

**UNIVERSIDADE DE SÃO PAULO
CENTRO DE ENERGIA NUCLEAR NA AGRICULTURA**

MARCELO ALVES TEIXEIRA

**Desenvolvimento de instrumentação e procedimentos automáticos
para determinação de arsênio e fluoreto em águas empregando
multicomutação em fluxo e detecção fotométrica**

Piracicaba

2010

MARCELO ALVES TEIXEIRA

**Desenvolvimento de instrumentação e procedimentos automáticos
para determinação de arsênio e fluoreto em águas empregando
multicomutação em fluxo e detecção fotométrica**

**Tese apresentada ao Centro de Energia Nuclear
na Agricultura da Universidade de São Paulo
para obtenção do título de Doutor em Ciências**

**Área de Concentração: Química na Agricultura e
no Ambiente**

Orientador: Prof. Dr. Boaventura Freire dos Reis

**Piracicaba
2010**

Autorizo a reprodução e divulgação total ou parcial deste trabalho, por qualquer meio convencional ou eletrônico, para fins de estudo e pesquisa, desde que citada a fonte.

Dados Internacionais de Catalogação na Publicação (CIP)

Seção Técnica de Biblioteca - CENA/USP

Teixeira, Marcelo Alves

Desenvolvimento de instrumentação e procedimentos automáticos para determinação de arsênio e fluoreto em águas empregando multicomutação em fluxo e detecção fotométrica / Marcelo Alves Teixeira; orientador Boaventura Freire dos Reis. - - Piracicaba, 2010.

160 p.: fig.

Tese (Doutorado – Programa de Pós-Graduação em Ciências. Área de Concentração: Química na Agricultura e no Ambiente) – Centro de Energia Nuclear na Agricultura da Universidade de São Paulo.

1. Análise por injeção em fluxo 2. Conversores A/D e D/A 3. Fotometria
4. Surfactantes I. Título

CDU 543.34:535.24

DEDICATÓRIA

À Deus.

Dedico, todos os dias e noite em claro, cada lágrima, cada parágrafo, frase, palavra, que foram necessárias para o desenvolvimento e conclusão deste trabalho, em especial, aos meus filhos Marcelo Henrique e Murilo Augusto, minha esposa Milena, meus pais Antônio e Eleide, meus irmãos, Márcia, Marilda, Márcio e Maurício, e demais familiares.

AGRADECIMENTOS

Ao Centro de Energia Nuclear na Agricultura – CENA e à Universidade de São Paulo – USP, pela oportunidade, instalações e facilidades oferecidas.

À Universidade Estadual de Mato Grosso do Sul – UEMS, pelo apoio, pela confiança a mim depositada e auxílio financeiro durante todo o período de afastamento.

Ao professor Boaventura Freire dos Reis, pela orientação e os ensinamentos transmitidos em todas as áreas da ciência, pelos conselhos, paciência, amizade e sua bondade incomparável. Será sempre um grande pai científico e um verdadeiro exemplo de vida, alegria, garra, perseverança e superação.

Aos pesquisadores do CInAM, em especial aos professores Edemar, Antônio Rogério, Luis Humberto, Sandro, Etenaldo Felipe, Mirko e Yzel, pelo estímulo, paciência, amizade e convívio. Aos demais colaboradores do CInAM, em especial Micelhe, Francisco e João, muito obrigado pelo incentivo e apoio recebidos.

À Pró-Reitoria de Pesquisa e Pós-Graduação – PROPP/UEMS, em especial ao professor Sidnei Eduardo, pelo apoio e confiança. Aos demais colaboradores da PROPP, em especial ao Setor de Capacitação (Jorgina), pelo apoio, conselhos e suporte.

Aos pesquisadores do CPBio, em especial à professora Cláudia, pelo estímulo, amizade e conselhos. Aos demais colaboradores CPBio, em especial ao amigo Frankstefen, pelo incentivo, convívio e amizade.

Aos professores, pesquisadores, colaboradores e amigos da UEMS, em especial ao Juscelino, Nilson, Noé, Tiago, Paloma, Rafael, Jandira, Gilberto, Rosa, Regina, Cida (DRH), Cidinha (Biologia), Luciana, Marcelina, Charlls, Alison, Paulo, Alencar, Joeliton, Keila, Vitinho, Ronaldo, Wagner e Margarete, por todo apoio, incentivo e cooperação, de modo a viabilizar meu afastamento. Aos demais colegas de trabalho da UEMS, que de alguma forma auxiliaram no decorrer dos estudos e afastamento.

Ao professor Onofre Salgado Siqueira, grande amigo e pai científico, por todo apoio e auxílio nos momentos de dificuldade. Exemplo de seriedade, sabedoria e diplomacia.

AGRADECIMENTOS

Aos colaboradores do Laboratório “Henrique Bergamin Filho” no CENA, em especial à Sheila Roberta, à Maria de Fátima, ao Otávio, e à Iolanda Hufini (Tatinha), pela disposição e apoio, que em todos os momentos não mediram esforços em cooperar e auxiliar.

Aos pesquisadores da Química Analítica do CENA, em especial à professora Maria Fernanda Giné Rosias, Elias A. G. Zagatto, Francisco J. Krug e José Roberto Ferreira (José Santista), pelos ensinamentos e motivação.

Aos pesquisadores e colaboradores do Laboratório de Isótopos Estáveis do CENA, em especial ao professor Jefferson Mortatti, e o mestrando Alexandre Martins Fernandes, pela disposição em realizar as análises comparativas em Cromatografia de Troca Iônica.

À Seção de Manutenção Geral do CENA, em especial ao Osmir, pela disposição, paciência e auxílio na confecção de peças em acrílico utilizados deste trabalho.

Aos professores José Albertino Bendassolli, Luiz Carlos Ruiz Pessenda, Marcos Y. Kamogawa, pelas importantes observações durante o exame de qualificação.

À Seção de Pós-Graduação do CENA, em especial à Neuda, Cláudia e professora Adiana, pela atenção, apoio e paciência.

À Seção Técnica de Biblioteca do CENA, em especial à Marília R. G. Henyei, pelo auxílio na correção das referências e formatação deste trabalho.

À Seção Técnica de Informática do CENA, em especial ao Gabriel, Fernando, Geraldo e Silvana, pela disposição e atenção prestadas em diversos momentos.

Aos amigos do Laboratório de Química Analítica do CENA, Mário Feres, Milton Batista, Milton Sasaki, Gláucia Vieira, Carla, Paula Fortes, Lidiane, Rejane, André Lavorante, Gabriel Carvalho, Sivanildo Borges, Geórgia, Edson e Alfredo, pelas inúmeras ajudas prestadas, pelos momentos de descontração, pelo convívio harmonioso, pelas inúmeras caronas, por fazerem parte da minha história.

AGRADECIMENTOS

Aos meus amigos Dário Santos Jr, Izabella e o pequeno João Pedro, que abriram a porta de sua casa para me acolher, sempre me incentivando e mostrando as dificuldades vividas, me aconselharam e se puseram à disposição. Muito obrigado por me aceitar dentro desta família tão bonita.

Aos meus amigos de Piracicaba-SP, Alexssandra e Richard, e seus filhos Sofia e Andrei, que sempre compartilharam de muita alegria e incentivo. Sou grato por todos os bons momentos vividos, que Deus continue abençoando a família de vocês.

Aos meus amigos de Botucatu-SP, Gláucia e Fábio, e seus filhos Felipe e Giovanni, que sempre compartilharam de muita alegria e incentivo. Sou grato por todos os bons momentos vividos, que Deus continue abençoando a família de vocês.

Aos meus amigos de Catanduva-SP e Londrina-PR, Carla e Marcos Kamogawa, que sempre orientaram e dispuseram de muita alegria, acolhida e incentivo. Sou grato por todos os bons momentos vividos, que Deus continue abençoando a família de vocês.

Aos meus grandes amigos, Tiago Modesto e Margarete Carraro, que nos momentos decisivos sempre estiveram presente, com muita oração, com muita sabedoria e perseverança.

Aos meus amigos José Manoel Marconcini e Lucinéia Marconcini, que apesar da distância, sempre me incentivaram com palavras de estímulo e oração.

Aos meus amigos de todas as horas, Ronnei Peterson e Esmael Dias, e as respectivas esposas, por todo o ensinamento transmitido, pela imensurável ajuda recebida, por toda a disposição, pelos momentos de descontração e o companheirismo no desenvolvimento de sistemas, por fazerem parte da minha história.

À minha sogra, D^a. Neli, por todo o apoio, oração e disposição em viajar semanalmente, 500 km, aos 68 anos de idade, durante dois anos consecutivos, para cuidar de meus filhos. Que Deus lhe dê graças em dobro, sou eternamente grato pela imensa ajuda.

Aos amigos de Dourados-MS, em especial ao Adilson (Sadol), Maria do Socorro, Lúcia, Ronilton, Marcos (Toko), Zuleide, Ana Maria, João Correia, Juliana,

AGRADECIMENTOS

Adelaide, Neuma, Rute e Jorge Augusto, por todo apoio e ajuda prestada à minha família durante meu afastamento.

Aos amigos Rodrigo e Carina, e minhas possíveis noras, pelos momentos de descontração e preciosa amizade, pelas alegrias de pescaria, pelo convívio com nossa família e estímulo para vencer nesta luta.

Aos “Chemical Brother” de Campo Grande-MS, Cleber Toledo, Geraldo Paes, Rodrigo Evaristo, Marcio (Nanix), Clauber Dalmas, por todo apoio, ensinamentos e descontração.

Aos meus pais Antônio e Eleide, por todo carinho, preocupação, atenção e estímulo recebidos não somente durante meus estudos, mas por toda a vida. Levo vocês sempre estão em meu coração em todos os momentos.

Aos meus irmãos Márcia, Marilda, Márcio e Maurício, por todo carinho, conselhos, orientação, orações e apoio. Vocês serão sempre importantes em todos os momentos de minha vida. Aos meus familiares, em especial à minha tia Célia, que desde a minha infância sempre me apoiou, ajudou e se pôs à disposição em todos os momentos de dificuldade. Às minhas cunhadas, Ângela e Anair, e cunhado Joel, por todo apoio, força, ensinamentos e por fazerem parte de minha família. Aos meus sobrinhos, Thiago Jorge, Larissa e Giovanna, pelo apoio e pensamento positivo.

E, finalmente, não tenho palavras para agradecer à minha esposa, Milena, meu grande amor, que junto com os meus filhos Marcelo Henrique e Murilo Augusto, proporcionaram todo o carinho, oração, respeito e confiança plena neste trabalho. Batalhando ao meu lado em todos os dias, em todas as horas. A vocês, meus mais sinceros agradecimentos, por toda a minha vida. Sem vocês, não teria forças para continuar nos momentos de dificuldade e condições para superá-las. Que Deus continue iluminando e abençoando nossa família. Amém.

A todos que diretamente ou indiretamente auxiliaram na realização deste trabalho.

Sou-lhes muito grato, muito obrigado!!!

“Comece fazendo o que é necessário, depois o que é possível e, de repente, você estará fazendo o impossível.”

(São Francisco de Assis)

RESUMO

TEIXEIRA, M. A. **Desenvolvimento de instrumentação e procedimentos automáticos para determinação de arsênio e fluoreto em águas empregando multicomutação em fluxo e detecção fotométrica.** 2010. 159f. Tese (Doutorado) – Centro de Energia Nuclear na Agricultura, Universidade de São Paulo, Piracicaba, 2010.

Neste trabalho, é proposto o desenvolvimento de instrumentação e procedimentos analíticos automáticos para a determinação de fluoreto e arsênio em águas empregando o conceito de multicomutação em fluxo e detecção fotométrica. Na determinação de fluoreto, o controle dos dispositivos foi realizado empregando um computador, programado em QuickBasic 4.5. O fotômetro desenvolvido utilizava um fotodetector (OPT301), uma cela de fluxo com 60 mm de caminho óptico e um LED ($\lambda = 525$ nm), usado como fonte de radiação. Os sinais gerados pelo fotômetro foram convertidos para digital empregando um multímetro digital, que os transferia para o computador através da interface serial RS-232. O procedimento para a determinação de fluoreto foi baseado no método de zircônio/vermelho de alizarina S, onde o fluoreto retira o zircônio da estrutura metal ligante formando um complexo incolor. Após a seleção das variáveis de controle, o procedimento proposto apresentou resposta linear na faixa de 0,25 a 1,75 mg L⁻¹ (LD = 0,06 mg L⁻¹), desvio relativo menor que 3,5%, frequência de amostragem de 45 h⁻¹. No sistema para determinação de arsênio em águas, o controle do módulo de análise foi realizado utilizando um microcontrolador da série PIC 18F2553, o qual contém um conversor A/D interno de 12 bits de resolução e capacidade de operar com taxa de amostragem de até 100.000 s⁻¹. O mesmo recebia os parâmetros de controle por um computador via USB 2.0, que utilizava a mesma interface para transferir os dados provenientes do fotômetro. O software para essa comunicação foi escrito em Delphi 7.0 e a linguagem C foi utilizada para a programação do microcontrolador. Como sistema de detecção foi o mesmo empregado na determinação de fluoreto, utilizando um LED ($\lambda = 625$ nm) como fonte de radiação. O procedimento proposto para a determinação de arsênio foi baseado na reação do arsênio inorgânico com boro-hidreto, onde a arsina formada reagia com azul de metileno em meio micelar. A descoloração da solução de azul de metileno era proporcional à concentração de arsênio presente na amostra. A procedimento proposto apresentou resposta linear na faixa de 2,5 a 40 µg L⁻¹ (r = -0,995), limite de detecção de 0,3 µg L⁻¹, desvio relativo menor que 6,5 %, frequência de amostragem de 25 h⁻¹.

Palavras-chave: Fluoreto. Arsênio. Análise por injeção em fluxo. Multicomutação. Mini-bombas. Água. Microcontrolador.

ABSTRACT

TEIXEIRA, M. A. **Development of instrumentation and automatic procedures for the determination of arsenic and fluoride in waters by using flow multicommutation and photometric detection.** 2010. 159f. Tese (Doutorado) – Centro de Energia Nuclear na Agricultura, Universidade de São Paulo, Piracicaba, 2010.

The development of instrumentation and automatic procedures for the determination of arsenic and fluoride in waters by using flow multicommutation and photometric detection were proposed. For fluoride determination, the system was controlled by a microcomputer equipped with MS-Dos environment and running a software written in Quick Basic 4.5. It was used a homemade photometric detector OPT301, a 60 mm pathway flow cell, and a light emitting diode ($\lambda = 525 \text{ nm}$) as light source. Data acquisition was performed by using a digital multimeter and a microcomputer with RS-232 serial interface. The method was based on a complexation reaction between fluoride and alizarin red S, where the fluoride takes out the zircon from the metal-binding moieties resulting in color bleaching. After optimization of parameters, the procedure provided linear response in the 0.25 to 1.75 mg L⁻¹ range, limit of detection of 0.06 mg L⁻¹, coefficient of variation lower than 3.5 %, and sample throughput of 45 determinations per hour. For arsenic determination, the control module was performed by using a PIC 18F2553 microcontroller equipped with a 12 bits resolving power A/D internal converter, working at 100,000 sampling per second rate. Data acquisition was performed by a microcomputer equipped with Windows environment and running a software written in Delphi 7.0. A LED ($\lambda = 625 \text{ nm}$), as radiation source, was used for As determinations by using the same detection system used for fluoride determination. The method for As determination was based on the color bleaching of methylene blue in micellar media by AsH₃ produced from inorganic As and NaBH₄. The color bleaching of methylene blue was proportional to As concentration in the sample. The proposed method provided linear response in the 2.5 to 40 µg L⁻¹ range, limit of detection of 0,3 µg L⁻¹, coefficient of variation lower than 6.5 %, and sample throughput of 25 determinations per hour.

Keywords: Fluoride. Arsenic. Flow injection analysis. Multicommutation. Mini-pumps. Water. Microcontroller.

LISTA DE FIGURAS

Figura 1.1 –	Injetor comutador desenvolvido por Bergamin et al., (1978).....	26
Figura 1.2 –	Ilustração de mini-bomba solenóide.....	27
Figura 1.3 –	Válvulas solenóides' utilizadas para manipular amostras e soluções de reagentes em sistema FIA.	28
Figura 1.4 –	Vista em corte de um LED.	32
Figura 1.5 –	Modelo de inserção seqüencial de alíquotas das soluções de amostra e reagentes conforme do processo de multicomutação em fluxo proposto por Reis et al., (1994).	33
Figura 3.1 –	Fotos da patologia fluorose dentária; (a) estágio inicial; (b) estágio avançado. Caracterizadas pelas manchas brancas distribuídas ao logo dos esmaltes dentários.....	42
Figura 3.2 –	Fórmulas estruturais do complexo de zircônio/ vermelho de alizarina S existentes em função do pH.	46
Figura 3.3 –	Reação entre os íons fluoreto e o zircônio presente no complexo zircônio/vermelho de alizarina S para a formação fluoreto de zircônio.....	47
Figura 3.4 –	Diagrama eletrônico, embutido em um único chip, do sistema fotométrico utilizando o CI OPT301 como fotodetector.....	53
Figura 3.5 –	Ilustração do módulo de controle utilizando o CI ULN 2803 conforme descrito por Ródenas-Torralba, et al., (2006).	54

LISTA DE FIGURAS

- Figura 3.6 – Vista lateral da cela de fluxo de longo caminho óptico montada no laboratório56
- Figura 3.7 – Diagrama do módulo de análise e diagrama de tempo de acionamento da determinação de fluoreto em águas servida para consumo humano58
- Figura 3.8 – Estudo de estabilidade cinética do complexo zircônio/vermelho de alizarina S.....68
- Figura 3.9 – Estudo do comprimento do reator helicoidal B₂. Reação entre complexo Zr/VAS com solução padrão 1 mg L⁻¹ de fluoreto.69
- Figura 3.10 – Estudo do comprimento da zona de amostra representada pelo número de ciclos.71
- Figura 3.11 – Efeito do volume de amostra sobre o volume fixado do complexo Zr/Vermelho de Alizarina S (8 µL⁻¹).72
- Figura 3.12 – Curva analítica dos padrões preparados de fluoreto.73
- Figura 3.13 – Efeito da adição de ferro nas soluções de referência de fluoreto.75
- Figura 3.14 – Efeito da adição de alumínio nas soluções de referência de fluoreto.76
- Figura 3.15 – Efeito da adição de fosfato nas soluções de referência de fluoreto.77
- Figura 3.16 – Sinais transientes das soluções padrão de fluoreto e das amostras estudadas.....79

LISTA DE FIGURAS

- Figura 4.1 – Microcontrolador de montagem em superfície (SMD) soldados sobre uma placa de circuito impresso (PCB).....86
- Figura 4.2 – Ilustração do módulo de aquisição de dados utilizando A/D interno de 12 bits do microcontrolador PIC 18F2553.....92
- Figura 4.3 – Representação esquemática do princípio de PWM.93
- Figura 4.4 – Ilustração dos módulos de controle por PWM do módulo de análise.....94
- Figura 5.1 – Fórmula estrutural de um surfactante aniônico: (a) cadeia hidrofóbica e (b) cadeia hidrofílica iônica.102
- Figura 5.2 - Estrutura micelar em corte formada por surfactantes aniônico.....105
- Figura 5.3 – Ilustração do módulo de controle microcontrolado utilizando o CI PIC18F2553 como dispositivo de controle e o CI ULN 2803 como interface de controle.112
- Figura 5.4 - Diagrama de fluxo do módulo de análise para determinação de arsênio em águas.....114
- Figura 5.5 - Fluxograma do software embarcado do módulo de análise.117
- Figura 5.6 – Sinais transientes referentes ao processamento de solução contendo $50 \mu\text{g L}^{-1}$ de As(III).....124
- Figura 5.7 – Efeito do tempo sobre a solução de azul de metileno em meio micelar de Triton X-100.....125
- Figura 5.8 - Efeito do tempo para desenvolvimento da reação na magnitude do sinal analítico.126

LISTA DE FIGURAS

Figura 5.9 -	Efeito da concentração de azul de metileno na magnitude do sinal analítico.....	128
Figura 5.10 -	Efeito da concentração de Triton X-100 na magnitude do sinal analítico.....	130
Figura 5.11 -	Efeito do volume de NaBH ₄ na magnitude do sinal analítico.....	131
Figura 5.12 -	Efeito da concentração de NaBH ₄ na magnitude do sinal analítico.	132
Figura 5.13 -	Efeito do banho de gelo sobre a solução de boro-hidreto de sódio.....	134
Figura 5.14 -	Efeito do volume da amostra sobre o volume fixado dos reagentes.....	135
Figura 5.15 -	Curva analítica referente ao processamento de soluções de referência de arsênio(III).....	136

LISTA DE TABELAS

Tabela 1.1 -	Composição simplificada de alguns LEDs utilizados na instrumentação analítica.	31
Tabela 2.1 -	Padrão de potabilidade para substâncias químicas inorgânicas que representam risco à saúde humana.	39
Tabela 3.1 -	Valores do estudo de efeito de matriz do íon fluoreto.	74
Tabela 3.2 -	Análise comparativa do sistema proposto com cromatografia de troca iônica.	78
Tabela 3.3 -	Figuras de mérito para o método proposto para a determinação de fluoreto em águas.	81
Tabela 4.1 -	Estrutura genérica de um microcontrolador.	88
Tabela 5.1 -	Estruturas químicas de espécies orgânicas de arsênio e correspondentes valores de pK_a	97
Tabela 5.2 -	Classificação e características dos surfactantes de uso comum em Química Analítica.	104
Tabela 5.3 -	Resultados do efeito da concentração de NaBH_4 nos coeficientes angulares e equações das retas provenientes da Figura 5.12.	132
Tabela 5.4 -	Valores do estudo de efeito de matriz do íon arsenito.	137
Tabela 5.5 -	Figuras de mérito para o método proposto para a determinação de arsênio em águas.	139

LISTA DE SIGLAS

A/D	Conversor Analógico para Digital
AsB	Arsenobetaina
AsC	Arsenocolina
CAN	Controller Area Network
CI	Circuito Integrado
CMC	Concentração Micelar Crítica
CPU	Unidade Central de Processamento (do nome em inglês, Central Processing Unit)
Cv	Cilindro de vidro
D/A	Conversor Digital para Analógico
DDP	Diferença de Potencial Elétrico
DIP28	Dual In Package com 28 pinos
DMAA (V)	Ácido dimetilarsínico
FAO	Organização das Nações Unidas para Agricultura e Alimentação (do inglês: Food and Agricultural Organization of United Nations)
FIA	Sistemas de Análise em Fluxo (do nome em inglês: Flow Injection Analysis)
I/O	Portas de Entrada e Saída (do inglês: In/Out)
ICP-AES	Espectroscopia de Emissão Óptica com Acoplamento de Plasma Induzido (do inglês: Inductively Coupled Plasma Atomic Emission Spectroscopy)
IUPAC	União Internacional de Química Pura e Aplicada (do nome em inglês: International Union of Pure and Applied Chemistry)
LED	Diodo Emissor de Luz (do nome em inglês: Light Emitting Diode)
LD	Limite de Detecção
LQ	Limite de Quantificação
mcd	Mili candelas
MCFA	Multicomutação em sistemas de Análise em Fluxo
MCU	Computador em um Único Chip (do nome em inglês: MicroController Units)
MMAA (V)	Ácido monometilarsônico
N/A	Normalmente aberta
N/AF	Normalmente aberta e normalmente fechada inversamente
N/F	Normalmente fechada
NIR	Infravermelho próximo (do nome em inglês: Near Infrared)
OMS	Organização Mundial de Saúde
PCB	Placa de circuito impresso (do inglês: Printed Circuit Board)

LISTA DE SIGLAS

PE	Polietileno [$-(\text{CH}_2 - \text{CH}_2)_n -$]
PIC	Controlador Programável por Interrupção (do nome em inglês: Programmable Controller of Interruption)
SD	Desvio padrão
PTFE	Politetrafluoretileno [$-(\text{CF}_2 - \text{CF}_2)_n -$] ou Teflon®
PWM	Modulação por largura de Pulso (do nome em inglês: Pulse Width Modulation)
RAM	Memória Somente para Leitura (do nome em inglês : Read-Only Memory)
ROM	Memória de Acesso Aleatório (do nome em inglês: Random-Access Memory)
SIA	Análise por Injeção Seqüencial (do nome em inglês: Sequential Injection Analysis)
SMD	Surface Mount Devices
TTL	Sinal Lógico Transistor-Transistor (do inglês: Transistor-Transistor Logic)
USB	Universal Serial Bus
UV	Ultra Violeta
VIS	Visível
VMP	Valor Máximo Permitido

LISTA DE SÍMBOLOS

A	Absorbância
λ_{\max}	Comprimento de onda de máxima absorção
C	Concentração
pK_a	Constante de dissociação ácida
g	Gramas
Hz	Hertz
h	Hora
L	Litro
M	Mega
\varnothing	Diâmetro
μ	Micro
m	Mili
n	nano
s	Segundos
V	Volt
W	Watt

SUMÁRIO

1º	<u>CAPÍTULO – INTRODUÇÃO</u>	25
1.1	INSTRUMENTAÇÃO ANALÍTICA E SISTEMAS DE ANÁLISE EM FLUXO	25
1.1.1	A ESPECTROFOTOMETRIA	30
1.1.2	LED COMO FONTE DE RADIAÇÃO EM INSTRUMENTAÇÃO FOTOMÉTRICA	30
1.2	MODALIDADES DOS SISTEMAS DE ANÁLISE EM FLUXO	32
1.2.1	MULTICOMUTAÇÃO EM ANÁLISE EM FLUXO	33
1.3	MICROCONTROLADORES NA INSTRUMENTAÇÃO ANALÍTICA	35
1.4	OBJETIVOS	36
2º	<u>CAPÍTULO – REVISÃO DA LITERATURA</u>	38
2.1	Aspectos gerais sobre águas	38
3º	<u>CAPÍTULO – DETERMINAÇÃO DE FLUORETO EM ÁGUAS EMPREGANDO MULTICOMUTAÇÃO EM FLUXO</u>	41
3.1	Introdução	41
3.2	Determinação de Fluoreto	44
3.2.1	VERMELHO DE ALIZARINA EM REAÇÕES DE COMPLEXAÇÃO	46
3.3	Objetivos	47
3.4	Equipamentos e acessórios	48
3.5	Limpeza de materiais	49
3.6	Amostras	49
3.7	Reagentes e soluções	50

SUMÁRIO

3.7.1 SOLUÇÕES EMPREGADAS PARA A DETERMINAÇÃO DE FLUORETO	50
3.8 Fotômetro.....	51
3.9 Interface de controle do módulo de análise	54
3.10 Cella de fluxo.....	55
3.11 Módulo de aquisição de dados	56
3.12 Módulo de análise.....	57
3.13 Estratégias empregadas na determinação de fluoreto	59
3.13.1 ESTUDO DA ESTABILIDADE DO COMPLEXO ZIRCÔNIO/VERMELHO DE ALIZARINA S E COMPRIMENTO DO REATOR HELICOIDAL B ₁	60
3.13.2 COMPRIMENTO DO REATOR HELICOIDAL B ₂	60
3.13.3 ESTUDO DO VOLUME DA ZONA DE AMOSTRA	61
3.13.4 ESTUDO DAS PROPORÇÕES ENTRE AMOSTRA E OS REAGENTES.....	61
3.13.4.1 Estudo dos volumes de zircônio	62
3.13.4.2 Estudo dos volumes de vermelho de alizarina S	62
3.13.5 ESTUDO DAS CONCENTRAÇÕES DOS REAGENTES.....	62
3.13.5.1 Estudo das concentrações de zircônio	63
3.13.5.2 Estudo das concentrações de vermelho de alizarina S	63
3.13.6 ESTUDO DO MEIO REACIONAL.....	63
3.13.7 ESTUDO DA FAIXA LINEAR DA REAÇÃO	64
3.13.8 ESTUDO DAS ESPÉCIES POTENCIALMENTE INTERFERENTES	64
3.13.9 OUTROS ESTUDOS.....	65
3.13.10 PROCESSAMENTO DAS AMOSTRAS.....	65
3.13.11 ADIÇÃO DE PADRÃO E RECUPERAÇÃO	65
3.13.12 VALIDAÇÃO DO PROCEDIMENTO	66
3.14 Resultados e discussão.....	66
3.14.1 EFEITO DA ESTABILIDADE CINÉTICA DO COMPLEXO ZIRCÔNIO/VERMELHO DE ALIZARINA S E COMPRIMENTO DO REATOR HELICOIDAL B ₁	67

SUMÁRIO

3.14.2 COMPRIMENTO DO REATOR HELICOIDAL B ₂	69
3.14.3 EFEITO DO VOLUME DA ZONA DE AMOSTRA	70
3.14.4 EFEITO DAS PROPORÇÕES ENTRE AMOSTRAS E OS REAGENTES	71
3.14.5 FAIXA LINEAR DA REAÇÃO	72
3.14.6 EFEITO DA ADIÇÃO E RECUPERAÇÃO DE FLUORETO EM AMOSTRAS DE ÁGUA.....	73
3.14.7 EFEITO DAS ESPÉCIES POTENCIALMENTE INTERFERENTES	75
3.15 Aplicação analítica do método desenvolvido	78
3.16 Figuras de mérito.....	80
3.17 Conclusões	82
<u>4º CAPÍTULO – MICROCONTROLADORES.....</u>	<u>84</u>
4.1 Introdução	84
4.2 Microcontroladores versus Microprocessadores	86
4.2.1 PRINCIPAIS CARACTERÍSTICAS DOS MICROCONTROLADORES.....	87
4.2.1.1 Conversor Analógico Digital (A/D).....	89
4.3 OBJETIVOS.....	89
4.4 Equipamentos e acessórios.....	90
4.5 Interfaces microcontroladas para aplicação analítica	91
4.5.1 Módulo de aquisição de dados e interface USB.....	91
4.5.2 Dispositivos de controle modulado	92
<u>5º CAPÍTULO – DETERMINAÇÃO DE ARSÊNIO EM ÁGUAS EMPREGANDO MULTICOMUTAÇÃO EM FLUXO.....</u>	<u>96</u>
5.1 Introdução	96
5.2 Determinação de Arsênio.....	99

SUMÁRIO

5.2.1 CLASSIFICAÇÃO DOS SURFACTANTES SEGUNDO SEU GRUPO HIDROFÍLICO	101
5.2.2 FORMAÇÃO DE MEIO MICELAR PARA DETERMINAÇÃO DE ARSÊNIO	104
5.3 Objetivos.....	107
5.4 Equipamentos e acessórios.....	107
5.5 Limpeza de materiais	109
5.6 Amostras.....	110
5.7 Reagentes e soluções.....	110
5.7.1 SOLUÇÕES EMPREGADAS PARA A DETERMINAÇÃO DE ARSÊNIO.....	110
5.8 Fotômetro.....	111
5.9 Interface de controle do módulo de análise	112
5.10 Módulo de análise.....	113
5.11 Testes preliminares.....	118
5.11.1 ESTUDO DO TEMPO DE VIDA ÚTIL DO AZUL DE METILENO EM MEIO MICELAR.....	118
5.11.2 ESTUDO DO TEMPO PARA DESENVOLVIMENTO DA REAÇÃO	119
5.11.3 ESTUDO DA CONCENTRAÇÃO DE AZUL DE METILENO	119
5.11.4 ESTUDO DO MEIO REACIONAL.....	120
5.11.5 ESTUDO DO VOLUME DE NABH_4	120
5.11.6 ESTUDO DA CONCENTRAÇÃO DE NABH_4	121
5.11.7 ESTUDO DA TEMPERATURA DA SOLUÇÃO DE BORO-HIDRETO	121
5.11.8 ESTUDO DA PROPORÇÃO ENTRE OS PADRÕES E REAGENTES	121
5.11.9 ESTUDO DA FAIXA DE RESPOSTA LINEAR DO PROCEDIMENTO	122
5.11.10 ESTUDO DA ADIÇÃO E RECUPERAÇÃO DE As(III) E PROCESSAMENTO DAS AMOSTRAS..	123
5.12 Resultados e discussão.....	123
5.12.1 EFEITO DO TEMPO DE VIDA ÚTIL DO AZUL DE METILENO EM MEIO MICELAR.....	123
5.12.2 EFEITO DO TEMPO PARA DESENVOLVIMENTO DA REAÇÃO	125
5.12.3 EFEITO DA CONCENTRAÇÃO DE AZUL DE METILENO	127

SUMÁRIO

5.12.4 EFEITO DO MEIO REACIONAL	129
5.12.5 EFEITO DO VOLUME DE NABH_4	130
5.12.6 EFEITO DA CONCENTRAÇÃO DE NABH_4	131
5.12.7 EFEITO DA TEMPERATURA DA SOLUÇÃO DE BORO-HIDRETO	133
5.12.8 EFEITO DA PROPORÇÃO ENTRE OS VOLUMES DA SOLUÇÃO DE REFERÊNCIA E DOS REAGENTES	134
5.12.9 FAIXA LINEAR DA REAÇÃO	135
5.12.10 EFEITO DA ADIÇÃO E RECUPERAÇÃO DE As(III) EM AMOSTRAS DE ÁGUA	136
5.12.11 EFEITO DE INTERFERENTES	137
5.13 Figuras de mérito.....	138
5.14 Conclusões	139
REFERÊNCIAS.....	142

1º CAPÍTULO

INTRODUÇÃO

1º CAPÍTULO – INTRODUÇÃO

1.1 INSTRUMENTAÇÃO ANALÍTICA E SISTEMAS DE ANÁLISE EM FLUXO

O recente desenvolvimento dos procedimentos e instrumentação analítica tem permitido um avanço dos métodos de análise, reduzindo o tempo integral de análise, possibilitando alcançar limites de detecção mais baixos e tornando-os mais eficientes (GUIOCHON; BEAVER, 2004). Em virtude deste avanço tecnológico, novas vertentes foram surgindo e passaram a ser alvo das pesquisas na atualidade. Dentre estas, inclui-se a busca por melhor sensibilidade e a redução na geração de resíduos (GRASSI, 2008).

Embora concebido na Dinamarca por Ruzicka e Hansen em 1975, foi em Piracicaba-SP, Brasil, durante os anos 70, no Centro de Energia Nuclear na Agricultura (CENA), que o Sistema de Análise por Injeção em Fluxo (FIA – do nome em inglês: Flow Injection Analysis) foi demonstrado como uma ferramenta prática e útil de análise. (RUZICKA; HANSEN 1998). Inicialmente, o módulo de análise era constituído por uma bomba peristáltica, pelo dispositivo de inserção da seringa e por reator helicoidal. Uma seringa sem agulha para coleta e inserção da alíquota da amostra no sistema de análise. O uso da seringa perdeu a função com o surgimento de novos dispositivos para inserção de amostra, tais como válvula rotatória (RUZICKA; HANSEN, 1975) e o injetor comutador (BERGAMIN et al., 1978), o qual é mostrado na Figura 1.1.

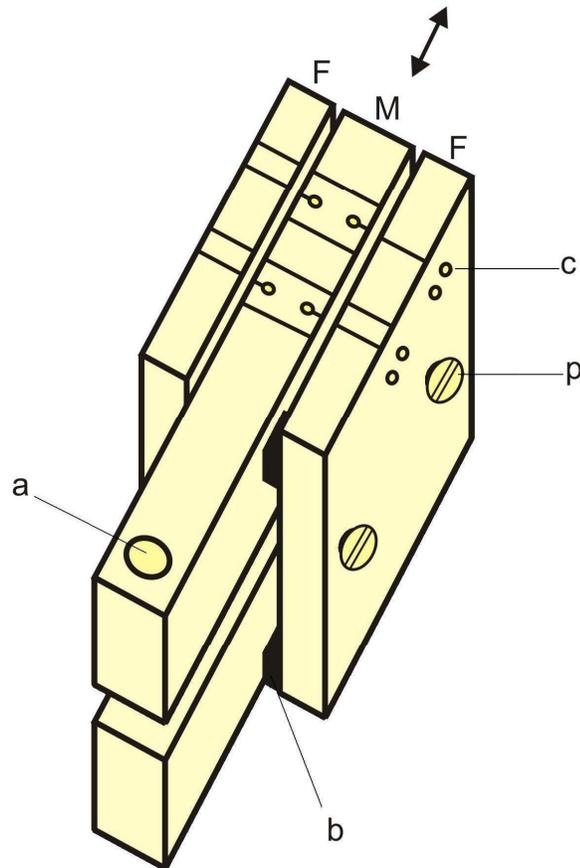


Figura 1.1 – Injetor comutador desenvolvido por Bergamin et al., (1978). Onde: a = pivô para locomoção da alavanca; b = borracha de vedação; c = orifícios para encaixe dos tubos e passagem de soluções; p = parafusos de fixação; F = parte fixa; M = parte móvel.

