

UNIVERSIDADE DE SÃO PAULO  
CENTRO DE ENERGIA NUCLEAR NA AGRICULTURA

TUANNE DOS REIS DIAS

Desenvolvimento de instrumentação e procedimentos analíticos  
automáticos empregando fotometria em fase sólida para determinação de  
zinco em produtos farmacêuticos e água

Piracicaba

2010

TUANNE DOS REIS DIAS

Desenvolvimento de instrumentação e procedimentos analíticos  
automáticos empregando fotometria em fase sólida para determinação de  
zinco em produtos farmacêuticos e água

Dissertação apresentada ao Centro de  
Energia Nuclear na Agricultura da  
Universidade de São Paulo para obtenção  
do título de Mestre em Ciências

Área de Concentração: Química na  
Agricultura e no Ambiente

Orientador: Prof. Dr. Boaventura Freire dos  
Reis

Piracicaba

2010

AUTORIZO A 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**

Dias, Tuanne dos Reis

Desenvolvimento de instrumentação e procedimentos analíticos automáticos empregando fotometria em fase sólida para determinação de zinco em produtos farmacêuticos e água / Tuanne dos Reis Dias; orientador Boaventura Freire dos Reis. - - Piracicaba, 2010.

86 f.: il.

Dissertação (Mestrado – 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. Espectrofotometria 3. Produtos farmacêuticos sintéticos 4. Química analítica instrumental I. Título

CDU 543.33:535.24

*A Deus, por fazer de cada manhã o início de uma nova vida! É a Deus que devo esta conquista e a consagro para que a glória seja daquele que me fortalece.*

*À meus pais, Francisco e Ironilde, que são verdadeiramente meus maiores mestres! E aos meus irmãos Kalianna e Thiago, pelo incentivo e apoio.*

*A meu sobrinho e afilhado, Enzo, cujo sorriso faz renovar a esperança na alma.*

**Dedico!**

## AGRADECIMENTOS

*Ao bom Deus, pelo dom da vida e por permitir que eu chegasse até aqui. Agradeço o pouco que eu tenho, pois o pouco contigo é tudo o que preciso!*

*Aos meus pais, Francisco e Ironilde, pelo constante estímulo, compreensão e pelas orações! Simplesmente por dedicar suas vidas e seu imenso amor aos filhos.*

*Aos meus irmãos, Thiago e Kalianna, pela grande amizade, apoio e encorajamento.*

*A minha avó Maria Natália, por ter a mais deliciosa receita da felicidade: coragem e bom humor!*

*Aos meus primos Elma e Nilton, que me ajudaram a chegar até aqui (literalmente).*

*A Professora Elizabeth, que me ensinou os primeiros passos da pesquisa científica, me fazendo vislumbrar um ideal nesta profissão.*

*Ao Professor Boaventura, pelos conselhos, valiosos ensinamentos e atenção em todas as etapas deste trabalho.*

*Aos professores do departamento de Química Analítica Henrique Bergamín Filho.*

*Ao Programa de pós-graduação do CENA.*

*Às bibliotecárias do CENA, em especial à Marília, pela ajuda na formatação do trabalho.*

*Ao Conselho Nacional de Desenvolvimento Científico e Tecnológico, pela concessão da bolsa de mestrado.*

*Aos técnicos do laboratório de química analítica: Fátima, Tatinha, Mi e em especial à Sheila, pela disposição e amizade.*

*As minhas “fadas madrinhas” Andréia e Alessandra por terem sentido junto comigo, todas as angústias e felicidades, acompanhando cada passo de perto. Pelas agradáveis lembranças que serão eternamente guardadas em meu coração.*

*Aos colegas do Laboratório de Química Analítica: Carla, Gláucia, Andréia, Jeová, Alessandra, Milton (Piauí), Marcelo, Janete, Mário, Dário, Lídiane, Milton, Iracema, Tatiana, Rejane, Gabriel, Alexssandra e Alfredo, pela convivência.*

*Aos amigos “estrangeiros”, Nestor e Sofia, pela ajuda e pelos momentos de descontração. Foi um grande prazer conhecer vocês!*

*As funcionárias Cida e Sara, pelo carinho e exemplo de vida.*

*À Evânia e Sabrina, pelo carinho com que me acolheram! Agradeço por toda amizade e bondade. Com vocês tive o privilégio de presenciar a chegada de um anjo, chamado Luigi, um presente de Deus!*

*Aos amigos de São Carlos Quésia, Ulisses, Orlando e Adriano, por tornarem a minha caminhada mais valiosa.*

*Aos amigos da Paraíba Roberto Jefferson (bezerra) e Glauciene pela amizade e ajuda na conclusão deste trabalho.*

*Aos amigos de Imperatriz Jeová, Samara, Irenice e Fatinha, pelo incentivo, apoio e amizade.*

*Aos meus amigos e amigas, que embora não tenham contribuído diretamente, estão sempre ao meu lado. Agradeço a todos que, no anonimato, também participaram desta minha conquista. Minha eterna gratidão, com muito carinho. Obrigada!*

Flores e espinhos são belezas que se dão  
juntas. Não queira uma só. Elas não sabem viver  
sozinhas...

**Pe. Fábio de Melo**

...tenha felicidade bastante para tornar a  
vida doce, dificuldades para fazê-la forte, tristeza  
para fazê-la humana e esperança suficiente para  
fazê-la feliz!

**Clarisse Lispector**

## RESUMO

DIAS, T. R. **Desenvolvimento de instrumentação e procedimentos analíticos automáticos empregando fotometria em fase sólida para determinação de zinco em produtos farmacêuticos e água.** 2010. 86 f. Dissertação (Mestrado) - Centro de Energia Nuclear na Agricultura, Universidade de São Paulo, Piracicaba, 2010.

Neste trabalho, é proposto o desenvolvimento de instrumentação e procedimentos analíticos automáticos empregando fotometria em fase sólida para determinação de zinco em produtos farmacêuticos e água. Para implementação do procedimento analítico, todo o sistema foi acoplado a um computador através de uma interface eletrônica. Um software escrito em linguagem QuickBASIC 4.5 permite que o computador efetue o controle da adição das soluções da amostra e do eluente e faça aquisição de dados. O sistema de detecção é constituído de uma cela de fluxo contendo, um LED e um fotodiodo. A geometria da cela de fluxo possibilitava variar o comprimento do caminho óptico. O procedimento para determinação do zinco foi baseado na retenção do analito na fase sólida (TAN-C<sub>18</sub>), previamente inserida na cela de fluxo, seguido de uma etapa de eluição. Com os parâmetros analíticos otimizados obteve-se resposta linear na faixa de 0,05 a 0,85 mg L<sup>-1</sup> (R=0,995), limite detecção de 9,3 µg L<sup>-1</sup>, coeficiente de variação de 1,4% (n=10) e frequência de amostragem de 36 det h<sup>-1</sup>. O módulo de análise foi aplicado em amostras de produtos farmacêuticos e a exatidão dos resultados foi averiguada comparando com os resultados obtidos por espectrometria de emissão óptica com plasma acoplado indutivamente ICP-OES. Aplicando-se tratamento estatístico apropriado, observou-se que não havia diferença significativa ao nível de confiança de 95 %. Estes resultados comprovam a viabilidade do emprego de fotômetro de LED em fotometria em fase sólida.

**Palavras-chave:** Análise por injeção em fluxo, Multicomutação, Espectrofotometria em fase sólida, Zinco, Produtos farmacêuticos, Água.

## ABSTRACT

DIAS, T. R. **Desenvolvimento de instrumentação e procedimentos analíticos automáticos empregando fotometria em fase sólida para determinação de zinco em produtos farmacêuticos e água.** 2010. 86 f. Dissertação (Mestrado) - Centro de Energia Nuclear na Agricultura, Universidade de São Paulo, Piracicaba, 2010.

In this work, it is propose the instrumentation and automatic analytic procedures development using solid phase spectrophotometry for determination of zinc in pharmaceutical preparations and water. For analytic procedure implementation, the whole system was coupled to a computer through an electronic interface. A written software in language QuickBASIC 4.5 allows the computer makes the sample solutions addition control and of eluent and do data acquisition. The detection system is constituted of a flow cell contend, a LED and a photodiode. The flow cell geometry enabled vary the length of the optical path. The procedure for zinc determination was going based in analyte retention in the solid phase (TAN-C18), previously inserted in the flow cell, followed by an elution stage. With the optimized analytic parameters it obtained lineal answer in the band of 0,05 to 0,85 mg L<sup>-1</sup> (R=0,995), limit detection of 9,3 µg L<sup>-1</sup>, variation coefficient of 1,4% (n=10) and sampling throughput of 36 det h<sup>-1</sup>. The analysis module was going applied in pharmaceutical preparations samples and the exactness of the results was going ascertained comparing with the results obtained for inductively coupled plasma optic emission spectrometry of with ICP- its. Applying appropriated statistical treatment, it observed that there wasn't significant difference to the reliable level of 95 %. These results prove photometer job viability of LED in photometry in solid phase.

**Words-key:** Flow Injection Analysis, Multicommutation, Solid phase spectrophotometry, Zinc, Pharmaceutical preparations, Water.

## LISTA DE FIGURAS

|                    |  |    |
|--------------------|--|----|
| <b>Figura 1 -</b>  | Principais fontes de zinco.....  | 19 |
| <b>Figura 2 -</b>  | Etapas realizadas em SPE. ....   | 22 |
| <b>Figura 3 -</b>  | Esquema da interação de reagentes orgânicos em C <sub>18</sub> . ....  | 25 |
| <b>Figura 4 -</b>  | Estrutura química do 1-(2-tiazolilazo)-2-naftol (TAN). ....  | 26 |
| <b>Figura 5 -</b>  | Esquema da reação Zn(II) – TAN.....  | 27 |
| <b>Figura 6 -</b>  | Representação do equilíbrio nas formas do TAN.....   | 27 |
| <b>Figura 7 -</b>  | Diagrama de blocos de um sistema de análises em fluxo controlado por um microcomputador.....   | 31 |
| <b>Figura 8 -</b>  | Vista em corte da cela de fluxo. Fs – Representa a área, na qual o suporte sólido se encontra localizado, C <sub>18</sub> ; Pc – Suporte em acrílico; P – parafusos; Av – borracha; Cv – Guias de onda; Es e Ss – Orifício de entrada e saída dos fluidos, respectivamente, Det = fotodetector IPL 10530 DAL; LED, $\lambda = 590 \text{ nm}$ .....  | 42 |
| <b>Figura 9 -</b>  | Fotografias do suporte sólido inserido na cela de fluxo: <b>(A)</b> Reagente cromogênico adsorvido a sílica funcionalizada C <sub>18</sub> ; <b>(B)</b> Complexo Zn (II)-TAN-C <sub>18</sub> .....   | 42 |
| <b>Figura 10 -</b> | Diagrama de fluxo do módulo de análise empregado para determinação de zinco em fase sólida. V <sub>1</sub> , V <sub>2</sub> , e V <sub>3</sub> ; A (Amostra); Ta (solução recondicionadora - Tampão Hexamina 0,05 mol L <sup>-1</sup> e pH 6,2); HCl (solução eluente – 0,5 mol L <sup>-1</sup> ); DET (Fotômetro); Desc (descarte). T <sub>1</sub> , T <sub>2</sub> e T <sub>3</sub> tempo de acionamento das válvulas t <sub>0</sub> , t <sub>1</sub> , t <sub>2</sub> , e t <sub>3</sub> = inserção da amostra, leitura do sinal, inserção do eluente e lavagem, respectivamente..... | 43 |
| <b>Figura 11 -</b> | Espectro de absorção do complexo Zn-TAN-C <sub>18</sub> .....  | 45 |
| <b>Figura 12 -</b> | Registros obtidos para avaliar o efeito do fluido de recondicionamento. O primeiro conjunto de registros (esquerda) foi obtido usando uma solução hexamina com pH = 6,4; e segundo foi obtido substituindo a solução de hexamina por água. Os números sobre os registros correspondem às concentrações de 0; 0,15; 0,3; 0,55 e 0,85 mg L <sup>-1</sup> .....   | 46 |

|                    |   |    |
|--------------------|---|----|
| <b>Figura 13 -</b> | Efeito da vazão sobre a retenção na fase sólida. Nestes experimentos foram usadas soluções de referência de 0; 0,15; 0,55 e 0,85 mg L <sup>-1</sup> .....   | 48 |
| <b>Figura 14 -</b> | Efeito do volume da amostra no sinal analítico. Soluções de referência usadas: 0; 0,05; 0,15; 3,0; 0,55 e 0,85 mg L <sup>-1</sup> em pH= 6,4.....   | 50 |
| <b>Figura 15 -</b> | Efeito da acidez na formação do complexo. Sinais obtidos usando soluções de referência de 0,3 mgL <sup>-1</sup> de Zn(II).....  | 51 |
| <b>Figura 16 -</b> | Efeito da concentração da solução tampão. Sinais obtidos usando soluções de referência de 0,3 mg L <sup>-1</sup> de Zn (II) em pH 6,4 nas concentrações de 0,2; 0,5; 0,8 e 1,2 mol L <sup>-1</sup> .....  | 52 |
| <b>Figura 17 -</b> | Efeito da concentração de HCl na eluição. Emprego da vazão de 1 mL min <sup>-1</sup> , usando uma solução de referência com concentração de 0,5 mgL <sup>-1</sup> Zn(II) e volume de 667 µL.....  | 53 |
| <b>Figura 18 -</b> | Efeito da concentração do tensoativo no sinal analítico. Soluções de referência usadas: 0; 0,15; 3,0; 0,55 e 0,85 mg L <sup>-1</sup> .....  | 55 |
| <b>Figura 19 -</b> | Efeito da concentração de TAN, usado na imobilização do Zn (II), no sinal analítico. Soluções de referência usadas: 0; 0,05; 0,15; 3,0; 0,55 e 0,85 mg L <sup>-1</sup> .....  | 56 |
| <b>Figura 20 -</b> | Efeito do tempo de imobilização do reagente cromogênico. Imobilização com 0,039 mmol L <sup>-1</sup> de TAN, para todas as curvas. Soluções de referência usadas: 0; 0,15; 3,0; 0,55 e 0,85 mg L <sup>-1</sup> em pH= 6,4.....  | 58 |
| <b>Figura 21 -</b> | Efeito do comprimento da Cella de fluxo. Soluções de referência usadas: 0; 0,05; 0,15; 3,0; 0,55 e 0,85 mg L <sup>-1</sup> em pH= 6,4. Neste experimento, o intervalo de tempo para inserção das soluções de referência foi mantido em 40 s com vazão de 1,0 mL min <sup>-1</sup> ..... | 59 |
| <b>Figura 22 -</b> | Representação da divisão do caminho óptico da cela em regiões...  | 61 |
| <b>Figura 23 -</b> | Efeito do diâmetro da Cella de fluxo. Soluções de referência usadas: 0,05; 0,2; 0,3; 0,4 e 0,6 mg L <sup>-1</sup> em pH= 6,4.....   | 63 |
| <b>Figura 24 -</b> | (A) Sinais transientes referentes ao branco analítico, seguidos de soluções de referência contendo 0,05; 0,15; 0,3; 0,55; 0,85 mg L <sup>-1</sup> de zinco. (B) Sinais referentes ao branco.....  | 65 |
| <b>Figura 26-</b>  | Registro de sinais transientes obtidos com o sistema proposto. Da esquerda para a direita: sinais correspondem ao branco, soluções de referência de zinco a 0,05 mg L <sup>-1</sup> , 0,15 mg L <sup>-1</sup> , 0,3 mg L <sup>-1</sup> , 0,55   |    |

- mg L<sup>-1</sup>, 0,85 mg L<sup>-1</sup>, seguidos de amostras manipuladas com as concentrações de 0,097 mg. Equação de regressão linear: Absorb =0.1221 +0,4939X (R =0.9910)..... 67
- Figura 27** Registro de sinais transientes obtidos com o sistema proposto. Da esquerda para a direita: sinais correspondem ao branco, soluções de referência de zinco a 0,05 mg L<sup>-1</sup>, 0,15 mg L<sup>-1</sup>, 0,3 mg L<sup>-1</sup>, 0,55 mg L<sup>-1</sup>, 0,85 mg L<sup>-1</sup>, seguidos de amostras manipuladas com as concentrações de 0,192 mg, 0,289, 0,481 e 0,865 de zinco. Equação de regressão linear: Absorb =0.1291 +0,6679X (R =0.9898)..... 68
- Figura 28 -** Registro de sinais transientes obtidos com o sistema proposto. Da esquerda para a direita: sinais correspondem ao branco, soluções de referência de zinco a 0,1 mg L<sup>-1</sup>, 0,40 mg L<sup>-1</sup> e 0,85 mg L<sup>-1</sup>, seguidos de amostras farmacêuticas: Strestabss; Tongifort; Centrum e Life Vit. Equação de regressão linear: Absorb =0.1117 +0,46949X (R =0.995)..... 70
- Figura 29 -** Registro de sinais transientes obtidos com o sistema proposto. Da esquerda para a direita: sinais correspondem ao branco, soluções de referência de zinco a 0,05 mg L<sup>-1</sup>; 0,15 mg L<sup>-1</sup>; 0,3 mg L<sup>-1</sup>, 0,55 mg L<sup>-1</sup> e 0,85 mg L<sup>-1</sup>, seguidos das amostras de água. Equação de regressão linear: Absorb =0.1152 +0,4136X (R =0.998)..... 72

