

UNIVERSIDADE ESTADUAL DE CAMPINAS

INSTITUTO DE QUÍMICA

DEPARTAMENTO DE QUÍMICA ANALÍTICA

**DETERMINAÇÃO VOLTAMÉTRICA DE
MOLIBDÊNIO(VI) UTILIZANDO UM
SISTEMA TERNÁRIO HOMOGÊNEO DE
SOLVENTES**

Alex Magalhães de Almeida

Tese de Doutorado

Orientador: Prof. Dr. João Carlos de Andrade

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

Al64d Almeida, Alex Magalhães de
Determinação voltamétrica de molibdênio (VI)
utilizando um sistema ternário homogêneo de
solventes / Alex Magalhães de Almeida. --
Campinas, SP: [s.n.], 2003

Orientador: João Carlos de Andrade

Tese (Doutorado) – Universidade
Estadual de Campinas, Instituto de Química.

1. Molibdênio. 2. Voltametria adsortiva.
3. Sistema ternário. 4. Plantas. I. Andrade, João
Carlos de. II. Universidade Estadual de
Campinas. III. Título.

Eis a vida

Guerreiros de uma nova era,
Senhores supremos da batalha do porvir
Aqueles que hoje sabem como lutar amanhã
Seres capazes de iludir o futuro no presente
Homens que fazem do tempo apenas mais
uma coordenada da guerra
Introspectivamente são inteligentes,
Externamente são esquálidos e dependentes.
A nova guerra que travam
Desenvolve a cada dia o que têm de melhor.
A batalha também cresce a cada instante
Tudo que sobra é a energia gasta que se usa novamente,
O ânimo que se renova,
O fogo do amanhã,
A surpresa do ontem
Nada é questionado
Tudo é possibilidade,
Afinal é uma guerra.

Alex

Nenhum homem é livre se a sua mente não é como uma porta de vai-e-vem, abrindo-se para fora a fim de liberar suas próprias idéias e para dentro a fim de receber os bons pensamentos de outrem.

Validivar

A Marilaine

Pelo carinho, amor, apoio incondicional em todos os momentos. Com você tenho uma dívida que só poderei pagar , ficando ao seu lado e devolvendo.tudo que tem me dado de bom!! Te amo!!

A Guilherme, Victor Hugo e Morgana

As pessoas que mais me ensinam a viver e conviver!

Aos meus pais e irmãos

Amigos de caminhadas, conselheiros de horas oportunas, e sustentáculo em vários momentos.

Aos amigos que mesmo distantes, nunca deixaram de estar presentes.

Agradecimentos

Ao Instituto de Química da UNICAMP.

À Seção de Fertilidade do Solo e Nutrição de Plantas do Instituto Agronômico de Campinas.

Ao CNPq, pela bolsa concedida.

Ao prof. Dr. João Carlos de Andrade, pela orientação e estímulo constante.

Ao Prof. Aleixo pelas discussões e conhecimentos envolvendo eletroquímica e por sua amizade incondicional.

Aos colegas de laboratório: Aline, Flávia, Gyda, Edenir, Clésia, André Romero, Araceli, Fabiola, Cláudio, Melissa, Rejane e Kennedy, pelo companheirismo e discussões salutares.

À Mônica pelas medidas de ICPOES e colaboração incondicional.

À Luciana (Técnica), pela prestimosa ajuda inicial com o equipamento e pela amizade ao longo do tempo.

Sumula curricular

Nome: Alex Magalhães de Almeida

Nome em citações bibliográficas: ALMEIDA, A. M.

E-mail: alexmaal@yahoo.com.br

Formação Acadêmica

1999 - 2003 Doutorado em Química.

Universidade Estadual de Campinas, UNICAMP, Campinas, Brasil

Título: Determinação Voltamétrica de Molibdênio (VI) em Sistemas Ternários

Homogêneos de Solventes., Ano de obtenção: 2003

Orientador: Prof. Dr. João Carlos de Andrade

Bolsista CNPq

1996 - 1999 Mestrado em Química.

Universidade Estadual de Campinas, UNICAMP, Campinas, Brasil

Título: A Resina de Troca Iônica Como Extrator Multielementar em Análise de

Solos Para Fins de Fertilidade, Ano de obtenção: 1999

Orientador: Prof. Dr. João Carlos de Andrade

Bolsista CNPq

Estágio

Estágio Supervisionado No Instituto Agronômico de Campinas na Seção de Fertilidade do Solo. Processo SAA número 21.138/96 com duração de 856,0 horas.

Monitoria

Monitoria da disciplina Química Geral I, para o curso de Química (UFU) 02/1992 - 07/1992.

Monitoria da disciplina Química Geral para o ciclo básico de Engenharia (UFU) 08/1992 - 12/1992.

Monitoria da disciplina Química Geral para o ciclo básico de Engenharia (UFU) 08/1995 - 06/1996.

Produções bibliográficas

Artigos publicados em periódicos internacionais: 2

Trabalhos publicados em anais de eventos: 14

Demais tipos de produção bibliográfica: 1

Resumo

O molibdênio é um elemento que participa dos processos de catálises enzimáticas, da composição de ligas metálicas e lubrificantes e é também considerado essencial para a nutrição de animais e plantas. Entretanto, os níveis de concentração encontrados nessas matrizes, são muito baixos, o que torna difícil seu monitoramento e detecção. Nesses casos, isso só é possível quando se faz uso de métodos analíticos sensíveis, geralmente associados a procedimentos que envolvem um grande número de etapas.

Desenvolveu-se um novo método eletroanalítico utilizando a técnica de voltametria adsorbtiva de redissolução (AdSV) em um sistema ternário homogêneo de solventes (HTSS), minimizando ao máximo os problemas encontrados na determinação de molibdênio Mo(VI) nos diferentes tipos matrizes. O sistema de solventes é constituído pelo tampão acetato, etanol e N, N-dimetilformamida (DMF), que foi estudado e otimizado com o uso de planejamentos estatísticos para misturas.

Nas condições otimizadas, a curva de calibração obedece a uma equação polinomial do tipo $I = 0,261 + 0,196[C_{\text{Mo(VI)}}] - 0,005[C_{\text{Mo(VI)}}]^2$ com $r^2 = 0,998$, para concentrações de Mo(VI) até 5 µg/L. Para concentrações entre 0,2 e 2 µg/L de Mo(VI) obtém-se uma calibração linear que segue a equação $I = 0,386 + 0,206[C_{\text{Mo(VI)}}]$, com $r^2 = 0,997$. Nestas condições, o limite de detecção estimado é de 20 pg/L e o desvio padrão relativo (RSD) é de 0,43%, calculado com base no sinal obtido para a concentração de 0,72 µg/L de Mo(VI).

Estudos univariados mostraram que apenas íons ferro (Fe^{3+}) e íons fosfato são interferentes em potencial no método, desde que as razões de Fe/Mo e P/Mo sejam superiores a 500 e 100 respectivamente. Entretanto, estudos multivariados mostraram que o método é mais resistente à ação desses interferentes e que as razões Fe/Mo e P/Mo podem chegar a valores iguais a 8000 e 136000 respectivamente.

O método desenvolvido foi aplicado na determinação de Mo(VI) em amostras de aço inoxidável e os resultados obtidos foram comparados com determinações efetuadas por plasma de argônio acoplado indutivamente (ICP-OES). Da mesma forma, empregou-se esse método na determinação de Mo(VI) em plantas. Os resultados foram comparados com valores da mediana fornecidos pelo "International Plant-analytical Exchange" (IPE) (Wageningen Agricultural University the Netherlands) e determinações por absorção atômica com forno de grafite (GFAAS). Efetuou-se ainda a determinação de Mo(VI) em amostras farmacêuticas. Os resultados foram comparados com os obtidos pela determinação com forno de grafite e pelo teste de recuperação efetuado em amostras dopadas com 100 µg de Mo(VI). Em todos os casos o método desenvolvido apresentou bom desempenho e praticidade na execução, sem a necessidade de etapas de separação ou pré-concentração.

Abstract

Molybdenum is an element that participates in enzymatic catalysis process, is used in the production of metallic alloy and lubricants, and is also considered essential for animals and plants nutrition. However, the concentration levels found in these matrices are very low, which complicates its detection and monitoring. In such cases, this can only be possible when sensible analytical methods are used, in general involving procedures with a large number of steps.

An electroanalytical method was developed using the adsorptive stripping voltammetry technique (AdSV) in a homogeneous ternary solvent system (HTSS), minimizing problems encountered in molybdenum (Mo(VI)) determinations in different types of matrices. Aided by statistic planning procedures for mixtures the HTSS was studied and optimized, made up of acetate buffer, ethanol and dimethylformamide (DMF).

Under the optimized conditions, the calibration curve obeys a polynomial equation of the type $I = 0.261 + 0.196[C_{\text{Mo(VI)}}] - 0.005[C_{\text{Mo(VI)}}]^2$ with $r^2 = 0.998$, for concentrations of Mo(VI) up to 5 $\mu\text{g/L}$. For concentrations between 0.2 e 2 $\mu\text{g/L}$ of Mo(VI), there was obtained a linear calibration that follows the equation $I = 0.386 + 0.206[C_{\text{Mo(VI)}}]$, with $r^2 = 0.997$. Under these conditions, the estimated detection level is 20 pg/L and the relative standard deviation (RSD) is 0.43%, calculated based on the obtained signal for the concentration of 0.72 $\mu\text{g/L}$ of Mo(VI).

Univariate studies showed that only iron and phosphate ions are potential interferents in the method, in the ratios of Fe/Mo and P/Mo are higher than 500 and 100 respectively. However, multivariate studies indicate that the method is more resistant to the action of these interferents, and that the ratio limits are 8000 and 136000 respectively.

The developed method was applied to the determination of molybdenum in steel samples and the results were compared with determinations by inductively coupled plasma-atomic emission spectrometry (ICP-OES). In the same way, this method was used to determine molybdenum in plants. The results were compared with median values provided by "International Plant-analytical Exchange" (IPE) (Wageningen Agricultural University the Netherlands) and determinations by graphite furnace atomic absorption spectrometry (GFAAS). The determination of Mo(VI) was also carried out using pharmaceutical samples. The results were compared with those obtained using a graphite furnace and with the results of the recovery test, where samples doped with 100 μg of Mo (VI). In all these cases the developed method presented a good performance and practicality in the execution, without needing separation and pre concentration steps.

ÍNDICE

Índice de figuras.....	XXII
Índice de tabelas.....	XXV
I – Introdução.....	1
I.1 – O molibdênio	1
I.2 – Procedimentos de extração e determinação de molibdênio.....	3
I.3 – Uma pequena introdução à voltametria.....	7
I.3.1 – Voltametria Clássica.....	7
I.3.2 – A Voltametria de Pulso Diferencial.....	8
I.3.3 – Voltametria de redissolução.....	8
I.3.4 – Voltametria de Redissolução Anódica.....	9
I.3.5 – Voltametria Adsorptiva de Redissolução.....	13
I.4 – O Complexante α -benzoinoxima (α BO).....	16
I.5 – O planejamento simplex-centroíde.....	17
I.6 – Pseudocomponentes	20
I.7 – Sistemas ternários de solventes.....	21
I.8 – Tratamento dos resultados voltamétricos neste trabalho.....	23
I.8 – Validação das medidas voltamétricas	25
II – Parte Experimental.....	27
II.1 – Reagentes e soluções.....	27
II.2 – Equipamentos utilizados nas determinações.....	28
II.3 - Estudos iniciais para as determinações voltamétricas de Mo(VI).....	31
II.3.1 - Solubilidade do eletrólito de suporte e do agente complexante nos solventes água, etanol e DMF e em misturas destes solventes.....	31
II.3.2 - Estudo inicial da composição do sistema de solventes	

utilizando uma mistura dos solventes água, etanol e DMF.....	32
II.4 – Estudo da composição do sistema composto por água-etanol-DMF, utilizando um planejamento simplex-centróide para misturas.....	33
II.5 – Estudos univariados do sistema de solventes para a determinação de molibdênio.....	37
II.6 – Curva de calibração, figuras de mérito e densidade do sistema ternário homogêneo de solventes (STHS) no ponto de ótimo.....	39
II.7 – Estudo univariado dos íons interferentes.....	39
II.8 – Obtenção da Curva de calibração e medidas das amostras...	40
II.9 – Determinação de molibdênio em amostras de aços.....	41
II.9.1 – Abertura das amostras de aços.....	41
II.9.2 – Determinação de Mo(VI) nas amostras de aço utilizando AdSV e o STHS em suas condições otimizadas.....	42
II.9.3 – Determinações utilizando ICPOES para validar os resultados obtidos por AdSV para as amostras de aço	43
II.10 – Determinação de molibdênio em plantas: A necessidade de um estudo multivariado para avaliar a interferência de ferro e fosfato.....	44
II.10.1 – Abertura das amostras: Procedimento geral.....	46
II.10.2 – Montagem do STHS para a determinação de Mo(VI) em plantas.....	47
II.10.3 – Validação dos resultados para as amostras de plantas.....	48
II.11 – Determinação de molibdênio em complexos polivitamínicos e poliminerais utilizando o STHS.....	48
III – Resultados e Discussões.....	50
III.1 – A solubilidade do eletrólito de suporte, acetato de sódio, nos	

diferentes solventes e em misturas.....	50
III.2 – Resultados dos estudos iniciais com um sistema de solventes utilizando uma mistura de água, etanol e DMF.....	52
III.3 – A melhor composição de solventes para o sistema água-etanol-DMF obtida pelo planejamento para misturas.....	55
III.3.1 – O modelo quadrático completo.....	57
III.3.1.1 – Verificando o ajuste do modelo quadrático.....	58
III.3.2 – O modelo cúbico especial.....	61
III.3.2.1 – Verificando o ajuste do modelo cúbico.....	62
III.3.3. – Avaliação dos modelos.....	64
III.3.3.1 – Escolhendo o ponto de ótimo do STHS.....	65
III.4 – Resultados dos estudos univariados no sistema de solventes para a determinação de molibdênio.....	67
III.5 – Resultados dos estudos univariados para avaliação dos interferentes na determinação de Mo(VI).....	79
III.6 – Resultados das determinações de molibdênio em amostras de aços.....	82
III.7 – Um estudo multivariado dos principais interferentes na determinação de Mo(VI) em plantas.....	84
III.7.1 – O modelo quadrático.....	85
III.8 – Determinação direta de molibdênio em plantas.....	89
III.9 – Determinação de molibdênio em complexos polivitamínicos e poliminerais utilizando o STHS.....	93
IV – Considerações finais.....	98
Apêndice – I.....	99
Apêndice – II.....	112
Referências Bibliográficas.....	113

Índice de Figuras

Figura-1: Foto de cultivos de soja com o solo contendo molibdênio e na ausência deste elemento.....	2
Figura-2: Fórmula estrutural do reagente α -benzoinoxima (α BO)....	17
Figura-3: Representação genérica do diagrama de Roozeboom para o sistema ternário homogêneo de solventes.....	22
Figura-4: Stand polarográfico Radiometer modelo MDE 150, utilizado nas determinações voltamétricas de molibdênio.....	28
Figura-5: Esquema de uma célula polarográfica com seus respectivos eletrodos.....	28
Figura-6: Representação esquemática dos limites do planejamento simplex-centroíde para o sistema ternário homogêneo de solventes	36
Figura-7: Resultados dos estudos preliminares para localizar a região de pico para o complexo Mo(VI)- α BO utilizando um sistema ternário homogêneo de solventes.....	53
Figura-8: Picos relativos às concentrações de 5, 10 e 20 μ g/L do complexo Mo- α BO na célula polarográfica, apresentada com a utilização do sistema ternário homogêneo de solventes composto por água, etanol e DMF.....	54
Figura-9: Localização do ponto de ótimo escolhido (M), na região estudada e delimitado pelo planejamento para os pseudocomponentes DMF, Etanol e Água.....	66
Figura-10: Resultados dos estudos para otimização do pH nominal do STHS nas condições de ótimo para a mistura no potencial de -1250 mV.....	68

Figura-11: Voltamogramas obtidos para o STHS nos pHs nominais de 3,0 e 3,5 para uma concentração de 3,0 $\mu\text{g/L}$ de molibdênio na célula polarográfica.....	70
Figura-12: Resultados obtidos no estudo da concentração de αBO no STHS composto por DMF:etanol:água.....	71
Figura-13: Voltamogramas obtidos após 15s de eletrodeposição....	72
Figura-14: Voltamogramas obtidos após 60 s de eletrodeposição...	73
Figura-15: Voltamogramas obtidos após 150 s de eletrodeposição..	73
Figura-16: Resultados das determinações efetuadas nos diferentes intervalos de tempo de acumulação nas três concentrações de molibdênio.....	74
Figura-17: Curva de calibração típica descrita pelo sistema ternário e utilizada na determinação de molibdênio.....	76
Figura-18: Curva descrita pelo sistema ternário no intervalo linear.	77
Figura-19: Picos característicos para o Mo(VI) , Cu^{2+} e Zn^{2+} , no sistema ternário otimizado, sendo $C_{\text{Mo(VI)}} = 6.0 \mu\text{g/L}$ e os demais íons 60 mg/L.....	79
Figura-20: Superfície de resposta em duas dimensões, mostrando as interações entre P(fosfato) (X1) e Fe(ferro) (X2), e os efeitos na determinação de Mo(VI) utilizando o STHS e AdSV. A concentração máxima de molibdênio é de 3,0 $\mu\text{g/L}$ e as de ferro e fosfato estão em mg/kg e g/kg respectivamente.....	88
Figura-21: Voltamogramas da amostra-1 pura e quando acrescida de 100/ μg de Mo(VI)	96
Figura-22: Voltamogramas da amostra-2 pura e quando acrescida de 100/ μg de Mo(VI)	96

Figura-23: Voltamogramas da amostra-3 pura e quando acrescida de 100/ μ g de Mo(VI).....	97
Figura-A: Curva de Calibração típica para a determinação de molibdênio, utilizando o STHS.....	105
Figura-B: Esquema de uma célula polarográfica com seus respectivos eletrodos.....	108

Índice de Tabelas

Tabela-1: Condições e parâmetros utilizados no polarógrafo Radiometer para leitura e determinação de molibdênio.....	29
Tabela-2: Condições e parâmetros utilizados ICPOES para leitura e determinação de diversos elementos.....	30
Tabela-3: Condições experimentais do FGAAS utilizadas na determinação de Mo(VI) para as amostra de complexos polivitamínicos.....	31
Tabela-4: Composições dos componentes utilizados no planejamento em massa (g), e a ordem definida por sorteio para as leituras.....	33
Tabela-5: Composição dos componentes N, N-dimetilformamida (DMF), etanol e água, utilizados no planejamento com valores expressos em %m/m.....	37
Tabela-6: Massas aferidas para as amostras de açós.....	41
Tabela-7: Valores dos comprimentos de onda para os elementos investigados.....	43
Tabela-8: Valores de referência do "International Plant - Analytical Exchange (IPE)" para macro e micro nutrientes em amostras de plantas.....	45
Tabela-9: Variáveis e níveis do planejamento do tipo estrela a ser efetuado.....	45
Tabela-10: Valores de massa aferidos para os complexos polivitamínicos.....	48

Tabela-11: Resultados referentes aos testes de solubilidade do acetato de sódio em água, etanol, N, N-dimetilformamida (DMF) e em misturas destes solventes, apresentados em %m/m.....	51
Tabela-12: Resultados das leituras efetuadas por voltametria adsortiva para o planejamento de misturas do sistema ternário de solventes.....	55
Tabela-13: Valores escalonados na forma de pseudocomponentes utilizados como matriz de planejamento para o sistema ternário homogêneo de solventes.....	56
Tabela-14: Comparação do sinal no ponto de ótimo com dois outros pontos para uma concentração de 3 µg/L de Mo(VI) e $2,0 \times 10^{-5}$ mol/L de complexante α BO, utilizando o STHS.....	67
Tabela-15: Resultados das aferições de massa de água, realizadas com o picnômetro para calibração.....	78
Tabela-16: Resultados das aferições de massa do STHS, realizadas para obter a densidade da mistura de solventes.....	78
Tabela-17: Comparação dos picos em solução aquosa com os obtidos no STHS nas condições otimizadas para a determinação de molibdênio.....	80
Tabela-18: Média dos resultados obtidos por ICPOES para a composição das amostras de aço em % m/m de cada elemento..	82
Tabela-19: Resultados relativos às determinações efetuadas por ICPOES e pelo método voltamétrico para o molibdênio, expressas em % m/m.....	83
Tabela-20: Resultados das determinações voltamétricas de molibdênio efetuadas com amostras de plantas do programa IPE, comparados com os valores da mediana faixa de aceite fornecidos pelo IPE, e os resultados fornecidos por FGAAS.....	91

Tabela-21: Valores de mediana e desvios absolutos das medianas fornecidos pelo IPE para as espécies interferentes encontradas em amostras de plantas e utilizadas neste trabalho.	92
Tabela-22: Valores percentuais obtidos pelo teste de dopagem e recuperação das amostras comparadas com os resultados obtidos pelo método voltamétrico.....	94
Tabela-23: Determinações de Mo(VI), pelo método voltamétrico, forno de grafite emitidos em $\mu\text{g/g}$ de comprimido, comparados com os valores apresentados pelo fabricante.....	95

I - INTRODUÇÃO

I.1 – O molibdênio

Do grego *molybdos*, esse elemento é encontrado na natureza, sempre ligado a outros elementos, principalmente na forma de MoS_2 conhecido como molibdenita, e em outras formas como a powellitita ($\text{Ca}(\text{MoW})\text{O}_4$), a molibdita ($\text{Fe}_2\text{O}_3 \cdot 3\text{MoO}_3 \cdot 8\text{H}_2\text{O}$) e a wulfenita (PbMoO_4), não sendo encontrado em sua forma livre. Apresenta as seguintes características: Símbolo químico = Mo; Número atômico = 42; Peso atômico baseado no isótopo do carbono 12 = 95,94 g/mol; Configuração eletrônica = $[\text{Kr}] 4d^5 5s^1$; Abundância na Terra = 1,5 ppm; Ponto de fusão = 2622°C ; Ponto de ebulição $\sim 4825^\circ\text{C}$.

O molibdênio é muito utilizado na produção de aços e ligas especiais com elevada resistência e dureza. Estas ligas são empregadas no fabrico de peças e dispositivos que serão sujeitos a grandes esforços (Mishra et al., 1990 e Konosu, 1995). Outra aplicação do molibdênio está em fazer parte da composição de lubrificantes, análogos ao grafite na forma de dissulfeto de molibdênio (Wypych, 2002). Alguns outros compostos de molibdênio são também utilizados como catalisadores na produção de gasolinas de elevada octanagem (Zhou et al., 1999), sendo ainda muito utilizado na indústria de corantes e pigmentos inorgânicos (Veleva et al., 1999). O molibdênio é também, um elemento considerado essencial às diversas formas de organismos vivos, principalmente vegetais, onde é encontrado na faixa de 0,1 a 3 mg/kg de matéria seca (Agri-fax, 1998),

atuando ativamente nos processos de nitrogenase, redutase de nitrato, oxidase de sulfato, está também relacionado ao transporte de elétrons em diversas reações bioquímicas e na fixação de nitrogênio (Burgmayer et al., 1985; Sauer et al., 1998). A falta de molibdênio no solo, onde a concentração adequada deve estar entre 0,11 a 0,20 mg/kg, pode ocasionar nas plantas uma menor síntese da enzima nitrogenase, com conseqüente redução da fixação biológica de nitrogênio, causando sérias complicações no desenvolvimento e produção de uma lavoura, como pode ser visto na Figura-1, que mostra na região mais clara da foto o efeito da menor presença de molibdênio no solo, o que resulta nas deficiências já comentadas.



Figura-1: Foto de cultivos de soja com o solo contendo molibdênio e na ausência deste elemento (EMBRAPA, 2000).

Pela grande necessidade das plantas em obter molibdênio do solo, garantindo aos agricultores o desenvolvimento satisfatório de suas lavouras, existe um enorme interesse em se obter uma forma de monitoramento deste elemento em solos e plantas. Em função deste fato são encontrados na literatura vários procedimentos que são utilizados para a determinação de molibdênio nos mais diferentes tipos de matrizes, em especial nos vegetais. A seguir, encontram-se descritas algumas dessas formas de se conseguir a quantificação de molibdênio e os raciocínios que levaram ao desenvolvimento de um novo e eficiente método, com etapas bem simplificadas para se efetuar a quantificação do elemento em plantas e outras matrizes complexas.

I.2 – Procedimentos de extração e determinação de molibdênio

Há um número considerável de métodos que possibilitam a determinação de molibdênio nos mais diferentes tipos de matrizes (Welsch, 1985; Chikhalicar et al., 1997; Bejan, 1999; Mousavi e Karami, 2000; Canfranc et al., 2001). Entretanto, os valores de concentração em que é encontrado nos diferentes tipos de matrizes é da ordem de $\mu\text{g/kg}$ ou $\mu\text{g/L}$ (Mills et al., 1987; Lavado, et al., 1999 e Davies, 1997), apresentando-se desta forma como um elemento que exige muito cuidado no efetuar dos procedimentos de extração e determinação, o que implica, para alguns casos, em um grande número de etapas a serem realizadas, tornando a maioria dos métodos desenvolvidos extremamente trabalhosos (Sung, et al., 1997 e Zhao, 1990).

Inúmeros trabalhos foram desenvolvidos nos últimos anos (Vasquez-Gonzalez et al., 1989; Li, et al., 1997 e Inan et al., 1999) visando à determinação de molibdênio nos diferentes tipos de matrizes. Dentre eles, estão os métodos espectrofotométricos, que têm na colorimetria (Harvey, 2000), o seu mais antigo exemplo de método de análise espectroscópica, já tendo sido aplicado na determinação de molibdênio em plantas (Funge, 1970).

A maioria destes métodos requer etapas de separação e pré-concentração por diversos meios, alguns casos fazem uso de reagentes complexantes específicos e grande parte dos métodos espectroanalíticos utiliza mascarantes para evitar a ação de íons interferentes (Di, et al., 2001 e Mousavi e Karami, 2000). Estas etapas tornam os métodos espectrofotométricos muito trabalhosos.

Há também os métodos eletroanalíticos (Hsieh e Ong, 1992; Puri et al., 1998 e Safavi e Shams, 1999), que utilizam medidas de potencial, corrente ou carga em uma célula eletroquímica para obter o sinal pertinente ao analito de interesse. Dentre os métodos eletroquímicos, destacam-se os voltamétricos, que englobam um conjunto de métodos nos quais a informação sobre as características do analito é obtida através da medida de intensidade da corrente em função do potencial aplicado. Estes métodos caracterizam-se por utilizarem a gota de mercúrio suspensa e de tamanho especificado. Dentre os métodos voltamétricos destacam-se as técnicas voltamétricas de redissolução, que podem ser efetuadas de três formas: anódica, catódica e adsortiva (AdSV), sendo esta última a que mais se adequa às determinações para elementos que apresentam baixos teores de concentração nas diferentes matrizes, como é o caso do molibdênio. Os métodos de redissolução "*Stripping*", estão entre os que apresentam maior sensibilidade para a detecção dos mais diferentes

elementos porque incluem em sua primeira etapa uma adsorção da espécie a ser analisada na superfície da gota de mercúrio, e uma segunda etapa onde acontece a redissolução do analito, pelo uso de uma técnica de análise adequada para a espécie (anódica ou catódica). Os limites de detecção para estes métodos variam de 10^{-9} a 10^{-12} mol/L, dependendo do elemento ou substância que se deseja analisar.

Pelo fato de se poderem efetuar determinações ao nível de traços para vários elementos e pela simplicidade na execução dos métodos voltamétricos, que permitem, em alguns casos, a eliminação das etapas de separação e pré-concentração do analito (Sander, 1999), vêm-se utilizando estes métodos para os mais diferentes elementos, inclusive o molibdênio. Aproveitando que estes métodos são extremamente versáteis e que podem atingir níveis de concentração da ordem de 10^{-12} mol/L nas determinações, optou-se pelo uso da técnica de voltametria adsortiva de redissolução AdSV (Gao e Siow, 1996a, Gao e Siow 1996b e Sander, 1999), visando solucionar os problemas analíticos referentes à determinação de molibdênio para os diversos tipos de amostras, em especial as plantas.

A maioria dos métodos eletroquímicos existentes é executada em soluções aquosas (Jonnalagadda e Dumba, 1993), porém não existem impedimentos em se utilizar um meio não aquoso para se realizar as medidas, visto que, na literatura são encontrados alguns trabalhos nos quais as determinações são realizadas em sistemas não aquosos (Nakabayashi et al., 1996 e Orlik e Gritzner, 1996).

Nas condições em que são efetuadas as determinações por AdSV, o uso de solventes combinados é favorecido por se obter um acréscimo no sinal analítico para alguns elementos (Gadomska e Stojek, 1998) e pelo fato destes possibilitarem o uso de agentes complexantes que são solúveis

apenas em compostos não aquosos, agentes estes que são seletivos e, em alguns casos, específicos para o analito. O uso desses complexantes proporciona às determinações maior sensibilidade e confiabilidade na medida, o que torna possível as determinações diretas, evitando-se etapas de separação ou de pré-concentração no procedimento.

Dentre os solventes não aquosos utilizados em voltametria adsortiva encontra-se a N,N-dimetilformamida (DMF) cuja combinação com água incrementa o sinal analítico para vários elementos em determinações eletroquímicas (Gadomska e Stojek, 1998). Optou-se então, pela sua utilização para a determinação de molibdênio, visando obter um acréscimo do sinal da espécie de interesse em relação aos métodos desenvolvidos em sistemas aquosos.