No fim da década de oitenta, foi proposto o emprego de válvulas solenóides de 3 vias para manipular amostras e soluções de reagentes em sistema FIA (MALCOLME-LAWES; PASQUINI, 1988). Até a metade da década de noventa, a bomba peristáltica era, praticamente, o único dispositivo utilizado para bombear as soluções em sistemas FIA, quando foi proposto o emprego de mini-bombas solenóide (LAPA et al., 2002).

O funcionamento de uma mini-bomba solenóide consiste de movimentos seqüenciados que promovem movimentos consecutivos de admissão e compressão. Com o movimento de admissão, a solução entra no interior do cilindro através da válvula de entrada (V_e). Com o movimento de compressão, a solução é forçada para o interior da linha de descarga através da válvula de saída (V_s). É mostrado na Figura 1.2a é mostrado os principais componentes internos de uma mini-bomba solenóide e, na Figura 1.2b é mostrado uma foto de uma mini-bomba solenóide utilizada para bombear soluções em sistemas FIA.

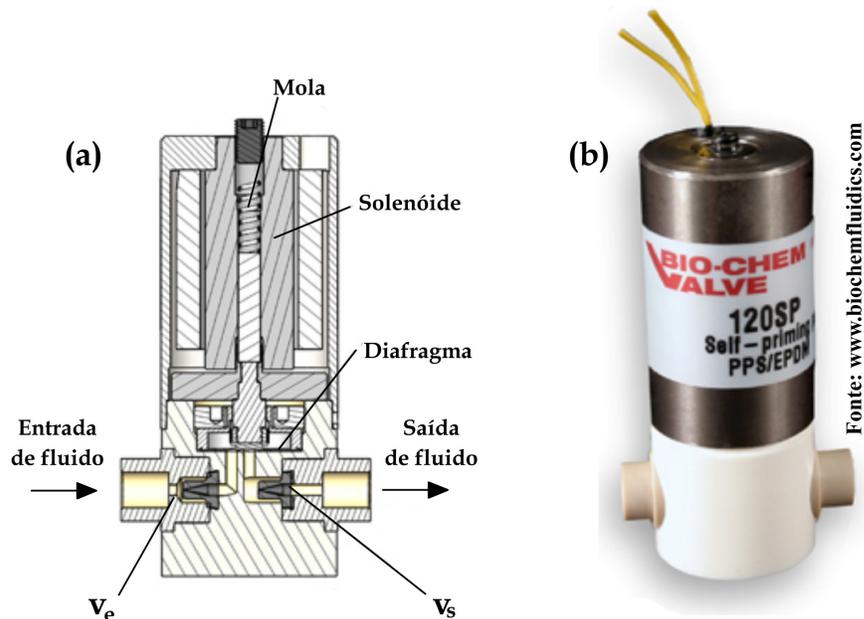


Figura 1.2 – Ilustração¹ de mini-bomba solenóide, onde: (a) visão componentes internos; (b) visão externa; V_e = válvula entrada; V_s = válvula saída.

¹ Ilustrações adaptadas de www.biochemfluidics.com. Disponível via acesso em 09 de janeiro 2010. https://www.biochemfluidics.com/cart/store/comersus_listOneCategory.asp?idCategory=51

Na Figura 1.3 são mostrados alguns modelos de válvulas solenóides de 3 vias e válvulas solenóides de estrangulamento utilizadas em sistemas FIA.

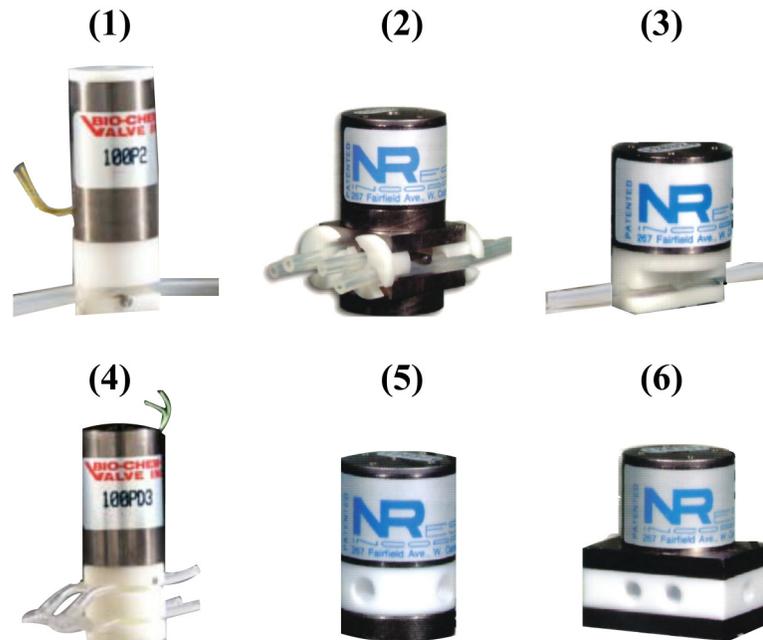


Figura 1.3 – Válvulas solenóides^{2,3} utilizadas para manipular amostras e soluções de reagentes em sistema FIA. Onde de (1) até (4) são válvulas de estrangulamento do tipo: única via N/A⁴; multivias N/AF⁵; única via – N/F⁶; multivias N/AF⁴, respectivamente; e (5) e (6) válvulas de 3 vias e de isolamento, respectivamente.

2 Ilustrações adaptadas de www.biochemfluidics.com. Disponível via acesso em 09 de janeiro 2010.

https://www.biochemfluidics.com/cart/store/comersus_listOneCategory.asp?idCategory=51

3 Ilustrações adaptadas de <http://www.nresearch.com>. Disponível via acesso em 09 de janeiro 2010.

<http://www.nresearch.com/Products/Valves/isolation-valves.html>

4 N/A = normalmente aberta;

5 N/AF = normalmente aberta e normalmente fechada simultaneamente;

6 N/F = normalmente fechada.

Na propulsão dos fluidos em sistemas FIA, os dispositivos mais utilizados são: bomba peristáltica em maior escala, seringas motorizadas (MAYA; ESTELA; CERDA, 2010) e mini-bombas solenóide Lapa et al., (2002).

Segundo Ruzicka e Hansen 1998, o FIA se tornou uma importante técnica analítica, tendo como comprovante a existência de mais que 8.000 artigos publicados até 1998, e atualmente passa dos 17.000 artigos. Estes resultados refletem a simplicidade de operação, a versatilidade em acomodar cada método, a eficácia do controle temporal, a minimização do consumo de reagentes e amostras, etc. Desta forma, estes sistemas têm sido considerados como uma das principais ferramentas para a mecanização e/ou automação em química analítica.

O desenvolvimento de instrumentação analítica, cada vez mais sensível e principalmente mais seletiva é de grande importância para uma melhor determinação das espécies químicas de interesse e, conseqüentemente, para aumentar a confiabilidade dos resultados analíticos. Os sistemas FIA, nos últimos 25 anos, têm contribuído significativamente para o avanço da instrumentação analítica, no Brasil e no mundo, viabilizando a implantação dos métodos de monitoramento *on-line* de processos industriais, onde robustez, estabilidade por longos períodos, baixa necessidade de manutenção, calibração automática e automação são requisitos essenciais (RUZICKA, 1992).

A associação de um sistema de análise em fluxo construído em laboratório, com mini-bombas solenóides, resultou em equipamento compacto, com as seguintes vantagens: a) portabilidade (pequeno tamanho e peso), robustez (alta confiabilidade na dispensa de volumes de reagente), baixo consumo de reagentes (amostragem discreta dos volumes) e energia, bem como geração minimizada de efluentes. Estas características têm tornando esses sistemas atraentes para utilização em laboratórios (ROCHA et al.,2005).

1.1.1 A espectrofotometria

Os métodos espectrofotométricos podem ser considerados os mais usados dentre todas as técnicas de análise quantitativa nos laboratórios químicos e clínicos em todo o mundo (SKOOG; HOLLER; NIEMAN, 1998). Análises espectrofotométricas baseadas em absorção de radiação na região do ultravioleta (UV), visível (Vis) e Infravermelho próximo (NIR) encontram vasta aplicação para identificação e determinação de uma grande variedade de espécies inorgânicas e orgânicas (WEINERT, 2008). Entretanto, existem espectrofotômetros muito caros, mas a sensibilidade depende do método e do procedimento, portanto não se deve generalizar.

O desenvolvimento dos métodos espectrofotométricos em sistemas FIA tem se mostrado versátil em função da seletividade e sensibilidade atingidas, da facilidade de operar etapas de separação e/ou pré-concentração em condições altamente repetitivas (OLIVEIRA et al., 2001).

1.1.2 LED como fonte de radiação em instrumentação fotométrica

O uso dos Diodos Emissores de Luz (LED) teve sua primeira utilização na instrumentação fotométrica há três décadas (FLASCHKA; MCKEITHAN; BARNES, 1973; BETTERIDGE et al., 1978). Desde então, tem proporcionado muitas vantagens, especialmente para espectrofotometria de absorção molecular UV-VIS (BETTERIDGE et al., 1978; PASQUINI; RAIMUNDO, 1984; SILVA et al., 2005; SILVA et al., 2009).

O princípio conhecido como eletroluminescência permite com que os LEDs emitam radiação luminosa em diversas faixas de comprimento de onda, onde a variação da faixa de emissão é função do tipo de semicondutor utilizado na dopagem do silício. A Tabela 1.1 apresenta algumas das composições mais conhecidas da dopagem para a produção de LEDs, e as respectivas faixas de emissão (DASGUPTA et al., 2003).

Relatos dos artigos publicados ao longo dos últimos 30 anos mostram que o uso de LED na instrumentação analítica tem sido crescente, apresentando as seguintes características que viabilizam sua utilização, onde se destacam: pequena dimensão; alta eficiência para a conversão de energia elétrica em radiação eletromagnética; desprezível dissipação de calor em função do consumo de energia; vida útil longa (≈ 100.000 h); e, resposta rápida, uma vez que não necessita esquentar para emitir radiação.

Tabela 1.1 – Composição simplificada de alguns LEDs utilizados na instrumentação analítica.

Tonalidade (luz)	Composição	λ_{\max} (nm)	Banda Emissão (nm)
Azul	GaN	435; 482	418 – 510
Verde	GaP	565	548 – 576
Vermelho	GaAsP	655	643 – 667
Infravermelho	GaAs	940	929 – 978

FONTE – Relatos literários de Dasgupta et al., 2003⁽⁷⁾

Neste sentido, diversos grupos de pesquisas têm se dedicado ao desenvolvimento de protótipos de equipamentos que, em muitos casos, apresentam desempenho compatível aos fotômetros comerciais (DASGUPTA et al., 2003; FONSECA; RAIMUNDO, 2004). Na Figura 1.4 é mostrada em corte a estrutura interna de um LED do tipo utilizado em instrumentação analítica.

⁷ DASGUPTA, P. K.; EOM, I.; MORRIS, K. J.; LI, J. Light emitting diode-based detectors Absorbance, fluorescence and spectroelectrochemical measurements in a planar flow-through cell. **Analytica Chimica Acta**, Inglaterra, v.500, 2003, p. 337–364.

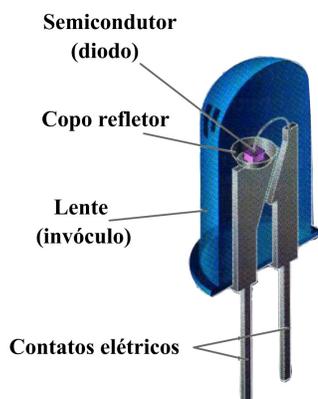


Figura 1.4 – Vista em corte de um LED.

1.2 MODALIDADES DOS SISTEMAS DE ANÁLISE EM FLUXO

Ao longo do tempo, outras modalidades do processo de análise em fluxo foram desenvolvidas, e são conhecidas pelas seguintes denominações: Análise por Injeção Seqüencial (SIA – do nome em inglês: Sequential Injection Analysis) desenvolvida por Ruzicka e Marshall em 1990 (RUZICKA; MARSHALL, 1990); Multicomutação em Análise em Fluxo (MCFA) desenvolvida por Reis et al., (1994), Sistemas Multiseringas desenvolvida por Cerda et al., (1999) [apud DIAS, 2006, p. 1]⁸ e o Sistema de Multi-impulsão desenvolvido por Lapa et al., (2002) [apud DIAS, 2006, p. 1]⁹.

⁸ CERDA, V.; ESTELA, J. M.; FORTEZA, R.; CLADERA, A.; BECERRA, E.; ALTIMIRA, P.; SITJAR, P. Flow techniques in water analysis, **Talanta**, Amsterdam, v. 50, p. 695-705, 1999.

⁹ LAPA, R. A. S.; LIMA, J. F. C.; REIS, B. F.; SANTOS, J. L. M.; ZAGATTO, E. A. G. Multi-pumping in flow analysis: concepts, instrumentation, potentialities, **Analytica Chimica Acta**, Amsterdam, v. 466, p. 125-132, 2002.

1.2.1 Multicomutação em Análise em Fluxo

O processo de multicomutação e amostragem binária, proposto em 1994 por Reis et al., (1994) tem como conceito básico a inserção seqüencial de pequenas alíquotas das soluções de amostra e de reagentes no percurso analítico. Segundo esses autores, o módulo de análise é constituído por um conjunto de válvulas solenóides, as quais sob o controle de um computador, funcionam com unidades de comutação discreta. Em função do *software* de controle, a forma de funcionamento do módulo de análise pode ser alterada, sem mudança na estrutura física do mesmo. Conforme mostra a Figura 1.5, as alíquotas de amostras e de reagentes são inseridas no percurso analítico de forma alternada, sendo que o volume de cada alíquota e a ordem de inserção são definidas por *software*. Esta ferramenta permitiu a manipulação de várias soluções de reagente, empregando apenas um canal de bombeamento, possibilitando as determinações seqüenciais de níquel, ferro e cromo em ligas de aço (REIS et al., 1995); amônio e fosfato em digerido de plantas (KRONKA; REIS; BERGAMIN, 1996). Em ambos os casos, não houve a necessidade de se alterar a estrutura física do módulo de análise.

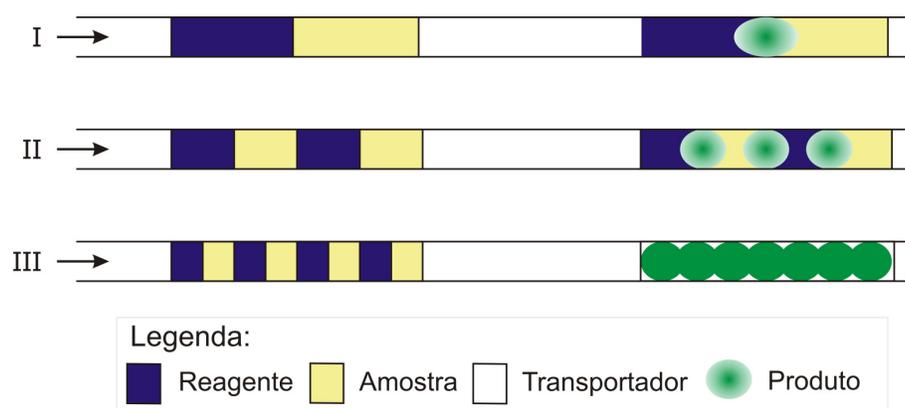


Figura 1.5 – Modelo de inserção seqüencial de alíquotas das soluções de amostra e reagentes conforme do processo de multicomutação em fluxo proposto por Reis et al., (1994). Onde I, II e III representam o número de inserções seqüenciais.

O processo de MCFA permite a inserção seqüencial de pequenas alíquotas da amostra e das soluções de reagentes no percurso analítico, portanto a reação química para produzir o composto a ser detectado, tem início durante a amostragem. Situação esta que não é viabilizada pelos sistemas FIAs usuais, onde o reagente é adicionado à amostra após sua inserção no percurso analítico. Em princípio, em um módulo de análise baseado no processo MCFA, há um melhor aproveitamento do tempo, o que pode resultar em um aumento da velocidade analítica (REIS et al., 1997).

Em complemento a isto, a MCFA tem se destacado, principalmente por sua facilidade na manipulação de pequenos volumes das alíquotas e das soluções dos reagentes e das amostras, com boa precisão. Volume na ordem de 5 μL é perfeitamente viável, tendo como impacto favorável à diminuição do consumo de reagentes. Por esse motivo, o processo MCFA é caracterizado pelo baixo consumo de reagente, alta freqüência de amostragem, versatilidade, etc. Outro fator importante, é que as reações ocorrem em um ambiente fechado, o que diminui o risco de contaminação, tal qual um sistema FIA usual.

O processo de multicomutação em fluxo possibilita a automação de metodologias analíticas envolvendo diferentes técnicas de detecção, onde o computador pode ser programado para realizar a tomada de decisão a partir da avaliação do resultado obtido durante o processamento da amostra, por exemplo, variar o volume das alíquotas da amostra e da solução do reagente (SILVA, 2008).

Segundo a União Internacional de Química Pura e Aplicada (IUPAC – do nome em inglês: International Union of Pure and Applied Chemistry), o conceito de automação, em química analítica, é definido como: o uso da combinação de mecânica e instrumental com a capacidade de substituir, refinar, ou complementar o esforço humano, em um determinado processo, onde, em pelos menos em uma das etapas, a tomada de decisão é realizada sem a intervenção humana em função da alteração de algum parâmetro do procedimento (KINGSTON; KINGSTON, 1994).

Os processos MCFA têm sido empregados de modo a desenvolver procedimentos analíticos que atendam a definição de conceito de automação estabelecido pela IUPAC. Processos baseados em titulação fotometria empregando o

conceito de procura binária foram desenvolvidos de acordo com esta definição (KORN et al., 1995; MARTELLI et al., 1999). Nestes sistemas, após a programação do computador, todas as decisões de controle das etapas foram realizadas sem intervenção do operador.

Em complemento as definições e conceitos apresentados sobre MCFA, as mini-bombas solenóide integram no mesmo dispositivo a unidade de propulsão de fluido e comutação. Estas propriedades permitem a miniaturização do módulo de análise, já que, o fluxo pulsado, característico das mini-bombas solenóide, tem sido estudado no sentido de permitir uma melhor condição de mistura, tendo em vista que cada mini-bomba solenóide libera um volume fixo de solução, cerca de 8 μ L para cada pulso de corrente elétrica aplicado (DIAS et al., 2007).

As mini-bombas solenóide têm sido empregadas para desenvolver procedimentos analíticos de baixo consumo de reagentes (LAVORANTE, 2006). O módulo de análise baseado em mini-bombas solenóide tem estrutura semelhante ao baseado em válvulas solenóide. A forma de funcionamento é semelhante. Uma vez que em sistemas MCFAs usuais, o volume de cada alíquota de solução inserida no percurso analítico é função da vazão de bombeamento e do tempo de permanência da válvula ligada, no emprego de mini-bombas solenóide, o volume da alíquota é proporcional ao número de pulsos elétricos aplicados à mini-bomba.

1.3 MICROCONTROLADORES NA INSTRUMENTAÇÃO ANALÍTICA

A utilização de microcontroladores na construção de aparelhos utilizados em instrumentação analítica tem sido uma ótima alternativa para o desenvolvimento de equipamentos de pequena escala e portáteis. Autores como Cantrell e Ingle (2003), Silva et al., (2005), Araújo et al., (2008) e Veras et al., (2009), têm desenvolvido fotômetros de baixo custo (cerca de U\$ 30,00) com aplicação analítica. Estes autores

determinaram corantes alimentícios como tartrazina, amarelo crepúsculo, azul brilhante entre outros; e a adulteração de gasolina em cidades brasileiras.

Segundo Silva et al., (2005) o uso de um microcontrolador, Microchip[®], da série PIC 16F877 (Controlador Programável por Interrupção, do nome em inglês: Programmable Controller of Interruption) permitiu a aquisição automática de sinais dispensando o uso de um computador, apresentando características compatíveis aos equipamentos de grande porte, além de ser portátil, o que facilita a realização de análises químicas de campo.

1.4 OBJETIVOS

Neste trabalho, tem-se como objetivo o desenvolvimento de instrumentação e procedimentos analíticos para a determinação espectrofotométrica de arsênio e fluoreto em águas servidas para consumo humano. Para isso, desenvolveu-se fotômetro para determinação fotométrica, módulos de análise empregando válvulas solenóide e mini-bombas solenóide, e procedimentos analíticos automáticos microcontrolados empregando o processo de multicomutação em fluxo. Tendo em vista que os métodos para determinação dos dois analitos são distintos, a instrumentação analítica empregada será desenvolvida em função de cada metodologia, então os mesmos serão apresentados separadamente.

CAPÍTULO 2

REVISÃO DA LITERATURA

2º CAPÍTULO – REVISÃO DA LITERATURA

2.1 Aspectos gerais sobre águas

A contaminação de corpos de água, utilizados para o abastecimento humano, por elementos que podem ser nocivos ou prejudiciais aos organismos e plantas, podem ocorrer pela atividade humana ou, também, pelo contato prolongado com rochas enriquecidas com elementos nocivos (PANAGOULIAS; SILVA, 2002).

A contaminação dos corpos d'água servidos para consumo humano é um problema global, que afeta tanto países ricos e como pobres, mas, de modo geral, são os países subdesenvolvidos os mais afetados. De acordo com a Organização das Nações Unidas para Agricultura e Alimentação (FAO), mais de um bilhão de pessoas, ou seja, quase um quinto da população mundial não têm acesso à água potável, e 40 por cento não têm acesso ao saneamento básico (WEST, 1992).

Segundo Motta(1993), a água destinada para o consumo humano deve atender a certos requisitos de qualidade, os quais variam de acordo com diferentes realidades. Naturalmente, a água contém impurezas que podem ser caracterizadas como: de ordem física, química ou biológica. Os teores dessas impurezas devem ser limitados até um nível não prejudicial ao ser humano, sendo estabelecidos pelos órgãos de saúde pública, com padrões de potabilidade.

No Brasil, a Portaria 36/1990 e mais recentemente a portaria 518/2004 do Ministério da Saúde define os padrões de potabilidade da água com base nas exigências da Organização Mundial de Saúde (OMS), bem como os padrões de monitoramento de sua qualidade. Nesta portaria, é definida como potabilidade da água *o conjunto de valores máximos permissíveis das características de qualidade da água destinada ao consumo humano* (BRASIL, 1990 p. 02; 2000); (BRASIL, 2000 p. 03; 2004).

No artigo décimo quarto da Portaria 518/2004 do Ministério da Saúde, é estabelecida a potabilidade da água em conformidade aos padrões das substâncias químicas que representam risco para a saúde, expresso conforme Tabela 2.1, a seguir:

Tabela 2.1 – Padrão de potabilidade para substâncias químicas inorgânicas que representam risco à saúde humana.

PARÂMETRO	UNIDADE	VMP ⁽¹⁰⁾
Antimônio	µg L ⁻¹	5,0
Alumínio	mg L ⁻¹	0,2
Arsênio	mg L ⁻¹	0,01
Bário	mg L ⁻¹	0,7
Cádmio	µg L ⁻¹	5,0
Cianeto	mg L ⁻¹	0,07
Chumbo	mg L ⁻¹	0,01
Cobre	mg L ⁻¹	2
Cromo	mg L ⁻¹	0,05
Ferro	mg L ⁻¹	0,3
Fluoreto⁽¹¹⁾	mg L ⁻¹	1,5⁽¹²⁾
Mercúrio	µg L ⁻¹	1,0
Nitrato (como N)	mg L ⁻¹	10
Nitrito (como N)	mg L ⁻¹	1
Selênio	mg L ⁻¹	0,01

Fonte: Portaria 518/2004 do Ministério da Saúde.

¹⁰ Valor máximo permitido.

¹¹ Os valores recomendados para a concentração de íon fluoreto devem observar à legislação específica vigente relativa à fluoretação da água, em qualquer caso devendo ser respeitado o VMP desta Tabela.

¹² Valor dependente da temperatura média anual de cada município.

3º CAPÍTULO

DETERMINAÇÃO DE FLUORETO EM ÁGUAS EMPREGANDO MULTICOMUTAÇÃO EM FLUXO

3º CAPÍTULO – DETERMINAÇÃO DE FLUORETO EM ÁGUAS EMPREGANDO MULTICOMUTAÇÃO EM FLUXO

3.1 Introdução

A fluoração de águas para abastecimento humano é considerada uma ação de interesse coletivo, pois tem efeito benéfico para a Saúde Pública, tendo em vista sua ação na prevenção da cárie dentária. A Organização Mundial de Saúde (OMS) sugere o consumo de águas com o teor de flúor entre 0,7 a 1,2 mg L⁻¹, dependendo da temperatura média anual (FAWELL, et al., 2006; WHO, 2008). Para o Brasil, por se tratar de um país de clima tropical, a OMS recomenda concentrações de fluoreto em águas próximo a 0,8 mg L⁻¹. Atualmente, íons fluoreto são largamente utilizados na manutenção da saúde bucal, sendo também considerado um micronutriente essencial, com concentração recomendada para ingestão está compreendida na faixa de 0,05 a 0,07 mg kg⁻¹ de peso corporal.

Em casos de ingestão, o consumo elevado de flúor pode provocar patologias como a fluorose dentária e óssea (WANG et al., 2009). Segundo Peixoto (1998), concentrações de fluoreto entre 2 e 3 mg L⁻¹ em água potável causam escurecimento dos dentes, e em concentração acima de 50 mg L⁻¹ pode causar intoxicação. A ingestão de 150 mg de NaF pode causar náuseas, vômitos, diarreia e dores abdominais agudas. No mesmo sentido, relatos de pesquisas realizadas em mamíferos demonstraram que a ingestão excessiva de NaF pode diminuir a qualidade espermática de animais de pequeno e médio porte (PUSHPALATHA; SRINIVAS; SREENIVASULA, 2005; CHINOY et al., 1997; FILAPPI et al., 2008).

A fluorose dentária é provavelmente tão antiga quanto à raça humana. Isto porque, dentes com manchas escuras e desfiguradas foram encontrados em crânios com milhares de anos de idade. Todavia os primeiros relatos da literatura científica são datados de uma centena de anos atrás (FEJERSKOV et al.,1994). Esta patologia se caracteriza por uma alteração na estrutura do esmalte dentário, provocada pela intoxicação sistêmica de fluoreto, durante a fase de formação do esmalte, sendo desta forma uma alteração de caráter irreversível (ANZAI, 2003). A Figura 3.1 apresenta foto desta patologia em seu estágio inicial (a) e avançada (b), caracterizada pela manchas brancas distribuídas ao longo do esmalte dentário.



Figura 3.1 – Fotos da patologia fluorose dentária; (a) estágio inicial; (b) estágio avançado. Caracterizadas pelas manchas brancas distribuídas ao longo dos esmaltes dentários.

O fluoreto é um elemento que ocorre naturalmente nas águas, onde geralmente ocorre em pequenas quantidades, originando-se das intempéries dos minerais dos quais ele é um dos elementos (KOMATI, 2008). Os fatores que controlam a concentração de flúor nas águas naturais são: temperatura, pH, presença ou ausência de íons colóides complexantes, solubilidade dos minerais que contém flúor, tamanho e tipo das formações percoladas pelas águas, e o tempo de contato das águas com uma formação em particular (AMPABIRE; BOYLE; MICHEL, 1997).

A concentração de fluoreto em águas naturais pode variar de 0,0 a 4,4 mg L⁻¹ em função do tipo de rocha que essas águas mantêm contato, podendo causar fluorose severa. Estudo geoquímico realizado no Estado de São Paulo em 2008, constatou teores elevados de fluoreto em águas subterrâneas em municípios como: Amparo, Araçatuba, Campinas, Cesário Lange, Ibitinga, Jaboticabal, Lins, Paraguaçu

Paulista, Piracicaba, Presidente Prudente, Ribeirão Preto, São João da Boa Vista, Sorocaba e Tuiuti (KOMATI, 2008).

Segundo Komati, 2008, foram encontrados casos de fluorose dental moderada e/ou severa nos municípios de Amparo, Bebedouro, Campinas, Itapirapuã Paulista, Itatiba, Jaboticabal, Mairiporã, Paulínia, Pedreira, Piracicaba, Rosana, Santos, Sertãozinho, Sorocaba, São José do Rio Preto, São Paulo, Taboão da Serra e Várzea Paulista.

Por outro lado, autores como Newbrun (1988)¹³, Cury (1992)¹⁴ e Pinto (2000)¹⁵, realizaram estudos em comunidades cujo sistema de abastecimento de água potável disponibilizava água fluorada em níveis ideais para ingestão, sem interrupções, concluíram que a presença de fluoreto tem ajudado a reduzir os níveis de cárie entre 50 a 60% [apud Toassi et al., 2007]. Um paradigma da realidade brasileira é apresentado por Bellé et al., (2009), pois, uma vez que o Brasil já alcançou os índices preconizados pela OMS em relação ao índice de cárie aos 12 anos, a cárie dentária ainda é considerada um problema de saúde pública nacional.

A primeira cidade do mundo a implantar um sistema de fluoretação de águas foi o município de Grand Rapids, nos Estados Unidos, em 1945, produzindo reflexos positivos na saúde pública (TOASSI et al., 2007). Posteriormente, programas de fluoretação das águas servidas para consumo humano foram estabelecidos em 40 países, atingindo mais de 200 milhões de pessoas. No Brasil, a fluoretação de águas teve início em 1953, em Baixo Guandu, no Espírito Santo, e tornou-se obrigatória por meio da Lei 6.050 e do Decreto 76.872 de 1975 (PAULETO; PEREIRA; CYRINO, 2004).

¹³ CURY, J. A. **Fluoretação da água: benefícios, riscos e sugestões**. Revista Odontológica do Brasil-Central, Goiânia, v. 2, 1992, p. 32-33.

¹⁴ NEWBRUN E. **Cariologia**, 2ª Edição, Editora Santos, São Paulo, 1998.

¹⁵ PINTO VG. **Saúde bucal coletiva**. 4ª ed. São Paulo, Editora Santos; 2000.

3.2 *Determinação de Fluoreto*

Muitos procedimentos para determinação de fluoreto em águas têm sido propostos empregando espectrofotometria (CARDWELL; CATTRAL, MITRI, 1988; SÂNDULESCU et al., 1996; FARAJ-ZADEH; KALHOR, 2001; CARDWELL; CATTRAL, MITRI, 1994), extração em fase sólida (GARRIDO et al., 2002; MENON et al., 2006), cromatografia de troca iônica (JONES, 1992; MOSKVIN; KATRUZOV; NIKITINA, 1998), eletroforese capilar (HOOP, et al., 1996), fluorescência atômica (MATSUNAGA et al., 2006; YANG et al., 2009), espectroscopia de emissão óptica com acoplamento de plasma induzido (KOVÁCS et al., 2009), potenciometria (HOOP, et al., 1996; NOLLET, 2006), etc.

Os métodos espectrofotométricos para determinação de fluoreto normalmente são indiretos, onde o íon fluoreto retira o metal da estrutura metal/ligante da estrutura do complexo colorido. Baseados neste tipo de interação, tais métodos são normalmente simples e convenientes, devido à relativa rapidez com que ocorre a reação para a formação do novo complexo, normalmente incolor, dependendo do meio reacional. Dentre os complexos da estrutura metal/ligante, que reagem com fluoreto, encontrados na literatura, temos o complexo de ferro(III)/salicilato de metila (SÂNDULESCU et al., 1996), e os complexos de metais e alizarina, como: zircônio (MEYLING; MEYLING, 1963; CARDWELL; CATTRAL, MITRI, 1988; CARDWELL; CATTRAL, MITRI 1994), lantânio (XU et al., 2004); alumínio (SATHISH, et al., 2007), entre outros.

Sândulescu et al., (1996), determinaram indiretamente o íon fluoreto presente em creme dental por espectrofotometria. Os autores utilizaram o complexo de coloração vermelho-violeta formado entre Ferro (III) e salicilato de metila, onde o fluoreto presente em solução retirava o Ferro (III) do complexo colorido, formando o complexo incolor $[\text{FeF}_6]^{3-}$. O complexo colorido foi monitorado a 525 nm, utilizando uma cela com 10 mm de caminho óptico. Na avaliação destes autores, o procedimento apresentou resposta linear na faixa de 0,01 a 0,08 mg mL⁻¹ de NaF e concluíram que o

método apresentava boa precisão ($100,16 \pm 2,33\%$) quando comparado com outros métodos analíticos.

Cardwell, Catral e Mitri (1994), propuseram a determinação espectrofotométrica ($\lambda = 520 \text{ nm}$) de fluoreto em águas empregando um procedimento FIA. Estes autores utilizaram como agente colorimétrico o complexo vermelho de zircônio/alizarina em meio ácido. Foi empregada uma etapa de difusão gasosa para contornar os principais interferentes. A tolerância aos íons Fe (III) e Al (III), ditos como principais interferentes, chegou a 500 e 200 vezes a concentração de fluoreto, respectivamente. Segundo os autores, foi obtiveram resposta na faixa linear de 0,1 a 10,0 mg L⁻¹ de NaF, limite de detecção de 0,055 mg L⁻¹ e detecção quantificação de 0,18 mg L⁻¹.

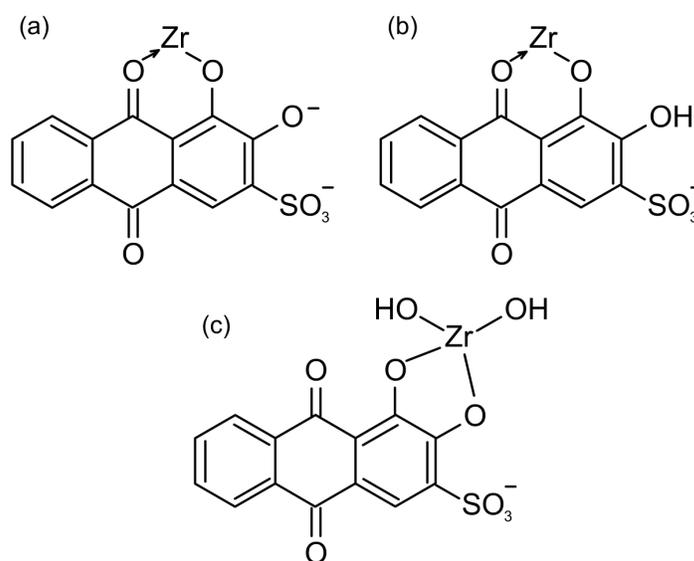
Faraj-Zadeh e Kalhor (2001), também desenvolveram um novo método de determinação indireta de fluoreto em águas naturais empregando extração em fase sólida e determinação espectrofotométrica. Os autores utilizaram como estrutura de extração uma coluna de sílica quimicamente modificada, onde acumulavam inicialmente oxinato de alumínio. Posteriormente, água contendo fluoreto passava pela coluna e o fluoreto trocava com o oxinato de alumínio, liberando-o em solução, o qual em meio tampão acetato e etanol era monitorado a 375 nm. Segundo os autores, a faixa de resposta linear situava entre 0,1 a 2,0 µg mL⁻¹ de NaF e o limite de detecção foi de 80 ng mL⁻¹.

Garrido et al., 2002 propuseram um método simples para a determinação de fluoreto em águas por fluorescência. O método era baseado na fluorescência do complexo de Zr(IV)/quercitina quando o íon fluoreto está presente na amostra. Os autores utilizaram uma coluna de resina de troca iônica fortemente ácida (Dowex 50W X8) para a remoção de alumínio das amostras e integraram dois sistemas FIA para preparar as amostras de água e os padrões de fluoreto. Na avaliação destes autores, a faixa linear situava-se entre 0,1 a 3,0 µg mL⁻¹ de NaF com ($r = 0,999$) e limite de detecção de 0,06 µg mL⁻¹. Relataram, também, que seu método apresentou desvio padrão de 2,5%, frequência analítica de 52 determinações por hora e frequência de preparo de 10 amostras por hora.

3.2.1 Vermelho de alizarina em reações de complexação

O 1,2 dihidroxiantraquinona-3-sulfonato de sódio, também denominado vermelho de alizarina S (VAS) ou alizarina S, pertence ao grupo dos corantes hidroxiantraquinonas. Em sua forma monossódica (cristalina), o VAS apresenta coloração amarelo-alaranjado com boa solubilidade em água e etanol. Apresenta $pK_{a1} = 5,39$ e $pK_{a2} = 10,72$ a 25°C (UENO; IMAMURA; CHENG, 1992).