**LISTA DE TABELAS**

|                   |   |    |
|-------------------|---|----|
| <b>Tabela 1 -</b> | Parâmetros analíticos avaliados variando a vazão.....   | 48 |
| <b>Tabela 2 -</b> | Parâmetros analíticos avaliados variando o comprimento do caminho óptico.....                   | 60 |
| <b>Tabela 3 -</b> | Parâmetros analíticos avaliados variando a posição do caminho óptico.....                       | 62 |
| <b>Tabela 4 -</b> | Estudo dos interferentes.....   | 64 |
| <b>Tabela 5 -</b> | Características Analíticas do Método Proposto.....  | 65 |
| <b>Tabela 6 -</b> | Comparação do método proposto para amostras manipuladas.....                                    | 68 |
| <b>Tabela 7 -</b> | Comparação do método proposto para amostras de produtos farmacêuticos de origem industrial..... | 70 |
| <b>Tabela 8 -</b> | Resultados obtidos com amostras de água.....  | 72 |
| <b>Tabela 9 -</b> | Comparação das características dos procedimentos.....   | 73 |

## SUMÁRIO

|            |   |           |
|------------|---|-----------|
| <b>1.</b>  | <b>INTRODUÇÃO.....</b>  | <b>16</b> |
| <b>1.1</b> | <b>Considerações gerais.....</b>  | <b>16</b> |
| <b>1.2</b> | <b>Zinco.....</b>   | <b>17</b> |
| 1.2.1      | Zinco em água: implicações para a saúde humana.....   | 17        |
| 1.2.2      | Zinco em produtos farmacêuticos: implicações para a saúde humana.....   | 18        |
| <b>1.3</b> | <b>Procedimentos de separação e concentração.....</b>   | <b>21</b> |
| <b>1.4</b> | <b>Espectrofotometria em Fase Sólida – SPS.....</b>   | <b>23</b> |
| 1.4.1      | Fase reversa: Sílica Funcionalizada C <sub>18</sub> .....   | 24        |
| 1.4.2      | 1-(2-thiazolylazo)-2-naphthol – TAN.....  | 24        |
| <b>1.5</b> | <b>Multicomutação em Sistemas por Injeção em Fluxo.....</b>   | <b>28</b> |
| <b>1.6</b> | <b>Fotômetros baseados em LED.....</b>  | <b>32</b> |
| <b>1.7</b> | <b>Multicomutação em Sistemas de análise em Fluxo com detecção por espectrofotometria em fase sólida.....</b> | <b>33</b> |
| <b>2.</b>  | <b>OBJETIVOS.....</b>   | <b>37</b> |
| <b>3</b>   | <b>PARTE EXPERIMENTAL.....</b>  | <b>38</b> |
| <b>3.1</b> | <b>Equipamento e acessórios.....</b>  | <b>38</b> |
| <b>3.2</b> | <b>Reagentes e soluções.....</b>  | <b>38</b> |
| <b>3.3</b> | <b>Amostras de produtos farmacêuticos manipulados: Composição (por cápsula) e preparo.....</b>                | <b>39</b> |
| <b>3.4</b> | <b>Amostras de produtos farmacêuticos de origem industrial: Composição (por comprimido) e preparo.....</b>    | <b>40</b> |
| <b>3.5</b> | <b>Amostras de Água: Coleta e preparo.....</b>  | <b>40</b> |
| <b>3.6</b> | <b>Tratamento de resíduos.....</b>  | <b>41</b> |
| <b>3.7</b> | <b>Desenvolvimento experimental.....</b>  | <b>41</b> |
| <b>4.</b>  | <b>RESULTADOS E DISCUSSÃO.....</b>  | <b>45</b> |
| <b>4.1</b> | <b>Espectro de absorção do complexo Zn-TAN-C<sub>18</sub>.....</b>  | <b>45</b> |
| <b>4.2</b> | <b>Natureza da solução recondicionadora.....</b>  | <b>46</b> |
| <b>4.3</b> | <b>Efeito da vazão na retenção do zinco.....</b>  | <b>47</b> |

|        |  |    |
|--------|--|----|
| 4.4    | Efeito do Volume da amostra.....   | 49 |
| 4.5    | Efeito da acidez do meio na formação do complexo Zn (II)-TAN-C <sub>18</sub> .....   | 51 |
| 4.6    | Efeito da concentração da solução tampão.....  | 51 |
| 4.7    | Efeito do volume e concentração do eluente.....                                      | 52 |
| 4.8    | Efeito do volume de metanol para o condicionamento do suporte sólido.....            | 54 |
| 4.9    | Efeito da concentração do tensoativo.....  | 54 |
| 4.10   | Efeito da concentração de TAN.....   | 56 |
| 4.11   | Efeito do tempo de imobilização do TAN na sílica funcionalizada C <sub>18</sub> .... | 57 |
| 4.12   | Efeito do comprimento do caminho óptico.....   | 57 |
| 4.13   | Posição do caminho óptico em relação ao LED.....                                     | 61 |
| 4.14   | Efeito do diâmetro da cela.....  | 62 |
| 4.15   | Estudo de Interferentes.....   | 63 |
| 4.16   | Características do método proposto.....  | 64 |
| 4.17   | Estudo da estabilidade do procedimento ao longo do tempo.....                        | 65 |
| 4.18   | Determinação de zinco em amostras de produtos farmacêuticos.....                     | 66 |
| 4.18.1 | AMOSTRAS MANIPULADAS.....  | 67 |
| 4.18.2 | AMOSTRAS DE ORIGEM INDUSTRIAL.....   | 69 |
| 4.19   | Determinação de zinco em amostras de água.....                                       | 71 |
| 5.     | CONCLUSÕES.....  | 74 |
|        | REFERÊNCIAS.....   | 75 |

## 1- INTRODUÇÃO

### 1.1 - Considerações gerais

O zinco é essencial para a saúde humana, estando presente em mais de 300 enzimas<sup>1</sup>. Segundo a Organização Mundial de Saúde (OMS), doenças como pneumonia e desnutrição são responsáveis por grande parte da mortalidade infantil no mundo, sendo relacionadas aos baixos níveis de zinco no organismo. Portanto, torna-se necessário o desenvolvimento de métodos analíticos para o monitoramento dessa espécie química em amostras onde a baixa concentração é um fator limitante.

A busca por estratégias capazes de melhorar a sensibilidade de métodos espectrofotométricos, a fim de detectar analitos em concentrações cada vez mais baixas, têm despertado interesse em química analítica. Dentre essas estratégias, a combinação de reagentes orgânicos e suportes sólidos tem sido amplamente empregado, pois permite efetuar as etapas de pré-concentração e separação, além da quantificação na própria fase sólida. Nesse contexto, a automatização baseada no Sistema de Análise por Injeção em Fluxo (FIA)<sup>A</sup> assim como a Multicomutação em Análise em Fluxo (MCFA)<sup>B</sup>, apresentam características que possibilitam automatizar estas etapas do procedimento analítico, substituindo processos manuais de pré-concentração<sup>2</sup>.

Devido à sua versatilidade, os sistemas de análise por injeção em fluxo possibilitam a integração com outras técnicas de detecção, como a Espectrofotometria em Fase Sólida (SPS)<sup>C</sup>, fornecendo importantes características como baixo custo, simplicidade na montagem do módulo de análise e na operação. Isso possibilita a determinação do analito em uma concentração mais baixa tornando a sua aplicação possível em uma gama de procedimentos.

No acoplamento da espectrofotometria em fase sólida com sistemas MCFA, um suporte sólido é inserido na cela de fluxo, ocupando o volume interno, o qual é

---

<sup>A</sup>Do inglês Flow Injection Analysis.

<sup>B</sup>Do inglês Multicommutation Flow Analysis.

<sup>C</sup>Do inglês Solid Phase Spectrophotometry.

posicionado no caminho óptico de um espectrofotômetro<sup>3</sup>. Na SPS, um volume maior da solução da amostra pode ser utilizado na etapa de concentração, a qual o analito pode ser enriquecido, sem necessitar de uma eluição, o que possibilita a sua determinação em matrizes onde sua baixa concentração é um limitante para alguns métodos analíticos.

## 1.2 – Zinco

O Zinco é um metal de cor branca cristalina e de natureza quebradiça que à temperatura ambiente, apresenta ponto de fusão relativamente baixo para um metal (419,5°C)<sup>4; 5</sup>. É o 23º elemento mais abundante na crosta terrestre, constituindo cerca de 40 a 50% das jazidas minerais. Ocorre, quase que exclusivamente, no estado de oxidação +2 e na natureza é encontrado na forma de sulfeto (ZnS), principal mineral de interesse comercial<sup>6; 7</sup>.

Utilizado na natureza para inúmeros processos biológicos, o zinco vem sendo, por vezes, chamado de “elemento essencial”<sup>8</sup>. Por ser um metal completamente reciclável, pode ser utilizado em abrigos com custo admissível, promovendo a boa saúde e colaborando para a durabilidade dos sistemas de infra-estrutura e transportes, fornecendo um recurso sustentável<sup>9</sup>.

Como protetor do aço, este metal é efetivo no desenvolvimento da infra-estrutura pública e privada, prolongando a vida útil dos bens e estruturas de aço, reduzindo o custo da sua manutenção. Como um elemento natural ativo, é parte de todos os ecossistemas<sup>9</sup>.

### 1.2.1 – Zinco em água: implicações para a saúde humana

O zinco é considerado um elemento comum em águas superficiais, geralmente em concentrações abaixo de 10 µg L<sup>-1</sup> e em águas subterrâneas entre 10 e 40 µg L<sup>-1</sup>. Em água de torneira, a concentração pode ser elevada devido à dissolução do zinco das tubulações.

O zinco é considerado prejudicial à saúde, apenas quando ingerido em concentrações muito elevadas, entretanto, pode acumular-se em tecidos do organismo humano. A água com elevada concentração de zinco tem aparência leitosa e produz um sabor metálico ou adstringente quando aquecida<sup>10</sup>.

A preservação dos recursos hídricos é um paradigma atual, tornando cada vez mais importante o controle de agentes contaminantes. Entre os agentes mais tóxicos, destacam-se os metais pesados. Em vista disso, a importância do aprimoramento de técnicas analíticas visa melhorar a seletividade e a sensibilidade, possibilitando a determinação de concentrações cada vez mais baixas destas espécies<sup>7</sup>.

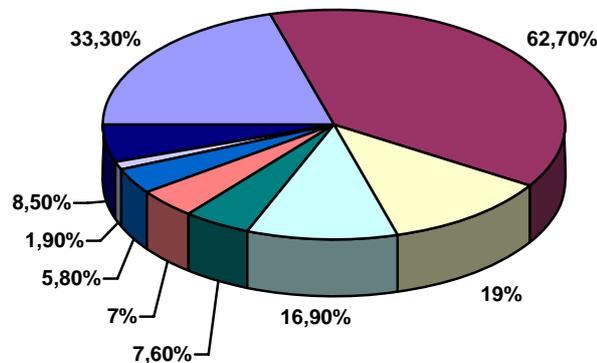
Em certas partes do mundo, a deficiência de zinco foi reconhecida há apenas 30 anos. As razões para o reconhecimento deste metal como um elemento essencial, estão relacionadas às funções vitais que o mesmo desempenha no metabolismo das plantas<sup>9</sup>.

Segundo a resolução nº 357 de 17 de março de 2005, estabelecida pelo Conselho Nacional do Meio Ambiente - CONAMA, o limite máximo permitido de zinco em águas tratadas e destinadas ao consumo humano e outras atividades é de 0,18 mg L<sup>-1</sup><sup>11</sup>. Para o Ministério da Saúde este limite atinge 5 mg L<sup>-1</sup>, segundo a portaria 518<sup>12</sup>.

### 1.2.2 – Zinco em produtos farmacêuticos: implicações para a saúde humana

Um elemento essencial para os seres humanos, animais e plantas, o zinco desempenha um papel crucial para muitas funções biológicas. O conteúdo total de zinco no organismo humano varia entre 1,5 g e 2,5 g<sup>13</sup>, estando presente em todos os órgãos e nos fluidos biológicos, sendo que os ossos contêm a maior parcela (90%). Este elemento participa de muitas reações do metabolismo celular, incluindo digestão, reprodução, crescimento físico, controle de diabetes, sistema imunológico, paladar, olfato, pele, cabelo e visão<sup>14</sup>.

Conforme mostra a Figura 1, as principais fontes de zinco para os seres humanos são: carne vermelha, aves, peixes, ostras, ovos, cereais, pães, vegetais verdes, batatas e frutas frescas, conforme a Figura 1<sup>14</sup>.



**Figura 1** - Principais fontes de zinco

A deficiência de zinco no organismo humano pode causar diarreia, comprometimento das capacidades cognitivas, problemas de comportamento, alterações de humor, comprometimento da memória, problemas de espaço, aprendizagem, atrofia neuronal, problemas de pele, perda de cabelo, retardo do crescimento, inflamação das pálpebras e infecções<sup>15</sup>.

De acordo com a OMS, doenças como pneumonia, diarreia, sarampo, malária e desnutrição são responsáveis por 70% de toda a mortalidade infantil no mundo. Para tanto, foram realizados estudos em vários países, e estes mostraram que o suplemento de zinco pode reduzir a incidência e a gravidade das doenças citadas acima, incluindo ainda, doenças respiratórias<sup>9</sup>. Concluiu-se também que o risco de deficiência de zinco é mais alto para crianças nos países em desenvolvimento<sup>9</sup>.

Atualmente a deficiência de zinco é reconhecida como um problema de saúde pública, em vista disto, a Associação Internacional do Zinco (IZA), em nome da indústria do zinco, vem apresentando programas no âmbito global dedicados a reduzir a deficiência nutricional de zinco na população. Além disso, a IZA tem coordenado a promoção e inclusão de zinco mais cedo na cadeia alimentícia, através da utilização de fertilizantes que contenham zinco em solos deficientes do metal – geralmente nos países em desenvolvimento<sup>16</sup>. Os suplementos alimentares apresentam-se como uma

estratégia para melhorar o cuidado à saúde, principalmente em grupos populacionais susceptíveis à deficiência.

Os produtos farmacêuticos são largamente consumidos, entretanto, o uso inadequado ou incorreto destes produtos pode causar sérias complicações ou até mesmo a morte, uma vez que estes produtos apresentam não só atividade farmacológica, mas também toxicidade e efeitos colaterais. Desta forma, é fundamental garantir a sua qualidade, eficácia e segurança<sup>17</sup>. Segundo a Agência Nacional de Vigilância Sanitária - ANVISA, um produto farmacêutico é qualquer medicamento tecnicamente obtido ou elaborado, com finalidade profilática, curativa, paliativa ou para fins de diagnóstico<sup>18</sup>. As doses diárias de zinco recomendadas para crianças de 1 a 10 anos são de 5,5 a 7,5 mg/dia, crianças entre 11 e 18 anos de 12 a 13 mg/dia, para adultos do sexo masculino de 9,5 mg/dia e mulheres 6,5 mg/dia<sup>19</sup>.

A toxicidade do zinco pode estar associada, principalmente, à automedicação (suplementação deliberada), resultando em náuseas, vômitos, letargia, diversas perturbações gástricas, fadiga, aumento do risco de doença coronária, dentre outras<sup>20</sup>. O zinco no estado fundamental ( $Zn^0$ ) tem baixa toxicidade, porém, no estado de oxidação +2, apresenta riscos à saúde<sup>21</sup>.

Os compostos de zinco têm atividade bactericida, podendo precipitar e desnaturar proteínas bacterianas. Por essa razão, este analito vem sendo também empregado em dermatologia<sup>22</sup>, odontologia<sup>23</sup> e em soluções oftalmológicas (agentes anti-séptico e desinfectante)<sup>24</sup>.

Dentre as técnicas analíticas usualmente empregadas para a determinação de zinco em diferentes matrizes, podemos citar a espectrofotometria UV-Vis<sup>25</sup>, espectrometria de absorção atômica<sup>26</sup>, espectrometria de emissão óptica com plasma indutivamente acoplado (ICP-AES)<sup>27</sup>, espectrofluorimetria<sup>28</sup>, voltametria<sup>29</sup>, dentre outras.

