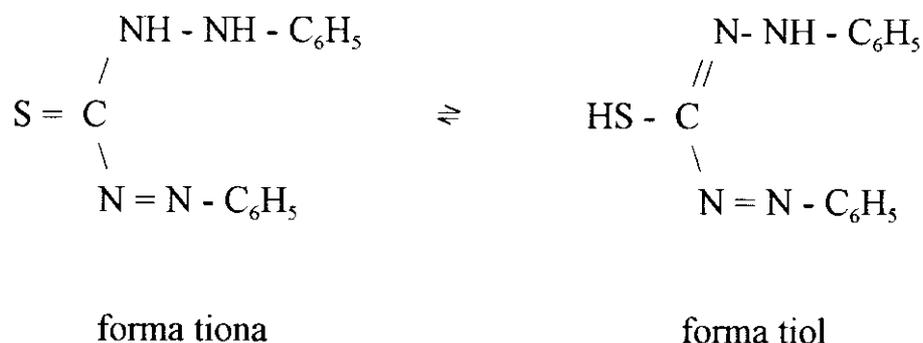
c) Controle de Processos Industriais<sup>72,73</sup> : há especial interesse no uso de SQFO em processos industriais envolvendo periculosidade como, por exemplo, em usinas nucleares<sup>74</sup>.

## **1.2 - Ditizona**

Difeniltiocarbazona, mais comumente conhecida como ditizona<sup>75-78</sup>, é um reagente notável para muitos metais. Ela foi primeiramente preparada por Emil Fischer, que notou sua reação com metais dando produtos coloridos. Curiosamente, ela não despertou atenção dos químicos analíticos e só foi usada 50 anos depois, quando Hellmut Fischer mostrou seu grande valor para a detecção e determinação de traços de metais pesados. É, provavelmente, o reagente espectrofotométrico mais conhecido para separação e determinação de chumbo, mas é útil também para Zn, Cd, Hg, Cu, Ag e outros metais.

A ditizona é essencialmente insolúvel em água. Ela dissolve-se em vários solventes orgânicos. Soluções de ditizona em solventes orgânicos são verdes, mas a coloração varia mais ou menos de um solvente para outro. Clorofórmio e tetracloreto de carbono são os solventes comumente usados na determinação fotométrica e para separação de metais, usando ditizona.

Os espectros de absorvância versus comprimento de onda de ditizona em solventes orgânicos mostram dois picos, cujas alturas relativas variam de um solvente para o outro. Os dois picos são creditados à existência de duas formas de ditizona no equilíbrio tautomérico :



Ditizona é um ácido dibásico, porém a segunda dissociação é tão pequena que ela não foi ainda determinada com exatidão. Observando-se a curva de absorvância da ditizona em solução de hidróxido de sódio 1,5 mol/L notou-se que esta não é significativamente diferente da de uma solução de ditizona em NaOH 0,1 mol/L; a conclusão<sup>76</sup> foi que o valor da segunda constante de dissociação, provavelmente, deve ser menor que  $10^{-15}$ , não sendo considerada por muitos autores. Assim a dissociação da ditizona,  $\text{H}_2\text{Dz}$ , pode ser representada pela seguinte equação:



Em soluções aquosas de uma dada força iônica, a primeira constante de ionização é dada pela equação :

$$K_d = \frac{[\text{H}^+][\text{HDz}^-]}{[\text{H}_2\text{Dz}]} \quad (1-15)$$

Como é usual<sup>79</sup>, lidando-se com soluções fracamente ácidas ou básicas, a atividade do íon hidrogênio,  $a_{H^+}$ , é usada em lugar de  $[H^+]$ . Assim,

$$K_d = \frac{(a_{H^+}) [HDz \cdot]}{[H_2Dz]} \quad (1-16)$$

O valor de  $K_d$  determinado por Sandell<sup>80</sup> para força iônica de 0,1 mol/L e temperatura de 25°C foi de  $1,5 \times 10^{-5}$  mol/L.

Quando levada para medida, exposta à luz, soluções de ditizona em solventes orgânicos deterioram-se mais ou menos rapidamente; a cor inicial verde passa a amarelo. Este fato adverso torna-se menos destrutivo e pode ser minimizado pela atenção especial na purificação dos solventes e condições de armazenamento (guardar no escuro e em baixa temperatura).

O reagente é sujeito, também, a oxidação pelo ar, por produtos formados pela fotodecomposição de solventes orgânicos e por oxidantes presentes na solução. Vários produtos de oxidação da ditizona podem ser formados, muitos dos quais são amarelos em soluções diluídas. Na prática analítica, a maior preocupação são oxidantes presente nas amostras. A adição de um agente redutor ajuda na remoção de agentes oxidantes. Dois importantes produtos de oxidação são o dissulfeto e um composto meso-iônico<sup>76</sup>.

### 1.2.1 - Ditizonatos Metálicos

A ditizona contém dois átomos de hidrogênio ativos, cada um dos quais pode ser trocado por um metal equivalente. Quando um hidrogênio da molécula de ditizona é trocado, um *ditizonato primário* é formado; quando ambos são trocados, um *ditizonato secundário* é formado. Todas as reações metal-ditizona formam ditizonatos primários, mas nem todas formam ditizonatos secundários.

Os ditizonatos primários possuem grande significado analítico. Estes são mais estáveis que os secundários e são também mais solúveis em solventes orgânicos. Devido à baixa constante de dissociação do segundo próton da ditizona, os ditizonatos secundários são desprezados do ponto de vista analítico.

A reação de formação de um ditizonato primário pode ser representada conforme abaixo:





## **1.3 - Metais Pesados**

A expressão " *metal pesado* " é pouco precisa. Estes metais podem ser definidos<sup>83</sup> como sendo aqueles com densidade específica maior que cinco. Incluídos nesta classificação estão metais essenciais a plantas e animais ( Fe, Mn, Cu, Zn, Mo e Co ) em níveis de micronutrientes ou traços, e também metais que não são considerados essenciais ( Cd, Hg, Pb ). Sob ponto de vista ambiental, os metais pesados têm sido conceituados<sup>84</sup> como sendo elementos que se situam mais para o fim da tabela periódica, e que produzem efeitos tóxicos por meio de uma imitação química de metais essenciais mais leves e/ou através de forte afinidade química por grupos tiois ( R - SH ).

Os metais pesados são considerados altamente tóxicos<sup>85</sup> e, como um grupo, têm sido colocados entre os principais responsáveis por poluição causadora de doenças e a morte de pessoas<sup>86</sup>. Os metais pesados relacionados pela Agência de Proteção Ambiental ( EPA ) dos Estados Unidos como principais poluentes<sup>87</sup> são: arsênio, cádmio, cromo, cobre, chumbo, mercúrio, níquel e zinco. Embora a poluição causada por elementos como arsênio, berílio, cromo e antimônio seja importante, acredita-se<sup>84</sup> que os metais pesados que mais preocupam como poluidores do ambiente são : Pb, Hg e Cd. Destes três, o chumbo parece representar maior perigo, isto porque, o Pb contaminou praticamente toda biosfera e é o poluente que tem se acumulado no homem em níveis mais próximos àqueles que podem produzir efeitos tóxicos.

O cádmio é certamente um perigoso poluente e constitui-se um problema para a qualidade da água, exigindo prioridade nos estudos ambientais devido às suas características de bioacumulação, persistência no meio ambiente, alta toxidez e principalmente devido ao pequeno conhecimento de seus mecanismos de reação.

O potencial tóxico do cádmio<sup>88</sup> ficou conhecido e passou a receber especial atenção somente a partir dos anos 50, devido à poluição das águas do Rio Jinzu, no Japão. As águas recebiam os rejeitos da mineração de zinco e chumbo e também a deposição atmosférica de fumos e material particulado contendo cádmio, produzidos na fundição de minérios. A utilização desta água para o abastecimento da população e irrigação das plantações de arroz resultou na intoxicação pelo metal, a qual foi chamada pelos japoneses de doença " itai - itai ".

### **1.3.1 - A Contaminação Causada pelo Mercúrio**

O uso do mercúrio<sup>89</sup> é um dos exemplos mais representativos do que o homem pode causar aos ciclos naturais. O primeiro desastre ambiental de repercussão mundial causado por contaminação por mercúrio aconteceu em 1953, na Baía de

Minamata, sudoeste do Japão. Os indivíduos daquela região foram progressivamente acometidos de enfraquecimento muscular, perda de visão, danos das funções cerebrais e paralisias eventuais que, em inúmeros casos, resultaram em coma e óbito. Esta doença ficou conhecida como " Doença de Minamata " e, somente em 1959, após muitos estudos, verificou-se que sua causa estava no consumo de peixes e crustáceos contaminados com metilmercúrio, oriundos de efluentes da indústria Chisso Co., fabricante de plásticos de P.V.C.

No ambiente, o mercúrio pode formar grupos de compostos denominados mercuriais orgânicos, dos quais o metilmercúrio é o mais tóxico como também o mais importante dos contaminantes ambientais. Em águas contaminadas, quase todo o mercúrio contido em peixes está na forma de metilmercúrio. Entretanto, para ser prejudicial à saúde humana, o mercúrio tem que ser primeiramente metilado, então bioconcentrado por organismos aquáticos que, por sua vez, serão consumidos pelo Homem.

Há evidências substanciais para a produção biológica e não-biológica de metilmercúrio. Em ambos os casos, este processo requer moléculas doadoras de grupos metila e de íons Hg (II), o que depende do pH e da presença de agentes complexantes orgânicos.

No Brasil, além das preocupações quanto ao seu emprego industrial, o aporte do mercúrio no ambiente, através do seu uso cada vez mais crescente e indiscriminado no processo de amalgamação com ouro nas áreas de garimpo, tem sido uma preocupação constante.

### 1.3.2 - *Determinação e Controle da Concentração de Metais Pesados*

Por causa da elevada toxicidade dos metais pesados, e do perigo que eles representam para o meio ambiente, existe grande necessidade de determinação e controle da concentração desses metais.

Para a determinação de metais pesados em amostras ambientais existem métodos bem estabelecidos<sup>90,91</sup>, os quais se baseiam, entre outras técnicas, em espectrofotometria de absorção atômica. No passado, o método de extração por solventes<sup>92</sup>, usando ditizona, foi bastante usado. Neste caso, para melhorar a seletividade das extrações controla-se o pH e adiciona-se agentes mascarantes para complexar com outros metais interferentes.

Entretanto, em certas circunstâncias é desejável que a análise seja feita no próprio local de amostragem, ou seja realizada remotamente e com acompanhamento constante. Os sensores químicos de fibra óptica têm o potencial para este tipo de análise. Por esta razão, têm sido desenvolvidos optodos para a determinação de metais pesados. Estes sensores são baseados na imobilização de alaranjado de

xilenol<sup>63,93</sup>, sulfonato de quinolina<sup>33</sup> e em fases sensoras com membranas de cloreto de polivinil<sup>94,95</sup>.

## **1.4 - Objetivos**

O presente trabalho teve como objetivo dar continuidade a pesquisas anteriores<sup>96,97</sup>, relacionadas ao desenvolvimento de SQFO, usando ditizona imobilizada, para a determinação de metais pesados. No presente trabalho, porém, o propósito foi focalizar mais de perto questões de natureza fundamental, bem como investigar possibilidades e alternativas analíticas para a determinação de metais pesados usando-se os sensores químicos de fibra óptica.

## PARTE EXPERIMENTAL

### 2.1 - Instrumentação

A Figura 2.1 indica o conjunto da instrumentação montada para os trabalhos realizados. A fonte de luz ( Oriel, mod. 60000 ) funciona com lâmpada halogenada de filamento de tungstênio, de 12V e 50W; possui lente colimadora e recebe energia de fonte estabilizada. O chopper óptico ( Oriel, mod. 75155 ) opera com controlador de frequência. O monocromador ( McPherson, mod. 275 ) possui distância focal de 0,2 m e controlador de varredura. Na fenda de saída do monocromador está instalado um adaptador com lente focalizadora, que introduz a luz dentro da fibra óptica. O tubo fotomultiplicador, de janela lateral ( Hamamatsu, R 106 ) é alimentado por fonte estabilizada, de alta tensão ( Ealing Eletro-Optics, mod. 27-5537 ). O pré-amplificador de corrente ( mod. SR 552 ) e o amplificador Lock-in ( mod. SR 510 ) são de fabricação da Stanford Research Systems. O registrador potenciômetro é ECB mod. 101.

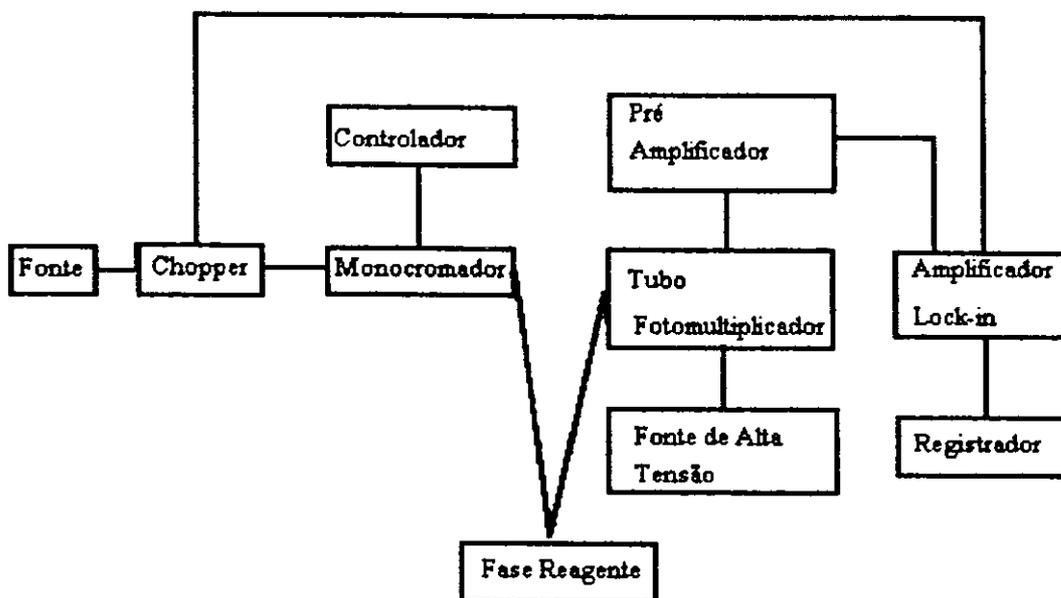


Figura 2-1 : Representação esquemática da instrumentação usada.