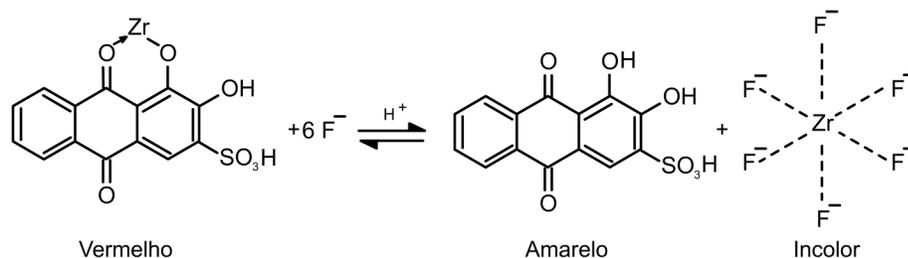
Segundo Parissakis e Kontoyannakos (1963), zircônio (Zr) reage com Alizarina S a 25°C , formando um complexo de estrutura metal/ligante, tendo duas bandas de absorção, uma a 420 nm e a outra a 520 nm. Estudos posteriores realizados por Zittel e Florence (1967), apresentam três prováveis estruturas em função do pH, onde: a primeira pode existir em soluções fortemente ácidas; a segunda sendo a mais provável para um pH moderado, em meio acetato, com pH próximo a 5,5; e, a terceira para valores de pH superiores a 10,5. A Figura 3.2 representa as fórmulas estruturais do complexo zircônio/vermelho de alizarina S em função do pH.



Fonte: Zittel; Florence, (1967).

Figura 3.2 – Fórmulas estruturais do complexo de zircônio/ vermelho de alizarina S existentes em função do pH. Onde: (a) para meio fortemente ácido; (b) para meio moderado; e, (c) para meio alcalino.

Os íons fluoreto presente em solução aquosa retiram o metal da estrutura do complexo metal ligante formando o complexo incolor. O método selecionado para desenvolver o procedimento analítico foi baseado na reação do íon fluoreto com o zircônio presente no complexo zircônio/vermelho de alizarina S, o qual tem como característica a redução da absorção de radiação do complexo em 525 nm (CARDWELL; CATTRAL, MITRI, 1988 e 1994). Segundo estes autores, o íon fluoreto presente em água retira o zircônio do complexo colorido de Zr/VAS formando um octaedro regular de $[ZrF_6]^-$ em meio ácido. A reação de determinação indireta dos íons fluoreto pela remoção do zircônio presente no complexo zircônio/vermelho de alizarina S é apresentada na Figura 3.3



Fonte: Adaptado de Zittel; Florence, (1967).

Figura 3.3 – Reação entre os íons fluoreto e o zircônio presente no complexo zircônio/vermelho de alizarina S para a formação fluoreto de zircônio.

3.3 Objetivos

No presente trabalho, foi proposto o desenvolvimento de instrumentação e procedimento analítico automático para a determinação fotométrica de fluoreto em águas. Visando a miniaturização do sistema, a minimização do consumo de reagentes e a redução do volume de efluente gerado, o módulo de análise e o detector fotométrico

foram integrados na mesma unidade, e o procedimento analítico foi implementado empregando MCFA (REIS et al., 1995; REIS et al., 1997).

A seguir, são descritos o desenvolvimento de instrumentação de procedimentos automáticos para a determinação de fluoreto em águas servidas para consumo humano empregando multicomutação em fluxo e determinação fotométrica.

3.4 Equipamentos e acessórios

Para o desenvolvimento da instrumentação e procedimentos automáticos para a determinação das espécies químicas de interesse desse trabalho, empregando multicomutação em fluxo e detecção fotométrica, utilizou-se os seguintes materiais e acessórios:

- Vidrarias de aferição classe A;
- Micropipetas de 20-200 μL , 100-1000 μL , 1000-5000 μL (Nichiryo[®], modelo Nichipet EX, Japão);
- Balança analítica (Mettler-Toledo[®], modelo AX304, Portugal);
- Banho de ultra-som (Thornton[®], Brasil);
- Espectrofotômetro (Femto[®], modelo 700 plus, Brasil) com faixa espectral 195 a 1100 nm e largura de banda de 5 nm;
- Espectrofotômetro de varredura multicanal (Ocean Optics[®], USB2000, Estados Unidos), com 2048 canais linhas, para medição da banda de radiação dos LEDs de auto-brilho para as determinações fotométricas;
- Tubos de polietileno (PE) de diâmetro interno (d. i.) 0,8 mm foram utilizados para a confecção das linhas de fluxo.
- Uma fonte simétrica estabilizada (+12 e -12 Volts) foi utilizada para alimentação do fotômetro.

- Uma fonte estabilizada 12 Volts, corrente de 1 A para alimentar as mini-bombas solenóides.
- Uma interface digital baseada no circuito integrado ULN2803A, empregada no acionamento das mini-bombas solenóides através da porta paralela do computador.
- Mini-bombas solenóides (BIO-CHEM FLUIDICS[®]), com vazão de 8 µL por pulso;
- Fotodetector o CI OPT301, (Burr-Brown[®] Instruments, modelo hermético TO-99), com resposta espectral na faixa de 300 a 950 nm;
- Multímetro digital (Minipa[®], modelo ET-2231) com saída serial RS-232;

3.5 Limpeza de materiais

Todos os materiais utilizados para o preparo das soluções foram lavados conforme seqüência apresentada a seguir: deixados imerso em solução 1:10 (v/v) de detergente Neutro livre de fósforo (SPLL[®]), por 30 minutos; 5 enxágües com água corrente; banho ácido com solução de ácido clorídrico com diluição 1:4 (v/v) com água destilada; 5 enxágües com água destilada e deionizada. As vidrarias não volumétricas eram secas em estufa a 60 °C, por uma hora e as volumétricas à temperatura ambiente. Nos casos de vidrarias especiais como balões volumétricos e pipetas, um banho de ultra-som e solução SPLL[®] por 15 minutos no início da etapa.

3.6 Amostras

As amostras (água potável) foram coletadas em diversos pontos da cidade de Piracicaba-SP. Após a coleta, foram filtradas utilizando filtro 0,42 µm (Whatman)

para remoção dos sólidos em suspensão e estocadas em frasco âmbar à temperatura de 4°C. Antes de serem processadas, as amostras eram acondicionadas de modo a atingir temperatura ambiente, e processadas no mesmo dia.

3.7 Reagentes e soluções

Para o desenvolvimento dos diversos procedimentos analíticos descritos neste trabalho, todas as soluções foram preparadas com água destilada e deionizada com condutividade elétrica menor do que $0,1 \mu\text{Scm}^{-1}$, utilizando reagentes de grau analítico com pureza superior a 99,5 % (Merck, Synth, Fluka, Carlos Erba).

3.7.1 Soluções empregadas para a determinação de fluoreto

- Solução-padrão estoque de fluoreto 1000 mg L^{-1} , preparada dissolvendo 0,2639 g de fluoreto de sódio (NaF) em água e completando o volume para 100 mL.
- Solução-estoque zircônio $0,5 \text{ mmol L}^{-1}$, preparada dissolvendo previamente 0,0885 g de Oxicloreto de Zircônio (IV) octahidratado ($\text{ZrOCl}_2 \cdot 8\text{H}_2\text{O}$) em 10 mL de água, adicionando-se 2 mL de HCl e 1 mL de H_2SO_4 concentrados. O volume foi completado para 500 mL com água.
- Solução-estoque alizarina S $3,14 \text{ mmol L}^{-1}$, preparada dissolvendo 0,3773 g de vermelho de alizarina S sal monossódico ($\text{C}_{14}\text{H}_7\text{O}_7\text{SNa}$) em 500 mL de água.
- Solução-padrão estoque de ferro(III) 1000 mg L^{-1} , preparada dissolvendo-se 0,4841 g de cloreto de ferro(III) hexa-hidratado ($\text{FeCl}_3 \cdot 6\text{H}_2\text{O}$) em água e completando o volume para 100 mL.

- Solução-padrão estoque de alumínio 1000 mg L^{-1} , preparadas dissolvendo-se $0,8941 \text{ g}$ de cloreto de alumínio hexa-hidratado ($\text{AlCl}_3 \cdot 6\text{H}_2\text{O}$) em água e completando o volume para 100 mL .
- Solução-padrão estoque de fosfato 1000 mg L^{-1} , preparadas dissolvendo-se $0,1560 \text{ g}$ de fosfato de sódio monobásico di-hidratado ($\text{H}_2\text{NaPO}_4 \cdot 2\text{H}_2\text{O}$) em água e completando o volume para 100 mL .
- Solução-padrão referência de fluoreto $10,0 \text{ mg L}^{-1}$, previamente preparada a partir da solução estoque de 1000 mg L^{-1} .
- Solução-padrão referência de fluoreto de $0,0$ a 5 mg L^{-1} de NaF , preparados por diluição da solução estoque de fluoreto $10,0 \text{ mg L}^{-1}$ acima.
- As soluções de trabalho de vermelho de alizarina S ($2,07 \text{ mmol L}^{-1}$) e zircônio (IV) ($0,25 \text{ mmol L}^{-1}$), preparadas por diluição na proporção $1:1$ (v/v) com água destilada a partir da solução estoque.
- As soluções para potencial interferência de ferro(III) contendo $0,1$; $10,0$ e $50,0 \text{ mg L}^{-1}$ de Fe^{3+} , preparadas por diluição a partir da solução estoque de 1000 mg L^{-1} .
- As soluções para estudo de potencial interferência do alumínio contendo $0,2$; $0,5$ e $5,0 \text{ mg L}^{-1}$ de Al^{3+} , preparadas por diluição a partir da solução estoque 1000 mg L^{-1} .
- As soluções para potencial interferência de fosfato contendo $0,2$; $0,5$; $5,0$ e $10,0 \text{ mg L}^{-1}$ de PO_4^{4-} foram preparadas por diluição a partir da solução estoque.

3.8 Fotômetro

O fotômetro desenvolvido neste estudo, utilizou como fotodetector o CI OPT301, com resposta espectral na faixa de 300 a 950 nm . Este dispositivo apresentava embutido em um único chip, todo o circuito eletrônico de transdução do sinal luminoso em diferença de potencial, ganho e amplificação de sinal, necessários

para gerar os sinais transientes obtidos nos estudos realizados. A arquitetura interna do fotodetector OPT301 e a montagem do fotômetro é apresentada na Figura 3.4. Segundo Dasgupta et al., (2003), este CI apresenta algumas características interessantes para instrumentação analítica, tais como: alta performance (0,47 A/W), baixo ruído durante a leitura de escuro (1mV) e janela de quartzo de 2,29 x 2,29 mm.

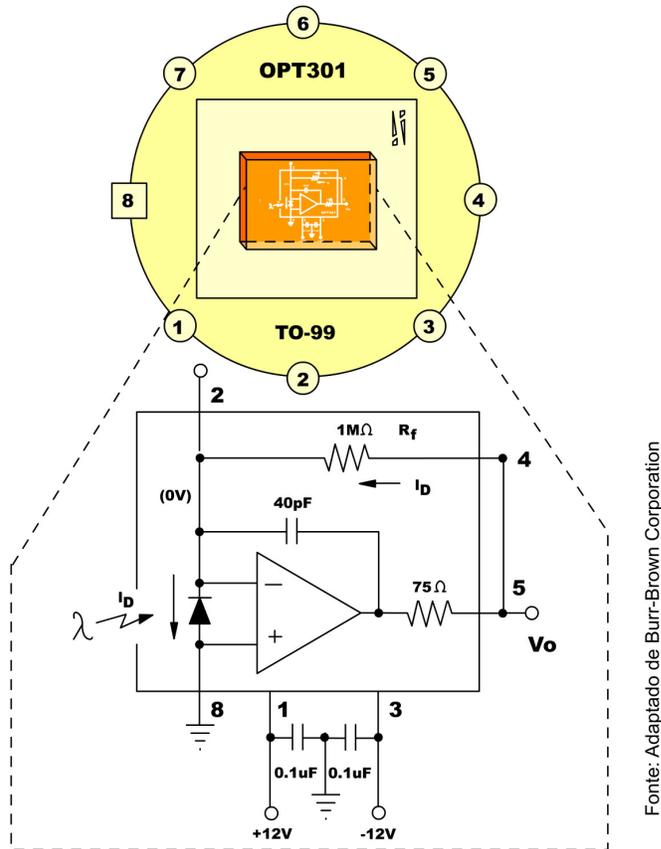


Figura 3.4 – Diagrama eletrônico, embutido em um único chip, do sistema fotométrico utilizando o CI OPT301¹⁶ como fotodetector. Onde: λ = entrada de radiação proveniente do LED ($\lambda = 525$ nm); pinos: 1 = entrada de tensão (+12V); 2 = não utilizado; 3 = entrada de tensão (-12V); 4 = referência interna; 5 = saída de sinal; 6 = não utilizado; 7 = não utilizado; 8 = comum.

¹⁶ Componente eletrônico produzido pela Burr-Brown Corporation. **Integrated photodiode and amplifier**, 1994, Tucson, 12 f.

3.9 Interface de controle do módulo de análise

As mini-bombas funcionam com uma diferença de potencial de 12 V e intensidade de corrente da ordem de 200 mA. Os sinais de controle enviados pelo computador através da porta paralela tem diferença de potencial entre 3 e 5 V e intensidade de corrente de alguns miliampéres, portanto é necessário empregar uma interface de potência para fazer a compatibilização. A Figura 3.5 apresenta o diagrama da interface empregada para esta finalidade.

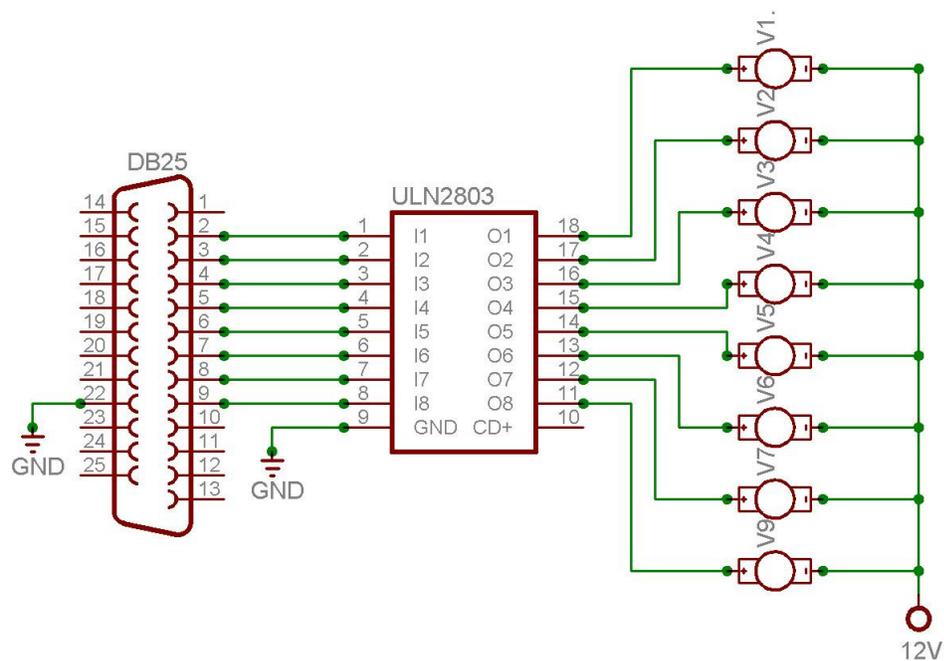


Figura 3.5 – Ilustração do módulo de controle utilizando o CI ULN 2803 conforme descrito por Ródenas-Torralba, et al., (2006). Onde: P₁ a P₉ são mini-bombas solenóides, DB25 corresponde à saída paralela computador.

3.10 Cella de fluxo

A cela de fluxo de longo caminho óptico, tendo 60 mm de comprimento, desenvolvida para este projeto é mostrada na Figura 3.6. Na cela foram incorporados dois cilindros de vidro (Cv) que funcionam como guia de onda, facilitando a chegada da luz emitida pelo LED até o detector, após ter percorrido o caminho óptico. O emprego de um LED de alto brilho ($\lambda = 525$ nm, intensidade 10.000 mili candelas, mcd) permitiu o uso da cela de fluxo com caminho óptico 5 vezes maior do que o usual em equipamento comercial. A geometria cilíndrica dos guias de onda permite melhor aproveitamento do feixe de radiação, pois minimiza as perdas por espalhamento, que ocorrem nas celas de fluxo em formato de “U” quadrado, Morales-Rúbio et al., (2007). Do mesmo modo, para um melhor aproveitamento dos sinais transientes, a cela de fluxo foi instalada na posição vertical com o objetivo de evitar a retenção de pequenas bolhas que possam surgir na linha de fluxo.

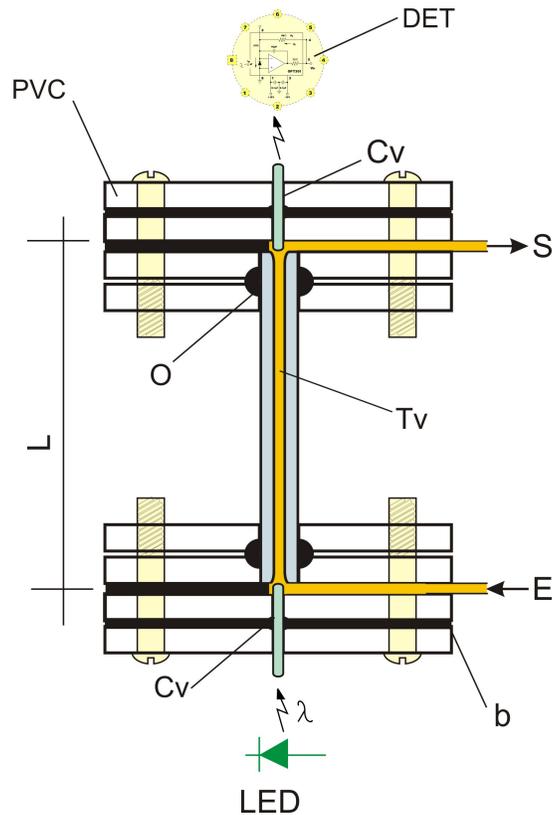


Figura 3.6 – Vista lateral da célula de fluxo de longo caminho óptico montada no laboratório. Onde: Cv = cilindro de vidro; Tv = Tubo de vidro com 3 mm de diâmetro interno, caminho óptico $L = 60$ mm e volume interno de $423 \mu\text{L}$; PVC = Bloco de cloreto de polivinila; O = anel de borracha; b = junta de borracha; E = entrada de fluxo; S = saída de fluxo; LED = diodo emissor de luz, $\lambda = 525$ nm; D = distância caminho óptico.

3.11 Módulo de aquisição de dados

O sinal analítico, depois de condicionado pelo sistema eletrônico de detecção foi monitorado por um multímetro digital, e a leitura digitalizada era encaminhada, via comunicação serial RS-232, a um computador. Nesta etapa, o *software* escrito em linguagem QuickBasic 4.5, em plataforma MS-DOS 6.0, fazia o tratamento dos dados, o respectivo armazenamento e apresentava-os no monitor de vídeo do computador,

permitindo a visualização em tempo real, possibilitando o acompanhamento da reação pelo analista.

3.12 Módulo de análise

O módulo de análise desenvolvido para a determinação de fluoreto, mostrado na Figura 3.7, foi elaborado empregando mini-bomba solenóide como propulsor de fluídos. Os reatores helicoidais B₁ e B₂ foram utilizados para promover a formação do complexo zircônio/ vermelho de alizarina S, e posteriormente permitir a interação do zircônio presente no complexo com o íon fluoreto, formando um novo complexo. Este módulo de análise foi projetado de modo a minimizar o uso de reagentes, a sensibilidade na determinação de fluoreto e aumentar a frequência analítica.

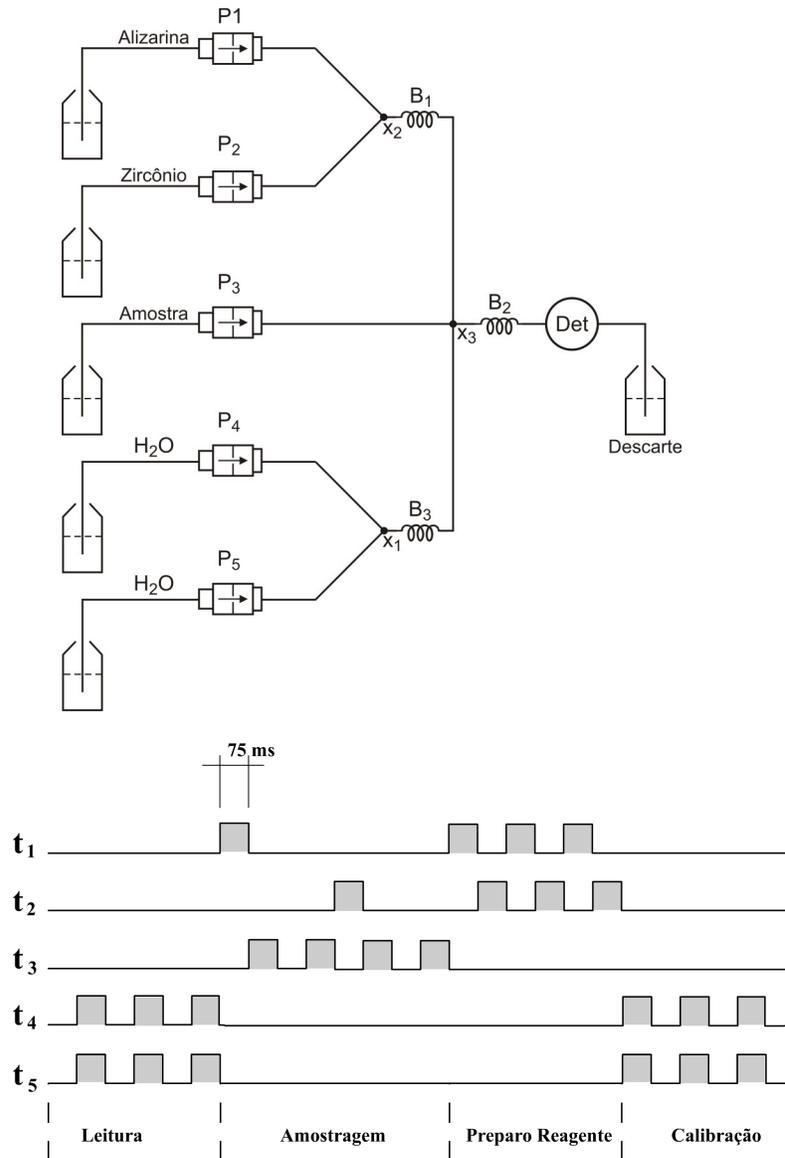


Figura 3.7 – Diagrama do módulo de análise e diagrama de tempo de acionamento da determinação de fluoreto em águas servidas para consumo humano. A = amostra; T = água; B₁ B₂ e B₃ = reatores helicoidal com 25, 50 e 10 cm, d. i. 0,8 mm, respectivamente; x₁, x₂ e x₃ = pontos de confluência; soluções de vermelho de alizarina S (2,07 mmol L⁻¹), zircônio (0,25 mmol L⁻¹); respectivamente; P₁, P₂, P₃, P₄ e P₅ = mini-bombas solenóides; D = descarte; DET = detector; t₁, t₂, t₃, t₄, e t₅ = tempos de acionamento de P₁, P₂, P₃, P₄ e P₅, respectivamente.

Ao selecionar o programa de controle, o computador solicitava os valores das variáveis de controle do módulo de análise, tais como: volume (8 μL por pulso da mini-bomba solenóide) a ser inserido de amostra, dos reagentes, solução transportadora ou solução de limpeza; número de ciclos para definir a zona de amostra; número de replicatas; tempo de leitura de sinal. Após fornecer estes parâmetros de controle, o computador assumia o controle do processo.

Inicialmente, as soluções dos reagentes de zircônio IV (R_1) e vermelho de alizarina S (R_2) são bombeadas na proporção de 1:1 até o preenchimento do reator helicoidal de 25 cm (B_1) para a formação do complexo cromogênico de zircônio / vermelho de alizarina S. Após esta etapa, bombeava-se seqüencialmente, 8 μL zircônio IV (R_1), 40 μL solução da amostra (A), 8 μL vermelho de alizarina S (R_2), até o preenchimento do reator helicoidal de 50 cm (B_2), de modo a manter a razão 1:1 entre os reagentes e 5:1 entre a amostra e o complexo zircônio/ vermelho de alizarina S, respectivamente.

Finalmente, o produto da reação entre a amostra e o complexo zircônio/ vermelho de alizarina S era transportado até o detector pela solução transportadora (água). O sinal analítico era lido pelo computador através do multímetro digital via saída serial RS-232. Os arquivos eram salvos no computador para processamento posterior. Enquanto a etapa de leitura estava em curso, um gráfico do sinal em função do tempo era mostrado na tela do monitor de vídeo, permitindo sua visualização em tempo real.

3.13 Estratégias empregadas na determinação de fluoreto

Dentre as diversas técnicas espectrofotométricas citas, inicialmente selecionou-se a que apresentava menor número de etapas, maior sensibilidade e, também, maior facilidade na aquisição dos reagentes necessários. Como já descrito anteriormente neste capítulo, os métodos espectrofotométricos para determinação de

fluoreto normalmente são indiretos, onde o íon fluoreto retira o metal da estrutura metal/ligante da estrutura complexo colorido.

3.13.1 Estudo da estabilidade do complexo zircônio/vermelho de alizarina S e comprimento do reator helicoidal B₁

O complexo zircônio/ vermelho de alizarina S apresenta duas configurações estruturais em equilíbrio, sendo uma de coloração vermelha e a outra de coloração amarela, conforme descrito por Cardwell, Cattral e Mitri (1988). Neste sentido, monitorou-se a estabilidade cinética do referido complexo utilizando o fotômetro e a cela de fluxo apresentados anteriormente nas Figura 3.4 e Figura 3.6.

No estudo cinético abaixo, preparou-se em bancada a mistura das soluções de trabalho de zircônio e vermelho de alizarina S formando o complexo zircônio/vermelho de alizarina S (Zr/VAS), na proporção 1:1 (v/v). No início do experimento, a cela de fluxo foi lavada e mantida cheia com água para se fazer a calibração do fotômetro. Posteriormente, a cela de fluxo foi lavada e mantida cheia com a solução de complexo Zr/VAS. A partir desse momento, leituras sucessivas foram armazenadas no computador, com intervalo de aproximadamente 2,5 segundos. Resultando em uma matriz de dados de leitura por tempo. Estipulou-se como o tempo limite de leitura 90 minutos.

3.13.2 Comprimento do reator helicoidal B₂

Para o estudo do comprimento do reator helicoidal B₂ foi utilizado solução padrão de fluoreto 1, mg L⁻¹ soluções de trabalho de zircônio e vermelho de alizarina S com concentrações de 0,25 mmol L⁻¹ e 1,5 mmol L⁻¹, respectivamente. O estudo foi efetuado afixando os volumes de padrão, reagentes e solução transportadora, alterando

apenas o comprimento do reator helicoidal. Iniciaram-se os estudos com 20 ciclos de amostragem (960 μL) para garantir que o percurso analítico e a cela de fluxo fossem completamente preenchidos com a zona de amostra. Nesta etapa, as mini-bombas solenóides P_1 e P_2 foram acionadas de forma alternada. Neste estudo, utilizaram-se os seguintes comprimentos do reator helicoidal: 25; 50; 75 e 100 cm, respectivamente.

3.13.3 Estudo do volume da zona de amostra

Para o estudo do volume da zona de amostra, utilizou-se solução padrão de fluoreto $1,0 \text{ mg L}^{-1}$ e as soluções de trabalho de zircônio e vermelho de alizarina S com concentrações de $0,25 \text{ mmol L}^{-1}$ e $1,5 \text{ mmol L}^{-1}$, respectivamente. Tomando-se como condição inicial, foi adotado como comprimento inicial da zona de amostra o equivalente a 15 ciclos de amostragem, ou seja, 840 μL . Os experimentos adicionais foram realizados programando: 20; 25 e 30 ciclos de amostragem.

3.13.4 Estudo das proporções entre amostra e os reagentes

Para o estudo das proporções entre os volumes inseridos das amostras e dos reagentes, foi utilizado padrões de fluoreto de sódio nas seguintes concentrações 0,0; 0,5; 1,0 e $1,5 \text{ mg L}^{-1}$; e soluções de trabalho de zircônio e vermelho de alizarina S com concentrações de $0,25 \text{ mmol L}^{-1}$ e $2,75 \text{ mmol L}^{-1}$, respectivamente. No estudo em questão, fixando-se, inicialmente, o volume da amostra em 8 μL e em seguida aumentava-se gradativamente o volume dos reagentes (múltiplos de 8 μL). Iniciaram-se os estudos com 10 ciclos de amostragem (560 μL) para garantir que o percurso analítico e a cela de fluxo fossem completamente preenchidos com a zona de amostra. Neste estudo, utilizou-se um reator helicoidal de 25 cm para B_1 e 50 cm para B_2 . Os

volumes inseridos das soluções de trabalho de zircônio e vermelho de alizarina S foram variados conforme descrito nos itens 3.13.4.1 e 3.13.4.2, a seguir.

3.13.4.1 Estudo dos volumes de zircônio

Mantendo-se constante o volume inserido do reagente de vermelho de alizarina S em 8 μL no reator helicoidal B_1 , os volumes inseridos do zircônio no reator B_1 foram: 8, 16 e 24 μL .

3.13.4.2 Estudo dos volumes de vermelho de alizarina S

Mantendo-se constante o volume inserido do zircônio em 8 μL no reator helicoidal B_1 , os volumes inseridos do reagente vermelho de alizarina S no reator B_1 para os seguintes volumes: 8, 16 e 24 μL .

3.13.5 Estudo das concentrações dos reagentes

Para o estudo das concentrações dos reagentes, as proporções entre os padrões e reagentes foi mantido constante (8 μL para padrões e 8 μL do complexo zircônio/vermelho de alizarina S). Neste estudo, utilizou-se um reator helicoidal de 25 cm para B_1 e 50 cm para B_2 , 40 ciclos de amostragem (960 μL) para garantir que o percurso analítico e a cela de fluxo fossem completamente preenchidos com a zona de amostra. Foram usados soluções padrões de fluoreto de sódio nas seguintes concentrações 0,0; 0,5; 1,0 e 1,5 mg L^{-1} . As soluções de trabalho de zircônio e

vermelho de alizarina S foram variadas conforme descrito nos itens 3.13.5.1 e 3.13.5.2, a seguir.

3.13.5.1 Estudo das concentrações de zircônio

Mantendo-se constante a concentração de vermelho de alizarina S em 1,5 mmol L⁻¹, a proporção dos volumes entre os reagentes e os padrões preparados, e mantendo o pH do meio reacional, preparou-se soluções de zircônio nas seguintes concentrações: 0,30; 0,60; 1,25 e 2,50 mmol L⁻¹.

3.13.5.2 Estudo das concentrações de vermelho de alizarina S

Mantendo-se constante a concentração de zircônio em 1,0 mmol L⁻¹, a proporção dos volumes entre os reagentes e os padrões preparados, e mantendo o pH do meio reacional, foram preparadas soluções de vermelho de alizarina S nas seguintes concentrações: 0,20; 0,40; 0,75 e 1,5 mmol L⁻¹.

3.13.6 Estudo do meio reacional

No estudo do meio reacional se mantiveram fixas as proporções entre os padrões e reagentes foi mantido constante, 8 µL para padrões e 8 µL do complexo zircônio/vermelho de alizarina S) e, ainda, as concentrações dos reagentes, fixadas em 0,25 mmol L⁻¹ para zircônio e 1,5 mmol L⁻¹ de vermelho de alizarina. Neste estudo, utilizou-se um reator helicoidal de 25 cm para B₁ e 50 cm para B₂, 40 ciclos de amostragem (960 µL) para garantir que o percurso analítico e a cela de fluxo fossem

completamente preenchidos com a zona de amostra. Foram utilizados soluções padrões de fluoreto de sódio nas seguintes concentrações 0,0; 0,5; 1,0 e 1,5 mg L⁻¹. Manteve-se, também, a razão de proporção entre os ácidos estudados (HCl e H₂SO₄) conforme descrito por Cardwell; Cattral, Mitri, (1988). No estudo do meio reacional foram variados os seguintes valores dos seguintes ácidos: 6,0; 12,0; 18,0 e 24,0 mmol de HCl; e, 1,5; 3,0; 6,0 e 12,0 mmol de H₂SO₄.

3.13.7 Estudo da faixa linear da reação

Para o estudo da faixa de resposta linear utilizou-se soluções padrões de fluoreto de sódio nas seguintes concentrações: 0,00; 0,13; 0,25; 0,50; 0,75; 1,00; 1,25; 1,50; 1,75; 2,00 e 4,00 mg L⁻¹. A proporção entre os volumes das soluções padrões e dos reagentes foi mantida em 5:1 (v/v), ou seja, 40 µL para solução padrão e 8 µL para o complexo de zircônio/vermelho de alizarina S. As concentrações dos reagentes utilizadas neste estudo foram: fixadas em 0,25 mmol L⁻¹ para zircônio e 0,75 mmol L⁻¹ de vermelho de alizarina. Neste estudo, utilizou-se um reator helicoidal de 25 cm para B₁ e 50 cm para B₂, e 25 ciclos de amostragem. O meio reacional para desse estudo foi fixado em 18,0 mmol L⁻¹ para HCl e 6,0 mmol L⁻¹ para H₂SO₄

3.13.8 Estudo das espécies potencialmente interferentes

O estudo seguinte foi realizado para avaliar possíveis efeitos de interferência. Autores como Cardwell, Cattral e Mitri (1988 e 1994) e Matsunaga et al., (2006) apontam Fe³⁺, Al³⁺ e PO₄³⁻, como algumas das espécies químicas potencialmente interferentes. Assim, estas espécies químicas foram adicionadas às soluções padrões de fluoreto.

No estudo das espécies químicas potencialmente interferentes, utilizou-se as seguintes soluções de fluoreto: 0,0; 0,50; 1,0; 1,5; e 2,0 mg L⁻¹. As concentrações dos reagentes utilizadas neste estudo foram fixadas em 0,25 mmol L⁻¹ para zircônio e 1,5 mmol L⁻¹ de vermelho de alizarina. Neste estudo, foi utilizado um reator helicoidal de 25 cm para B₁ e 50 cm para B₂, e 25 ciclos de amostragem. Os experimentos foram realizados empregando soluções de 0,1; 10,0 e 50,0 mg L⁻¹ Fe(III); 0,2; 0,5 e 5,0 mg L⁻¹ Al(III) ; e 0,2; 0,5, 5,0 e 10,0 mg L⁻¹ PO₄³⁻, respectivamente.

3.13.9 Outros estudos

Outros parâmetros, tais como, temperatura, tempo de reação e pH, não foram avaliados, pois foram mantidas as condições relatadas na literatura (PARISSAKIS; KONTOYANNAKOS, 1963 MEYLING; MEYLING, 1963).

3.13.10 Processamento das amostras

As amostras de água potável foram processadas empregando as condições operacionais estabelecidas a partir da análise dos resultados otimizados obtidos nos experimentos descritos previamente. Foi utilizado o teste-t de Student para a comparação entre médias.

3.13.11 Adição de padrão e recuperação

Com o propósito de se avaliar o efeito de matriz, foram adicionados a algumas amostras os seguintes valores de solução padrão de fluoreto de sódio. Nesta

adição volumes conhecidos das soluções padrões de fluoreto foram adicionadas a um balão volumétrico de 100 mL e o volume foi completado com amostras previamente coletadas, filtradas e acondicionadas à temperatura de 25 °C.

3.13.12 Validação do procedimento

Com o propósito de verificar a exatidão do procedimento proposto, a determinação de fluoreto também foi realizada por Cromatografia de Troca Iônica, no mesmo dia que as amostras processadas com sistema proposto neste trabalho.

3.14 Resultados e discussão

Diferentes métodos para determinação de fluoreto em águas foram pesquisados na literatura. Dentre os métodos pesquisados, o baseado no complexo de zircônio(IV)/vermelho de alizarina S aparece como o mais interessante, pois é reconhecida como um dos métodos oficiais (colorimétricos) para determinação de fluoreto em águas (BRASIL, 1976). Sendo esta, uma alternativa que não necessita de muito preparo de amostra, apresentando velocidade de reação razoável e, também, apresenta baixo índice de interferência uma vez que o cloreto, um dos potenciais interferentes mais severos em outras reações, não participa da reação. Desta forma, a melhor das alternativas para contornar essas situações foi o método descrito Cardwell; Cattral, Mitri (1994), que apresentou melhor limite de detecção e maior faixa linear, com boa velocidade cinética de reação.