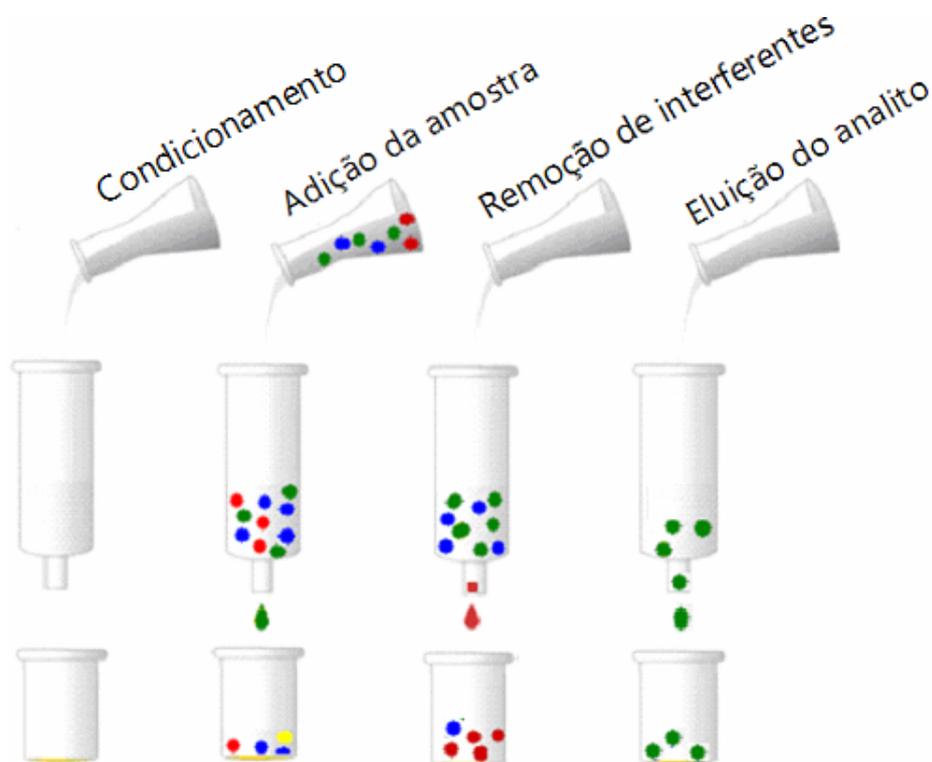
A espectrofotometria na região UV-Vis é uma das técnicas analíticas mais empregadas para a determinação de zinco. Contudo, a técnica apresenta limitações de sensibilidade, sendo necessária implantação de etapas preliminares de separação e concentração<sup>30</sup>.

### 1.3 – Procedimentos de separação e concentração

Em química analítica, o objetivo final é a quantificação da espécie de interesse, porém, há uma série de procedimentos que devem ser executados previamente à análise. Uma das técnicas que tem sido muito utilizada no processamento da amostra, visando a pré-concentração e/ou separação de interferentes, é a extração líquido-líquido<sup>31</sup>. A mesma baseia-se na solubilidade relativa do analito presente na amostra em dois solventes idealmente imiscíveis. Esta técnica é morosa, requer grandes volumes de solventes orgânicos, apresenta custo elevado e baixa repetibilidade/reprodutibilidade, além de envolver várias etapas de manipulação. Mesmo quando executada empregando procedimentos automáticos, ainda apresenta como desvantagem o uso de solventes agressivos ao operador e ao meio ambiente.

Para contornar os problemas citados, a extração em fase sólida é um procedimento bastante atrativo, pois minimiza o uso de solventes orgânicos. Este método vem sendo utilizado como uma alternativa à extração líquido-líquido no pré-tratamento da amostra para separação e enriquecimento do analito, possibilitando melhoria do limite de detecção<sup>32</sup>. Em um procedimento convencional, a quantificação do analito não é realizada no suporte sólido, mas em uma etapa posterior ao procedimento de extração. Portanto, pode-se efetuar uma retenção seletiva da espécie de interesse na fase sólida ou ainda realizar uma eluição seletiva<sup>33</sup>.

A seleção criteriosa do par fase móvel/fase estacionária é decisiva para a eficiência do processo de separação, seja ela uma simples extração de um grupo de substâncias ou a separação de analitos presentes num determinado material<sup>34</sup>. Na Figura 2 são ilustradas as etapas envolvidas em uma extração em fase sólida, processadas manualmente.



**Figura 2** - Etapas realizadas em SPE

Dentre os suportes sólidos mais usados, destacam-se as resinas de troca iônica, para adsorção e remoção de íons (resinas aniônicas, catiônicas, quelantes), suportes neutros, para adsorção de complexos apolar e vários tipos de polímeros, além da sílica e sílicas modificadas, celulose, alumina e carvão ativado<sup>35</sup>. Os mecanismos de retenção pela fase sólida dos analitos e de eluição ocorrem devido às forças intermoleculares entre o analito e a superfície da fase sólida, envolvendo interações do tipo eletrostáticas, dipolo-dipolo, dipolo-dipolo induzido, íon-dipolo, íon-íon e ligação de hidrogênio<sup>36</sup>.

A quantificação do analito diretamente na fase sólida pode ser realizada por fotometria, titulação, reflectometria, etc. Muitos procedimentos efetuam a pré-concentração e a detecção fotométrica na mesma etapa. Neste caso, o reagente orgânico (cromogênico) é imobilizado no suporte sólido e o composto formado com o analito também permanece imobilizado. A quantificação do analito pode ser efetuada

pela detecção espectrofotométrica com recursos para uso de cela de fluxo com fase sólida.

#### **1.4 – Espectrofotometria em Fase Sólida - SPS**

A espectrofotometria em fase sólida consiste na detecção direta do grau de atenuação da luminosidade incidente numa fase sólida, na qual o analito está retido. A principal característica desta técnica é a unificação das etapas de separação, concentração e detecção do analito<sup>37</sup>.

A primeira proposta de determinação espectrofotométrica em um suporte sólido foi apresentada por Yoshimura e colaboradores (1976), para determinação de cromo, ferro, cobalto e cobre empregando difenilcarbazida, 1,10-fenantrolina, tiocianato de amônio e zincon, respectivamente, imobilizados em resina de troca iônica, aumentando a sensibilidade de forma significativa<sup>38</sup>.

A fase sólida, que pode conter um reagente imobilizado, é utilizada para reter o analito, seguido de uma etapa de eluição, na qual a remoção do analito deve ocorrer sem eluir o reagente imobilizado. A detecção acontece simultaneamente à retenção do analito na fase sólida<sup>39</sup>.

A retenção do analito na fase sólida ocorre devido a interação direta da espécie com a fase sólida ou pela retenção de um produto da reação entre o analito e um reagente ou ainda, pela reação do analito com um reagente previamente imobilizado no suporte sólido<sup>40</sup>.

As principais vantagens entre a espectrofotometria convencional e a SPS são, melhores limites de detecção e redução significativa na quantidade de reagente cromogênico usado. A SPS pode envolver procedimentos em batelada ou contínuos, bem como procedimentos de pré-concentração em fase sólida empregando resina de troca iônica. Nos procedimentos em batelada, a fase sólida é submetida a um contato direto com o analito, em um recipiente sob agitação, para posterior transferência para uma cubeta e podem ser feitos de três maneiras: o suporte sólido é adicionado à amostra junto com o reagente cromogênico; o reagente cromogênico é sorvido

previamente no suporte sólido, em seguida é adicionada à amostra; e o analito é previamente sorvido no suporte sólido, e então o reagente cromogênico é adicionado<sup>41</sup>.

#### 1.4.1 – Fase reversa: Sílica Funcionalizada C<sub>18</sub>

O aumento da seletividade da extração é geralmente obtido pela modificação da superfície do suporte sólido com grupos funcionais. A seletividade da fase sólida em relação a certos íons metálicos é atribuída a fatores conhecidos, tais como a dimensão do suporte sólido usado para modificar o adsorvente e o tipo de grupo inserido<sup>42</sup>.

Para a determinação por espectrofotometria em fase sólida de vários compostos, tanto orgânicos quanto inorgânicos, pode-se empregar um grande número de materiais sólidos. Para a escolha da fase sólida é preciso observar alguns fatores, tais como: seletividade para extração do composto desejado, disponibilidade e tipo de amostra, tipo de solvente, técnica analítica a ser empregada e tempo de análise<sup>43</sup>.

As fases mais utilizadas comercialmente são do tipo reversa (C<sub>18</sub>, C<sub>8</sub>, etc.), ligadas ao suporte de sílica<sup>44</sup>. A sílica reage com um derivado clorado do silano, ligando o grupo alquílico (R) do reagente à estrutura básica da sílica, originando a fase quimicamente ligada<sup>45</sup>.

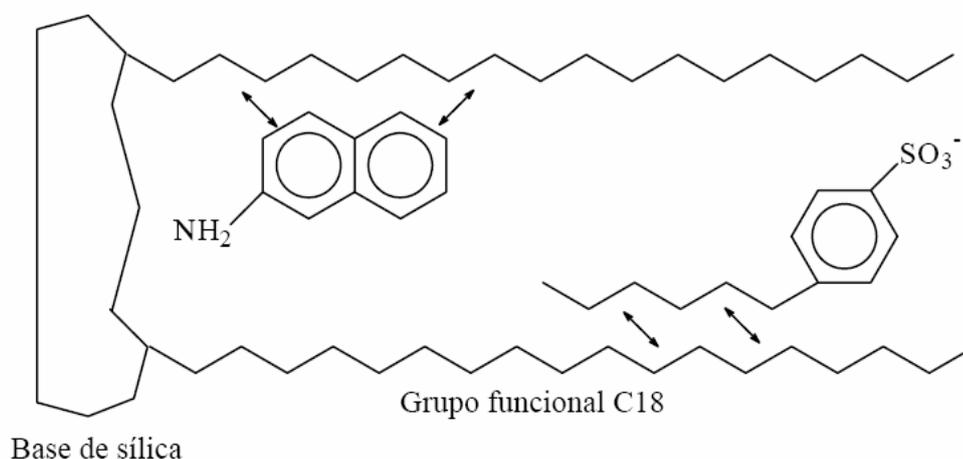
A atividade ácida de formação de pontes de hidrogênio do grupo silanol faz da superfície da sílica uma excelente superfície de adsorção. A ligação Si-OH é ácida de modo que pode ser ionizada, sendo bastante reativa. Isso permite a ligação química de radicais orgânicos, transformando-a em uma superfície “orgânica” pela formação de ligações C-Si modificando radicalmente as propriedades de interação do material [34].

A escolha do grupo definirá se a fase será apolar (R = C<sub>18</sub>, C<sub>8</sub>, C<sub>2</sub>, etc.) e, portanto, denominada fase reversa<sup>45</sup>.

#### 1.4.2 –1-(2-thiazolylazo)-2-naphthol - TAN

Na literatura são encontrados vários trabalhos utilizando reagentes orgânicos adsorvidos a suportes sólidos, a fim de melhorar parâmetros importantes, como seletividade e sensibilidade. Os reagentes da família azo compreendem o maior grupo

de reagentes orgânicos usados em análises espectrofotométricas<sup>46</sup>. Esses reagentes são caracterizados pela presença de grupos azo (-N=N-) oferecendo um amplo espectro de absorção, os quais são preparados pela diazotação da 2-aminothiazole e seus derivados e o acoplamento com substâncias aromáticas ou de outros compostos fenólicos. Esta reação ocorre em meio fortemente ácido e à baixas temperaturas (0 a 5°C). Entre esses compostos, o 1-(2-thiazolilazo)-2-naphtol (TAN) é um dos reagentes mais utilizados<sup>47</sup>. Na Figura 3 é mostrada a interação da fase sólida C<sub>18</sub> com reagentes orgânicos.



↔ Forças de Van der Waals (dipolo-induzido/dipolo-induzido)

**Figura 3** - Esquema da interação de reagentes orgânicos em C<sub>18</sub>

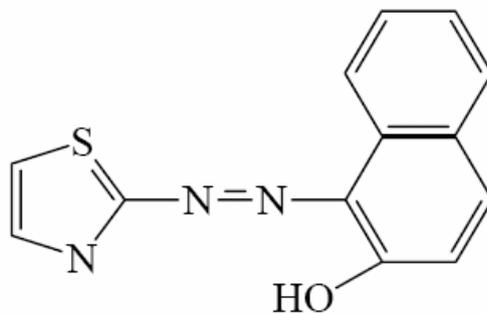
No caso da determinação espectrofotométrica do zinco, pode-se empregar diferentes reagentes cromogênicos sensíveis, dentre os quais podem ser citados a ditizona<sup>48</sup>, o 1-2-(2-piridilazo) -2-naphtol – PAN<sup>49</sup> e o zincon<sup>50</sup>, sendo este último, recomendado como método oficial pela Association of Official Analytical Chemists – AOAC. A característica básica desses reagentes é a falta de seletividade em relação ao zinco, exigindo a inserção de etapas para remoção dos interferentes<sup>51</sup>.

O reagente 1-(2-thiazolilazo)-2-naphtol (TAN) forma complexo com muitos cátions (Ni, Zn, Fe, V, Co, e Ti)<sup>52</sup>. Alguns trabalhos foram publicados empregando pré-

concentração em linha utilizando sílica funcionalizada C<sub>18</sub> como material adsorvente modificado com 1-(2-thiazolylazo)-2-naphthol, demonstrando algumas vantagens como estabilidade da fase sólida e alta velocidade de imobilização do TAN em C<sub>18</sub><sup>53; 54</sup>.

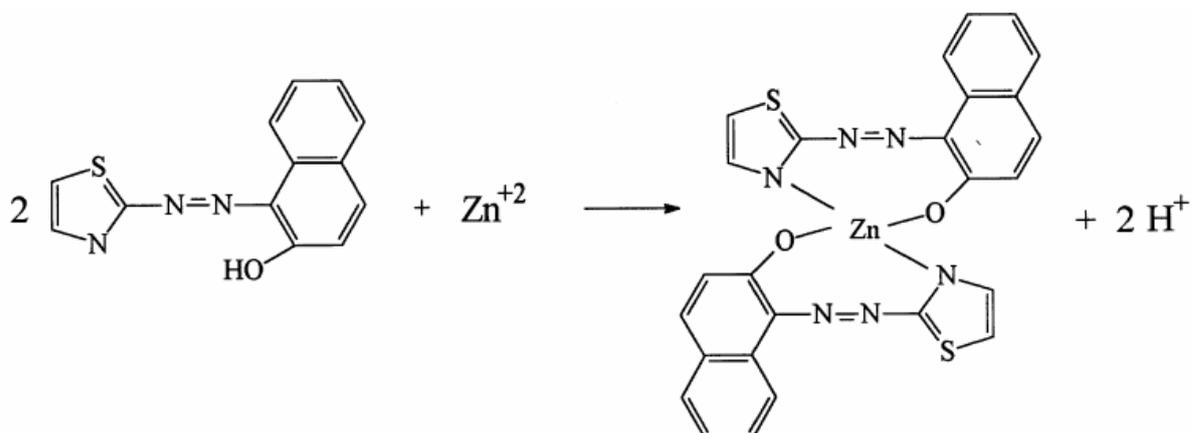
O primeiro trabalho envolvendo a combinação do TAN com sílica funcionalizada (C<sub>18</sub>) em procedimentos para separação e pré-concentração de metais, foi para determinação de zinco em matrizes ricas em cobre, usando a reação de zinco (II) com 1-(2-thiazolylazo)-2-naftol (TAN). A solução foi passada através de um cartucho C<sub>18</sub>, e o complexo Zn-TAN, com pH entre 6,5 e 8,0, foi retido quantitativamente. Nestas condições, não ocorria a retenção do cobre. O desvio-padrão relativo foi de 5,7% e a recuperação média encontrada para o zinco foi de 96%. Outros metais, como níquel, por exemplo, podem reagir com TAN da mesma forma como o zinco, mas eles não interferem na absorção em 213,856 nm<sup>27</sup>.

A Figura 4 apresenta a fórmula estrutural do 1-(2-thiazolylazo)-2-naphthol (TAN), que é um sólido de cor laranja. As soluções de TAN são amareladas em meio ácido, alaranjadas em meio ligeiramente ácido ou neutro e violeta em meio alcalino<sup>55</sup>.