Outros equipamentos foram utilizados neste trabalho e são listados abaixo:

- . Balança analítica - Mettler AE 200
- . Eletrodo de vidro combinado - Micronal
- . pHmêtro - Micronal B-374
- . Espectrofotômetro de reflectância difusa - Macbeth, mod. 2020PL
- . Espectrofotômetro ultravioleta-visível Hewlett Packard 8452A
- . Microscópio óptico - Olympus, mod. CBA-K
- . Agitador magnético - Fisaton
- . Bomba peristáltica DP2-2 - MLW

## **2.2 - Reagentes e Soluções**

Todas as experiências foram realizadas com reagentes de grau analítico. As soluções aquosas foram preparadas em água destilada e deionizada.

A solução padrão de Hg ( II ) 0,0100 mol/L foi preparada dissolvendo-se 0,6780g do sal anidro  $\text{HgCl}_2$  ( Fischer ) em 250 mL de ácido sulfúrico ( Carlo Erba ) 0,5 mol/L. As soluções de trabalho de mercúrio foram preparadas por diluição da solução estoque, usando pipetas volumétricas. As soluções de zinco ( II ) 0,100 mol/L foram preparadas dissolvendo-se 7,437 g de nitrato de zinco ( Synth ) em 250 mL de solução tampão pH = 9,0 , preparado com hidróxido de amônio e cloreto de amônio. As soluções de chumbo ( II ) 0,100 mol/L foram preparadas dissolvendo-se 8,28 g de nitrato de chumbo ( Synth ) em 250 mL de solução tampão pH = 9,0. As soluções de cádmio ( II ) 0,100 mol/L foram preparadas dissolvendo-se 19,24 g de sulfato de cádmio ( Vetec ) em 250 mL de tampão pH = 9,0.

A solução de ditizona  $3,1 \times 10^{-4}$  mol/L foi preparada dissolvendo-se 2,0 mg de ditizona em 25 mL de metanol e armazenada no escuro e na geladeira.

## **2.3 - Procedimentos Analíticos**

A imobilização da ditizona seguiu os seguintes passos: inicialmente tivemos a preparação da resina Amberlite XAD-4 , que consistiu em lavá-la três vezes com metanol, depois com ácido clorídrico 0,1 mol/L e depois com água deionizada e, posteriormente, seca em estufa a 80°C por uma hora. A imobilização da ditizona foi feita colocando-se em um béquer ( 50 mL ) 20 mg de XAD-4 e 5 mL da solução de ditizona em metanol (  $3,1 \times 10^{-4}$  mol/L ) em agitação constante por 30 minutos, no escuro.

Os procedimentos usados para as diferentes estratégias de determinação analítica são descritos nos capítulos que abordam essas técnicas.

## **ESTUDOS PRELIMINARES**

As experiências realizadas no início deste trabalho apontaram para a conveniência de se efetuar estudos preliminares, em complementação ao trabalho anterior<sup>96</sup>. Estes estudos incluíram a avaliação da pureza da ditizona, a otimização do procedimento de imobilização e a resolução do problema da fotodecomposição da ditizona.

### **3.1 - Avaliação da Pureza da Ditizona**

Três frascos de ditizona, com procedência e tempos de armazenamento diferentes, foram obtidos para o presente trabalho. Com o propósito de usar o reagente de melhor qualidade, determinou-se a pureza relativa da ditizona contida em cada frasco. Usou-se o procedimento espectrofotométrico descrito por King e Pruden<sup>98</sup>, o qual consiste em se determinar a absorvidade molar de ditizona, em solução de tetracloreto de carbono.

A Figura 3-1 mostra o espectro de ditizona de  $\text{CCl}_4$ , indicando um máximo de absorvância no comprimento de onda de 620 nm, o qual foi usado para as determinações da absorvância molar ( $E_{620}$ ). Os resultados obtidos para os três frascos de ditizona são mostrados na Tabela 3-1.

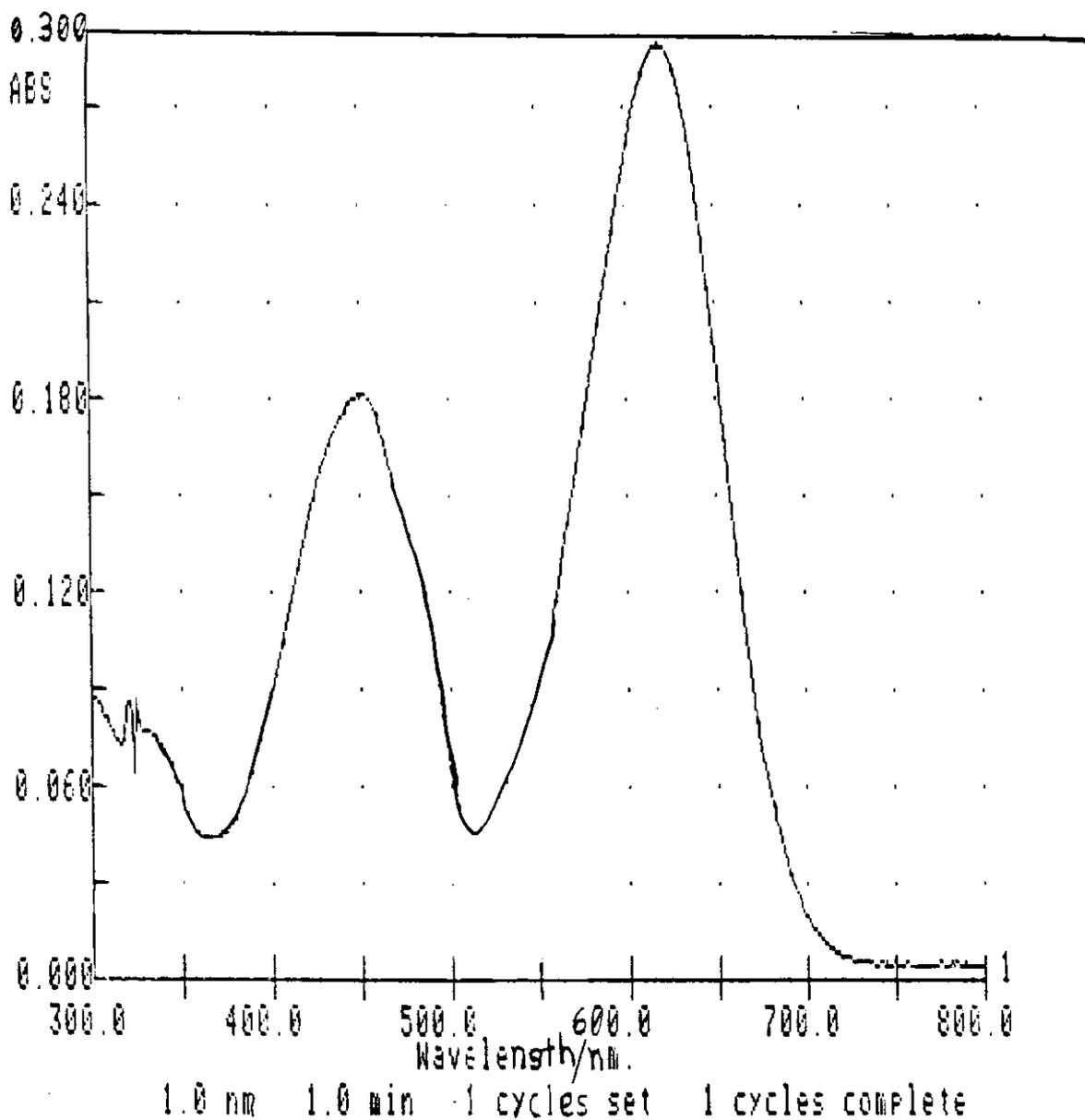


Figura 3-1: Espectro da ditizona ( amostra B ) em  $\text{CCl}_4$ .

Tabela 3-1 : Valores de  $E_{620}$  obtidos para as amostras de ditizona

Amostra	Procedência	$E_{620}$ ( $10^{-4}$ mol L <sup>-1</sup> cm )
A	Aldrich 19,483-2	2,26
B	Merck 205,066	3,08
C	Merck 208,066	2,22

Sandell e Onishi<sup>99</sup> apresentam a compilação de 12 valores de  $E_{620}$  relatados na literatura. Estes valores variam de  $3,04 \times 10^4$  a  $3,64 \times 10^4$  com média de  $3,25 \times 10^4$  L mol<sup>-1</sup> cm<sup>-1</sup>. Observando-se os resultados mostrados na Tabela 3-1, foi possível concluir que a amostra " B " possuía maior pureza e foi escolhida para uso no presente trabalho.

### **3.2 - Imobilização da Ditizona**

A imobilização da ditizona na resina Amberlite XAD-4 ocorre por adsorção, além do que a sua baixa solubilidade em água contribui para tornar a imobilização praticamente permanente.

As condições de imobilização da ditizona, estabelecidas na literatura<sup>96</sup>, usam tempo de imobilização igual a 60 minutos, solução saturada de ditizona e partículas de resina ( XAD-4 ) menores que 70  $\mu$ m.

No presente trabalho procurou-se adequar estas condições às nossas necessidades. Como as partículas de XAD-4 com diâmetro inferior a 70  $\mu$ m impõem uma alta resistência ao fluxo das soluções na cela de reação, dificultando as análises, decidiu-se, por esta razão , usar partículas de XAD-4 com diâmetro entre 250 - 350  $\mu$ m.

No procedimento descrito na literatura, a imobilização foi feita sem agitação. Por esta razão, procurou-se avaliar se a distribuição da ditizona na superfície da resina seria mais uniforme com a agitação. Comparou-se a imobilização com agitação e sem agitação, através da observação dos grânulos da resina, após a imobilização, no microscópio óptico. Observou-se a formação de superfícies com aparência mais uniforme usando-se a agitação. Por esta razão, adotou-se o procedimento de imobilização descrito no item 2.3.

### 3.2.1 - Determinação da Quantidade de Ditizona Imobilizada

Um dado importante para o presente trabalho foi conhecer a quantidade de ditizona imobilizada por grama de resina XAD-4. Este dado foi obtido dissolvendo-se a ditizona previamente imobilizada em 40mg de resina usando-se clorofórmio, por ser este o solvente orgânico que melhor dissolve a ditizona, e determinando-se sua concentração espectrofotometricamente.

A determinação desta concentração foi realizada usando-se a Lei de Beer<sup>45</sup>. Preparou-se soluções padrão de ditizona em clorofórmio para se obter uma curva de calibração e assim poder determinar a concentração da ditizona imobilizada.

Obteve-se como resultado que 10  $\mu\text{mol}$  de ditizona estão imobilizadas por 1,0g da resina ( XAD-4 ). Este valor é concordante com o valor encontrado na literatura<sup>96</sup>.

### 3.3 - Fotodecomposição da Ditizona

As primeiras medidas com ditizona imobilizada foram feitas na cela de fluxo, cujo esquema está mostrado na Figura 3-2. Esta cela é semelhante à usada no trabalho anterior<sup>96</sup>, porém é construída com dois cabos de fibra óptica, ao invés de um único feixe de fibras perpendicular ao fluxo.

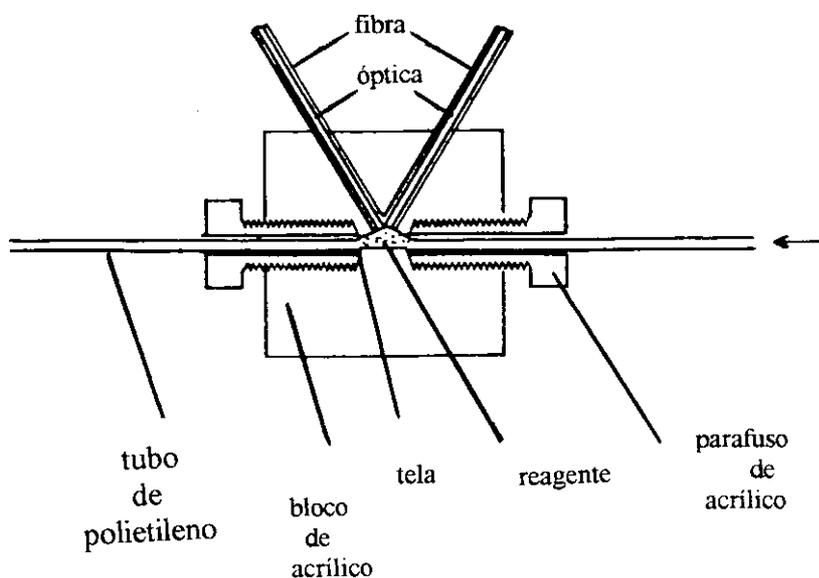


Figura 3-2: Representação esquemática da cela de fluxo.

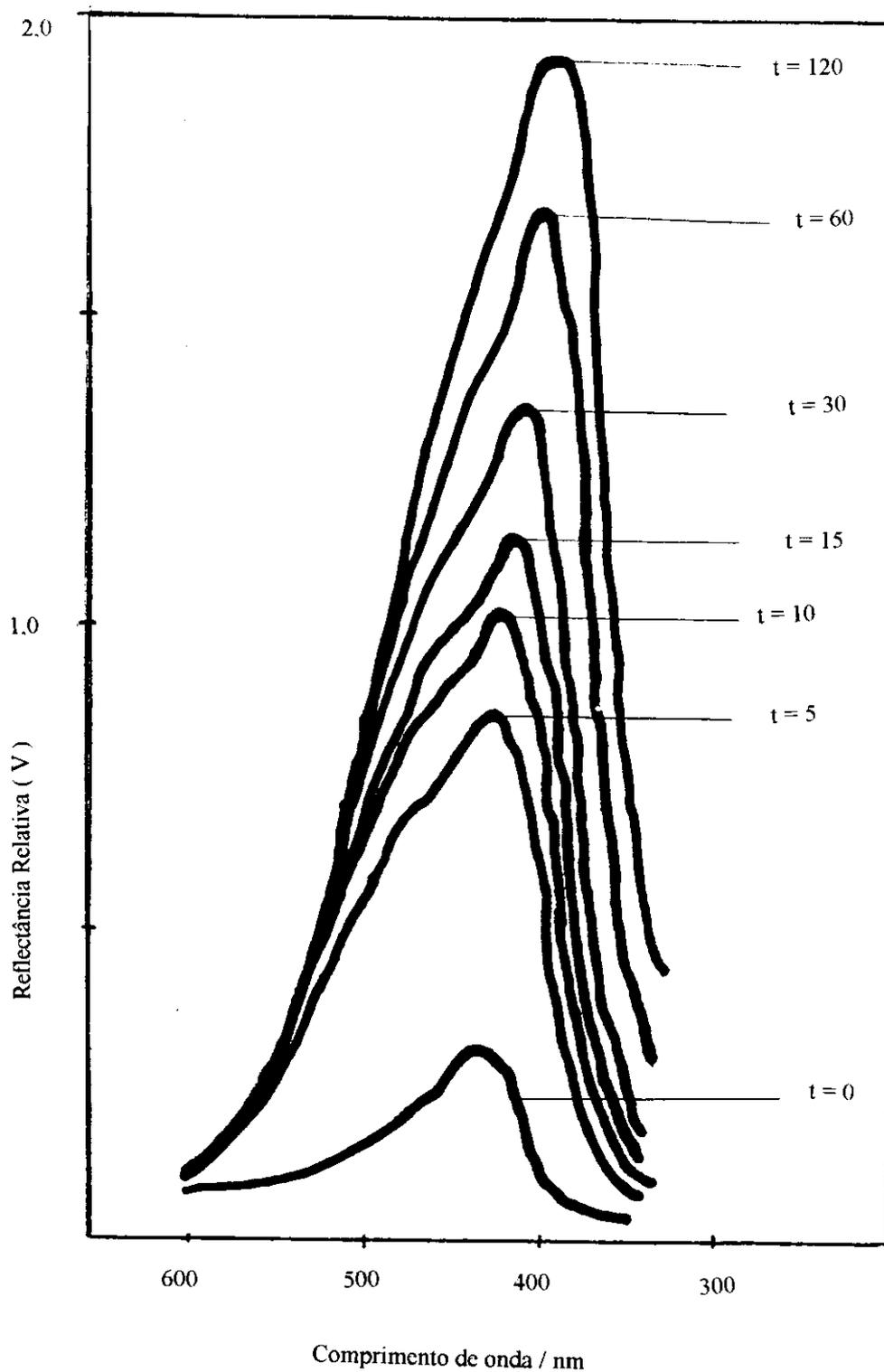


Figura 3-3: Espectros de reflectância difusa obtidos com ditizona imobilizada, colocada na cela de fluxo. Intervalos de tempo, em minutos, indicados na Figura.