Nos itens seguintes são apresentados e discutidos os resultados referentes às variáveis estudadas: comprimento dos reatores helicoidal B₁ e B₂, volume da zona de amostra, proporções entre os volumes das alíquotas da amostras e dos reagentes, concentração dos reagentes, estudo do meio reacional, faixa de resposta linear,

espécies potencialmente interferentes, processamento das amostras, adição e recuperação, e exatidão.

Testes quantitativos demonstraram que a reação entre fluoreto e o complexo zircônio/ vermelho de alizarina S ocorre rapidamente à temperatura de 30°C, portanto não foi necessário empregar uma etapa de aquecimento.

3.14.1 Efeito da estabilidade cinética do complexo zircônio/vermelho de alizarina S e comprimento do reator helicoidal B₁

No início deste trabalho, foi comentado que método selecionado tem como base a reação competitiva, onde o fluoreto captura o íon zircônio do complexo zircônio/ vermelho de alizarina S. O decréscimo da coloração do composto inicial guarda uma relação direta com a concentração de fluoreto, a qual foi monitorada neste trabalho quantificando a variação da absorvância. Então, é necessário a formação prévia do composto zircônio/ alizarina. Tendo em vista que a estabilidade do composto ao longo do tempo poderia afetar o procedimento analítico, um experimento com esta finalidade foi realizado. A curva mostrada na Figura 3.8 indica que nos primeiros 30 min, a variação da resposta não significativa, entretanto para tempos maiores o decréscimo de sinal torna-se mais acentuado.

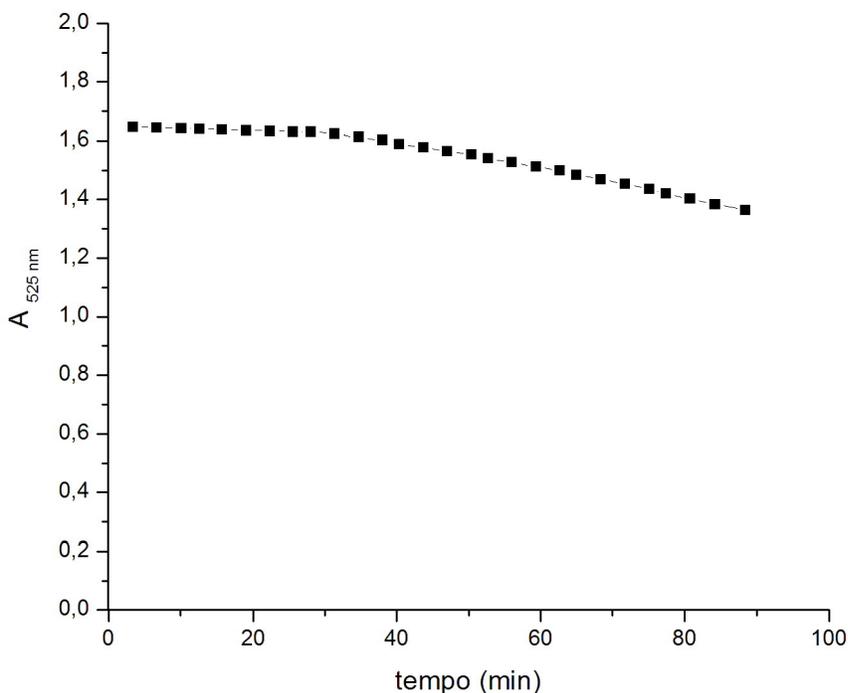


Figura 3.8 – Estudo de estabilidade cinética do complexo zircônio/vermelho de alizarina S. $A_{525\text{ nm}}$ = absorvância ($\lambda = 525\text{ nm}$).

Em função deste resultado, módulo de análise foi projetado para permitir a formação do composto zircônio/alizarina em linha. Assim, o primeiro reator helicoidal (B_1) deveria conter um volume suficiente do complexo Zr/VAS para permitir a reação com fluoreto, e o tempo de residência do composto no interior do reator (B_1) não deveria exceder 40 s. Então, foi estabelecido um reator com 25 cm de comprimento. Considerando-se que o diâmetro interno do tubo de polietileno era de 0,8 mm, então o volume do reator era de 125 μL . Tendo em vista que cada mini-bomba liberava 8 μL de solução por pulso, então foi programado a aplicação seqüencial de 8 pulsos elétricos nas mini-bombas P_1 e P_2 , necessários para encher o reator com mistura das duas soluções.

Considerando ainda, que a cada novo ciclo de amostragem era renovada a adição dos reagentes no início do reator (B_1), o volume de complexo Zr/VAS se mantém

constante durante o decorrer das análises, e também, o tempo de permanência no interior do reator.

3.14.2 Comprimento do reator helicoidal B₂

O comprimento do reator pode afetar a magnitude do sinal analítico, então para verificar este efeito, alguns experimentos foram realizados e os resultados são mostrados na Figura 3.9, onde se observa que para comprimentos superiores a 50 cm, o acréscimo do sinal não foi significativo, portanto o reator de 50 cm foi selecionado.

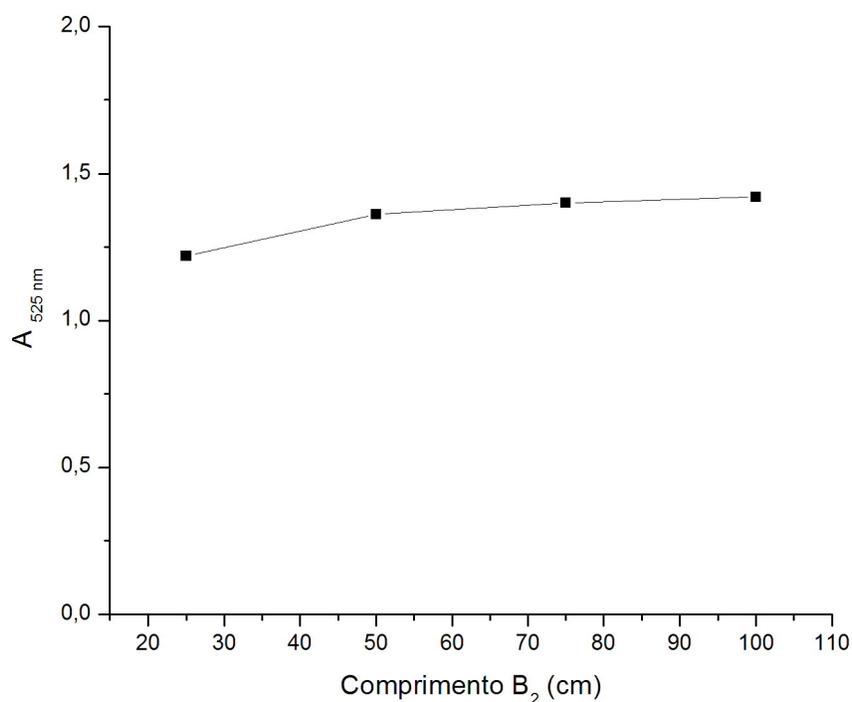


Figura 3.9 – Estudo do comprimento do reator helicoidal B₂. Reação entre complexo Zr/VAS com solução padrão 1 mg L⁻¹ de fluoreto. A_{525 nm} = absorvância ($\lambda = 525$ nm).

Neste estudo, foram aplicados 25 ciclos de amostragem nas mini-bombas P₁, P₂ e P₃. O volume da zona da amostra era de 1200 µL, portanto o efeito da dispersão era compensado, e o aumento não significativos do sinal indicava que o reator de 50 cm, era suficiente para o desenvolvimento da reação.

3.14.3 Efeito do volume da zona de amostra

O volume da zona pode afetar a magnitude do sinal analítico, então para verificar este efeito, experimentos foram realizados variando o número de ciclos de amostragem. O padrão de acionamento das mini-bombas foi o mesmo empregado no item precedente. Observa-se na Figura 3.10, que não houve aumento significativo dos valores de absorbância para volumes superiores ao de 25 ciclos de amostragem (1200µL), sendo este valor selecionado para os demais experimentos realizados.

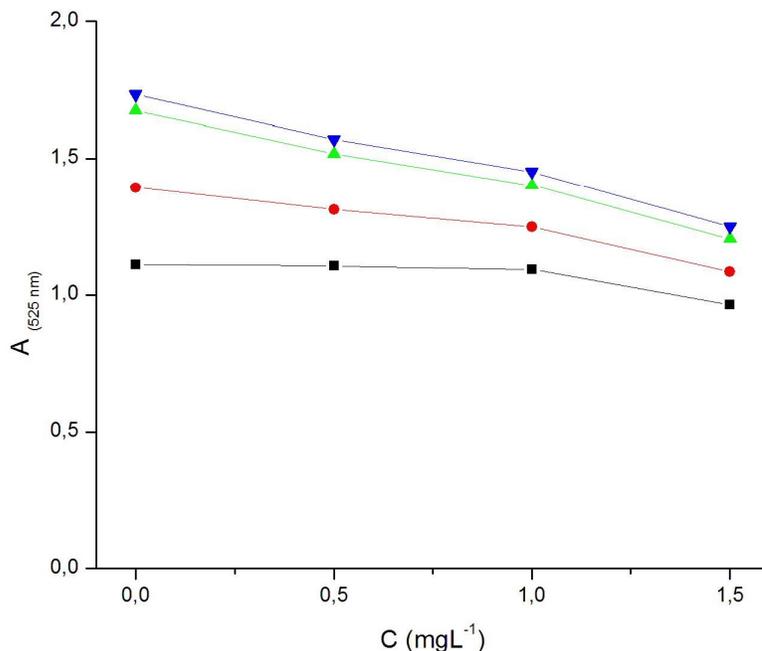


Figura 3.10 – Estudo do comprimento da zona de amostra representada pelo número de ciclos; Onde: —■— 15; —●— 20; —▲— 25 e —▼— 30 ciclos.

$A_{525\text{ nm}}$ = absorvância ($\lambda = 525\text{ nm}$).

3.14.4 Efeito das proporções entre amostras e os reagentes

Os resultados mostrados nos item precedentes foram obtidos se mantendo em cada ciclo de amostragem um pulso em cada mini-bomba P_1 , P_2 e P_3 . O efeito da razão entre os volumes das alíquotas do reagente Zr/Vermelho de Alizarina S e da amostra foi avaliado mantendo um pulso nas P_1 e P_2 ($16\ \mu\text{L}$) e variando o número de pulsos aplicados à mini-bomba P_3 . As curvas da Figura 3.11 mostram que o exceto de volume a $16\ \mu\text{L}$, as outras 3 curvas são quase paralelas, indicando praticamente a mesma sensibilidade. Observa-se que nestas curvas houve uma diminuição do valor da

leitura do branco, causado pelo aumento do volume da alíquota da amostra, o seria equivalente à uma diluição do reagente. Entretanto, não houve diminuição da sensibilidade, o que seria observado pela diminuição do declive da curva correspondente. Portanto, nestas condições havia reagente suficiente para atender a estequiometria da reação.

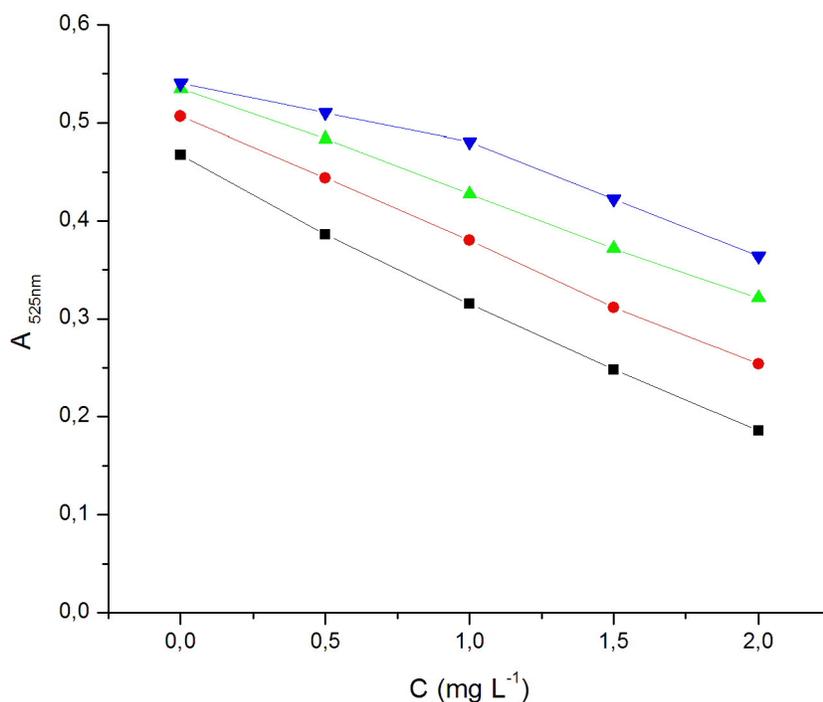


Figura 3.11 – Efeito do volume de amostra sobre o volume fixado do complexo Zr/Vermelho de Alizarina S ($8 \mu\text{L}^{-1}$). Onde: \blacksquare – $40 \mu\text{L}^{-1}$; \bullet – $32 \mu\text{L}^{-1}$; \blacktriangle – $24 \mu\text{L}^{-1}$; \blacktriangledown – $16 \mu\text{L}^{-1}$. $A_{525 \text{ nm}}$ = absorvância ($\lambda = 525 \text{ nm}$).

3.14.5 Faixa linear da reação

Empregando os parâmetros definidos a partir dos resultados discutidos nos itens precedentes, foi processado um conjunto de soluções de referência, os resultados

são mostrados na Figura 3.12. Observa-se uma resposta linear ($r = -0,997$) na faixa de 0,25 a 1,75 mg L^{-1} .

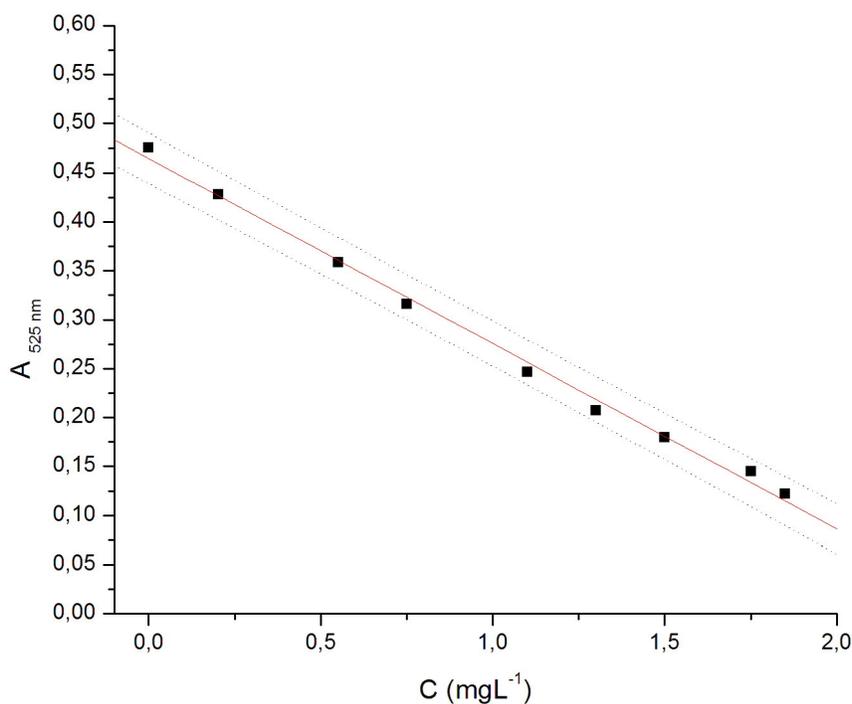


Figura 3.12 – Curva analítica dos padrões preparados de fluoreto. As linhas tracejadas, superior e inferior, representam o nível de confiança a 95%. A linha vermelha representa a regressão linear ($r = -0,997$). A = absorbância ($\lambda = 525$ nm).

3.14.6 Efeito da adição e recuperação de fluoreto em amostras de água

Visando verificar se havia efeito de matriz, foi empregado o método de adição e recuperação. Os resultados da Tabela 3.1 mostram que a recuperação se situou na faixa de 98,5 a 102,9%, portanto indicando que não há efeito de matriz.

Tabela 3.1 – Valores do estudo de efeito de matriz do íon fluoreto.

Amostra	Valores de Fluoreto (mg L ⁻¹)		Recuperação %
	adicionado	encontrado	
A	0,00	0,75	
	0,25	0,99	99,9
	0,50	1,26	100,8
	1,00	1,75	100,0
B	0,00	0,65	
	0,25	0,89	98,5
	0,50	1,14	98,5
	1,00	1,66	101,5
C	0,00	0,69	
	0,25	0,96	102,9
	0,50	1,18	98,6
	1,00	1,67	97,1
D	0,00	0,82	
	0,25	1,08	101,2
	0,50	1,31	98,8
	1,00	1,80	97,6

3.14.7 Efeito das espécies potencialmente interferentes

Segundo a literatura, Fe(III), Al(III) e PO_4^{3-} são os interferentes potencias, então para verificar o efeito destes íons alguns experimentos foram realizados e com os dados obtidos foram traçadas as curvas da Figura 3.13, Figura 3.14 e Figura 3.15, mostradas a seguir.

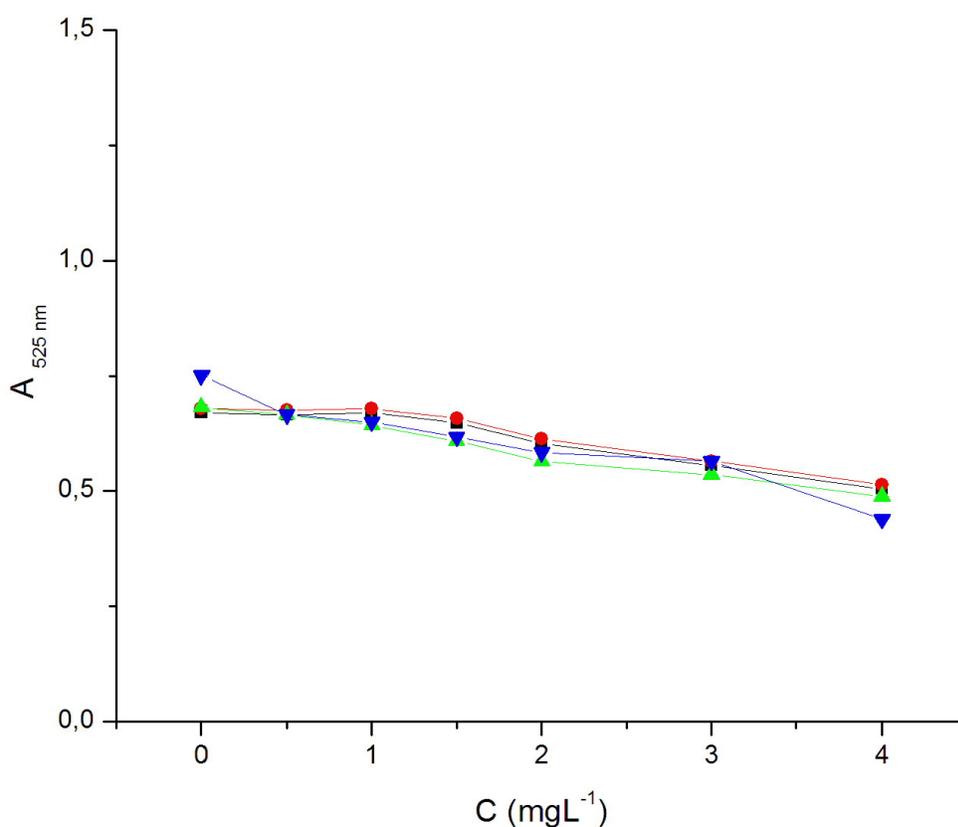


Figura 3.13 – Efeito da adição de ferro nas soluções de referência de fluoreto. Concentrações de cloreto de ferro III, onde: —■— 0,0 mg L⁻¹; —●— 0,1 mg L⁻¹; —▲— 10,0 mg L⁻¹; —▼— 50,0 mg L⁻¹. $A_{525 \text{ nm}}$ = absorvância ($\lambda = 525 \text{ nm}$).

Observa-se na Figura 3.13 que até 50 mg L^{-1} de Fe(III) não houve interferência significativa. Tendo em vista que essa concentração de ferro é 160 vezes maior do que o limite máximo estabelecido pela portaria 518/2004 do Ministério da Saúde, não foi realizados experimento com concentração maior.

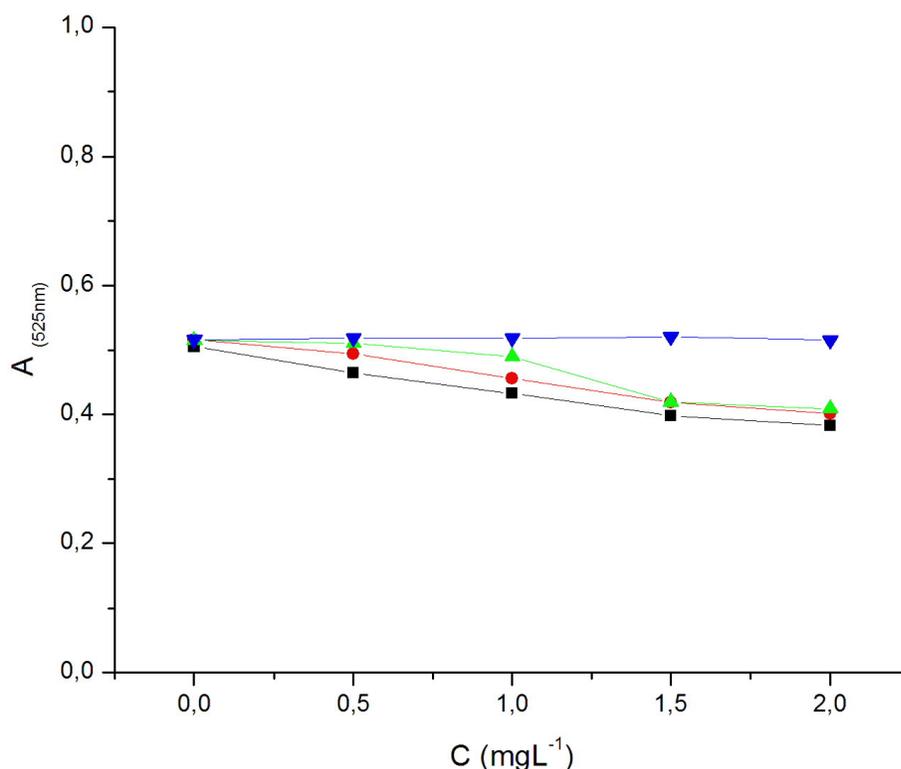


Figura 3.14 – Efeito da adição de alumínio nas soluções de referência de fluoreto. Concentrações de cloreto de alumínio, onde: —■— $0,0 \text{ mg L}^{-1}$; —●— $0,2 \text{ mg L}^{-1}$; —▲— $0,5 \text{ mg L}^{-1}$; —▼— $0,5 \text{ mg L}^{-1}$. $A_{525 \text{ nm}}$ = absorvância ($\lambda = 525 \text{ nm}$).

O conjunto de curvas mostradas na Figura 3.14 indica que a partir de $0,5 \text{ mg L}^{-1}$ de alumínio ocorre interferência. Entretanto, pra concentrações de fluoreto a partir de $1,5 \text{ mg L}^{-1}$ aparentemente o efeito de interferência foi minimizado. Observa-se que para $5,0 \text{ mg L}^{-1}$ de alumínio, praticamente o sinal referente às soluções de fluoreto foi suprimido. A concentração máxima de alumínio permitida em águas potáveis é

0,2 mg L⁻¹ portaria 518/2004 do Ministério da Saúde, então os dados desta figura mostram que procedimento proposto pode ser utilizado para determinar fluoreto em águas potáveis.

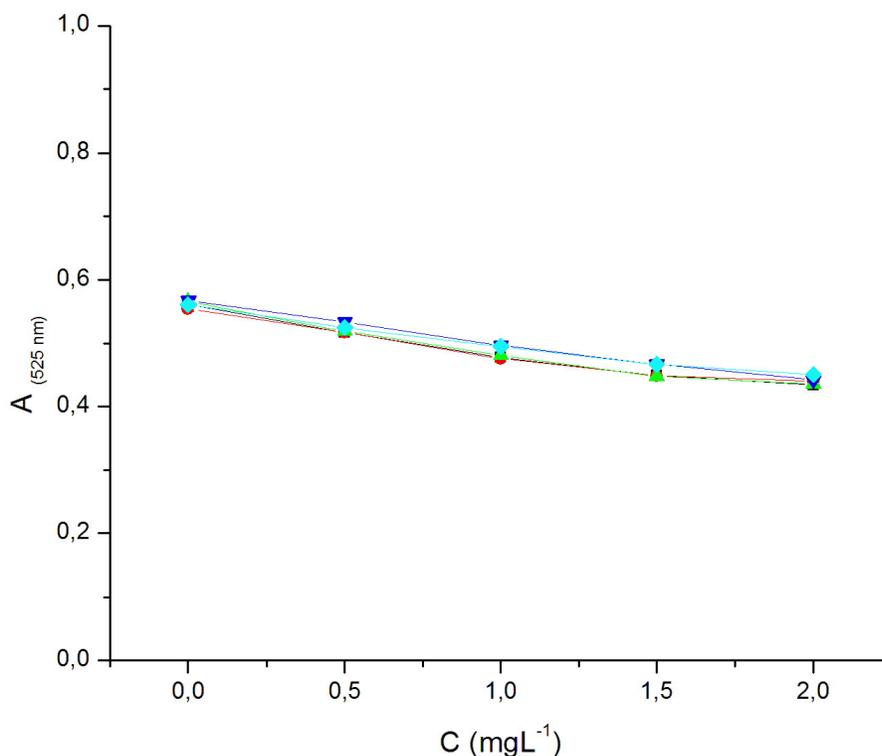


Figura 3.15 – Efeito da adição de fosfato nas soluções de referência de fluoreto. Concentrações de fosfato de sódio monobásico, onde: —■— 0,0 mg L⁻¹; —●— 0,2 mg L⁻¹; —▲— 0,5 mg L⁻¹; —▼— 1,0 mg L⁻¹ e —◆— 10,0 mg L⁻¹. A_{525 nm} = absorvância ($\lambda = 525$ nm).

As curvas da Figura 3.15 indicam que na faixa estudada, o fosfato não apresentou interferência significativa. Convém lembrar que a ANVISA (BRASIL, 2004) não faz referência ao fosfato em águas potáveis, entretanto o CONAMA (BRASIL, 2005) estabelece 0,020 mg L⁻¹ para ambiente lento e 0,1 mg L⁻¹ para ambientes intermediários e lóticos. Tendo em vista as recomendações do CONAMA neste estudo

foi avaliado concentração 100 vezes maior do que o limite máximo estabelecido para fosfato em águas de superfície. Não foi realizado experimento com concentração maior.

3.15 Aplicação analítica do método desenvolvido

Visando demonstrar a viabilidade do sistema do procedimento proposto, um lote de amostras de águas coletadas em vários pontos da cidade de Piracicaba foi processado e os resultados são mostrados na Tabela 3.2 Visando comprovar a exatidão dos resultados, as amostras também foram processadas empregando cromatografia de troca iônica. Aplicando-se o teste-t pareado observou-se que não há diferença significativa em nível de confiança de 95 %.

Tabela 3.2 – Análise comparativa do sistema proposto com cromatografia de troca iônica.

Amostra	Método Proposto	Cromatografia troca iônica	Limites (mg L ⁻¹)*	Razão
A	0,804	0,769	0,7 a 1,5	0,957
B	1,336	1,366	0,7 a 1,5	1,022
C	0,619	0,634	0,7 a 1,5	1,026
D	0,718	0,684	0,7 a 1,5	0,954
E	1,289	1,310	0,7 a 1,5	1,016
F	1,332	1,273	0,7 a 1,5	0,955

* Limites inferior e superior estabelecido pela Organização Mundial da Saúde (OMS).

Na Figura 3.16 são apresentados os registros dos sinais referentes às soluções padrões e algumas amostras. Observa-se nesta figura que há boa repetibilidade entre os registros da mesma solução de referência, os perfis dos registros são semelhantes, portanto indicando que o módulo de análise, o fotômetro, bem como

software de controle e aquisição de dados não apresentaram falha durante o período de operação e apresentaram ótimo desempenho.

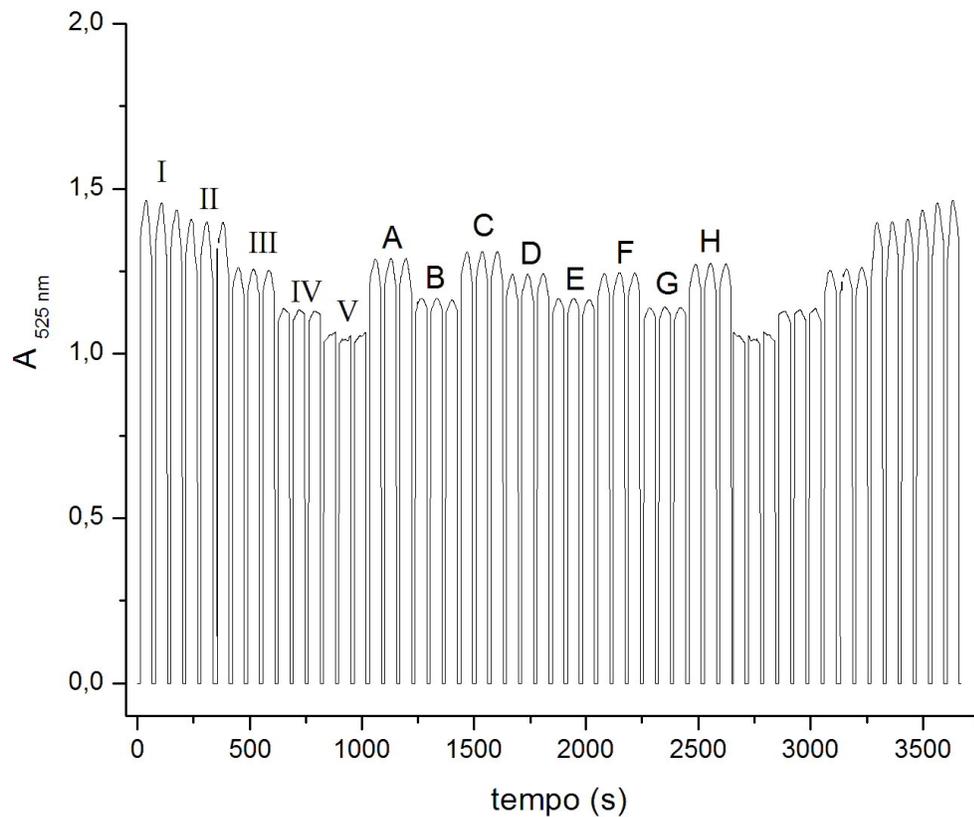


Figura 3.16 – Sinais transientes das soluções padrão de fluoreto e das amostras estudadas. Da esquerda para direita: soluções padrão de fluoreto, em triplicata. Onde: I, II, III, IV e V, correspondem às concentrações de 0,00; 0,25; 0,75; 1,25 e 1,75 mg L^{-1} ; oito amostras de água de abastecimento (A, B, C, D, E, F, G e H), em triplicata, e, novamente, as soluções padrão de fluoreto, em concentrações decrescentes. $A_{525 \text{ nm}}$ = absorvância ($\lambda = 525 \text{ nm}$).

Analisando esta figura observa-se que 54 determinações foram realizadas em um intervalo de tempo de 3500 s, portanto o sistema proposto tem capacidade para fazer 64 determinações por hora.

3.16 Figuras de mérito

Para avaliar o desempenho global do procedimento (Prichard; Barwich, 2007) desenvolvido foram avaliados alguns parâmetros considerados importantes: exatidão, precisão, faixa de resposta linear, limite de detecção, limite de quantificação, desvio padrão do branco (SD), sensibilidade, recuperação e repetibilidade, os quais são mostrados na Tabela 3.3. A precisão e exatidão foram avaliadas aplicando o test-t student. Os limites de detecção (LD) e quantificação (LQ) foram avaliados utilizando as equações apresentadas, a seguir:

- Para a equação da reta

$$y = ax + b \quad (\text{Equação 01})$$

Onde:

- “a” coeficiente angular;
- “b” ponto de interseção;

Os valores de LD e LQ foram calculados conforme apresentado nas equações 02 e 03.

$$LD = \frac{3 \cdot SD}{a} \quad (\text{Equação 02})$$

$$LQ = \frac{10 \cdot SD}{a} \quad (\text{Equação 03})$$

Tabela 3.3 - Figuras de mérito para o método proposto para a determinação de fluoreto em águas.

Parâmetro ¹⁷	Procedimento Proposto	Referência ¹⁸	Referência ¹⁹
Massa de $ZrOCl_2 \cdot 8H_2O$	0,0354 mg	**	**
Massa de vermelho de alizarina S	3,14 µg	**	**
Volume de amostra	40 µL	125 µL	60 µL
Volume de efluente gerado	0,4 mL	0,7 mL	0,6 mL
Faixa resposta linear	0,25 a 1,75 mg L ⁻¹	0,03 a 10 mg L ⁻¹	0,03 a 1,25 mg L ⁻¹
Frequência analítica	45 h ⁻¹	100 h ⁻¹	24 h ⁻¹
Coefficiente de correlação (r)	-0,99766	**	**
Coefficiente angular (a)	-0,18921	**	**
Ponto de interseção (b)	0,46475	**	**
LD	0,06 mg L ⁻¹	**	**

** valores não encontrados ou não disponibilizados na referência pesquisada.

Em comparação com os procedimentos tomados como referência (CARDWELL; CATTRALL; MITRI, 1988; WADA, MORI e NAKAGAWA, 1985), observa-se que o procedimento proposto apresenta vantagens significativas, como frequência de amostragem mais alta e limite superior de resposta linear ao trabalho publicado por menor consumo de reagentes que Cardwell; Catrall; Mitri, (1988); sem a necessidade de preparo prévio da amostra como descrito por Zaporozhets; Tsyukalo (2007). Também, observa-se que a faixa de resposta linear, embora mais estreita, atende aos limites estabelecidos pela ANVISA para água potável.

¹⁷ Resultados calculados por determinação

¹⁸ Resultados estimados por determinação conforme Cardwell; Catrall; Mitri, 1988.

¹⁹ Resultados estimados por determinação conforme Wada; Mori; Nakagawa, 1985.

3.17 Conclusões

O uso do processo de multicomutação em fluxo permitiu a determinação de fluoreto em água potável empregando o método zircônio/vermelho de alizarina S. O método atende às determinações estabelecidas pela porta 518/2004 do Ministério da Saúde. As amostras de água analisadas estão em conformidade com os teores de fluoreto estabelecido por Lei. O método desenvolvido é simples, robusto, compacto, fácil de ser executado, apresenta ótima sensibilidade analítica ($LD = 0,06 \text{ mg L}^{-1}$), não requer etapas de pré-tratamento da amostra.

O consumo de reagentes e, conseqüentemente, o volume de efluentes gerado pelo método proposto é menor que os métodos tomados como referência (CARDWELL; CATTRALL; MITRI, 1988; WADA, MORI e NAKAGAWA, 1985). A determinação fluoreto em água potável permitiu demonstrar a aplicabilidade do procedimento, robustez do fotômetro e do módulo de análise. Neste sentido podemos concluir que o sistema proposto é uma alternativa viável para a determinação e monitoramento em empresas de saneamento.

A automação do método através do processo de multicomutação possibilitou maior versatilidade na inserção dos reagentes e amostras, minimizando o consumo dos mesmos e, por conseqüência, minimizou a geração de resíduos. Além disto, o procedimento desenvolvido minimiza o risco de contaminação por se tratar de um sistema fechado.