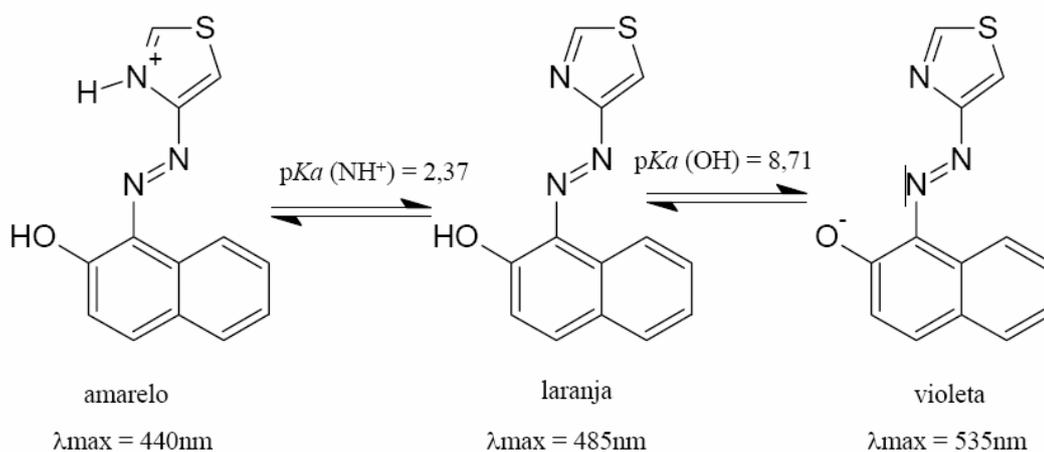
**Figura 4** - Estrutura química do 1-(2-tiazolilazo)-2-naftol (TAN)

Este reagente apresenta propriedades relativas à complexação de metais de transição, como mostra a Figura 5, que o torna adequado para aplicação em procedimentos de separação e pré-concentração de metais em amostras aquosas<sup>55</sup>.



**Figura 5** - Esquema da reação Zn (II) - TAN

Porém, é um reagente de baixa solubilidade em meio aquoso, requerendo o emprego de solventes orgânicos. A Figura 6 mostra as mudanças de coloração associadas com a dissociação do próton<sup>56</sup>.



**Figura 6** - Representação do equilíbrio nas formas do TAN

Em soluções ácidas, observa-se a formação do íon protonado solúvel em água. Em meio neutro ou levemente ácido/básico, o TAN ocorre como uma molécula neutra solúvel em solvente orgânico. Em soluções básicas, o TAN sofre desprotonação formando o ânion solúvel em água<sup>46</sup>.

Kawase (1965), avaliou a determinação de alguns metais, empregando reagentes cromogênicos derivados do 2-(2-thiazolylazo)phenol. Neste trabalho, o autor recomenda o reagente 1-(2-thiazolylazo)-2-naphthol para a determinação de zinco<sup>57</sup>.

Bhalotra & Puri (1999), determinaram zinco usando espectrofotometria utilizando TAN como reagente cromogênico e tetrafenilborato de amônio (ATPB)-naftaleno como um adsorvente. O complexo Zn-TAN era retido sobre naftaleno com pH entre 6,5 e 9,5. O método desenvolvido foi utilizado para a determinação de zinco em amostras ambientais e farmacêuticas<sup>58</sup>. Ferreira *et al.*, estudaram a reação do TAN com zinco (II) na presença de Triton X-100, formando um complexo vermelho com composição 01:02 Zn (II)-TAN e máximo de absorção em 582 nm, na faixa de pH 6,20 - 8. O método proposto foi utilizado para a determinação de zinco em ligas à base de cobre<sup>59</sup>.

O TAN tem atraído muita atenção por apresentar maior sensibilidade para a espectrofotometria e extração de muitos metais. Os inconvenientes decorrentes da aplicação da espectrofotometria em fase sólida podem ser evitados empregando sistemas de análise em fluxo, nos quais a detecção é feita simultaneamente com as etapas de retenção e concentração do analito. Isso dispensa medidas em diferentes comprimentos de onda e permite o emprego de um espectrofotômetro monocanal<sup>60</sup>.

### **1.5 – Multicomutação em Sistemas por Injeção em Fluxo**

O desenvolvimento de recursos ligados à automação possibilita o processamento de um grande número de amostras, minimizando o tempo das análises sem comprometer a qualidade dos resultados. Neste contexto, pode-se aplicar o processo de análise por injeção em fluxo e suas variantes<sup>61</sup>, que foi proposto na década de 70 pelos pesquisadores Ruzicka e Hansen. Este processo, tem como conceito básico, a inserção de uma alíquota da solução da amostra em um fluido que a transporta para o detector, possibilitando a inserção de reagentes ao longo do percurso analítico<sup>62</sup>. A

configuração mais simples é o diagrama de fluxo de linha única, no qual o fluido transportador é o próprio reagente<sup>37</sup>.

O volume de solução utilizado na determinação é definido pelo volume interno da alça de amostragem, e pode ser variado empregando tubo com o mesmo diâmetro interno, mudando apenas o comprimento da alça de amostragem. Esta alça tem função análoga à pipeta volumétrica em um procedimento analítico manual<sup>61</sup>.

Durante o transporte através do percurso analítico, a amostra sofre dispersão na solução transportadora, produzindo uma zona caracterizada pela existência de diferentes gradientes de concentração. Em função da existência de diferentes gradientes de concentração e da detecção ser feita com a zona de amostra em movimento em relação ao sistema de detecção, obtém-se um sinal transiente, que está relacionado à concentração inicial da espécie de interesse<sup>63</sup>.

Convém chamar atenção para algumas peculiaridades do processo FIA, que o torna muito atraente em um laboratório de análise química. Este processo pode ser implementado com instrumentação de baixo custo, mesmo quando emprega-se microcomputador para efetuar controle e aquisição de dados. Além disso, este modo de análise é aplicado com baixo consumo de reagentes.

A análise por injeção em fluxo é uma interessante combinação de três princípios: a injeção da amostra, dispersão controlada da amostra injetada e reprodutibilidade no tempo dos eventos que ocorrem desde a injeção até a chegada ao detector. A reação química ocorre enquanto a amostra injetada é transportada pelo fluido transportador, promovendo a dispersão, que ocorre por convecção e difusão radial<sup>63</sup>.

Nos primeiros trabalhos, empregava-se a seringa hipodérmica para inserção da alíquota de amostra no percurso analítico. Com a evolução do processo, outros dispositivos foram propostos, como o injetor comutador e as válvulas rotativas de 6 e 8 vias<sup>64</sup>. Outro dispositivo empregado para a inserção das alíquotas no percurso analítico são as válvulas solenoide, as quais deram origem ao processo de Multicomutação<sup>65</sup>.

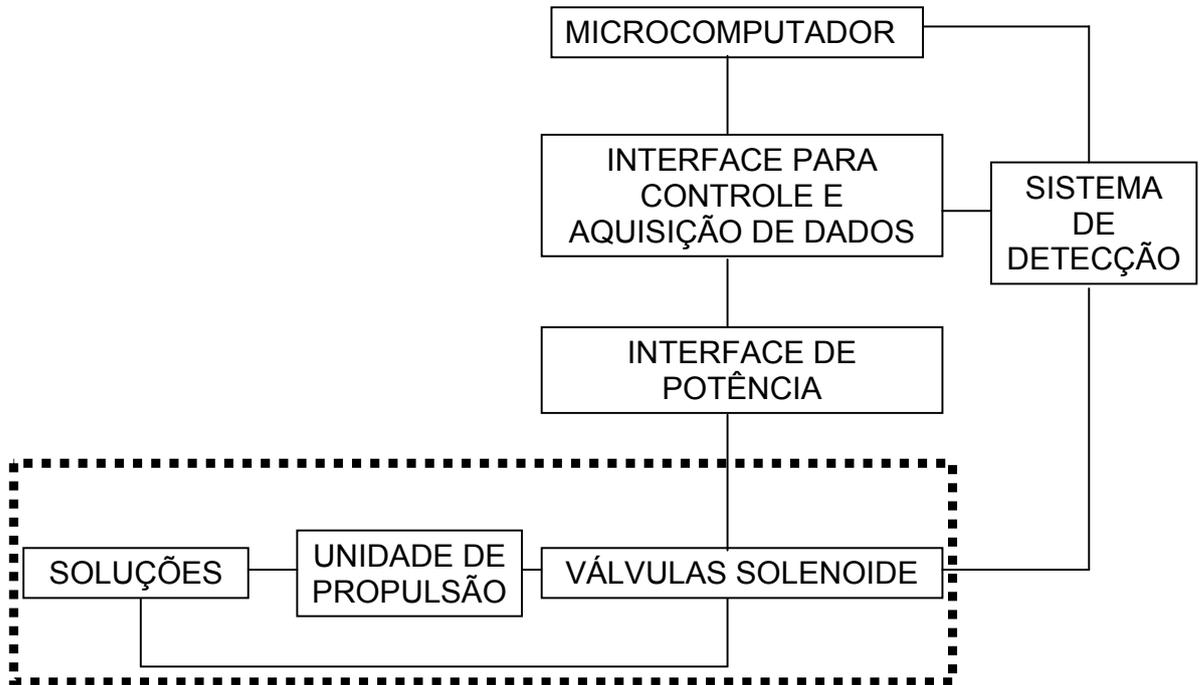
As válvulas solenoide atuam como comutadores independentes, apresentando meios para se desenvolver procedimentos automáticos de alto desempenho empregando instrumentação de baixo custo.

Os sistemas MCFA foram concebidos empregando apenas um canal de bombeamento, sendo que as soluções são deslocadas através do percurso analítico por aspiração<sup>66</sup>, portanto, o modo de trabalho é realizado com pressão interna negativa (menor que a da atmosfera). Dependendo das características do procedimento analítico é empregado um canal de bombeamento para cada solução<sup>67</sup> e neste caso o modo de trabalho é feito com pressão interna positiva. Em sistemas de Multicomutação em Fluxo acoplados a Espectrofotometria em Fase Sólida (MCFA-SPS)<sup>D</sup>, à impedância hidrodinâmica causada pela fase sólida inserida de forma compacta na cela de fluxo é muito alta, então o modo de bombeamento com pressão positiva é mais adequado.

O processo de multicomutação em fluxo compreende uma estratégia onde a manipulação das soluções de amostra e reagentes é controlada pelo microcomputador. Como pode ser visto na Figura 7, um sistema de análise em fluxo por multicomutação é composto pela unidade de propulsão das soluções, como bombas peristálticas, as válvulas solenóide, que podem ser de estrangulamento ou de três vias, para controle da inserção das soluções, um computador equipado com interface para controle e aquisição de dados e uma interface de potência, para compatibilização da intensidade de corrente<sup>68</sup>.

---

<sup>D</sup> Do inglês Multicommutation in Flow Analysis with solid phase spectrophotometric detection



**Figura 7** - Diagrama de blocos de um sistema de análises em fluxo controlado por um microcomputador

As válvulas solenoide de 3 vias são dispositivos com uma entrada e duas saídas de fluido. Quando a válvula está desligada, a via central tem comunicação com uma das vias laterais através de um canal interno. Quando a válvula é acionada, uma corrente elétrica circula através da bobina indutora (solenoide), o campo magnético gerado desloca um pivô interno, que pressiona um diafragma que direciona o fluxo da solução para a outra saída. Desligando-se a corrente elétrica, cessa o campo magnético induzido, uma mola restaura a posição inicial e o fluido é escoado novamente pela saída inicial. Essa característica tem sido explorada para compor o módulo de análise conforme a necessidade de cada sistema<sup>69</sup>.

Outra alternativa, igualmente eficaz, são as válvulas de estrangulamento (*pinch ou clamp valves*), cujo princípio de funcionamento é o estrangulamento de um tubo flexível. Quando acionada por um solenoide, a pressão no tubo é aliviada permitindo o escoamento da solução. Quando é desligada, uma mola restaura a posição inicial estrangulando com uma pequena haste, e em consequência interrompe o fluxo da solução. A vantagem destas válvulas está no fato de suportarem melhor as partículas

sólidas em suspensão<sup>70</sup>. Elas empregam a mesma interface das de 3 vias e as condições operacionais do programa de controle.

### 1.6 – Fotômetros baseados em LED

O diodo emissor de luz – LED (*Light Emitting Diode*) foi disponibilizado no mercado a partir de 1960, mas a sua utilização como fonte de radiação eletromagnética em fotometria foi proposta apenas em 1978 por Betteridge, *et al*<sup>71</sup>.

Os LEDs são dispositivos de baixo custo que emitem radiação nas regiões do espectro UV, visível e do infravermelho próximo<sup>72</sup>. Estes dispositivos permitem o emprego em detecção fotométrica sem a utilização de dispositivos para discriminação do comprimento de onda, como filtros, redes de difração, lentes e espelhos, etc.<sup>73</sup>.

Este dispositivo emite radiação eletromagnética devido a um fenômeno chamado eletroluminescência, que é a emissão gerada por excitação eletrônica, pela passagem de uma corrente elétrica através do material<sup>74</sup>. A emissão no comprimento de onda desejado dependerá do material utilizado na construção do LED. Os fotodetectores mais empregados em detecção fotométrica com LED são os fototransistores e fotodiodos, sendo este último o mais utilizado<sup>75</sup>.

O baixo custo, a alta estabilidade de emissão e o longo tempo de vida útil são algumas das características que tornaram o uso de LED uma atraente ferramenta para o uso em procedimentos analíticos<sup>76</sup>. Na literatura são encontrados muitos trabalhos utilizando sistemas FIA que empregam LEDs e fotodetectores. Rocha *et al* (2000), utilizaram LED acoplados a um sistema de detecção com fotodiodo para determinação de nitrogênio inorgânico em águas, apresentando características que viabilizam sua aplicação em análises de campo<sup>77</sup>.

Um equipamento portátil foi desenvolvido por Feres (2006), para determinação de cátions e ânions em água de consumo humano e suprimento, baseados nos processos de multicomutação em fluxo, empregando fotômetros baseados em LED e detecção com fototransistor<sup>78</sup>.

Lavorante (2006), propôs o desenvolvimento de instrumentação para a determinação de tensoativos em águas empregando multicomutação em fluxo e

detecção fotométrica empregando dois LEDs (azul e vermelho) e um fotodiodo de silício. O fotômetro com associação dos LEDs permitiu a miniaturização do sistema possibilitando a construção de equipamentos portáteis e de baixo custo<sup>79</sup>.

Um fotômetro portátil empregando um LED como fonte de radiação eletromagnética e outro LED como fotodetector empregando multicomutação em fluxo, foi desenvolvido por Silva *et al.* (2010). O fotômetro foi empregado para desenvolver um procedimento de titulação fotométrica automático para determinação de acidez em suco de frutas<sup>79</sup>.

Fernandes *et al.* (2009), determinou selênio em águas empregando procedimento desenvolvido utilizando um fotômetro baseado em LED com uma cela de fluxo de longo caminho. O sistema foi mecanizado aplicando o processo de multicomutação em fluxo e mini-bombas solenoide como dispositivos de propulsão. O procedimento proposto oferece uma alternativa aos métodos propostos, reduzindo o consumo de reagentes e geração de resíduos, prevendo um procedimento ambientalmente limpo<sup>80</sup>.

Embora tenham sido encontrados vários trabalhos na literatura aplicando fotômetros de LED em sistemas FIA, não são encontrados trabalhos utilizando celas de fluxo com LED para determinações em fase sólida.

### **1.7 – Multicomutação em Sistemas de Análise em Fluxo com detecção por Espectrofotometria em Fase Sólida**

A partir da introdução do conceito da Análise por injeção em fluxo e de suas vertentes, como a multicomutação em fluxo, diversas alterações têm sido propostas em sua configuração básica<sup>81</sup>.

Assim, os sistemas que utilizam a análise por injeção em fluxo, acoplados à pré-concentração e separação em linha, têm se tornado uma das opções mais viáveis e promissoras, devido a sua grande versatilidade aliada à facilidade de automatização<sup>80</sup>, utilização de menores volumes de soluções e possibilidade de integração das etapas de retenção, reação e detecção.

O primeiro sistema de análise por injeção em fluxo com pré-concentração em linha foi proposto por Bergamin *et al.* (1980) para determinação espectrofotométrica de amônio em águas naturais empregando resina de troca-iônica<sup>82</sup>.

Para integração da espectrofotometria em fase sólida ao processo de análise por injeção em fluxo, é necessário atender as seguintes condições: capacidade de regeneração da fase depois do analito ter sido sorvido, evitando a renovação da mesma para cada determinação; cinética rápida e boa estabilidade da fase sólida, uma vez que a mesma entra em contato com as soluções da amostra e do eluente.

Na literatura são reportados alguns trabalhos para a determinação de zinco, através da associação da análise em fluxo a alguns métodos de detecção. Uma unidade de eletrodialise foi associada à análise por injeção em fluxo para a remoção de interferências na determinação de zinco (II) em comprimidos de multivitamínicos. O sistema proposto foi totalmente automatizado e apresentou uma frequência de 18 determinações por hora e resposta linear na faixa de concentração entre 1 e 20 mg L<sup>-1</sup>. O limite de detecção estimado foi de 0,998 mg L<sup>-1</sup><sup>83</sup>.

Dois procedimentos foram propostos para determinação de zinco em amostras biológicas e de fármacos, por injeção em fluxo com detecção espectrofotométrica. No primeiro sistema, uma curva analítica linear foi obtida em uma faixa de concentração entre 0,21 a 4,60 mg L<sup>-1</sup> e limite de detecção de 48,80 µg L<sup>-1</sup>. No segundo sistema, uma mini-coluna com resina de aniônica foi usada para concentrar Zn (II). Uma curva analítica linear em uma faixa de concentração de 0,08 a 2,06 mg L<sup>-1</sup> foi obtida com um limite de detecção de 13,90 µg L<sup>-1</sup><sup>84</sup>.