O agente complexante α -benzoinoxima (α BO), é um reagente bastante seletivo para o molibdênio e que já foi empregado em procedimentos de extração com determinação espectrofotométrica (de Andrade et al., 1998), bem como em determinações eletroquímicas pelo sinal do complexo α BO-Mo (Gao e Siow, 1996a). Este reagente não solubiliza em água, mas é solúvel em etanol e parcialmente solúvel em clorofórmio (Onishi, 1989), assim, incluiu-se o etanol como componente da mistura de solventes a ser utilizada na determinação de molibdênio neste trabalho.

Desta forma, iniciou-se o desenvolvimento de um método que permitisse a determinação de molibdênio através de um sistema de mistura, utilizando uma fase aquosa constituída pelo tampão acetato (eletrólito de suporte), etanol contendo o agente complexante seletivo e a N,N-dimetilformamida que de acordo com a literatura causa um incremento no sinal analítico da espécie de interesse.

I.3 – Uma pequena introdução à voltametria

A voltametria consiste em obter informações qualitativas e quantitativas de uma espécie química, a partir do registro de curvas corrente x potencial realizadas durante o processo de eletrólise dessa espécie numa célula eletroquímica. Esta célula é constituída de pelo menos dois eletrodos, a saber: o eletrodo de trabalho e um eletrodo de referência. O potencial é aplicado entre os dois eletrodos, variando-o a uma velocidade constante em função do tempo. O potencial e a corrente resultante são registrados simultaneamente, obtendo-se a curva corrente x potencial chamada de voltamograma. A seguir descrevem-se algumas técnicas voltamétricas utilizadas em determinações diversas, suas características e a técnica adotada para a realização deste trabalho.

I.3.1 – Voltametria Clássica

A voltametria ou polarógrafia clássica de corrente contínua é uma técnica muito limitada pois, não consegue determinar espécies químicas com concentrações abaixo de 10^{-4} a 10^{-5} mol/L. A análise de traços tem exigido que as determinações sejam realizadas em concentrações da ordem de 10^{-12} mol/L, ou em valores inferiores. Desta forma, esta técnica não é muito utilizada atualmente. (Harvey, 2000, Bond, 1999)

I.3.2 – A Voltametria de Pulso Diferencial

Uma melhoria instrumental considerável foi conseguida com o desenvolvimento das técnicas de pulso, principalmente a de pulso diferencial, onde as medidas de corrente e as aplicações de potencial na forma de pulsos são realizados em pequenos intervalos de tempo. Na técnica de pulso diferencial aplica-se um pulso de potencial superposto em uma rampa de potencial linearmente crescente. O pulso aplicado é de pequena amplitude (10 a 100 mV), sendo imposto durante 50 a 60 ms perto do final da vida da gota, quando o crescimento da gota de mercúrio já cessou. A corrente é amostrada em dois intervalos de tempo de cerca de 15 ms cada um; o primeiro intervalo imediatamente antes da aplicação do pulso, e o segundo próximo do final do tempo de vida da gota. O valor final da corrente é a diferença entre esses dois valores medidos (Christian e O'Reilly, 1986).

I.3.3 – Voltametria de redissolução

Com desenvolvimento das técnicas de pulso diferencial e de onda quadrada, chegou-se a determinações da ordem de 10^{-7} a 10^{-8} mol/L. Entretanto, para a análise de traços é necessário chegar-se a limites abaixo dos mencionados, o que não se consegue apenas utilizando-se medidas polarográficas ou voltamétricas usuais. Essas medidas, também chamadas de medidas diretas, são afetadas pela chamada corrente de fundo, que é a corrente residual. Essa corrente apresenta os dois componentes, o faradaico e o capacitivo. O faradaico, devido a impurezas

e oxigênio dissolvido pode ser minimizado pelo uso de reagentes puros e desaerando-se a solução. O capacitivo é minimizado pela forma de amostragem da corrente. Essa amostragem de fato não zera a corrente capacitiva, apenas a minimiza. Assim, quando a concentração atinge valores da ordem de 10^{-8} mol/L, a corrente faradaica torna-se muito baixa e fica encoberta pela corrente de fundo chegando ao limite da técnica.

Uma forma de resolver esse problema é utilizar processos de pré-concentração da substância a ser determinada, de maneira que a corrente faradaica possa aumentar suplantando a de fundo, estendendo os limites de detecção na análise voltamétrica. A pré-concentração apresenta a vantagem de poder ser feita no próprio eletrodo de trabalho, sendo, sob este aspecto, bastante fácil e conveniente a sua utilização.

I.3.4 – Voltametria de Redissolução Anódica

Uma técnica que utiliza processos de pré-concentração é a voltametria de redissolução anódica (VRA) ou do inglês, *Anodic Stripping Voltammetry* (ASV) (Gonçalves, 1996, Skoog et al., 1992 e Aleixo, 2003), muito utilizada na determinação de metais pesados, uma vez que podem ser depositados no eletrodo de mercúrio através de eletrólise de soluções de seus íons. Nesta técnica a etapa de pré-concentração consiste de uma eletrodeposição em um potencial constante e controlado da espécie eletroativa, sobre um eletrodo estacionário. Esta etapa é seguida por uma etapa de repouso e uma de determinação, sendo que esta última consiste na redissolução da espécie anteriormente eletrodepositada tornando-a uma solução novamente. Inicialmente ajusta-se o potencial do eletrodo a um valor suficientemente negativo para reduzir os íons à sua forma

metálica, que por sua vez é eletrodepositada sobre o eletrodo. A eletrólise é feita sob agitação constante num tempo suficiente para concentrar o analito na superfície do eletrodo, a partir de um volume relativamente grande da solução sobre um volume muito menor do eletrodo de trabalho. A seguir, deixa-se a solução em repouso por alguns segundos para o sistema entrar em equilíbrio. Na etapa seguinte procede-se à varredura de potencial para valores mais positivos (anódicos), o analito é redissolvido retornando à solução, devido à sua reoxidação. Ao ocorrer a reoxidação a corrente varia, e como no caso da redução, há a formação de um pico com o valor de potencial anódico praticamente igual ao do potencial catódico para um sistema reversível. A corrente de pico obtida é proporcional à concentração do analito.

A pré-concentração faz com que a concentração na gota de mercúrio, devido ao seu volume minúsculo, seja muito maior que na solução, obtendo-se assim um sinal analítico bem maior relativo à concentração presente na solução, explicando-se o aumento da sensibilidade da técnica. As três etapas envolvidas na voltametria de redissolução anódica são:

Etapas de Deposição

Esta etapa principia por escolher o eletrodo de trabalho mais adequado. Os mais usados são: os eletrodos de mercúrio de gota pendente, de mercúrio de gota estática, de filme de mercúrio e de carbono vítreo. Praticamente não há diferença entre os eletrodos de mercúrio de gota pendente e de gota estática, apenas na maneira de amostrar a corrente nas células modernas. Os eletrodos de mercúrio são mais vantajosos na determinação de metais pesados pois muitos deles formam amálgamas, produzindo sinais mais reprodutíveis do que os depósitos metálicos formados na superfície de eletrodos sólidos. Os eletrodos

estacionários de gota de mercúrio são usados para concentrações acima de 1 ng/mL e os de filme de mercúrio para concentrações abaixo de 1 ng/mL ("ppb"). O eletrodo de filme de mercúrio é mais sensível que o de gota, pois ele tem um volume bem menor. Mas para concentrações acima de 1 ng/mL ele pode formar compostos intermetálicos, o que produz interferências nas determinações.

Uma vez escolhido o eletrodo, a deposição é feita eletroliticamente aplicando-se o potencial de deposição durante um determinado tempo e com agitação da solução. O tempo de deposição é escolhido em função da espécie eletroativa, ficando geralmente entre 30 s e 3 min. Tempos muito longos devem ser evitados, pois podem produzir sinais fora da região de proporcionalidade entre a corrente e a concentração. A agitação faz com que o transporte de massa por convecção mantenha a concentração da espécie eletroativa, junto à superfície do eletrodo, igual à do resto da solução, permitindo um depósito maior do metal em um dado tempo de deposição do que se o processo de transporte de massa fosse difusional. Nesta etapa, ocorrerá então a redução do metal e conseqüentemente a sua deposição sobre a superfície do eletrodo.

Etapa de repouso ou tempo de equilíbrio

Após completar a deposição do metal, a agitação cessa durante alguns segundos deixando a solução em repouso, para que a concentração do metal depositado homogeneíze-se, entrando em equilíbrio na superfície do eletrodo.

No eletrodo de gota de mercúrio esse equilíbrio é atingido após a concentração do metal uniformizar-se pela sua difusão na gota. Isto requer cerca de 15 a 20 segundos. Para o eletrodo de filme de mercúrio este tempo é de cerca de 5 segundos, devido ao volume bem menor do

filme em relação à gota. O tempo correspondente a esta etapa é chamado de tempo de repouso.

Etapa de Redissolução

Nesta etapa faz-se a varredura de potencial na direção anódica onde o voltamograma será registrado, obtendo-se o sinal analítico de acordo com a técnica voltamétrica escolhida. O metal ou metais depositados se redissolverão quando os seus potenciais de pico forem atingidos. As técnicas voltamétricas mais comuns escolhidas nesta etapa são a de corrente contínua (DC), chamada aqui de voltametria de varredura linear (LSV), "*Linear Stripping Voltammetry*" (Skoog et al., 1992); a voltametria de pulso diferencial e a voltametria de onda quadrada. A voltametria de varredura linear é mais rápida do que a de pulso diferencial (pode-se usar varreduras de até 1 V/s), mas não discrimina a corrente capacitiva, não sendo portanto, adequada para concentrações abaixo de 20 – 30 ng/mL. Abaixo de 20 ng/mL pode-se usar o pulso diferencial, que é uma técnica mais sensível por discriminar a corrente capacitiva. Se a voltametria de onda quadrada de varredura rápida for possível, ela pode ser usada pois reúne as vantagens do pulso diferencial e da LSV, resultando em varreduras rápidas com alta sensibilidade.

A ASV apesar de ser uma técnica muito sensível e conveniente para a análise de traços, ela é praticamente restrita a metais que apresentam solubilidade no mercúrio, sendo aplicável a cerca de 30 elementos. Ela pode também ser aplicada a alguns compostos iônicos e a algumas substâncias orgânicas, que formam compostos pouco solúveis com o mercúrio e ficam depositados junto à superfície do eletrodo. Nestes últimos dois casos a voltametria de redissolução é normalmente usada com varreduras catódicas, ou seja, no modo de voltametria de redissolução catódica (CSV) ou do inglês, "*Cathodic Stripping*

Voltammetry", uma vez que as espécies acumuladas no eletrodo sofrerão redução. Quanto aos metais, somente alguns poucos podem ser determinados pela voltametria de redissolução catódica, tais como Mn e Pb. Eles são determinados na forma de seus óxidos depositados na superfície de eletrodos sólidos, como de carbono ou platina.

I.3.5 – Voltametria Adsorptiva de Redissolução

As limitações apresentadas pela ASV e CSV (Skoog et al., 1992; Harvey, 2000 e Aleixo, 2003), podem ser removidas através da técnica voltamétrica chamada de voltametria adsorptiva de redissolução. Esta técnica foi desenvolvida recentemente tendo em vista justamente superar os limites impostos pela ASV e CSV e ampliar o uso da voltametria em análise de traços.

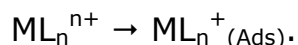
Na voltametria adsorptiva, a pré-concentração é feita pela adsorção da espécie eletroativa na superfície do eletrodo. No caso de metais isto é feito através de seus íons complexos. Adiciona-se então à solução contendo o íon metálico um complexante adequado e o complexo formado (metal-ligante) é que será acumulado junto à superfície do eletrodo. Dessa maneira a pré-concentração não depende da solubilidade do metal no mercúrio, como no caso da voltametria de redissolução convencional, e metais pouco solúveis (no mercúrio) poderão ser determinados. Devido a essas características, a técnica também é aplicável a um número ilimitado de substâncias orgânicas, bastando que elas apenas tenham propriedades superfície-ativa, para poderem ser adsorvidas na superfície do eletrodo de trabalho, e que sejam, evidentemente, eletroativas.

Quanto a detectabilidade, o limite de detecção pode chegar a valores ao redor de 100 vezes menor dos que os observados na voltametria de redissolução anódica. Podem ser usados eletrodos de mercúrio, onde se obtém limites de detecção de até 10^{-12} mol/L, ou eletrodos sólidos, principalmente na região anódica, com limites de detecção da ordem de 10^{-8} a 10^{-10} mol/L. As propriedades adsorptivas podem ser verificadas por voltametria cíclica, de pulso diferencial, cronocoulometria, etc. As espécies a serem adsorvidas necessitam possuir um coeficiente de adsorção maior que 10^{-4} cm.

O esquema de pré-concentração utilizado na voltametria adsorptiva por redissolução (AdSV, "*Adsorptive Stripping Voltammetry*") é análogo ao da voltametria de redissolução convencional, ASV.

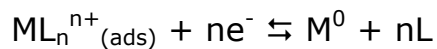
Etapas de pré-concentração

Os parâmetros usados nesta etapa são basicamente os mesmos já discutidos para a ASV, sendo apenas diferentes os processos de acumulação e de redissolução. Para a determinação de um metal M na presença do ligante L, formando o complexo a ser adsorvido ML_n . Pode-se usar um potencial análogo ao potencial de deposição da ASV, o potencial de acumulação, para obter-se uma pré-concentração mais seletiva, embora isso não seja necessário em muitos casos. Aqui também existirá um tempo de acumulação, análogo ao da ASV, que também é cronometrado, durante o qual a espécie de interesse será adsorvida sobre a superfície do eletrodo. As reações envolvidas nesta etapa são:



Etapas de redissolução

Como nesta técnica o processo envolvido na interface eletrodo-solução é a adsorção, não há a necessidade de um tempo de repouso ou de equilíbrio, como no caso da ASV, onde ocorre eletrodeposição de metais, e difusão dos mesmos no mercúrio. Assim, após terminar a pré-concentração, pode-se proceder a redissolução, fazendo-se a varredura usualmente na direção catódica, usando-se a técnica voltamétrica mais adequada. Aqui também poderá ser obtido um pico, como no caso da ASV, e a reação pode ser representada por:



ou seja, como o metal foi adsorvido, ele será reduzido a partir do ponto onde o potencial atingir o valor do potencial de decomposição, e o valor de potencial de pico E_p também é correspondente ao potencial de meia onda ($E_{1/2}$) da onda polarográfica. Assim, a varredura de potencial aqui será catódica, e não anódica como no caso da ASV, onde o metal pré-concentrado será reoxidado. Na voltametria adsortiva por redissolução também há a possibilidade do ligante sofrer redução ou oxidação no processo de redissolução do complexo adsorvido, se o ligante usado for uma espécie eletroativa. Assim, o seu sinal também poderá ser usado para a determinação do metal. Para o caso de substâncias orgânicas o processo é análogo. Experimentos para verificar propriedades adsortivas Para que uma substância possa ser determinada pela voltametria adsortiva por redissolução (AdSV) ela precisa apresentar propriedades de adsorção, ou seja, a sua superfície deve ser ativa junto à superfície do eletrodo de trabalho, além de ser, evidentemente, eletroativa em uma dada região de potencial. Isto pode ser feito usando-se as próprias técnicas de voltametria de pulso diferencial e de onda quadrada. Por exemplo, no caso de um metal, adiciona-se um complexante na solução e o complexo formado poderá adsorver-se ou não sobre a superfície do eletrodo. Se for feita a

varredura no sentido catódico em vários tempos de "espera", ou seja, de acumulação, e o pico do voltamograma de pulso diferencial ou onda quadrada aumentar a cada vez, de modo análogo a esse tipo de estudo com a ASV, é indicação de que o complexo estará sendo adsorvido. Aumentando-se o tempo de acumulação, aumenta-se a adsorção e a concentração do complexo na superfície do eletrodo, aumentando-se então a corrente de pico a cada etapa, enquanto não houver saturação da superfície. Se não houver alteração da altura do pico voltamétrico antes de uma eventual saturação, o íon complexo formado não estará sendo adsorvido e não apresentará coeficiente de adsorção apropriado ao uso desta técnica.

Pelos motivos aqui apresentados, a técnica AdSV foi adotada para o desenvolvimento deste trabalho.

I.4 – O Complexante α -benzoinoxima (α BO)

A α BO possui fórmula estrutural mostrada na Figura-2, apresentando solubilidade de acordo com a literatura (Onishi, 1989) nos seguintes solventes: é solúvel em etanol na ordem de 100 g/L, em clorofórmio da ordem de 6,0 g/L, em água da ordem de 0,3 g/L, não possuindo dados com relação à solubilização em outros solventes.

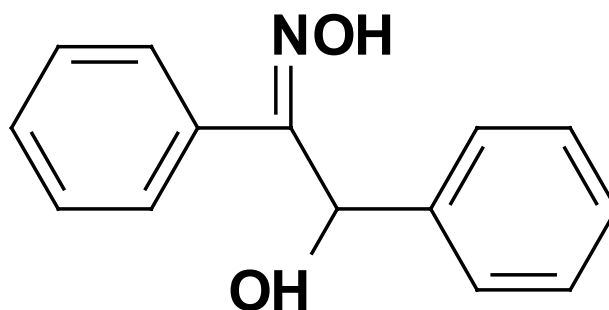


Figura-2: Fórmula estrutural do reagente α -benzoinoxima (α BO).

É um reagente considerado seletivo para molibdênio, tendo já sido utilizado por Cuelbas (1994) na extração de molibdênio em clorofórmio e posterior determinação espectrofotométrica. Também já foi utilizada em determinações eletroquímicas (Gao e Siow, 1996a) para o mesmo elemento. Por ser um reagente seletivo, e pelo fato de já ter sido utilizado em procedimentos de extração e determinação de molibdênio, e também pelo fato do complexo Mo- α BO apresentar um sinal característico utilizando a técnica AdSV. Por estes motivos, escolheu-se a α BO para ser o agente complexante a ser utilizado no decorrer deste trabalho.

1.5 – O planejamento simplex-centroíde

A utilização de misturas de solventes como meio reacional nos métodos de determinação tem garantido um aumento na sensibilidade e na seletividade das determinações (Manjerekar e Argekar, 1995), proporcionando a obtenção de novos e mais robustos métodos a serem aplicados na análise desejada. Eiras, et al. (1994), utilizaram um planejamento de misturas para estudar os efeitos dos solventes água,

etanol e metilisobutilcetona na determinação de cobre por espectrofotometria de absorção atômica, e obteve uma mistura otimizada dos três solventes, o que proporcionou considerável aumento na sensibilidade do método. Na determinação de molibdênio, após extração com α BO, Cuelbas (1994), otimizou uma mistura de água, etanol e clorofórmio como meio reacional entre molibdênio e tiocianato, com o objetivo de aumentar a sensibilidade do método. Para isto ele utilizou um planejamento experimental de misturas denominado de "simplex-centroíde" (Scheffé, 1963), na região de fase única do sistema de solventes.

Para maior entendimento esclarece-se que um experimento com misturas é aquele no qual dois ou mais componentes são misturados, em quaisquer proporções, e obtém-se uma resposta para cada conjunto de componentes, assumindo-se geralmente, que esta resposta é função somente das proporções dos componentes da mistura e não da quantidade total da mistura.

Em geral um experimento com misturas tem a pretensão de tornar possível, através de análises de superfícies de respostas, qual a estimativa das propriedades de um sistema multicomponente, tendo como ponto de partida um número limitado de observações. Essas observações são obtidas de combinações pré-selecionadas dos componentes na tentativa de se determinar quais delas, de alguma forma, realmente otimizam o sistema.

O planejamento denominado de "simplex-centroíde", envolve observações referentes a todos os subconjuntos dos (q) componentes, mas somente nas misturas onde esses componentes aparecem em iguais proporções. No "simplex-centroíde" um número de $2^q - 1$ observações é utilizado, o que reduz a quantidade de experimentos e ainda permite ajustar um modelo denominado de "cúbico especial".

Para obter as equações de regressão, os modelos matemáticos devem ser ajustados aos dados obtidos pelo planejamento experimental. A equação de resposta Y pode ser estimada utilizando um polinômio derivado de uma série de Taylor (Cornell, 1990). Desta forma, de uma maneira geral, sugere-se as seguintes formas polinomiais para misturas:

Equação linear

$$Y(X_1, X_2, \dots, X_q) = b_1X_1 + b_2X_2 + \dots + b_qX_q$$

Equação quadrática

$$Y(X_1, X_2, \dots, X_q) = b_1X_1 + b_2X_2 + \dots + b_qX_q + b_{12}X_1X_2 + b_{13}X_1X_3 + \dots + b_{q-1}X_{q-1}X_q$$

Equação cúbico especial

$$Y(X_1, X_2, \dots, X_q) = b_1X_1 + b_2X_2 + \dots + b_qX_q + b_{12}X_1X_2 + b_{13}X_1X_3 + \dots + b_{q-1}X_{q-1}X_q + b_{12\dots q}X_1X_2\dots X_q$$

Quando os valores da resposta são obtidos dos pontos do planejamento experimental, os coeficientes “b” dos modelos podem ser estimados utilizando o método dos mínimos quadrados por meio da equação matricial,

$$B = (X^t.X)^{-1}.X^t.Y$$

onde Y é o vetor coluna de dimensão $(N \times 1)$ contendo os valores de resposta para cada mistura. Cada linha X , de dimensão $(N \times p)$, corresponde a uma mistura e contém a mesma ordem vertical no vetor Y , enquanto B é um vetor coluna de dimensão $(p \times 1)$ formado pelos coeficientes do modelo, sendo p o número de parâmetros do modelo. Sendo o “simplex-centroíde” um planejamento bastante utilizado na otimização de misturas, que apresenta grande suporte matemático que permite explicar as interações que ocorrem no sistema, utilizou-se este planejamento para otimizar o sistema de solventes deste trabalho, composto por água, etanol e DMF.

I.6 – Pseudocomponentes

Nos experimentos realizados com misturas, muitas vezes não é possível trabalhar com otimização usando os pontos do planejamento simplex correspondentes aos seus valores de componentes puros, como é o caso do trabalho aqui apresentado. Neste caso pode-se trabalhar com valores de pseudocomponentes, que não são os componentes puros, mas uma mistura fixa dos vários componentes. Desta forma o experimento fica restrito a uma sub-região do planejamento, e as variáveis passam a obedecer à desigualdade:

$$0 \leq l_i \leq X_i \leq S_i \leq 1$$

onde l é o limite inferior, S o limite superior, $i = 1, 2, \dots, q$ e os pseudocomponentes, representados por X'_i , são gerados a partir dos componentes originais, definidos da seguinte forma:

$$X'_i = (X_i - l_i)/(1-L)$$

onde:

X'_i é o valor do pseudocomponente

X_i é o valor real do componente

l_i é o valor do limite inferior

L é obtido pela somatória dos limites inferiores

$$L = \sum_{(i=1)}^q l_i < 1$$

Assim os modelos podem ser obtidos em função dos pseudocomponentes e as interpretações são similares às aquelas com componentes originais (Cornell, 1990).

I.7 – Sistemas ternários de solventes

Como já foi mencionado, na realização deste trabalho utilizar-se-á um sistema de solventes formado por três componentes. Esses são formados por combinações de solventes orgânicos com soluções inorgânicas em um só sistema homogêneo de solventes. Tal fato, não é novidade em química analítica, principalmente no que diz respeito à extração de elementos metálicos (Martins, 1974; Silva e Martins, 1992 e de Andrade et al., 1998). Os primeiros trabalhos envolvendo sistemas homogêneos de solventes, foram realizados com a intenção de se ter uma forma de extração eficiente que pudesse ser colocada em contraposição à extração líquido-líquido convencional (De et al., 1970 e Skoog et al., 1992). O idealizador desse sistema de extração, com finalidades analíticas de separação, o Dr. José Walter Martins (1974), baseou-se nos trabalhos de Murata e Ikeda (1970). Martins utilizou uma solução líquida ternária composta de uma fase aquosa, um solvente orgânico imiscível na fase aquosa e um outro solvente orgânico que é mutuamente miscível na fase aquosa e no primeiro solvente orgânico. Esta composição foi denominada pelo autor como fase única (FU).

A visualização do sistema ternário de solventes pode ser realizada utilizando-se o diagrama ternário de Roozeboom (Moore, 1959 e Atkins, 1991), que definirá as composições em % m/m, do sistema dividindo-o em duas regiões, monofásica e bifásica. Uma representação genérica do diagrama de sistema ternário pode ser observada na Figura-3 mostrada a seguir.

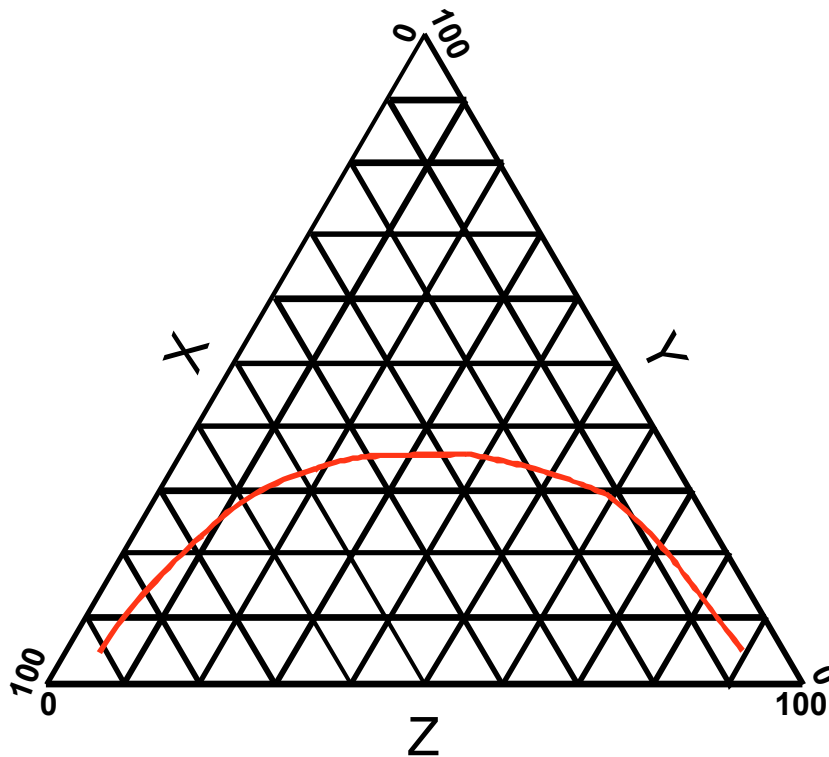


Figura-3: Representação genérica do diagrama de Roozeboom para o sistema ternário homogêneo de solventes.

Para melhor entendimento do diagrama, esclarece-se que os pontos localizados acima da curva binodal (em vermelho), compõem a mistura homogênea dos solventes, ou seja, a FU. Já os pontos localizados abaixo da curva apresentam duas fases para os solventes. E os pontos localizados exatamente sobre a curva binodal apresentam como característica uma solução turva, indicando o limite entre a FU e as fases separadas, este ponto é chamado de “ponto de opalescência”. Ter clareza dos fenômenos que ocorrem nessas regiões ajuda na escolha da composição da FU para o trabalho a ser realizado, bem como o melhor procedimento a ser adotado na etapa de extração.

A extração com sistemas FU conta com a colaboração do agente complexante solúvel apenas numa das fases e na FU, para que a extração

seja o mais eficiente possível. A solubilização do complexante somente numa fase após a extração, visa a garantir que a formação do complexo ocorra somente na FU, e que posteriormente na separação de fases, o complexo formado esteja presente apenas na fase em que é solúvel.

As extrações por FU foram utilizadas para diversos elementos porém, em nenhum dos trabalhos menciona-se a determinação direta no sistema homogêneo de solventes. Pelo fato dos sistemas FU permitirem um contato íntimo entre um agente complexante solúvel numa fase orgânica e o íon de interesse contido numa fase aquosa, resolveu-se em utilizar os sistemas homogêneos de solventes para determinação de molibdênio empregando-se métodos eletroquímicos de análise conforme descrito nesta introdução.

I.8 – Tratamento dos resultados voltamétricos neste trabalho

Os dados voltamétricos obtidos foram tratados utilizando-se os conhecimentos descritos a seguir:

Curva Padrão:

Também conhecido como método da curva de calibração ou ainda curva analítica. Com este tratamento, mede-se a corrente voltamétrica de soluções padrão em várias concentrações da substância em estudo, colocando-se os valores de corrente de pico ou corrente de difusão, versus os valores de concentração em um gráfico de coordenadas cartesianas. A curva obtida apresenta um comportamento linear na região de concentração de interesse, passando pela origem no caso das técnicas clássicas. No caso de técnicas mais sensíveis, devido as correntes de

fundo, ela pode não passar pela origem, o que não afeta o uso do método. A concentração é calculada pela interpolação da corrente medida da amostra na curva. Geralmente a corrente usada na curva é correspondente à altura máxima de pico, mas pode-se também usar a área de pico, quando isto for conveniente.(Aleixo, 2003, Harvey, 2000).

Adição de Padrão

A adição de padrão é utilizada com o objetivo de minimizar-se o problema de efeito de matriz. Como uma matriz complexa geralmente tem espécies presentes que afetam as propriedades da substância a ser determinada, por exemplo, amostras contendo substâncias que alteraram a força iônica do meio ou que complexam-se com metais, mudando suas características eletroquímicas. A idéia é realizar as medidas experimentais nas mesmas condições ou mais próximas possíveis das condições da matriz.