4º CAPÍTULO

MICROCONTROLADORES

4º CAPÍTULO – MICROCONTROLADORES

4.1 Introdução

A evolução da eletrônica digital que atualmente é incorporada aos equipamentos utilizados em química analítica, tem como bom exemplo, o progresso das máquinas fotográficas. Na década de 60 eram totalmente mecânicas. Ao fotógrafo cabia selecionar o tipo de filme, a velocidade do obturador, o foco, etc. Já na década de 70, com a evolução dos circuitos integrados (CIs), permitiu facilidades como: motor para rodar o filme; medidor de quantidade de luz que controlava automaticamente a abertura do diafragma; contador eletrônico de fotos batidas; medidor de distância para ajuste do foco; entre outras (ZELENOVSKY; MENDONÇA, 1999). Hoje, apertamos somente um botão e todo o resto é feito automaticamente.

Mas esta simplicidade apresentada só é possível devido à evolução da microeletrônica. Ou seja, cada máquina fotográfica moderna possui um circuito integrado microprocessado ou microcontrolador, que já contém toda a estrutura necessária para o funcionamento de um computador, ou seja, um microprocessador ou Unidade Central de Processamento (CPU – do nome em inglês, Central Processing Unit), memórias RAM e ROM (ambas do nome em inglês, Read-Only Memory; e Random-Access Memory, respectivamente), osciladores com frequência de até 48 MHz, e uma série de outros periféricos de entrada e saída, como comparadores, conversores analógicos/digital, temporizadores, etc (ZELENOVSKY; MENDONÇA, 1999; SICKLE, 2001).

A evolução da microeletrônica e a redução dos custos de fabricação dos microcontroladores permitiram sua rápida expansão em 30 anos, e viabilizou seu o emprego nos mais diversos tipos de equipamentos. Em uma estimativa feita por Zanco (2005), atualmente uma pessoa que vive em grandes centros urbanos, depara-se diariamente com pelo menos 100 microcontroladores, os quais estão incorporados em soluções de problemas nas mais diversas áreas: automobilística, predial, industrial, agrícola, biomédica, robótica, etc.

Hoje, a tecnologia do silício permite o desenvolvimento de sistemas eletrônicos de alta complexidade na escala nanométrica, o que permite a miniaturização dos equipamentos utilizados para medir diversos parâmetros empregando instrumentação analítica utilizando um único chip. Segundo, Rocha (2009) a integração de novas tecnologias, somada a facilidade de fabricação e montagem de sistemas eletrônicos em circuitos impressos (PCB) e componentes de montagem em superfície (SMD), tem permitido se obter circuitos eletrônicos complexos baseados em componentes discretos. A Figura 4.1 ilustra um microcontrolador de montagem em superfície soldado em uma placa de circuito impresso.

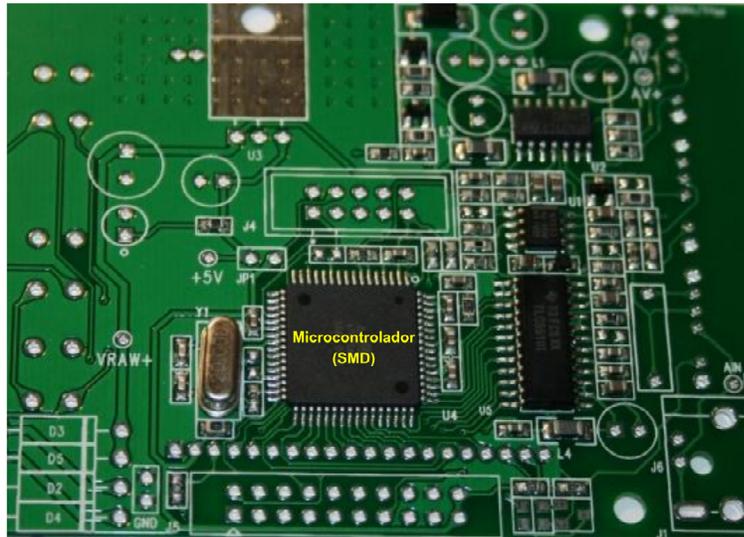


Figura 4.1 – Microcontrolador de montagem em superfície (SMD) soldados sobre uma placa de circuito impresso (PCB).

4.2 Microcontroladores versus Microprocessadores

Um microcontrolador difere de um microprocessador em vários aspectos. O mais importante, pode ser considerado sua funcionalidade. Para que um microprocessador possa ser usado, outros componentes externos devem ser adicionados à sua estrutura, tais como: memórias, *clock*, portas de entrada e saída de dados, etc. Em resumo, isso significa que o microprocessador é o verdadeiro cérebro do computador. Por outro lado, o microcontrolador foi projetado para ter todos os componentes necessários para seu funcionamento em uma única estrutura, ou seja, em um único chip. De modo geral, não é necessário adicionar componentes externos para seu funcionamento ou aplicações, uma vez que todos os periféricos necessários já estão embutidos nele.

4.2.1 Principais Características dos microcontroladores

Os microcontroladores, também conhecidos como Computador em um Único Chip (MCU – do nome em inglês: MicroController Units), vêm se tornando uma poderosa ferramenta para os dispositivos de automação e controle (ZANCO, 2005; ZELENOVSKY; MENDONÇA, 1999). Isto porque, nas versões mais recentes, os microcontroladores apresentam uma grande variabilidade de dispositivos embutidos, tais como: módulos de Timer e PWM; conversores analógico digital (A/D) e digital analógico (D/A); osciladores interno; memórias EEPROM, Flash, ROM, RAM; portas bidirecionais (Input/Output - I/O) para leitura e controle; processamento em 8, 16 e 32 bits; interfaces TTL, serial (RS-232), I²C, USB 2.0, CAN, etc.

Os microcontroladores da série PIC18F pertencem a uma classe de microcontroladores de 8 bits. Sua estrutura genérica é apresentada na Tabela 4.1, que nos mostra os seus blocos básicos. O PIC18F2553 possui um total de 28 pinos. Sendo mais freqüentemente encontrado no modelo DIP28 (do inglês, Dual In Package, com 28 pinos), podendo também ser encontrado em modelo SMD (do inglês, Surface Mount Devices), que possui menores dimensões que a DIP.

Tabela 4.1 – Estrutura genérica de um microcontrolador.

Componente	Descrição
Memória de programa (FLASH)	Utilizada para armazenar o programa. Como a memória fabricada com tecnologia FLASH se pode programar e apagar mais que 10.000.000 vezes, tornando-se adequada para o desenvolvimento de dispositivos.
EEPROM	Memória dos dados que necessitam de alimentação de 7V para ser apagada. Normalmente é utilizada para guardar dados importantes que não se podem ser perdidos quando microcontrolador for desligado ou reiniciado. Um exemplo deste tipo de dados é a temperatura máxima ou mínima de uma leitura em campo. Onde, se durante uma quebra de alimentação, se perdessem estes dados, nós precisaríamos repetir um novo experimento quando a alimentação fosse restabelecida. Assim, o nosso dispositivo, perderia eficácia.
RAM	Memória de dados usada durante a sua execução de um programa. Na RAM, são guardados todos os resultados intermédios ou dados temporários durante a execução do programa e que não são cruciais para o dispositivo, depois de ocorrer uma falha na alimentação.
PORT A e PORT B	são ligações físicas entre o microcontrolador e o mundo exterior. O porto A tem cinco pinos e o porto B oito pinos.
CONTADOR/TEMPORIZADOR	É um registro de 8 bits no interior do microcontrolador que trabalha independentemente do programa. No fim de cada conjunto de quatro ciclos de máquina (oscilador), ele incrementa o valor armazenado, até atingir o valor máximo (255), recomeçando a contagem a partir de zero. Como nós sabemos o tempo exato entre dois incrementos sucessivos do conteúdo do temporizador, podemos utilizar este para medir intervalos de tempo, o que o torna muito útil em vários dispositivos.
UNIDADE DE PROCESSAMENTO CENTRAL (CPU)	Faz a conexão com todos os outros blocos do microcontrolador. Ele coordena o trabalho dos outros blocos e executa o programa escrito internamente.

4.2.1.1 Conversor Analógico Digital (A/D)

As duas características importantes dos Conversores Analógico Digital (A/D) são o tempo de conversão, e a resolução. O tempo de conversão condiciona a taxa de conversão, isto é, quantas vezes o sinal analógico é convertido para digital por unidade de tempo (MARTINS, 1996). Em um A/D com resolução de 8 bits, significa que o mesmo poderá discriminar 256 (2^8) intervalos distintos de diferença de potencial. Neste caso, considerando uma faixa de trabalho (fundo de escala) de 5 volts, as variações seriam múltiplas de 19,5 mV, que é conhecido por resolução. Então, uma variação de sinal menor que 19,5 mV não seria detectada. Os A/Ds de 8 bits tem sido usado em instrumentação industrial, mas em instrumentação analítica é recomendado os A/Ds de 12 bits, tendo em vista que nesse caso a resolução é de 1 mV.

O uso de um A/D internamente incorporado a um microcontrolador possibilita uma série de vantagens, tais como: taxa de transferência de dados paralela; menor interferência externa; menor tempo de desenvolvimento de circuitos e firmwares; maior eficiência no número de instruções; e, redução nos custos de desenvolvimento.

4.3 OBJETIVOS

Neste trabalho, o A/D interno de um microcontrolador da série PIC 18F2553 foi utilizado para a aquisição de dados do sistema proposto para determinação de arsênio em águas. Neste sistema, foi utilizado um dos canais A/D de 12 bits para fazer a aquisição de dados, convertendo para digital a diferença de potencial gerada pelo fotômetro (Figura 3.4).

4.4 Equipamentos e acessórios

Para o desenvolvimento da instrumentação e procedimentos automáticos para a determinação das espécies químicas de interesse desse trabalho, empregando multicomutação em fluxo e detecção fotométrica, utilizou-se os seguintes materiais e acessórios, descritos a seguir:

- Espectrofotômetro de varredura multicanal (Ocean Optics[®], USB2000, Estados Unidos), com 2048 canais linhas, para medição da banda de radiação dos LEDs de auto-brilho para as determinações fotométricas;
- Tubos de polietileno (PE) de diâmetro interno (d. i.) 0,8 mm foram utilizados para a confecção das linhas de fluxo;
- Uma fonte simétrica estabilizada (+12 e -12 Volts) foi utilizada para alimentação do fotômetro;
- Drive de potência utilizando o circuito integrado ULN2803A;
- Uma interface de programação para microcontroladores (Microchip[®], modelo PicKit-02), através da porta USB 2.0 de um computador.
- Software MPLabV8.43²⁰.
- Fotodetector, CI OPT301, (Burr-Brown[®] Instruments, modelo hermético TO-99), com resposta espectral na faixa de 300 a 950 nm;
- Microcontrolador (Microchip[®], modelo PIC 18F2553) com A/D interno de resolução de 12 bits;

²⁰ Software disponibilizado pela Microchip[®] para desenvolvimento de circuitos para microcontroladores. Disponível via acesso em 10 de abril 2007: http://www.microchip.com/stellent/idcplg?IdcService=SS_GET_PAGE&nodeId=1406&dDocName=en019469

4.5 Interfaces microcontroladas para aplicação analítica

4.5.1 Módulo de aquisição de dados e interface USB

O módulo de aquisição de dados e interface USB desenvolvidos neste trabalho, consiste em uma unidade portátil que retira sua alimentação da interface USB, dispensando o uso de fontes de alimentação externas, e que permitiria seu uso em campo junto com um notebook. O uso de fonte externa de alimentação somente é necessário para alimentação do fotômetro e o controle de válvulas solenóides, conforme já descrito nos itens 3.8 e 3.9, respectivamente.

As principais características que esse módulo apresenta são: 02 canais analógicos de entrada com conversores A/D de 12 bits de resolução e capacidade de operar com taxa de amostragem de até 100 000 amostragens por segundo. Possui 8 canais de entradas e 8 canais de saídas digitais, a nível TTL, além de 1 canal de saída analógico. A Figura 4.2 apresenta o diagrama da interface empregada para esta finalidade.

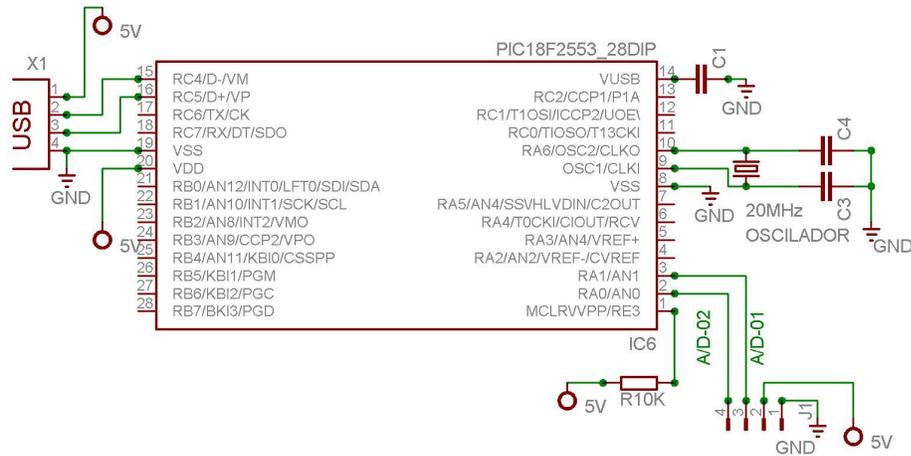


Figura 4.2 – Ilustração do módulo de aquisição de dados utilizando A/D interno de 12 bits do microcontrolador PIC 18F2553. Onde A/D-01 e A/D-02 correspondem aos canais de entrada analógica e USB saída dos dados digitalizados.

4.5.2 Dispositivos de controle modulado

Dispositivos de controle do tipo liga/desliga têm prevalecido por muitos anos, entretanto, flutuações nas variáveis de controle são inerentes a esse tipo de sistema de controle. Novas tecnologias têm surgido como alternativa para estes sistemas, tais como sistemas de controle modulado. Os sistemas de controle modulado, quando associado aos sistemas digitais de controle, têm apresentado características superiores, como no caso dos dispositivos de controle envolvendo por Modulação por Largura de Pulso (WILMSHURST, 2007).

O princípio físico de Modulação por Largura de Pulso (PWM do nome em inglês Pulse Width Modulation), que tem como objetivo principal controlar o valor da frequência de alimentação entregue à carga, otimizando a diferença de potencial elétrico (DDP). Ou seja, o fundamento básico do PWM é controlar o valor da

transferência de potência entregue a uma carga sem as perdas ocorridas normalmente devido à queda de tensão por recursos resistivos (ZANCO, 2005).

Em um sistema controlado por PWM, a chave de potência usada para controlar o fluxo de corrente: ora não conduzindo corrente, ora conduzindo, mas provocando uma queda de tensão muito baixa; como a potência instantânea dissipada pela chave é o produto da corrente pela tensão elétrica a um dado instante, isso significa que nenhuma potência é dissipada se a chave fosse uma chave "ideal". Uma representação esquemática do princípio de PWM é apresentada na Figura 4.3.

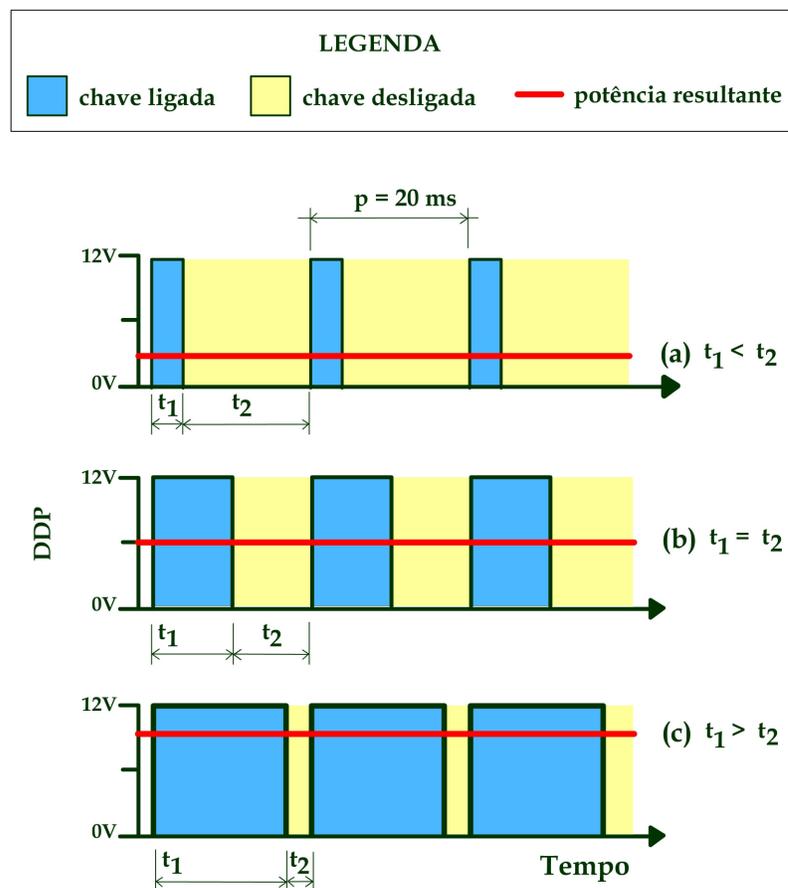


Figura 4.3 – Representação esquemática do princípio de PWM. t_1 = tempo ligado; t_2 = tempo desligado; p = período ($t_1 + t_2$). ■ chave ligada ou fechada; □ chave desligada ou aberta; a) potência resultante entregue à carga para $t_1 < t_2$; b) potência resultante entregue à carga para $t_1 = t_2$; c) potência resultante entregue à carga para $t_1 > t_2$.

Neste trabalho, o princípio de PWM foi utilizado para o controle digital da intensidade de luminosidade do LED, utilizado como fonte de radiação para o fotômetro desenvolvido. O módulo de controle de luminosidade do LED é apresentado na Figura 4.4.

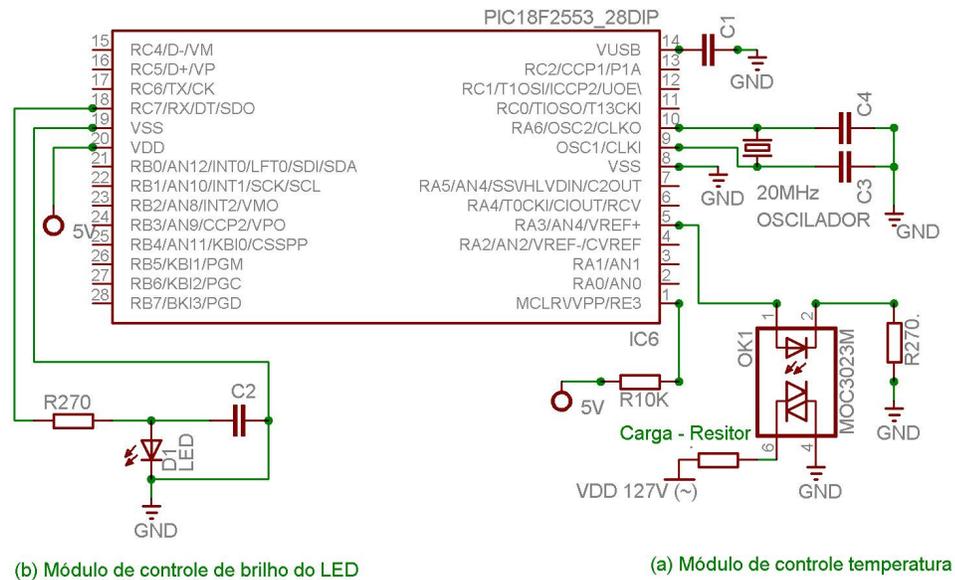


Figura 4.4 – Ilustração dos módulos de controle por PWM do módulo de análise. Onde (a) Módulo de controle de temperatura; (b) Módulo de controle do brilho do LED.

O objetivo do uso da ferramenta de PWM aplicada ao controle do brilho do LED no fotômetro foi garantir um melhor gerenciamento do equipamento desenvolvido neste trabalho, possibilitando o controle digital de luminosidade do LED, resultando em um equipamento com controle automático.

5º CAPÍTULO

DETERMINAÇÃO DE ARSÊNIO EM ÁGUAS EMPREGANDO MULTICOMUTAÇÃO EM FLUXO

5º CAPÍTULO – DETERMINAÇÃO DE ARSÊNIO EM ÁGUAS EMPREGANDO MULTICOMUTAÇÃO EM FLUXO

5.1 Introdução

O Arsênio está presente no meio ambiente em uma grande variedade de formas químicas, tanto em compostos inorgânicos e quanto em estruturas orgânicas; nas formas trivalente e pentavalente, como resultado de sua participação em complexos biológicos, processos químicos e algumas aplicações industriais, tais como: manufatura de vidros (ELLWOOD; MAHER, 2003), materiais semicondutores e fotocondutores (DASGUPTA et al., 2003), preparados farmacêuticos e remédios (FOWLER et al., 2007; BOLZAN, 2007), entre outros. Na agricultura, o arsênio é utilizado na formulação de herbicidas (BARRA et al., 2000), algicida, inseticida (NETO; MONTES; CARDOSO, 1999), conservante de madeira (JANKOWSKY, 1990) e desfolhantes (CAMPOS et al., 2007).

Alimentos provenientes da flora e fauna marinha contêm compostos de arsênio, pois nas vias metabólicas desses organismos, o nitrogênio e o fósforo podem ser facilmente trocados por ele (SANTOS, 2006). Altos níveis de toxicidade de arsênio são muito bem conhecidos, pois compostos de arsênio são facilmente absorvidos, tanto oral quanto por inalação, sendo a absorção dependente da solubilidade do composto (ELLWOOD; MAHER, 2003).

Barra et al., (2000) e Santos (2006) apresentam algumas espécies de arsênio de interesse em estudos de especiação, com seus respectivos valores de pK_a , que proporcionam uma idéia das formas possíveis em função do pH. Estas formas e respectivos valores são apresentados na Tabela 5.1.

Tabela 5.1 – Estruturas químicas de espécies orgânicas de arsênio e correspondentes valores de pK_a

Composto	Fórmula	pK_a
Arsina	$\begin{array}{c} \text{H} - \text{As} - \text{H} \\ \\ \text{H} \end{array}$	-
Ácido arsenioso As (III)	$\text{O} = \text{As} - \text{OH}$	9,3
Ácido arsênico As (V)	$\begin{array}{c} \text{OH} \\ \\ \text{O} = \text{As} - \text{OH} \\ \\ \text{OH} \end{array}$	2,3
		6,9
Ácido monometilarsônico MMAA (V)	$\begin{array}{c} \text{OH} \\ \\ \text{O} = \text{As} - \text{OH} \\ \\ \text{CH}_3 \end{array}$	11,4
		3,6
Ácido dimetilarsínico DMAA (V)	$\begin{array}{c} \text{CH}_3 \\ \\ \text{O} = \text{As} - \text{OH} \\ \\ \text{CH}_3 \end{array}$	8,2
		1,6
Arsenobetaina (AsB)	$\begin{array}{c} \text{CH}_3 \\ \\ \text{CH}_3 - \text{As}^+ - \text{CH}_2 - \text{C} \begin{array}{l} \nearrow \text{O} \\ \searrow \text{OH} \end{array} \\ \\ \text{CH}_3 \end{array}$	6,2
Arsenocolina (AsC)	$\begin{array}{c} \text{CH}_3 \\ \\ \text{CH}_3 - \text{As}^+ - \text{CH}_2 - \text{CH}_2 - \text{OH} \\ \\ \text{CH}_3 \end{array}$	4,7
		-

FONTE - Barra et al., (2000).

Diferentes espécies de um mesmo elemento possuem diferentes mobilidades, biodisponibilidades, impactos toxicológicos e ecotoxicológicos (CAMPOS et al., 2007). A distribuição de diferentes espécies químicas de um elemento em um

sistema significa que o mesmo está presente em diferentes formas. Outro fator importante é a relação existente entre as diferentes espécies químicas de um determinado elemento e a sua toxicidade, uma vez que esta é fortemente dependente de sua forma química, pois possuem comportamento diferenciado, que pode ser devido aos diferentes estados de oxidação do elemento ou grau de alquilação (SANTOS, 2006).

Segundo Barra et al., (2000), a ordem decrescente de toxicidade dos compostos de arsênio, é a seguinte: arsina > arsenito > arseniato > ácidos alquilarsênicos > compostos de arsênio > arsênio elementar. O arsênio trivalente (arsenito) é 60 vezes mais tóxico do que a forma oxidada pentavalente (arseniato). Os compostos inorgânicos são 100 vezes mais tóxicos do que as formas parcialmente metiladas (MMA e DMA).

As(III) e As(V) são as espécies mais tóxicas, enquanto arsenobetaína (AsB) e arsenocolina (AsC) são relativamente não tóxicas (BARRA et al., 2000). A LD_{50} (dose letal para 50% de uma população) para As_2O_3 em ratos é de 20 mg kg^{-1} (PETROPULU; VARSAMIS; PARISSAKIS, 1997), para $KAsO_2$ é de 14 mg kg^{-1} , para $Ca_3(AsO_4)_2$ é de 20 mg kg^{-1} , para ácido monometilarsênico (MMAA) é de $700\text{-}800 \text{ mg kg}^{-1}$, para ácido dimetilarsínico (DMAA) é de $700\text{-}2600 \text{ mg kg}^{-1}$, enquanto que para arsenobetaína e para arsenocolina não foi observado sinal de toxicidade em camundongos após dose oral de 10 g kg^{-1} e de $6,5 \text{ g kg}^{-1}$ respectivamente (LE; MA, 1997).

A quase totalidade do arsênio absorvido fica localizado inicialmente na fração eritrócita (glóbulos vermelhos) do sangue. O elemento deixa rapidamente a corrente sangüínea e deposita-se nos tecidos, armazenando-se principalmente no fígado, rins e pulmões. É depositado nos cabelos, sendo que esta deposição ocorre cerca de duas semanas após a administração, permanecendo neste local durante anos. É também depositado nos ossos onde fica retido por longos períodos (SANTOS, 2006).

Dentre os efeitos tóxicos decorrentes da exposição das espécies químicas do arsênio, são relatadas doenças tais como: conjuntivite; hiperqueratose, hiperpigmentação, doenças renais e cardiovasculares, distúrbios no sistema nervoso

central, hepático, hematológico e vascular periférico, câncer de pele e gangrena nos membros.

5.2 Determinação de Arsênio

Muitos procedimentos para determinação de arsênio têm sido propostos empregando cromatografia líquida de alta eficiência acoplada espectroscopia de massas induzida por plasma (MARTÍNEZ-BRAVO et al., 2001), espectrofotometria de fluorescência atômica (KARADJOVA et al., 2005), extração em fase sólida (ANTHEMIDIS; MARTAVALTZOGLOU, 2006), espectrometria de absorção atômica (BEHARI; PRAKASH, 2006), potenciometria (PIECH; KUBIAK, 2007), espectrofotometria (DHAR et al., 2004; KANEKO, 2006; CORDERO; CAÑIZARES-MACÍAS, 2009; MORITA; KANEKO, 2006), entre outras.

Os métodos para determinação de arsênio inorgânico, nos estados de oxidação III e V, ou pela soma de ambos, normalmente envolvem a geração de hidreto, como alternativa para remover a interferência da matriz da amostra, onde a reação das espécies inorgânicas de arsênio formam arsina (AsH_3). De modo geral, o arsênio inorgânico total [$\text{As(III)} + \text{As(V)}$], é feita a redução de As(V) a As(III) e determina o arsênio inorgânico como As(III) (BARRA et al., 2000). Segundo Braman (1977), a geração de hidreto pode ser abordada de duas maneiras: pela redução do arsênio em meio ácido por metais ativos como zinco ou magnésio; e pela redução do arsênio com boro-hidreto de sódio (NaBH_4).

Dhar et al., (2004), determinaram arsênio inorgânico em águas subterrâneas por espectrofotometria. Os autores utilizaram um complexo de tartarato de antimônio, na presença de ácido ascórbico e iodato de potássio, onde o As(III) presente em solução era oxidado à As(V) . O complexo formado foi monitorado na região do infravermelho próximo ($\lambda = 835 \text{ nm}$). Segundo os autores, o processo apresentou resposta linear na faixa de 10 a 1000 $\mu\text{g L}^{-1}$ de arsênio, e concluíram que o método

apresentava boa precisão ($97,0 \pm 5,0 \%$, $n = 10$) quando comparado com outros métodos analíticos.

Anthemidis e Martavaltzoglou (2006) desenvolveram um método de determinação de arsênio inorgânico total, empregando extração em fase sólida com geração de hidreto, e determinação por espectrometria de absorção atômica. Neste procedimento, os autores utilizaram como estrutura de extração uma mini-coluna de PTFE quimicamente modificada, que acumulava em sua estrutura, o complexo arsênio/pirolidina ditiocarbamato. Posteriormente, o complexo retido era eluído e reagia com NaBH_4 , gerando arsina que era monitorada a 193 nm. Segundo os autores, a faixa de resposta linear situava entre $0,04\text{--}5,0 \mu\text{g L}^{-1}$ de As(III) e o limite de detecção foi de $0,02 \mu\text{g L}^{-1}$. O método apresentou boa tolerância aos possíveis interferentes catiônicos, sendo 5 g L^{-1} para Na e K, 300 mg L^{-1} para Ca e MG. Não apresentando interferência significativa para possíveis interferentes aniônicos como o Cl^- mesmo em altas concentrações (10 g L^{-1}).

Karadjova et al., (2005), propuseram um método para a determinação de arsênio inorgânico, nos estados de oxidação III e V, e arsênio orgânico, nas formas monometilada e dimetilada, em vinhos brancos e tintos por fluorescência atômica. O método era baseado na atomização da arsina formada pela reação do arsênio presente na amostra com boro-hidreto de sódio. Para auxiliar na reação foi utilizado L-cisteína para pré-redução e complexação das possíveis espécies de arsênio presentes, como arsenito, arsenato, ácido monometilarsônico (MMAA), ácido dimetilarsínico (DMAA).

Ainda sobre o método de Karadjova et al., (2005), na diferenciação entre as espécies de arsênio presentes na amostra, os autores se basearam na geração seletiva de arsina utilizando diferentes meios reacionais, tendo como objetivo de inibir algumas reações, como por exemplo: tampão citrato pH 5,1 para As(III); $0,2 \text{ mol L}^{-1}$ de ácido acético para arsenito e dimetilarsínico (DMAA); 8 mol L^{-1} de HCl para arsênio inorgânico total [As(III) +As(V)]; e monometilarsônico (MMAA) efetuando pela diferença. Segundo estes autores, o procedimento proposto apresentou as seguintes características: limite de detecção de 0,12; 0,27; 0,15; e $0,13 \mu\text{g L}^{-1}$ (de As); desvio relativo nas faixas de 2-6%, 5-9%, 3-7% e 2-5% para As(III), As(V), MMAA e DMAA, respectivamente.

Relataram, também, que o método apresentou desvio padrão relativo de 2,5%, frequência analítica de 52 determinações por hora e frequência de preparo de amostra de 10 amostras por hora.

Kundu et al., (2002a), propuseram a determinação espectrofotométrica ($\lambda = 660$) de arsênio inorgânico empregando um procedimento de descoloração do azul de metileno em meio micelar. Neste procedimento, o NaBH_4 reage com As(III) produzindo AsH_3 . Segundo estes autores este método é livre de interferentes. Na avaliação destes autores, o método é rápido, prático e com boa reprodutibilidade, de baixo custo e ambientalmente amigável. Obtiveram uma faixa de resposta linear de 0,01 a 0,12 mg L^{-1} .

5.2.1 Classificação dos surfactantes segundo seu grupo hidrofílico

A palavra surfactante teve origem da contração da seguinte expressão em inglês: “surface-active agent”. Assim, um surfactante (também chamado tensoativo) é uma substância que abaixa a tensão superficial do meio no qual é dissolvido, ou a tensão interfacial entre outras fases (ar/água, óleo/água ou sólido/líquido). Essa definição operacional identifica estas substâncias como agente de superfície ativa, característica a partir da qual seu nome foi derivado²¹. [apud Bezerra e Ferreira (2006)].

Estruturalmente, os surfactantes são substâncias orgânicas anfipáticas²², ou seja, suas moléculas apresentam uma longa cadeia hidrofóbica e um pequeno grupo

²¹ MYERS, D. Surfaces, interfaces and colloids: Principles and applications. 2th Ed. New York, VCH, 1991, 433 f.

²² Moléculas anfipáticas são moléculas que apresentam a característica de possuírem uma região hidrofílica (solúvel em meio aquoso), e uma região hidrofóbica (insolúvel em água, porém solúvel em lipídios e solventes orgânicos).

carregado ou polar hidrofílico. Neste sentido, pode-se dizer que os surfactantes possuem duas regiões com características distintas: uma polar hidrofílica e outra apolar, hidrofóbica. A região hidrofílica é normalmente constituída, por grupos não-iônicos polares, iônicos. A região apolar normalmente é constituída por cadeias carbônicas, contendo de oito a dezoito átomos de carbono (PRETÉ, 2006). A Figura 5.1 apresenta a fórmula estrutural de um surfactante aniônico.

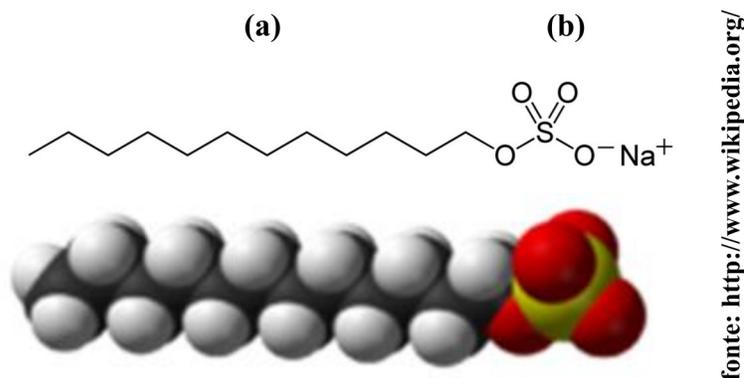


Figura 5.1 – Fórmula estrutural²³ de um surfactante aniônico: (a) cadeia hidrofóbica e (b) cadeia hidrofílica iônica.

Como apresentado anteriormente, devido a sua dualidade de polaridade, essas moléculas se adsorvem nas interfaces ar/água, ou superfície de sólidos. Por isso, elas também podem se auto-associar, formando agregados de diversos tipos, dependendo de seu tamanho e forma. Os surfactantes são classificados de acordo com seu tipo de carga em sua região polar: aniônicos, catiônicos e não-iônicos (MANIASSO 2001; PRETÉ, 2006; BEZERRA; FERREIRA, 2006).

Um surfactante típico possui a estrutura R-X, em que R é uma cadeia que pode variar de 8 a 18 átomos de carbono (geralmente linear) e X é o grupo cabeça

²³ Ilustrações adaptadas de <http://www.wikipedia.org>. Disponível via acesso em 28 de fevereiro 2010. http://pt.wikipedia.org/wiki/Dodecil_sulfato_de_s%C3%B3dio.

polar ou iônico. A classificação dos surfactantes podem se basear na natureza de X. Sendo assim, os surfactantes podem pertencer a uma das quatro categorias seguintes: não iônicos, catiônicos, aniônicos e anfóteros (MANIASSO 2001; SOUZA, 2001). A Tabela 5.2 apresenta a classificação e as características dos surfactantes de uso mais comum em Química Analítica.

Segundo Maniasso (2001), um surfactante catiônico possui a fórmula geral $R_nX^+Y^-$, onde R representa uma ou outra cadeia hidrofóbicas, X é um elemento capaz de formar uma estrutura catiônica, e Y é um elemento contra-íon. Em princípio, X pode ser N, P, As, Sb, Bi, S, Te e os halogênios. Dentre os surfactantes aniônicos, os mais utilizados são: (a) sais de ácidos carboxílicos monopróticos (ácidos graxos) ou polipróticos com metais alcalinos ou alcalinos terrosos; e (b) derivados de ácidos, como sulfúrico, sulfônico e fosfórico contendo um substituinte de hidrocarboneto saturado ou insaturado. Para os surfactantes anfóteros, a principal característica é possuir em sua estrutura ambos os grupos aniônico e catiônico podendo apresentar carga positiva ou negativa a depender do pH do meio. Os surfactantes anfóteros mais comuns incluem o N-alkil e C-alkil betaína e sultaína, como também álcool amino fosfatidil e seus ácidos. Por fim, os surfactantes não iônicos são derivados do polioxietileno e polioxipropileno (de compostos com alkil fenol e álcool, ésteres de ácidos graxos, alkilamíνας, amidas e mercaptanas) ou poliálcoois graxos e óxidos de amidas graxa.

Tabela 5.2 - Classificação e características dos surfactantes de uso comum em Química Analítica.