Um método espectrofluorimétrico seletivo foi desenvolvido para a determinação de zinco, utilizando a análise por injeção em fluxo. O método baseia-se na formação de complexos entre o zinco e 8-hidroxi-7-(4-sulfo-1 naftilazo) quinoleína-5-ácido sulfônico (HSNQ). A fluorescência do complexo foi monitorada em um comprimento de onda de emissão em 545 nm com excitação em 360 nm. Nestas condições, curvas analíticas foram obtidas a partir de 0,05 a 0,40 mg L<sup>-1</sup>. O limite de detecção foi de 7,0 µg L<sup>-1</sup>. O desvio padrão relativo foi de 2% para as amostras de água potável, 4% para as amostras de leite e 7% para as amostras de cabelo (n = 5). Os resultados foram

concordantes com aqueles obtidos por espectrometria de absorção atômica de chama, não apresentando diferença significativa à nível de 95% de confiança<sup>85</sup>.

Um procedimento por injeção em fluxo e detecção espectrofotométrica, foi desenvolvido para a determinação de zinco na água, baseando-se na reação de complexação do zinco com o reagente cromogênico PAN, em uma coluna de pré-concentração. Observou-se uma relação linear 2,0 e 360 mg L<sup>-1</sup> pela a altura no momento do pico de absorção máxima em 560 nm. O método proposto apresentou limite de detecção de 0,42 mg L<sup>-1</sup> e desvio padrão relativo de 3,55% para 5,00 mg L<sup>-1</sup> e de 2,14% para 50 mg L<sup>-1</sup> Zn(II)<sup>86</sup>.

Matsuoka & Yoshimura (2010) realizaram uma revisão acerca dos métodos analíticos, que utilizam a detecção direta em suporte sólido, acoplado aos sistemas de análise por injeção em fluxo. Os autores observaram um notável progresso em sistemas que associam a análise em fluxo e métodos espectrométricos em fase sólida, devido sua aplicação para determinação de várias espécies químicas em uma grande variedade de amostras. A revisão aborda ainda, aspectos instrumentais envolvendo o emprego da absorção, reflexão, fluorescência, dentre outros<sup>87</sup>.

Além dos trabalhos supracitados, também são encontrados estudos para a determinação de zinco, por meio da associação da análise por injeção em fluxo com a espectrofotometria em fase sólida, foco deste trabalho.

Teixeira *et al* (1999), determinaram zinco em medicamentos empregando sistemas de análise por injeção em fluxo com detecção espectrofotométrica em fase sólida. Para o desenvolvimento deste procedimento, a cela de fluxo confeccionada em acrílico com 1 mm de espessura foi posicionada no caminho óptico do espectrofotômetro próximo ao detector. Esse posicionamento foi empregado para focalizar o feixe de radiação sobre toda a superfície contendo a fase sólida, obtendo sinais mais reprodutíveis. O sistema foi aplicado para uma faixa de concentração para Zn(II) de 0,04 a 4,00 mg L<sup>-1</sup>, com desvio relativo de 3,3%, para 1 mm de caminho óptico. Apresentou absorvidade molar aparente estimada em  $2,02 \times 10^5 \text{ mol L cm}^{-1}$ , frequência de amostragem de 45 determinações por hora e um limite de detecção de  $10,0 \mu\text{g L}^{-1}$ <sup>39</sup>.

Teixeira *et al.* (2000) exploraram a diferença das cinéticas de retenção para a determinação espectrofotométrica multicomponente, empregando injeção em fluxo e detecção por espectrofotometria em fase sólida. As determinações foram realizadas de forma seqüencial em duas vazões distintas, gerando duas curvas de retenção dos íons metálicos em TAN-C<sub>18</sub>. Esta estratégia foi usada para determinação de níquel e zinco em ligas de cobre. A absorbância máxima do complexo imobilizado foi monitorada em 595 nm. Os coeficientes de variação foram estimados (n = 10) em 1,1 e 1,7% para a vazão de 1,9 mL min<sup>-1</sup> e 1,2 e 2,1% para a vazão de 0,85 mL min<sup>-1</sup> para zinco e níquel, respectivamente<sup>53</sup>.

Para determinações por espectrofotometria em fase sólida têm sido construídas celas, especialmente adaptadas para análise em fluxo. Teixeira *et al.* (2000) propuseram a construção e adaptação de uma cela de fluxo simples e de baixo custo para medidas por FI-SPS, que permite a utilização de maiores quantidades de material sem ocasionar excessivo aumento da impedância hidrodinâmica e do espalhamento de radiação. Para demonstrar as características da cela de fluxo proposta, foi utilizada a reação de cobalto(II) com 1-(2-tiazolilazo)-2-naftol (TAN) imobilizado em sílica funcionalizada C<sub>18</sub>. A equação  $y = 0,0386 + 0,316.x$  ( $r = 0,9994$ ) foi obtida para uma faixa de concentração entre 0,25 e 3,00 mg L<sup>-1</sup> de cobalto, apresentando coeficiente de variação igual a 1,4%, limite de detecção igual a 15 mg L<sup>-1</sup> (nível de confiança de 99,7%). A frequência de amostragem foi estimada em 40 determinações por hora<sup>88</sup>.

Um procedimento foi desenvolvido para a determinação de misturas ternárias de Fe, Ni e Zn em água. Neste trabalho, o 1 - (2 thiazolilazo)-2-naftol foi imobilizado em um suporte de sílica C<sub>18</sub>, por meio da complexação do Fe (II), Ni (II) e Zn (II) em TAN-C<sub>18</sub>, utilizando a espectrofotometria em fase sólida acoplada à análise em fluxo. O procedimento proposto foi baseado nas diferentes razões de reação/retenção dos íons estudados sobre o suporte sólido. O método dos mínimos quadrados parciais (PLS-2) foi usado para prever a concentração dessas espécies em amostras sintéticas<sup>2</sup>.

## 2 – OBJETIVOS

Este trabalho compreende, em termos gerais, o desenvolvimento de instrumentação e procedimentos analíticos automáticos empregando espectrofotometria em fase sólida para determinação de zinco em produtos farmacêuticos e água.

De forma específica, objetiva-se o desenvolvimento de um fotômetro empregando LED de alto brilho como fonte de emissão de radiação eletromagnética e um detector de estado sólido de alto desempenho, permitindo, dessa forma, o emprego de uma cela de detecção com caminho óptico mais longo do que o usual (1 mm) em espectrofotometria de fase sólida.

O módulo de análise dedicada à detecção espectrofotométrica em fase sólida, baseia-se no processo de multicomutação em fluxo, visando redução do consumo de reagentes e do volume de efluente gerado. A espécie química de interesse é zinco em produtos farmacêuticos e água, e como suporte sólido para imobilizar o composto a ser detectado será empregado C<sub>18</sub>.

### 3. PARTE EXPERIMENTAL

#### 3.1 Equipamento e acessórios

Para o desenvolvimento do sistema de detecção e dos procedimentos analíticos são empregados os seguintes equipamentos: bomba peristáltica (Ismatec IPC) equipada com tubos de bombeamento (Tygon) e tubos de polietileno para linhas de fluxo (0,8 mm de diâmetro); microcomputador equipado com interface de controle e aquisição de dados; válvulas de estrangulamento (NResearch Incorporated P/N 225 P091-11 12 VDC 30 PSI); fonte de alimentação de corrente contínua regulada, interface de potência para acionamento das válvulas; acrílico para construção de componentes do módulo de análise; amplificadores operacionais para montagem de interface de condicionamento de sinais; fotodetector de estado sólido (fotodiodo) acoplado a sistema de condicionamento de sinal de resposta rápida e de baixo nível de ruído; LED de alto brilho e ângulo de emissão estreito ( $< 20^\circ$ ); resistores diversos, capacitores diversos; placa de circuito impresso em fibra de vidro, etc.

#### 3.2. Reagentes e soluções

- Todas as soluções foram preparadas com reagentes de grau analítico de pureza e água deionizada.
- A vidraria utilizada foi lavada com água deionizada e mantida em ácido nítrico 20% (v/v) por pelo menos 12 horas para descontaminação.
- A solução estoque de zinco  $1000 \text{ mg L}^{-1}$  foi preparada dissolvendo-se 1 g de zinco metálico em 10 mL de ácido nítrico concentrado, completando a solução com água para 1000 mL.
- As soluções de referência de zinco foram preparadas a partir de solução estoque  $1000 \text{ } \mu\text{g mL}^{-1}$  de zinco.
- A solução de Triton X-100 5% (m/v) foi preparada dissolvendo-se 5 g do reagente em 100 mL de água.

- A solução de TAN foi preparada dissolvendo-se 1,0 mg de 1-(2-tiazolilazo)-2-naftol (Merck) em 1 mL de etanol, completando o volume com solução 5% em Triton X-100 para 100 mL.
- O TAN foi imobilizado em sílica funcionalizada C<sub>18</sub> (60-100 µm), obtida a partir de cartuchos Sep-Pak (Waters), que foi devidamente guardado e introduzido na cela de fluxo para posterior retenção do analito de interesse.
- A solução tampão hexamina 0,6 M; pH = 6,4 foi preparada dissolvendo-se 84,114 g de hexametilenotetramina em 900 mL de água, ajustando-se o pH com ácido clorídrico ou hidróxido de sódio e completando o volume para 1000 mL com água. A mesma foi utilizada como fluido recondicionador.
- Solução de tiosulfato de sódio 5% foi preparada dissolvendo-se 5,0 g do tiosulfato de sódio em 100 mL de água.
- A solução de ácido ascórbico 5% foi preparada dissolvendo-se 5,0 g do ácido em 100 mL de água.

### **3.3 Amostras de produtos farmacêuticos manipulados: Composição (por cápsula) e preparo**

As amostras foram divididas em 7 grupos, no qual cada grupo apresentava um peso distinto de zinco: 0,097 mg (grupo A), 0,580 mg (grupo B), 0,865 mg (grupo C), 0,192 mg (grupo D), 0,481 mg (grupo E) e 0,289 mg (grupo F). Cada cápsula apresentava o peso líquido de 1 g, contendo o peso específico e excipientes q.s.p. Uma última amostra foi preparada com uma combinação de 0,580 mg de cobre e 0,580 mg de zinco (grupo G).

O conteúdo das cápsulas foi retirado e calcinado à 430°C durante 12 horas. A cada amostra foi adicionado o volume de 5 mL de ácido clorídrico concentrado. Posteriormente as amostras foram transferidas para balões volumétricos e completou-se para 500 mL com água desionizada. Uma alíquota apropriada de cada amostra foi transferida para balão volumétrico de 25 mL contendo 10 mL da solução tampão, 1 mL da solução de ácido ascórbico e 1 mL de tiosulfato de sódio. As soluções padrões de zinco foram preparadas da mesma maneira que as soluções das amostras.

### 3.4 Amostras de produtos farmacêuticos de origem industrial: Composição (por comprimido) e preparo

- **Stresstabs 600 (Wyeth)** – ácido ascórbico: 600 mg; pantotenato de cálcio: 25 mg; óxido cúprico: 3 mg; sulfato de zinco: 23,9 mg.
- **Life vit (Luper)** - ácido ascórbico: 90 mg; fosfato de cálcio dibásico: 162 mg; Iodeto de potássio: 150 µg; óxido de magnésio: 100 mg; sulfato de zinco: 15 mg.
- **Tongifort (Pharmascience)** - ácido ascórbico: 600 mg; óxido cúprico 3 mg; pantotenato de cálcio: 25 mg; sulfato de zinco: 23,9 mg.
- **Centrum (wyeth)** - pantotenato de cálcio: 5 mg; ferro: 8,1 mg; magnésio 100 mg; zinco: 7 mg; cobre: 450 µg; molibdênio: 23 µg; cromo: 18 µg; manganês: 1,2 mg.

As amostras, na forma de comprimido, foram moídas e pesadas (0,5 g de cada amostra) e calcinadas à 430°C durante 12 horas. A cada amostra foi adicionado o volume de 5 mL de ácido clorídrico concentrado. Posteriormente as amostras foram transferidas para balões volumétricos e completou-se para 500 mL com água desionizada.

Uma alíquota apropriada de cada amostra foi transferida para balão volumétrico de 25 mL contendo 10 mL da solução tampão, 1 mL da solução de ácido ascórbico e 1 mL de tiosulfato de sódio. As soluções padrões de zinco foram preparadas da mesma maneira que as soluções das amostras<sup>89; 39</sup>.

### 3.5 Amostras de Águas: Coleta e preparo

As amostras de água utilizadas neste estudo foram coletadas nos laboratórios do Centro de Energia Nuclear na Agricultura, em residências e na fonte Delmar Marchetti, localizada na Escola Superior de Agricultura “Luís de Queiroz”. As amostras foram coletadas, armazenadas em frascos plásticos e acondicionadas em geladeira a -4° C. No momento das análises, uma alíquota de cada amostra foi estabilizada à temperatura ambiente e filtrada em papel de filtro comum.

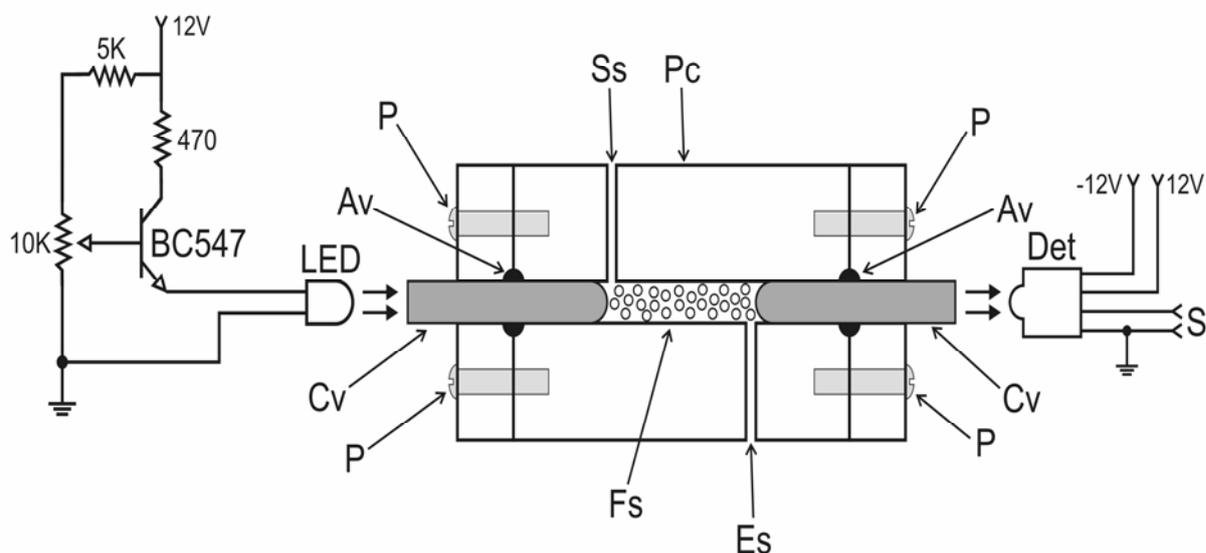
### 3.6 - Tratamento de resíduos

Os resíduos gerados (em torno de 1,02 mL por determinação) eram acondicionados em frasco de vidro e posteriormente encaminhados para o laboratório de tratamento de resíduos do Centro de Energia Nuclear na agricultura.