Logo nas primeiras experiências observou-se que a ditizona imobilizada era suscetível a decomposição causada pela luz da lâmpada de quartzo-halogênio. Este fato foi comprovado registrando-se o espectro da ditizona, em  $\text{H}_2\text{SO}_4$  0,5 mol/L, em intervalos de tempo, mantendo os outros parâmetros experimentais constantes. A Figura 3-3 mostra que a reflectância aumentava com tempo. Isto foi em decorrência de uma mudança de coloração da fase imobilizada ( de verde para amarelo-cinza ), o que foi interpretado como fotodecomposição.

A sensibilidade de solução de ditizona à luz tem sido frequentemente mencionada<sup>75,100</sup>. Meriwether e outros<sup>101</sup>, por exemplo, observaram que em soluções de benzeno a decomposição é rápida com radiação de baixo comprimento de onda, mas com luz acima de 400 nm não existia decomposição. Em nossa experiência, entretanto, observou-se que mesmo a luz com comprimento de onda acima de 400 nm ainda causava fotodecomposição significativa. Aparentemente, a adsorção de ditizona na superfície da resina XAD-4 ( um copolímero de estireno e divinilbenzeno) forma um ambiente mais susceptível à fotodecomposição do que o existente em solução.

Para controlar a fotodecomposição foi modificada a disposição do arranjo da instrumentação. Os vários módulos de instrumentos mostrados na Figura 2-1 constituem o conjunto de instrumentação tipicamente usado em estudos de sensores químicos de fibra óptica. Para medidas de reflectância, a sequência de instrumentos normalmente adotada não é como está na Figura 2-1, mas consiste em colocar o monocromador logo após a cela de fluxo e o tubo fotomultiplicador instalado na fenda de saída do monocromador. Colocado deste modo, o tubo fotomultiplicador fica mais protegido, pois ele pode ser danificado se for acidentalmente exposto a elevada intensidade de luz. Por esta razão, este arranjo foi usado nas experiências iniciais deste trabalho, incluindo-se os experimentos de fotodecomposição.

Avaliou-se que o arranjo da instrumentação que coloca o monocromador após a cela de fluxo, expõe a ditizona à radiação policromática e intensa, diretamente da fonte. Modificando-se a sequência dos instrumentos ( para ficar como está na Figura 2-1 ), colocando-se o monocromador antes da cela de fluxo, de modo a fazer incidir sobre a ditizona apenas a radiação monocromática (com intensidade óptica muito menor ), os problemas de fotodecomposição foram contornados. Neste arranjo, o registro da linha de base, durante mais de uma hora, apresentou alteração desprezível, isto indica, também, que a decomposição da ditizona pela solução de  $\text{H}_2\text{SO}_4$  0,5 mol/L é desprezível.

## **ESTUDOS SOBRE A INFLUÊNCIA DO pH NA FORMAÇÃO DOS DITIZONATOS IMOBILIZADOS**

É reconhecido que na formação de complexos entre íons metálicos e ligantes há dependência do pH, quando uma desprotonação do ligante está envolvida.

Conforme equação ( 1-14 ), a maior ou menor disponibilidade da espécie HDz para formar o ditizonato metálico depende da concentração hidrogeniônica e, portanto, do pH do meio onde ocorre a reação.

Para cada metal existe uma faixa de pH adequada, para ser usada na sua determinação. Por causa do importante papel que o pH representa, resolveu-se estudar sua influência sobre a formação de ditizonatos imobilizados.

Este estudo teve como propósito: ( a ) fornecer informações sobre a escolha do meio de reação para a determinação seletiva de íons metálicos e ( b ) possibilitar a investigação sobre a influência do pH sobre a faixa de concentração de funcionamento reversível do sensor.

### **4.1 - Desenvolvimento do Optodo**

Para realizar o estudo sobre a influência do pH seria desejável realizar os experimentos em condições de equilíbrio químico para permitir o cálculo de parâmetros termodinâmicos, tais como constantes de equilíbrio. Por esta razão, desenvolveu-se o optodo, esquematizado na Figura 4-1.

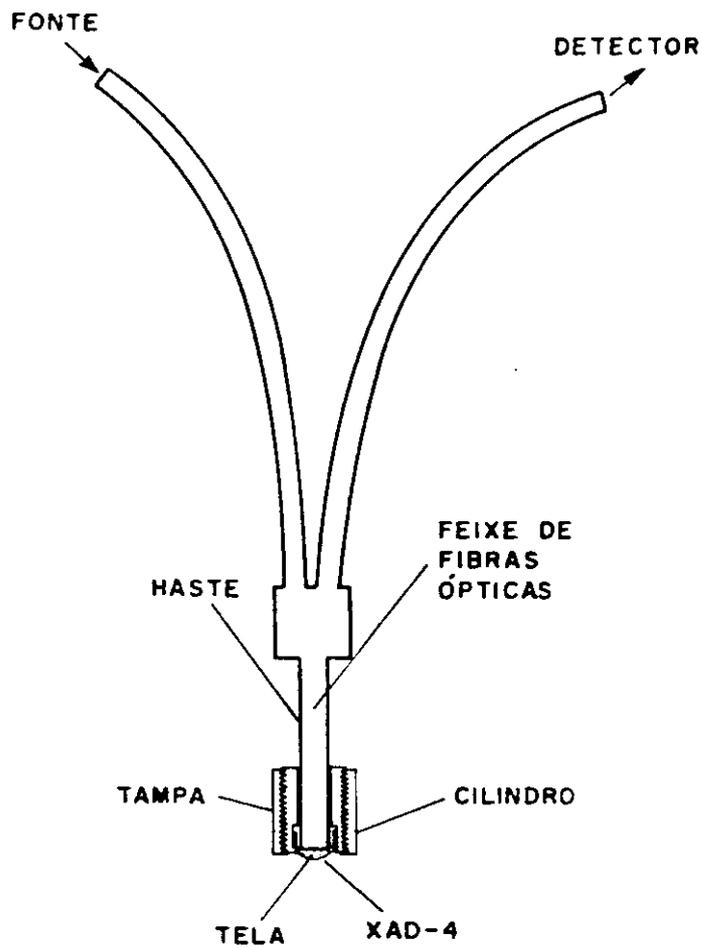


Figura 4-1 : Representação esquemática do optodo de ditizona sensível à concentração de íons metálicos.

O optodo foi construído usando-se um feixe bifurcado de fibras ópticas de borosilicato ( Reichenbach, São Paulo ). O feixe possui 3,0 mm de diâmetro ativo e sua extremidade comum é recoberta por um haste metálica, com 12 cm de comprimento. Os dois cabos do lado bifurcado possuem 70 cm de comprimento. Na extremidade da haste foi fixada uma tampa de teflon, com rosca, de diâmetro e comprimento iguais a 2,0 cm. Um pequeno cilindro de teflon, de 7,0 mm de comprimento, pode mover-se ao longo da haste e formar uma pequena cavidade para armazenar os grânulos de XAD-4, no momento da fixação destes sobre a face das fibras. Uma tela de Nylon, pressionada pela tampa, mantém fixos os grânulos de XAD-4.

## **4.2 - Procedimento**

As medidas para investigar o efeito do pH começaram por imobilizar a ditizona conforme item 2.3. Após a imobilização, preparou-se o ditizonato do  $M^{2-}$  (  $M = Zn, Cd$  e  $Pb$  ), colocando-se solução 0,10 mol/L do íon metálico (  $pH = 9,0$  ) em contato com a ditizona imobilizada, durante cerca de 10 minutos. A camada de grânulos da resina contendo o ditizonato imobilizado, foi colocada no optodo, sobre a face das fibras ópticas e fixada com a tela e a tampa. O optodo foi imerso em um béquer, contendo 100 mL de solução tampão  $NH_4Cl/ NH_3$  com pH aproximadamente igual a 9,0. A concentração do tampão foi escolhida de modo a fornecer força iônica total de 0,10 mol/L após a adição do ácido. Um eletrodo de vidro, ligado a um pHmetro, foi também colocado dentro do béquer, ao lado do optodo. Após o registro inicial dos valores de reflectância ( em comprimento de onda igual a 590 nm ) e do pH, gotas de HCl 0,10 mol/L foram adicionadas. Uma vez estabelecido o equilíbrio ( cerca de 20 minutos ) os novos valores de reflectância e pH foram registrados. Várias etapas de adição de ácido foram feitas de modo a cobrir toda a faixa de  $pH = 9,0$  a  $pH = 2,0$ . Durante todos os experimentos a solução foi agitada com uso do agitador magnético.

## **4.3 - Resultados da Influência do pH**

Os espectros dos três ditizonatos (  $Cd, Pb$  e  $Zn$  ) em  $pH = 9,0$  foram muito semelhantes apresentando bandas largas e dois picos, um de maior intensidade em 590 nm e outro de menor intensidade em 400 nm. Em soluções com  $pH < 2,0$ , observou-se apenas uma banda em 500 nm, que é característica da ditizona não complexada.

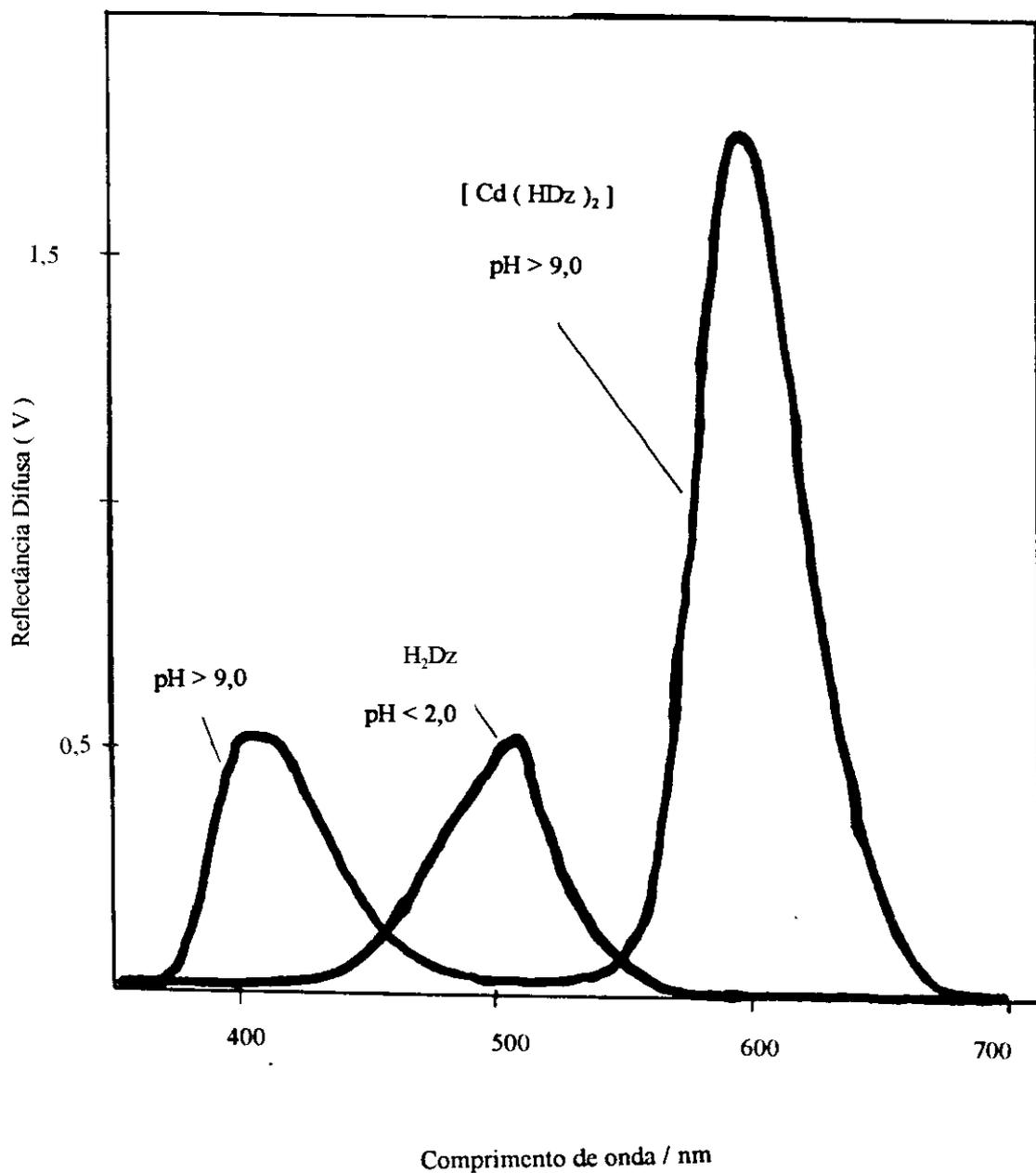


Figura 4-2: Espectros experimentais de reflectância difusa obtidos com o optodo carregado inicialmente com ditizonato de cádmio e, depois da regeneração, com ditizona.