Classe	Característica	Exemplo
Catiônicos	Grupo hidrofílico suporta uma carga positiva, como, por exemplo, haletos de amônio quaternário.	$\text{CH}_3(\text{CH}_2)_{15}\text{N}^+(\text{CH}_3)\text{Br}$ Brometo de cetiltrimetil amônio; Abreviatura correspondente [CTAB].
Aniônicos	Grupo hidrofílico suporta uma carga negativa, como, por exemplo, grupos carboxila (R-COO^-), sulfonato (R-SO_3^-) ou sulfato (R-O-SO_3^-).	$\text{CH}_3(\text{CH}_2)_{11}\text{SO}_4\text{Na}^+$ Dodecil sulfato de sódio; Abreviatura correspondente [SDS].
Não iônicos	O grupo hidrofílico não tem carga, sua solubilidade se deve a grupos altamente polares como, por exemplo, grupos hidroxila ($-\text{OH}$) ou menos polares como unidades de óxido de etileno.	$\text{CH}_3(\text{CH}_2)_{11}(\text{OCH}_2\text{CH}_2)_{23}\text{OH}$ Polioxietileno (23) dodecanol; Abreviatura correspondente [Brij 35].
Anfóteros	Possuem ambos os grupos aniônicos e catiônicos e, dependendo do pH da solução e da estrutura, pode prevalecer a espécie aniônica, catiônica ou neutra.	$\text{CH}_3(\text{CH}_2)_{11}\text{N}^+(\text{CH}_3)_2(\text{CH}_2)_3\text{COO}^-$ 4-(dodecildimetil amônio) butirato; Abreviatura correspondente [DAB].

Fonte: adaptado de Bezerra; Ferreira, 2006

5.2.2 Formação de meio micelar para determinação de arsênio

Devido à complexidade de algumas matizes, ou o baixo teor dos constituintes de interesse e a presença de interferentes em potencial, o desempenho das técnicas analíticas, quantitativas ou não, podem ser minimizado ou mesmo inviabilizado. Em virtude disso, dentre outras técnicas de preparo de amostras, o uso de ambientes organizados, denominados de ambientes micelares ou meio micelar, pode

ser citada como uma das técnicas de eliminação de interferentes (MANIASSO, 2001). A Figura 5.2 apresenta uma estrutura micelar em corte formada por de um surfactante aniônico.

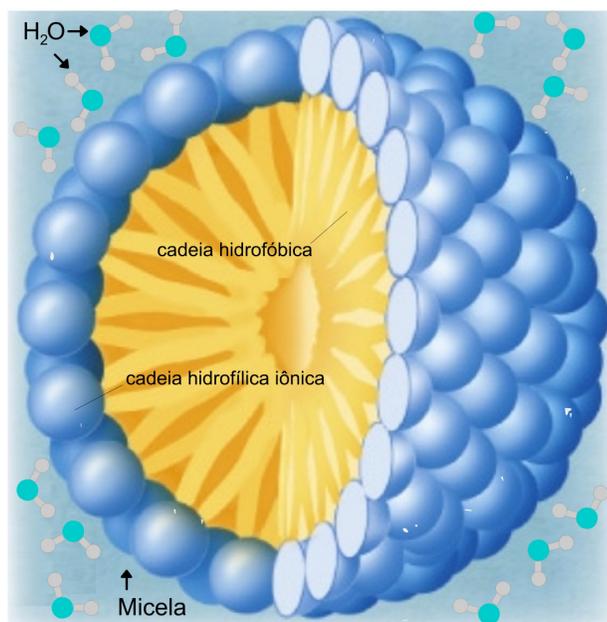


Figura 5.2 - Estrutura micelar²⁴ em corte formada por surfactantes aniônico.

Segundo Bezerra e Ferreira (2006), o uso de ambientes organizados formados por associação de moléculas de surfactantes em Química Analítica é uma prática bastante comum. A utilização dos surfactantes na melhoria dos métodos analíticos se deve ao fato de eles possuírem, quando em solução, a capacidade de modificar algumas propriedades químicas (propriedades reacionais) e físicas (tensão superficial, densidade, viscosidade, pressão osmótica, etc.) do sistema ao qual estão integrados. Essas modificações trazem benefícios em relação à solução original, pois

²⁴ Ilustração adaptada de www.biorom.uma.es. Disponível via acesso em 13 de abril 2010. http://www.biorom.uma.es/contenido/UPV_EHU/molculas/jpg/micela.jpg

permitem manipulá-la de forma mais cômoda e eficiente, melhorando, assim, o desempenho do método tanto em termos de sensibilidade quanto de seletividade.

As modificações das propriedades químicas e físicas provocadas pela formação do meio micelar citadas por Bezerra e Ferreira (2006), podem ser vantajosas, dependendo da técnica utilizada, pelos seguintes aspectos: aumento na eficiência da nebulização; aumento da solubilidade de substâncias em diferentes solventes; aumento da compatibilidade entre as fases aquosa e orgânica; aumento da homogeneidade da solução por meio da emulsificação de pequenas partículas; conservação e estabilização de amostras coletadas e armazenadas por longos períodos e melhoria das propriedades ópticas das soluções, principalmente em espectrometria de absorção molecular. Como benefícios em termos de propriedades químicas, podem-se citar: aumento da eficiência na formação de espécies voláteis em técnicas de geração de hidretos; modificação da posição de equilíbrio de uma reação e favorecimento de uma espécie química e catálise de reações (SANZ-MEDEL et al., 1999).

KUNDU et al., (2002b), propuseram a determinação espectrofotométrica ($\lambda = 660 \text{ nm}$) de arsênio inorgânico em águas empregando meio micelar de dodecil sulfato de sódio. Estes autores utilizaram como agente colorimétrico o azul de metileno que era descolorido pela reação com AsH_3 (arsina) produzida pela reação de NaBH_4 (borohidreto de sódio) com o arsênio inorgânico em solução, nos estados de oxidação III e V. Segundo estes autores, o método é isento de interferência de fosfatos e silicatos, considerados os principais interferentes para a determinação de arsênio. Da mesma forma, estudos realizados por estes autores demonstram que íons metálicos como $\text{Fe}^{2+}/\text{Fe}^{3+}$, Ca^{2+} , Mg^{2+} , Na^+ , K^+ e os halogênios Cl^- , Br^- e I^- , da mesma forma não apresentam interferência. Na avaliação destes autores, obtiveram três faixas lineares de 0,00 a 8,63 mg L^{-1} , 0,00 a 1,11 mg L^{-1} e 0,00 a 0,11 mg L^{-1} , com limites de detecção 1,30; 0,53 and 0,03 mg L^{-1} , respectivamente.

5.3 Objetivos

No presente trabalho, foi proposto o desenvolvimento de instrumentação e procedimento analítico automático para a determinação fotométrica de arsênio em águas. Visando a miniaturização do sistema, a minimização do consumo de reagentes e a redução do volume de efluente gerado, o módulo de análise e o detector fotométrico foram integrados na mesma unidade, e o procedimento analítico foi implementado empregando MCFA (REIS et al., 1995; REIS et al., 1997).

A seguir, são descritos o desenvolvimento da instrumentação e dos procedimentos automáticos para a determinação de arsênio em águas servidas para consumo humano empregando multicomutação em fluxo e determinação fotométrica.

5.4 Equipamentos e acessórios

Para o desenvolvimento da instrumentação e procedimentos automáticos para a determinação das espécies químicas de interesse desse trabalho, empregando multicomutação em fluxo e detecção fotométrica, utilizou-se os seguintes materiais e acessórios, descritos a seguir:

- Vidrarias de aferição classe A;
- Micropipetas de 20-200 μ L, 100-1000 μ L, 1000-5000 μ L (Nichiryo[®], modelo Nichipet EX, Japão);
- Balança analítica (Mettler-Toledo[®], modelo AX304, Portugal);
- Banho de ultrassom (Thornton[®], Brasil);
- Espectrofotômetro (Femto[®], modelo 700 plus, Brasil) com faixa espectral 195 a 1100 nm e largura de banda de 5 nm;

- Espectrofotômetro de varredura multicanal (Ocean Optics[®], USB2000, Estados Unidos), com 2048 canais linhas, para medição da banda de radiação dos LEDs de auto-brilho para as determinações fotométricas;
- Bomba peristáltica com módulo de controle via microprocessador (ISMATEC[®], modelo IPC, Suíça), de 8 canais;
- Válvulas solenóides de 3 vias (NResearch[®], modelo 161K031);
- Válvulas solenóides de 3 vias por estrangulamento (NResearch[®], modelo 161P041);
- Válvulas estrangulamento normalmente aberta - N/A (NResearch[®], modelo 161P011);
- Válvulas estrangulamento normalmente fechada - N/F (NResearch[®], modelo 161P021);
- Tubos de polietileno (PE) de diâmetro interno (d. i.) 0,8 mm foram utilizados para a confecção das linhas de fluxo.
- Uma fonte simétrica estabilizada (+12 e -12 Volts) foi utilizada para alimentação do fotômetro.
- Uma fonte estabilizada 12 Volts, corrente de 1 A para alimentar as mini-bombas solenóides.
- Uma interface de potência microcontrolada utilizando o circuito integrado ULN2803A e um microcontrolador (Microchip[®], modelo PIC 18F2553), empregada no acionamento das válvulas solenóides através da porta USB 2.0 de um computador.
- Uma interface de programação para microcontroladores (Microchip[®], modelo PicKit-02), através da porta USB 2.0 de um computador.

- Software MPLabV8.43²⁵.
- Fotodetector o CI OPT301, (Burr-Brown[®] Instruments, modelo hermético TO-99), com resposta espectral na faixa de 300 a 950 nm;
- Multímetro digital (Minipa[®], modelo ET-2231) com saída serial RS-232;
- Microcontrolador (Microchip[®], modelo PIC 18F2553) com A/D interno de resolução de 12 bits.

5.5 Limpeza de materiais

Todos os materiais utilizados para o preparo das soluções foram lavados conforme seqüência apresentada a seguir: deixados imerso em solução 1:10 (v/v) de detergente Neutro livre de fósforo (SPLL[®]), por 30 minutos; 5 enxágües com água corrente; banho ácido com solução de ácido clorídrico com diluição 1:4 (v/v) com água destilada; 5 enxágües com água destilada e deionizada. As vidrarias não volumétricas eram secas em estufa a 60°C, por uma hora e as volumétricas à temperatura ambiente. Nos casos de vidrarias especiais como balões volumétricos e pipetas, um banho de ultrassom e solução SPLL[®] por 15 minutos no início da etapa.

²⁵ Software disponibilizado pela Microchip[®] para desenvolvimento de circuitos para microcontroladores. Disponível via acesso em 10 de abril 2007: http://www.microchip.com/stellent/idcplg?IdcService=SS_GET_PAGE&nodeId=1406&dDocName=en019469

5.6 Amostras

As amostras de água mineral de várias procedências foram adquiridas no mercado de Piracicaba-SP e foram analisadas sem tratamento prévio.

5.7 Reagentes e soluções

Para o desenvolvimento dos diversos procedimentos analíticos descritos neste trabalho, todas as soluções foram preparadas com água destilada e deionizada com condutividade elétrica menor do que $0,1 \mu\text{Scm}^{-1}$, utilizando reagentes de grau analítico com pureza superior a 99,5 % (Merck, Synth, Fluka, Carlos Erba).

5.7.1 Soluções empregadas para a determinação de arsênio

- Solução estoque de As(V) 1000 mg L^{-1} , preparadas diariamente dissolvendo-se 0,2189 g de $\text{NaHAsO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$ em 100 mL de água em balão volumétrico.
- Solução estoque de As(III) 1000 mg L^{-1} , preparadas diariamente dissolvendo-se 0,1743 g de NaAsO_2 em 100 mL de água em balão volumétrico.
- Solução estoque de Triton X-100 ou surfactante aniônico: *polietileno glicol p-(1,1,3,3-tetrametilbutil)-fenil éter*, $0,8 \text{ mmol L}^{-1}$, preparadas dissolvendo-se 500 μL de $\text{C}_{14}\text{H}_{22}\text{O}(\text{C}_2\text{H}_4\text{O})_{10}$ em 500 mL de água previamente. Após repouso de 15 minutos para eliminar as bolhas presentes, elevou-se o volume para 1000 mL em balão volumétrico.
- Solução estoque de azul de metileno $0,5 \text{ mmol L}^{-1}$, preparadas dissolvendo-se 0,0160 g de $\text{C}_{16}\text{H}_{18}\text{N}_3\text{SCl}$ em 50 mL de água previamente. A solução foi

acondicionada em banho de ultrassom por 15 minutos para facilitar a dissolução. Posteriormente, elevou-se o volume para 100 mL em balão volumétrico.

- Solução estoque As(III) 10 mg L⁻¹, preparada pela diluição da solução-padrão estoque de As(III) 1000 mg L⁻¹ em água;
- Solução estoque As(III) 0,1 mg L⁻¹, preparada pela diluição da solução-padrão estoque de As(III) 10 mg L⁻¹ em água;
- Solução referência de As(III) de 0,0 a 100 µg L⁻¹, foram preparada pela diluição da solução-padrão estoque de As(III) 0,1 mg L⁻¹ em água;
- Solução de boro-hidreto de sódio (R₁) 0,1 mol L⁻¹, preparada diariamente dissolvendo 0,3783 g de NaBH₄ em aproximadamente 100 mL, e o volume completado com água destilada. A solução preparada era acondicionada em banho de gelo para conservação.
- Soluções de azul de metileno de 7,5 a 60 µmol, preparada pela diluição da solução-padrão estoque de azul de metileno (0,5 mmol L⁻¹), em 200 mL solução estoque de Triton X-100 (0,8 mmol L⁻¹);
- Solução estoque As(V) 10 mg L⁻¹, preparada pela diluição da solução-padrão estoque de As(V) 1000 mg L⁻¹ em água;
- Solução estoque As(V) 0,1 mg L⁻¹, preparada pela diluição da solução-padrão estoque de As(V) 10 mg L⁻¹ em água;
- Soluções de referência de As(V) de 0,0 a 100 µg L⁻¹, preparada pela diluição da solução estoque de As(V) 0,1 mg L⁻¹ em água;

5.8 Fotômetro

O fotômetro desenvolvido e empregado neste estudo, utilizou como fotodetector o CI OPT301, com resposta espectral na faixa de 300 a 950 nm. As condições e configurações de montagem foram mantidas as mesmas já apresentadas no item 3.8.

5.9 Interface de controle do módulo de análise

Da mesma forma que as mini-bombas solenóides, as válvulas solenóides de três vias e uma válvula solenóide de estrangulamento funcionam com uma diferença de potencial de 12 V e intensidade de corrente da ordem de 200 mA. Os sinais de controle enviados pelo Microcontrolador PIC 18F2553 são no padrão TTL: diferença de potencial entre 3 e 5 V; e intensidade de corrente de alguns miliampéres, portanto é necessário empregar uma interface de potência para fazer a compatibilização. Na Figura 5.4 é apresentada a configuração empregada para funcionamento da interface utilizando um microcontrolador.

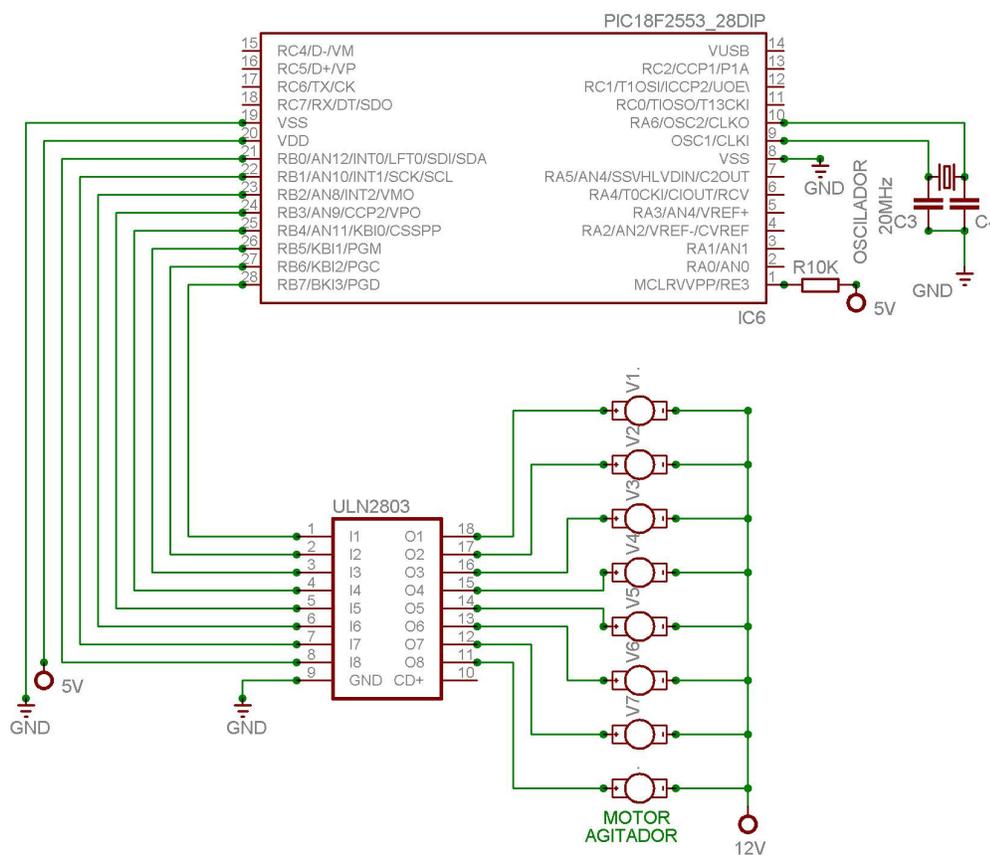


Figura 5.3 – Ilustração do módulo de controle microcontrolado utilizando o CI PIC18F2553 como dispositivo de controle e o CI ULN 2803 como interface de controle.

5.10 Módulo de análise

O módulo de análise desenvolvido para a determinação de arsênio, é mostrado na Figura 5.4. O fotômetro empregado foi o mesmo mostrado na Figura 3.4. A cela de fluxo com caminho óptico de 100 mm possuía a mesma geometria da mostrada na Figura 3.6. O módulo de análise foi elaborado empregando válvulas solenóide de três vias, uma válvula solenóide de estrangulamento e uma bomba peristáltica como propulsora de fluídos. Um agitador montado no laboratório foi incorporado à câmara de mistura para promover a mistura das soluções, permitindo também a eliminação das bolhas de gás liberadas em virtude da presença da solução de boro-hidreto.

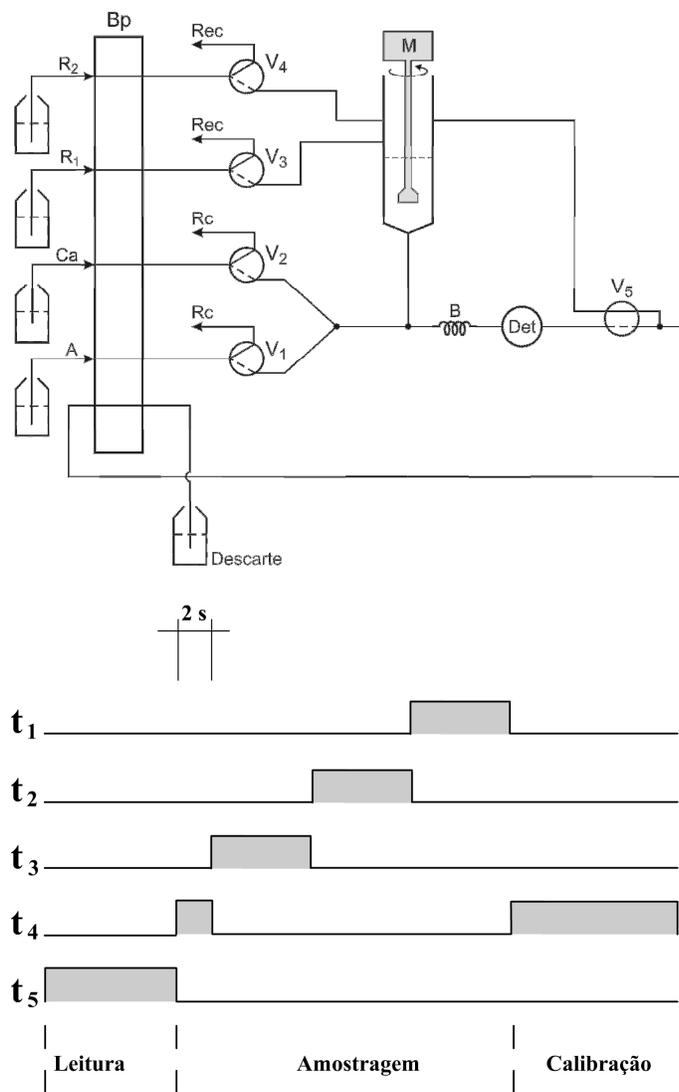


Figura 5.4 - Diagrama de fluxo do módulo de análise para determinação de arsênio em águas, onde: A = amostra; R_1 = azul de metileno $0,5 \times 10^{-4} \text{ mmol L}^{-1}$ em meio micelar de Triton X-100, $0,8 \text{ mmol L}^{-1}$; R_2 = NaBH_4 $0,25 \text{ mol L}^{-1}$; Ca = solução transportadora, Triton X-100, $0,8 \text{ mmol L}^{-1}$; B1 = reator helicoidal com 100cm, d. i. 0,8 mm; x = ponto de confluência; V_1 , V_2 , V_3 e V_4 = válvulas solenóides de 3 vias; V_5 = válvulas solenóides de 3 vias por estrangulamento; Bp = bomba peristáltica; DET = detector. Diagrama de tempo, onde: t_1 , t_2 , t_3 , t_4 , e t_5 = tempos de acionamento de A, R_1 , R_2 , T e V_5 , respectivamente.

Ao selecionar o programa de controle, o computador definia os valores das variáveis de comando do módulo de análise, tais como: tempo de acionamento das válvulas solenóide para inserir a amostra, as soluções de reagentes e solução de transportadora na câmara; intensidade de brilho do LED e faixa de tolerância para leitura; número de replicatas; tempo de leitura de sinal. Após fornecer estes parâmetros de controle, o computador transferia essas informações para o microcontrolador através da interface USB. A partir desse instante, o microcontrolador assumia o controle do módulo de análise, realizando todas as etapas do processo analítico. Após a conversão da diferença de potencial para digital, as leituras eram transmitidas para computador via comunicação USB 2.0.

Inicialmente, o microcontrolador estabelecia a comunicação USB com o computador, e transmitia para computador os sinais de controle, confirmando que todos os dispositivos do sistema estavam prontos para trabalhar. Após esta etapa, o microcontrolador verificava se a cela de fluxo estava cheia, suja ou com bolha de ar. Estando a cela de fluxo cheia com a solução transportadora, o fotômetro deveria gerar uma diferença de potencial em torno de 2000 mV. Quando a leitura era menor que este valor, indicava que cela de fluxo estava suja ou com bolha de ar. Então, automaticamente, a válvula V_5 era acionada durante 30 s para esvaziar a cela. Após essa etapa, as válvulas V_2 e V_5 eram ligadas durante 30 s para lavar a cela com a solução transportadora. Estas duas etapas eram repetidas até 3 vezes para recuperar a leitura de 2000 mV, em caso contrário, era emitido um sinal sonoro para avisar o usuário.

Após conclusão da etapa de limpeza da cela de fluxo, o fotômetro era ajustado automaticamente (rotina de calibração) e dava início à rotina de análise (amostragem). Na rotina de análise, a válvula V_1 era acionada durante 15 s para inserir uma alíquota da solução da amostra, seguido do acionamento da válvula V_2 durante 3 s para inserir uma alíquota de solução transportadora. Em seguida, eram inseridas as alíquotas das soluções dos reagentes, acionando as respectivas válvulas durante intervalos de tempo previamente definidos. O agitador era acionado durante 2 s e posteriormente a solução de boro-hidreto de sódio era inserida câmara, e o agitador

sendo novamente acionado durante 6 s para completar a mistura, e assim favorecendo a reação o arsênio com boro-hidreto para formar arsina. A arsina gerada reagia com o azul de metileno e promovia a descoloração dessa solução. Após esta etapa, a válvula V_5 era ligada, e o produto da reação era deslocado para a cela de fluxo por aspiração. O sinal analítico era lido pelo microcontrolador através do A/D interno, e executava cerca de 40.000 leituras em 0,5 s. A média das leituras em diferença de potencial (mV) era transformada em absorbância e enviada para o computador via interface USB 2.0. Enquanto a etapa de leitura estava em curso, um gráfico do sinal em função do tempo era mostrado na tela do monitor de vídeo, permitindo sua visualização em tempo real. Os dados eram salvos em arquivos no computador no padrão ASCII para processamento posterior. A lógica de execução do programa desenvolvido é mostrada na Figura 5.5.

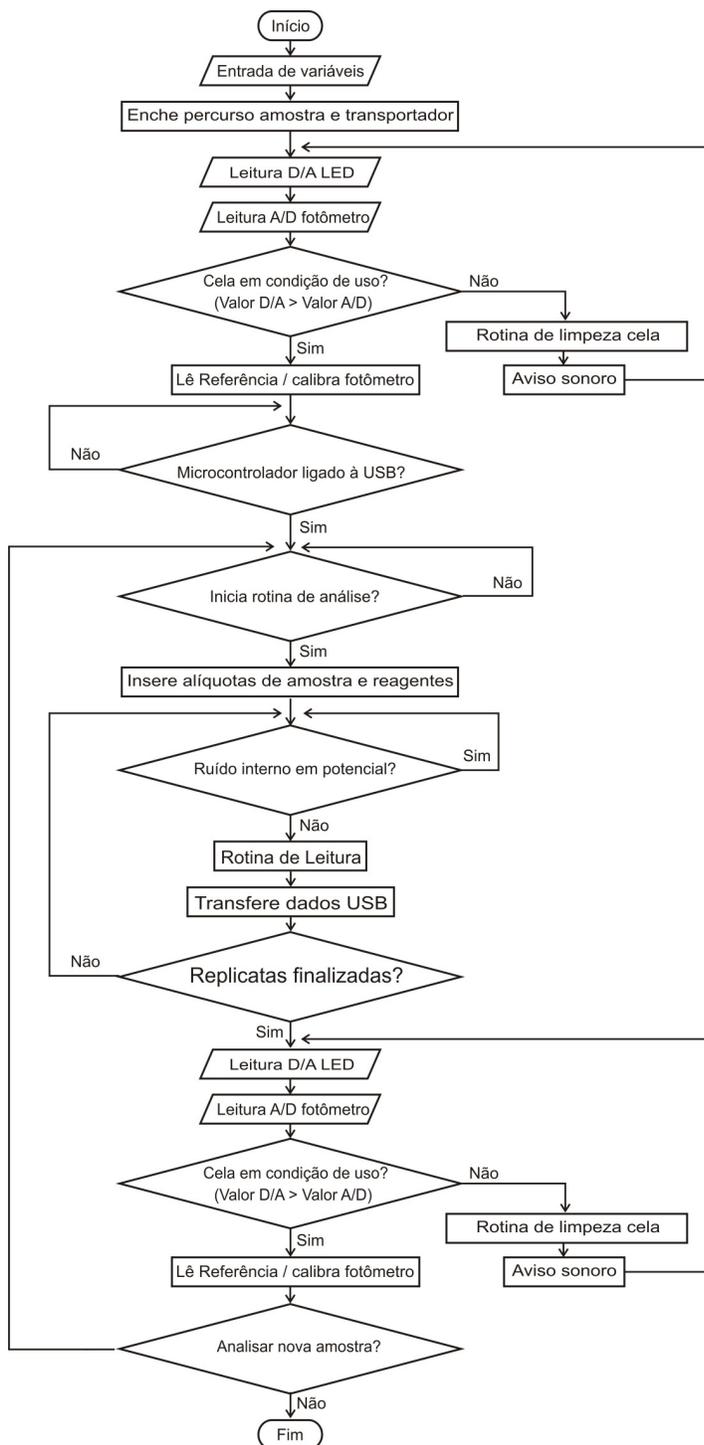


Figura 5.5 - Fluxograma do software embarcado do módulo de análise.

5.11 Testes preliminares

O método escolhido é baseado na reação entre arsênio inorgânico nos estados de oxidação III e V, formando arsina, a qual reage com azul de metileno em meio micelar causando diminuição de sua coloração. Esta reação ação é proporcional à concentração de arsênio III e V em solução. Testes qualitativos preliminares indicaram que a reação entre arsina e o azul de metileno em meio micelar ocorria rapidamente à temperatura ambiente (28°C). Alguns estudos dos parâmetros considerados importantes para otimizar as condições experimentais, resultando em uma maior sensibilidade foram avaliados, os quais são apresentados a seguir.

5.11.1 Estudo do tempo de vida útil do azul de metileno em meio micelar

A estabilidade da solução de azul de metileno em meio micelar foi investigada, avaliando o tempo de vida útil desta solução, processando-as logo após o preparo da solução e 5 horas depois (período da tarde). Neste experimento foi usada uma solução de referência contendo 50 $\mu\text{g L}^{-1}$ de As(III). A mesma solução de azul de metileno, um conjunto de soluções de referência com concentração de As(III) 0,0; 0,5; 10 e 20 $\mu\text{g L}^{-1}$ foram processadas no final do experimento. Esta mesma solução de reagente foi usada para repetir o experimento 5 dias depois. Durante o período de envelhecimento, a solução de azul de metileno foi mantida em frasco âmbar, à temperatura ambiente de 30°C.

A concentração do meio micelar de Triton X-100, a concentração de azul de metileno e boro-hidreto de sódio foram mantidas constantes, em 0,8 mmol L^{-1} , 50 mmol L^{-1} e 0,25 mol L^{-1} , respectivamente, e o acionamento do motor para promover a mistura foi mantido durante 10 s. Os tempos de acionamento das válvulas para inserção das

soluções padrão e dos reagentes, foram fixados da seguinte forma: 20 s para padrões; 40 s para azul de metileno em meio micelar de Triton X-100; e 20 s para boro-hidreto de sódio. A rotação da bomba peristáltica foi fixada de modo a se obter uma vazão de 2 mL min⁻¹ para o bombeamento dos padrões e solução transportadora, e 1 mL min⁻¹ para as soluções dos reagentes azul de metileno em meio micelar e boro-hidreto de sódio.

5.11.2 Estudo do tempo para desenvolvimento da reação

O emprego de um motor para fazer a mistura entre as soluções permitiu a obtenção de ótima homogeneização com um período de tempo curto (6 s). Em seguida a mistura era deslocada para a cela de fluxo acionando a válvula V₅ por um intervalo de tempo de 20 s. Após essa etapa, era monitorado o sinal gerado pelo fotômetro em função do tempo. Foram usadas soluções de referência com concentrações de 0,0; 25,0; 50,0; 75,0 e 100,0 µg L⁻¹ As(III) e as replicatas foram repetidas para intervalos de tempos de 15, 30 e 45 s. As demais condições experimentais foram mantidas as mesmas apresentadas no item 5.11.1

5.11.3 Estudo da concentração de azul de metileno

O estudo do efeito da concentração da solução de azul de metileno sobre o sinal gerado foi estudado, utilizando as concentrações em 7,5; 15,0; 30,0 e 60,0 µmol L⁻¹ de azul de metileno. Nestes experimentos, foi usado soluções de referência com concentração de As(III) de 0,0; 0,5; 10 e 20 µg L⁻¹. A concentração do meio micelar de Triton X-100 e boro-hidreto de sódio foram mantidas constantes, em 0,8 mmol L⁻¹ e 0,25 mol L⁻¹, respectivamente. As demais condições experimentais foram mantidas as mesmas apresentadas no item 5.11.1. O aumento da concentração de azul de metileno

tinha como objetivo avaliar o aumento do coeficiente angular das curvas geradas, resultando no aumento da sensibilidade do método em estudo.

5.11.4 Estudo do meio reacional

O estudo do efeito da concentração micelar de Triton X-100 sobre o sinal gerado foi estudado, variando as concentrações em 0,8; 16; 32 e 64 mmol L⁻¹ de Triton X-100. Nestes experimentos, foi usado soluções de referência com concentração de As(III) de 0,0; 0,5; 10 e 20 µg L⁻¹ e a concentração de azul de metileno e boro-hidreto de sódio foram mantidas constantes, em 30,0 µmol L⁻¹ e 0,25 mol L⁻¹, respectivamente. As demais condições experimentais foram mantidas as mesmas apresentadas no item 5.11.1.

5.11.5 Estudo do volume de NaBH₄

O volume de boro-hidreto de sódio na zona da amostra foi avaliado para a quantificação de arsênio em águas. Utilizando-se o módulo de análise apresentado na Figura 5.4 e estabelecendo os tempos de acionamento da V₄ em 10; 20; 30 e 40 s, resultando em na inserção de 167; 334; 501 e 668 µL de boro-hidreto de sódio, respectivamente. Neste experimento, foi usado soluções de referência com concentrações de As(III) de 0,0; 0,5; 10 e 20 µg L⁻¹ e a concentração de azul de metileno e Triton X-100 foram mantidas constantes, em 30 µmol L⁻¹ e 32 mmol L⁻¹, respectivamente. As demais condições experimentais foram mantidas as mesmas apresentadas no item 5.11.1.

5.11.6 Estudo da concentração de NaBH₄

A influencia concentração de boro-hidreto na sensibilidade do procedimento proposto foi investigada usando soluções com as seguintes concentrações: 0,10; 0,15; 0,20 e 0,25 mmol L⁻¹ de boro-hidreto de sódio. Nestes experimentos, foram usadas soluções de referência com concentração de As(III) de 0,0; 0,5; 10 e 20 µg L⁻¹. A concentração de azul de metileno e Triton X-100 foram mantidas em 30 µmol L⁻¹ e 32 mmol L⁻¹, respectivamente. As demais condições experimentais foram mantidas as mesmas apresentadas no item 5.11.1.

5.11.7 Estudo da temperatura da solução de boro-hidreto

O estudo do efeito da temperatura da solução de boro-hidreto sobre o sinal gerado foi investigado, comparando os resultados obtidos com as seguintes temperaturas 0,0 e 30°C, utilizando as mesmas soluções de referência de As(III) com concentração de 0,0; 5,0; 10,0 e 20,0 µg L⁻¹. Neste experimento, foi mantida a concentração de azul de metileno, do meio micelar de Triton X-100 e boro-hidreto de sódio foram mantidas constantes, em 30 µmol L⁻¹, 60 mmol L⁻¹ e 0,4 mol L⁻¹, respectivamente. As demais condições experimentais foram mantidas as mesmas apresentadas no item 5.11.1.

5.11.8 Estudo da proporção entre os padrões e reagentes

O estudo da proporção entre os volumes das alíquotas das soluções de referências e dos reagentes sobre o sinal gerado foi investigado, variando os intervalos de tempo de acionamento da válvula V₁, e mantendo os intervalos de tempo de

acionamento das válvulas dos reagentes (V_3 e V_4). Foi utilizado as mesmas soluções de referência de As(III) com concentração de 0,0; 5,0; 10,0 e 20,0 $\mu\text{g L}^{-1}$. Neste experimento, a concentração de azul de metileno, do meio micelar de Triton X-100 e de boro-hidreto de sódio foram mantidas constantes, em 30 $\mu\text{mol L}^{-1}$, 60 mmol L^{-1} e 0,4 mol L^{-1} , respectivamente. A solução de boro-hidreto foi mantida em banho de gelo (0,0 °C) e a temperatura de reação foi mantida em 30°C. Os intervalos de tempo de acionamento das válvulas das dos reagentes, azul de metileno e boro-hidreto (V_3 e V_4), foram mantidos em 20 e 10 s, respectivamente. Para o acionamento de V_1 para inserção da solução de referência foram estabelecidos os intervalos de tempo de 40, 20 e 10 s.

A rotação da bomba peristáltica foi fixada para manter uma vazão de 2 mL min^{-1} para o bombeamento da amostra e 1 mL min^{-1} para as soluções dos reagentes azul de metileno em meio micelar e boro-hidreto de sódio.