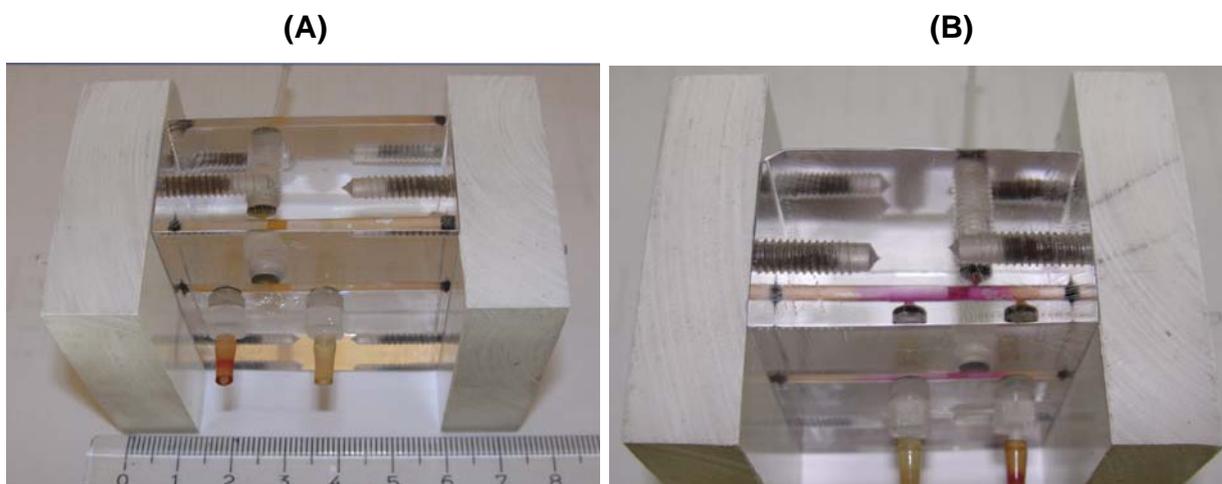
### 3.7 - Desenvolvimento experimental

Na primeira etapa, foram montados o fotômetro e o módulo de análise com configuração necessária para a determinação de zinco em produtos farmacêuticos e águas. Uma vez que o sistema de detecção e o módulo de análise compõem uma unidade compacta, os dois foram desenvolvidos simultaneamente. A cela de fluxo, mostrada na Figura 8, é usada em uma placa de acrílico na qual foram encaixados os guias de onda para conduzir o feixe de radiação do LED até a fase sólida, e da outra extremidade da cela até o fotodetector. Os anéis de borracha, além de evitar vazamento, funcionam como fixadores dos guias de onda, mantendo-os alinhados com o caminho óptico da cela de fluxo. No espaço entre os guias de onda (Fs) foi inserida a fase sólida ( $C_{18}$ ). Embora não seja indicado na Figura, na entrada e na saída da cela de fluxo foram colocados filtros de poliéster (Mesh 400) para impedir o arraste do  $C_{18}$ .

As etapas para determinação do zinco consistem na inserção da amostra na cela de fluxo, permitindo a adsorção do analito na fase sólida, onde o complexo  $C_{18} - TAN - Zn$  era formado. As etapas de formação do complexo e dessorção do analito são mostradas na Figura 9.

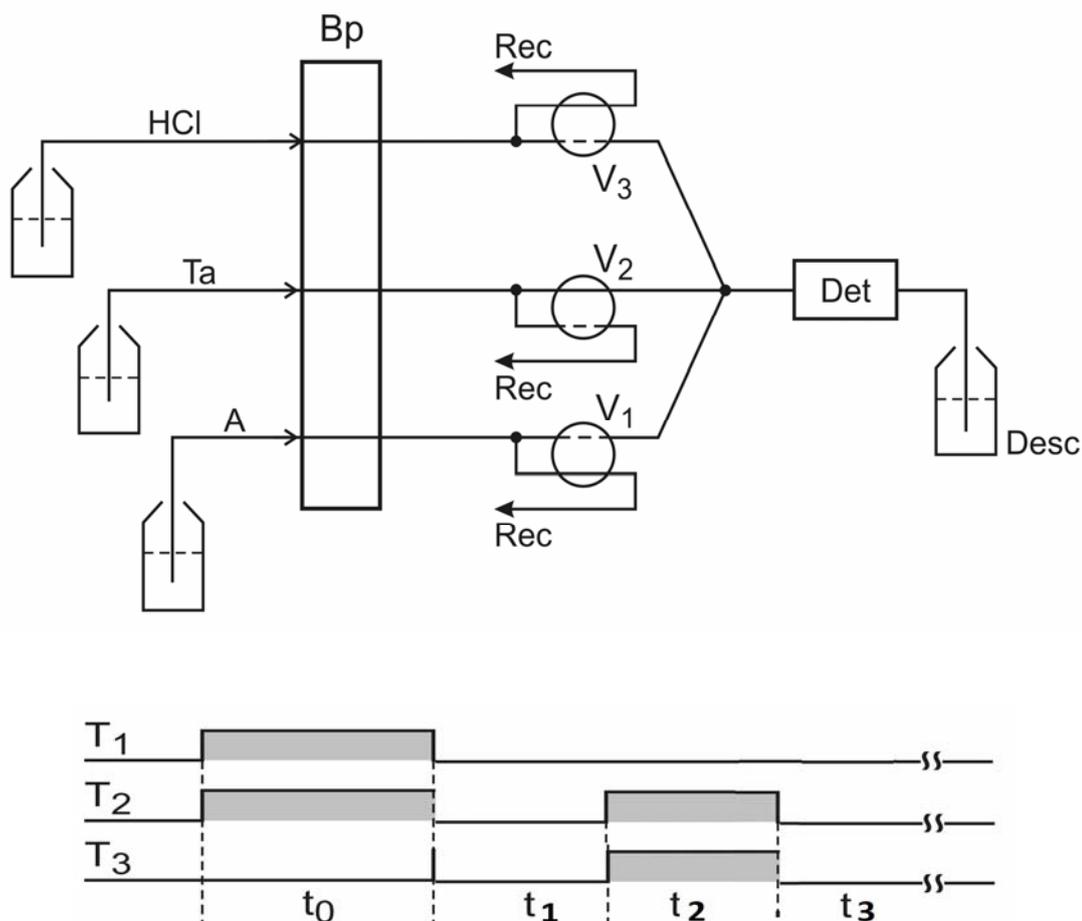


**Figura 8** - Vista em corte da cela de fluxo. Fs – Representa a área, na qual o suporte sólido se encontra localizado, C<sub>18</sub>; Pc – Suporte em acrílico; P – parafusos; Av – borracha; Cv – Guias de onda; Es e Ss – Orifício de entrada e saída dos fluidos, respectivamente, Det = fotodetector IPL 10530 DAL; LED,  $\lambda = 590 \text{ nm}$



**Figura 9** - Fotografias do suporte sólido inserido na cela de fluxo: **(A)** Reagente cromogênico adsorvido a sílica funcionalizada C<sub>18</sub>; **(B)** Complexo Zn(II)-TAN-C<sub>18</sub>

O módulo de análise empregado é mostrado na Figura 10. Todo o sistema está acoplado a um computador através de uma interface eletrônica. Um software escrito em linguagem QuickBASIC 4.5 permite que o computador efetue o controle da adição das soluções da amostra e do eluente, além da aquisição de dados.



**Figura 10** - Diagrama de fluxo do módulo de análise empregado para determinação de zinco em fase sólida. V<sub>1</sub>, V<sub>2</sub>, e V<sub>3</sub>; A (Amostra); Ta (solução recondicionadora - Tampão Hexamina 0,05 mol L<sup>-1</sup> e pH 6,2); HCl (solução eluente – 0,5 mol L<sup>-1</sup>); DET (Fotômetro); Desc (descarte). T<sub>1</sub>, T<sub>2</sub> e T<sub>3</sub> tempo de acionamento das válvulas t<sub>0</sub>, t<sub>1</sub>, t<sub>2</sub>, e t<sub>3</sub> = inserção da amostra, leitura do sinal, inserção do eluente e lavagem, respectivamente.

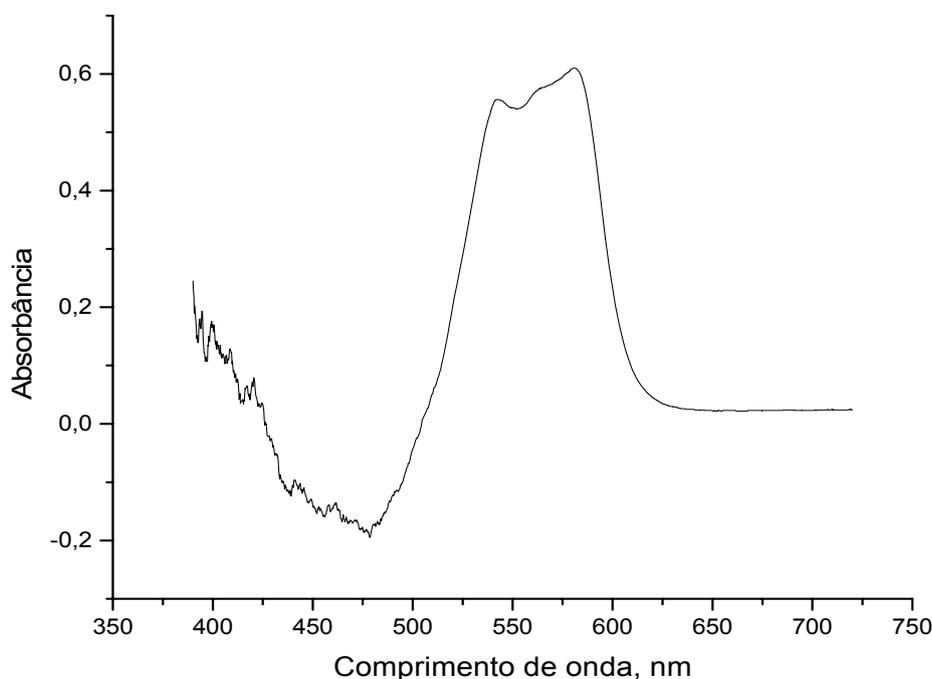
Nesta configuração as válvulas V<sub>1</sub>, V<sub>2</sub> e V<sub>3</sub> estão desligadas, e a solução recondicionadora é bombeada continuamente. Acionando simultaneamente as válvulas

$V_1$  e  $V_2$ , o fluxo da solução recondicionadora é redirecionado para reciclagem, enquanto que o fluxo da amostra é inserido no percurso analítico. Quando a solução da amostra fluía através da fase sólida na cela de fluxo, o zinco reagia com o TAN imobilizado no  $C_{18}$ , formando o complexo a ser monitorado, o qual também permanecia imobilizado. Enquanto esta etapa estava em curso, o sinal correspondente gerado pelo fotodetector era monitorado pelo computador através da interface analógica/digital. O sinal convertido para digital era salvo no padrão ASCII para permitir posterior tratamento. Durante esta etapa, um gráfico de sinal em função do tempo era mostrado no vídeo, para permitir a visualização em tempo real. Em seguida, as válvulas  $V_2$  e  $V_3$  eram acionadas ao mesmo tempo, permitindo a inserção da solução de ácido clorídrico para eluir o analito da cela de detecção. Posteriormente, todas as válvulas eram desligadas e o fluxo da solução recondicionadora era restabelecido. Finalizada esta etapa, a fase sólida estava pronta para a próxima determinação.

## 4. RESULTADOS E DISCUSSÃO

### 4.1 Espectro de absorção do complexo Zn-TAN-C<sub>18</sub>

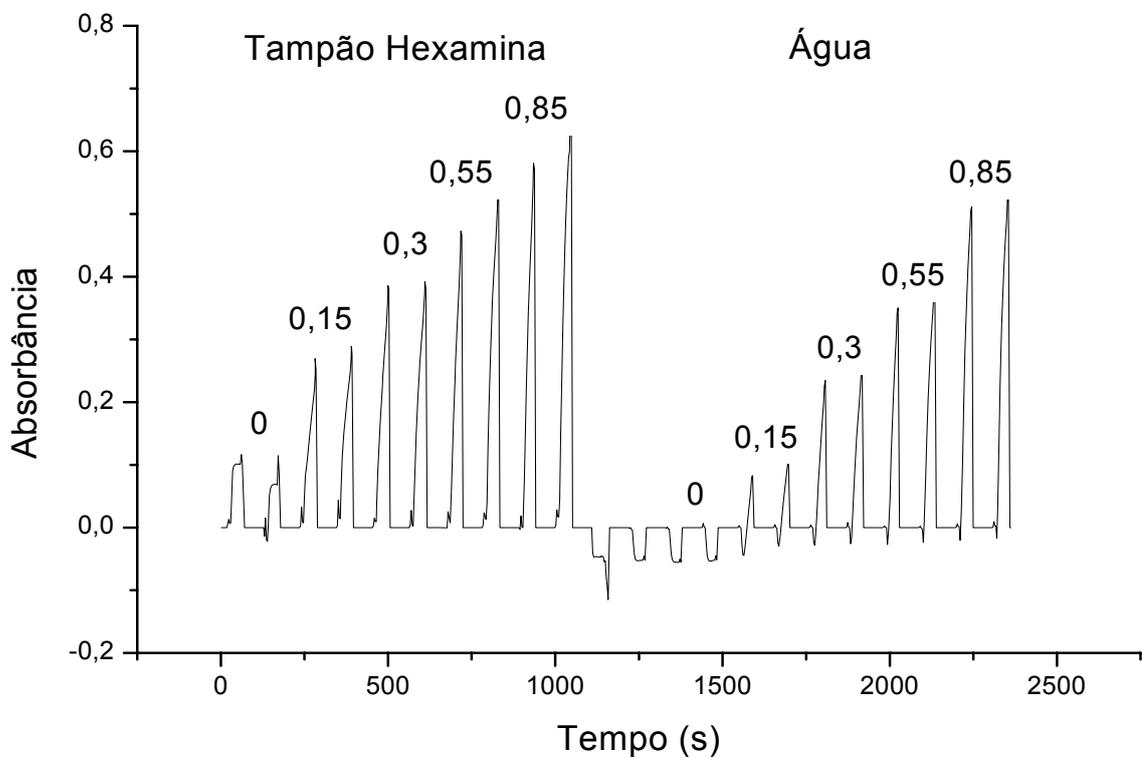
O espectro de absorção de radiação do complexo Zn (II)-TAN, apresenta coloração violeta quando imobilizado na fase sólida (C<sub>18</sub>). Este espectro (Figura 11) foi obtido empregando uma solução de referência com concentração de 0,7 mg L<sup>-1</sup> Zn (II) em meio aquoso com pH = 6,4 e um espectrofotômetro Ocean Optics modelo USB 2000, equipado como uma cela de fluxo de 3 mm de caminho óptico, proposta para o sistema MCFA-SPS. Esta figura mostra que o máximo de absorção do complexo retido na fase sólida está em torno de 582 nm, permitindo que o fotômetro desenvolvido para este trabalho empregasse um LED com máximo de absorção em 590 ± 25 nm. Neste caso, a detecção do fotômetro abrangia a faixa de 565 a 615 nm. O fotodiodo empregado no fotômetro tinha uma resposta espectral na faixa de 350 a 900 nm, portanto, não havia restrição de ordem instrumental para o uso do LED mencionado.



**Figura 11** – Espectro de absorção do complexo Zn-TAN-C<sub>18</sub>

## 4.2 - Natureza da solução recondicionadora

Um estudo para avaliação do efeito da solução recondicionadora foi realizado, tendo como objetivo observar a influência do meio, tanto na eficiência de retenção do zinco no TAN-C<sub>18</sub>, como na vida útil da fase sólida. Nestes experimentos foram empregados água e uma solução de hexamina em pH = 6,4. A vazão de bombeamento foi mantida em 1,0 mL min<sup>-1</sup>. Os resultados obtidos são mostrados na Figura 12.



**Figura 12** - Registros obtidos para avaliar o efeito do fluido de recondicionamento. O primeiro conjunto de registros (esquerda) foi obtido usando uma solução hexamina com pH = 6,4; e segundo foi obtido substituindo a solução de hexamina por água. Os números sobre os registros correspondem às concentrações de 0; 0,15; 0,3; 0,55 e 0,85 mg L<sup>-1</sup>.

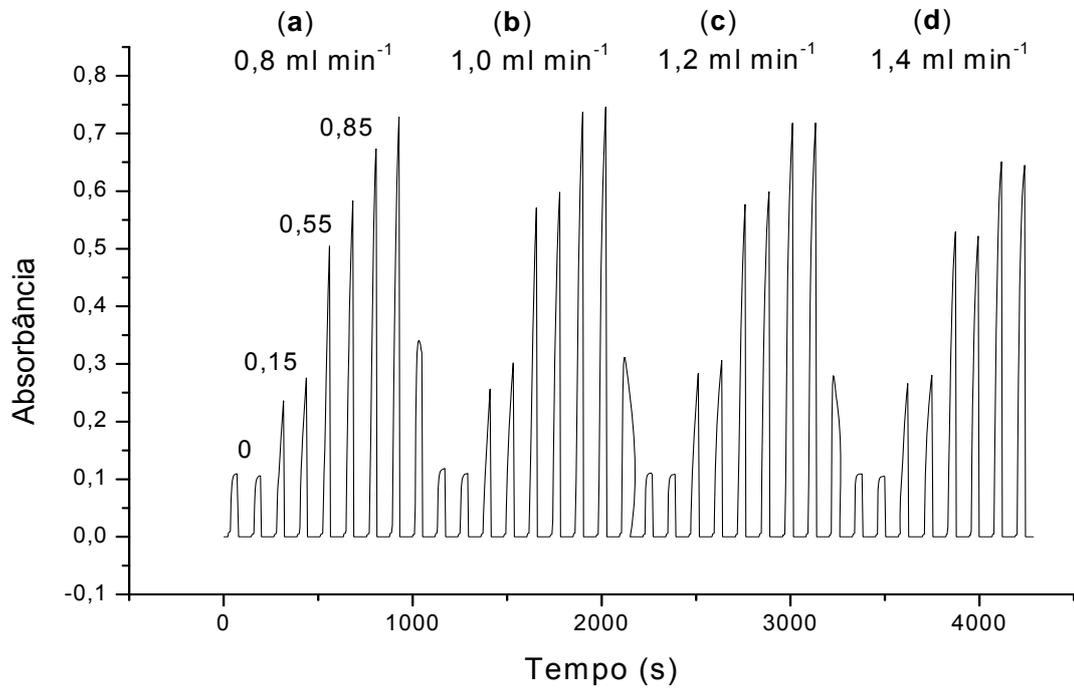
Analisando os perfis dos registros dos sinais, observa-se que ao utilizar da água como fluido para recondicionamento da fase sólida, ocorreu diminuição dos sinais, incluindo sinal do branco menor que zero. Observa-se que para as concentrações mais

baixas também foram gerados sinais de polaridade negativa, a qual diminuía de magnitude para as concentrações mais altas. Este comportamento é semelhante ao gerado pelo efeito<sup>90</sup> em sistemas de análise em fluxo. A solução tampão hexamina foi estabelecida como solução recondicionadora por apresentar registros mais estáveis e de maior magnitude.