Nesse procedimento, a amostra é adicionada à célula polarográfica juntamente com o eletrólito de suporte e a corrente referente à espécie de interesse é registrada. A seguir, adiciona-se sobre a solução da amostra uma alíquota de alguns microlitros da solução padrão do analito, de tal modo que a variação do volume total seja desprezível. Por exemplo, se a solução da amostra tiver um volume de 10 mL, adiciona-se uma alíquota do padrão de 10 μ L. Após a adição do padrão, lê-se a corrente referente à soma da concentração do analito mais a concentração adicional da solução padrão do analito adicionada. Usualmente adiciona-se pelo menos três alíquotas da solução padrão, registrando-se a corrente após cada adição. O volume adicionado é escolhido de tal forma a não ocorrer diluição apreciável da amostra, o que alteraria as suas condições originais, que aqui só são alteradas praticamente pela variação da concentração do analito.

Como as medidas com os padrões são feitas em condições muito próximas das condições da amostra, o efeito de matriz é significativamente minimizado, ou seja, as interferências que afetam as medidas da corrente referente ao analito presente na amostra, afetarão da mesma maneira as medidas das correntes referentes ao analito mais as alíquotas da solução padrão sucessivamente adicionadas sobre a amostra. Com os valores obtidos das correntes da amostra e dos padrões, constrói-se uma curva corrente x. concentração. A corrente da amostra, é colocada no eixo "y" para o valor 0 (zero) do eixo "x". Os próximos valores da corrente total de amostra mais padrões, para cada adição de padrão, são colocados no eixo "y" e as respectivas concentrações no eixo "x". O gráfico resultante deve dar uma reta. Essa reta é extrapolada até cortar o eixo da concentração (eixo "x") no lado negativo das coordenadas. O módulo do valor negativo obtido é o valor da concentração do analito da amostra na solução da célula polarográfica. Sabendo-se o volume total da solução na célula polarográfica e o volume da amostra original adicionado a ela, calcula-se então a concentração do analito na solução da amostra original (Aleixo, 2003; Christian e O'Reilly, 1986 e Harvey, 2000).

1.8 – Validação das medidas voltamétricas

Os resultados obtidos nas análises das amostras foram validados de diferentes formas, conforme a necessidade e o tipo de amostra envolvida. Assim, as amostras de aço foram validadas utilizando medidas de espectrometria de emissão ótica por plasma indutivamente acoplado (ICPOES) (de Andrade et al, 2001). O método voltamétrico desenvolvido foi validado ainda pela determinação efetuada em uma amostra certificada

do Instituto de Pesquisas Tecnológicas (IPT). As amostras de plantas foram validadas utilizando espectrometria de absorção atômica por forno de grafite (FGAAS) e os valores de referencia fornecidos pelo programa interlaboratorial do "International Plant - Analytical Exchange (IPE, 1997, 1999, 2000)". Os medicamentos foram validados utilizando medidas obtidas com FGAAS e determinações conhecidas como "teste de recuperação". Estas determinações consistem do enriquecimento da amostra com uma quantidade conhecida do padrão utilizado. A amostra mais o padrão passam por todo o procedimento de análise que a amostra sozinha passou previamente no procedimento usual de análise. O resultado obtido para a concentração do analito com a amostra enriquecida é subtraído do resultado obtido da amostra sozinha, sem o enriquecimento. A diferença deve dar o valor da concentração do padrão adicionado para o enriquecimento da amostra dentro do erro experimental. O resultado é expresso em termos de porcentagem de recuperação do padrão adicionado (Skoog et al., 1992).

Finalmente, utilizando os recursos e técnicas descritas até aqui, será mostrado a seguir o desenvolvimento, a otimização e aplicação do método voltamétrico empregando um sistema homogêneo de solventes, em amostras de aço, plantas e complexos vitamínicos (medicamentos), juntamente com os resultados e comentários pertinentes a cada caso, esclarecendo que o objetivo principal deste método é de conseguir a determinação de molibdênio em amostras de plantas da forma mais direta possível. Esta foi a diretriz mestra, que norteou todos os raciocínios e caminhos adotados no decorrer do trabalho.

II – Parte Experimental

II.1 – Reagentes e soluções

Todas as soluções foram preparadas utilizando água deionizada e reagentes com grau analítico ou superior. Todas as soluções estoque foram armazenadas em frascos de polietileno de alta densidade. No preparo das misturas ternárias foram utilizados frascos de vidro do tipo snap cap (vidros com tampas plásticas).

A solução estoque de molibdênio 1000 mg/L foi preparada a partir da diluição do conteúdo de uma ampola padrão Merck Titrisol contendo 1 mg de molibdênio.

Diversas soluções de α -benzoinoxima foram utilizadas no decorrer deste trabalho e estas foram preparadas em etanol ou em DMF. O preparo destas foi realizado pela dissolução de quantidades apropriadas do sal nos respectivos solventes, em volumes previamente calculados.

Como eletrólito de suporte, foram utilizadas soluções tampões de acetato/ácido acético em diferentes pHs, preparadas a partir da dissolução de quantidades apropriadas do sal e de ácido acético. Os pHs dos tampões foram ajustados de acordo com a necessidade empregando soluções de HCl 1,0 mol/L e NaOH 0,10 mol/L padronizadas.

II.2 – Equipamentos utilizados nas determinações

Todas as medidas voltamétricas foram realizadas em um polarógrafo Radiometer modelo POL 150 acoplado a um *stand* polarógrafo Radiometer modelo MDE 150, constituído por três eletrodos (Figura-4): o eletrodo de mercúrio como eletrodo de trabalho; o eletrodo de Ag/AgCl, KCl saturado como eletrodo de referência e um fio de platina como eletrodo auxiliar, sendo o esquema da célula polarográfica mostrado na Figura-5. O polarógrafo é acoplado a um microcomputador, que possui como software o programa Trace Master versão X9737-2.03, que é utilizado para o registro e aquisição das medidas.



Figura-4: Stand polarográfico Radiometer modelo MDE 150, utilizado nas determinações voltamétricas de molibdênio.

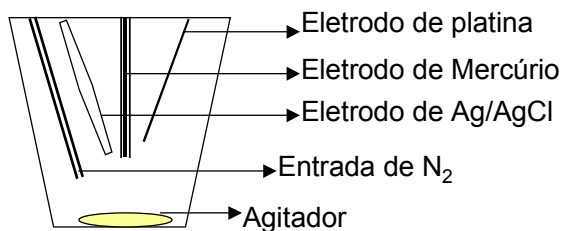


Figura-5: Esquema de uma célula polarográfica com seus respectivos eletrodos.

Nas determinações utilizou-se da técnica de voltametria adsortiva de pulso diferencial. Na célula são inseridos os eletrodos de trabalho, de referência e o auxiliar, sendo os parâmetros de leitura e determinação ajustados nas condições exibidas na Tabela-1:

Tabela-1: Condições e parâmetros utilizados no polarógrafo Radiometer para leitura e determinação de molibdênio.

Tempo de purga	300 s
Grau de agitação	400 rpm
Troca de gotas de mercúrio no capilar antes do processo de eletrólise	2
Tempo de eletrólise	150 s*
Tempo de taxa de crescimento da gota	0,5 s
Intervalo de pulso	40,0 ms
Amplitude de pulso	50,0 mV
Tempo de espera para iniciar a eletrólise	0 s
Corrente mínima	100 nA
Corrente máxima	1,0 mA
Duração dos passos	1,0 s
Amplitude dos passos	5,0 mV

*Este tempo de eletrólise foi definido após estudos de otimização para a determinação de molibdênio com o uso do sistema ternário de solventes.

As determinações realizadas por ICP-OES foram efetuadas num equipamento da marca Jobin Yvon JY50P simultâneo, ajustado nas condições operacionais mostradas na Tabela-2:

Tabela-2: Condições e parâmetros utilizados ICPOES para leitura e determinação de diversos elementos.

Frequência	40,680 MHz
Potência	1000 W
Monocromador	Paschen-Runge
Grade holográfica	3600 ranhuras/mm
Tempo de integração	5s
Nebulizador	CROSS-FLOW
Vazão de Argônio	12 L/min
Purga de N ₂	0,6 L/min
Vazão de amostra	1,5 mL/min
λ para o molibdênio	202,032 nm

As determinações por espectrometria de absorção atômica com forno de grafite foram realizadas em um aparelho da Perkin-Elmer modelo AA Winlab equipado com corretor de fundo Zeemann. As medidas foram realizadas na linha de 313,3 nm para o molibdênio, de acordo com o manual da Perkin-Elmer, sendo que as condições de queima e atomização da amostra pelo FGAAS obedeceram às etapas descritas na Tabela-3. Como modificador de matriz, foi utilizada uma solução de Pd(0,005mg) + Mg(NO₃)₂(0,003mg). Esse modificador foi adicionado para atuar como supressor para a interferência de outros elementos, e também visando alcançar uma maior sensibilidade e repetibilidade nas leituras.

Tabela-3: Condições experimentais do FGAAS utilizadas na determinação de Mo(VI) para as amostra de complexos polivitamínicos.

Etapas	Temperatura (°C)	Tempo de rampa (s)	Tempo de queima (s)
Secagem - 1	110	5	30
Secagem - 2	130	15	30
Pirólise	1400	10	20
Atomização	2500	0	7
Limpeza	2550	1	5

Os pHs das soluções e dos sistemas ternários foram determinados utilizando-se de um pHmetro Metrohm modelo 691 com eletrodo de vidro combinado.

II.3 - Estudos iniciais para as determinações voltamétricas de Mo(VI)

II.3.1 - Solubilidade do eletrólito de suporte e do agente complexante nos solventes água, etanol e DMF e em misturas destes solventes

Verificou-se inicialmente a solubilidade do sal acetato de sódio em água, em etanol e em DMF, considerando-se a massa de 0,820 g do referido sal para preparar 100 mL de uma solução 0,1 mol/L. Verificou-se da mesma forma a solubilidade do sal em composições das misturas dos

três solventes. E para os cálculos considerou-se: $d_{\text{água}} = 0,997 \text{ g/cm}^3$ a uma temperatura de $22 \pm 1^\circ\text{C}$, $d_{\text{DMF}} = 0,950 \text{ g/cm}^3$, $d_{\text{Etanol}} = 0,789 \text{ g/cm}^3$. A solubilidade do sal foi avaliada para um valor fixo deste, inicialmente nos solventes puros e em seguida nos solventes misturados em diferentes valores percentuais m/m. Testou-se e avaliou-se da mesma forma a solubilidade da αBO nas razões utilizadas de água, etanol e DMF.

II.3.2 – Estudo inicial da composição do sistema de solventes utilizando uma mistura dos solventes água, etanol e DMF

Na literatura são encontradas determinações voltamétricas de molibdênio utilizando o agente complexante αBO (Gao e Siow, 1996a). Estes trabalhos utilizam misturas binárias, e como já foi mencionado no capítulo de introdução deste trabalho, a combinação de DMF com água incrementa o sinal analítico pertencente ao elemento (Gadomska e Stojek, 1998). Verificou-se então, se o mesmo poderia ocorrer em um sistema de solventes contendo uma fase aquosa formada por um tampão de acetato de sódio/ácido acético, etanol (contendo αBO) e DMF, da seguintes forma: O sistema de solventes foi montado adicionando-se 5,0 mL de DMF pura, 15,0 mL de etanol contendo o complexante e 7,0 mL da solução tampão. Para o pH nominal do sistema e o valor de concentração para a αBO , foram usados os valores encontrados por Gao e Siow (1996a), sendo estes respectivamente de 3,0 e de $2 \times 10^{-5} \text{ mol/L}$, na célula polarográfica. Os parâmetros de leitura e determinação do polarógrafo foram ajustados nas condições mencionadas, exceto o tempo de eletrólise, que foi inicialmente proposto para 60 s.

II.4 – Estudo da composição do sistema composto por água-etanol-DMF, utilizando um planejamento simplex-centróide para misturas

Visando obter a melhor composição do sistema ternário homogêneo de solventes (STHS), com base nos dados obtidos com os experimentos realizados inicialmente, efetuou-se um planejamento do tipo simplex-centróide (Barros Neto et al., 2001), onde foram consideradas as combinações de solventes mostradas na Tabela-4.

Tabela-4: Composições dos componentes utilizados no planejamento em massa (g), e a ordem definida por sorteio para as leituras.

Pontos do planejamento	Ordem das leituras	Massa dos componentes (g)		
		DMF	Etanol	Água
1	9	1,5	0,0	28,5
2	8	0,0	1,5	28,5
3	2	0,0	22,5	7,5
4	4	22,5	0,0	7,5
5	9	12,0	0,0	18,0
6	1	11,25	11,25	7,5
7	3	0,0	12,0	18,0
8	7, 10, 11	6,0	6,0	18,0
9	5	12,93	4,31	12,75
10	6	3,375	3,375	23,25
11	12	4,31	12,93	12,25

Em função de não se obter uma total solubilização do acetato de sódio em DMF ou em etanol puros, e do complexante α -benzoinoxima em água, fez-se necessário adotar um valor mínimo para cada um dos solventes para se conseguir a presença de todos os reagentes necessários na determinação. Os componentes envolvidos no planejamento foram convertidos em valores de pseudocomponentes (Cornell, 1990) de acordo com o descrito no capítulo de introdução. Isto pelo fato de ser necessária a presença de todos os solventes para a realização dos experimentos. E para o planejamento consideraram-se as seguintes condições:

Utilizaram-se 5% das misturas binárias na forma de DMF ou etanol contendo α BO, correspondendo este valor percentual a 1,5 g de solvente, que na mistura total apresentaria a concentração de α BO.

A solução de acetato 0,1 mol/L teve seu pH ajustado em 1,5, visando facilitar o controle do pH nominal de sistema ternário para 3,0.

Utilizando a equação-1

$$X_i' = (X_i - L_i)/(1 - L) \quad \text{(Equação-1)}$$

têm-se os valores dos vértices do planejamento. Onde, $X_i = X_1, X_2, X_3$ respectivamente para DMF, etanol e água, sendo

$$L = 0,05 + 0,05 + 0,25 = 0,35$$

Desta forma, estabeleceram-se os limites do planejamento em:

$$0 \leq X_1' \leq 0,75$$

$$0 \leq X_2' \leq 0,75$$

$$0,25 \leq X_3' \leq 0,95$$

Têm-se os pontos extremos (vértices) definidos na forma (X_1, X_2, X_3)

$$P_1 = (0,95; 0,05; 0)$$

$$P_2 = (0,95; 0; 0,05)$$

$$P_3 = (0,25; 0,75; 0)$$

$$P_4 = (0,25; 0; 0,75)$$

Os pontos médios das misturas binárias foram calculados utilizando-se da equação-2

$$P_m = \frac{1}{2}(A + B) \quad \text{(Equação-2)}$$

sendo P_m o ponto médio, A e B os pontos de vértice P_1 e P_3 , P_4 e P_2 , P_1 e P_2 . Têm-se então estes pontos na forma (X_1, X_2, X_3)

$$P_5 = (0,40; 0; 0,60)$$

$$P_6 = (0,375; 0,375; 0,25)$$

$$P_7 = (0; 0,40; 0,60)$$

O ponto central foi calculado através da equação-3

$$P = \frac{1}{4}(P_1 + P_2 + P_3 + P_4) \quad \text{(Equação-3)}$$

ficando este ponto localizado nas coordenadas

$$P_8 = (0,20; 0,20; 0,60).$$

Os pontos de verificação, foram obtidos dividindo-se a área da superfície compreendida entre os pontos dos vértices, em três subáreas. Em seguida calcularam-se os pontos centrais das subáreas aplicando a equação do ponto central (Equação-3) nas 3 subáreas. Obtendo-se então os pontos de verificação na forma (X_1, X_2, X_3)

$$P_9 = (0,57; 0,19; 0,23)$$

$$P_{10} = (0,15; 0,15; 0,70)$$

$$P_{11} = (0,19; 0,57; 0,23)$$

A representação gráfica para os limites do planejamento pode ser observada na Figura-6, nela estão localizados os 4 pontos dos vértices do simplex, os 3 pontos médios das arestas, o ponto central do simplex e os 3 pontos de verificação. Em todas as situações, fixou-se a concentração de αBO em $2,0 \times 10^{-5}$ mol/L, a de molibdênio em 3,0 $\mu\text{g/L}$ e o pH nominal do STHS em 3,0. Cada ponto do planejamento corresponde a valores em gramas (g) para os componentes da mistura, mostrados na Tabela-4. A grandeza massa foi escolhida para ser utilizada no experimento, pelo fato de se poder trabalhar com um valor final fixo.

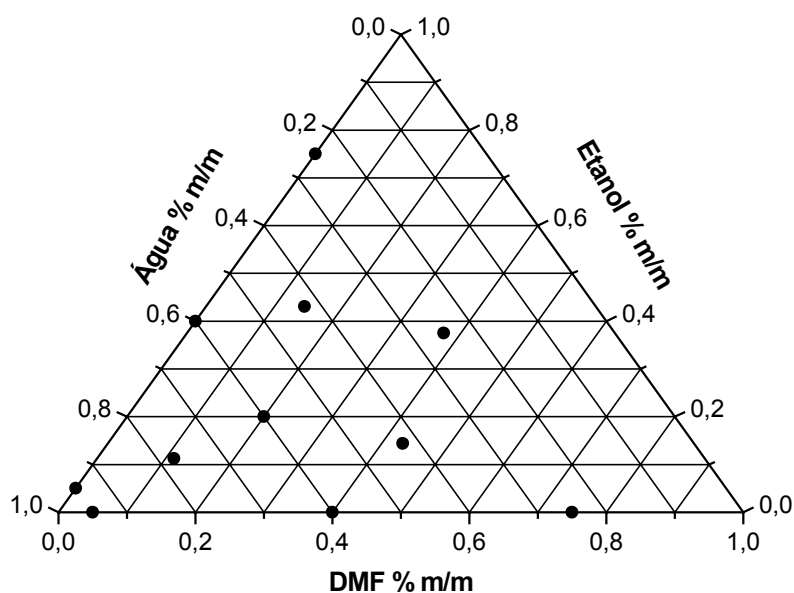


Figura-6: Representação esquemática dos limites do planejamento simplex-centroíde para o sistema ternário homogêneo de solventes.

Na Tabela-5 são mostrados os pontos do planejamento com valores em %m/m, dos componentes participantes das misturas entre os solventes DMF, etanol e água. Todas as misturas foram preparadas medindo-se as massas dos componentes em balança analítica com precisão de $\pm 0,1$ mg, sendo a massa total de cada mistura igual a 30,0 g. Todas as leituras foram efetuadas em triplicata, de acordo com a ordem de execução definida através de sorteio. Realizaram-se todas as medidas utilizando-se o polarógrafo Radiometer nas condições já especificadas na Tabela-1.

Os resultados obtidos foram utilizados na modelagem do sistema ternário homogêneo de solventes, utilizando-se o programa MIXREG descrito por Barros Neto et al. (2001). Realizou-se a modelagem de duas maneiras: uma utilizando o modelo quadrático completo, outra o cúbico especial. Em ambos os casos efetuaram-se a análise de variância dos

modelos, obtiveram-se os coeficientes para as respectivas equações do STHS, e com estas efetuou-se a construção de superfícies de respostas, chegando-se finalmente, às condições de ótimo da mistura ternária.

Tabela-5: Composição dos componentes N, N-dimetilformamida (DMF), etanol e água, utilizados no planejamento com valores expressos em %m/m.

Pontos do planejamento	% m/m dos componentes		
	DMF	Etanol	Água
1	5	0	95
2	0	5	95
3	0	75	25
4	75	0	25
5	40	0	60
6	37,5	37,5	25
7	0	40	60
8	20	20	60
9	43,1	14,4	42,5
10	11,3	11,3	77,5
11	14,4	43,1	42,5

II.5 – Estudos univariados do sistema de solventes para a determinação de molibdênio

Todas as misturas foram preparadas utilizando-se os seguintes valores em massa para os componentes do STHS:

8,2 g de solução de acetato e 3,0 µg/L de Mo(VI)

10,6 g de etanol puro

1,5 g de DMF contendo o complexante αBO

9,7 g de DMF pura

Efetuar-se as leituras entre o potenciais de -1050 a -1400 mV.

Nas condições mencionadas, e tendo-se a concentração final de αBO em $2,0 \times 10^{-5}$ mol/L, realizam-se as leituras das misturas para diferentes pHs nominais, visando determinar qual o melhor pH do sistema ternário de solventes, para se realizar as determinações de molibdênio. Utilizaram-se para tanto valores de pH nominais entre 1,5 e 4,8, empregando-se soluções de HCl 1,0 mol/L e NaOH 0,1 mol/L para serem obtidos os pHs desejados. Utilizou-se o melhor resultado de pH nominal obtido para os estudos subsequentes.

Nas condições mencionadas, realizou-se as leituras das misturas para diferentes concentrações do agente complexante αBO , e para tanto utilizou-se valores de concentração compreendidos entre 10^{-7} mol/L e 10^{-4} mol/L. Para se conseguir atingir as diferentes concentrações empregaram-se diferentes soluções de αBO preparadas em DMF. Utilizou-se nos estudos seguintes o melhor resultado obtido para o agente complexante.

Utilizando-se as condições otimizadas até aqui, verificou-se qual o melhor tempo de eletrodeposição ou acumulação para o STHS nos intervalos de 15 a 230 segundos, utilizando determinações efetuadas para as concentrações de 3, 6 e 9 $\mu\text{g/L}$ de molibdênio em cada intervalo de tempo.

II.6 – Curva de calibração, figuras de mérito e densidade do sistema ternário homogêneo de solventes (STHS) no ponto de ótimo

Nas condições de ótimo definidas pelos estudos multivariados e univariados, efetuaram-se a conversão dos valores de massa para volume de reagente, visando facilitar a montagem do STHS. A seguir, após a montagem do sistema em volume, obteve-se o perfil das curvas de calibração do STHS. Efetuaram-se estas medidas para concentrações de Mo(VI) compreendidas entre 0,25 e 9,25 µg/L. Realizou-se 5 determinações para cada ponto da curva, considerando-se as mesmas condições instrumentais dos experimentos anteriores.

Verificou-se ainda nestas condições a repetibilidade do sinal analítico para a concentração de 0,72 µg/L na célula polarográfica, efetuando-se 12 determinações para tanto. Foram calculados também os limites de detecção e determinação para o sistema ternário.

Determinou-se a densidade da mistura água, etanol e DMF, no ponto de ótimo utilizando-se de picnômetros devidamente calibrados com água deionizada, à temperatura de $22 \pm 2^{\circ}\text{C}$, visando conhecer o volume final da mistura ternária.

II.7 – Estudo univariado dos íons interferentes

Para as condições otimizadas do STHS verificou-se a interferência direta na determinação de molibdênio dos íons Al^{3+} , Ca^{2+} , Cd^{2+} , Co^{2+} ,

$\text{Cr}_2\text{O}_7^{2-}$, Cu^{2+} , Fe^{3+} , Mg^{2+} , Mn^{2+} , Ni^{2+} , fosfato, sulfato, Pb^{2+} , VO_3^- , WO_4^{2-} e Zn^{2+} .

Verificou-se o nível de interferência destes íons para uma proporção Metal/Mo(VI) de até 1000 vezes superior a de Mo(VI) na célula polarográfica, sendo a concentração de Mo(VI) fixada em $6,0 \mu\text{g/L}$. Realizaram-se as leituras entre os potenciais de varredura de +50 mV a -1500 mV.

Todas as medidas foram efetuadas no STHS adicionado à célula polarográfica entre os potenciais de +50 mV e -1400 mV, desaerando-se a mistura inicialmente por 5 minutos.

II.8 – Obtenção da Curva de calibração e medidas das amostras

Foi utilizado um pipetador automático para transferir 10,0 mL do STHS contendo o ponto da curva de calibração ou amostra para a célula polarográfica. Em seguida os eletrodos foram mergulhados na célula polarográfica e o programa de leitura do equipamento Radiometer foi acionado (A descrição completa das condições e utilização do polarógrafo está descrita no Apêndice-1). A seguir efetuaram-se os passos para a aquisição dos resultados onde o valor de corrente relativo ao complexo Mo- α BO foi utilizado para elaborar a curva de calibração e no caso das amostras, determinar o valor de concentração da mesma em correlação com a curva analítica traçada.

II.9 – Determinação de molibdênio em amostras de aços

Utilizando-se de uma balança analítica, foram pesadas em triplicata quatro amostras de aço, sendo três delas com valores desconhecidos para o molibdênio e uma com valor certificado em $2,54 \pm 0,03$ %m/m (IPT), (O certificado de análise desta amostra se encontra descrito no Apêndice-1). Os valores de massa para cada amostra são mostrados na Tabela-6.

Tabela-6: Massas aferidas para as amostras de aços.

Amostra	Massa-1(g)	Massa-2(g)	Massa-3(g)
IPT*	0,2007	0,2129	0,2090
2	0,2036	0,2034	0,2484
3	0,4376	0,5279	0,5575
4	0,1740	0,2599	0,2954

*Instituto de Pesquisas Tecnológicas - IPT

II.9.1 – Abertura das amostras de aços

Após a pesagem das amostras, estas foram transferidas para erlenmeyer de 125 mL. Nestes recipientes, devidamente identificados, adicionaram-se 20 mL de água régia (HCl:HNO₃ na proporção 3:1). Em seguida as amostras foram aquecidas até a fervura em chapa de aquecimento. A fervura foi mantida até a dissolução total do material. A evaporação foi permitida até que nos erlenmeyers restassem cerca de 5 mL de volume do material solubilizado. Após a solubilização, os 5 mL de

solução final foram transferidos para balões volumétricos de 100 mL, completando-se os volumes de cada recipiente com água deionizada. Transferiu-se por fim, as amostras para frascos de plástico de alta densidade devidamente identificados.

II.9.2 – Determinação de Mo(VI) nas amostras de aço utilizando AdSV e o STHS em suas condições otimizadas

Efetuaram-se determinações por voltametria adsorptiva de redissolução com as amostras de aço, procedendo-se primeiramente a uma etapa de diluição da ordem de 100 vezes para cada amostra. A seguir efetuou-se a montagem do STHS adicionando à fase aquosa do sistema ternário, uma alíquota de 0,300 mL da solução diluída da amostra, utilizando um micropipetador automático. A determinação voltamétrica foi realizada nas condições experimentais descritas anteriormente, para o equipamento radiometer (Tabela-1).

II.9.3 – Determinações utilizando ICPOES para validar os resultados obtidos por AdSV para as amostras de aço

Essas determinações foram realizadas diretamente na solução cujo volume foi aferido para 100 mL e foi utilizado um espectrômetro de plasma de argônio da marca Jobin Yvon modelo JY50P, simultâneo, nas condições operacionais descritas anteriormente (Tabela-2). Utilizaram-se

os comprimentos de onda mostrados na Tabela-7, para obter os valores de concentração dos demais elementos contidos nas amostras de aço:

Tabela-7: Valores dos comprimentos de onda para os elementos investigados.

Elementos	comprimentos de onda (λ) (nm)
Al ³⁺	308,215
Cd ²⁺	226,502
Co ²⁺	228,616
Cr(VI)	267,716
Cu ²⁺	324,754
Fe ³⁺	259,940
Mn ²⁺	257,610
Mo(VI)	202,032
Ni ²⁺	231,604
P (fosfato)	178,225
S (sulfato)	180,672
VO ₃ ⁻	292,402
Zn ²⁺	213,856

Os valores obtidos nas determinações com o ICPOES, foram todos convertidos para % m/m em relação à composição do aço, e estes resultados foram comparados com os conseguidos pela determinação efetuada com o sistema ternário utilizando o STHS.

II.10 – Determinação de molibdênio em plantas: A necessidade de um estudo multivariado para avaliar a interferência de ferro e fosfato

As determinações de molibdênio em amostras de aço utilizando o STHS, não foram afetadas pela presença de ferro ou mesmo dos outros elementos no resultado final, isto se deu em função da concentração de ferro não ser suficiente para afetar as determinações no STHS, conforme mostraremos mais adiante, no capítulo de resultados e discussões.

Entretanto, os níveis de íons ferro e fosfato encontrados em plantas (IPE, 1997, 1999, 2000) podem afetar os resultados das determinações de molibdênio, de acordo com o estudo univariado realizado. A concentração de fosfato encontrada em plantas é da ordem de g/kg, também relatada em mmol/kg a de ferro mg/kg e a de molibdênio está em $\mu\text{g/kg}$ como pode se constatar na Tabela-8, com valores para macro e micro nutrientes em amostras de plantas, fornecidos pelo "International Plant - Analytical Exchange" (IPE, 1997, 1999, 2000).

Como pode ser visto na Tabela-8 Os valores de concentração de ferro e fosfato encontrados em plantas não iriam, de acordo com o estudo univariado, permitir a determinação de Mo(VI) nas amostras de plantas da mesma forma em que se efetuou para o aço. Resolveu-se então avaliar a interferência destes elementos através de um planejamento estatístico em 2 níveis e com duas variáveis, onde se adotaram os valores mostrados na Tabela-9 para o limite inferior e superior de cada caso.

Tabela-8: Valores de referência do “International Plant - Analytical Exchange (IPE)” para macro e micro nutrientes em amostras de plantas.

Amostra	Al	Ca	Mg	P	Cu	B	Fe	Mn	Mo	Zn
Nº	mg/kg	mmol/kg	mmol/kg	mmol/kg	mg/kg	mg/kg	mg/kg	mg/kg	µg/kg	mg/kg
147	1085±212	228±10	143±6	106±4	10,3±0,6	12,0±1	757±47	67,9±2,6	808±80	37,0±2,1
148	265±43	572±21	67,4±2,5	75,2±1,7	4,4±0,4	34,3±1,5	230±15,5	40,0±1,2	341±39	19,8±0,8
146	548±131	142±6	67±2,9	110±4	8,1±0,8	10,1±1	840±74	272±11	1826±156	52,8±2,8
100	516±213	137±5	82±2,5	125±4	7,4±0,4	9,5±0,9	507±30	79,8±2,5	1560±106	33,1±1,1
678	62,4±6,6	204±7	111±4	54±2	6,3±1,3	11±0,6	90±9,7	305±16	127±33	29,8±2,6
980	121±9	409±15	149±5	142±6	4,5±0,5	32,0±1,8	179±14	92,6±3,4	848±127	55±2,3
145	1290±104	74,9±3,8	60,7±2,6	160±7	12,3±0,6	11,7±1,3	1300±170	82,6±5	391±37	73,7±2,3
883	2590±99	485±19	144±4	225±6	6,0±0,5	75,1±3,4	1252±84	139±6	1948±90	76,0±3
158	138±14	202±9	85,3±3	37,5±1,5	7,4±0,4	36±2,1	187±15	516±30	27±16	17,6±0,9
119	70,4±8,4	154±6	67,4±2,5	61±1,9	3,4±0,4	16±1	96,6±7,4	42,7±2,1	393±41	32,0±1,5

Tabela-9: Variáveis e níveis do planejamento do tipo estrela a ser efetuado.