5.11.9 Estudo da faixa de resposta linear do procedimento

Para o estudo da faixa de resposta linear foram utilizados os parâmetros físicos otimizados para o sistema, e foram usados soluções padrões de arsenito de sódio nas seguintes concentrações: 0,00; 2,50; 5,00; 10,0; 20,0; 40,0; 80,0 e 100,0 $\mu\text{g L}^{-1}$. A concentração de azul de metileno, do meio micelar de Triton X-100 e boro-hidreto de sódio foram mantidas constantes, em 30 $\mu\text{mol L}^{-1}$, 60 mmol L^{-1} e 0,4 mol L^{-1} , respectivamente. A solução de boro-hidreto foi mantida em banho de gelo (0,0 °C) e a temperatura de reação foi mantida em 30°C (ambiente). Os tempos de acionamento das válvulas das soluções de reagentes foram mantidas em 20 s para a azul de metileno em meio micelar de Triton X-100, e 10 s para boro-hidreto, variando o intervalo de tempo de acionamento da válvula V_1 para inserção das soluções de referência de 10 a 40 s. A rotação da bomba peristáltica foi mantida com a do item anterior.

5.11.10 Estudo da adição e recuperação de As(III) e processamento das amostras

As amostras de água potável foram processadas empregando as condições operacionais estabelecidas a partir da análise dos resultados otimizados obtidos nos experimentos descritos previamente.

Estudos de adição e recuperação foram realizados adicionando quantidades conhecidas de arsenito de sódio (5,00 e 10,0 mg L⁻¹) em cinco amostras de água mineral. As condições experimentais foram mantidas as mesmas apresentadas no item 5.11.9.

5.12 Resultados e discussão

O método apresentado por Kundu et al., (2002a) foi selecionado, visto que o uso de NaBH₄ aparecia dentre os métodos pesquisados, o mais interessante, tendo em vista que não necessitava de preparo prévio de amostra. Testes iniciais demonstraram que a reação entre arsênio(III) ou arsênio(V) com o azul de metileno em meio micelar de Triton X-100, era rápida à temperatura de 30°C. Nos itens seguintes são apresentados e discutidos os resultados obtidos.

5.12.1 Efeito do tempo de vida útil do azul de metileno em meio micelar

Neste caso, a solução de azul de metileno 0,5 x10⁻⁴ mmol L⁻¹ em meio micelar de Triton X-100 foi preparada, imediatamente antes de iniciar o experimento. Os sinais transientes apresentados na Figura 5.6 correspondem às leituras realizadas

processando uma solução de concentração de $50 \mu\text{g L}^{-1}$ de As(III). A partir desta figura podemos deduzir que este experimento demorou em torno de 30 minutos. Observa-se que neste intervalo de tempo não houve variação significativa na altura dos registros.

Este experimento foi repetido no período da tarde, e os resultados obtidos foram similares aos apresentados nesta figura. Indicando, portanto que solução de azul de metileno poderia ser usada pelo período de um dia.

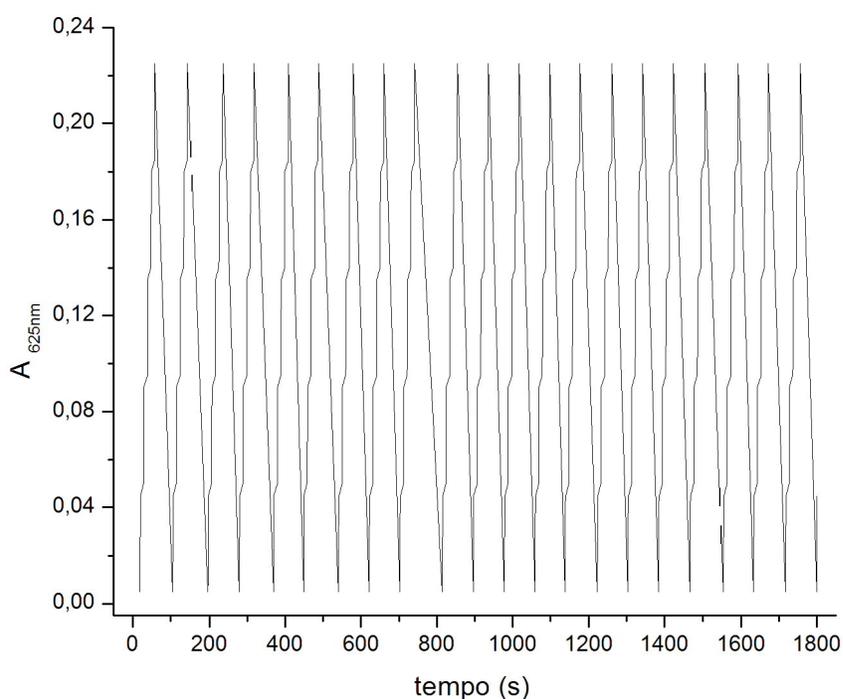


Figura 5.6 – Sinais transientes referentes ao processamento de solução contendo $50 \mu\text{g L}^{-1}$ de As(III); $A_{625\text{ nm}}$ = absorvância ($\lambda = 625\text{ nm}$).

Em complemento aos resultados na Figura 5.6, foi avaliado, também, a vida útil da solução de azul de metileno preparada no dia com a mesma solução depois de 5 dias. Os resultados obtidos são mostrados na Figura 5.7. Observa-se que houve redução do sinal do branco, mas as curvas são praticamente paralelas, então poderíamos imaginar que não haveria perda na sensibilidade. Entretanto, as barras de

erro indicam que a precisão dos resultados piorou. Portanto, não seria conveniente trabalhar com soluções envelhecidas.

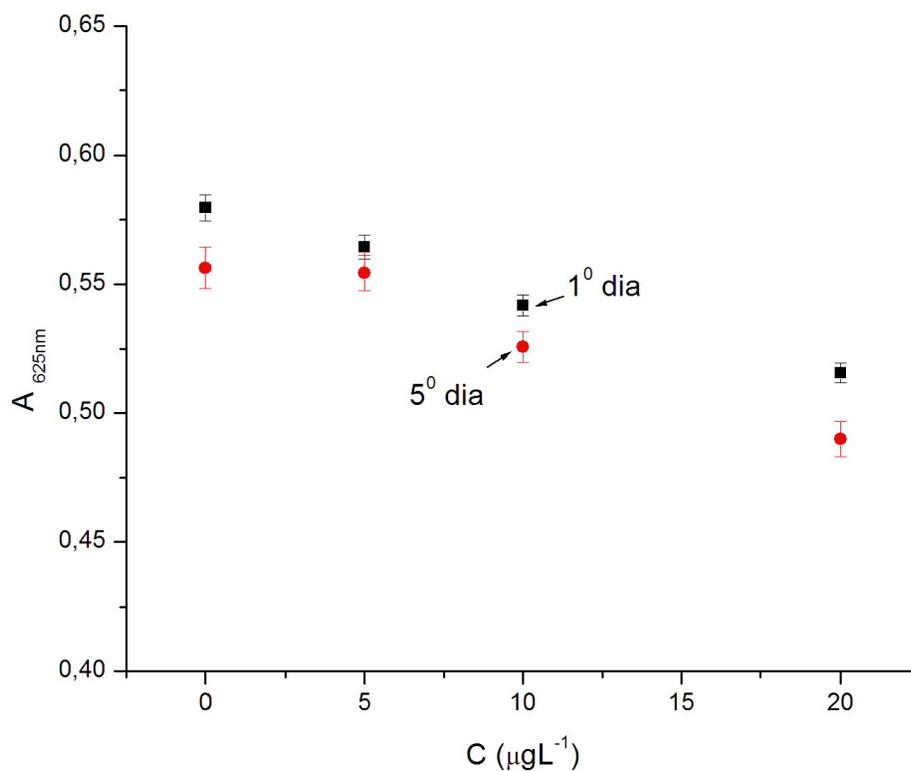


Figura 5.7 – Efeito do tempo sobre a solução de azul de metileno em meio micelar de Triton X-100. Onde: -■- sinais da solução preparadas no mesmo dia; -●- sinais da solução após 5 dias. As barras de erro indicam a estimativa de desvio padrão ($n = 3$). $A_{625\text{nm}}$ = absorvância ($\lambda = 625\text{nm}$).

5.12.2 Efeito do tempo para desenvolvimento da reação

Conforme indicado na parte experimental, após a inserção das alíquotas das soluções de referência de As(III) e dos reagentes na câmara, o motor era mantido ligado durante 6 s, para se obter uma boa homogeneização da solução. Após esta

etapa, a válvula V_5 era mantida ligada durante 20 s, para encher a cela de fluxo com a mistura. Após o monitoramento do desenvolvimento da reação, lendo o sinal gerado pelo fotômetro, esta válvula era ligada novamente para esvaziar a cela de fluxo. Neste experimento, foi estabelecido para repouso da amostra para permitir o desenvolvimento da reação, os intervalos de tempo de 15, 30 e 45 s.

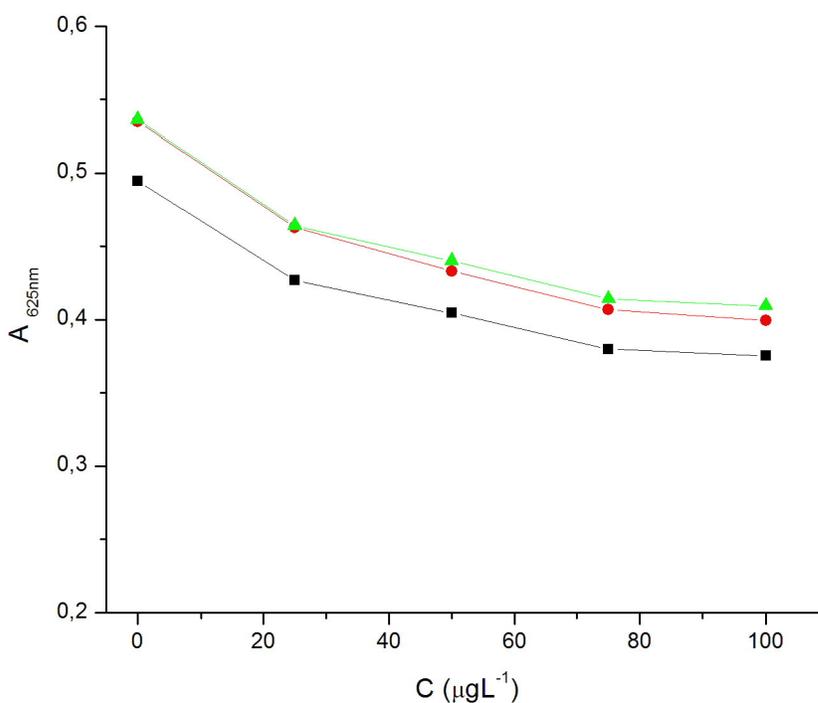


Figura 5.8 - Efeito do tempo para desenvolvimento da reação na magnitude do sinal analítico. Onde: ■- 45 s; ●- 30 s; ▲- 15 s; $A_{625\text{ nm}}$ = absorvância ($\lambda = 625\text{ nm}$).

Os resultados obtidos são mostrados na Figura 5.8. As curvas relacionadas aos intervalos de tempo de 15 e 30 s, são coincidentes, indicando que as reações para formar arsina e, dessa com o azul de metileno, são rápidas. Embora, a curva relacionada ao intervalo de tempo de 30 s, apresente sinais menores que as outras

duas, ela é paralela às mesmas, portanto não há perda significativa de sensibilidade. Ocorreu uma diminuição da leitura do branco, mas manteve a mesma relação de sinal gerado para as soluções de referência. Então, um intervalo de tempo de 15 s foi estabelecido, visando diminuir o tempo de análise.

5.12.3 Efeito da concentração de azul de metileno

A concentração de azul de metileno pode afetar a magnitude dos sinais analíticos, principalmente pelo fato de que depende de alguns fatores, tais como temperatura, concentração de surfactante, da natureza do surfactante, etc.

Outro fator relevante é que altas concentrações de azul de metileno pode causar aumento da linha de base ao longo do tempo, devido à adesão do reagente nas paredes da cela de fluxo, incluindo as janelas de transmissão de radiação. Uma vez que se trata de um indicador orgânico com boa aderência nas partes de vidro da cela de fluxo, esta característica pode dificultar a lavagem da mesma, resultando no aumento o tempo de limpeza, aumentando o volume do resíduo gerado e, conseqüentemente, comprometendo a freqüência analítica.

Tomou-se como base para este estudo, a concentração de azul de metileno de $15,0 \mu\text{mol L}^{-1}$, conforme recomendado por Kundu et al., (2002). Partindo-se desta concentração, foram avaliadas concentrações maiores, conforme indicado no item 5.11.1. Os resultados provenientes deste experimento são apresentados na Figura 5.9, onde se observa que não há diferença significativa entre elas.

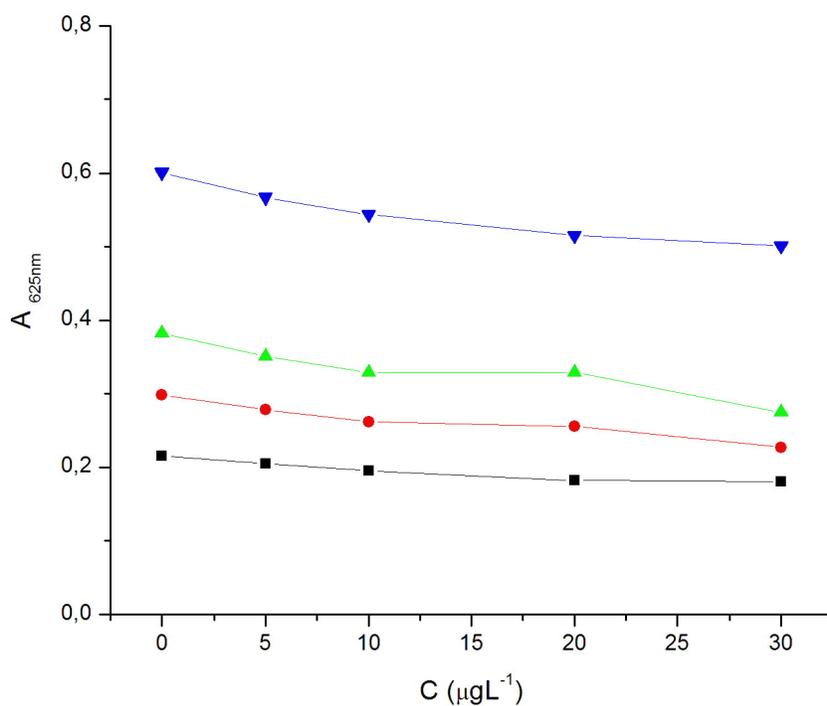


Figura 5.9 - Efeito da concentração de azul de metileno na magnitude do sinal analítico. Onde: -■- 7,5 $\mu\text{mol L}^{-1}$; -●- 15,0 $\mu\text{mol L}^{-1}$; -▲- 30,0 $\mu\text{mol L}^{-1}$ e -▼- 60,0 $\mu\text{mol L}^{-1}$. $A_{625\text{ nm}}$ = absorbância ($\lambda = 625\text{ nm}$).

Em função dos resultados obtidos, optou-se por utilizar a maior concentração estudada (60,0 $\mu\text{mol L}^{-1}$) e, conseqüentemente, reduzindo-se o tempo de acionamento da válvula V_4 para 5 s, o que resultou em um volume de 83 μL de azul de metileno em meio micelar a ser inserido na câmara de mistura, com o objetivo de melhorar a freqüência analítica.

5.12.4 Efeito do meio reacional

Conforme já apresentado anteriormente, o uso de ambientes organizados formados por associação de moléculas de surfactantes em Química Analítica é uma prática bastante comum. A utilização dos surfactantes na melhoria dos métodos analíticos se deve ao fato de eles possuírem, quando em solução, a capacidade de modificar algumas propriedades químicas (propriedades reacionais) e físicas (tensão superficial, densidade, viscosidade, pressão osmótica, etc.) do sistema ao qual estão integrados (BEZERRA; FERREIRA 2006). Segundo Souza (2001), o excesso de surfactante na formação do meio micelar pode apresentar várias formas de organização, onde o grau de ordem depende de diversos fatores como temperatura, concentração, pH, força iônica, etc (SOUZA, 2001).

Neste sentido, foi avaliada a concentração do meio micelar de modo a se avaliar a melhor condição de reação. Os resultados deste experimento são apresentados na Figura 5.10. Observa-se nesta figura que a melhor resposta foi obtida com a concentração de 0,8 mmol L⁻¹.

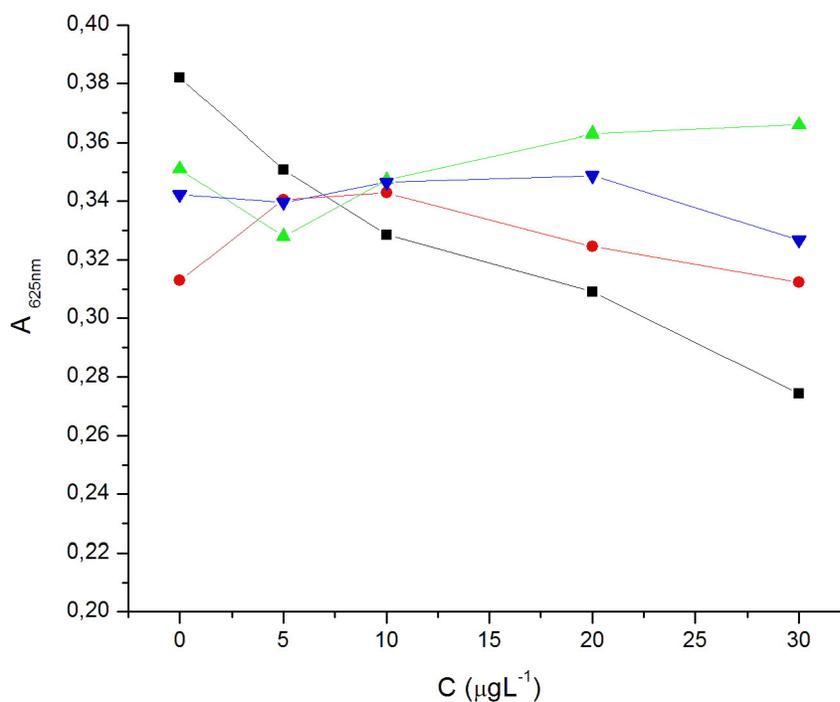


Figura 5.10 - Efeito da concentração de Triton X-100 na magnitude do sinal analítico. Onde: ■- 0,8 mmol L⁻¹; ●- 16,0 mmol L⁻¹; ▲- 32,0 mmol L⁻¹ e ▼- 64,0 mmol L⁻¹. $A_{625\text{ nm}}$ = absorvância ($\lambda = 625\text{ nm}$).

5.12.5 Efeito do volume de NaBH₄

O volume de NaBH₄ na zona da amostra pode afetar a magnitude do sinal analítico, então para verificar este efeito, experimentos foram realizados variando seu volume durante a amostragem e os resultados são mostrados na Figura 5.11. A diminuição do sinal do branco pode ser atribuído ao efeito de diluição da amostra devido ao aumento do volume da solução do reagente. Considerando-se a linearidade como parâmetro, observa-se que a melhor resposta foi obtida com o volume de 668 μL .

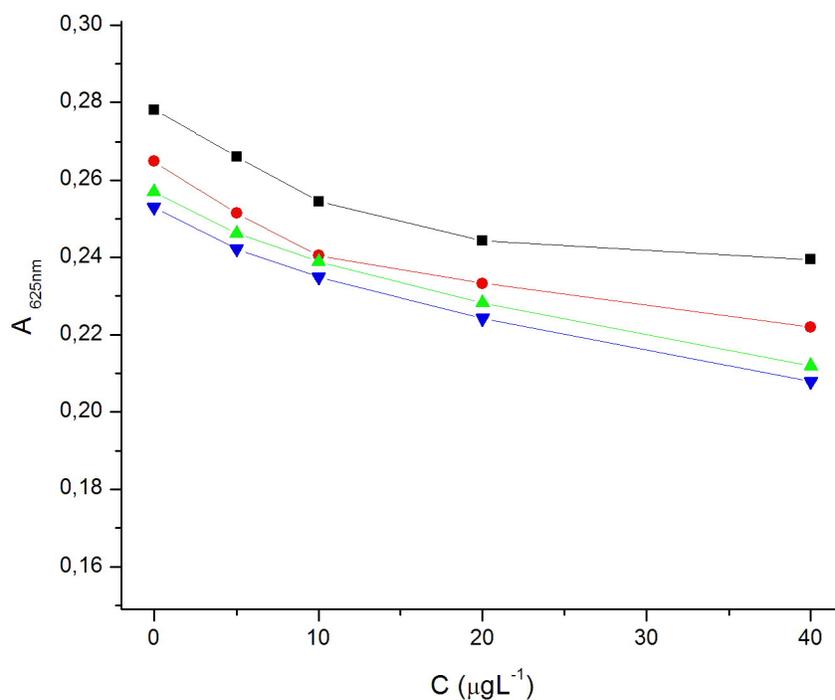


Figura 5.11 - Efeito do volume de NaBH₄ na magnitude do sinal analítico. Onde, volumes de NaBH₄ adicionados: -■- 167 µL; -●- 334 µL; -▲- 501 µL e -▼- 668 µL; A_{625 nm} = absorvância ($\lambda = 625$ nm).

5.12.6 Efeito da concentração de NaBH₄

Os resultados discutidos no item anterior, motivaram a realizar um novo estudo, aumentando a concentração dos reagentes (NaBH₄ e azul de metileno) e, em contra partida, reduzindo os volumes das alíquotas dos reagentes na zona da amostra, sendo os resultados apresentados a seguir.

Na Figura 5.12, são mostrados os resultados obtidos variando a concentração de NaBH₄ e mantendo o volume da alíquota de solução inserida na câmara de mistura em 166 µL. Observa-se que a sensibilidade e a linearidade da curva

analítica melhoram com o aumento da concentração de NaBH_4 , conforme valores dos coeficientes angulares e equações das retas apresentados na Tabela 5.3

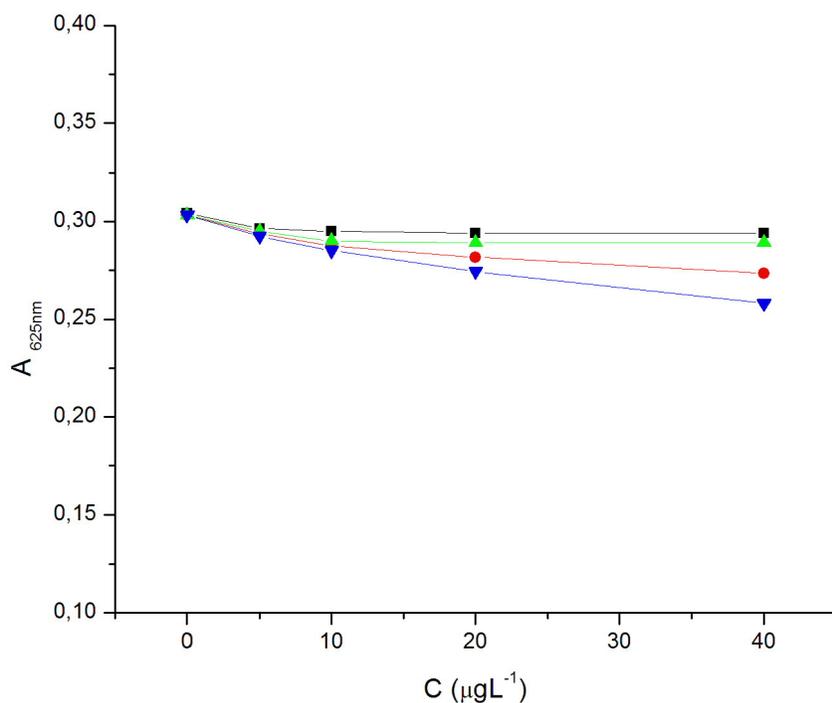


Figura 5.12 - Efeito da concentração de NaBH_4 na magnitude do sinal analítico. Onde: ■- 0,10 mmol L⁻¹; ●- 0,15 mmol L⁻¹; ▲- 0,20 mmol L⁻¹ e ▼- 0,25 mmol L⁻¹.

$A_{625\text{ nm}}$ = absorvância ($\lambda = 625\text{ nm}$).

Tabela 5.3 - Resultados do efeito da concentração de NaBH_4 nos coeficientes angulares e equações das retas provenientes da Figura 5.12.

Concentração (mmol L ⁻¹)	b	a	r (y = ax + b)
0,10	$-0,285 \times 10^{-4}$	0,29500	-0,75593
0,15	$-6,755 \times 10^{-4}$	0,29807	-0,94385
0,20	0,2900	0,14850	-0,96288
0,25	0,29874	-0,00107	-0,98191

5.12.7 Efeito da temperatura da solução de boro-hidreto

Segundo a Lei de Henry (BARROW, 1982), a solubilidade de um gás em uma solução aquosa é inversamente proporcional à sua temperatura. Era visível a existência de bolhas de gás no tubo de bombeamento da solução de boro-hidreto, provavelmente hidrogênio. Tendo em vista que a câmara de reação era aberta, essas bolhas de gás (hidrogênio) eram liberadas para a atmosfera, não participando da reação com arsênio para formar arsina.

Visando verificar se as bolhas de gás formada em linha havia algum efeito significativo, foram realizados experimentos mantendo a solução de boro-hidreto em banho de gelo (0°C) e em 30°C (temperatura do laboratório). Os resultados deste experimento são apresentados na Figura 5.13. Observa-se que as duas curvas são praticamente paralelas, então não houve ganho significativo em sensibilidade. Entretanto, os resultados obtidos com a solução no banho de gelo, apresentaram menor desvio padrão. O resfriamento da solução de boro-hidreto, praticamente, extinguiu e liberou bolhas de gás em linha, então o volume da alíquota da solução inserida na câmara de mistura poderia ser mais preciso, tendo em vista que no caso anterior era constituído também por uma fração gasosa.

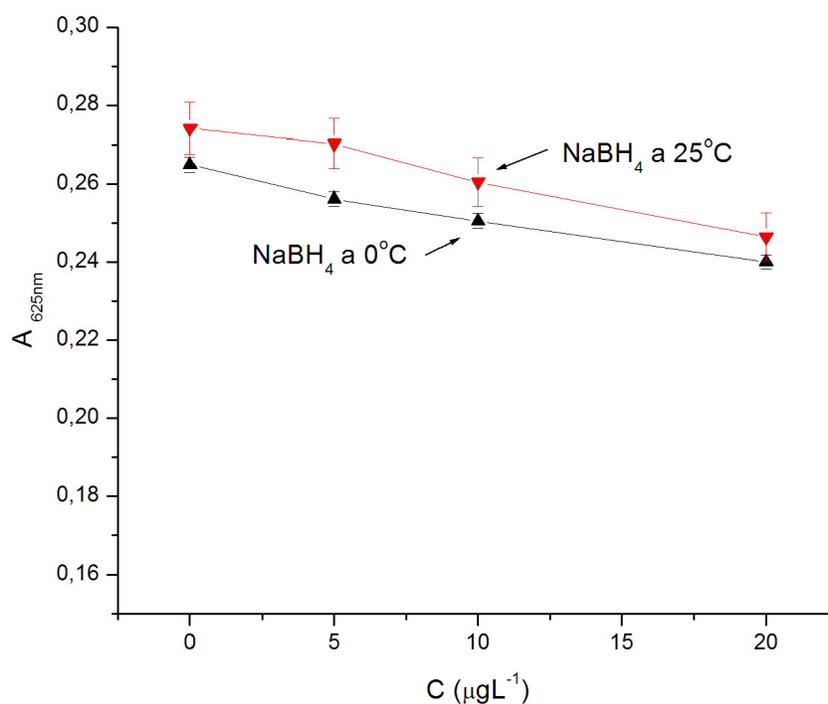


Figura 5.13 - Efeito do banho de gelo sobre a solução de boro-hidreto de sódio. Onde: \blacktriangledown - sinais de NaBH_4 à 25°C ; \blacktriangle - sinais de NaBH_4 à 0°C . As barras de erro indicam a estimativa de desvio padrão ($n = 3$). $A_{625\text{ nm}}$ = absorvância ($\lambda = 625\text{ nm}$).

5.12.8 Efeito da proporção entre os volumes da solução de referência e dos reagentes

O efeito da proporção entre os volumes das alíquotas das soluções de referência e dos reagentes são apresentados nas curvas da Figura 5.14. Considerando-se a linearidade e a sensibilidade como parâmetros a ser avaliados, observa-se que as curvas referentes aos volumes de 667 e de 1000 μL apresentam melhor resposta. As curvas são praticamente paralelas, o que indica que os coeficientes angulares são muito semelhantes, o que confere a mesma sensibilidade, então o volume de 667 μL foi

selecionado. Neste caso, ocorria redução do consumo de reagente, e do tempo de análise.

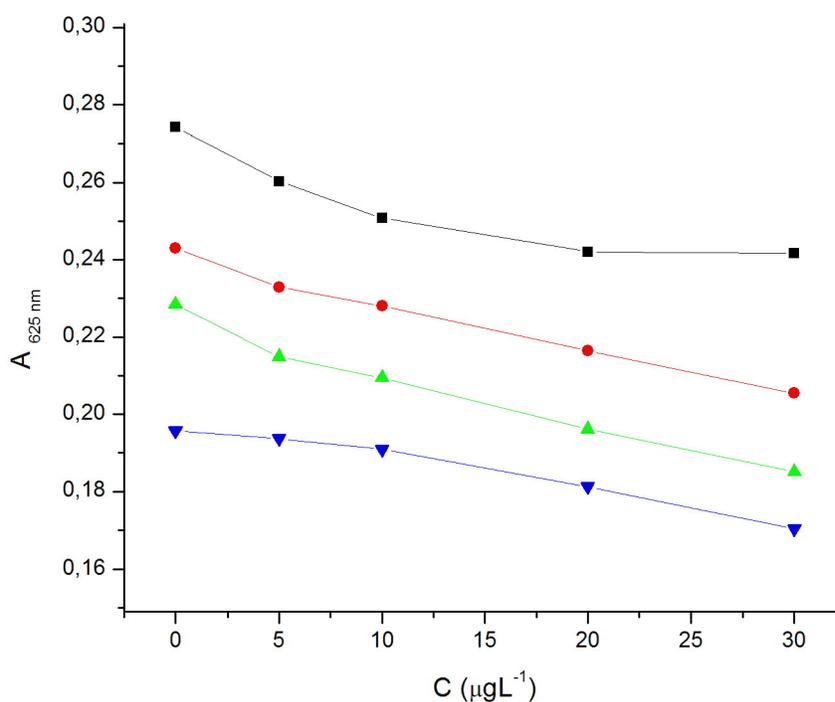


Figura 5.14 - Efeito do volume da amostra sobre o volume fixado dos reagentes. Onde: ■- 333 μL ; ●- 667 μL ; ▲- 1000 μL e ▼- 1333 μL .

$A_{625 \text{ nm}}$ = absorbância ($\lambda = 625 \text{ nm}$).

5.12.9 Faixa linear da reação

Empregando os parâmetros definidos a partir dos resultados discutidos nos itens precedentes, foi processado um conjunto de soluções de referência, os resultados são mostrados na Figura 5.15. Observa-se uma resposta linear ($r = -0,996$) na faixa de 2,5 a 40 $\mu\text{g L}^{-1}$.

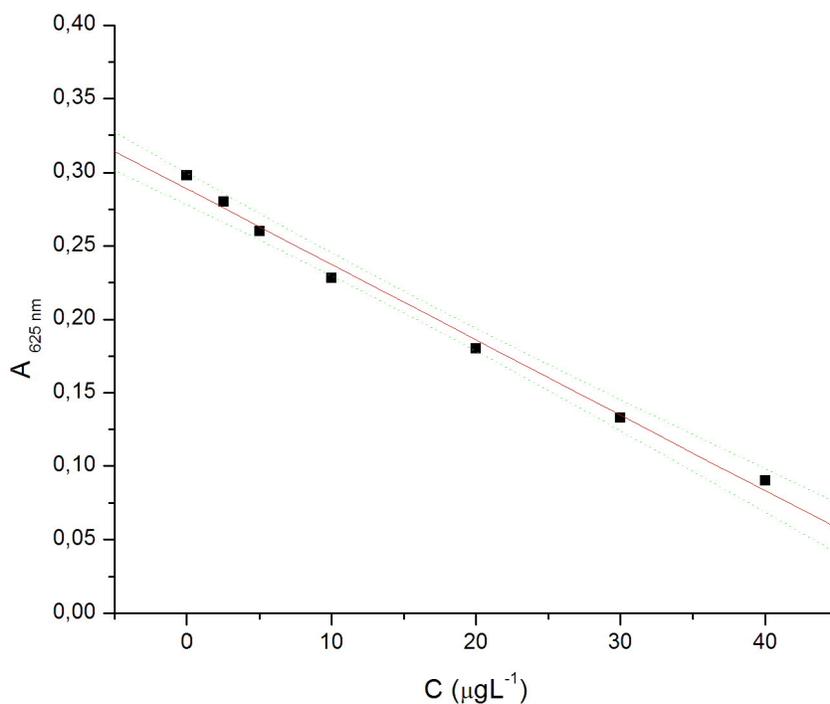


Figura 5.15 - Curva analítica referente ao processamento de soluções de referência de arsênio(III). As linhas tracejadas, superior e inferior, representam o limite de confiança a 95%. A linha vermelha representa a regressão linear ($r = -0,996$). A = absorbância ($\lambda = 625 \text{ nm}$).

5.12.10 Efeito da adição e recuperação de As(III) em amostras de água

Visando verificar se havia efeito de matriz, foi empregado o método de adição e recuperação. Os resultados da Tabela 5.4 mostram que a recuperação se situou na faixa de 88,0 a 112,9%, portanto indicando que não há efeito de matriz significativo nas amostras estudadas.

Tabela 5.4 - Valores do estudo de efeito de matriz do íon arsenito.

Amostra	Valores de As(III)		Recuperação %
	adicionado	encontrado	
A	0,00	5,60	
	5,00	10,20	92,9
	10,0	15,95	106,3
B	0,00	4,83	
	5,00	9,43	88,6
	10,0	15,33	110,4
C	0,00	5,19	
	5,00	9,85	93,4
	10,0	14,75	91,5
D	0,00	6,6	
	5,00	11,80	103,0
	10,0	17,20	109,1
E	0,00	9,83	
	5,00	14,25	94,1
	10,0	20,05	102,23

5.12.11 Efeito de interferentes

Segundo Anthemidis; Martavaltzoglou (2006) a reação de arsênio inorgânico, nos estados de oxidação III e V, com boro-hidreto de sódio para a formação de arsina, não sofre interferência significativa de outras espécies químicas, como fósforo e silício.

O mesmo é descrito por Kundu et al., (2002a) e Kundu et al., (2002b) onde o arsênio inorgânico reage com boro-hidreto de sódio, na presença de azul de metileno em meio micelar. Infelizmente, por uma questão de tempo hábil, não houve como se confirmar a inexistência de potenciais interferentes tal qual descrito pelos autores citados.

5.13 Figuras de mérito

Para avaliar o desempenho global do sistema desenvolvido foram avaliados alguns parâmetros considerados importantes, tais como: exatidão, precisão, faixa linear, limite de detecção, limite de quantificação, desvio padrão do branco (SD), sensibilidade, recuperação e repetibilidade; os quais foram apresentados nos itens precedentes. A precisão e exatidão do procedimento proposto foram avaliadas através da aplicação do test-t student. Na Tabela 5.5 são resumidas as figuras de mérito do procedimento proposto. Em comparação com os procedimentos tomados como referência, observa-se que o procedimento proposto apresenta vantagens significativas, principalmente em relação ao volume de efluente gerado, frequência de amostragem, consumo de amostra e limite de detecção. Também, observa-se que a faixa de resposta linear, embora mais estreita, a solução de referência de menor concentração é 8 vezes menor que a menor concentração empregada nos dois artigos. Este valor ($2,5 \mu\text{g L}^{-1}$) é 4 vezes menor do que o estabelecido pela ANVISA para água potável.

Tabela 5.5 - Figuras de mérito para o método proposto para a determinação de arsênio em águas.

Parâmetro ²⁶	Procedimento Proposto	Referência ²⁷	Referência ²⁸
Massa de NaBH ₄	0,04 µg	**	0,01 µg
Massa de azul de metileno	0,005 µg	**	0,0025 µg
Volume de amostra	500 µL	75 µL	75 µL
Volume de efluente gerado	2 mL	3,5 mL	3,5 mL
Faixa resposta linear	2,5 a 40 µg L ⁻¹	20 a 120 µg L ⁻¹	20 a 120 µg L ⁻¹
Frequência analítica	25 h ⁻¹	**	10 h ⁻¹
Coefficiente de correlação (r)	-0,99223	-0,9937	**
Coefficiente angular (a)	-3,88 10 ⁻⁴	**	**
Ponto de interseção (b)	0,28106	**	**
LD	0,3 µg L ⁻¹	30 µg L ⁻¹	30 µg L ⁻¹

** valores não encontrados ou não disponibilizados na referência pesquisada.

5.14 Conclusões

O uso do processo de multicomutação em fluxo permitiu a determinação de arsênio em água potável empregando a reação do azul de metileno em meio micelar

²⁶ Resultados calculados por determinação

²⁷ Resultados estimados por determinação conforme Kundu et al., (2002a).