#### **4.3 - Efeito da vazão na retenção do zinco**

Em fotometria em fase sólida empregando sistemas de análise em fluxo baseado em multicomutação, o sinal gerado é função da quantidade do analito capturado pela fase sólida, a qual é função da vazão de bombeamento da amostra e do intervalo de tempo estabelecido. A eluição do analito após detecção e o recondicionamento da fase sólida também são dependentes destes dois parâmetros. É preciso considerar que existe uma dependência tanto na cinética de sorção como na capacidade do sistema de suportar altas vazões, sem que ocorra a ruptura das conexões em decorrência de altas pressões. Para o estudo deste parâmetro, os ensaios foram realizados utilizando 5 vazões distintas, mantendo o intervalo de tempo para inserção da solução de referência em 40 s. Porém, na vazão igual a  $1,6 \text{ mL min}^{-1}$ , constatou-se que as conexões dos tubos sofriam rupturas, causadas pelo aumento da pressão interna, dessa forma, os testes com esta vazão não foram realizados.

Os resultados obtidos são mostrados na Figura 13, onde se observa que os registros dos quatro conjuntos apresentam perfis semelhantes, o que indica uma boa estabilidade do sistema como um todo, compreendendo o módulo de análise e fotômetro. Visualmente, observa-se que os registros referentes à vazão de  $1,4 \text{ mL min}^{-1}$  apresentam menor altura, o que pode resultar em perda de sensibilidade.



**Figura 13** - Efeito da vazão sobre a retenção na fase sólida. Nestes experimentos foram usadas soluções de referência de 0; 0,15; 0,55 e 0,85 mg L<sup>-1</sup>

Tomando os valores máximos de cada registro, obteve-se que as equações de regressão linear e os respectivos parâmetros são mostrados na Tabela 1.

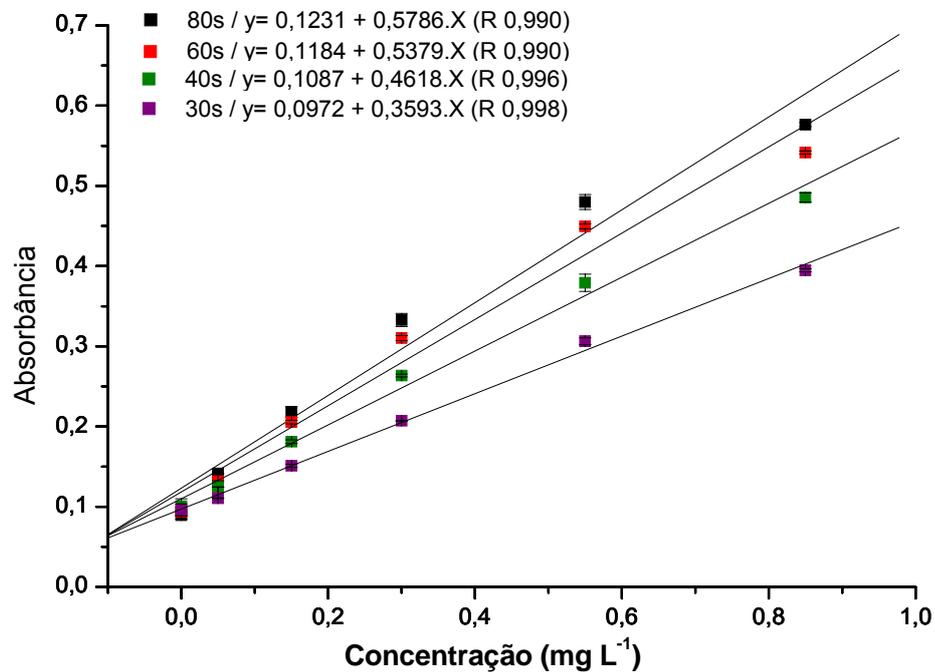
**Tabela 1** - Parâmetros analíticos avaliados com variação da vazão

| Vazão (mL min <sup>-1</sup> ) | Volume (μL) | Interseção | Coefficiente Angular | Regressão linear (R) |
|-------------------------------|-------------|------------|----------------------|----------------------|
| 0,8                           | 532         | 0,1289     | 0,7050               | 0,996                |
| 1,0                           | 664         | 0,1460     | 0,7324               | 0,993                |
| 1,2                           | 800         | 0,1543     | 0,7052               | 0,990                |
| 1,4                           | 932         | 0,1470     | 0,6233               | 0,990                |

Considerando-se que o coeficiente angular é o parâmetro relacionado à sensibilidade, observa-se que o melhor resultado foi obtido para a vazão de  $1,0 \text{ mL min}^{-1}$ .<sup>1</sup> Observa-se que para as vazões de  $1,2$  e  $1,4 \text{ mL min}^{-1}$  houve decréscimo de sinal, sendo que para a última vazão a redução foi de 15 %, enquanto o aumento do volume bombeado através da fase sólida foi de 45 %. Em vista destes resultados, pode-se afirmar que para vazões superiores a  $1,0 \text{ mL min}^{-1}$ , a diminuição do tempo de contato do analito com o reagente cromogênico imobilizado afeta a eficiência na formação do complexo. Os resultados obtidos com a vazão de  $1,0 \text{ mL min}^{-1}$  indicam que há um compromisso sinérgico compreendendo a sensibilidade, a precisão e a estabilidade dos registros (perfis lisos), portanto, esta vazão foi selecionada.

#### **4.4 - Efeito do Volume da amostra**

A espectrofotometria em fase sólida é um sistema de concentração e detecção em tempo real, isto é, o sinal analítico é monitorado enquanto a concentração está em curso. Em vista disso, é esperado que a magnitude do sinal analítico aumente, com o aumento do volume da solução bombeada através da cela de fluxo. Para verificar este efeito, experimentos foram realizados, empregando os seguintes intervalos de tempo para inserção da solução de referência: 30, 40, 60 e 80 segundos. Nestes casos, os volumes bombeados foram 500, 667, 1000 e  $1.300 \mu\text{L}$ . Tomando-se os valores máximos de absorbância como parâmetro, foram traçadas as curvas mostradas na Figura 14.



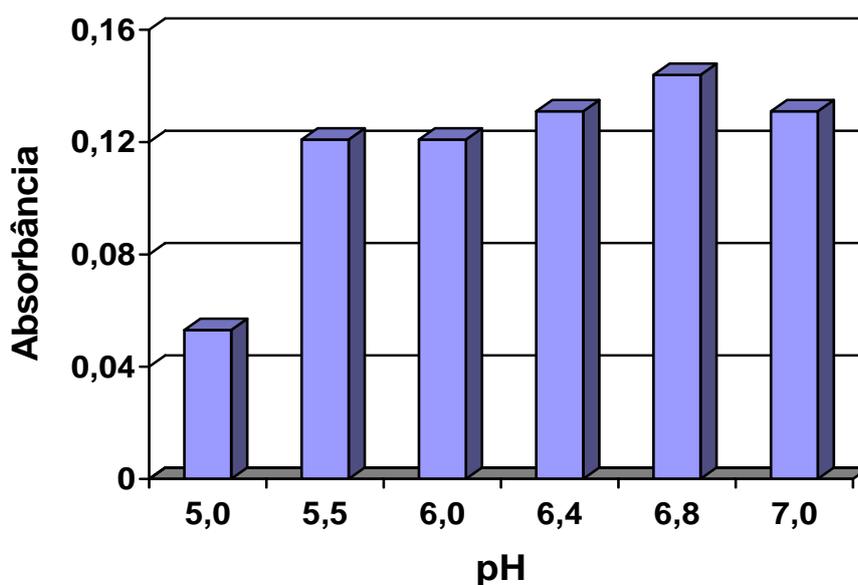
**Figura 14** - Efeito do volume da amostra no sinal analítico. Soluções de referência usadas: 0; 0,05; 0,15; 3,0; 0,55 e 0,85 mg L<sup>-1</sup> em pH= 6,4

As curvas indicam que o sinal gerado pelo fotômetro aumenta com o volume da amostra bombeada através da fase sólida. Considerando-se os dados da Tabela 1, estes resultados eram esperados. Analisando-se os parâmetros de regressão destas curvas, observa-se que quando o volume da solução de referência variou de 500 para 1.300  $\mu\text{L}$ , a interseção apresentou um acréscimo em torno de 20 %. Entretanto, o acréscimo do coeficiente angular foi de 38 %, portanto, este recurso pode ser empregado para melhorar a sensibilidade do procedimento.

Observou-se que com o aumento de volume, ocorria a diminuição da vida útil da fase sólida, provavelmente devido desgaste (arraste) do reagente cromogênico durante a etapa de eluição do analito. Em vista disso, o volume de 667  $\mu\text{L}$  foi estabelecido, como um compromisso entre sensibilidade e frequência analítica.

#### 4.5 - Efeito da acidez do meio na formação do complexo Zn (II)-TAN-C<sub>18</sub>

A eficiência da adsorção do zinco na fase sólida foi estudada variando a acidez do meio na faixa de pH entre 5,0 e 7,0, os resultados são apresentados na Figura 15. Observa-se que para a faixa de pH entre 5,5 e 6,4 não houve diferença significativa entre os sinais (absorbância) gerados, portanto, acredita-se que a capacidade de formação do complexo Zn-TAN-C<sub>18</sub> não foi afetada. Embora, em pH = 6,8 o sinal analítico tenha sido maior que os demais, foi observada instabilidade nos perfis dos registros afetando a precisão. Para o prosseguimento dos estudos, as soluções tiveram seu pH ajustado para 6,4.

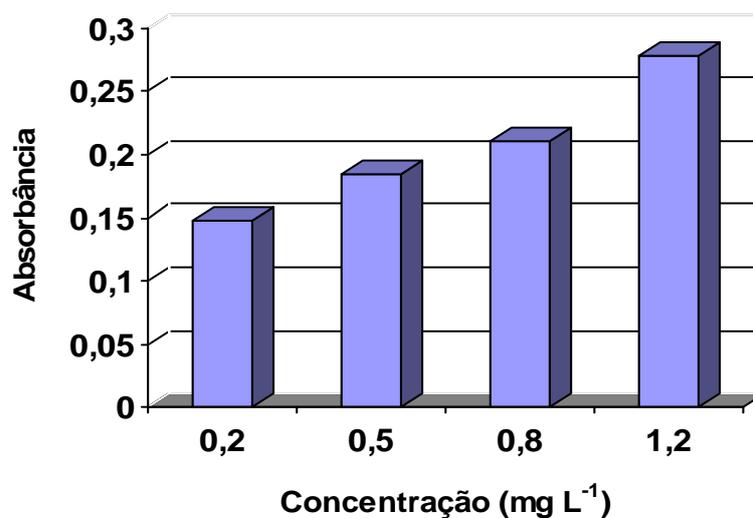


**Figura 15** - Efeito da acidez na formação do complexo. Sinais obtidos usando soluções de referência de 0,3 mg L<sup>-1</sup> de Zn (II)

#### 4.6 - Efeito da concentração da solução tampão

Estudou-se o efeito da variação do sinal analítico em função da concentração da solução tampão pH 6,4. Não foi observada diferença significativa na faixa entre 0,5 e 0,8 mol L<sup>-1</sup>, conforme a Figura 16.

Embora a concentração de 1,2 mol L<sup>-1</sup> de hexamina tenha apresentado absorvância maior, observou-se que sinais eram instáveis, o que prejudicava a precisão dos resultados. O resultado obtido com a concentração de hexamina 0,8 mol L<sup>-1</sup> foi 15% maior do que o obtido com a concentração de 0,5 mol L<sup>-1</sup>, então optou-se pelo uso de uma concentração de hexamina de 0,6 mol L<sup>-1</sup>, visando redução do consumo sem comprometer a sensibilidade do procedimento.



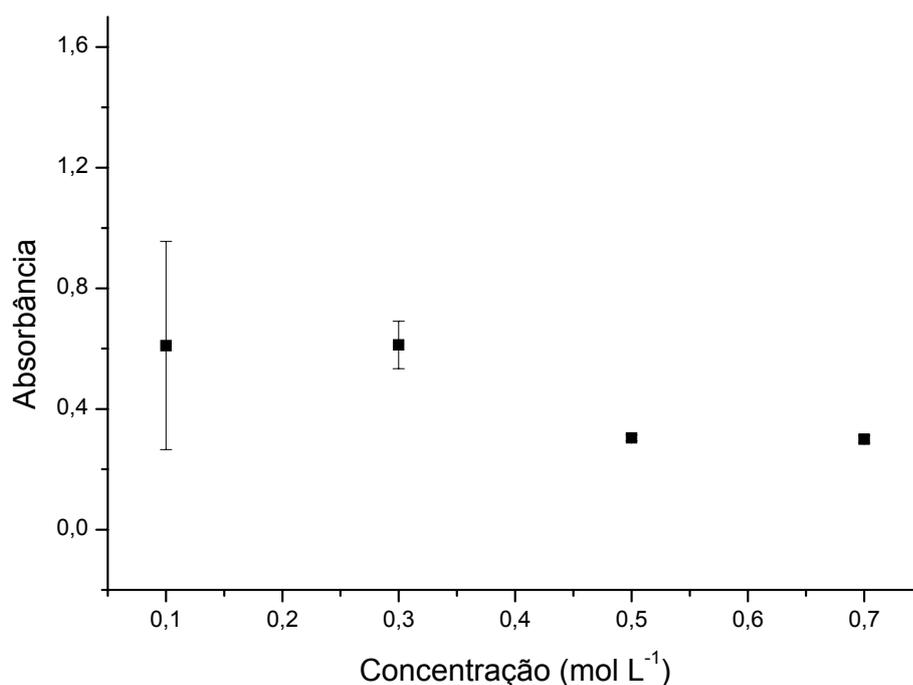
**FIGURA 16** - Efeito da concentração da solução tampão. Sinais obtidos usando soluções de referência de 0,3 mg L<sup>-1</sup> de Zn (II) em pH 6,4 nas concentrações de 0,2; 0,5; 0,8 e 1,2 mol L<sup>-1</sup>.

#### 4.7 - Efeito do volume e concentração do eluente

A literatura relata que, vários ácidos minerais podem ser utilizados para remoção do Zn (II) da fase sólida, apenas o ácido clorídrico não apresentou a lixiviação de TAN,

promovendo a eluição completa [52]. Então, optou-se pelo uso deste reagente, e os ensaios efetivados neste trabalho envolveram o volume e a concentração do ácido clorídrico na etapa de dessorção do analito.

Conforme ilustra a Figura 17, a eluição do zinco foi avaliada em diferentes concentrações, e percebeu-se que concentrações mais baixas apresentaram uma eluição parcial do analito, saturando a fase sólida rapidamente. As soluções mais concentradas apresentaram remoção tanto do analito complexado quanto do reagente cromogênico imobilizado na fase sólida. Em vista disso, em pouco tempo de uso ocorria a completa perda de sinal. Portanto, a concentração de  $0,5 \text{ mol L}^{-1}$  foi selecionada para a continuação dos estudos.



**FIGURA 17** - Efeito da concentração de HCl na eluição. Emprego da vazão de  $1 \text{ mL min}^{-1}$ , usando uma solução de referência com concentração de  $0,5 \text{ mg L}^{-1} \text{ Zn(II)}$  e volume de  $667 \text{ }\mu\text{L}$ .

Depois de estabelecida a concentração do eluente, avaliou-se o menor volume da solução de ácido clorídrico necessário para eluição do analito, sem causar arraste do reagente. Os estudos revelaram que para cada 84  $\mu\text{L}$  de amostra eram necessários aproximadamente 17  $\mu\text{L}$  da solução de ácido clorídrico, estabelecendo a proporção de 5:1 (amostra/eluente).