Elemento	Concentração em mg/L nos níveis do planejamento				
	+	-	0	+2	-2
Fosfato g/kg	18	7	12,5	20	5
Ferro mg/kg	1035	215	625	1200	45

A concentração de Mo(VI) manteve-se constante em 3,0 µg/L na célula polarográfica em todos os níveis estudados. Todas as soluções foram preparadas simulando as condições de extratos de plantas para 1,000g de amostra seca. As leituras foram efetuadas entre os potenciais de -1050 a -1400 mV, mantendo-se todas as variáveis otimizadas e condições do equipamento anteriormente utilizadas.

Fez-se a modelagem dos resultados obtidos utilizando o programa MODREG (Barros Neto et al., 2001), visando avaliar estatisticamente as

possíveis interações dos íons entre si e as interferências em relação ao molibdênio.

II.10.1 – Abertura das amostras: Procedimento geral

Todas as determinações voltamétricas com o STHS foram feitas utilizando-se as amostras do programa “International Plant – Analytical Exchange” (IPE) do Agricultural University of Wageningen – The Netherlands. A abertura das amostras foi realizada da seguinte forma:

Pesou-se uma massa de 1 g, com precisão de 1 mg do material vegetal, em cadinhos de porcelana, colocando-se estes para queimar em uma mufla por 30 minutos a 200⁰C com a porta semi-aberta. Após este tempo a porta era fechada por completo e as amostras calcinadas por 2,5h a 500 – 550⁰C de temperatura. Após este período a mufla era desligada e o material é resfriado naturalmente, num período de ± 12 h. Após o resfriamento, as cinzas eram umedecidas com água deionizada, e em seguida mineralizadas com 2,0 mL de uma solução de HCl 6 mol/L, sob aquecimento constante em chapa aquecedora até a evaporação completa do ácido adicionado. A seguir, os resíduos eram novamente dissolvidos com 10 mL de HCl 2,0 mol/L (padronizado), aquecidos e filtrados quantitativamente. O material utilizado na mineralização e o resíduo retido no filtro eram lavados com outros 10 mL de HCl 2,0 mol/L (padronizado) e por fim com 10 mL de água. O filtrado era então recolhido em balão volumétrico de 50,0 mL e este tenha o seu volume completado com água deionizada.

II.10.2 – Montagem do STHS para a determinação de Mo(VI) em plantas

Em função do procedimento de abertura e da concentração de Mo(VI) encontradas em plantas, foram realizadas algumas mudanças na formação da fase aquosa para que a determinação com o STHS fosse possível. Estas serão descritas, detalhadas e explicadas mais adiante, no capítulo de resultados e discussões. Assim, descreve-se aqui apenas o procedimento de montagem do sistema.

Foram adicionados em um frasco de vidro do tipo “snap cap”, 4,0 mL de amostra ou da solução da curva de calibração. Logo após, adicionaram-se os reagentes componentes da fase aquosa na seguinte ordem: 2,0 mL de hidróxido de sódio 1,0 mol/L, 1,70 mL da solução tampão ácido acético/acetato de sódio 0,5 mol/L e 0,80 mL de água deionizada. Após a adição destes três reagentes verificou-se o pH da fase aquosa. Caso o pH esteja em torno de 2,20 ($\pm 0,05$) prossegue-se os demais passos do método, caso contrário ajusta-se o pH utilizando 3 gotas no máximo de uma base ou ácido 0,10 mol/L. Vale lembrar que o pH adotado deve ser o mesmo para todos os pontos da curva de calibração e amostras. Feito isto, o eletrodo do pHmetro foi lavado com 5,0 mL etanol P.A. coletando todo o resíduo resultante da lavagem no frasco snap-cap, a seguir adiciona-se os demais reagentes componentes do sistema ternário, na ordem: 8,0 mL de etanol P.A., 10,0 mL de N, N-dimetilformamida P.A. e 2,0 mL da solução de α -benzoinoxima $3,24 \times 10^{-4}$ mol/L em DMF.

Os frascos foram agitados vigorosamente, para homogeneizar o sistema, aguardando um intervalo de tempo de ± 5 minutos para que o sistema resfriasse, pois a interação dos solventes causa ligeiro aquecimento do mesmo.

II.10.3 – Validação dos resultados para as amostras de plantas

Validaram-se os resultados obtidos para as determinações realizadas por voltametria em amostras de planta, pela comparação com os valores da mediana fornecidos pelo IPE. Também foram efetuadas determinações por absorção atômica com forno de grafite, nas mesmas condições descritas anteriormente (Tabela-3).

II.11 – Determinação de molibdênio em complexos polivitamínicos e poliminerais utilizando o STHS

Os complexos polivitamínicos de diferentes marcas, aqui identificados como amostras 1, 2 e 3, foram pesados em triplicata apresentando as massas exibidas na Tabela-10:

Tabela-10: Valores de massa aferidos para os complexos polivitamínicos.

Amostra	Massa-1 (g)	Massa-2 (g)	Massa-3 (g)
1	1,0971	1,0988	1,1307
2	3,7768	3,8939	3,7143
3	1,2244	1,2324	1,2357

Após as pesagens as amostras, na forma de comprimidos, foram solubilizadas com 20 mL de HCl 1,0 mol/L e sob aquecimento constante a 60°C de temperatura. A seguir, transferiram-se as soluções para balões de

50 mL e completou-se o volume até a marca com uma solução de HCl 0,1 mol/L.

Utilizando-se das mesmas condições do sistema ternário e de determinação adotadas para as plantas, efetuaram-se as leituras das amostras dos complexos polivitamínicos, efetuando-se posteriormente os cálculos para as devidas comparações de resultados.

Efetuaram-se para cada amostra em triplicata a dopagem das mesma com 100 µg de molibdênio, com o objetivo de validar a determinação realizada anteriormente. Os resultados obtidos foram comparados com os valores fornecidos pelo fabricante e pela determinação na amostra do complexo isenta de dopagem.

Também foram realizadas, a título de validação, determinações por absorção atômica com forno de grafite, nas mesmas condições de calibração do equipamento descritas anteriormente (Tabela-3).

III – Resultados e Discussões

III.1 – A solubilidade do eletrólito de suporte, acetato de sódio, nos diferentes solventes e em misturas

A presença do eletrólito de suporte na célula eletroquímica, no caso a solução acetato de sódio/ácido acético, garante um decréscimo na resistência da solução e assegura que as espécies eletroativas movam-se por difusão na célula polarográfica (Christian e O'Reilly, 1986). O eletrólito de suporte também ajuda a manter o pH em um valor desejado, desta forma o uso de soluções tampão é altamente difundido para estas situações. Nas medidas voltamétricas efetuadas neste trabalho foram utilizadas soluções tampões de acetato de sódio/ácido acético, por serem estas largamente utilizadas nas mais diferentes formas de medidas eletroquímicas para inúmeros elementos, incluindo-se o molibdênio.

Os testes de solubilidade para o sal, acetato de sódio, apresentaram os seguintes resultados (Tabela-11), expressos em %m/m a 25 °C, considerando-se $d_{\text{Água}} = 0,99859 \text{ g/cm}^3$, $d_{\text{DMF}} = 0,950 \text{ g/cm}^3$ e $d_{\text{Etanol}} = 0,789 \text{ g/cm}^3$.

Nota-se, pelos resultados da Tabela-11 que existe uma necessidade de se ter 25% da massa da mistura de solventes composta por água. Isto deve acontecer para garantir a solubilização de quantidade suficiente do sal acetato de sódio nas misturas com etanol ou DMF, no preparo de uma solução 0,1 mol/L do sal.

Tabela-11: Resultados referentes aos testes de solubilidade do acetato de sódio em água, etanol, N, N-dimetilformamida (DMF) e em misturas destes solventes, apresentados em %m/m.

% Água	% Etanol	% DMF	Resultado
100	0	0	Solubilizou completamente
0	100	0	Não solubilizou
0	0	100	Não solubilizou
9	91	0	Não solubilizou
9	0	91	Não solubilizou
17	83	0	Solubilizou parcialmente
17	0	83	Solubilizou parcialmente
25	75	0	Solubilizou completamente
25	0	75	Solubilizou completamente

A α -benzoinoxima é um reagente seletivo para Molibdênio e muito utilizado em extrações do tipo líquido-líquido (Cuelbas, 1994). Ao verificar sua solubilidade em DMF, notou-se que o complexante solubiliza completamente neste solvente, não sendo necessário sequer agitar o recipiente e não importando qual a razão de α BO/DMF utilizada. Entretanto, para se ter o complexante α BO numa mistura binária do tipo etanol-água ou DMF-água, é necessário que pelo menos 2% dessa mistura seja de etanol ou DMF, o que garante quantidade suficiente de complexante para se ligar a todo o molibdênio que esteja presente na célula polarográfica.

III.2 – Resultados dos estudos iniciais com um sistema de solventes utilizando uma mistura de água, etanol e DMF

Sabe-se da literatura (Gadomska e Stojek, 1998; Orlik e Gritzner, 1996; Nakabayashi, et al., 1989) que o acréscimo de DMF à água incrementa o sinal analítico para vários elementos em determinações eletroquímicas. Gao e Siow (1996a) utilizaram 200 μL de uma solução de αBO solubilizada em etanol, sendo este volume adicionado a 10 mL de solução aquosa acetato de sódio/ácido acético com $\text{pH} = 3,0$, para efetuarem determinações de molibdênio utilizando AdSV. Com base nestas informações foi verificado se poderia ocorrer um acréscimo no sinal analítico ao se utilizar um sistema ternário de solventes formado por uma fase aquosa (solução tampão de acetato de sódio/ácido acético), etanol (contendo αBO) e DMF. O sistema ternário era composto de 5,0 mL de DMF pura, 15,0 mL de etanol contendo o complexante e 7,0 mL de solução tampão. O pH nominal do sistema manteve-se em 3,0 e a concentração de αBO na célula polarográfica permaneceu em $2 \times 10^{-5} \text{ mol/L}$, conforme o trabalho de Gao e Siow (1996a). Nas condições ajustadas do equipamento (Tabela-1) efetuaram-se as varreduras para localizar o pico característico do molibdênio entre os potenciais de -1200 a +50 mV. Realizaram-se leituras na presença e ausência de molibdênio, e nestas condições obteve-se um sinal característico do elemento por volta do potencial de -1070 mV (Figura-7), utilizando uma solução de 10,0 $\mu\text{g/L}$ na célula polarográfica. O sinal obtido na região de -1070 mV difere do relatado por Gao e Siow (1996a) que encontrou o pico característico do complexo $\text{Mo(VI)}-\alpha\text{BO}$ na região de -250 mV. Os resultados iniciais mostraram boa repetibilidade para os voltamogramas nas diferentes concentrações de molibdênio investigadas, como pode ser visto na Figura-8, que mostra os picos na

região característica para o molibdênio no sistema ternário constituído por 5,0 mL de DMF, 15,0 mL de etanol e 7,0 mL de solução tampão de acetato de sódio/ácido acético. Estes resultados obtidos com o STHS, apresentaram valores 10 vezes melhores aos conseguidos por Gao e Siow. Desta forma, abriram-se perspectivas para a utilização do STHS na determinação voltamétrica de molibdênio.

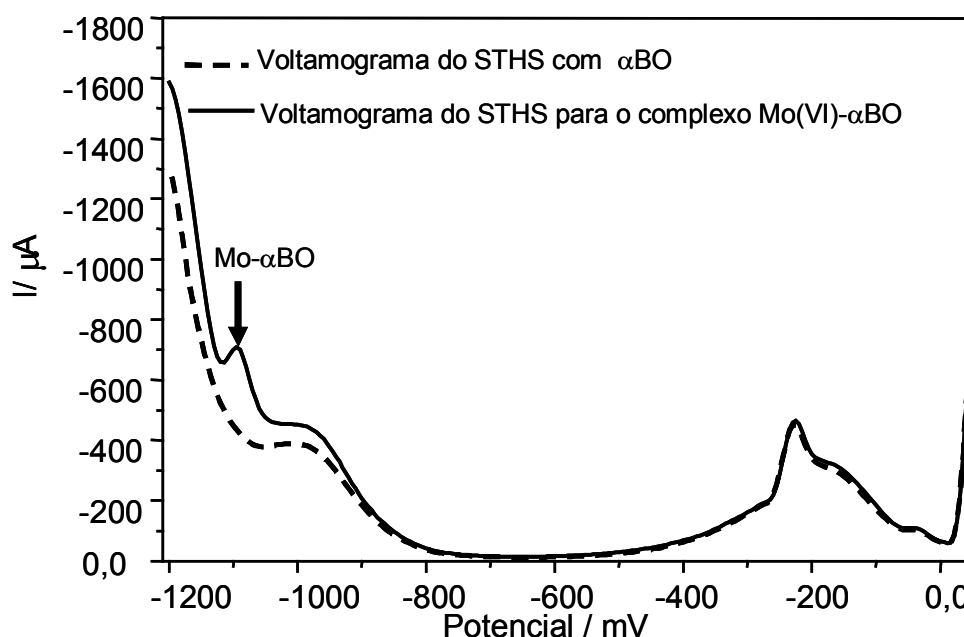


Figura-7: Resultados dos estudos preliminares para localizar a região de pico para o complexo $Mo(VI)-\alpha BO$ utilizando um sistema ternário homogêneo de solventes.

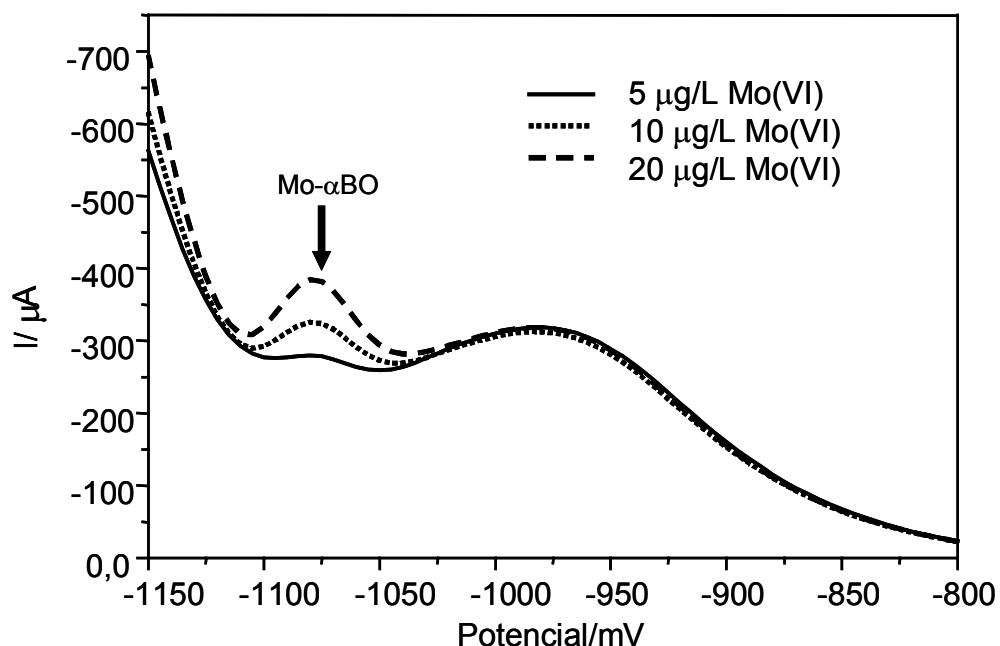


Figura-8: Picos relativos às concentrações de 5, 10 e 20 µg/L do complexo Mo- α BO na célula polarográfica, apresentada com a utilização do sistema ternário homogêneo de solventes composto por água, etanol e DMF.

Notou-se também, que os resultados conseguidos com estes estudos preliminares, poderiam ser melhorados de maneira significativa, se fosse realizado um estudo mais detalhado da composição do sistema ternário. Para efetuar estes novos estudos, optou-se por realizar um planejamento estatístico voltado especialmente para misturas (Cornel, 1990; Scheffé, 1963; Reis e de Andrade, 1996). O planejamento foi realizado como descrito na seqüência, respeitando-se os limites previamente estudados para a solubilidade do acetato de sódio e do complexante α BO.

III.3 – A melhor composição de solventes para o sistema água-etanol-DMF obtida pelo planejamento para misturas

Efetuaram-se as medidas para os pontos do planejamento mostrados na Tabela-5 de acordo com o descrito na parte experimental, obtendo-se os resultados que são exibidos na Tabela-12 juntamente com a média das respostas de cada ponto.

Tabela-12: Resultados das leituras efetuadas por voltametria adsortiva para o planejamento de misturas do sistema ternário de solventes.

Pontos do planejamento	Respostas Corrente/μA			$I_{(\text{média})}/\mu\text{A}$
1	-0,376	-0,374	-0,334	$-0,361 \pm 0,024$
2	-0,277	-0,313	-0,290	$-0,293 \pm 0,018$
3	-0,427	-0,533	-0,649	$-0,536 \pm 0,157$
4	-0,466	-0,462	-0,476	$-0,468 \pm 0,007$
5	-0,543	-0,543	-0,535	$-0,540 \pm 0,005$
6	-0,697	-0,666	-0,683	$-0,682 \pm 0,016$
7	-0,295	-0,316	-0,354	$-0,322 \pm 0,030$
8a	-0,416	-0,407	-0,406	$-0,410 \pm 0,006$
8b	-0,319	-0,349	-0,357	$-0,342 \pm 0,020$
8c	-0,467	-0,423	-0,417	$-0,440 \pm 0,027$
9	-0,546	-0,550	-0,558	$-0,551 \pm 0,006$
10	-0,332	-0,323	-0,324	$-0,326 \pm 0,005$
11	-0,407	-0,391	-0,424	$-0,407 \pm 0,017$

Na realização da modelagem do sistema utilizou-se o programa MIXREG, descrito e disponibilizado por Barros Neto et al. (2001). Os

valores médios das respostas exibidos na Tabela-12 foram utilizados como matriz de resposta, e como matriz de planejamento, utilizaram-se os valores escalonados na forma de pseudocomponentes (Cornel, 1990), de acordo com o exibido na Tabela-13. Na modelagem efetuaram-se primeiramente os cálculos para o modelo linear, que apresentou falta de ajuste em função da quantidade de variáveis envolvidas, indicando que para se obter uma melhor descrição do comportamento do sistema ternário dever-se-ia realizar modelagens mais elaboradas. E para tanto se efetuaram cálculos para o modelo quadrático completo e o cúbico especial, para avaliação de qual o melhor modelo para descrever o comportamento do sistema de misturas.

Tabela-13: Valores escalonados na forma de pseudocomponentes utilizados como matriz de planejamento para o sistema ternário homogêneo de solventes.

Valores escalonados dos pseudocomponentes*

Ponto	X ₁	X ₂	X ₃
1	0,07	0	0,93
2	0	0,07	0,93
3	0	1	0
4	1	0	0
5	0,53	0	0,47
6	0,5	0,5	0
7	0	0,53	0,47
8	0,27	0,27	0,47
9	0,57	0,19	0,23
10	0,15	0,15	0,70
11	0,19	0,57	0,23

*As seguintes equações foram utilizadas para se obter os valores pseudocomponentes $X_1 = C_{DMF}/0,75$, $X_2 = C_{Etanol}/0,75$, $X_3 = (C_{Água} - 0,25)/0,75$. Onde X_1 , X_2 e X_3 representam respectivamente os valores dos solventes DMF, etanol e água na forma de pseudocomponentes, e C_{DMF} , C_{Etanol} e $C_{Água}$ os valores em % massa dos solventes mostrados na Tabela-5.

III.3.1 – O modelo quadrático completo

Dados de entrada

Primeira coluna: Respostas

Outras colunas: Matriz de planejamento

1	-0,4680	1,0000	0,0000	0,0000
2	-0,5360	0,0000	1,0000	0,0000
3	-0,2930	0,0000	0,0700	0,9300
4	-0,3610	0,0700	0,0000	0,9300
5	-0,5400	0,5300	0,0000	0,4700
6	-0,3220	0,0000	0,5300	0,4700
7	-0,6820	0,5000	0,5000	0,0000
8	-0,4100	0,2700	0,2700	0,4700
9	-0,3420	0,2700	0,2700	0,4700
10	-0,4400	0,2700	0,2700	0,4700
11	-0,3260	0,1500	0,1500	0,7000
12	-0,4070	0,1900	0,5700	0,2300
13	-0,5510	0,5700	0,1900	0,2300

Coeficientes da modelagem

1	-0,4883
2	-0,5428
3	-0,3228
4	-0,5353
5	-0,3533
6	0,7368

Análise da variância

Fonte de variação	Soma quadrática	Nº de g. l.	Média quadrática	Teste F
Regressão	0,1399	5	0,0280	11,3485
Resíduos	0,0173	7	0,0025	
Falta de ajuste	0,0122	5	0,0024	0,9686
Erro puro	0,0050	2	0,0025	
Total	0,1571	12		

III.3.1.1 – Verificando o ajuste do modelo quadrático

O ajuste dos modelos é realizado comparando-se o valor do F_{calc} (calculado) com o F_{tab} (tabelado) nos níveis de confiança investigados (Barros Neto et al., 2001 e Cornel, 1990). O F_{calc} é obtido através da equação-4:

$$F_{\text{calc}} = MQ_{\text{FA}}/MQ_{\text{EP}} \quad (\text{equação-4})$$

Onde:

MQ_{FA} é a média quadrática da falta de ajuste

MQ_{EP} é a média quadrática do erro puro

Diz-se que não há falta de ajuste se $F_{\text{calc}} < F_{\text{tab}}$, no caso deste modelo tem-se que $F_{\text{calc}} = 0,96$ e o $F_{\text{tab}} (5, 2)$ para um nível de confiança de 95% é de 19,30. Como $0,96 < 19,30$, não há falta de ajuste para o modelo. Verifica-se a seguir se a regressão do modelo é significativa utilizando um valor de F_{calc} obtido pela equação-5:

$$F_{\text{calc}} = MQ_{\text{R}}/MQ_{\text{r}} \quad (\text{equação-5})$$

Onde:

MQ_{R} é a média quadrática da regressão

MQ_{r} é a média quadrática do resíduo

Diz-se que a regressão é significativa se $F_{\text{calc}} > F_{\text{tab}}$, e para este caso tem-se $F_{\text{calc}} = 11,20$ e $F_{\text{tab}} (5, 7) = 3,97$ para um nível de 95% de confiança. Como $F_{\text{calc}} > F_{\text{tab}}$ tem-se que a regressão é significativa.

Como o modelo não possui falta de ajuste, de acordo com a modelagem e também apresenta uma regressão significativa, passa-se a verificar as demais condições do modelo visando obter a equação que melhor descreve as interações dos componentes de mistura avaliados com o planejamento.

Para tanto, avaliaram-se primeiramente os erros padrão e relativo a uma observação. O erro padrão foi calculado com base no erro correspondente a uma medida experimental, que é obtido através da equação-6 (Barros Neto et al., 2001).

$$Sp = (MQ_r)^{1/2} \quad (\text{equação-6})$$

Onde:

Sp é o erro relativo a uma observação experimental.

Para se obter o erro padrão (b_i^*) utiliza-se a equação-7:

$$(b_i^*) = ((Vb) \times Sp^2)^{1/2} \quad (\text{equação-7})$$

onde:

Vb corresponde ao valor numérico da diagonal da matriz de cálculo dos erros obtida na modelagem.

Desta forma, tem-se para o modelo de acordo com as equações 6 e 7:

$Sp = (0,0025)^{1/2} = 0,05$ (erro de uma observação) e os erros padrões de cada coeficiente da equação dada pela modelagem efetuada.

$$(b_1^*) = (0,953742 \times 0,05^2)^{1/2} = 0,04883$$

$$(b_2^*) = (0,953742 \times 0,05^2)^{1/2} = 0,04883$$

$$(b_3^*) = (0,741578 \times 0,05^2)^{1/2} = 0,04306$$

$$(b_{12}^*) = (19,637425 \times 0,05^2)^{1/2} = 0,22157$$

$$(b_{13}^*) = (17,456357 \times 0,05^2)^{1/2} = 0,20890$$

$$(b_{23}^*) = (17,456357 \times 0,05^2)^{1/2} = 0,20890$$

Para se garantir a significância estatística da equação é necessário obter os intervalos de confiança para cada um dos coeficientes da equação (b_i), e este é obtido utilizando-se a equação-8:

$$b_i \pm t_{n-2} \times (b_i^*) \quad (\text{equação-8})$$

Tem-se de acordo com os valores tabelados (Barros Neto et al., 2001) que

$$t_{n-2} = t_{5, 95\%} = 2,571$$

Assim os intervalos de confiança para os coeficientes são:

$$b_1 = -0,61379 \text{ a } -0,36284$$

$$b_2 = -0,66826 \text{ a } -0,44734$$

$$b_3 = -0,43361 \text{ a } -0,21199$$

$$b_{12} = -0,64661 \text{ a } +0,03436$$

$$b_{13} = -0,89038 \text{ a } +0,18379$$

$$b_{23} = +0,19972 \text{ a } +1,27388$$

Os intervalos de confiança e os erros relativos associados a cada coeficiente, garantem a presença de todos os coeficientes obtidos pela modelagem na equação do sistema de misturas, ficando esta assim:

$$Y = -0,4883X_1 (\pm 0,04883) - 0,5428X_2 (\pm 0,04883) - 0,3228X_3 (\pm 0,04306) - 0,5353X_1X_2 (\pm 0,22157) - 0,3533X_1X_3 (\pm 0,20890) + 0,7368X_2X_3 (\pm 0,20890)$$

Onde

X_1 é o pseudocomponente DMF,

X_2 é o pseudocomponente etanol

X_3 é o pseudocomponente água.

A equação mostra as interações e influências que cada componente acarreta ao sistema ternário.

III.3.2 – O modelo cúbico especial

Dados de entrada

Primeira coluna: Respostas

Outras colunas: Matriz de planejamento

1	-0,4680	1,0000	0,0000	0,0000
2	-0,5360	0,0000	1,0000	0,0000
3	-0,2930	0,0000	0,0700	0,9300
4	-0,3610	0,0700	0,0000	0,9300
5	-0,5400	0,5300	0,0000	0,4700
6	-0,3220	0,0000	0,5300	0,4700
7	-0,6820	0,5000	0,5000	0,0000
8	-0,4100	0,2700	0,2700	0,4700
9	-0,3420	0,2700	0,2700	0,4700
10	-0,4400	0,2700	0,2700	0,4700
11	-0,3260	0,1500	0,1500	0,7000
12	-0,4070	0,1900	0,5700	0,2300
13	-0,5510	0,5700	0,1900	0,2300

Coefficientes da modelagem

1	-0,4761
2	-0,5306
3	-0,3029
4	-0,7229
5	-0,6180
6	0,4720
7	2,6609

Análise da variância

Fonte de variação	Soma quadrática	Nº de g. l.	Média quadrática	Teste F
Regressão	0,1484	6	0,0247	16,983 5
Resíduos	0,0087	6	0,0015	
Falta de ajuste	0,0037	4	0,0009	0,3663
Erro puro	0,0050	2	0,0025	
Total	0,1571	12		

III.3.2.1 – Verificando o ajuste do modelo cúbico

Da mesma forma que se efetuaram as análises para o modelo quadrático, procedeu-se para o modelo cúbico. Assim tem-se:

$F_{\text{calc}} = 0,36$ e o $F_{\text{tab}} (4, 2)$ para um nível de confiança de 95% é de 19,25.

Sendo $0,36 < 19,25$, não há falta de ajuste para o modelo.

A verificação da significância para a regressão do modelo apresentou para este caso um $F_{\text{calc}} = 16,46$ e $F_{\text{tab}} (6, 6) = 4,28$ para um nível de 95% de confiança, e como $F_{\text{calc}} > F_{\text{tab}}$ tem-se que a regressão é significativa.

O modelo não possuindo falta de ajuste e apresentando regressão significativa, passou-se a verificar as demais condições do modelo para se obter a equação que melhor descreve as interações dos componentes do sistema.