A Figura 4-2 mostra, como exemplo, o espectro do ditizonato de cádmio(II) em pH = 9,0 e da ditizona em pH = 2,0. Pelo fato de o sinal analítico no comprimento de onda igual a 590 nm ser o de maior intensidade, este comprimento de onda foi usado para a realização das medidas.

Observando-se os espectros do ditizonato metálico e da ditizona notamos uma vantagem do sistema em estudo, que é a grande diferença entre os espectros da ditizona complexada com o íon metálico e da ditizona não complexada, cujos picos máximos não coincidem e possuem uma grande diferença de amplitude.

Por ser mais conveniente para este estudo, a reflectância normalizada,  $R_N$ , equação ( 1-12 ), foi calculada a partir dos dados de reflectância experimental,  $R_e$ .

A reflectância normalizada definida na equação ( 1-12 ), tem como  $R_{\min}$  e  $R_{\max}$  os valores de  $R_e$  para soluções com pH  $\leq 2,0$  e pH  $\geq 9,0$ , respectivamente. As Tabelas 4-1 , 4-2 e 4-3 apresentam os valores de  $R_N$  e pH para os três ditizonatos.

Tabela 4-1 : Variação com o pH, da reflectância normalizada (  $R_N$  ), reflectância absoluta (  $R$  ), e função de Kubelka-Munk  $F( R )$ , para o ditizonato de zinco(II).

pH	$R_N$	R	F( R )
9,0	1,00	0,248	1,14
7,7	0,99	0,245	1,16
7,0	0,98	0,243	1,18
6,5	0,95	0,235	1,25
6,0	0,81	0,201	1,59
5,4	0,68	0,168	2,06
4,4	0,29	0,0718	6,00
3,9	0,14	0,0347	13,7
3,0	0,03	0,0074	66,9
2,0	0,00	0,0000	---

Tabela 4-2 : Valores da reflectância normalizada (  $R_N$  ), reflectância absoluta R, função de Kubelka-Munk F(R) e a variação do pH para o ditizonato de chumbo ( II )

pH	$R_N$	R	F(R)
9,3	1,00	0,260	1,05
9,0	1,00	0,260	1,05
7,7	0,94	0,244	1,17
6,9	0,81	0,211	1,48
6,2	0,56	0,146	2,50
5,2	0,21	0,0546	8,19
4,4	0,07	0,0182	26,5
2,7	0,01	0,0026	199
1,1	0,00	0,00	----

Tabela 4-3 : Valores da reflectância normalizada (  $R_N$  ), reflectância absoluta R, função de Kubelka-munk F( R ), e variação do pH para o ditizonato de cádmio ( II ).

pH	$R_N$	R	F( R )
9,1	1,00	0,365	0,55
7,7	0,89	0,325	0,70
6,7	0,70	0,254	1,10
5,8	0,34	0,124	3,09
5,1	0,10	0,0365	12,7
4,3	0,02	0,0073	67,8
3,6	0,01	0,0036	141
2,5	0,00	0,00	---

A Figura 4-3 mostra a curva de  $R_N$  em função do pH para os três ditizonatos, onde cada ponto representa a valor médio de três medidas.

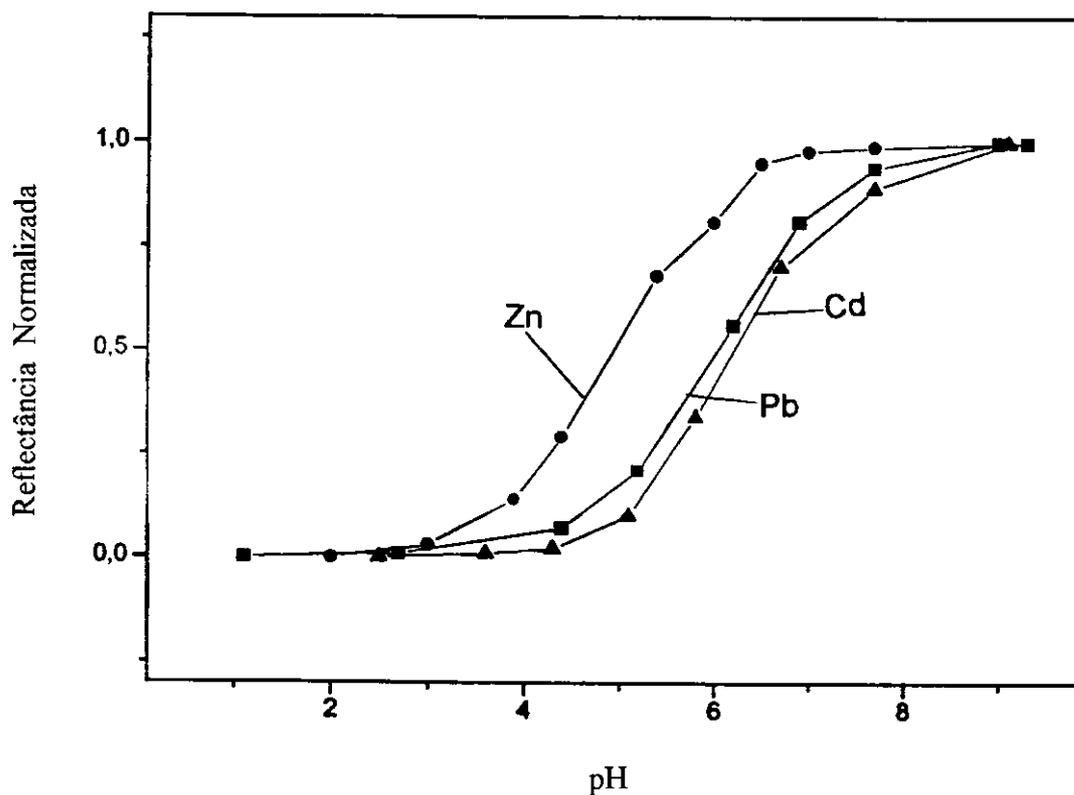


Figura 4-3 : Variação da reflectância normalizada com o pH para os ditizonatos de zinco(II), chumbo(II) e cádmio(II).

As curvas da Figura 4-3 apresentam um perfil sigmoidal semelhante àquele observado para as curvas do método de extração por solventes. As informações contidas nesta figura são úteis no estudo de interferentes e na escolha do meio para a determinação seletiva de um dado íon.

#### **4.4 - Estimativa da Constante de Estabilidade**

Com os dados obtidos no item anterior e mostrados nas Tabelas 4-1 ,4-2 e 4-3, pode-se estimar a constante de estabilidade dos ditizonatos imobilizados. De acordo com equação ( 1-17 ), a constante de estabilidade condicional,  $K_s$ , pode ser dada por:

$$K_s = \frac{[ M( HDz )_2 ]}{[ M^{2+} ] [ HDz^- ]^2} \quad ( 4-1 )$$

Conforme a Figura 4-2, no comprimento de onda de 590 nm, somente a formação do ditizonato é responsável pela reflectância medida; considerando que existe uma relação linear entre o sinal analítico e a concentração do ditizonato, é razoável dizer que, para o pH no qual se atinge a metade do sinal analítico temos:

$$\frac{[ M( HDz )_2 ]}{[ M^{2+} ]} = 1 \quad ( 4-2 )$$

Utilizando a simplificação da equação ( 4-2 ) na equação ( 4-1 ) temos:

$$K_s = \frac{1}{[ HDz^- ]^2} \quad ( 4-3 )$$

O valor da  $[ HDz^- ]$  está relacionado, pelo balanceamento de massa, à concentração total de ditizona não complexada,  $C_T$ , ou seja:

$$C_T = [ HDz^- ] + [ H_2Dz ] \quad ( 4-4 )$$

Para calcular a  $[ \text{HDz}^- ]$  a partir da equação ( 4-4 ) temos que fazer uso da equação ( 1-16 ) ou seja :

$$K_d = \frac{( a \text{H}^+ ) [ \text{HDz}^- ]}{[ \text{H}_2\text{Dz} ]} \quad ( 4-5 )$$

Substituindo na equação ( 4-4 ) o valor da  $[ \text{H}_2\text{Dz} ]$  dada pela equação ( 4-5 ), é possível obter-se  $[ \text{HDz}^- ]$  correspondente ao pH de metade do sinal analítico e, assim, calcular a constante de estabilidade condicional.

Considerando, por exemplo, a determinação de  $K_s$  para o ditizonato de zinco, temos: a quantidade média de XAD-4 colocada no optodo foi determinada como sendo igual a  $3,15 \times 10^{-3}$  g. Como existem  $10 \times 10^{-6}$  mol de ditizona imobilizada por 1,0 g de XAD-4 conclui-se que  $3,15 \times 10^{-8}$  mol de ditizona ficam imobilizadas no optodo. De acordo com a estequiometria da reação indicada pela equação ( 1-17 ) serão formados  $1,58 \times 10^{-8}$  mol de ditizonato de zinco após a reação. À medida que o meio se torna ácido, diminui-se a concentração do ditizonato imobilizado. No pH = 5,0 esta concentração se torna metade da inicial. Neste pH, já passaram para a solução  $7,90 \times 10^{-9}$  mol de  $\text{Zn}^{+2}$  e ficaram  $1,58 \times 10^{-8}$  mol de ditizona livre, o que resulta em  $C_T = 1,58 \times 10^{-8} / 0,100 = 1,58 \times 10^{-7}$  mol/L. Comparando-se as equações ( 4-4 ) e ( 4-5 ) é possível obter-se a  $[ \text{HDz}^- ] = 9,48 \times 10^{-8}$  mol/L e, portanto,  $K_s = 1 \times 10^{14}$ . Os valores de  $K_s$  para os três ditizonatos são mostrado na Tabela 4-4.

Tabela 4-4 : Comparação entre os valores das constantes de estabilidade condicional para ditizonatos em solução e imobilizados.

Ditizonato	Imobilizado	Em solução ( $u = 0,1$ mol/L e $T = 25^\circ\text{C}$ )
$\text{Zn}(\text{HDz})_2$	$1 \times 10^{14}$	$9,1 \times 10^{13} \text{ (a) } , 3 \times 10^{14} \text{ (b) } , 1,13 \times 10^{15} \text{ (c)}$
$\text{Pb}(\text{HDz})_2$	$5 \times 10^{13}$	$1,4 \times 10^{14} \text{ (a) } , 1,6 \times 10^{15} \text{ (d)}$
$\text{Cd}(\text{HDz})_2$	$4 \times 10^{13}$	$1,2 \times 10^{15} \text{ (a)}$

( a ) Referência 102; ( b ) Referência 76; ( c ) Referência 103; ( d ) Referência 104.

Para uma mais completa avaliação das estimativas das constantes de estabilidade condicionais dos três ditizonatos usou-se também um outro modelo teórico, ou seja, o de Kubelka-Munk. A utilização deste modelo deve-se ao fato de ser considerado o melhor para sistemas envolvendo adsorvente-absorvente, como XAD-4 - ditizona, conforme é relatado na literatura<sup>58</sup>.

Da definição da função de Kubelka-Munk, conforme equação ( 1-11 ), é possível escrever que:

$$F ( R ) = K [ M(HDz)_2 ] \quad ( 4-6 )$$

Para obter F(R) deve-se comparar o valor da reflectância difusa experimental dos ditizonatos com a reflectância de um padrão branco, como o sulfato de bário<sup>60</sup>, e com a reflectância da resina XAD-4. As medidas de reflectância do padrão e da resina foram realizadas usando-se o espectrofotômetro de reflectância difusa. O procedimento consistiu em colocar, sequencialmente, o sulfato de bário e a resina na mesma cela de fluxo ( Figura 3-2 ) e efetuar as medidas usando-se as mesmas condições experimentais.

No presente estudo, temos uma relação, dos dados experimentais entre F( R ) e o pH e, por esta razão, devemos introduzir na equação ( 4-6 ) a atividade do íon hidrogênio. Substituindo a equação ( 4-5 ) na equação ( 4-1 ) permite obter :

$$[ M( HDz )_2 ] = K_s K_d^2 [ M^{+2} ] [ H_2Dz ]^2 ( aH^+ )^{-2} \quad ( 4-7 )$$

A equação ( 4-7 ) estabelece uma relação entre a concentração do ditizonato metálico e a atividade do íon hidrogênio, por isso, ao relacionarmos esta equação com a ( 4-6 ) temos que:

$$F( R ) = K K_s K_d^2 [ M^{+2} ] [ H_2Dz ]^2 ( aH^+ )^{-2} \quad ( 4-8 )$$

Expressando a equação ( 4-8 ) na forma logarítmica temos:

$$\text{Log } F(R) = \text{Log } \{ K K_s K_d^2 [ M^{+2} ] [ H_2Dz ]^2 \} + 2\text{pH} \quad ( 4-9 )$$

O valor da constante K pode ser obtido a partir de F(R) no ponto em que a concentração do ditizonato for metade da inicial. Um gráfico de Log F(R) em função de pH, permite obter o pH onde temos metade do sinal analítico e com isso determinar K<sub>s</sub>. Os dados das Tabelas 4-1, 4-2 e 4-3 foram usados para esses cálculos. A Tabela 4-5 apresenta os resultados obtidos.

Tabela 4-5 : Comparação entre os valores das constantes de estabilidade obtidos usando-se  $R_N$  e  $F(R)$ .

Ditizonato	Imobilizado	
	$R_N$	$F(R)$
$Zn(HDz)_2$	$10 \pm 3 \times 10^{13}$	$4 \times 10^{14}$
$Pb(HDz)_2$	$5 \pm 3 \times 10^{13}$	$2 \times 10^{14}$
$Cd(HDz)_2$	$4 \pm 3 \times 10^{13}$	$2 \times 10^{14}$

Levando-se em conta os desvios dos dados de reflectância normalizada ( $\pm 0,04 R_N$ ) e do cálculo da concentração da ditizona, parece ser possível estimar a incerteza dos valores das constantes de estabilidade usando-se  $R_N$  como sendo de aproximadamente meia ordem de grandeza ( ver Tabela 4-5 ). Maior incerteza deve estar relacionada com os valores de  $K_s$  obtidos por meio de  $F(R)$ , por causa dos erros embutidos nos cálculos da reflectância absoluta. Assim, dentro dos limites das incertezas experimentais, pode-se considerar concordantes os valores de  $K_s$  obtidos usando-se  $R_N$  e  $F(R)$ .