²⁸ Resultados estimados por determinação conforme Kundu et al., (2002b).

com a arsina decorrente da formação de hidreto. O método atende às determinações estabelecidas pela porta 518/2004 do Ministério da Saúde. As amostras de água analisadas estão em conformidade com os teores de arsênio total estabelecido por Lei.

O método desenvolvido é simples, robusto, compacto, fácil de ser executado, apresenta ótima sensibilidade analítica ($LD = 0,3 \mu\text{g L}^{-1}$), não requer etapas de pré-tratamento da amostra. O consumo de reagentes e, conseqüentemente, o volume de efluentes gerado pelo método proposto é menor que o descrito por Kundu et al., (2002b) e Kundu et al., (2002a). A implantação do método não requer grandes investimentos para sua implantação quando comparado a cromatografia de troca iônica. O método foi aplicado com sucesso na determinação arsênio em águas, com excelentes resultados em termos de precisão e exatidão, sendo uma boa alternativa para a determinação e monitoramento em empresas de saneamento.

A automação do método através do processo de multicomutação possibilitou maior versatilidade na inserção dos reagentes e amostras, minimizando o consumo dos mesmos e, por conseqüência, minimizou a geração de resíduos. Além disto, o procedimento desenvolvido minimiza o risco de contaminação por se tratar de um sistema fechado.

REFERÊNCIAS

REFERÊNCIAS¹

AMPABIRE, W. B.; BOYLE, D. R.; MICHEL, F. A. Geochemistry, genesis, and health implications of fluoriferous groundwaters in the upper regions of Ghana. **Environmental Geology**, Berlin, v. 33, p. 13-24, 1997.

ANTHEMIDIS, A. N.; MARTAVALTZOGLOU, E. K. Determination of arsenic(III) by flow injection solid phase extraction coupled with on-line hydride generation atomic absorption spectrometry using a PTFE turnings-packed micro-column. **Analytica Chimica Acta**, Amsterdam, v. 28, p. 413-418, 2006.

ANZAI, A. **Concentração de flúor em medicamentos pediátricos e risco de fluorose dentária**. 2003. 185 f. Dissertação (Mestrado em Odontologia) – Faculdade de Odontologia, Universidade de São Paulo, Bauru, 2003.

ARAÚJO, M. C. U.; GAIÃO, E. N.; SANTOS, S. R. B.; SANTOS, V. B.; NASCIMENTO, E. C. L.; LIMA, R. S. An inexpensive, portable and microcontrolled near infrared led-photometer for screening analysis of gasoline. **Talanta**, Amsterdam, v.75, p. 792-796, 2008.

BARRA, M. C.; SANTELLI, R. E.; ABRÃO, J. J.; GUARDIA, M.; Especiação de arsênio – uma revisão. **Química Nova**, São Paulo, v. 20, p. 58-70, 2000.

BARROW, G. M. **Físico-química**. 4. ed. Tradução de R. N. Damasceno; I. V. Leon. Rio de Janeiro: Reverté, 1982. Disponível em: http://books.google.com.br/books?id=adIF3yYloOIC&printsec=frontcover&source=gbs_v2_summary_r&cad=0#v=onepage&q=Henry&f=false. Acesso em: 08 mar. 2010.

¹De acordo com a Associação Brasileira de Normas Técnicas. NBR 6023.

REFERÊNCIAS¹

BEHARI, J. R.; PRAKASH, R. Determination of total arsenic content in water by atomic absorption spectroscopy (AAS) using vapour generation assembly (VGA). **Chemosphere**, Oxford, v. 63, 2006, p. 17-21, 2006.

BELLÉ, B. L. L.; LACERDA, V. R.; CARLI, A. D.; ZAFALON, E. J.; PEREIRA, P. Z. Análise da fluoretação da água de abastecimento público da zona urbana do município de Campo Grande (MS). **Ciência & Saúde Coletiva**, Rio de Janeiro, v. 14, p. 1261-1266, 2009.

BERGAMIN, F. H.; ZAGATTO, E. A. G.; KRUG, F. J.; REIS, B. F. Merging zones in flow injection analysis. Part 1. Double proportional injector and reagent consumption. **Analytica Chimica Acta**, Amsterdam, v. 101, p. 17-23, 1978.

BETTERIDGE, D.; DAGLESS, E. L.; FIELDS, B.; GRAVES, F. A highly sensitive flow-through phototransducer for unsegmented continuous-flow analysis demonstrating high-speed spectrophotometry at the parts per 10^{-9} level and a new method of refractometric determinations. **The Analyst**, Cambridge, v. 103, p. 897-908, 1978.

BEZERRA, M. A.; FERREIRA, S. L. C. **Extração em ponto nuvem: princípio e aplicações em química analítica**. 1. ed. Vitória da Conquista: Editora UESB, 2006. 165 p.

BOLZAN, R. C. **Determinação de arsênio e cromo em insumos farmacêuticos contendo enxofre por espectrometria de absorção atômica com forno de grafite e análise direta de amostras sólidas**. 2007. 125 f. Tese (Doutorado em Química Analítica) – Universidade Federal de Santa Maria, Santa Maria, 2007.

¹De acordo com a Associação Brasileira de Normas Técnicas. NBR 6023.

REFERÊNCIAS¹

BRAMAN, R. S. Applications of arsine evolution methods to environmental analyses. **Environmental Health Perspectives**, Research Triangle Park, v. 19, p. 1-4, 1977.

BRASIL. Ministério da Saúde. Agência Nacional de Vigilância Sanitária. Portaria Nº 635, de 26 de dezembro de 1975. Aprova normas e padrões sobre a fluoretação da água, tendo em vista a Lei n.º 6050/74. **Diário Oficial da União**, Brasília, DF, 30 jan. 1976.

BRASIL. Ministério da Saúde. Divisão Nacional de Vigilância Sanitária de Alimentos. Portaria Nº 518, de 25 de março de 2004. Estabelece os procedimentos e responsabilidades relativos ao controle e vigilância da qualidade da água para consumo humano e seu padrão de potabilidade, e dá outras providências. **Diário Oficial da União**, Brasília, DF, 26 mar. 2004.

BRASIL. Ministério do Meio Ambiente. Conselho Nacional do Meio Ambiente. Resolução Nº 357, de 17 de março de 2005. Dispõe sobre a classificação dos corpos de água e diretrizes ambientais para o seu enquadramento, bem como estabelece as condições e padrões de lançamento de efluentes, e dá outras providências. **Diário Oficial da União**, Brasília, DF, 18 mar. 2005. Seção 1, p. 58-63.

CAMPOS, M. L.; GUILHERME, L.R. G.; LOPES, R. S.; ANTUNES, A. S.; MARQUES, S. J. J. G. M.; CURI, N. Teor e capacidade máxima de adsorção de arsênio em latossolos brasileiros. **Revista Brasileira de Ciência do Solo**, Viçosa, v. 31, p. 1311–1318, 2007.

CANTRELL, K. M.; INGLE, J. D. The slim spectrometer. **Analytical Chemistry**, Washington, v. 75, p. 27–35, 2003.

¹De acordo com a Associação Brasileira de Normas Técnicas. NBR 6023.

REFERÊNCIAS¹

CARDWELL, T. J.; CATTRALL, R. W.; MITRI, M. Flow-injection spectrophotometric determination of fluoride by using the zirconium/alizarin red S complex. **Analytica Chimica Acta**, Amsterdam, v. 214, p. 433-438, 1988.

CARDWELL, T. J.; CATTRALL, R. W.; MITRI, M. Gas diffusion with preconcentration for the determination of fluoride in water samples by flow injection. **Talanta**, Amsterdam, v. 41, p. 115-123, 1994.

CHINOY, N. J.; SHUKLA, S.; WALIMBE, S. A.; AHMEDABAD, B. S. Fluoride toxicity on rat testis and cauda epididymal tissue components and its reversal. **Fluoride**, Ahmedabad, v. 30, p. 41–50, 1997.

CORDERO, B. E. R.; CAÑIZARES-MACÍAS, M. P. Determination of bioavailable soluble arsenic and phosphates in mine tailings by spectrophotometric sequential injection analysis. **Talanta**, Amsterdam, v. 78, p. 1069–1076, 2009.

DASGUPTA, P. K.; EOM, I.; MORRIS, K. J.; LI, J. Light emitting diode-based detectors Absorbance, fluorescence and spectroelectrochemical measurements in a planar flow-through cell. **Analytica Chimica Acta**, Amsterdam, v. 500, p. 337–364, 2003.

DHAR, R.K.; ZHENG, Y.; RUBENSTONE, J.; GEEN, A. V. A rapid colorimetric method for measuring arsenic concentrations in groundwater. **Analytica Chimica Acta**, Amsterdam, v. 526, p. 203–209, 2004.

DIAS, A. C. B. **Sistemas de análises químicas em fluxo explorando mult-impulsão e detecção espectrofotométrica**: aplicação a formulações farmacêuticas e a extratos de solos. 2006. 143 f. Tese (Doutorado em Ciências) – Centro de Energia Nuclear na Agricultura, Universidade de São Paulo, Piracicaba, 2006.

¹De acordo com a Associação Brasileira de Normas Técnicas. NBR 6023.

REFERÊNCIAS¹

DIAS, A. C. B.; SANTOS, J. L. M.; LIMA, J. L. F. C.; QUINTELLA C. M.; LIMA, A. M. V.; ZAGATTO, E. A. G. A critical comparison of analytical flow systems exploiting streamlined and pulsed flows. **Analytical and Bioanalytical Chemistry**, Berlin, v. 388, p. 1303–1310, 2007.

ELLWOOD, M. J.; MAHER, W. A. Measurement of arsenic species in marine sediments by high-performance liquid chromatography–inductively coupled plasma mass spectrometry. **Analytica Chimica Acta**, Amsterdam, v. 477, p. 279–291, 2003.

FARAJ-ZADEH, M. A.; KALHOR, E. G. Extraction-spectrophotometric method for determination of fluoride in the range of microgram per liter in natural waters. **Mikrochimica Acta**, Wein, v. 137, p. 169–171, 2001.

FAWELL, F.; BAILEY, J.; CHILTON, J.; DAHI, E.; FEWTRELL, L.; MAGARA, Y. **Fluoride in drinking-water**. 1. ed. Geneva: World Health Organization, 2006. 9 p.

FEJERSKOV, O.; BAELUM, V.; MANJI, F.; MOL LER, I. J. **Fluorose dentária: um manual para profissionais de saúde**. 1. ed. São Paulo: Editora Santos, 1994. 122 f.

FERES JUNIOR, M. A. **Desenvolvimento de um fotômetro portátil e de procedimentos analíticos automáticos para determinação de ânions e cátions em fontes de captação de águas para uso doméstico e industrial**. 2006. 124 f. Tese (Doutorado em Ciências) – Centro de Energia Nuclear na Agricultura, Universidade de São Paulo, Piracicaba, 2006.

FILAPPI, A.; PRESTES, D.; ROCHA, R.; SCHOSLLER, R. D.; BONDAN, C.; BRAGANÇA, F. J.; CECIM, M. Qualidade seminal e histomorfometria dos órgãos reprodutivos de ovinos tratados com fluoreto de sódio. **Ciência Rural**, Santa Maria, v.38, p. 2561–2566, 2008.

¹De acordo com a Associação Brasileira de Normas Técnicas. NBR 6023.

REFERÊNCIAS¹

FLASCHKA, H.; MCKEITHAN, C.; BARNES, R. Light emitting diodes and phototransistors in photometric modules. **Analytical Letters**, New York, v. 6, p. 585–594, 1973.

FONSECA, A.; RAIMUNDO, I. M. A multichannel photometer based on an array of light emitting diodes for use in multivariate calibration. **Analytica Chimica Acta**, Amsterdam, v. 522, p. 223-229, 2004.

FOWLER, B. A.; SELENE, C. H.; CHOU, J.; JONES, R. L.; CHEN, C. J. **Handbook on the toxicology of metals**. 3. ed. Amsterdam: Elsevier, 2007. 1024 p.

GARRIDO, M.; LISTA, A. G.; PALOMEQUE, M.; BAND, B. S. F. Fluorimetric determination of fluoride in a flow assembly integrated on-line to an open/closed FIA system to remove interference by solid phase extraction. **Talanta**, Amsterdam, v. 58, p. 849-853, 2002.

GRASSI, V. **Polímeros molecularmente impressos (MIPs) como extratores de fase sólida em sistemas de análise em fluxo**. 2008. 202 p. Tese (Doutorado em Ciências) – Centro de Energia Nuclear na Agricultura, Universidade de São Paulo, Piracicaba, 2008.

GÜBELI, T.; CHRISTIAN, G. D.; RUZICKA, J. Fundamentals of sinusoidal flow sequential injection spectrophotometry. **Analytical Chemical**, Washington, v. 63, p. 2407–2413, 1991.

¹De acordo com a Associação Brasileira de Normas Técnicas. NBR 6023.

REFERÊNCIAS¹

GUIOCHON, G. A.; BEAVER, L. A. Progress and future of instrumental analytical chemistry applied to the environment. **Analytica Chimica Acta**, Amsterdam, v. 524, p. 1–14, 2004.

HAIT, S. K.; MOULIK, S. P. Determination of Critical Micelle Concentration (CMC) of Nonionic Surfactants by Donor–Acceptor Interaction with Iodine and Correlation of CMC with Hydrophile–Lipophile Balance and Other Parameters of the Surfactants. **Journal of Surfactants and Detergents**, Berlin, v. 4, p. 303-309, 2001.

HOOP, M. A. G. T. V. D.; CLEVEN, R. F. M. J.; STADEN, J. J.; NEELE, V. J. Analysis of fluoride in rain water Comparison of capillary electrophoresis with ion chromatography and ion-selective electrode potentiometry. **Journal of Chromatography A**, Amsterdam, v. 739, p. 241-248, 1996.

JANKOWSKY, I. P. Fundamentos de preservação de madeiras. **Documentos Florestais**, Piracicaba, v. 11, p. 1-12, 1990. Disponível em: <http://www.ipef.br/publicacoes/docflorestais/cap11.pdf>. Acesso em: 17 ja. 2010.

JONES, P. Development of a high-sensitivity ion chromatography method for the determination of trace fluoride in water utilizing the formation of the AlF^{2+} species. **Analytica Chimica Acta**, Amsterdam, v. 258, p. 123-127, 1992.

KARADJOVA, I. B.; LAMPUGNANI, L.; ONOR, M.; D'ULIVOB, A.; TSALEV, D. L. Continuous flow hydride generation-atomic fluorescence spectrometric determination and speciation of arsenic in wine. **Spectrochimica Acta Part B: Atomic Spectroscopy**, Oxford, v. 60, p. 816-823, 2005.

¹De acordo com a Associação Brasileira de Normas Técnicas. NBR 6023.

REFERÊNCIAS¹

KINGSTON, H. M.; KINGSTON, M. L. Nomenclature in laboratory robotics and automation (IUPAC Recommendation 1994). **The Journal of Automatic Chemistry**, New York, v.16, p. 43-57, 1994.

KOMATI, S. H. **Flúor em água e prevalência de fluorose no Estado de São Paulo**. 2008. 89 f. Dissertação (Mestrado em Geociências) – Instituto de Geociências, Universidade Estadual de Campinas, Campinas, 2008.

KORN, M.; GOUVEIA, L. F. B. P.; OLIVEIRA, E; REIS, B. F. Binary search in flow titration employing photometric end-point detection. **Analytica Chimica Acta**, Amsterdam, v. 308, p. 177-184, 1995.

KOVÁCS, M.; NAGY, M. H.; BORSZÉKI, J.; HALMOS, P. Indirect determination of fluoride in aqueous samples by inductively coupled plasma atomic emission spectrometry following precipitation of CeF₃. **Journal of Fluorine Chemistry**, Lausanne, v. 130, p. 562-566, 2009.

KRONKA, E. A. M.; REIS, B. F. Multicomutação e amostragem binária em análise química em fluxo. Determinação espectrofotométrica de ortofosfato em águas naturais. **Química Nova**, São Paulo, v. 20, p. 372-376, 1997.

KRONKA, E. A. M.; REIS, B. F.; KORN, M.; BERGAMIN, H. Multicommutation in flow analysis. Part 5: Binary sampling for sequential spectrophotometric determination of ammonium and phosphate in plant digests. **Analytica Chimica Acta**, Amsterdam, v. 334, p. 287-293, 1996.

¹De acordo com a Associação Brasileira de Normas Técnicas. NBR 6023.

REFERÊNCIAS¹

KUNDU, S.; GHOSH, S. K.; MANDAL, M.; PAL, T. Silver and gold nanocluster catalyzed reduction of methylene blue by arsine in micellar medium. **Bulletin of Materials Science**, Bangalore, v. 25, p. 577-579, 2002.

KUNDU, S.; GHOSH, S. K.; MANDAL, M.; PAL, T.; PAL, A. Spectrophotometric determination of arsenic via arsine generation and in-situ colour bleaching of methylene blue (MB) in micellar medium. **Talanta**, Amsterdam, v. 58, p. 935-942, 2002.

LAGO, C. L.; SILVA, J. A. F. Módulo eletrônico de controle para válvulas solenóides. **Química Nova**, São Paulo, v. 25, p. 842-843, 2002.

LAPA, R. A. S.; SANTOS, J. L. M.; LIMA, J. L. F. C.; REIS, B. F.; ZAGATTO, E. A. G. Multi-pumping in flow analysis: concepts, instrumentation, potentialities. **Analytica Chimica Acta**, Amsterdam, v. 466, p. 125-132, 2002.

LAVORANTE, A. F. **Desenvolvimento de instrumentação e procedimentos analíticos automáticos para a determinação espectrofotométrica de tensoativos em águas**. 2006. 171 f. Tese (Doutorado em Ciências) – Centro de Energia Nuclear na Agricultura, Universidade de São Paulo, Piracicaba, 2006.

LE, X. C.; MA, M. Speciation of arsenic compounds by using ion-pair chromatography with atomic spectrometry and mass spectrometry detection. **Journal of Chromatography A**, Amsterdam, v. 764, p. 55-64, 1997.

MALCOLME-LAWES, D. J.; PASQUINI, C. A novel approach to non-segmented flow analysis: Part 3. Nitrate, nitrite and ammonium in waters. **Journal of Automatic Chemistry**, New York, v. 10, p. 192-197, 1988.

¹De acordo com a Associação Brasileira de Normas Técnicas. NBR 6023.

REFERÊNCIAS¹

MARTÍNEZ-BRAVO, Y.; ROIG-NAVARRO, A. F.; LÓPEZ, F. J.; HERNÁNDEZ, F. Multielemental determination of arsenic, selenium and chromium(VI) species in water by high-performance liquid chromatography–inductively coupled plasma mass spectrometry. **Journal of Chromatography A**, Amsterdam, v. 926, p. 265–274, 2001.

MARTINS, E. M. **Projeto de um conversor analógico/digital ultra-rápido bipolar tipo folding com uma nova técnica de interpolação**. 1996. 130 f. Dissertação (Mestrado em Engenharia Elétrica) – Instituto de Engenharia Elétrica e Computação, Universidade Estadual de Campinas, Campinas, 1996.

MASINI, J. C. Demonstrando os fundamentos, potencialidades e limitações da análise por injeção seqüencial. **Química Nova**, São Paulo, v. 31, n. 3, p. 704-708, 2008.

MATSUNAGA, H.; KANNO, C.; YAMADA, H.; TAKAHASHI, Y.; SUZUKI, T. M. Fluorometric determination of fluoride ion by reagent tablets containing 3-hydroxy-2-sulfoflavone and zirconium(IV) ethylenediamine tetraacetate. **Talanta**, Amsterdam, v. 68, p. 1000-1004, 1996.

MAYA, F.; ESTELA, J. M.; CERDÀ, V. Interfacing on-line solid phase extraction with monolithic column multisyringe chromatography and chemiluminescence detection: An effective tool for fast, sensitive and selective determination of thiazide diuretics. **Talanta**, Amsterdam, v. 80, p. 1333-1340, 2010.

MENON, S. K.; MEHTA H. S.; PARIKH, V. B.; PAL, U. Liquid membrane transportation of fluoride ions with alizarin based azacrown ether Zr-complex. **Journal of Fluorine Chemistry**, Lausanne, v. 127, p. 1228–1234, 2006.

¹De acordo com a Associação Brasileira de Normas Técnicas. NBR 6023.

REFERÊNCIAS¹

MEYLING, A. H.; MEYLING, J. A modified zirconium–alizarin method for determining fluoride in natural waters. **The Analyst**, Cambridge, v. 88, p. 84-87, 1963.

MANIASSO, N. Ambientes micelares em química analítica. **Química Nova**, São Paulo, v. 24, p. 87-93, 2001.

MARTELLI, P. B.; REIS, B. F.; KORN, M.; LIMA, J. L. F. C. Automatic potentiometric titration in monosegmented flow system exploiting binary search. **Analytica Chimica Acta**, Amsterdam, v. 387, p. 165-173, 1999.

MORALES-RUBIO, Á.; PIRES, C. K.; REIS, B. F.; GUARDIA, M. Speciation of chromium in natural waters by micropumping multicommutated light emitting diode photometry. **Talanta**, Amsterdam, v. 72, p. 1370-1377, 2007.

MORITA, K.; KANEKO, E. Spectrophotometric determination of arsenic in water samples based on micro particle formation of ethyl violet–molybdoarsenate. **Analytical Sciences**, Tokyo, v. 22, p. 1085-1089, 2006.

MOSKVIN, L. N.; KATRUZOV, A. N.; NIKITINA, T. G. Ion-chromatographic determination of fluoride and chloride ions in high-purity water. **Journal of Analytical Chemistry**, Moscow, v. 53, p. 173-177, 1998.

MOTTA, S. Saneamento. In: ROUQUAYROL, M. Z. **Epidemiologia & saúde**. 4. ed. Rio de Janeiro: MEDS, 1993. cap. 12, p. 343-364.

NETO, J. A. G.; MONTES, R.; CARDOSO, A. A. Spectrophotometric detection of arsenic using flow-injection hydride generation following sorbent extraction preconcentration. **Talanta**, Amsterdam, v. 50, p. 959–966, 1999.

¹De acordo com a Associação Brasileira de Normas Técnicas. NBR 6023.

REFERÊNCIAS¹

NOLLET, L. M. L. **Handbook of water analysis**. 2. ed. Boca Raton: CRC Press, 2006. 754 p.

OLIVEIRA, M. C.; NOGUEIRA, R. F. P.; GOMES NETO, J. A.; JARDIM, W. F.; ROHWEDDER, J. J. R. Sistema de injeção em fluxo espectrofotométrico para monitorar peróxido de hidrogênio em processo de fotodegradação por reação foto-fenton. **Química Nova**, São Paulo, v. 24, p. 188-190, 2001.

PANAGOULIAS, T. I.; SILVA FILHO, E. V. **Estudo hidrogeoquímico do flúor nas águas subterrâneas das bacias dos rios Casseribú, Macacú e São João, Estado do Rio de Janeiro**. Niterói: Instituto de Química, Universidade Federal Fluminense, 2002. Disponível em: <http://www.uff.br/geoqui/bib/bibgeoq.htm>. Acesso em: 27 abr. 2009.

PARISSAKIS, G.; KONTOYANNAKOS, J. Structure of the zirconium-alizarin S complex in relation to pH changes. **Analytica Chimica Acta**, Amsterdam, v. 29, p. 220-226, 1963.

PASQUINI, C.; RAIMUNDO, I. M. Um fotômetro simples para Análise por Injeção em Fluxo. **Química Nova**, São Paulo, v. 1, p. 24-28, 1984.

PAULETO, A. R. C.; PEREIRA, M. L. T.; CYRINO, E. G. Saúde bucal: uma revisão crítica sobre programações educativas para escolares. **Ciência & Saúde Coletiva**, Rio de Janeiro, v. 9, p. 121-130, 2004.

¹De acordo com a Associação Brasileira de Normas Técnicas. NBR 6023.

REFERÊNCIAS¹

PETROPULU, M. O.; VARSAMIS, J.; PARISSAKIS, G. Speciation of arsenobetaine in marine organisms using a selective leaching/digestion procedure and hydride generation atomic absorption spectrometry. **Analytica Chimica Acta**, Amsterdam, v. 337, p. 323-327, 1997.

PIECH, R.; KUBIAK, W. W. Determination of trace arsenic with DDTC-Na by cathodic stripping voltammetry in presence of copper ions. **Journal of Electroanalytical Chemistry**, Lausanne, v. 599, p. 59-64, 2007.

PRETÉ, P. S. C. **Solubilização de membranas eritrocitárias: análise quantitativa do efeito hemolítico induzido por surfatantes**. 2006. 123 f. Tese (Doutorado em Biologia Funcional e Molecular) – Instituto de Biologia, Universidade Estadual de Campinas, Campinas, 2006.

Prichard, E.; Barwich, V. **Quality Assurance in Analytical Chemistry**, 1. ed. London, LGC, 2007, 318 p.

PUSHPALATHA, T.; SRINIVAS, M.; SREENIVASULA P. R. Exposure to high fluoride concentration in drinking water will affect spermatogenesis and steroidogenesis in male albino rats. **BioMetals**, Heidelberg, v. 18, p. 207-212, 2005.

REIS, B. F.; GINÉ, M. F.; ZAGATTO, E. A. G.; LIMA, J. L. F. C.; LAPA, R. A. Multicommutation in flow analysis. Part 1. Binary sampling: concepts, instrumentation and spectrophotometric determination of iron in plant digests. **Analytica Chimica Acta**, Amsterdam, v. 293, p. 129-138, 1994.

¹De acordo com a Associação Brasileira de Normas Técnicas. NBR 6023.

REFERÊNCIAS¹

REIS, B. F.; KRONKA, E. A. M.; VIEIRA, J. A.; BLANCO, T.; GERVASIO, A. P. G. Multicomotação e amostragem binária em análise química em fluxo. Determinação espectrofotométrica de ortofosfato em águas naturais. **Química Nova**, São Paulo, v. 20, p. 372-376, 1997.

REIS, B. F.; MARTELLI, P. B.; KRONKA, E. A. M.; KORN, M.; ZAGATTO, E. A. G. Multicommutation in flow analysis. Part.2. Binary sampling for spectrophotometric determination of nickel, iron and chromium in steel alloy. **Analytica Chimica Acta**, Amsterdam, v. 308, p. 397-400, 1995.

ROCHA, F. R. P.; RODENAS-TORRALBA E.; REIS B. F.; MORALES-RUBIO Á.; GUARDIA M. A portable and low cost equipment for flow injection chemiluminescence measurements. **Talanta**, Amsterdam, v.67, p. 673-677, 2005.

ROCHA, Z. M. **Microlaboratórios autônomos para minitoramento de parâmetros de qualidade de água**. 2009. 159 f. Tese (Doutorado em Engenharia) - Escola Politécnica, Universidade de São Paulo, São Paulo, 2009.

RÓDENAS-TORRALBA, E.; ROCHA, F. R. P.; REIS, B. F.; MORALES-RUBIO, Á.; GUARDIA, M. Evaluation of a multicommutated flow system for photometric environmental measurements. **Journal of Automated Methods and Management in Chemistry**, London, v. 2006, p. 1-9, 2006. DOI 10.1155/JAMMC/2006/20384.

RUZICKA, J. The second coming of flow-injection analysis. **Analytica Chimica Acta**, Amsterdam, v.261, p. 3-10, 1992.

RUZICKA, J.; HANSEN, E. H. Flow injection analysis – Where are we heading? **Trends in Analytical Chemistry**, Amsterdam, v. 17, n. 2, p. 69-73, 1998.

¹De acordo com a Associação Brasileira de Normas Técnicas. NBR 6023.

REFERÊNCIAS¹

RUZICKA, J.; HANSEN, E. H. Flow injection analysis, part I, a new concept of fast continuous flow analysis. **Analytica Chimica Acta**, Amsterdam, v.78, p. 145-147, 1975.

RUZICKA, J.; MARSHALL, G. D. Sequential injection: a new concept for chemical sensors, process analysis and laboratory assays. **Analytica Chimica Acta**, Amsterdam, v. 237, p. 329-343, 1990.

SANTOS P. E. **Determinação de espécies de arsênio, antimônio e chumbo em antimoniato de meglumina por espectrometria de absorção atômica após extração em fase sólida**. 2006. 110 f. Tese (Doutorado em Química) – Instituto de Química, Universidade Federal de Santa Maria, Santa Maria, 2006.

SANZ-MEDEL, A.; CAMPA, M. R. F.; GONZALEZ, E. B.; FERNANDEZ-SANCHEZ, M. L. Organised surfactant assemblies in analytical atomic spectrometry. **Spectrochimica Acta Part B: Atomic Spectroscopy**, Oxford, v. 54, p. 251-287, 1999.

SATHISH, R. S.; KUMAR, M. R.; RAO, G. N.; KUMAR, K. A.; JANARDHANA, C. A water-soluble fluorescent fluoride ion probe based on Alizarin Red S–Al(III) complex. **Spectrochimica Acta Part A: Molecular and Biomolecular Spectroscopy**, Oxford, v. 66, p. 457–461, 2007.

SICKLE, T. V. **Programming Microcontrollers in C**. 2. ed. Amsterdam: Elsevier, 2001. p. 123-148. Disponível em: http://books.google.com.br/books?id=i62vDVOJ3YgC&printsec=frontcover&dq=Programming+Microcontrollers+in+C&hl=pt-BR&ei=UoamS9T4Do2XtgeupJ2gCg&sa=X&oi=book_result&ct=result&resnum=1&ved=0CDUQ6AEwAA#v=onepage&q=&f=false. Acesso em: 15 jan. 2010.

¹De acordo com a Associação Brasileira de Normas Técnicas. NBR 6023.

REFERÊNCIAS¹

SILVA, E. C.; GAIÃO, E. N.; MEDEIROS, E. P.; LYRA, W. S.; MOREIRA, P. N. T.; VASCONCELOS, P. C.; ARAÚJO, M. C. U. Um fotômetro multi-led microcontrolado, portátil e de baixo custo. **Química Nova**, São Paulo, v. 28, p. 1102-1105, 2005.

SILVA, M. B. **Desenvolvimento de um fotômetro portátil usando LED como fotodetector e de procedimentos analíticos automáticos empregando multicomutação em fluxo**. 2008. 94 f. Tese (Doutorado em Química Analítica) – Centro de Ciências Exatas e de Tecnologia, Universidade Federal de São Carlos, São Carlos, 2008.

SILVA, M. B.; BORGES, S. S.; PERDIGÃO, S. R. W.; REIS, B. F. Green chemistry-sensitive analytical procedure for photometric determination of orthophosphate in river and tap water by use of a simple led-based photometer. **Spectroscopy Letters**, London, v. 42, p. 356-362, 2009.

SKOOG, D. A.; HOLLER, F. J.; NIEMAN, T. A. **Principles of instrumental analysis**. 5. ed. New York: Saunders College Publishing, 1998.

SMIDERLE, M.; REIS, B. F.; ROCHA, F. R. P. Monosegmented flow system exploiting multicommutation applied to spectrophotometric determination of manganese in soybean digests. **Analytica Chimica Acta**, Amsterdam, v. 386, p. 129-135, 1999.

SOUZA, A. A. **Um estudo da interação entre íons aromáticos e micelas, em cristais líquidos liotrópicos nemáticos e em soluções isotrópicos, por ressonância magnética nuclear**. 2001. 241 f. Tese (Doutorado em Química) – Instituto de Química, Universidade Estadual de Campinas, Campinas, 2001.

SVILAINIS, L. LED PWM dimming linearity investigation. **Displays**, Amsterdam, v. 29, p. 243–249, 2008. doi:10.1016/j.displa.2007.08.006. Acesso em: 15 jan. 2010.

¹De acordo com a Associação Brasileira de Normas Técnicas. NBR 6023.

REFERÊNCIAS¹

TOASSI, R. F. C.; KUHLEN, M.; CISLAGHI, G. A.; BERNARDO, J. R. Heterocontrole da fluoretação da água de abastecimento público de Lages, Santa Catarina, Brasil. **Ciência & Saúde Coletiva**, Rio de Janeiro, v. 12, p. 727-732, 2007.

UENO, K.; IMAMURA, T.; CHENG, K. L. **Handbook of organic analytical reagents**. 2. ed. Boca Raton: CRC Press, 1992. 615 p.

WADA, H.; MORI, H.; NAKAGAWA, G. Spectrophotometric determination of fluoride with lanthanum/alizarin complexone by flow injection analysis. **Analytica Chimica Acta**, Amsterdam, v. 172, p. 279-302, 1985.

WANG, T.; CHEN, L.; WU, H.; JIN, Y.; ZHANG, Y.; DOU, X.; Granulation of Fe–Al–Ce nano-adsorbent for fluoride removal from drinking water by spray coating on sand in a fluidized bed. **Powder Technology**, Lausanne, v. 193, p. 59–64, 2009.

WEINERT, P. L. **Desenvolvimento de métodos para determinação de sulfonamidas, dipirona e citrato de sildenafil em matrizes diversas**. 2008. 299 f. Tese (Doutorado em Química) – Instituto de Química, Universidade Estadual Paulista “Júlio de Mesquita Filho”, Araraquara, 2008.

WEST, L. **World water day: a billion people worldwide lack safe drinking water**. New York: About.com: Environmental Issues, 1992. Disponível em: <http://environment.about.com/od/environmentalevents/a/waterdayqa.htm>. Acesso em: 15 dez. 2009.

¹De acordo com a Associação Brasileira de Normas Técnicas. NBR 6023.

REFERÊNCIAS¹

WILMSHURST, T. **Designing Embedded Systems with PIC Microcontrollers: principles and applications**. [Electronic Resource]. 1. ed. San Diego: Elsevier, 2007. Disponível em: [http://books.google.com.br/books?id = bNK6NQKqhC4C&print sec = frontcover&source = gbs_v2_summary_r&cad = 0#v = onepage&q = &f = false](http://books.google.com.br/books?id=bNK6NQKqhC4C&printsec=frontcover&source=gbs_v2_summary_r&cad=0#v=onepage&q=&f=false). Acesso em: 23 mar. 2010.

WORLD HEALTH ORGANIZATION. **Guidelines for drinking-water quality [Electronic resource]**: Incorporating 1st and 2nd addenda. v.1. Recommendations. 3. ed. Geneva, 2008. 668 p. Disponível em: [http://www.who.int/water_sanitation_health/dwq/ GDWPrecomdrev1and2.pdf](http://www.who.int/water_sanitation_health/dwq/GDWPrecomdrev1and2.pdf) Acesso em: 09 jan. 2010.

XU, X. R.; LI, H. B.; GU, J. D.; PAENG, K. J. D. Determination of fluoride in water by reversed-phase high-performance liquid chromatography using F⁻La³⁺-alizarin complexone ternary complex. **Chromatographia**, New York, v. 59, p. 745-747, 2004.

YANG, X.; QI, H.; WANG, L., SU, Z.; WANG, G. A ratiometric fluorescent probe for fluoride ion employing the excited-state intramolecular proton transfer. **Talanta**, Amsterdam, v. 80, p. 92-97, 2009.

ZANCO, W. S. **Microcontroladores PIC 16F628A/648A – uma abordagem prática e objetiva**. 1. ed. São Paulo: Editora Érica, 2005.

ZAPOROZHETS, O. A.; TSYUKALO, L. Y. Determination of fluoride and oxalate using the indicator reaction of Zr(IV) with methylthymol blue adsorbed on silica gel. **Analytica Chimica Acta**, Amsterdam, v. 597, p. 171–177, 2007.

¹De acordo com a Associação Brasileira de Normas Técnicas. NBR 6023.

REFERÊNCIAS¹

ZELENOVSKY, R.; MENDONÇA, A. **Introdução aos sistemas embutidos**. Rio de Janeiro, 2008. Disponível em: <http://www.mzeditora.com.br/artigos/embut.htm>. Acesso em: 09 jan. 2010.

ZITTEL, H. E.; FLORENCE, T. M. Voltammetric and spectrophotometric study of the zirconium-Alizarine Red S complex. **Analytical Chemistry**, Washington, v. 39, p. 320–326, 1967.

¹De acordo com a Associação Brasileira de Normas Técnicas. NBR 6023.