Primeiramente, obedecendo à seqüência utilizada para o modelo anterior, verificaram-se os erros padrão e relativo a uma observação para o modelo utilizando as equações 6 e 7, obtendo-se os resultados mostrados a seguir.

$$S_p = (0,0015)^{1/2} = 0,0387$$

Os erros padrões para cada coeficiente da equação são:

$$(b_1^*) = (0,970337 \times 0,0387^2)^{1/2} = 0,03815$$

$$(b_2^*) = (0,970337 \times 0,0387^2)^{1/2} = 0,03815$$

$$(b_3^*) = (0,785896 \times 0,0387^2)^{1/2} = 0,03433$$

$$(b_{12}^*) = (23,563112 \times 0,0387^2)^{1/2} = 0,18800$$

$$(b_{13}^*) = (25,270235 \times 0,0387^2)^{1/2} = 0,19469$$

$$(b_{23}^*) = (25,270235 \times 0,0387^2)^{1/2} = 0,19469$$

$$(b_{123}^*) = (789,409849 \times 0,0387^2)^{1/2} = 1,0887$$

E utilizando-se a equação-8, tem-se que $t_{n-2} = t_{4, 95\%} = 2,776$

Assim os intervalos de confiança para os coeficientes são:

$$\begin{aligned}
b_1 &= -0,37020 \text{ a } -0,58200 \\
b_2 &= -0,42470 \text{ a } -0,63650 \\
b_3 &= -0,39820 \text{ a } -0,20760 \\
b_{12} &= -1,24479 \text{ a } -0,20101 \\
b_{13} &= -1,15846 \text{ a } -0,07754 \\
b_{23} &= -0,06846 \text{ a } +1,01246 \\
b_{123} &= -0,36670 \text{ a } +3,68166
\end{aligned}$$

Estes intervalos de confiança e os erros relativos associados a cada coeficiente, garantem a presença de todos os coeficientes obtidos pela modelagem na equação do sistema de misturas, ficando esta assim: $Y = -0,4761X_1 (\pm 0,03815) - 0,5306X_2 (\pm 0,03815) - 0,3029X_3 (\pm 0,03433) - 0,7229X_1X_2 (\pm 0,18800) - 0,6180X_1X_3 (\pm 0,19469) + 0,4720X_2X_3 (\pm 0,19469) + 2,6609X_1X_2X_3 (\pm 1,08817)$

Onde:

- X_1 é o pseudocomponente DMF
- X_2 é o pseudocomponente etanol
- X_3 é o pseudocomponente água.

E de acordo com a equação dada pela modelagem obtiveram-se as interações do sistema estudado, podendo desta forma escolher qual o melhor para se trabalhar doravante.

III.3.3. – Avaliação dos modelos

No modelo quadrático utilizaram-se seis parâmetros para verificar sua significância estatística, e no cúbico empregaram-se sete, e nenhum apresentou falta de ajuste, em função de possuírem mesmo número de ensaios distintos. Devido a isto a análise de variância limita-se a dividir a variação total em torno da média em duas parcelas, uma sendo a regressão e outra os resíduos.

Os valores obtidos por MQ_R/MQ_r são 11,20 e 16,46 para os modelos quadrático e cúbico respectivamente. Comparando-se os modelos pela utilização dos valores de $F_{5, 7} = 3,97$ e $F_{6, 6} = 4,28$ em um nível de confiança de 95%, tem-se que ambos são bastante significativos. O valor maior do modelo cúbico indica que ele explica uma percentagem maior da variância, porém deve-se considerar que este modelo possui um parâmetro a mais que o quadrático, e conseqüentemente explicará melhor as interações das misturas.

Para escolher da forma mais acertada possível, qual o melhor modelo, efetuou-se uma outra forma de comparação, que consiste na redução da soma quadrática residual por parâmetros adicionados com a própria média quadrática do modelo que contenha o maior número de parâmetros. Se o valor encontrado não apresentar maior importância estatística que o encontrado para o modelo cúbico, é porque não há necessidade de se utilizar um modelo com maior número de parâmetros (Barros Neto et al., 2001). Para realizar tal comparação utilizou-se a relação mostrada a seguir:

$$F_{calc} = [(SQ_{r, quad} - SQ_{r, cub})/d]/MQ_{r, cub} \quad (\text{equação-9})$$

Onde

Os índices **quad** e **cub** indicam os modelos quadrático e cúbico **SQ_r** é a soma quadrática, **d** é a diferença no número de parâmetros entre os dois

modelos (no caso $7 - 6 = 1$) e $\mathbf{MQ}_r$ é a média quadrática residual.

O resultado obtido para o F_{calc} é de 5,73 e o resultado tabelado para um nível de 95% de confiança de $F_{1, 6}$ é 5,99. Comparando-se os valores de F nota-se que não há diferença significativa entre os F, desta forma, pode-se utilizar o modelo quadrático para descrever as interações do sistema ternário.

III.3.3.1 – Escolhendo o ponto de ótimo do STHS

Na região marcada de ótimo da superfície obtida para o modelo quadrático escolheu-se como ponto de ótimo o centro da região, denominado aqui de ponto M como pode ser visto na Figura-8.

Pela Figura-9 onde X_1 , X_2 e X_3 correspondem aos valores dos solventes DMF, etanol e água na forma de pseudocomponentes, nota-se que o ponto M possui pequeno percentual do pseudocomponente água e maiores valores para etanol e DMF, correspondentes a (0,50; 0,47; 0,03) em DMF, etanol e água respectivamente. Estes números expressam a proporção de cada solvente na mistura, na forma de pseudocomponente, e estes são convertidos para valores em % de massa utilizando-se das equações 10, 11 e 12

$$\mathbf{X_1 = C_{DMF}/0,75} \quad (\text{equação-10})$$

$$\mathbf{X_2 = C_{Etanol}/0,75} \quad (\text{equação-11})$$

$$\mathbf{X_3 = (C_{\text{Água}} - 0,25)/0,75} \quad (\text{equação-12})$$

Onde C_{DMF} , C_{Etanol} e $C_{\text{Água}}$ representam os valores dos solventes DMF, etanol e água na proporção em massa utilizada de cada solvente.

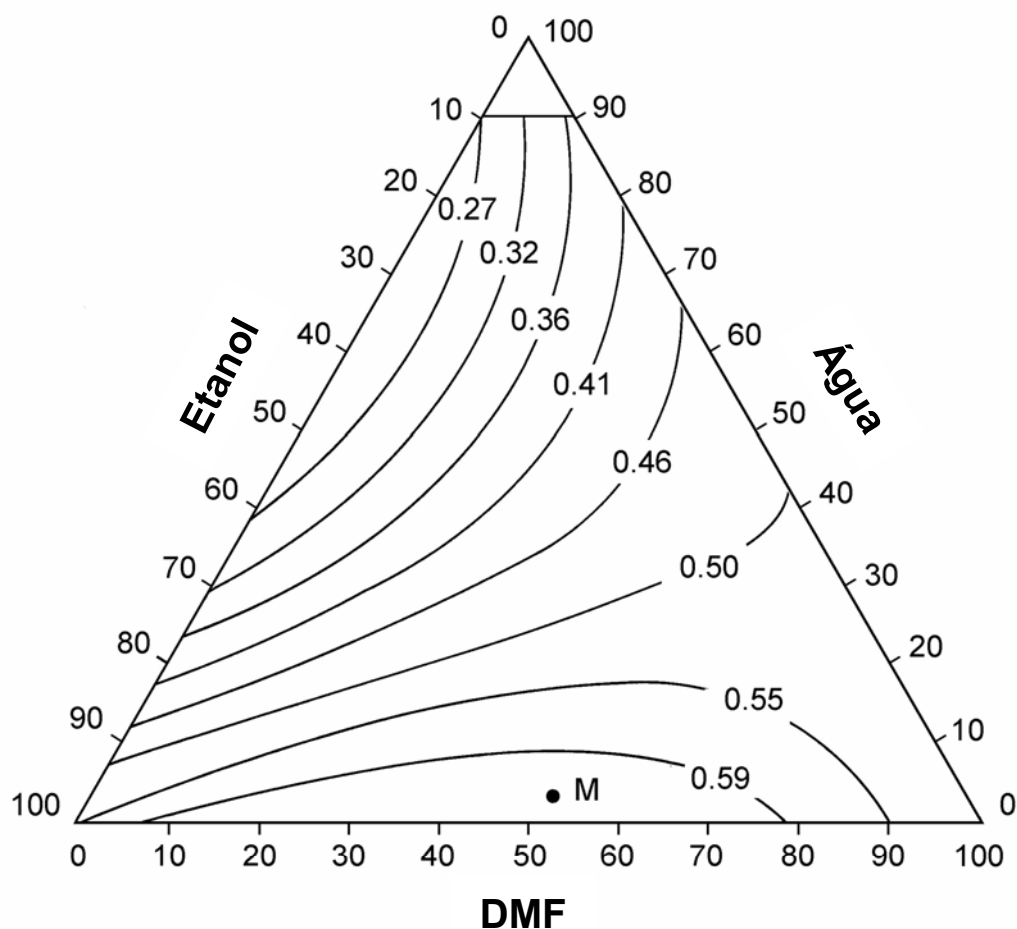


Figura-9: Localização do ponto de ótimo escolhido (M), na região estudada e delimitado pelo planejamento para os pseudocomponentes DMF, Etanol e Água.

Utilizando as equações 10, 11 e 12 têm-se que o ponto ótimo M, apresenta os seguintes valores nas proporções: (0,375; 0,353; 0,273) para DMF, etanol e água respectivamente. Estes números correspondem a (11,25; 10,6; 8,2) em valores de massa em g, relativa aos 30,0 g utilizados no planejamento.

Verificou-se experimentalmente que o sinal analítico para o ponto de ótimo apresenta um ganho de sinal de $\pm 12\%$ em relação aos estudos iniciais e de 10% em comparação com um terceiro ponto avaliado para

uma concentração de 3 $\mu\text{g/L}$ de molibdênio, como se pode comprovar pelos resultados das leituras efetuadas com os valores do ponto M, nas condições iniciais (ponto A), e um ponto B um pouco afastado de M, mostrados na Tabela-14.

Tabela-14: Comparação do sinal no ponto de ótimo com dois outros pontos para uma concentração de 3 $\mu\text{g/L}$ de Mo(VI) e $2,0 \times 10^{-5}$ mol/L de complexante αBO , utilizando o STHS.

Ponto	Proporção m/m	Média do sinal
A	(0,422; 0,356; 0,222)	- 0,799 $\pm$ 0,043
M	(0,375; 0,353; 0,273)	- 0,902 $\pm$ 0,042
B	(0,338; 0,345; 0,318)	- 0,810 $\pm$ 0,045

Os resultados exibidos na Tabela-14 provam que o ponto escolhido é o que apresenta as melhores respostas para o complexo Mo(VI)- αBO , que não serão maiores que 5% para pequenas variações na montagem da composição do STHS, confirmando as observações feitas anteriormente de que o STHS poderia ser aperfeiçoado para a detecção do complexo de molibdênio com αBO .

III.4 – Resultados dos estudos univariados no sistema de solventes para a determinação de molibdênio

Tendo-se mostrado que o ponto M corresponde à melhor região para se obter o sinal analítico do complexo, procederam-se estudos univariados para verificar se as condições de pH nominal, concentração de αBO e o tempo de eletrodeposição, encontravam-se em situação de ótimo para a

determinação de molibdênio. Para tanto, efetuaram-se os experimentos relativos ao pH nominal, a concentração de αBO e ao tempo de eletrodeposição, conforme descritos na parte experimental, obtendo-se os resultados que serão analisados e discutidos a seguir.

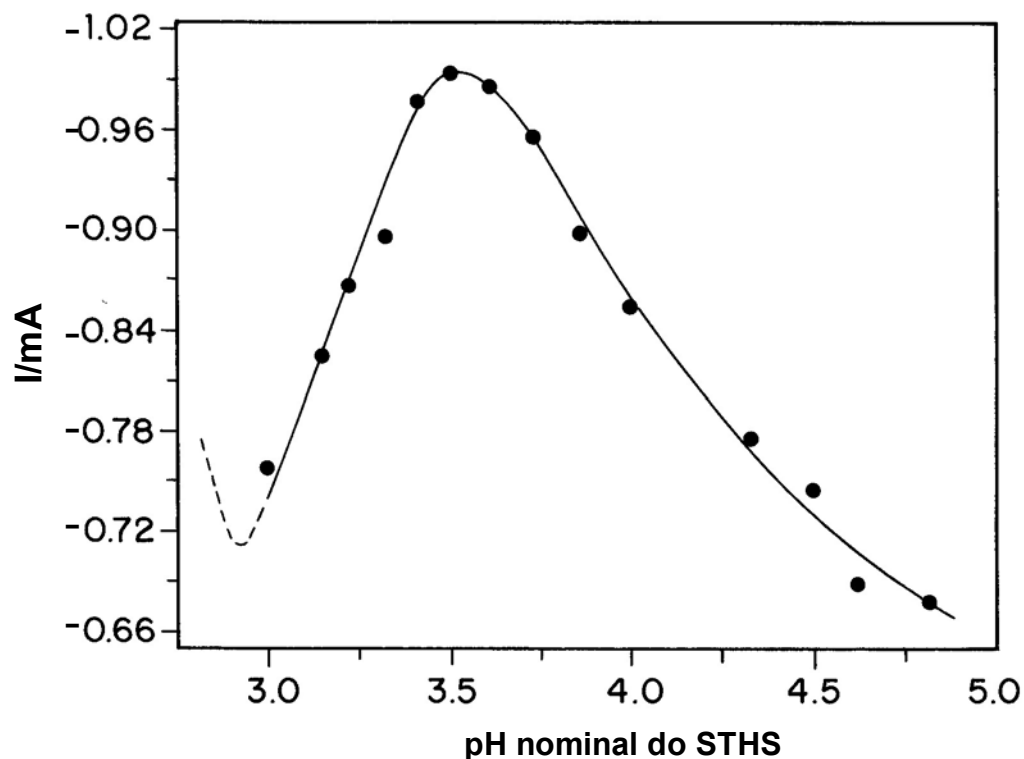


Figura-10: Resultados dos estudos para otimização do pH nominal do STHS nas condições de ótimo para a mistura no potencial de -1250 mV.

Avaliou-se o pH nominal do sistema, nas condições de ótimo da mistura, utilizando-se uma concentração de $2,0 \times 10^{-5}$ mol/L de αBO . Realizaram-se as medidas em diferentes pHs nominais compreendidos entre 1,5 e 4,8 obtendo-se os resultados mostrados na Figura-10. Das leituras efetuadas observa-se que:

Para pHs compreendidos entre 1,5 e 2,5, não existe um sinal característico para o molibdênio, isto em função da presença em excesso de íons H^+ , que impede a formação do complexo e, conseqüentemente, a sua detecção.

A partir do pH =3,0 começaram a surgir picos relativos ao complexo formado entre o molibdênio e a α BO. Estes picos apresentam um crescimento significativo do sinal analítico até o pH 3,5. Neste valor, o sinal do complexo ocorre com maior intensidade para a concentração de 3 μ g/L de Mo(VI) na célula polarográfica. E a diferença do sinal obtido no pH 3,5 e 3,0 são bem visíveis, como pode ser comprovado observando-se a Figura-11.

Para valores de pH acima de 3,5 há um decréscimo no sinal analítico, até não se ter mais um pico distinto para o molibdênio. Isto acontece devido à formação do complexo ser inibida em função do aumento de pH. Têm-se então, as melhores respostas para a determinação de molibdênio no pH 3,5 com o sistema ternário e adotou-se este valor para os estudos futuros.

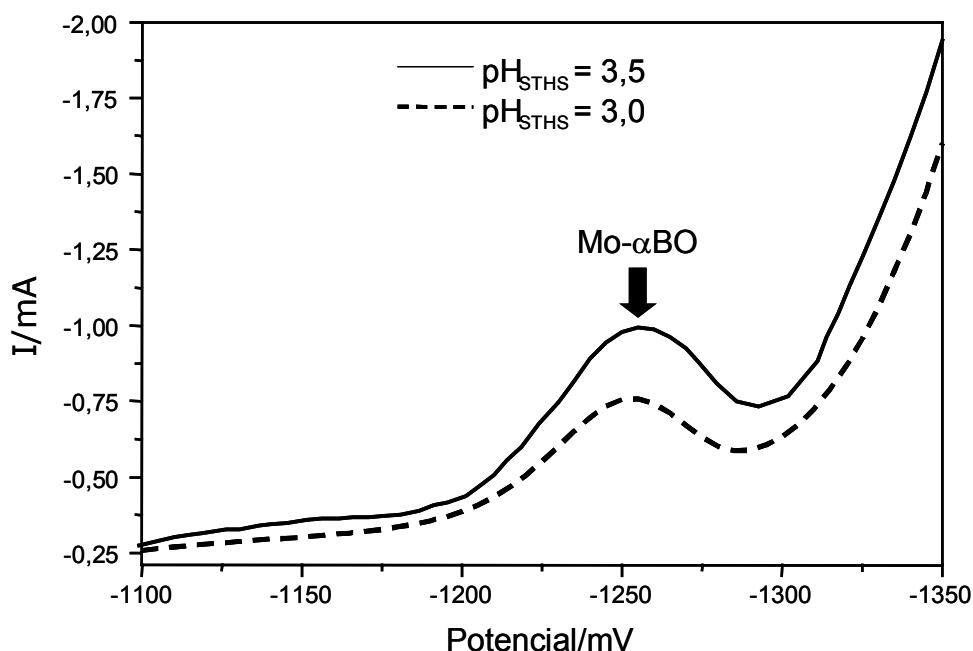


Figura-11: Voltamogramas obtidos para o STHS nos pHs nominais de 3,0 e 3,5 para uma concentração de 3,0 $\mu\text{g/L}$ de molibdênio na célula polarográfica.

Tendo-se encontrado o melhor pH para se obter o melhor resultado para uma mesma concentração de molibdênio, buscou-se uma forma de controlar o pH nominal do sistema utilizando-se para tanto de um acerto de pH da fase aquosa. Nos experimentos realizados, verificou-se que uma solução aquosa de acetato de sódio/ácido acético com pH em 2,1 eleva o pH do STHS automaticamente para 3,5. Desta forma pode-se conseguir o acerto direto do pH nominal através do pH da solução aquosa, efetuando-se assim medidas nas condições de ótimo obtidas para a mistura no pH nominal de 3,5, em todas as determinações e estudos realizados a seguir.

O estudo que se realizou para obter a melhor concentração do complexante αBO a ser utilizada nas determinações mostra que as melhores leituras são conseguidas ao se utilizar $2,0 \times 10^{-5}$ mol/L de αBO na célula polarográfica como pode-se notar na Figura-12.

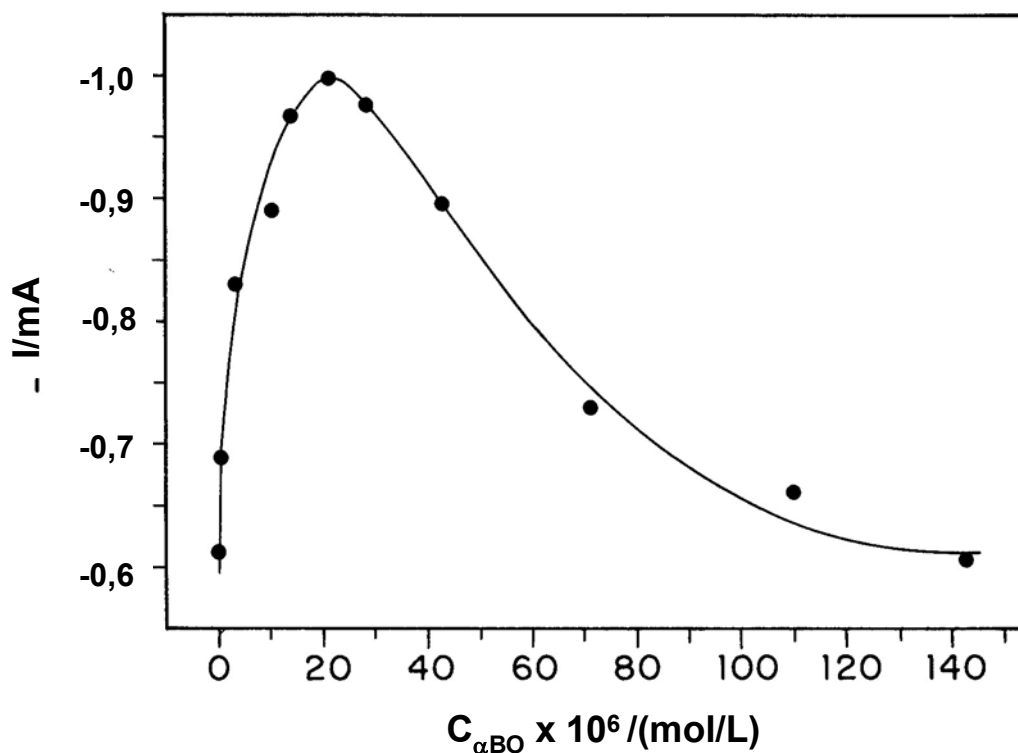


Figura-12: Resultados obtidos no estudo da concentração de αBO no STHS composto por DMF:etanol:água.

A Figura-12 mostra que nas concentrações investigadas para o complexante, na célula polarográfica, ocorre um incremento significativo do sinal que atinge um máximo em 2×10^{-5} mol/L, e para as concentrações acima deste valor nota-se um decréscimo acentuado, causado possivelmente pela saturação da gota de mercúrio pela presença excessiva do complexante. Desta forma adotou-se este valor para a concentração do complexante na célula polarográfica para os estudos e determinações futuras.

Analisou-se o tempo de eletrodeposição nas condições otimizadas até o momento para os intervalos de tempo entre 15 e 230 segundos, utilizando-se de três concentrações diferentes de molibdênio. Verificou-se qual o melhor resultado observando-se a resolução, definição e proporcionalidade de crescimento de uma concentração para outra entre os picos dos voltamogramas, como os exibidos nas Figuras 13, 14 e 15.

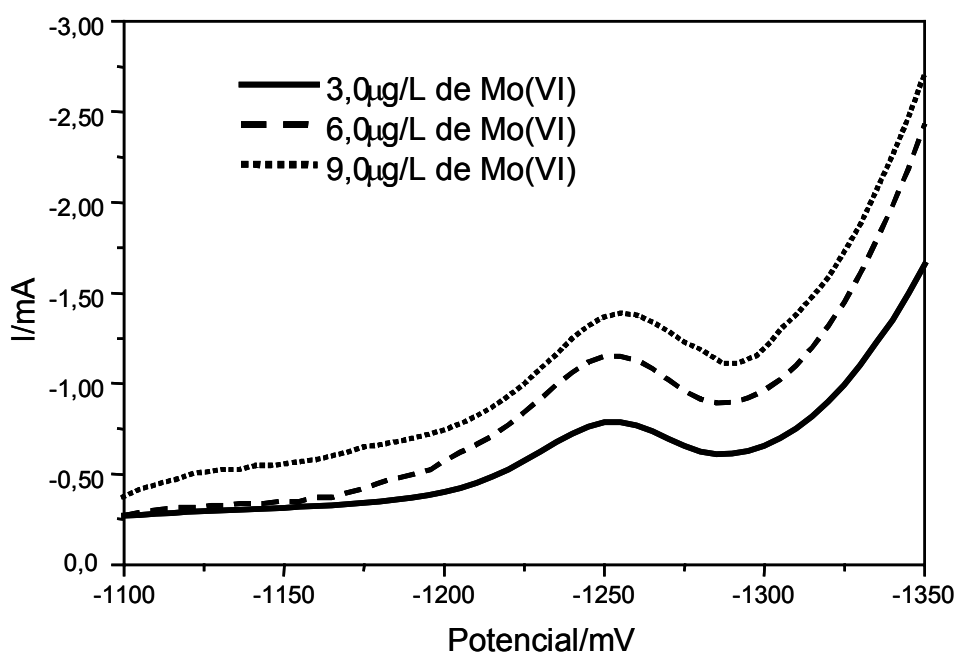


Figura-13: Voltamogramas obtidos após 15s de eletrodeposição.

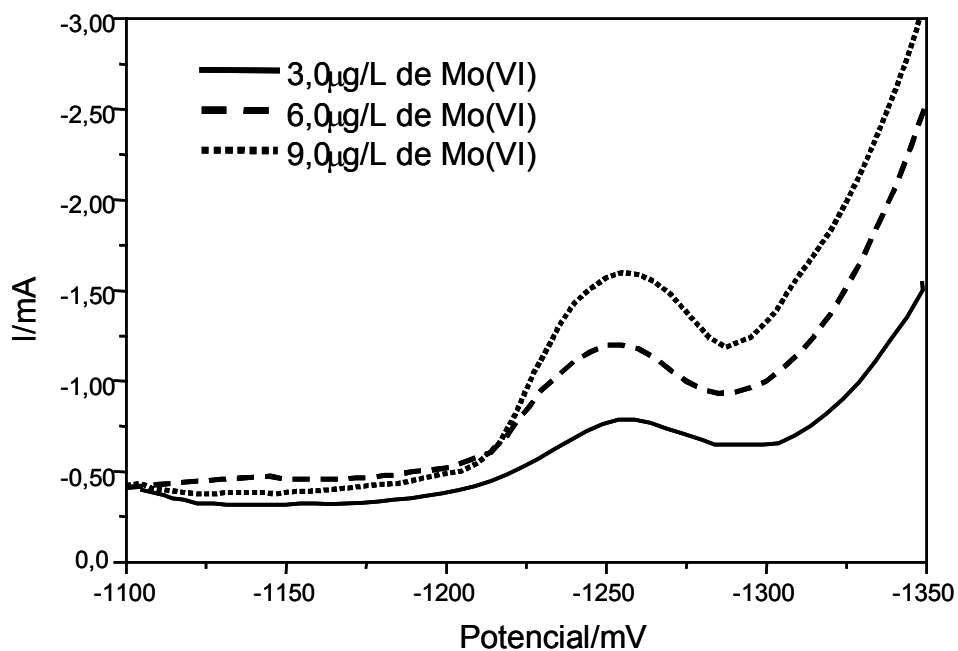


Figura-14: Voltamogramas obtidos após 60 s de eletrodeposição.

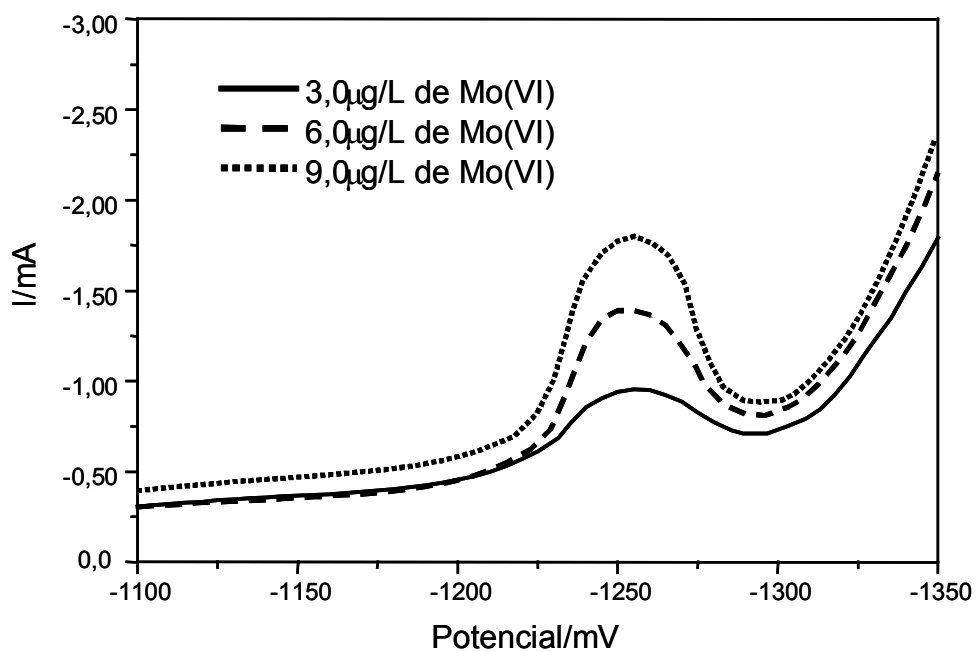


Figura-15: Voltamogramas obtidos após 150 s de eletrodeposição.

Os melhores tempos de eletrodeposição foram conseguidos no intervalo de tempo de 150 segundos, pois o sinal analítico apresentou bom desempenho para os parâmetros envolvidos na análise, e a partir deste intervalo de tempo os voltamogramas não apresentam melhorias significativas, como pode ser observado na Figura-16.

Os estudos univariados efetuados de forma a se obter o máximo de eficiência do sinal analítico em relação às condições de pH, concentração de α BO e tempo de eletrodeposição ou acumulação. E os resultados obtidos mostraram que as melhores determinações ocorrem quando o sistema ternário possui pH nominal 3,5, $C_{\alpha BO} = 2,0 \times 10^{-5}$ mol/L e tempo de acumulação de 150s, sendo que todas essas medidas foram realizadas no potencial de -1250 mV.

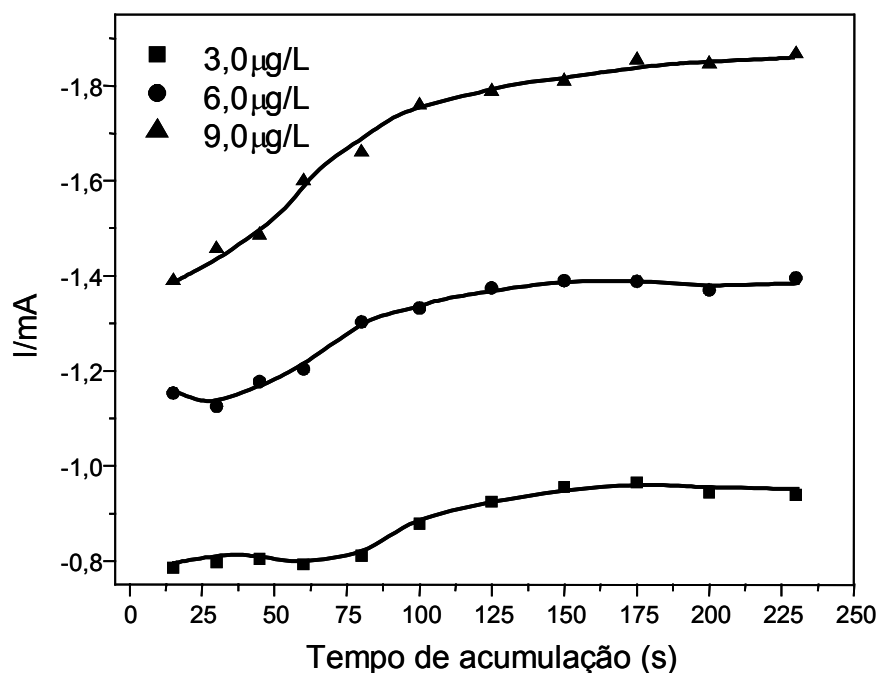


Figura-16: Resultados das determinações efetuadas nos diferentes intervalos de tempo de acumulação nas três concentrações de molibdênio.