Observando-se a comparação mostrada na Tabela 4-4, verifica-se que as constantes de estabilidade para ditizonatos imobilizados possuem valores menores do que aqueles para ditizonatos em solução. No entanto, devido às incertezas também nos valores de  $K_s$  para ditizonatos em solução, uma conclusão definitiva não parece ser possível. Contudo, tem sido observado<sup>105,106</sup> que a imobilização pode acarretar variações nas constantes de equilíbrio.

## Capítulo 5

# ESTUDOS SOBRE A REVERSIBILIDADE DO OPTODO

Um dos alvos da pesquisa e desenvolvimento de sensores químicos é obter um sensor que funcione reversivelmente<sup>7</sup>. No caso de sensores químicos de fibra óptica baseados em reação com formação de complexos, a faixa de concentração de funcionamento reversível depende do valor da constante de estabilidade, e é dada segundo Seitz<sup>107</sup>, pela equação :

$$pM = \text{Log } K_s \pm 1 \quad (5-1)$$

onde  $pM = -\text{Log } [M]$ . Porém, para reações que envolvem o íon hidrogênio, a faixa de concentração também depende do pH do meio. Tendo sido obtido o valor da constante de estabilidade para os ditizonatos imobilizados, procurou-se prever, teoricamente, as condições experimentais para o funcionamento reversível do optodo de ditizona.

Para se obter o valor do pH do meio e a faixa de concentração onde o optodo deve funcionar reversivelmente tem-se que fazer o seguinte desenvolvimento. Substituindo-se na equação ( 4-1 ) o valor da  $[HDz^-]$  dado pela equação ( 4-5 ) obtém-se:

$$K_s = \frac{[M(HDz)_2] (aH^+)^2}{[H_2Dz]^2 (K_d)^2 [M^{2+}]} \quad (5-2)$$

O balanceamento de massa para ditizona estabelece :

$$C_i = [ H_2Dz ] + 2 [ M(HDz)_2 ] + [ HDz^- ] \quad ( 5-3 )$$

Onde  $C_i$  é a concentração inicial da ditizona imobilizada. Em pH razoavelmente ácido é possível desprezar a concentração do íon ditizonato da equação ( 5-3 ). Assim, temos :

$$C_i = [ H_2Dz ] + 2 [ M(HDz)_2 ] \quad ( 5-4 )$$

Na realização do cálculo , considera-se duas situações: ( a ) quando a concentração do ditizonato metálico formar 25% da fase imobilizada; e ( b ) quando o ditizonato metálico formar 40% da fase imobilizada.

Para a situação ( a ) temos:

$$[ H_2Dz ] = 0,5 C_i \quad e \quad [ M(HDz)_2 ] = 0,25 C_i \quad ( 5-5 )$$

Com os valores das equações ( 5-5 ), a equação ( 5-2 ) torna-se:

$$K_s = \frac{( aH^+ )^2}{C_i ( K_d )^2 [ M^{+2} ]} \quad ( 5-6 )$$

$$\text{Assim, } aH^+ = ( K_s C_i K_d^2 [ M^{+2} ] )^{0,5} \quad ( 5-7 )$$

Utilizando o ditizonato de zinco( II ) como exemplo e considerando que a determinação é feita em 100 mL de solução  $1,0 \times 10^{-4}$  mol/L de zinco( II ), após substituir na equação ( 5-7 ) os valores de  $K_s$  e  $C_i$  obtidos nos itens 4.4 e 3.2.1, respectivamente, obtem-se o pH = 3,1.

Na situação ( b ), onde a concentração do ditizonato é 40% da fase imobilizada, temos:

$$[H_2Dz] = 0,2 Ci \quad e \quad [Zn(HDz)_2] = 0,4 Ci \quad (5-8)$$

Substituindo as equações ( 5-8 ) na equação ( 5-2 ) obtém-se :

$$K_s = \frac{10 ( aH^+ )^2}{Ci ( K_d )^2 [Zn^{+2}]} \quad (5-9)$$

Considerando o pH = 3,1 e resolvendo a equação ( 5-9 ) obtem-se a concentração do Zn( II ) igual a  $1,0 \times 10^{-3}$  mol/L. Assim, o optodo deve funcionar reversivelmente no pH = 3,1 na faixa de concentração de  $1,0 \times 10^{-4}$  a  $1,0 \times 10^{-3}$  mol/L.

## **5.1 - Testes Experimentais com o Optodo**

Para testar experimentalmente as conclusões obtidas no item anterior, procurou-se efetuar medidas com o optodo em meio tamponado a pH = 3,1 visando averiguar a reversibilidade do optodo para zinco.

### **5.1.1 - Procedimento**

Os testes experimentais sobre a reversibilidade do optodo de zinco iniciaram-se pela imobilização da ditizona, conforme item 2.3. A camada de grânulos da resina com a ditizona imobilizada foi colocada no optodo, da Figura 4-1, sobre a face das fibras ópticas e fixada com a tela e a tampa. O optodo foi imerso em um béquer contendo 100 mL de solução tampão pH = 3,1. Esta solução foi mantida sob agitação constante por 15 minutos e em seguida foi registrado o sinal analítico. Após o registro, o referido béquer foi trocado por outro contendo 100 mL de uma solução  $1,0 \times 10^{-4}$  mol/L de Zn( II ) em uma solução com pH = 3,1 mantida sob agitação

constante pelos mesmos 15 minutos e registrado o sinal analítico. O mesmo foi feito com soluções de zinco com as seguintes concentrações:  $2,0 \times 10^{-4}$ ,  $4,0 \times 10^{-4}$ ,  $6,0 \times 10^{-4}$ ,  $8,0 \times 10^{-4}$  e  $1,0 \times 10^{-3}$  mol/L e em seguida o mesmo foi feito com uma solução tampão pH = 3,1.

### 5.1.2 - Resultados Obtidos com o Optodo

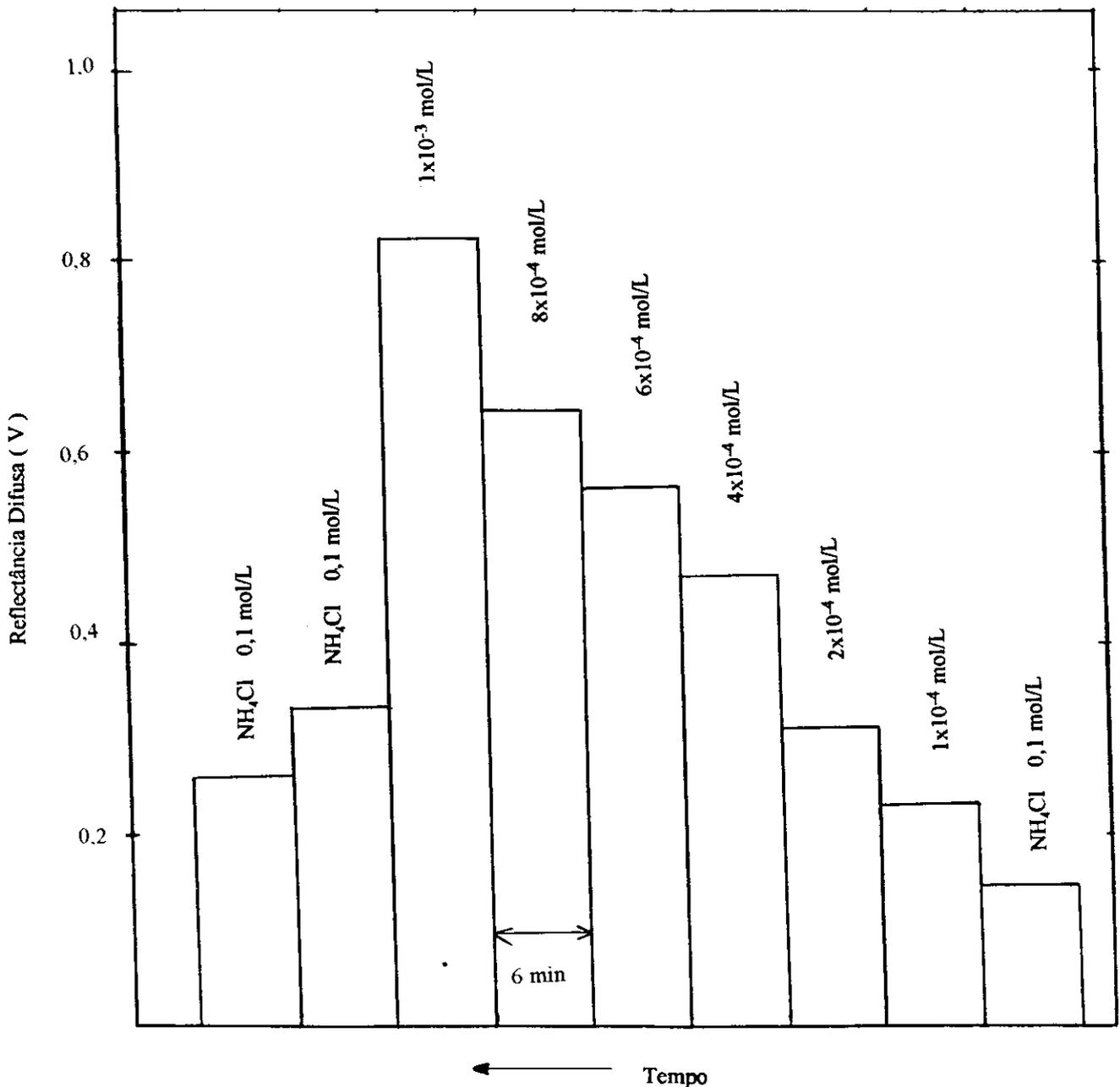


Figura 5-1 : Respostas do optodo, para variações da concentração de  $Zn^{2+}$ .

A Figura 5-1 mostra o resultado do experimento onde o optodo de ditizona foi imerso em solução tampão de pH = 3,1 e sucessivamente em soluções de zinco ( II ) na faixa de concentração de  $1,0 \times 10^{-4}$  a  $1,0 \times 10^{-3}$  mol/L. As variações da reflectância mostradas na Figura 5-1 foram copiadas do traçado original obtido no registrador. Esta Figura indica a tendência de reversibilidade do optodo, uma vez que o sinal aumenta ou diminui com o aumento ou diminuição da concentração de zinco( II ). A Figura também indica que a cinética de retorno do optodo à linha de base deve ser lenta, pois a mesma não retorna à posição inicial após os 15 minutos de contato com a solução tampão pH = 3,1; porém, após a troca deste béquer por outros verifica-se a tendência de retorno da linha de base à posição inicial.

Além dos testes mostrados anteriormente, procedeu-se à obtenção de uma curva analítica na faixa de concentração prevista anteriormente.

O sinal analítico obtido foi tratado em termos de reflectância normalizada, conforme equação ( 1-12 ). A Figura 5-2 mostra os resultados obtidos.

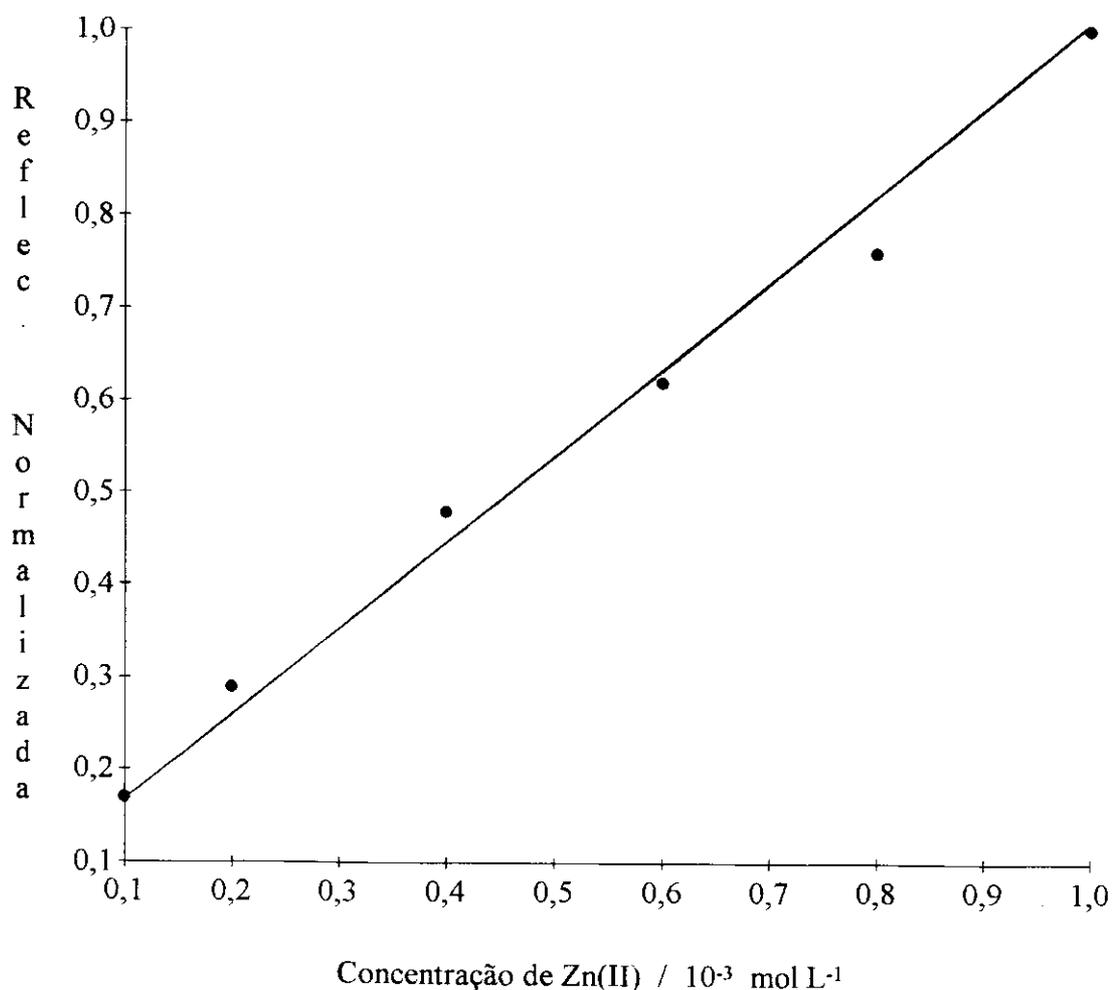


Figura 5-2 : Curva analítica para o optodo de zinco ( II )

A curva analítica da Figura 5-2 pode ser representada pela seguinte equação de reta:

$$R_N = 0,102 + 0,87 [Zn^{+2}] \quad (5-10)$$

O coeficiente de correlação da equação ( 5-10 ) foi 0,996 e o desvio médio das medidas  $0,02R_N$ .