Nas condições otimizadas para a composição do STHS utilizando-se do planejamento de misturas e dos estudos univariados, observou-se uma melhoria do sinal inicialmente obtido a aproximadamente -1070 mV, e esta melhoria pode ser observada ao se comparar o voltamograma para a concentração de $10 \mu\text{g/L}$ de Mo(VI) da figura-8 com o da figura-15 para $9,0 \mu\text{g/L}$. Apesar do primeiro possuir maior valor de concentração que o segundo, ele apresenta menor intensidade na detecção, pois a -1070 mV o pico do complexo é de $-0,318 \mu\text{A}$ e no segundo caso a -1250 mV o complexo apresenta com $9,0 \mu\text{g/L}$ um pico de $-1,809 \mu\text{A}$, que é pelo menos 5 vezes maior que o primeiro resultado, indicando que a sensibilidade da determinação sofreu um acréscimo e como pode ser notado ao analisar as Figuras 8 e 15, pois os voltamogramas apresentam uma melhor resolução na segunda situação.

Tendo-se definido as melhores condições para o sistema ternário, efetuou-se a conversão dos valores de massa para volume de reagente, utilizando-se para tanto dos valores de densidade da água ($d=0,997992$ g/mL), da DMF ($d=0,944$ g/mL) e do etanol ($d=0,798$ g/mL) a partir dos valores de massa obtidos na conversão dos pseudocomponentes. Assim têm-se os seguintes volumes para os componentes da mistura: $V_{\text{DMF}} = 11,92$ mL, $V_{\text{Etanol}} = 13,28$ mL e $V_{\text{Água}} = 8,22$ mL. Para facilitar o procedimento de montagem do STHS sem extrapolar os limites do ponto de ótimo do sistema, arredondaram-se os valores de volume, ficando estes assim: $12,0$ mL de DMF, $13,0$ mL de etanol e $8,5$ mL de água (solução de acetato de sódio/ácido acético).

Após a montagem do sistema em volume, obteve-se o perfil da curva de calibração do STHS. Observou-se com estas medidas que a curva obtida para corrente versus concentração de Mo(VI), descrevia uma trajetória não linear (Figura-17) para valores de concentração acima de $2,0 \mu\text{g/L}$ na célula polarográfica. Porém, existe uma faixa linear para as

concentrações de 0,2 até 2,0 $\mu\text{g/L}$ de molibdênio (Figura-18). Este comportamento foi observado para todas as curvas obtidas. Desta forma, para se conseguir determinações em concentrações maiores de molibdênio na célula deve-se utilizar a curva analítica com características não linear e para valores menores aconselha-se o uso da curva linear.

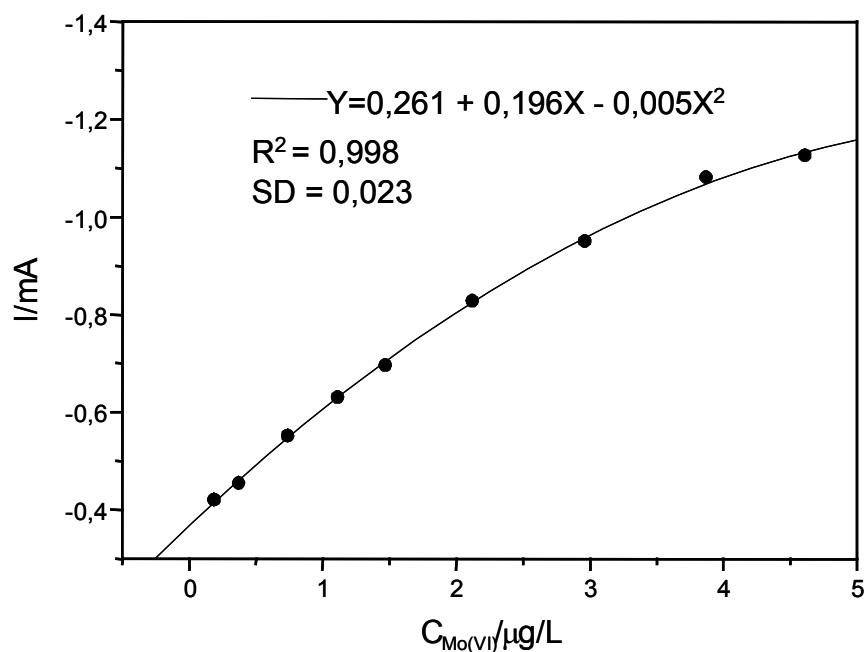


Figura-17: Curva de calibração típica descrita pelo sistema ternário e utilizada na determinação de molibdênio.

Verificou-se nestas condições a repetibilidade do sinal analítico para a concentração de 0,72 $\mu\text{g/L}$ na célula polarográfica, efetuando-se 12 determinações para este valor, obtendo-se como resultado a seguinte média: $0,718 \pm 0,003 \mu\text{g/L}$, com um RSD de 0,43%. Este resultado indica uma boa repetibilidade e um baixo desvio entre uma determinação e outra, sendo portando confiáveis.

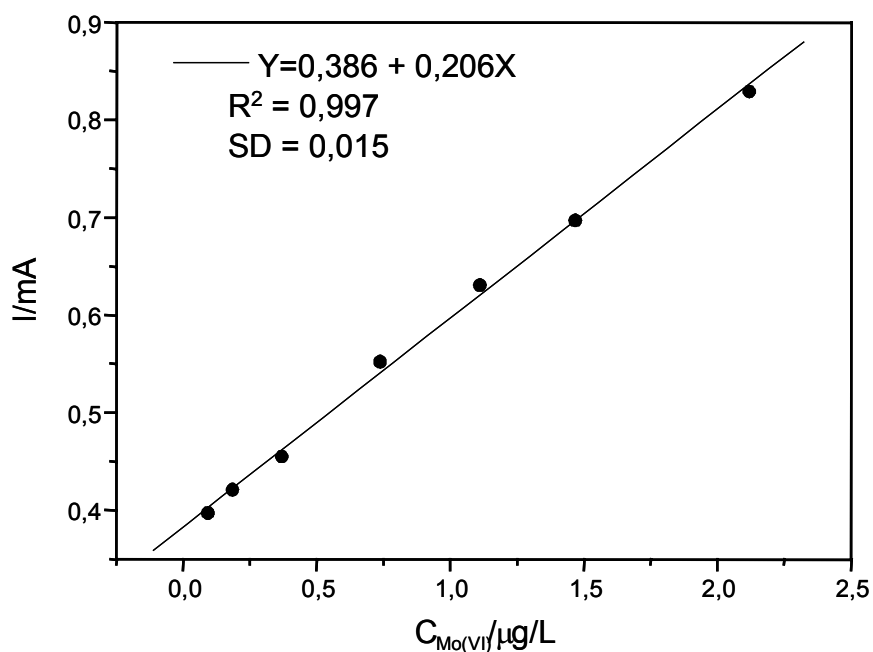


Figura-18: Curva descrita pelo sistema ternário no intervalo linear.

Nas condições da faixa linear, estimou-se o limite de detecção para o sistema ternário homogêneo de solventes em 20 pg/L na célula polarográfica, considerando-se o valor de três vezes o desvio padrão da medida de um STHS puro (branco). O valor do desvio foi estimado pelo cálculo dos resíduos do sinal conforme sugerido por Miller e Miller, (1990), o limite de quantificação obtido experimentalmente foi de 0,02 $\mu\text{g/L}$ na célula polarográfica.

Determinou-se ainda, a densidade da mistura no ponto de ótimo utilizando-se picnômetros. Estes foram calibrados utilizando-se a massa de água deionizada medida à temperatura de $22 \pm 2^\circ\text{C}$ em balança analítica, considerando-se $d_{\text{água}} = 0,997 \text{ g/cm}^3$ efetuando-se os cálculos pelo uso da equação $d = m/V$. De acordo com os resultados mostrados na Tabela-15 obtém-se a capacidade volumétrica para cada picnômetro.

Tabela-15: Resultados das aferições de massa de água, realizadas com o picnômetro para calibração.

Picnômetro	Massa picnômetro vazio/(g)	Massa picnômetro cheio/(g)	Massa de água/(g)	Volume calculado/(mL)
1	15,0085	41,0110	26,0025	26,0548
2	13,7399	41,1083	27,3684	27,4235
3	16,6795	43,3333	26,6538	26,7074

E a partir da calibração efetuada realizaram-se as medidas de massa com o STHS, para se calcular a sua densidade. Estes resultados, mostrados na Tabela-16 e obteve-se como valor para a $d_{\text{STHS}} = 0,9260 \pm 0,0002 \text{ g/cm}^3$. Este resultado mostra a interação dos três solventes que permite a obtenção de um novo meio para o eletrólito de suporte e para o agente complexante, favorecendo a determinação de molibdênio. Para o ponto de ótimo do sistema, tem-se que o volume de STHS ocupado por 30,0 g é de 32,4 mL.

Tabela-16: Resultados das aferições de massa do STHS, realizadas para obter a densidade da mistura de solventes.

Picnômetro	Massa picnômetro vazio/(g)	Massa picnômetro cheio/(g)	Massa do STHS/(g)
1	15,0085	39,1306	24,1221
2	13,7399	39,1385	25,3986
3	16,6795	41,4067	24,7272

III.5 – Resultados dos estudos univariados para avaliação dos interferentes na determinação de Mo(VI)

Nas condições otimizadas e descritas para o STHS, verificou-se a interferência direta na determinação de molibdênio dos íons Al^{3+} , Ca^{2+} , Cd^{2+} , Co^{2+} , Cr(VI) como $\text{Cr}_2\text{O}_7^{2-}$, Cu^{2+} , Fe^{3+} , Mg^{2+} , Mn^{2+} , Ni^{2+} , P como PO_4^{3-} , S como SO_4^{2-} , Pb^{2+} , V(V) como VO_3^- , W(VI) como WO_4^{2-} e Zn^{2+} .

Verificou-se o nível de interferência destes íons para uma concentração do metal de até 1000 vezes superior a de Mo(VI) na célula polarográfica, nas condições descritas. Obtendo-se os resultados mostrados na Figura-19 e na Tabela-17.

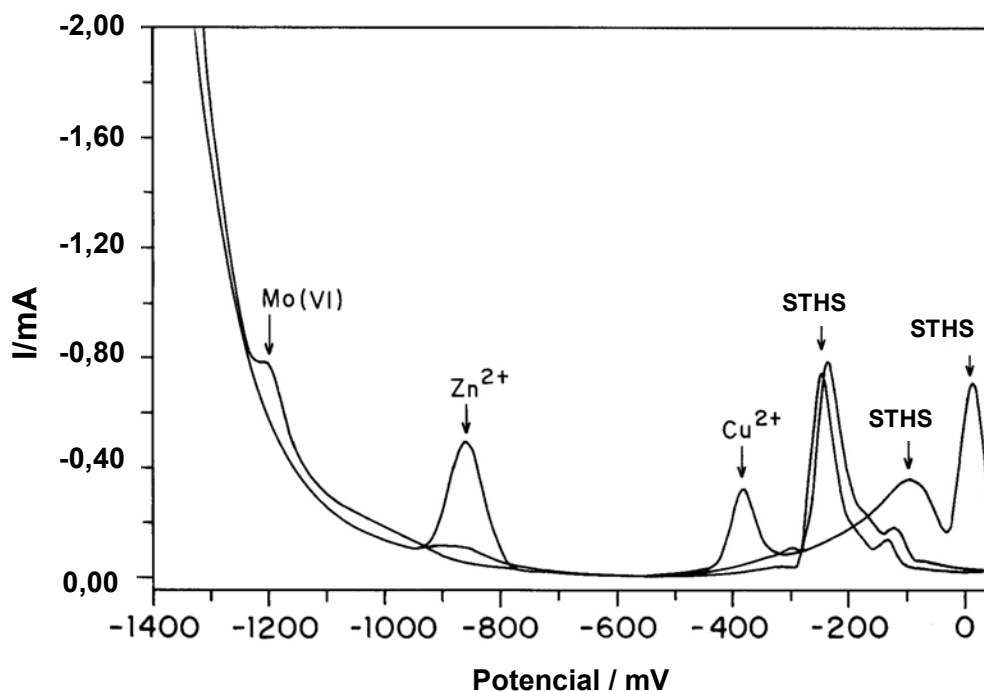


Figura-19: Picos característicos para o Mo(VI), Cu^{2+} e Zn^{2+} , no sistema ternário otimizado, sendo $C_{\text{Mo(VI)}} = 6.0 \mu\text{g/L}$ e os demais íons 60 mg/L.

Tabela-17: Comparação dos picos em solução aquosa com os obtidos no STHS nas condições otimizadas para a determinação de molibdênio.

Elemento ^(a)	Potencial de pico/(mV)		Corrente observada/(μ A)
	STHS	Solução aquosa	
Al ³⁺	-1325	ND	-5,64
Ca ²⁺	-300	ND	-0,53
Cd ²⁺	-1085	-620	-1,07
Co ²⁺ (b)	ND	ND	ND
Cr(VI)	-890	ND	-0,36
(como Cr ₂ O ₇ ²⁻)			
Cu ²⁺	-390	-240	-0,27
Fe ³⁺	-205	-10	-0,20
	-1125	-230	-1,16
Mg ²⁺ (b)	ND	ND	ND
Mn ²⁺ (b)	ND	ND	ND
Ni ²⁺	-750	-1080	-0,26
Pb ²⁺	-315	-460	-0,66
P (como PO ₄ ³⁻)	ND	ND	ND
S (como SO ₄ ²⁻)	ND	ND	ND
V(V) (como VO ₃ ⁻)	-1360	-1010	-4,16
W(VI) (como WO ₄ ²⁻)	-1300	-250	-3,26
	-1390		-4,55
Zn ²⁺	-865	-1040	-0,50

^(a) Metal/Mo(VI) = 1000

^(b) ND = Não detectado

Pode-se constatar pelos valores da Tabela-17, que a interferência do ferro ocorre na região de pico do complexo Mo(VI)- α BO, e verificando-se o nível em que a ação do íon ferro acontecia através de estudos univariados, observou-se que isto ocorria quando a razão Fe³⁺/Mo(VI) era da ordem de 500 vezes. Os elementos vanádio e tungstênio interferem de forma

diferente, pois os voltamogramas destes apresentam picos em regiões distintas do molibdênio, porém encobrem o sinal analítico do complexo Mo(VI)- α BO quando a razão Metal/Mo(VI) é de 100 vezes. Com íon Al^{3+} ocorre um processo de interferência similar aos dos íons tungstênio e vanádio, entretanto o sinal do molibdênio é afetado apenas quando a razão $\text{Al}^{3+}/\text{Mo(VI)}$ é maior ou igual a 1000 vezes. Nos estudos realizados com os íons sulfato e fosfato não se observou a interferência do íon sulfato nas determinações, porém com o íon fosfato, constatou-se que o sinal analítico do complexo de Mo(VI) sofria redução quando a razão P/Mo(VI) é maior ou igual a 100 vezes. Atribui-se esta inibição do sinal ao fato do íon fosfato formar complexo com o molibdênio, podendo estar ocorrendo uma competição do fosfato com a α BO, e desta forma causando a diminuição do sinal característico do complexo α BO-Mo(VI). Os demais elementos investigados, até evidenciaram picos característicos, como os mostrados na Figura-19, mas não afetaram as determinações efetuadas para o molibdênio com o STHS, em função de seus picos estarem localizados em potenciais diferentes do molibdênio.

As interferências causadas pela sobreposição de picos ou pela presença de determinada concentração de um elemento, limitam a aplicação do método a um número reduzido de matrizes. Objetivando avaliar a potencialidade com que os interferentes presentes na amostra afetam a determinação de molibdênio, optou-se pela realização de análises em amostras de ligas de aço, onde há grande presença de outros metais em relação ao molibdênio.

III.6 – Resultados das determinações de molibdênio em amostras de aços

Efetuaram-se determinações por voltametria adsortiva de redissolução e por ICPOES de acordo com o descrito (Tabelas 1 e 2), para as amostras de aço. Nas determinações realizadas com ICPOES obteve-se a concentração de cada elemento componente das amostras, sendo estes resultados mostrados na Tabela-18. Na Tabela-19 são comparados os resultados obtidos para o molibdênio por ICPOES, voltametria e o valor da amostra certificada.

Tabela-18: Média dos resultados obtidos por ICP-OES para a composição das amostras de aço em % m/m de cada elemento.

Componente da liga	% m/m da composição das amostras de aço			
	Amostra 1*	Amostra 2	Amostra 3	Amostra 4
Alumínio	0,09	0,11	0,04	0,10
Cádmio	0,02	0,02	0,01	0,02
Cobalto	0,12	0,09	0,09	0,07
Crômio	17,32	2,68	1,09	5,23
Cobre	0,09	0,22	0,20	0,12
Ferro	67,94	90,77	86,60	91,18
Manganês	1,61	0,76	0,66	0,50
Molibdênio	2,58	2,18	0,29	1,33
Níquel	11,05	0,54	3,57	0,24
Fósforo	0,02	0,02	0,17	0,08
Enxofre	0,02	0	0,03	0,01
Vanádio	0,09	0,85	0,05	1,01
Zinco	0,06	0,03	0,03	0,03

*Amostra de aço com valor certificado IPT – Instituto de Pesquisas Tecnológicas (SRM – amostra de aço 316 – CI 01.018)

Tabela-19: Resultados relativos às determinações efetuadas por ICPOES e pelo método voltamétrico para o molibdênio, expressas em % m/m.

Amostras	ICPOES %m/m	Voltamétrico %m/m	Valor certificado %m/m
Amostra 1*	2,58 ± 0,05	2,53 ± 0,02	2,54 ± 0,03*
Amostra 2	2,18 ± 0,08	2,03 ± 0,02	
Amostra 3	0,29 ± 0,03	0,30 ± 0,01	
Amostra 4	1,33 ± 0,03	1,32 ± 0,02	

*Amostra de aço com valor certificado.

De acordo com o esperado para as determinações voltamétricas, não aconteceu houve interferência do íon ferro, assim como dos outros íons, encontrados nas amostras de aço. O fato de se ter uma grande presença e variedade de íons em quantidade muito superior a de molibdênio nas amostras, e ainda se conseguir realizar a determinação, sem a necessidade de procedimentos de separação e/ou pré-concentração, mostrou que o sistema ternário apresentava uma resistência maior à interferência do íon Fe^{3+} , e de outros íons, e que esta resistência deveria ser muito superior à razão Metal/Mo(VI) revelada nos estudos univariados. Este fato mostrou que de alguma forma o STHS estaria permitindo que o complexo $\alpha\text{BO-Mo(VI)}$ fosse detectado, e que os interferentes não exercessem sua ação sobre o molibdênio. Uma explicação levantada o caso, reside numa possível interação dos íons interferentes que ocorreria no sistema ternário e que possibilitaria a determinação do elemento, mesmo em matrizes onde a razão Metal/Mo(VI) fosse muito maior que as encontradas com o estudo univariado.

No caso de amostras onde o elemento já se encontra na faixa de concentração em μg e os interferentes estejam na ordem de mg , a determinação ficaria comprometida, de acordo com os resultados dos

estudos univariados. E este é o caso das amostras de plantas, onde as quantidades de ferro e de fosfato encontradas, apresentam razões Fe/Mo(VI) e P/Mo(VI) muito superiores a 500 e 100 respectivamente. Entretanto, as determinações conseguidas nas amostras de aço, mostraram que o método poderia ser aplicado a outras matrizes e por estes motivos resolveu-se efetuar um planejamento do tipo estrela envolvendo os interferentes ferro e fosfato, no intuito de verificar o comportamento do sinal e de procurar uma forma de aplicar o método à determinação de molibdênio em amostras de plantas.

III.7 – Um estudo multivariado dos principais interferentes na determinação de Mo(VI) em plantas

Amostras de plantas apresentam valores de concentração de Mo(VI) na ordem de $\mu\text{g/kg}$, e os demais componentes como boro, cobre, ferro, manganês e zinco (micronutrientes) são encontrados na ordem de mg/kg e os macronutrientes (cálcio, fosfato, nitrogênio, potássio, magnésio e enxofre) são encontrados em mmol/kg de material seco (Agrifax, 1998). Ferro e fosfato interferem diretamente na determinação provocando deslocamento do pico no caso do ferro (de Andrade et al., 2001), ou competindo com o agente complexante αBO de acordo com os estudos univariados realizados.

Desta forma, procedeu-se o planejamento do tipo estrela (Barros Neto et al., 2001), onde as determinações voltamétricas foram realizadas com base nas concentrações máximas e mínimas de ferro e fosfato geralmente encontradas em plantas, e mostradas na Tabela-8. Os resultados obtidos foram submetidos à modelagem, utilizando o programa

MODREG (Barros Neto et al., 2001) visando obter entre os tratamentos, a melhor modelagem para os dados do planejamento.

O modelo linear estudado primeiramente apresentou falta de ajuste, o que o desqualificou de ser utilizado, desta forma efetuou-se a modelagem do quadrático.

III.7.1 – O modelo quadrático

Dados de entrada

Primeira coluna: Respostas,
Outras colunas: Matriz de planejamento

1	2,9300	-1,0000	-1,0000
2	2,6000	1,0000	-1,0000
3	2,7800	-1,0000	1,0000
4	2,4800	1,0000	1,0000
5	2,7000	0,0000	0,0000
6	2,7300	0,0000	0,0000
7	2,7700	0,0000	0,0000
8	2,8600	-1,4100	0,0000
9	2,7000	0,0000	1,4100
10	2,5300	1,4100	0,0000
11	2,7800	0,0000	-1,4100

Resultados da modelagem

Primeira coluna: Ensaio
Segunda coluna: Resposta
Terceira coluna: Resposta Prevista
Quarta coluna: Resíduo

1	2,9300	2,9002	0,02979
2	2,6000	2,6106	-0,01056
3	2,7800	2,7892	-0,00922
4	2,4800	2,5296	-0,04958
5	2,7000	2,7334	-0,03341
6	2,7300	2,7334	-0,00341
7	2,7700	2,7334	0,03659
8	2,8600	2,8787	-0,01867
9	2,7000	2,6624	0,03762
10	2,5300	2,4914	0,03857
11	2,7800	2,7977	-0,01772

Coeficientes do polinômio ajustado

1 = termo constante

1	2,7334
2	-0,1373
3	-0,0480
4	-0,0243
5	-0,0017
6	0,0075

Análise da variância

Fonte de variação	Soma quadrática	Nº de g. l.	Média quadrática	Teste F
Regressão	0,1725	5	0,0345	18,0601
Resíduos	0,0096	5	0,0019	
Falta de ajuste	0,0071	3	0,0024	1,9150
Erro puro	0,0025	2	0,0012	
Total	0,1821	10		

O modelo quadrático apresenta um F_{calc} de 2,0 e um $F_{\text{tab}} (5, 2) = 19,30$. Como $F_{\text{calc}} < F_{\text{tab}}$, o modelo não possui falta de ajuste para um nível de confiança de 95%. Na regressão o modelo apresentou um valor de 18,16 para o F_{calc} , e um $F_{\text{tab}} (3, 5) = 5,41$, como $F_{\text{calc}} > F_{\text{tab}}$ tem-se que a regressão é significativa para um nível de 95% de confiança.

A interação das variáveis do sistema foi avaliada, utilizando-se os erros padrão e relativo sobre uma observação. Onde $Sp = 0,0436$, e os erros padrão obtidos pela equação: $(b_i^*) = ((Vb) \times Sp^2)^{1/2}$ apresentaram os seguintes valores para cada coeficiente da equação dada pela modelagem efetuada.

$$(b_1^*) = (0,333325 \times 0,0436^2)^{1/2} = 0,030$$

$$(b_2^*) = (b_3^*) = (0,125373 \times 0,0436^2)^{1/2} = 0,015$$

$$(b_4^*) = (b_5^*) = (0,178515 \times 0,0436^2)^{1/2} = 0,018$$

$$(b_6^*) = (0,2500 \times 0,0436^2)^{1/2} = 0,022$$

A significância estatística da equação e destes intervalos é garantida utilizando-se a equação -8: $b_i \pm t_{n-2} \times (b_i^*)$ (Barros Neto, et al., 2001)

Tem-se que $t_{n-2} = t_{3, 95\%} = 3,182$

Assim os intervalos de confiança e os erros relativos associados a cada coeficiente, garantem a presença dos seguintes coeficientes obtidos pela modelagem na equação, ficando assim:

$$Y = 2,7334(\pm 0,030) - 0,1373(\pm 0,015)P - 0,0480(\pm 0,015)Fe - 0,0243(\pm 0,018)P^2 + 0,0075(\pm 0,022)PFe,$$

onde

P = fosfato

Fe = ferro

A equação mostra que os efeitos primários do fosfato inibem o sinal analítico e que a interação destes íons compensa em muito pouco a interferência causada pelos efeitos isolados. Entretanto a maior interferência ocorre onde há grande quantidade de fosfato e de ferro, como pode ser observado na Figura-20 que mostra a superfície de resposta obtida com a modelagem.

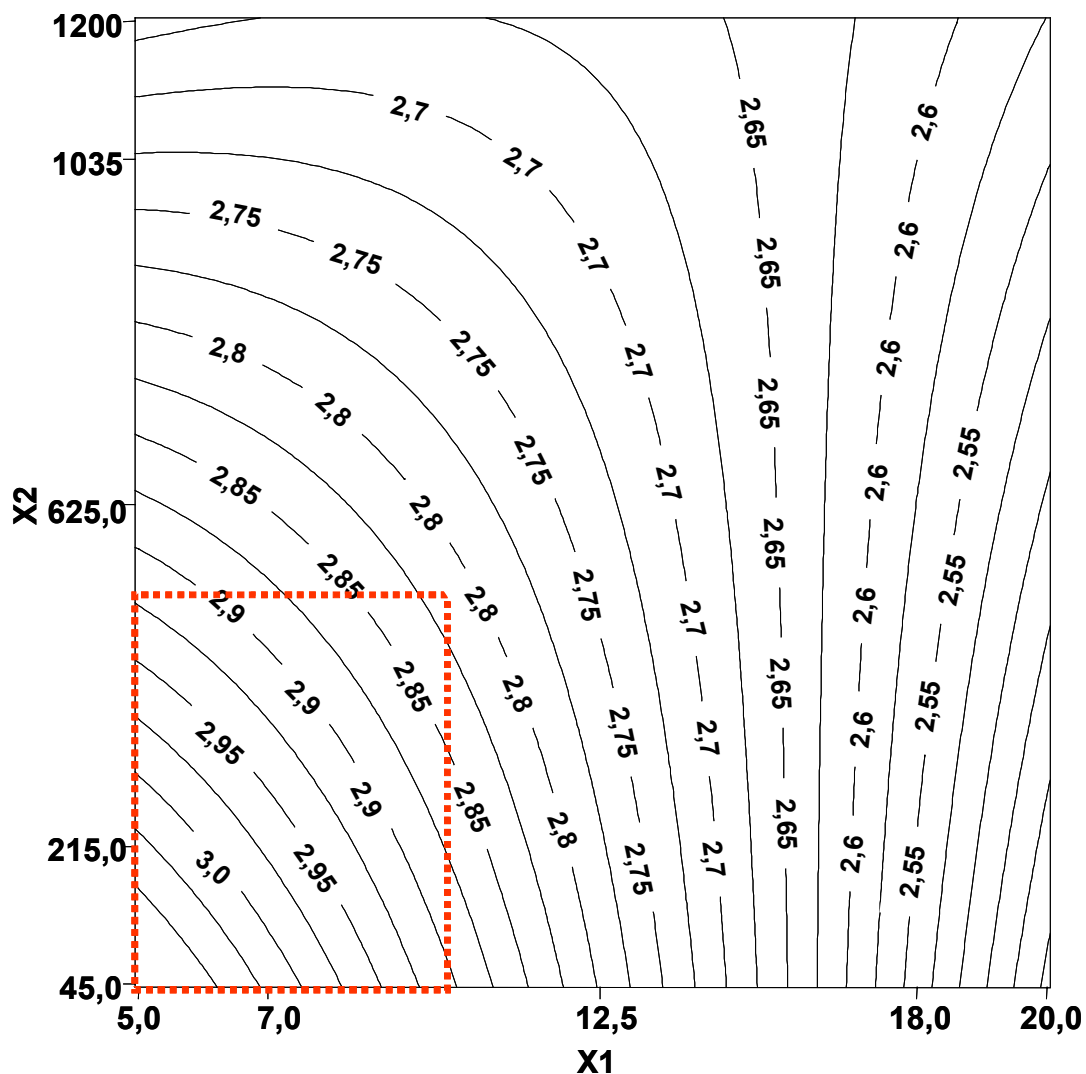


Figura-20: Superfície de resposta em duas dimensões, mostrando as interações entre P(fosfato) (X1) e Fe(ferro) (X2), e os efeitos na determinação de Mo(VI) utilizando o STHS e AdSV. A concentração máxima de molibdênio é de 3,0µg/L e as de ferro e fosfato estão em mg/kg e g/kg respectivamente.

O planejamento foi efetuado para se poder observar melhor a interação dos íons e a interferência destes na determinação de molibdênio em plantas, e que os valores extremos adotados são raramente encontrados em amostras reais. A faixa de concentração em que ferro e fosfato são encontrados nas plantas, encontram-se na região assinalada em vermelho na Figura-20. Nas condições extremas do planejamento, ou

seja, fora da região demarcada em vermelho, é esperado um decréscimo de até 20% na concentração de Mo(VI), assumindo-se o valor de $3,0\mu\text{g/L}$ como o correto para o estudo realizado. Entretanto, na região demarcada o decréscimo do sinal em relação à concentração de Mo(VI) é de no máximo 7%, e isto se ocorrer a combinação de ferro e fosfato necessárias para a interferência.

Comparando-se os resultados dos estudos multivariados com os univariados, observou-se que o método é muito mais resistente a ação dos interferentes, e que as razões Fe/Mo(VI) e P/Mo(VI) podem chegar a valores iguais a 8000 e 136000 respectivamente na célula voltamétrica.

Desta forma, resolveu-se pela aplicação e uso do STHS nas determinações de molibdênio em extratos de plantas, sem a preocupação da interferência de fosfato e ferro, e sem a necessidade do uso de procedimento de pré-concentração ou separação. E elaborou-se um protocolo analítico descrito no Apêndice-1 para a determinação de Mo(VI) em plantas.

III.8 – Determinação direta de molibdênio em plantas

De acordo com os estudos de misturas e dos interferentes realizados propõe-se efetuar a determinação de molibdênio em amostras de plantas, respeitando-se as condições otimizadas e os limites pertinentes ao sistema ternário. Para tanto, seguiram-se às etapas descritas na Parte Experimental e, nestas condições, procedeu-se à determinação voltamétrica de Mo(VI).

As amostras foram pesadas de acordo com o procedimento padrão do Instituto Agrônomo de Campinas que utiliza 1,000 g de matéria seca

e moída nas determinações. As plantas foram calcinadas a 500°C e mineralizadas na seqüência com HCl.

Para validar os resultados foram utilizados os valores da faixa de aceite e mediana fornecidos pelo programa interlaboratorial IPE, e estes foram comparados com os resultados obtidos por voltametria adsortiva em STHS e por determinações efetuadas com forno de grafite. Entretanto, devido ao procedimento de abertura adotado, para algumas determinações com o forno de grafite fez-se necessário o uso da técnica de adição de padrão, fazendo-se a comparação dos resultados obtidos pelo forno com os voltamétricos e com a faixa de aceite e mediana fornecidos pelo IPE.

Na Tabela-20 são mostrados resultados pertinentes às determinações de Mo(VI) pelos métodos voltamétricos e FGAAS, e neles observam-se que os resultados obtidos por voltametria são muito bons, apresentando um baixo desvio entre as replicatas, e estes resultados relativos a 1,000 g de amostra, apresentam também valores próximos da mediana fornecida pelo IPE, ou seja, o método voltamétrico é muito preciso nas determinações de amostras de plantas, seguindo o procedimento de abertura utilizado pelo IAC.

A determinação de ferro e fosfato faz parte dos procedimentos de análises de rotina e, nestas condições, o ferro é encontrado na faixa de 150 a 600 mg/kg e o fosfato de 5 a 15 g/kg, o que possibilita a determinação voltamétrica de molibdênio com o sistema ternário homogêneo de solventes, utilizando uma alíquota apropriada do extrato de planta diretamente no STHS, sem a necessidade de se remover os interferentes.

Caso a concentração dos íons interferentes seja muito mais alta que os valores normalmente encontrados, deve-se considerar uma etapa de diluição da amostra. Uma outra situação a ser considerada é quando a quantidade de molibdênio na amostra é muito pequena, neste caso pode-

se utilizar 2,000 g de amostra para realizar a análise, entretanto, deve-se observar os níveis de concentração dos interferentes para que estes não atuem na determinação. O procedimento de abertura de amostra do IAC, toma 1,000 g de amostra seca de planta para a análise. Porém, em alguns casos onde os valores de molibdênio são muito baixos pode-se utilizar 2,000 g. Entretanto essa não é uma prática recomendável para o STHS, visto que todo o planejamento foi efetuado considerando-se os valores de macro e micro nutrientes presentes em 1,000 g de amostra de planta.

Tabela-20: Resultados das determinações voltamétricas de molibdênio efetuadas com amostras de plantas do programa IPE, comparados com os valores da mediana faixa de aceite fornecidos pelo IPE, e os resultados fornecidos por FGAAS.

Amostra IPE (planta) [ano]	Método voltamétrico^(a) [Mo(VI)] $\mu\text{g/kg}$	FGAAS^(b) $\mu\text{g/kg}$	Faixa de aceite (IPE)	Mediana (IPE)
100(grama-GR94)[2000]	1556 $\pm$ 9		1217-1903	1560
145(raiz-valeriana)[2000]	832 $\pm$ 2		401-1295	848
146(grama)[2000]	1825 $\pm$ 10	2306 $\pm$ 352	1263-2399	1826
147(grama)[2000]	793 $\pm$ 3	994 $\pm$ 216	537-1079	808
678(palmeira)[1997]	144 $\pm$ 4	142 $\pm$ 42 ^(b)	48-208	128
980(gerbera)[2000]	393 $\pm$ 3		256-526	391
883(Cravo)[1996]	1991 $\pm$ 6	1953 $\pm$ 167 ^(b)	1661-2293	1977
100(grama-GR94)[2000] ^(c)	1413 $\pm$ 4	1653 $\pm$ 55	1217-1903	1560
119(roseira) [2000] ^(c)	381 $\pm$ 4	489 $\pm$ 21	252-533	393
146(grama)[2000] ^(c)	1731 $\pm$ 5	2083 $\pm$ 85	1263-2399	1826
147(grama) [2000] ^(c)	731 $\pm$ 5	877 $\pm$ 19	537-1079	808
148(lucerne-91) [2000] ^(c)	353 $\pm$ 4	439 $\pm$ 28	205-477	341
158(Eucalipto) [2000] ^(c)	32 $\pm$ 1	ND*	0-99	36

*ND = Não detectado.

^(a) Determinações efetuadas em triplicata.

^(b) Valores encontrados pelos procedimentos utilizando adição de padrão.

^(c) Determinações efetuadas com dois gramas de amostra aberta.

Nas medidas realizadas com 2,000 g de material vegetal encontraram-se para a maior parte das amostras, resultados distantes da mediana. Tal fato é explicado em função de como foi conduzido o planejamento, que considerou desde o início a presença de fosfato e ferro contidos em 1,000 g de material calcinado e mineralizado com HCl, e que apresentou um volume final de 50 mL. Ao serem utilizados 2,000 g dobraram-se os valores de Mo(VI) e também o dos interferentes, que acabaram por influenciar nos resultados. As amostras 119, 148 e 158 apresentaram resultados próximos à mediana, pelo fato de possuírem concentrações de ferro e fosfato que não extrapolaram os valores utilizados no planejamento fatorial, como pode ser observado na Tabela-21, e desta forma não interferiram na determinação de molibdênio.

Tabela-21: Valores de mediana e desvios absolutos das medianas fornecidos pelo IPE para as espécies interferentes encontradas em amostras de plantas e utilizadas neste trabalho.

Amostra IPE (planta) [ano]	Fe mg/kg	P (como fosfato)^(a) g/kg
100(grama-GR94)[2000]	551 ± 28	11,9 ± 0,4
145(raiz-valeriana)[2000]	1324 ± 132	15,2 ± 0,2
146(grama)[2000]	851 ± 59	10,4 ± 0,3
147(grama)[2000]	765 ± 32	10,0 ± 0,3
678(palmeira)[1997]	89,7 ± 7,7	5,1 ± 0,2
980(gerbera)[2000]	179 ± 9	13,5 ± 0,5
883(Cravo)[1996]	1219 ± 67	21,4 ± 0,5
119(roseira) [2000]	97,6 ± 7,4	5,8 ± 0,2
148(lucerne-91) [2000]	230 ± 15,5	7,1 ± 0,2
158(Eucalipto) [2000]	187 ± 14	3,6 ± 0,1

^(a) Os valores originais são reportados em mmol/kg de P.

Os resultados obtidos, comprovaram que o método voltamétrico pode ser utilizado para a determinação de molibdênio em amostras de plantas, que deve ser realizada, sempre que possível, com a massa de 1,000 g de material de planta, de acordo com o planejamento efetuado.

Essas determinações, além de comprovar a eficiência do método, mostraram a importância de se efetuar um estudo multivariado, que permite conhecer as melhores condições para a determinação de um elemento em particular, no caso, o molibdênio em matrizes complexas, como ocorre com solos e plantas, e na presença de inúmeros interferentes.

O estudo multivariado comprovou definitivamente que existe interferência dos íons na determinação de molibdênio, e que esta pode comprometer o resultado final. Porém, essa interferência ocorre quando as concentrações dos íons metálicos apresentam níveis muito altos em relação aos valores encontrados em plantas. E a interação dos interferentes entre si, mostrada pelo estudo multivariado e visualizada na Figura-20, também ajuda a minimizar a interação, justificando mais uma vez a sua aplicação nos estudos realizados.

III.9 – Determinação de molibdênio em complexos polivitamínicos e poliminerais utilizando o STHS

Utilizando-se das mesmas condições do STHS adotadas na determinação de plantas, efetuaram-se as leituras dos complexos polivitamínicos.

Resolveu-se realizar a determinação de molibdênio neste tipo de matriz, pelo fato de que ela possui grande quantidade de outros elementos

componentes do medicamento como por exemplo o ferro e o fosfato, que são considerados interferentes na detecção de molibdênio. E de acordo com outros métodos, faz-se necessário o uso de técnicas de separação e/ou pré-concentração (Vartak e Shinde, 1996 e Bagur et al., 1995). E considerando-se as dificuldades envolvidas e os bons resultados obtidos com as amostras de plantas, resolveu-se utilizar o método desenvolvido para a determinação de molibdênio empregando o STHS neste tipo de amostra. Os resultados obtidos foram validados comparando-se com os valores do fabricante e utilizando-se o teste de dopagem das amostras com 100 µg/L de Mo(VI) e verificando-se o sinal recuperado para cada uma. Efetuou-se também a determinação por espectrometria de absorção atômica com forno de grafite nas condições descritas na Parte Experimental.

Nestas condições obtiveram-se os resultados exibidos nas Tabelas-22 e 23, evidenciando que o método voltamétrico possibilita a determinação de molibdênio nas amostras de complexos polivitamínicos de forma mais simplificada que outras existentes na literatura (Henning et al., 2000), visto que não se utilizou nenhuma etapa de separação ou pré-concentração e que bons resultados foram obtidos nas determinações diretas, e que estes são compatíveis com os resultados do forno de grafite e com os resultados dos testes de recuperação.

Tabela-22: Valores percentuais obtidos pelo teste de dopagem e recuperação das amostras comparadas com os resultados obtidos pelo método voltamétrico.

Amostra	Método Voltamétrico (µg/g)	Molibdênio adicionado (µg/g)	Mo(VI) Total detectado (µg/g)	Valor recuperado (%)
1	227,3 ± 4,0	100,0	326,9 ± 4,5	99,7
2	78,5 ± 2,0	100,0	178,3 ± 1,1	99,8
3	48,9 ± 1,6	100,0	149,1 ± 2,2	100,2

Tabela-23: Determinações de Mo(VI), pelo método voltamétrico, forno de grafite emitidos em $\mu\text{g/g}$ de comprimido, comparados com os valores apresentados pelo fabricante.

Amostra	Método Voltamétrico ($\mu\text{g/g}$)	Mo(VI) FGAAS ($\mu\text{g/g}$)	Valor do fabricante ($\mu\text{g/g}$)^(a)
1	227,3 $\pm$ 4,0	221,7 $\pm$ 6,9	225,5
2	78,5 $\pm$ 2,0	80,4 $\pm$ 3,8	79,1
3	48,9 $\pm$ 1,6	49,5 $\pm$ 0,75	40,6

^(a) Valor de concentração relativo a 1,000 g, calculado a partir da massa aferida de cada comprimido e do valor de concentração mencionado no rótulo pelo fabricante.

Os percentuais obtidos pelo teste de recuperação atestam a exatidão do método quanto a concentração do elemento na amostra, e isto pode ser visto nas Figuras-21, 22 e 23 que mostram os voltamogramas das amostras puras e acrescidas de 100 $\mu\text{g/L}$ de molibdênio, e nos resultados exibidos na Tabela-23.

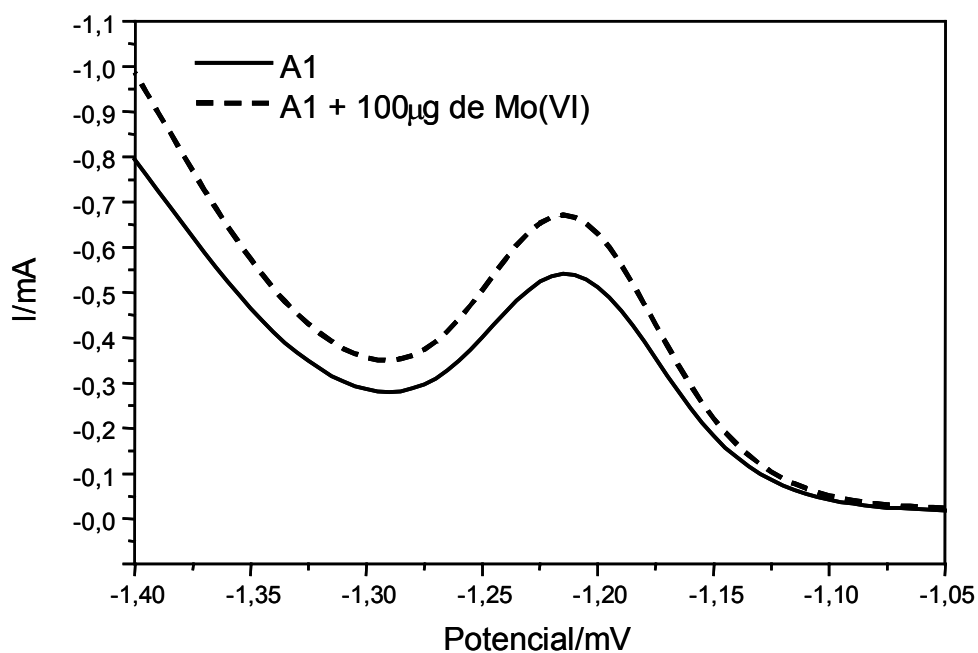


Figura-21: Voltamogramas da amostra-1 pura e quando acrescida de 100/ μg de Mo(VI).

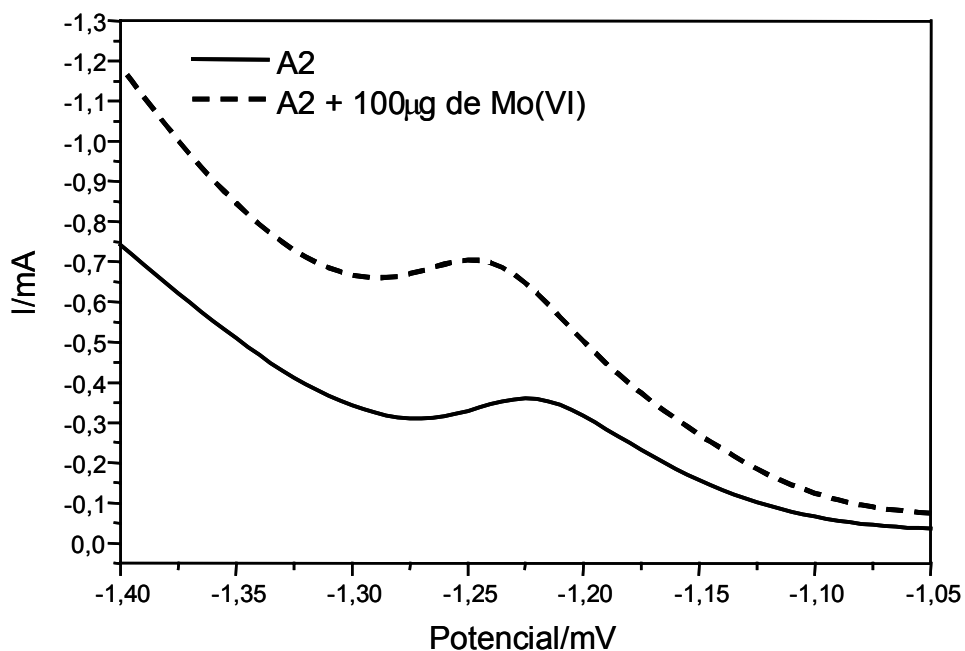


Figura-22: Voltamogramas da amostra-2 pura e quando acrescida de 100/ μg de Mo(VI).

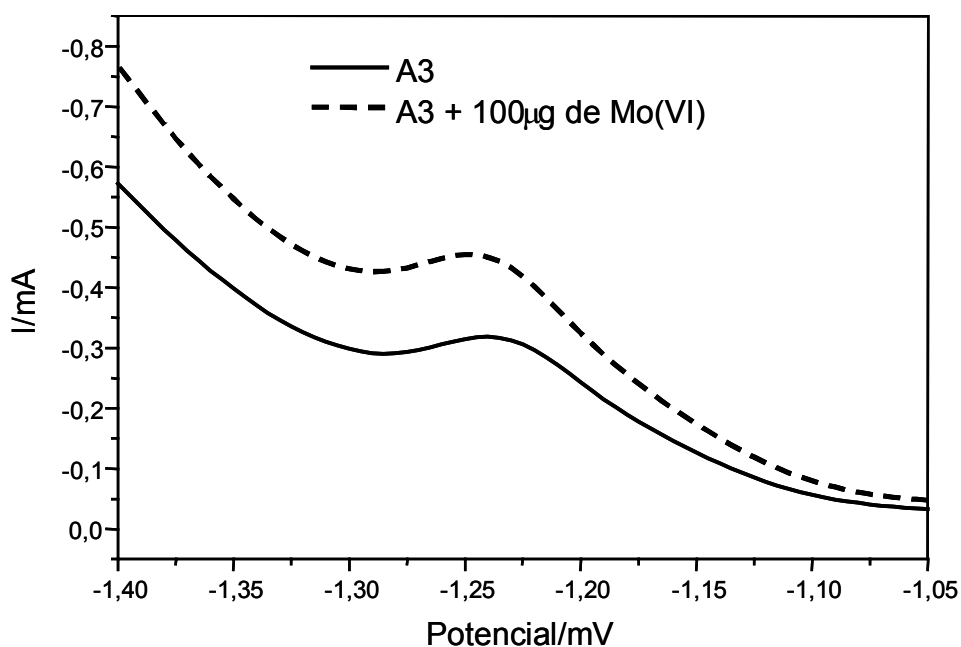


Figura-23: Voltamogramas da amostra-3 pura e quando acrescida de 100/ μ g de Mo(VI).

Estes resultados demonstram a que o método de determinação utilizando o STHS desenvolvido para plantas pode ser aplicado para outros tipos de matrizes, sem que as medidas sejam comprometidas.

IV – Considerações finais

O método desenvolvido mostrou-se simples, preciso e bastante reprodutível na determinação de Mo(VI) para as diferentes matrizes a que foi aplicado, apresentando além das características já mencionadas, o fato de não necessitar de etapas de separação ou pré-concentração.

Os procedimentos de otimização foram realizados com sucesso graças aos seguintes fatores: o uso da voltametria adsorptiva de redissolução (AdSV), o uso de uma mistura de reagentes na forma de um sistema ternário de solventes (STHS), o uso do agente complexante α BO e o emprego de estudos multivariados. A união desses fatores fez com que o método desenvolvido apresentasse resultados 1000 vezes superiores aos conseguidos por Gao e Siow (1996a).

Vale ressaltar a importância dos estudos multivariados realizados, pois sem eles a obtenção da melhor mistura do STHS e a compreensão da interferência de ferro e fosfato nas determinações de molibdênio, não teriam sido atingidas da forma rápida e conclusiva mostrada no decorrer deste trabalho. E este fato contribuiu para que o método aqui apresentado possuisse a sensibilidade e confiabilidade demonstrada nas medidas realizadas no decorrer deste trabalho. E de acordo com o que se pode observar nas diversas análises efetuadas em matrizes complexas a determinação de Mo(VI) com o uso da AdSV e o STHS, este método pode ser aplicado em laboratórios de análises de rotina de plantas, podendo ainda ser estendido para aços e complexos vitamínicos.

APÊNDICE - I

Protocolo analítico: Determinação de Mo(VI) em amostras de plantas utilizando voltametria adsortiva de redissolução

O molibdênio é considerado um elemento essencial para plantas, que dependem da sua presença para efetuarem diferentes processos metabólicos e enzimáticos, atuando principalmente na fixação de nitrogênio e em alguns processos fisiológicos. O molibdênio participa ativamente como integrante dos processos enzimáticos que envolvem a nitrogenase, a redutase de nitrato e oxidase de sulfato, estando também relacionado com o transporte de elétrons no processo de várias reações bioquímicas. A falta de molibdênio no solo pode ocasionar uma menor síntese da enzima nitrogenase, com conseqüente redução da fixação biológica do nitrogênio pelos vegetais. Por essas razões é importante conhecer o teor de molibdênio em solos e plantas.

O método desenvolvido por de Andrade et al.(2001) para a determinação de Mo(VI) em amostras de aço, utilizando a técnica de voltametria adsortiva de redissolução, mostrou-se extremamente sensível para o analito em questão, apresentando uma faixa linear de 0,20 a 10 ng/mL na célula polarográfica. Com base nos valores exibidos nesta faixa de concentração e na alta sensibilidade e reprodutibilidade demonstrada pelo trabalho realizado com as amostras de aço, propôs-se a aplicação do método para amostras de plantas, efetuando-se algumas alterações em

função da matriz a ser analisada. É fato conhecido que, determinações empregando técnicas eletroquímicas são pouco utilizadas em laboratórios de análises de rotina de solos e plantas, onde é mais comum o uso de métodos que empregam técnicas espectrofotométricas (van Raij, et al., 2001). Porém, esses métodos, na sua maioria, necessitam de etapas de separação e pré-concentração para determinar níveis baixos de concentração de molibdênio, o que os torna extremamente trabalhosos. Salienta-se no entanto, que além da determinação com forno de grafite, não se encontrou referência a métodos desenvolvidos que consigam detectar molibdênio nos níveis de concentração obtidos pelo método aqui apresentado.

Visando o maior entendimento do método e sua utilização por parte do usuário, este será descrito seguindo a ordem de execução, a saber: Abertura de amostras, seguido do preparo das soluções para uso diário e padrões, preparo do sistema ternário, utilização correta do equipamento, utilização do software e ajustes necessários para uma boa determinação, leitura da curva de calibração e determinações em amostras reais do analito.

I - Abertura de amostras

As amostras que serão submetidas à análise devem ser lavadas com água destilada e deionizada, secas a 60⁰C até peso constante, moído em moinho tipo Willey e passadas em peneira com malha de 1 mm (16 mesh). A fração de amostra que passa por essa peneira é armazenada para análise. Caso seja oportuno, deve-se proceder a nova secagem e moagem do material vegetal.

Independente da origem da amostra, pesar uma massa de 1 g (com precisão mínima de 1mg) do material vegetal em cápsulas de porcelana, sendo colocado a queimar em uma mufla por 30 minutos a 200°C com a porta semi-aberta. Após este tempo a porta é fechada por completo e as amostras sofrem calcinação por 2,5h a uma temperatura situada entre 500 – 550°C. Após este período a mufla é desligada e o material sofre resfriamento natural durante um período de 12h. Após o resfriamento, as cinzas são umedecidas com água deionizada, e em seguida mineralizadas com 2 mL de HCl 6 mol/L, sob aquecimento constante em chapa aquecedora até a **evaporação completa do ácido adicionado**. A seguir, os resíduos são redissolvidos com 10 mL de **HCl 2,00 mol/L (padronizado)**, aquecidos e filtrados quantitativamente. O material utilizado na mineralização e o resíduo retido no filtro são lavados com outros 10 mL de **HCl 2,00 mol/L (padronizado)** e 10 mL de água. O filtrado deve ser recolhido em balão volumétrico de 50,0 mL e ter o seu volume completado com água deionizada (Bataglia, et al., 1983).

II - Preparo das soluções estoque e dos padrões

Solução estoque de α -benzoinoxima $3,240 \times 10^{-4}$ mol/L. Pesar e dissolver 0,0185g de α -benzoinoxima P.A em 50 mL de N, N-dimetilformamida (DMF), transferindo-se em seguida para um balão volumétrico de 250 mL completando-se o volume com DMF.

Solução de trabalho de Mo(VI) 10,0 mg/L. Com uma pipeta volumétrica ou automática, transferir 1,00 mL da solução padrão estoque

de molibdênio (1000 mg/L) para um balão volumétrico de 100,0 mL e completar o volume com água deionizada.

Solução de uso diário de Mo(VI) 1,0 mg/L. Com uma pipeta volumétrica ou automática, transferir 5,0 mL da solução de trabalho de molibdênio (10 mg/L) para um balão volumétrico de 50,0 mL e completar o volume com água deionizada.

Solução tampão de ácido acético/ acetato de sódio 0,5 mol/L. Pesar 6,8045g de acetato de sódio P.A. e dissolver em 50 mL de água deionizada, em seguida adicionar 2,0 mL de ácido acético glacial, transferindo-se o conteúdo para um balão volumétrico de 100,0 mL e completar o volume com água deionizada. **(Esta solução deve ser preparada em capela)**

Solução de hidróxido de sódio 1,0 mol/L. Pesar 2,0 g de hidróxido de sódio e dissolver em 10 ml de água deionizada, transferir o conteúdo para um balão volumétrico de 50,0mL, completar o volume com água deionizada. A solução de NaOH é utilizada por ser de fácil preparo e apresentar boa durabilidade.

III - Preparo da curva de calibração

O preparo das soluções utilizadas na obtenção da curva de calibração deve seguir rigorosamente a mesma sistemática adotada no preparo das amostras, **após a etapa de calcinação e resfriamento**. Assim, deve-se adicionar aos cadinhos de porcelana os volumes da **solução de preparo e**

uso diário de Mo (IV) listados no Quadro-1. Após a execução de todo procedimento de abertura de amostra, 4,0 mL de cada uma dessas soluções serão adicionadas à composição de um respectivo STHS, de acordo com o procedimento.

Quadro-1: Volumes da solução de uso diário de Mo(VI) utilizados na obtenção da curva de calibração e as respectivas concentrações finais nos balões num volume de 50,0 mL.

Volume Mo(VI) mL	0,10	0,20	0,40	0,80	1,60	2,00
Concentração Mo (VI) µg/L	2,0	4,0	8,0	16,0	32,0	40,0

Os valores de concentração descritos no Quadro-1 correspondem em µg/L na célula polarográfica a: 0,25, 0,50, 1,0, 2,0, 4,0 e 5,0, considerando o volume final do STHS de 32,4 mL.

IV - Preparo do Sistema Ternário Homogêneo de Solventes (STHS)

Adicionar em um frasco de vidro do tipo "snap-cap" 4,0 mL de amostra ou da solução da curva de calibração. Em seguida, adicione na ordem os reagentes:

2,0 mL de hidróxido de sódio 1,0 mol/L

1,70 mL da solução tampão ácido acético/ acetato de sódio 0,5 mol/L

0,80 mL de água deionizada

Após a adição destes três reagentes verifica-se o pH. Caso este esteja em torno de 2,20 ($\pm 0,05$) prosseguem-se os demais passos do

método, caso contrário ajusta-se o pH utilizando 3 gotas no máximo de uma base ou ácido 0,1 mol/L padronizado. **Vale lembrar que o pH adotado deve ser o mesmo para todos os pontos da curva de calibração e amostras.** Feito isto, lave o eletrodo com 5,00 mL etanol P.A. **coletando todo o resíduo resultante da lavagem no frasco snap-cap, para evitar perda de massa,** a seguir adiciona-se os demais reagentes componentes do sistema ternário.

8,00 mL de etanol P. A.

10,00 mL de N, N-dimetilformamida P. A.

2,00 ml da solução de α -benzoinoxima $3,24 \times 10^{-4}$ mol/L preparada em DMF.

Agitar vigorosamente o frasco para homogeneizar o sistema, aguardando uns 5 minutos para que o sistema resfrie, pois a interação dos solventes causa ligeiro aquecimento do STHS, e após esse tempo tem-se o sistema pronto para a análise. O volume final do STHS é igual a 32,4 mL e nesta condição o pH nominal do sistema deve ser $3,5 \pm 0,1$.

V - A Curva de calibração

Para o levantamento da curva de calibração, efetuam-se os procedimentos descritos a seguir: pipetar e transferir para a célula polarográfica 10,0 mL do STHS contendo o ponto da curva de calibração. Mergulhar os eletrodos na célula polarográfica, e em seguida acionar o programa de leitura, o que é feito, no caso do equipamento Radiometer, clicando sobre a seta vermelha na barra de ferramentas na parte superior da tela. O programa acionado, inclui as seguintes etapas: tempo de purga de 300 s, grau de agitação em 400 rpm, troca de 2 gotas de mercúrio no

capilar, tempo de eletrólise em 150 s, tempo de 0,5 s para o crescimento da gota, pulsos em intervalos de 40 ms com amplitude em 50mV.

Durante a execução da etapa de varredura o programa começa a traçar um gráfico de corrente (i em μA) contra potencial (E em mV). O programa finaliza com a obtenção completa do voltamograma em um gráfico potencial ($E = \text{mV}$) contra corrente ($i = \mu\text{A}$). Após a varredura o programa irá solicitar um nome para o gráfico, para que o mesmo seja salvo, recomenda-se criar um nome que ajude na identificação amostra ou do ponto da curva de calibração. O pico do complexo Mo- α BO ocorre em torno de -1260 mV , o valor da corrente relativo ao pico neste potencial será usado para elaborar a curva de calibração em cada um dos pontos apresentados no item IV.

Assim, trabalha-se os resultados em um gráfico de corrente (i) contra valores de concentração de Mo(VI) na célula polarográfica e ajusta-se a curva, o que geralmente é feito utilizando-se o software Origin5.0 ou similar. Um exemplo de curva é apresentado na Figura-A.