## **SENSOR ÓPTICO DE FASE DE REAÇÃO RENOVÁVEL PARA DETERMINAÇÃO DE Hg( II )**

Observando-se a Figura 4-3 e levando-se em consideração que a literatura<sup>92</sup> indica para a determinação de Hg(II) ( usando o método de extração por solventes ) solução de H<sub>2</sub>SO<sub>4</sub> 0,5 mol/L pode-se depreender que esta determinação será bastante seletiva. Isto porque a maioria dos outros íons metálicos presentes em amostras de interesse ambiental, por exemplo, não interferem, pois não reagem com a ditizona neste meio.

A reação do mercúrio( II ) com a ditizona em meio bastante ácido ocorre devido à elevada constante de estabilidade do ditizonato de mercúrio( II ) conforme os dados da literatura<sup>102</sup>.

A grande estabilidade (  $K_s = 2 \times 10^{40}$  ) do ditizonato de mercúrio resulta numa vantagem importante na sua determinação, pois grande sensibilidade deve ser obtida uma vez que o equilíbrio estará totalmente deslocado para a formação do ditizonato. Entretanto, devido a esta grande estabilidade do ditizonato de Hg( II ), bem como aspectos cinéticos experimentalmente observados a reação tornou-se irreversível e, por isso, a fase de reação deve ser renovável.

A consideração dos argumentos apresentados acima levou-nos a desenvolver um procedimento para a determinação de Hg( II ) baseado em um sensor óptico que permite a renovação da fase sensora, após cada determinação.

### **6.1 - Desenvolvimento do Injetor**

Os trabalhos de projeto, construção e testes do injetor da fase de reação renovável passaram por várias etapas de desenvolvimento, que incluíram a construção sucessiva e testes de três protótipos. Procurou-se adaptar o modelo da

cela de fluxo ( Figura 3-2 ), com os seguintes objetos: uso do menor volume possível para a câmara de reação ( pois a fase reagente é descartável ); a maior reprodutibilidade possível na quantidade da fase reagente introduzida; evitar a intercomunicação do fluxo da amostra com a câmara de injeção e maior eficiência possível na limpeza da câmara de injeção.

O injetor desenvolvido é composto de três blocos de acrílico de 4,5 x 2,5 x 1,5 cm separados por uma película de borracha. A câmara de reação é cilíndrica, com 2,0 mm de diâmetro e 3,0 mm de comprimento e possui telas de nylon para reter a fase reagente. Dois cabos de fibra óptica de plástico ( Toray Ind. ) de 1,0 mm de diâmetro ativo foram fixados perpendicularmente à câmara. Estes cabos foram posicionados em determinado ângulo ( 55° ) de modo que os cones de aceitação das fibras estejam focalizados sobre a câmara de reação.

O posicionamento da câmara de reação dentro ou fora do fluxo é feito acionando-se a alavanca, presente no injetor. A Figura 6-1 mostra como foi feita a introdução da fase sensora no injetor.

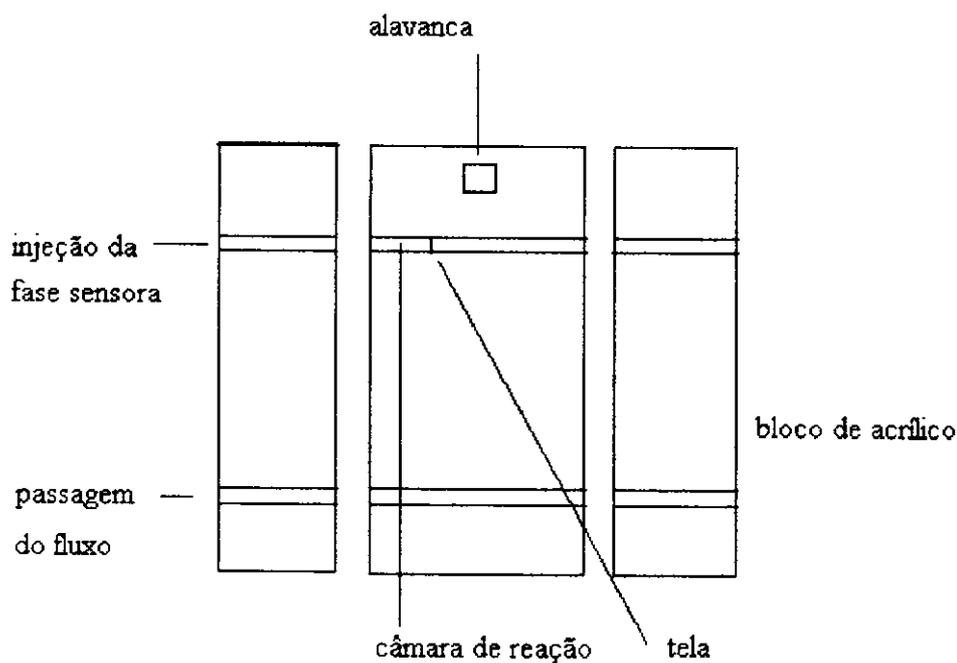


Figura 6-1 : Representação esquemática da introdução da fase sensora no injetor.

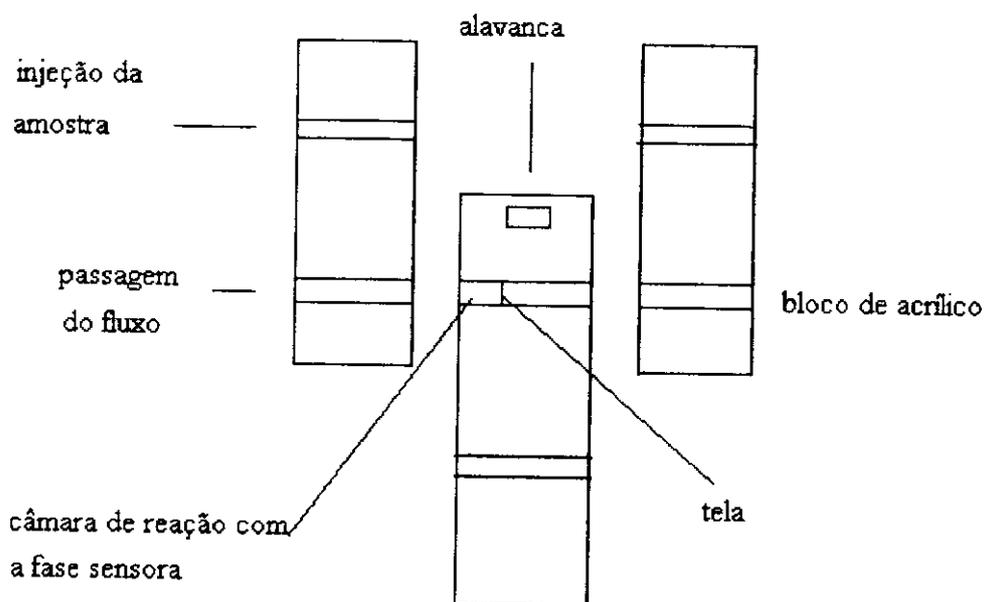


Figura 6-2 : Representação esquemática da posição do injetor durante a análise da amostra.

A Figura 6-2 mostra como foi feita a análise da amostra, onde a fase sensora contida na câmara de reação foi conduzida até a passagem do fluxo, com o auxílio da alavanca do injetor.

## 6.2 - Parte Experimental

As medidas para testar o sensor de fase de reação renovável para mercúrio (II) começaram pela imobilização da ditizona, conforme item 2.3. Imediatamente após a imobilização preparou-se ditizonato de zinco( II ), deixando-se a ditizona em contato com uma solução de  $Zn(NO_3)_2$  0,10 mol/L em tampão pH = 9,0, por 5 minutos.

O procedimento para a determinação de Hg( II ) consistiu em : carregar o injetor com o ditizonato de zinco( II ), na posição descrita pela Figura 6-1, com a

ajuda de uma seringa; posicionar a câmara de reação no caminho do fluxo, conforme Figura 6-2; passar a solução tampão pH = 9,0 e registrar a reflectância difusa devido ao ditizonato de zinco( II ); em seguida passar cerca de 50 mL de ácido sulfúrico 0,5 mol/L e registrar a linha de base, a reflectância da ditizona e em seguida passar um volume fixo ( 100 mL ) da solução da amostra de Hg( II ) em ácido sulfúrico 0,5 mol/L e registrar o valor da reflectância do ditizonato de mercúrio( II ).

### **6.3 - Resultados Obtidos com o Sensor Óptico de Fase de Reação Renovável**

Para a obtenção da curva analítica pode-se usar o método cinético, onde realiza-se medidas, com o reagente imobilizado dentro do injetor, através da passagem de soluções de mercúrio ( II ). Mantendo-se constantes a velocidade de fluxo e de registro torna-se possível a comparação de soluções com concentrações diferentes.

O método cinético pode ser feito, também, fixando-se um tempo ou um volume de solução para as medidas de reflectância, de modo a abranger a faixa de concentração de interesse. Em nosso trabalho verificou-se que o volume de 100 mL da solução de mercúrio era suficiente para abranger a faixa de concentração de  $3,0 \times 10^{-8}$  a  $1,0 \times 10^{-6}$  mol/L. Por conveniência, este foi o procedimento cinético usado.

Outro fator importante na determinação de Hg( II ) foi a presença de um padrão interno, ditizonato de zinco, que teve como finalidade evitar as dificuldades causadas pela instabilidade química e fotodecomposição da ditizona. Experimentos realizados com o ditizonato de zinco imobilizado, contido na câmara de reação do injetor, mostraram que ele pode ser exposto à luz durante mais de três horas sem qualquer alteração.

O ditizonato de zinco tem ainda a finalidade de compensar flutuações do sinal analítico causadas pela instrumentação ( como por exemplo, alterações da tensão da rede elétrica que resultam em variação na potência óptica da fonte ) ou por condições experimentais ( como a variação da quantidade da fase reagente ou da densidade da imobilização da ditizona ).

As medidas para a obtenção de uma curva analítica foram feitas num comprimento de onda de 580 nm, por ser aquele onde tivemos o pico de reflectância do espectro do ditizonato de mercúrio em meio de ácido sulfúrico 0,5 mol/L.

A curva analítica, ( Figura 6-3 ) foi expressa em termos de reflectância relativa, R<sub>r</sub>, em função do logaritmo da concentração, Log C. A reflectância relativa foi definida pela seguinte equação:

$$R_r = \frac{R_{Hg} - R_{ditizona}}{R_{Zn}} \quad (6-1)$$

Onde R<sub>Hg</sub> é a reflectância difusa do ditizonato de mercúrio, R<sub>ditizona</sub> é a reflectância da ditizona e R<sub>Zn</sub> é a reflectância do ditizoanto de zinco ( padrão interno).

Tabela 6-1 : Valores de reflectância relativa obtidos com o sensor de mercúrio(II) em função do Log C.

R <sub>r</sub>	Log C
0,30	- 6,0
0,26	- 6,22
0,25	- 6,52
0,22	- 7,00
0,18	- 7,52

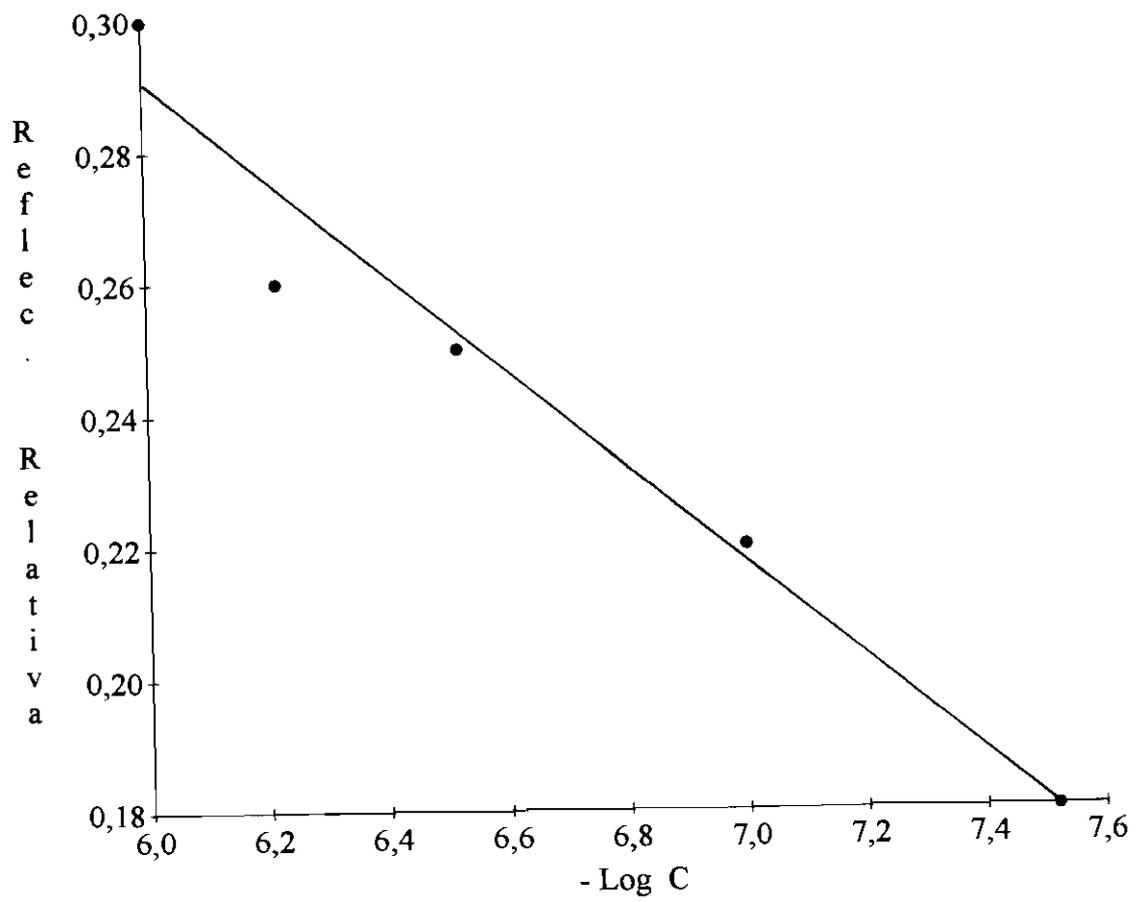


Figura 6-3 : Curva analítica para a determinação Hg(II).

Os dados da Figura 6-3 podem ser representados pela seguinte equação:

$$R_r = 0,72 + 0,072 \text{ Log } C \quad (6-2)$$

O coeficiente de correlação foi igual a 0,981. Obteve-se uma precisão relativa ao redor de 10% e limite de detecção de  $1,0 \times 10^{-8}$  mol/L.

Embora o procedimento analítico adotado para a determinação de Hg ( II ) tenha se baseado em uma fase de reação renovável, o consumo de reagente é bastante pequeno. De fato, foram realizados experimentos removendo-se quantitativamente a ditizona imobilizada, por meio da passagem de clorofórmio e determinou-se sua concentração espectrofotometricamente, conforme item 3.2.1. Estas experiências revelaram que  $10 \times 10^{-6}$  mol de ditizona são imobilizados por 1,0 g de XAD-4. Como a quantidade média de XAD-4 injetada na câmara de reação foi de 3,9 mg, concluiu-se que apenas  $3,9 \times 10^{-8}$  mol ( ou seja 10  $\mu\text{g}$  ) de ditizona são gastos em cada determinação.

## **DETERMINAÇÃO REFLECTOMÉTRICA SIMULTÂNEA**

A seletividade na determinação de metais pesados usando ditizona, pode ser conseguida através da escolha do pH do meio e da adição de agentes mascarantes<sup>108</sup> à amostra. Existe uma grande variedade de trabalhos<sup>75-78</sup> sobre esses procedimentos, indicados para o método de extração com solventes, que podem servir para nortear o desenvolvimento de metodologia usando ditizona imobilizada.

Entretanto, dentre as características ideais<sup>7</sup> de um sensor químico, está a possibilidade de ele ser colocado diretamente na amostra sem se fazer separação prévia. Por esta razão, no presente trabalho, procurou-se vislumbrar possibilidades de determinação simultânea, ao invés de procurar adaptar os métodos de extração com solventes.

A observação dos resultados sobre a influência do pH na formação de ditizonatos metálicos imobilizados ( conforme Figura 4-3 ) sugere a possibilidade de usar essas variações como base de um procedimento analítico de determinação simultânea.

Nesta etapa deste trabalho, foi avaliada a possibilidade de realizar-se a determinação reflectométrica simultânea de  $Zn^{+2}$  e  $Cd^{+2}$ .

### **7.1 - Parte Experimental**

O procedimento analítico constituiu em escolher dois valores de pH, ou seja pH = 9,0 e pH = 5,0. Nestes dois meios foram obtidas as curvas analíticas dos dois

íons (  $Zn^{2+}$  e  $Cd^{2+}$  ). Em seguida, obteve-se os valores do sinal analítico para as misturas desses dois íons nos dois meios já descritos.

As medidas foram feitas usando-se o injetor descrito no item 6.1. Para isto, a ditizona imobilizada foi colocada no injetor, com o auxílio de uma seringa; em seguida posicionou-se a câmara de reação do injetor no caminho do fluxo, passou-se cerca de 10 mL do tampão ( pH = 9,0 ) ou ( pH = 5,0 ) e registrou-se a linha de base ( reflectância da ditizona ) usando o comprimento de onda de 590 nm. Em seguida passou-se 10 mL da solução padrão de zinco e mediu-se a reflectância; o mesmo foi feito para solução padrão de cádmio( II ) e para as misturas dos dois íons.

Após cada determinação a fase sensora foi regenerada passando-se cerca de 50 mL de HCl 0,1 mol/L.

## **7.2 - Resultados Obtidos na Determinação Reflectométrica Simultânea**

Para a realização das medidas adotou-se um procedimento cinético, que consistiu em registrar o sinal analítico, após passar-se um volume fixo de solução pelo injetor ( neste trabalho  $V = 10$  mL ). Este volume foi julgado adequado tendo em vista a magnitude dos sinais obtidos em pH = 9,0 e pH = 5,0.

Os dados experimentais foram inicialmente tratados usando-se a função de Kubelka-Munk. Entretanto, observou-se grande incerteza nos valores de  $F(R)$ . Isto ocorreu, provavelmente, porque os dados de reflectância absoluta (  $R$  ) eram muito pequenos. Os melhores resultados foram obtidos usando-se os próprios valores de reflectância experimental em função da concentração.

O princípio usado na determinação reflectométrica simultânea se baseia no fato de a reflectância total, em um dado comprimento de onda, com várias espécies, ser considerada como a soma das reflectância individuais. Por isso temos:

$$R_{total} = R_{zinco} + R_{cádmio} \quad (7-1)$$

As curvas analíticas obtidas, nos dois valores de pH, puderam ser representadas pelas seguintes equações:

- Para Zinco :  $R_9 = 0,05383 + 2641,91 [ Zn^{2+} ] ; \quad r = 0,983 \quad (7-2)$

$R_5 = 0,0070 + 1650 [ Zn^{2+} ] ; \quad r = 0,989 \quad (7-3)$

- Para Cádmio :  $R_9 = 0,02925 + 5194,36 [ Cd^{2+} ] ; \quad r = 0,986 \quad (7-4)$

$R_5 = 0,0160 + 650,0 [ Cd^{2+} ] ; \quad r = 0,983 \quad (7-5)$

Onde r representa o coeficiente de correlação do ajuste dos dados experimentais. Para uma solução contendo os dois íons, temos :

$R_9 = 0,05383 + 2641,91 [ Zn^{2+} ] + 0,02925 + 5194,36 [ Cd^{2+} ] \quad (7-6)$

$R_5 = 0,0070 + 1650 [ Zn^{2+} ] + 0,0160 + 650,0 [ Cd^{2+} ] \quad (7-7)$

As equações ( 7-6 ) e ( 7-7 ) juntas permitem calcular as concentrações das espécies, sabendo-se apenas a reflectância da mistura nos dois meios. A Tabela 7-1 apresenta os resultados obtidos.

Tabela 7-1 : Comparação das concentrações de  $Zn^{+2}$  e  $Cd^{+2}$  determinadas pelo método reflectométrico com as concentrações colocadas nas amostras.

	Colocada	Encontrada
$Zn^{2+}$	$1,2 \times 10^{-5} \text{ mol/L}$	$1,6 \times 10^{-5} \text{ mol/L}$
$Cd^{2+}$	$4,8 \times 10^{-5} \text{ mol/L}$	$4,6 \times 10^{-5} \text{ mol/L}$
$Zn^{2+}$	$3,4 \times 10^{-5} \text{ mol/L}$	$2,4 \times 10^{-5} \text{ mol/L}$
$Cd^{2+}$	$4,8 \times 10^{-5} \text{ mol/L}$	$3,6 \times 10^{-5} \text{ mol/L}$
$Zn^{2+}$	$4,8 \times 10^{-5} \text{ mol/L}$	$7,9 \times 10^{-5} \text{ mol/L}$
$Cd^{2+}$	$3,4 \times 10^{-5} \text{ mol/L}$	$4,0 \times 10^{-5} \text{ mol/L}$

Os resultados obtidos apresentam uma precisão relativamente baixa ( erro médio relativo de 28% ). Isto está, provavelmente, relacionado com a instabilidade química de ditizona, o que requer a troca da fase de reação diariamente - resultando em baixa reprodutibilidade das medidas.

Experimentos de determinação reflectométrica simultânea foram realizados com o optodo ( Figura 4-1 ). Nestes caso, também, devido à decomposição de ditizona, foi impossível usar a mesma fase de reação para todas as medidas - não se obtendo, assim, melhora significativa na precisão.

Uma outra maneira de realizar determinações simultâneas seria através da calibração multivariada<sup>109,110</sup>. Neste método são obtidos vários espectros com misturas contendo as espécies de interesse. Porém, no atual estágio do desenvolvimento do processo, seria prematura a tentativa de aplicação desse método.

## **CONCLUSÕES**

A realização deste estudo forneceu resultados que nos permitem enumerar as seguintes conclusões :

8.1 - O trabalho ensejou o estudo e o desenvolvimento de diferentes tipos de instrumentação analítica, usada para conter a fase sensora em SQFO. Assim, foram desenvolvidos e testados uma cela de fluxo ( Figura 3-2 ), um optodo de ditizona ( Figura 4-1 ) e um injetor de fase de reação renovável ( Figuras 6-1 e 6-2 ).

8.2 - O desenvolvimento do sensor óptico de fase de reação renovável ( capítulo 6 ) indicou uma solução para um problema comum no estudo de sensores ópticos, ou seja, como aproveitar uma reação analítica de boa sensibilidade e seletividade, mas irreversível do ponto de vista prático. Também, a introdução de um padrão interno, neste caso, parece ser um recurso importante para se alcançar melhor reprodutibilidade.

8.3 - O estudo sobre o efeito do pH ( capítulo 4 ) possibilitou um melhor conhecimento do sistema transdutor de sensores ópticos que se baseiam em reações envolvendo o íon hidrogênio. Além de outras informações, parece-nos uma contribuição importante poder responder à pergunta: em que pH o optodo deve funcionar reversivelmente?

8.4 - Assim como os demais procedimentos desenvolvidos neste estudo, a metodologia empregada na investigação sobre determinação reflectométrica

simultânea ( capítulo 7 ) parece-nos original, isto é, não ter sido proposta anteriormente. Embora a precisão dos resultados obtidos tenha sido relativamente baixa a técnica mostrou-se com potencial de uso. Em sensores com fases de reação permanente e quimicamente estável, melhor precisão deverá ser obtida.

8.5 - O trabalho com o reagente ditizona chegou à conclusão que seu uso em sensores ópticos, no monitoramento e na análise de amostras reais, torna-se limitado por causa da sua instabilidade química e fotodecomposição. No entanto, o emprego de ditizona, como modelo, no estudo de sistemas transdutores para sensores ópticos, foi facilitado pela grande eficiência de sua imobilização na resina e pela sensibilidade de suas reações.

8.6 - O objetivo do presente estudo foi voltado para a investigação de princípios e de metodologia analítica. Por esta razão, não se realizou a aplicação dos procedimentos desenvolvidos na análise de amostras reais.

## Capítulo 9

### REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- 1 - E.D. Olsen, *Modern Optical Methods of Analysis*, McGraw-Hill Book Company, Nova Iorque, 1975.
- 2 - W. F. Giozza, E. Conforti e H. Waldman, *Fibras Ópticas*, Makron Books do Brasil Editora Ltda., Rio de Janeiro, 1991.
- 3 - R. Tabini e D. N. da Silva Jr. , *Fibras Ópticas*, Livros Érica Editora Ltda, São Paulo, 1990.
- 4 - O. S. Wolfbeis, editor, *Fiber Optic Chemical Sensors and Biosensores (FOCSB)*, Volumes I e II, CRC Press, Boca Raton, 1991.
- 5 - M. A. Arnold, Fiber-optic chemical sensors, *Anal. Chem.*, **64** ( 1992 ) 1015A-1025A.
- 6 - J. O. W. Norris, Current status and prospects for the use of optical fibres in chemical analysis, *Analyst*, **114** ( 1989 ) 1359-1372.
- 7 - W. R. Seitz, Chemical sensors based on immobilized indicators and fiber optics, *CRC Crit. Rev. Anal. Chem.*, **19** ( 1988 ) 135-173.
- 8 - Referência nº 4 , Vol 1, página 7.
- 9 - H. C. Hesse, Patente da Alemanha Ocidental nº 106.086, 1974.
- 10 - J. Janata, M. Josowicz e D. M. DeVaney, Chemical sensors, *Anal. Chem.*, **66** ( 1994 ) 207R-228R.

- 11 - J. Janata, Ion optodes, *Anal. Chem.*, 64 ( 1992 ) 921A-927A.
- 12 - U. E. Spichiger, D. Freiner, E. Bakker, T. Rosatzin e W. Simon, Optodos in clinical chemistry : potential and limitations, *Sensors and Actuators B*, 11 ( 1993 ) 263-271.
- 13 - M. J. P. Leiner e P. Hartmann, Theory and practice in optical pH sensing, *Sensors and Actuators B*, 11 ( 1993 ) 221-289.
- 14 - S. A. Borman, Optrodes : the sample stays in the factory, the instrument stays in the lab, *Anal. Chem.*, 53 ( 1981 ) 1616A-1618A.
- 15 - H. E. Posch, M. J. P. Leiner e O. S. Wolfbeis, Towards a gastric pH-sensor: an optrode for the pH 0-7 range, *Fresenius Z. Anal. Chem.*, 334 ( 1989 ) 162-165.
- 16 - W. A. de Oliveira, Sensores químicos de fibras ópticas, *Química Nova* , 19 ( 1996 ) 76-78.
- 17 - M. P. T. Sotomayor, Estudo e desenvolvimento de optodo para medidas de pH, baseado em poli(orto-anisidina), Dissertação de Mestrado, UNICAMP, 1996, pág. 1-35.
- 18 - R. Narayanaswamy, Optical chemical sensors : transduction and signal processing, *Analyst*, 118 ( 1993 ) 317-322.
- 19 - Referência nº 4, vol. 1 , pág. 61-110.
- 20 - T. O. Poehler, Detectors, *Methods Exp. Phys.*, 26 ( 1988 ) 291-334.
- 21 - B. Culshaw, Photodetectors and photodetection, *Sensors and Actuators*, 10 ( 1986 ) 263-285.
- 22 - W. A. de Oliveira, F. A. A. Matias e E. Moschim, A comparison of detectors for portable optical sensors, *IEEE Trans. Instrum. Measurement*, 45 ( 1996 ) 326-328.
- 23 - J. Janata, *Principles of Chemical Sensors*, Plenum Press, Nova Iorque, 1990, pág. 241-284.
- 24 - R. Narayanaswamy e F. Sevilla III, Optical fibre sensors for chemical species, *J. Phys. E: Sci. Instrum.*, 21 ( 1988 ) 10-17.