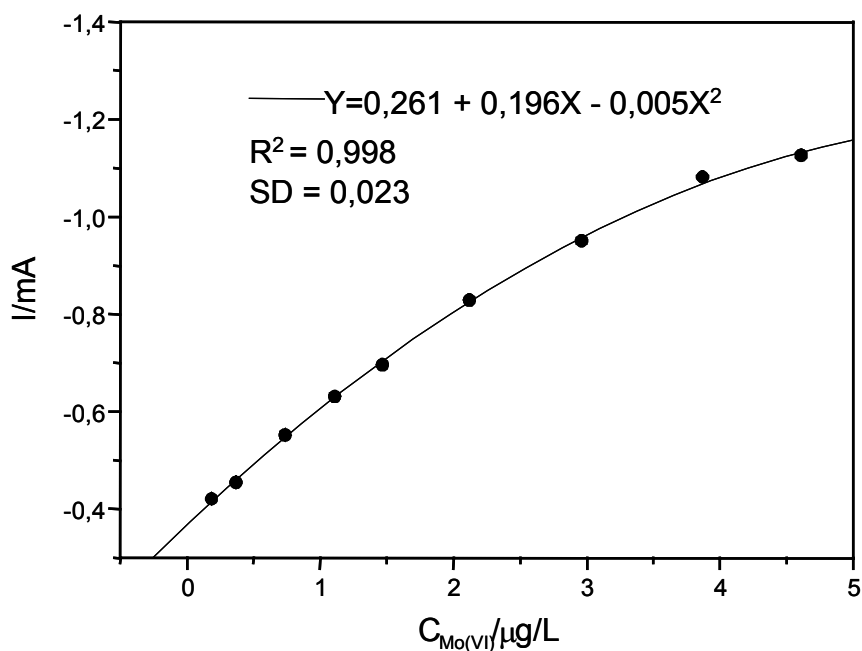


Figura-A: Curva de Calibração típica para a determinação de molibdênio, utilizando o STHS.

VI. Leitura das amostras

Efetua-se as leituras das amostras de forma idêntica aos pontos da curva de calibração, ou seja, pipeta-se e transfere para a célula polarográfica, 10,0 mL do STHS contendo a amostra. E a seguir efetuam-se todos os demais passos para a aquisição dos resultados. O pico do complexo $Mo-\alpha BO$ ocorre para as amostras por volta de -1260 mV, e o valor de corrente relativo a este pico é utilizado para determinar o valor de concentração da amostra, de acordo com a curva de calibração, já elaborada.

VII. Cálculos para a concentração em $\mu\text{g/kg}$ de planta

A curva de calibração fornece uma equação do tipo $[\text{Mo(VI)}]/(\mu\text{g/L})$ contra o sinal analítico corrente $i/(\mu\text{A})$. E pela equação-a obtém-se a concentração de molibdênio na amostra $[A]$.

$$[\text{Planta}] = (([A] * 32,4) / (4 * 50)) * 1000 \quad (\text{equação-a})$$

onde: 1000 é o fator de conversão para 1 kg, 50 é o volume final da amostra mineralizada com HCl; 32,4 é o volume final do STHS; 4 é o volume da amostra utilizado na montagem do STHS e $[A]$ é a concentração de molibdênio encontrada no STHS em função do sinal analítico e $[\text{Planta}]$ é a concentração final de molibdênio em $\mu\text{g/kg}$ de planta.

VIII - Cuidados operacionais obrigatórios

Procedimentos obrigatórios antes de ligar o equipamento

Limpeza da célula polarográfica: A célula polarográfica deve ser limpa antes e nos intervalos entre as determinações efetuadas para obtenção da curva de calibração ou leitura das amostras. Para tanto, procede-se a uma limpeza com água deionizada em abundância, seguida por uma lavagem com uma solução de HNO_3 10%, e finalizando com lavagens sucessivas com água deionizada em abundância. **Usar novamente a célula somente após estar completamente seca.**

Limpeza dos eletrodos: Lavar os eletrodos com água deionizada em abundância utilizando uma piceta, e secá-los bem com lenços de

papel, que devem ser descartados após o uso, esta limpeza deve ser efetuada com **extremo cuidado**.

IX - Descrição e utilização do Polarógrafo Radiometer

O Polarógrafo

As medidas voltamétricas são efetuadas em um polarógrafo Radiometer modelo POL 150 acoplado a um *stand* polarógrafo Radiometer modelo MDE 150, constituído por três eletrodos: o eletrodo gotejante de mercúrio (EGM) como eletrodo de trabalho; o eletrodo de Ag/AgCl, KCl saturado como eletrodo de referência e um fio de platina como eletrodo auxiliar (ver Figura-B). O polarógrafo é acoplado a um microcomputador, que possui como software o programa Trace Master versão X9737-2.03, que é utilizado para o registro e aquisição das medidas.

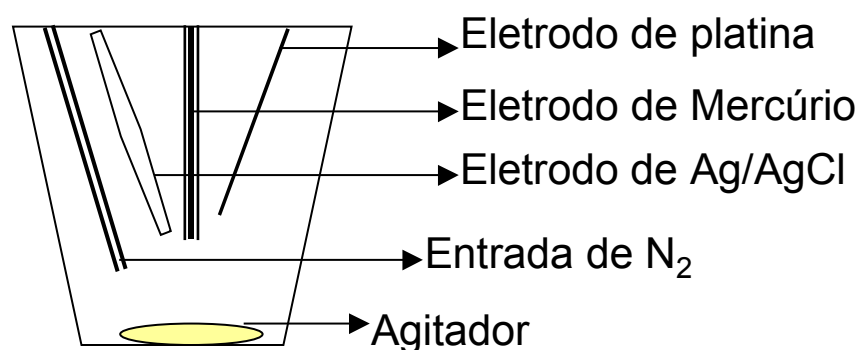


Figura-B: Esquema de uma célula polarográfica com seus respectivos eletrodos

A técnica empregada é a de voltametria de adsorção de pulso diferencial que está baseada na relação existente entre corrente e potencial, durante o processo de eletrólise, onde o potencial aplicado entre os eletrodos proporciona a redução ou oxidação de uma espécie química,

ocorrendo todas essas etapas em uma célula eletroquímica. A célula é composta pelo eletrodo de trabalho, onde ocorre a eletrólise, o eletrodo de referência, que mede o potencial referente ao eletrodo de trabalho e o eletrodo auxiliar, que permite a passagem de corrente durante a eletrólise. Os demais parâmetros são usuais e referem-se à amplitude de pulso e velocidade de varredura mantidos em 50 mV e 5 mV/s, respectivamente.

Procedimento para ligar o polarógrafo

Ligando o polarógrafo.

Ligar o microcomputador, aguardando que todas as funções deste estejam ativas. Ligar a interface e o stand polarográfico, aguardando o OK para acionar o software Trace Master 5 para iniciar as determinações.

Ajuste da pressão de gás.

Abrir a válvula principal do gás nitrogênio, ajustar a pressão de saída do gás em 2,0 bar e a pressão do capilar de mercúrio em 0,6 bar. Ajustar manualmente o borbulhar de N₂ para que as bolhas saiam de modo contínuo e constante. Em seguida acesse o programa software Trace Master 5 que controla todas as ações e comandos do equipamento.

Utilização do software Trace Master 5

O Trace Master 5 é um programa da plataforma Windows, é iniciado via mouse com dois cliques sobre o seu ícone de apresentação. Assim que o programa é iniciado o operador deve 'abrir' o método com as condições ajustadas para a determinação do elemento de interesse, no caso o molibdênio.

Definindo as condições do método:

Clique no ícone **Methods**, em seguida clique em **new**.

O programa irá apresentar uma janela com o título **Untitled 1**.

Clique novamente no ícone **Methods**, clicando em seguida em **save as**, irá aparecer uma janela onde o operador nomeará o método da forma mais prática possível, por exemplo: **MoAmos.blk**, a operação é concluída acionando-se a tecla **OK**.

As condições de operação do método são definidas para execução com o software, de acordo com as etapas a seguir:

Clique no ícone **Parameters**, clicando a seguir no ícone **Initial Data**. Irá aparecer uma janela em que o operador adicionará informações pertinentes ao método, a saber:

Title (informações a respeito do método de determinação) Ex: **(determinação de Mo(VI) utilizando STHS)**

Chemical conditions (condições em que a determinação é efetuada) Ex: **(STHS = DMF:Etanol:Água + ABO)**

Sample reference (Tipo de amostra a ser analisada) Ex: **(plantas)**

Operator (nome do operador) Ex: **(João)**

Os demais itens da janela não precisam ser preenchidos. Clique em **OK** e novamente clique **Parameters**, clicando a seguir em **Operations conditions**. Irá aparecer a janela onde 4 condições de operação serão inseridas para serem utilizadas na determinação, a saber:

Na janela **Operations conditions**, indique o eletrodo **MDE stand** e a técnica **ASV/CSV**. Em seguida clique no ícone **Cell parameters**. Nesta etapa serão ajustados os parâmetros de cela.

Na janela **Cell parameters** indique os seguintes parâmetros:

Em **Electrodes** indique: **Hanging Mercury Drop Electrode**.

Em **Number of drops** indique: **2**.

Em **Stirring rate (rpm)** indique: **400**.

Em **Purge time** indique: **300s**.

Em **Electrolysis t.** indique: **150s**.

Em **Waiting time** indique: **0s**.

Em **Growth time** indique: **0.5s**.

Em **Pulse duration** indique: **40 ms**.

Em **Pulse amplitude** indique: **50 mV**.

Clique em **OK** , o programa voltará a janela **Operations conditions**.

Clique novamente OK e salve o método.

Na janela **Signal parameters** indique os seguintes parâmetros:

Em **Technique** indique : **Differential pulse polarography**.

Em **Minimum currente range** indique: **100 nA**.

Em **Maximum current range** indique: **1 mA**.

Em **E initial** indique: **-1150 mV**.

Em **E final** indique: **-1260 mV**.

Em **Step duration** indique: **1s**.

Em **Step amplitude** indique: **5 mV**.

Em **Pulse duration** indique: **40 ms**.

Em **Pulse amplitude** indique: **50 mV**.

Clique em **OK**, o programa voltará a janela **Operations conditions**.

Clique novamente **OK** e, em seguida salve o método.

Verifique se todas as outras condições do equipamento estão em ordem, em caso afirmativo clique sobre o ícone seta vermelha cheia.

Caso já tenha iniciado a determinação e perceba que algo esta errado clique no ícone "mão" (em forma de palma) parando imediatamente a análise, reiniciando o procedimento assim que o erro esteja corrigido.

APÊNDICE - II

CERTIFICADO DE ANÁLISES

Amostra Padrão 24

C.I. 01.018

AÇO INOXIDÁVEL 316

Aço liga elaborado à vácuo e refundido sob escória

ELEMENTOS %	C	Si	Mn	P		S	Cu	Ni	Cr	Mo	Co	
PARTICIPANTES MÉTODOS ANALÍTICOS	COMBUSTÃO DIRETA	GRAVIMETRIA (desidratação com ácido perclórico)	VOLUMETRIA (persulfato-arsênio, após separação do cromo)	VOLUMETRIA (hidróxido de sódio-ácido- ácido)	FOTOMETRIA (azul de molibdênio)	COMBUSTÃO DIRETA	ESPECTROFOTOMETRIA DE ABSORÇÃO ATÔMICA	GRAVIMETRIA (dimetilglioxima)	VOLUMETRIA (ferro II amoniacal- permanganato)	FOTOMETRIA (tiossulfato - cloreto de estanho II)	ESPECTROFOTOMETRIA DE ABSORÇÃO ATÔMICA	
	1	0,042	0,530	1,48	0,038	0,039	0,004	0,038	9,89	17,87	2,54 ^a	0,046
	2	0,043	0,515	1,50	0,038	—	0,003	0,040	9,97 9,94 ^b	17,77 ⁱ	2,52 ^b	0,046
	3	0,042	0,530	1,50 ^b	—	0,036 ⁱ	0,003 ^e	0,036	9,88	17,86 ^m	2,58	0,039
	4	0,043	0,527	1,52 ^c	0,041	—	0,004	0,040 ^e	9,90 ⁱ	17,78	2,59	—
	5	0,048	0,539 ^a	1,49	—	0,041	0,005	0,039	9,85 ⁱ	17,83	2,56	0,047
	6	0,048	0,530	1,49	0,039	—	0,003 ^f	0,039	9,98	17,75	2,52 ^a	—
	7	0,044	0,523 ^a	1,51 ^c	0,039	—	0,004	0,041	10,00 ⁱ	17,81 ⁿ	2,50	—
MEDIA	0,044	0,528	1,50	0,039		0,004	0,039	9,93	17,81	2,54	0,045	

Métodos Alternativos

- a Fotometria (azul de molibdênio)
- b Fotometria (periodato)
- c Fotometria (persulfato)
- d Fotometria (azul de molibdênio, com prévia extração do complexo em álcool isobutílico e redução com cloreto de estanho II)
- e Combustão/Volumetria (iodeto-iodato)
- f Combustão/Volumetria (água oxigenada-hidróxido de sódio)
- g Fotometria (diálitiotiocarbamato)
- h Espectrofotometria de absorção atômica
- i Fotometria (dimetilglioxima)
- j Volumetria (precipitação com dimetilglioxima e complexação com EDTA)
- l Volumetria (persulfato, ferro II amoniacal, dicromato)
- m Volumetria (titulação potenciométrica com sulfato de ferro II amoniacal)
- n Fotometria (ácido perclórico)
- o Gravimetria (alfa-benzoinoxima)

Participantes

- 1 — Instituto de Pesquisas Tecnológicas, IPT — São Paulo, SP — Tsai Soi Mui, Lee, Wagner Tadeu Vallerde
- 2 — Eletrometal Aços Finos S/A — Campinas, SP — Valentim Benedito Lazarini, Antonio Calegari Sobrinho, Mauro Alves, Viriato Antonio Carvalho Artem.
- 3 — Aços Finos Piratini S/A — Charqueadas, RS — Ruy de Azambuja Villanova, Edgar da Silva Silveira, Pedro Erni Albert, Neila Beatriz Bonatto.
- 4 — Cia. Aços Especiais Itabira — ACESITA, MG — Bayard Lins Peixoto, José Rodrigues Castro, João Evangelista Salgado.
- 5 — Aços Villares S/A — São Caetano do Sul, SP — João Arabage.
- 6 — Cia. Siderúrgica de Mogi das Cruzes, COSIM — Mogi das Cruzes, SP — João de Freitas Tiago, Oswaldo Camilo Dias.
- 7 — Aços Anhanguera S/A — Mogi das Cruzes, SP — José de Queiroz Lemos, Antonio Sato, Irineu Alabarce de Paiva.

Abril, 1979

Sylvia L. Moro

Chefe do Núcleo de Padrões Analíticos

REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- AGRI-FAX. "Mineral for Plants, Animals and Man". Alberta, agriculture, food and rural development, Agendex 531-3, november 1998.
- Aleixo, L. M.. "Voltametria: Conceitos E Técnicas". www.chemkeys.com, O seu site de química, 2003.
- ATKINS, P. W.. "Fisico Quimica". Tercera Edicion, Addison-Wesley Iberoamericana, Wilmington, Delaware U.S.A., 1991.
- BAGUR, G.; SANCHES-VINAS, M. and GAZQUEZ, D.. "Determination of Molybdenum in Various Materials by Normal-phase Liquid Chromatography Using N-benzoyl-N-phenylhydroxylamine". Anal. Chim. Acta, 309: 157-162, 1995.
- BARROS NETO, B.; SCARMÍNIO, I. S. e BRUNS, R. E.. "Como Fazer Experimentos: Pesquisa e Desenvolvimento na Ciência e na Indústria". Editora da Unicamp, Campinas – SP, 2001.
- BATAGLIA, O. C.; FURLANI, A. M. C.; TEIXEIRA, J. P. F.; FURLANI, P. R. e GALLO, J. R.. "Boletim Técnico nº 78". Serviço de Divulgação Técnico Científica do Instituto Agrônômico de Campinas, Campinas – S.P., p.9, 1983.
- BEJAN, D.. "Kinetic-catalytic-spectrophotometric Determination of Low Concentrations of Molybdenum in White Wines". Anal. Chim. Acta, 390: 255-259, 1999.
- BOND, A. M., "200 Years of Practical Electroanalytical Chemistry: Past, Present and Future Directions Illustrated by Reference to the On-line, On-stream and Off-line Determination of Trace Metals in Zinc Plant

- Electrolyte by Voltammetric and Potenciometric Techniques". *Anal. Chim. Acta*, 400: 333-379, 1999.
- BURGMAYER, S.J.N. and STIEFEL, E. I. "Molybdenum Enzymes, Cofactors, and Model Systems". *Journal Chem. Ed.* 62: 943-953, 1985.
- CANFRANC, E.; ABARCA, A.; SIERRA, I. and MARINA, M. L.. "Determination of Iron and Molybdenum in a Dietetic Preparation by Flame AAS After Dry Ashing". *Pharmac. Biomedical Anal.*, 25: 103-108, 2001.
- CHIKHALICAR, S. and PATEL, K. S.. "Field Determination of Molybdenum in Soils". *Fresenius j. Anal. Chem.* 357: 355-357, 1997.
- CHRISTIAN, G. D. and O'REILLY, J. E.. "Instrumental Analysis". 2^a Edition, Allyn and Bacon, Inc. USA, 1986.
- CORNELL, J. A.. "Experiments with mixtures: Designs, Models and the Analysis of Mixture Data". Wiley, New York, 2^a ed., 1990.
- CUELBAS, C. J.. "Uso de Misturas de Solventes Para a Determinação de Molibdênio com Tiocianato: Estudo das Condições de Extração Líquido-líquido por Fase Única no Sistema Água-etanol-clorofórmio com α -benzoinoxima. Dissertação de Mestrado. Instituto de Química-UNICAMP, Campinas-S.P, 1994.
- DAVIES, B. E.. "Deficiencies and Toxicities of Trace Elements Micronutrients in Tropical Soils: Limitations of Knowledge and Future Research Needs". *Environ. Toxicol. Chem.* 16: 75-83, 1997.
- DE, A. K.; KHOPKAR, S. M. and CHALMERS, R. A.. "Solvent Extraction Of Metals". Van Nostrand Reinhold Company, London, 1970.
- de ANDRADE, J. C.; CUELBAS, C. J. and EIRAS, S. P.. "Spectrophotometric Determination of Mo(VI) in Steel Using a Homogeneous Ternary Solvent System After Single-phase Extraction". *Talanta*, 47: 719-727, 1998.

- de ANDRADE, J.C.; ALMEIDA, A.M.; COSCIONE, A.R. and ALEIXO, L.M.. "Determination of Molybdenum in Steel by Adsorptive Stripping Voltammetry in a Homogeneous Ternary Solvent System". *The Analyst*, 126: 892-896, 2001.
- DI, J. and TU, Y.. "Spectrophotometric Determination of Molybdenum Based on Charge Transfer Complex in PVA Medium". *Talanta*, 55: 783-787, 2001.
- EIRAS, S. P.; ZAMORRA, P. G. P. and REIS, E. L.. "Estudo do Efeito de Misturas de Solventes na Determinação Espectrofotométrica Por Absorção Atômica". *Quim. Nova*, 17: 369-378, 1994.
- EMBRAPA, "Molibdênio pode aumentar produtividade da soja". www.embrapa.br, 2000.
- FUGE, R.. "An Automated Method for the Determination of Molybdenum in Geological and Biological Samples". *Analist*, 95: 171-176, 1970.
- GADOMSKA, J. and STOJEK, Z.. "Slow Formation of an Extra-viscous Ionic Layer at Platinum Microelectrodes During Voltametric Oxidation of Undiluted Dimethylformamide". *Electroanalysis*, 10: 307-311, 1998.
- GAO, Z. and SIOW, K. S.. "Adsorptive Stripping Voltammetric Determination of Traces of Molybdenum in Natural Water in the Presence of α -Benzoinoxime". *Mikrochim. Acta*, 124: 211-218, 1996a.
- GAO, Z. and SIOW, K. S.. "Catalytic-Adsorptive Stripping Voltammetric Determination of Molybdenum in Plant Foodstuffs". *Talanta*, 43: 719-726, 1996b.
- GONÇALVES, M. L.. "Métodos Instrumentais Para Análise de Soluções". 2ª Edição, Universidade Nova Lisboa, Cap. 9 e 10, 1996.
- HARVEY, D.. "Modern Analytical Chemistry". Mac Graw Hill, 2000, USA.
- HENNING, S. M.; INGLES, S.; MAHMOUD, M. W.; GO, V. L.; CARLTON, E.; CAUFIELD, M.; NELSON, J. C. and HEBER, D.. "Multivitamin and Mineral

- Supplement Did not Alter the Antioxidant Capacity in Plasma of Healthy Young Men and Women". *Nutrition Research*, 20: 167-176, 2000.
- HSIEH, A. and ONG, T.. "Trace Determination of Molybdenum Using a Catalytic Current in Differential-Pulse Polarography". *Anal. Chim. Acta*, 256: 237-241, 1992.
- INAM, R. and SOMER, G.. "Differential Pulse Polarographic Determination of Trace Selenium(IV) and Molybdenum(VI) Using the Catalytic Hydrogen Wave". *Talanta*, 50: 609-616, 1999.
- INTERNATIONAL PLANT – ANALYTICAL EXCHANGE (IPE), Annual Report, Wageningen Agricultural University, Holanda, 1997.
- INTERNATIONAL PLANT – ANALYTICAL EXCHANGE (IPE), Annual Report, Wageningen Agricultural University, Holanda, 1999.
- INTERNATIONAL PLANT – ANALYTICAL EXCHANGE (IPE), Quartely Report 2000.1, January-March 2000, Wageningen Agricultural University, Holanda, 2000a.
- INTERNATIONAL PLANT – ANALYTICAL EXCHANGE (IPE), Quartely Report 2000.2, April-June 2000, Wageningen Agricultural University, Holanda, 2000b.
- JONNALAGADDA, S. B. and DUMBA, M.. "Studies on the Molybdenum Catalysed Reaction Between Toluidine Blue and Stannous Chloride – Mechanism, Analytical Application and Simulations". *Fresenius j. Anal. Chem.* 345: 673-678, 1993.
- KONOSU, S.. "Effect of Heat History on Initial Toughness of Carbon-0,5% Molybdenum Steel". *Engineering Failure Analysis*, vol 2, 2: 151-158, 1995.
- LAVADO, R. S.; PORCELLI, C. A. and ALVAREZ, R.. "Concentration and Distribution of Extractable Elements in a Soil as Affected by Systems and Fertilization". *The Sci. of the Total Environ.*, 232: 185-191, 1999.

- LI, H. and SMART, R. B.. "Square Wave Catalytic Stripping Voltammetry of Molybdenum Complexed With Dihydroxynaphthalene". J. Electroanal. Chem., 429: 169-174, 1997.
- MANJAREKAR, S. V. and ARGEKAR, A. P.. "Cation Exchange Chromatographic Separation of Zinc in Mixed Solvents and Non-aqueous Hydrobromic Acid Media". Anal. Lett. 28: 1711-1727, 1995.
- MARTINS, J. W.. "Extração Líquido-Líquido por Fase Única. Estudo de Separação no Sistema Fe-Cu-Co com Tenoiltrifluoroacetona e Água-Acetona-Ciclohexano (ou Benzeno)". Tese de Doutorado. Instituto de Química – UNICAMP, Campinas-S.P., 1974.
- MILLS, C. F. and DAVIS, G. K.. "Molybdenum" In: Trace Elements in Human and Animal Nutrition". Cap. 13: 429-463, Vol. 1. Mertz, W (Editor), 5^a edition. Academic Press, Inc. – U.S.A., 1987.
- MILLER, J. C. and MILLER, J. N.. "Statistics for Analytical Chemistry". Ellis Horwood, Chichester 3^a ed., 1990.
- MISHRA, N.; GHOSH, A.; MISHRA, R. K. and PATEL, K. S.. "Extraction-Spectrophotometric Determination of Molybdenum, Tungsten and Rhenium With Thiocyanate and Thiocetanilide." Journal Anal. Sci., 6: 407-410, 1990.
- MOORE, W. J.. "Physical Chemical". 2nd Ed., Prentice-Hall, Englewood Cliffs, 1959.
- MOUSAVI, M. F. and KARAMI, A. R.. "Catalytic-Spectrophotometric Determination of Trace Amounts of Molybdenum(VI) Ion". Microchemical Journal, 64: 33-39, 2000.
- MURATA K. and IKEDA, S.. "Extraction of Molybdenum(VI) by Propylene Carbonate". J. Inorg. Nucl. Chem., 32: 267 – 275, 1970.
- NAKABAYASHI, Y.; MASUDA, Y. and SEKIDO, E.. "Electrode Reactions of Nickel(II)-, Copper(II)- and Zinc(II)-8-Quinolinethiolato Complexes in N, N-dimethylformamide". J. Electroanal. Chem., 205: 209-218, 1986.

- ONISHI, H.. "Photometric Determination of Traces of Metals, Part IIB; Individual Metals, Magnesium to Zirconium, 4^a ed., John Wiley & Sons INC., New York, 1989.
- ORLIK, M. and GRITZNER, G.. "Standart Electrode Reaction Rates of Bis(biphenyl)chromium(I) in N, N-dimethylformamide". J. Electroanal. Chem., 421: 121-128, 1996.
- PERKIN ELMER, "The THGA Graphite Furnace: Techniques and Recommended Conditions". Recommended Conditions for Molybdenum, chap. 7: 35, 1999.
- PURI, S.; DUBEY, R. K.; GUPTA, M. K. and PURI, B. K.. "Differential Pulse Polarographic Determination of Trace Amounts of Vanadium and Molybdenum in Various Standart Alloys and Environmental Samples After Preconcentration of Their Morpholine-4-Carbodithioates on Microcrystalline Naphthalene or Morpholine-4-Dithiocarbamate Cetyltrimethyl-Ammonium Bromide-Naphtalene Adsorbent". Talanta, 46: 655-664, 1998.
- REIS, C. and de ANDRADE, C. J.. "Planejamento Experimental Para Misturas Usando Cromatografia em Papel". Química Nova, 19: 313-319, 1996.
- SAFAVI, A. and SHAMS, E.. "Selective Determination of Ultra Trace Concentrations of Molybdenum by Catalytic Adsorptive Stripping Voltammetry". Anal. Chim. Acta, 396: 215-220, 1999.
- SANDER, S.. "Comparison of Different Flow-Throught Adsorptive Stripping Voltammetric Methods for the Determination of Molybdenum(VI)". Fresenius J. Anal. Chem., 365: 435-443, 1999.
- SAUER, P.; FRÉBORTOVÁ, J.; SEBELA, M.; GALUSKA, P.; JACOBSEN, S.; PEC, P. and FRÉBORT, I.. "Xanthine Dehydrogenase of Pea Seedlings: a Member of the Plant Molybdenum Oxireductase Family". Plant Physiol. Biochem., 40: 393-400, 2002.

- SCHEFFÉ, H.. "The Simplex-Centroid Design for Experiments With Mixtures". Journal Royal Stat. Soc., B25: 235-263, 1963.
- SKOOG, D. A.; HOLLER, J. F. and WEST, D. M.. "Fundamentals of Analytical Chemistry". Saunders College Publishing, Fort Worth". 6ª edição, 1992.
- SILVA, J. F. and MARTINS, j. W.. "Extraction of Fe(III), Cu(II), Co(II), Ni(II) and Pb(II) With Thenoyltrifluoroacetone Using the Ternary Solvent System Water/Ethanol/Methylisobutylketone". Talanta, 39: 1307-1312, 1992.
- SUNG, Y.; LIU, Z. and HUANG, S.. "Use of Muromac A-1 Chelating Resin for Determination of Copper and Molybdenum in Seawater by Atomic Absorption With On-line Preconcentration". Spectrochim. Acta Part B, 52: 755-764, 1997.
- van RAIJ, B.; de ANDRADE, J. C.; CANTARELLA, H. e QUAGGIO, J. A.. "Análise Química Para Avaliação da Fertilidade de Solos Tropicais". Instituto Agronômico de Campinas, Campinas – S. P., 2001.
- VARTAK, S. V. and SHINDE, V. M.. "Separation Studies Of Molibdenum (VI) and Rhenium Using TPPO As An Extractant". Talanta, 43: 1465-1470, 1996.
- VASQUEZ-GONZALEZ, J. F.; BERMEJO-BARRERA, P. and BERMEJO-MARTINEZ, F.. "Determination of Traces of Molybdenum in Foods by Electrothermal Atomic Absorption Spectrometry". Anal. Chim. Acta, 219: 79-87, 1989.
- VELEVA, L.; CHIN, J. and DEL AMO, B.. "Corrosion Electrochemical Behavior of Epoxy Anticorrosive Paints Based on Zinc Molybdenum Phosphate and Zinc Oxide". Progress in Organic Coatings, 36: 211-216, 1999.

- WELSCH, E. P.. "A Rapid Method for Determining Tin and Molybdenum in Geological Samples by Flame Atomic-absorption Spectroscopy". *Talanta*, 32: 996-998, 1985.
- WYPYCH, F.. "Dissulfeto de Molibdênio, Um Material Multifuncional e Surpreendente". *Quim. Nova*, 25: 83-88, 2002.
- ZHAO, Z.; PEI, J.; ZHANG, X. and ZHOU, X.. "Adsorptive Stripping Voltammetry Determination of Molybdenum(VI) in Water and Soil". *Talanta*, 37: 1007-1010, 1990.
- ZHOU, Z. R. and VINCENT, L.. "Lubrication in Fretting-a Review". *Wear*, 225-229: 962-967, 1999.