- 25 - M. D. Trevan, *Immobilized Enzymes*, John Wiley & Sons, Nova Iorque, 1980, pág. 1-10.
- 26 - Q. Zhou e G. H. Sigel Jr., Porous polymer optical fiber for carbon monoxide detection, *Chem. Biochem. Environ. Sensors*, 1172 ( 1989 ) 157-161.
- 27 - G. F. Kirkbright, R. Narayanaswamy e N. A. Welti, Studies with immobilised chemical reagents using a flow-cell for the development of chemically sensitive fibre-optic devices, *Analyst*, 109 ( 1984 ) 15-17.
- 28 - G. Serra, A. Schirone e R. Boniforti, Fibre-optic pH sensor for sea-water monitoring using a single dye, *Anal. Chim. Acta*, 232 ( 1990 ) 337-344.
- 29 - T. P. Jones e M. D. Porter, Optical pH sensor based on the chemical modification of a porous polymer film, *Anal. Chem.*, 60 ( 1988 ) 404-406.
- 30 - R. Narayanaswamy, D. A. Russel e F. Sevilla III, Optical-fibre sensing of fluoride ions in a flow-stream, *Talanta*, 35 ( 1988 ) 83-88.
- 31 - J. F. Alder, D. C. Ashworth e R. Narayanaswamy, An optical potassium ion sensor, *Analyst*, 112 ( 1987 ) 1191-1192.
- 32 - T. Nakagama, M. Yamada e T. Hobo, Chemiluminescence sensor with uranine immobilized on an anion-exchange resin for monitoring free chlorine in tap water, *Anal. Chim. Acta*, 231 ( 1990 ) 7-12.
- 33 - Z. Zhujun e W. R. Seitz, A fluorescent sensor for aluminum ( III ), magnesium ( II ), zinc ( II ) and cadmium ( II ) based on electrostatically immobilized quinolin-8-ol sulfonate, *Anal. Chim. Acta*, 171 ( 1985 ) 251-258.
- 34 - M. C. Moreno, M. Jimenez, C. P. Conde e C. Camara, Analytical performance of an optical pH sensor for acid-base titration, *Anal. Chim. Acta*, 230 ( 1990 ) 35-40.
- 35 - S. G. Schulman, S. Chen, F. Bai, M. J. P. Leiner, L. Weis e O. S. Wolfbeis, Dependence of the fluorescence of immobilized 1-hydroxypyrene - 3,6,8- trisulfonate on solution pH : extension of the range of applicability of a pH fluorosensor, *Anal. Chim. Acta*, 304 ( 1995 ) 165-170.

- 36 - T. Werner e O. S. Wolfbeis, Optical sensor for the pH 10-13 range using a new support material, *Fresenius J. Anal. Chem.*, 346 ( 1993 ) 564-568.
- 37 - L. J. Blum, S. M. Gautier e P. R. Coulet, Highly stable bioluminescence-based fiber-optic sensor using immobilized enzymes from vibrio harveyi, *Anal. Letters*, 22 ( 1989 ) 2211-2222.
- 38 - A. H. Cherin, *An Introduction to Optical Fibers*, McGraw-Hill International Edition, São Paulo, 1983.
- 39 - F. C. Allard, *Fiber Optics Handbook for Engineers and Scientists*, McGraw-Hill Publishing Co., Nova Iorque, 1990.
- 40 - S. D. Personick, *Optical Fiber Transmission Systems*, Plenum Press, Nova Iorque, 1983.
- 41 - D. J. Sterling Jr., *Technician's Guide to Fiber Optics*, Delmar Publishers Inc., Nova Iorque, 1987.
- 42 - W. A. de Oliveira e P. R. Saliba, Optosensing of carbon monoxide through paper impregnated with palladium ( II ) chloride, *J. Braz. Chem. Soc.*, 5 ( 1994 ) 39-42.
- 43 - Referência nº 7 , pág. 146-148.
- 44 - O. S. Wolfbeis, Analytical chemistry with optical sensors, *Fresenius Z. Anal. Chem.*, 325 ( 1986 ) 387-392.
- 45 - D. A. Skoog e J. J. Leary, *Principles of Instrumental Analysis*, 4º ed., Saunders College Publishing, Nova Iorque, 1991, pág. 123-149.
- 46 - O. S. Wolfbeis, Achievements and new directions in analytical chemistry : luminescence and optical sensors, *Anal. Proc. (London)*, 28 ( 1991 ) 357-358.
- 47 - R. Narayanaswamy e D. A. Russell, Optical sensors for dissolved ionic chemical species, *Sensors and Actuators*, 13 ( 1988 ) 293-298.
- 48 - O. S. Wolfbeis, Fluorescence optical sensors in analytical chemistry, *Trends Anal. Chem.*, 4 ( 1985 ) 184-188.

- 49 - W. R. Seitz, Chemical sensors based on fiber optics, *Anal. Chem.*, **56** ( 1984 ) 16A-34A.
- 50 - W. W. Wendlandt e H. G. Hecht, *Reflectance Spectroscopy*, Interscience, Nova Iorque, 1966.
- 51 - G. Kortum, *Reflectance Spectroscopy*, Springer-Verlag, Nova Iorque, 1969.
- 52 - W. W. Wendlandt, editor, *Modern Aspects of Reflectance Spectroscopy*, Plenum Press, Nova Iorque, 1968.
- 53 - D. Kealey, Quantitative reflectometry - I. Principles and scope, *Talanta*, **19** ( 1972 ) 1563-1571.
- 54 - V. K. Runov e V. V. Tropina, Optical sorption-molecular spectroscopy analytical methods : methodological problems of quantitative measurements in diffuse reflectance spectroscopy, *Z. Anal. Khimii*, **51** ( 1996 ) 71-77.
- 55 - G. Kortum, W. Braun e G. Herzog, Principles and techniques of diffuse-reflectance spectroscopy, *Angew. Chem. Internat. Edit.*, **2** ( 1963 ) 333-404.
- 56 - H. G. Hecht, Comparison of continuum models in quantitative diffuse reflectance spectrometry, *Anal. Chem.*, **48** ( 1976 ) 1775-1779.
- 57 - H. G. Hecht, A comparison of the Kubelka-Munk, Rozenberg, and Pitts-Giovanelli methods of analysis of diffuse reflectance for several model systems, *Appl. Spectrosc.*, **37** ( 1983 ) 348-354.
- 58 - A. J. Guthrie, R. Narayanaswamy e D. A. Russell, Application of Kubelka-Munk diffuse reflectance theory to optical fibre sensors, *Analyst*, **113** ( 1988 ) 457-461.
- 59 - Referência nº 23, pág. 259.
- 60 - F. Grum e T. E. Wightman, Absolute reflectance of Eastman white reflectance standard, *Appl. Optics*, **16** ( 1977 ) 2775-2776.
- 61 - M. A. Ditzler, R. A. Allston, T. A. Casey, N. T. Spellman e K. A. Willis, Diffuse reflectance uv-vis spectroscopy, an economical method for studying reagents immobilized on silica gel, *Appl. Spectrosc.*, **37** ( 1983 ) 269-273.

- 62 - G. F. Kirkbright, R. Narayanaswamy e N. A. Welty, Fibre-optic pH probe based on the use of an immobilised colorimetric indicator, *Analyst*, 109 ( 1984 ) 1025-1028.
- 63 - I. Klimant e M. Otto, A fiber optic sensor for heavy metal ions based on immobilized xylenol orange, *Mikrochim. Acta*, 108 ( 1992 ) 11-17.
- 64 - Referência nº 4, volume 1, pág. 10-13.
- 65 - M. J. P. Leiner, Luminescence chemical sensors for biomedical applications : scope and limitations, *Anal. Chim. Acta*, 255 ( 1991 ) 209-222.
- 66 - O. S. Wolfbeis, Fibre-optic sensors in biomedical sciences, *Pure & Appl. Chem.*, 59 ( 1987 ) 663-672.
- 67 - J. I. Peterson e G. G. Vurek, Fiber-optic sensors for biomedical applications, *Science*, 224 ( 1984 ) 123-127.
- 68 - S. M. Klainer, J. R. Thomas e J. C. Francis, Fiber-optic chemical sensors offer a realistic solution to environmental monitoring needs, *Sensors and Actuators B*, 11 ( 1993 ) 81-86.
- 69 - R. Narayanaswamy, Chemical transducers based on fibre optics for environmental monitoring, *Sci. Total Environ.*, 135 ( 1993 ) 103-113.
- 70 - R. Niessner, Chemical sensors for environmental analysis, *Trends Anal. Chem.*, 10 ( 1991 ) 310-316.
- 71 - F. L. Dickert e S. K. Schreiner, Fiber-optic dipping sensor for organic solvents in wastewater, *Anal. Chem.*, 61 ( 1989 ) 2306 - 2309.
- 72 - G. Boisdé, F. Blanc e J- J. Perez, Chemical measurements with optical fibers for process control, *Talanta*, 35 ( 1988 ) 75-82.
- 73 - J. E. Freeman, A. A. Childers, A. W. Steele e G. M. Hieftje, A fiber-optic absorption cell for remote determination of copper in industrial electroplating baths, *Anal. Chim. Acta*, 177 ( 1985 ) 121-128.

- 74 - G. Boide, F. Blanc, P. Mauchien e J- J. Perez, *Fiber Optic Chemical sensors in nuclear plants*, em FOCSB, O. S. Wolfbeis, editor, CRC Press, Boca Raton, 1991, vol II, pág. 135-149.
- 75 - H. M. N. H. Irving, *Dithizone*, The Chemical Society, Londres, 1977.
- 76 - E. B. Sandell e H. Onishi, *Photometric Determination of Traces of Metals*, John Wiley & Sons, Nova Iorque, 1978, pág. 579-647.
- 77 - H. M. N. H. Irving, The analytical applications of dithizone, *CRC Crit. Rev. Anal. Chem.*, **8** ( 1980 ) 321-366.
- 78 - F. D. Snell, *Photometric and Fluorometric Methods of Analysis. Metals*, Parte 1, Wiley - Interscience, Nova Iorque, 1978, pág. 2-25.
- 79 - Referência nº 76, pág. 584 .
- 80 - E. B. Sandel, *J. Am. Chem. Soc.*, **73** ( 1950 ) 4660.
- 81 - A. E. Goodwin e H. A. Mottola, Dependence of the rate coefficient for photochromic relaxation of mercury( II ) dithizonate on excess free ligand, *Anal. Chem.*, **55** ( 1983 ) 329-334.
- 82 - N. L. Chen e E. P. C. Lai, Photochromic separation and photoacoustic determination of mercury ( II ) dithizonate, *Anal. Letters*, **21** ( 1988 ) 667-680.
- 83 - K. Harmsen, *Behavior of Heavy Metals in Soil*, Centre for Agricultural Publishing and Documentation, Wageningen, 1977.
- 84 - D. Bruce-Smith, *Heavy Metals as Contaminants of the Human Environment*, Chemistry Cassettes, ETSG - The Chemical Society, Londres, 1975.
- 85 - M. B. Jacobs, *The Analytical Toxicology of Industrial Inorganic Poisons*, Interscience, Nova Iorque, 1967.
- 86 - R. A. Horne, *The Chemistry of our Environment*, John Wiley & Sons, Nova Iorque, 1978.
- 87 - J. W. Moore e S. Ramamoorthy, *Heavy Metals in Natural Waters*, Springer-Verlag, Nova Iorque , 1984.

88 - V. Gargioni - Partição do cádmio entre o sedimento e a água intersticial, dissertação de Mestrado, UNICAMP, 1991, pág. 2-7.

89 - M. I. M. S. Bueno - Determinação de traços de mercúrio em fluxo contínuo, por emissão atômica em plasma de hélio de baixa potência, tese de Doutorado, UNICAMP, 1990, pág. 1-16.

90 - D. L. Tasalev e Z. K. Zaprianov, *Atomic Absorption Spectrometry in Occupational and Environmental Health Practice*, CRC Press, Boca Raton, vol. 1, 1985.

91 - D. G. Christian, *Analytical Chemistry*, 5ª edição, John Wiley & Sons, Nova Iorque, 1994, pág. 484-504.

92 - *Official Methods of Analysis of the AOAC*, 11ª edição, Association of Official Analytical Chemists, Washington, D.C., 1970.

93 - L. M. Trutneva, O. P. Shvoeva e S. B. Savvin, Immobilized xylenol orange as a sensor for fiber-optic determination of thorium( IV ) and lead( II ), *Z. Anal. Khimii.*, **44** ( 1989 ) 1804-1808.

94 - M. Lerchi, E. Reitter, W. Simon e E. Pretsch, Bulk optodes based on neutral dithiocarbamate ionophores with high selectivity and sensitivity for silver and mercury cations, *Anal. Chem.*, **66** ( 1994 ) 1713-1717.

95 - M. Lerchi, E. Bakker, B. Rusterholz e W. Simon, Lead-selective bulk optodes based on neutral ionophores with subnanomolar detection limits, *Anal. Chem.* **64** ( 1992 ) 1534-1540.

96 - W. A. de Oliveira, e R. Narayanaswamy, A flow-cell optosensor for lead based on immobilized dithizone, *Talanta*, **39** ( 1992 ) 1499-1503.

97 - W. A. de Oliveira e M. C. Hespanhol, Sensor óptico para a determinação de mercúrio(II) baseado em ditizona imobilizada, 18ª Reunião Anual da Sociedade Brasileira de Química, Livro de Resumos, QA-143, Caxambu, 1995.

98 - H. G. C. King e G. Pruden, The spectrophotometric determination of the purity of commercial dithizone and the purification of small amounts of the reagent by chromatography, *Analyst*, **96** ( 1971 ) 146-148.

- 99 - Referência nº 76, pág. 582.
- 100 - H. M. N. H. Irving e D.C. Rupainwar, A photochemical oxidation product of dithizone, *Anal. Chim. Acta*, **48** ( 1969 ) 187- 188.
- 101 - L. S. Meriwether, E. C. Breitner e C. L. Sloan, The photochromism of metal dithizonates, *J. Am. Chem. Soc.*, **87** ( 1965 ) 4441- 4448.
- 102 - B. W. Budesinsky e M. Sagat, Stability constants of some metal dithizonates, *Talanta*, **20** ( 1973 ) 228-231.
- 103 - C. B. Honaker e H. Freiser, Kinetics of extraction of zinc dithizonate, *J. Phys. Chem.*, **66** ( 1962 ) 127-130.
- 104 - *Critical Stability Constants*, **3** ( 1977 ) 319-320.
- 105 - R. Narayanaswamy e F. Sevilla III, Reflectometric study of the acid-base equilibria of indicators immobilised on a styrene/divinil benzene copolymer, *Anal. Chim. Acta*, **189** ( 1986 ) 365-369.
- 106 - L. A. Saari e W. R. Seitz, Immobilized morin as fluoprescence sensor for determination of aluminum(III), *Anal. Chem.*, **55** ( 1983 ) 667-670.
- 107 - W. R. Seitz, *Optical Ion Sensing*, em *FOCSB*, O. S. Wolfbeis, editor, CRC Press, Boca Raton, 1991, vol II, pág. 01.
- 108 - K. L. Cheng, Increasing selectivity of analytical reactions by masking, *Anal. Chem.*, **33** ( 1961 ) 783-790.
- 109 - K. R. Beebe e B. Kowalski, An introduction to multivariate calibration and analysis, *Anal. Chem.*, **59** ( 1987 ) 1007A - 1017A.
- 110 - E. V. Thomas, A primer on multivariate calibration, *Anal. Chem.*, **66** ( 1994 ) 795A - 804A.