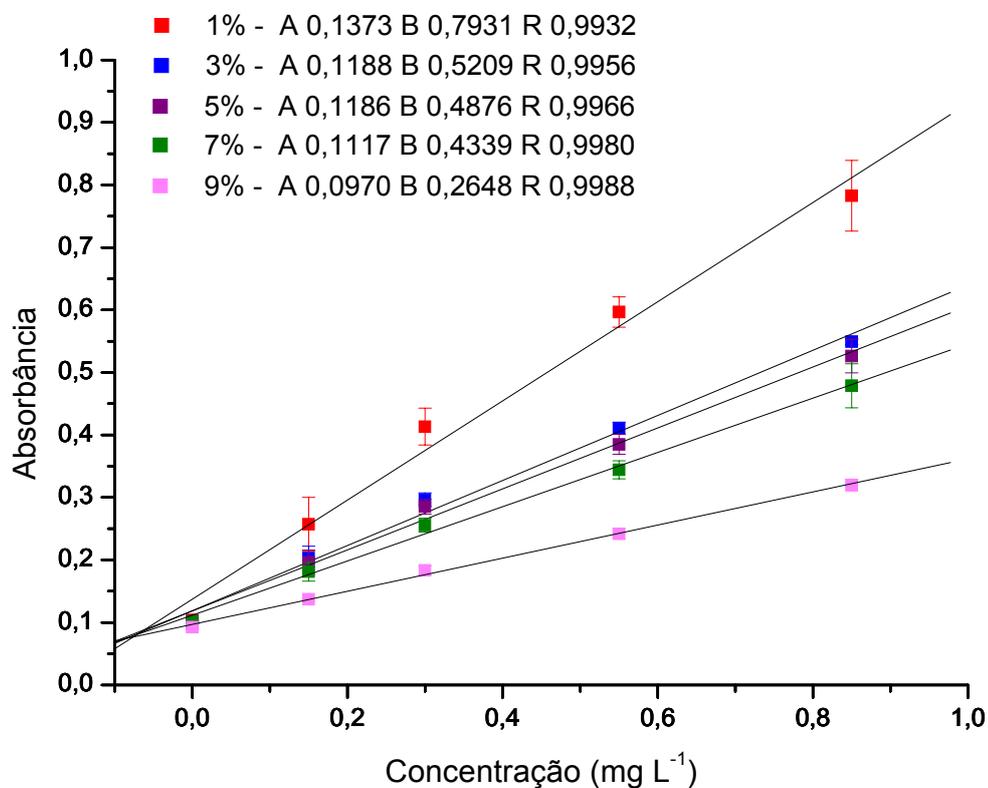
#### **4.8 - Efeito do volume de metanol para o condicionamento do suporte sólido**

Para que aconteça a imobilização do TAN em  $\text{C}_{18}$ , é necessário o condicionamento da fase sólida. Geralmente, para sílica funcionalizada  $\text{C}_{18}$ , a ativação é feita com metanol através do contato direto. Neste estudo, foi observado que o volume de 2 mL era suficiente para a ativação do  $\text{C}_{18}$ .

#### **4.9 - Efeito da concentração do tensoativo**

Os tensoativos têm a capacidade de alterar algumas características das técnicas espectrofotométricas, como sensibilidade, seletividade, solubilidade, cinética e estabilidade<sup>43</sup>, podendo, às vezes, causar alteração do espectro de absorção do complexo, deslocando o comprimento de onda da máxima absorção. Os reagentes triton X formam um grupo de surfactantes não-iônicos, os quais são divididos de acordo com a média de unidades de óxido de etileno presentes. O triton x-100 tem em média 9,5 unidades de óxido de etileno, apresentando alta viscosidade<sup>91</sup>.

Para avaliação do efeito da concentração do triton x-100, os testes foram realizados na presença de TAN e etanol. As concentrações estudadas foram entre 1% e 9%. Na Figura 18 são mostrados os resultados obtidos.

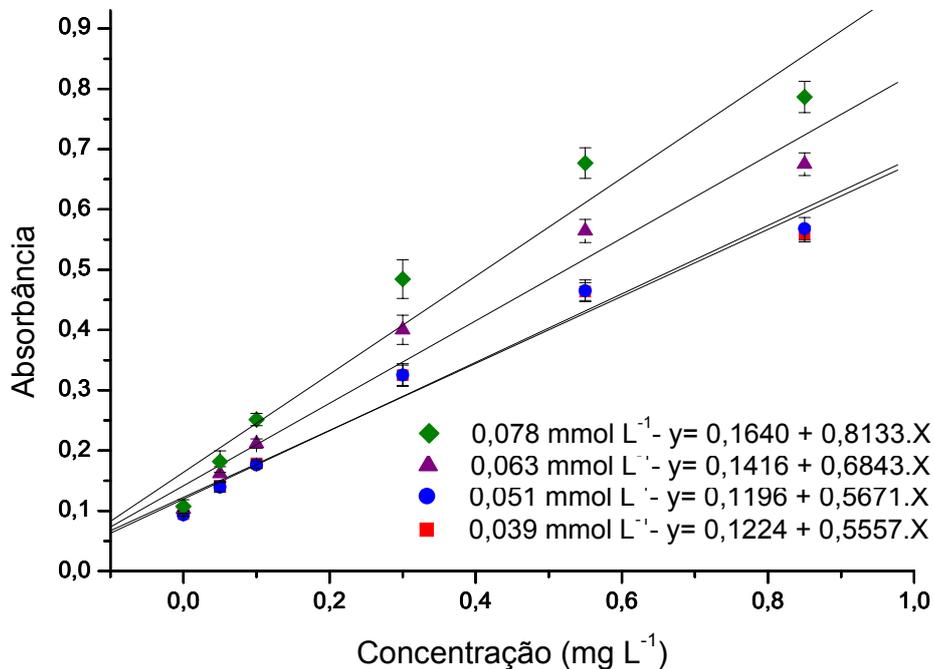


**FIGURA 18** - Efeito da concentração do tensoativo no sinal analítico. Soluções de referência usadas: 0; 0,15; 3,0; 0,55 e 0,85 mg L<sup>-1</sup>.

Observa-se que, com o aumento da concentração ocorreu um decréscimo na sensibilidade. Embora, a concentração mais baixa de tensoativo tenha proporcionado uma maior sensibilidade, observa-se que os desvios são maiores, o que compromete a precisão dos resultados. A concentração de 5% foi escolhida, tendo em vista que permitia a solubilização completa do reagente cromogênico, estabelecendo um compromisso entre estabilidade e sensibilidade.

#### 4.10 - Efeito da concentração de TAN

O efeito da concentração da solução de TAN foi avaliado com o intuito de encontrar a melhor resposta, tendo como parâmetros a sensibilidade, a estabilidade e a vida útil, os resultados obtidos são mostrados na Figura 19. Considerando-se o coeficiente angular de cada curva analítica como parâmetro para avaliação, observa-se que os resultados referentes às concentrações de 0,039 e 0,051 mmol L<sup>-1</sup> não apresentam diferença significativa. Entretanto, para as concentrações de 0,063 e 0,078 mmol L<sup>-1</sup>, os acréscimos foram em torno de 20 e 30 %, respectivamente, em comparação com o valor obtido com a concentração de 0,039 mmol L<sup>-1</sup>. Entretanto, com estas soluções ocorria uma variação da linha de base (*drift*) indicando que estava ocorrendo uma lixiviação do reagente cromogênico. Em vista disso, a concentração de 0,039 mmol L<sup>-1</sup> foi selecionada.

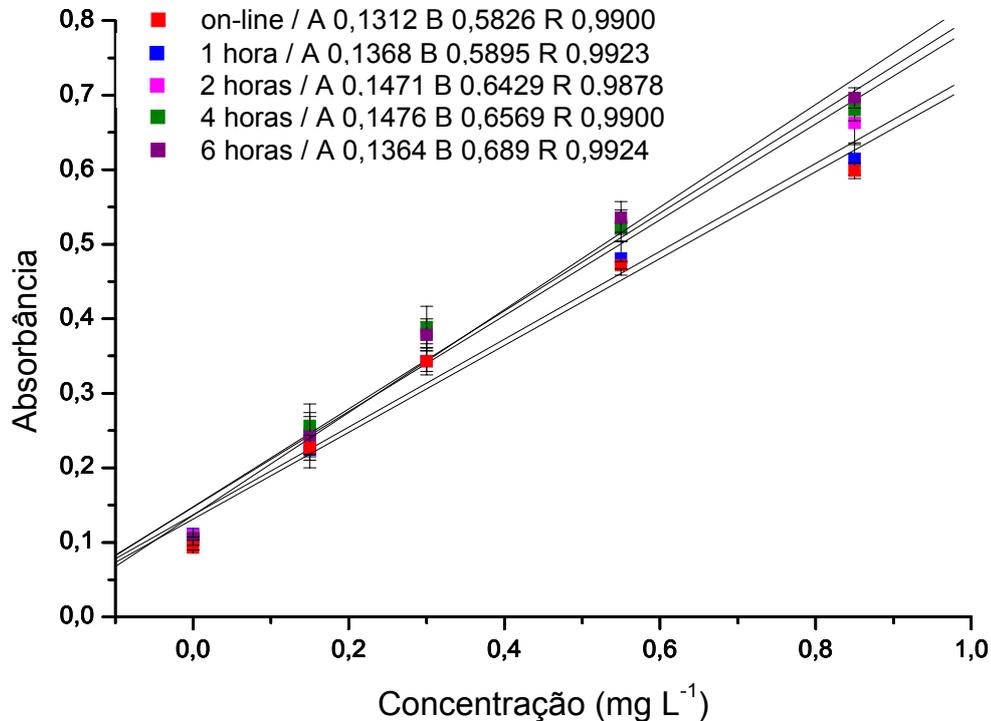


**FIGURA 19** - Efeito da concentração de TAN, usado na imobilização do Zn (II), no sinal analítico. Soluções de referência usadas: 0; 0,05; 0,15; 3,0; 0,55 e 0,85 mg L<sup>-1</sup>.

#### 4.11 - Efeito do tempo de imobilização do TAN na sílica funcionalizada C<sub>18</sub>

Para avaliação da eficiência da imobilização do reagente TAN em C<sub>18</sub> foram empregados diferentes intervalos de tempos de contato do reagente com a fase sólida. Para a imobilização *on-line*, o sólido foi inserido na cela de fluxo e a solução de TAN foi bombeada durante dois minutos na vazão de 1,0 mL min<sup>-1</sup>. Para a imobilização *off-line*, o sólido foi imerso diretamente na solução de TAN e após a imobilização, era lavado com água abundante e inserido na cela.

Os dados obtidos são mostrados na Figura 20 e os coeficientes angulares das curvas de regressão linear indicam o aumento da sensibilidade com o aumento do tempo de contato. A imobilização *on-line* apresentou resultado idêntico ao obtido (99%) com a imobilização *off-line* com tempo de 1 hora. Então, esta condição poderia ser empregada, tendo em vista que o tempo necessário era bem menor, entretanto visando estabelecer as melhores condições de sensibilidade, estabeleceu-se o tempo de 2 horas para imobilização do reagente na fase sólida. Neste caso, o ganho de sensibilidade em comparação com o anterior foi em torno de 10 %.

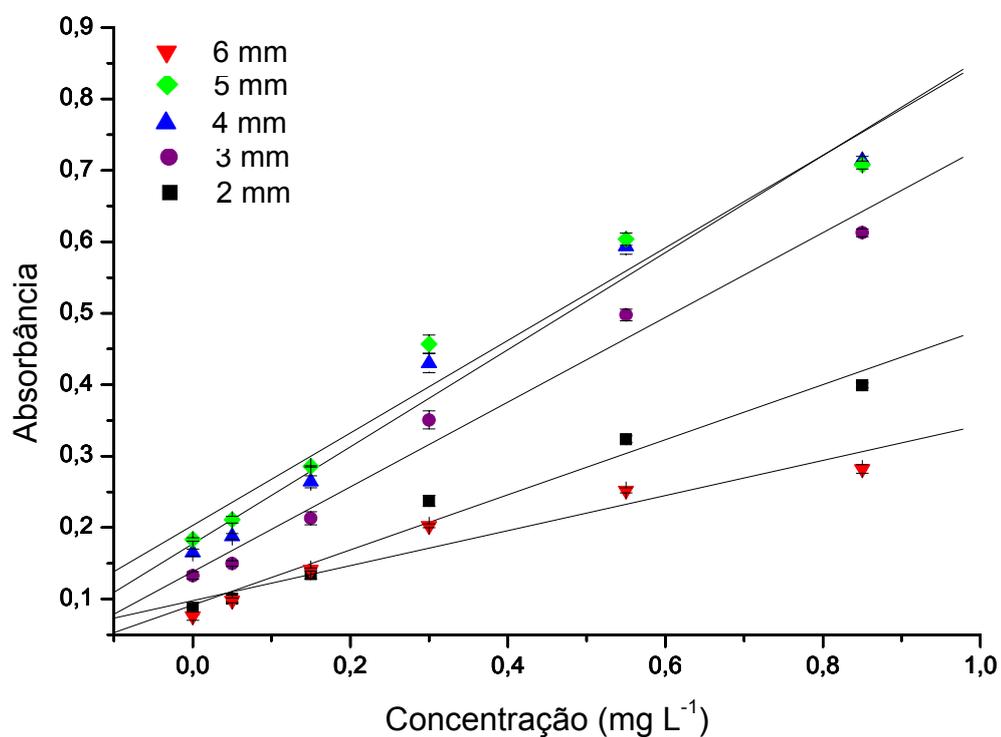


**FIGURA 20** - Efeito do tempo de imobilização do reagente cromogênico. Imobilização com  $0,039 \text{ mmol L}^{-1}$  de TAN, para todas as curvas. Soluções de referência usadas: 0; 0,15; 3,0; 0,55 e  $0,85 \text{ mg L}^{-1}$  em  $\text{pH} = 6,4$ .

#### 4.12 - Efeito do comprimento do caminho óptico

Uma limitação para ampliação da faixa de resposta linear em espectrofotometria de fase sólida é o caminho óptico da cela de detecção que, em geral, é em torno de 1 mm. Esta limitação ocorre devido a atenuação do feixe de radiação, provocado pelos processos de absorção e espalhamento causados pela presença da fase sólida. A utilização de maior quantidade de material sólido permite o aumento do número de sítios de adsorção, sendo que, em princípio, ampliaria a faixa de concentração do procedimento analítico. A geometria da cela de fluxo desenvolvida para este projeto (Figura 8) para determinações em FI-SPS, permite variar a quantidade da fase sólida inserida no caminho óptico, mantendo o mesmo diâmetro. Desse modo, o aumento da

massa de  $C_{18}$  resultava em aumento linear do comprimento do caminho óptico da cela. Visando verificar a resposta do fotômetro em função do comprimento da fase sólida, alguns experimentos foram realizados variando o comprimento de caminho óptico de 2 a 6 mm. As curvas analíticas são mostradas na Figura 21 e os parâmetros referentes à regressão linear de cada caso são mostrados na Tabela 2.



**FIGURA 21** - Efeito do comprimento da cela de fluxo. Soluções de referência usadas: 0; 0,05; 0,15; 3,0; 0,55 e 0,85 mg L<sup>-1</sup> em pH = 6,4. Neste experimento, o intervalo de tempo para inserção das soluções de referência foi mantido em 40 s com vazão de 1,0 mL min<sup>-1</sup>.

**TABELA 2** - Parâmetros analíticos avaliados variando o comprimento do caminho óptico.

| Caminho óptico (mm) | Massa (mg) | Interseção | Coefficiente Angular | Faixa linear (mg L <sup>-1</sup> ) | R      |
|---------------------|------------|------------|----------------------|------------------------------------|--------|
| 2                   | 0,0072     | 0,0922     | 0,3823               | 0,05 – 0,85                        | 0,9863 |
|                     |            | 0,1381     | 0,5937               | 0,05 – 0,85                        | 0,9903 |
| 3                   | 0,0107     | 0,1237     | 0,6911               | 0,05 – 0,55                        | 0,9959 |
|                     |            | 0,1772     | 0,6795               | 0,05 – 0,85                        | 0,9865 |
| 4                   | 0,0140     | 0,1575     | 0,8124               | 0,05 – 0,55                        | 0,9949 |
|                     |            | 0,2048     | 0,6455               | 0,05 – 0,85                        | 0,9812 |
| 5                   | 0,0167     | 0,1826     | 0,7949               | 0,05 – 0,55                        | 0,9938 |
| 6                   | 0,0199     | 0,0870     | 0,3211               | 0,05 – 0,55                        | 0,9848 |

Observa-se que o aumento do caminho óptico proporcionou ganho significativo em sensibilidade para o comprimento de 2 a 5 mm. A melhor sensibilidade foi obtida com o caminho óptico de 4 mm. Observa-se, ainda, que a sensibilidade e a linearidade dependem da faixa de concentração usada. Chama atenção o fato de que com os caminhos ópticos de 2 e 6 mm obteve-se os piores resultados, entretanto as causas podem ser distintas. No primeiro caso, pode-se atribuir ao efeito de saturação da fase sólida, pois a quantidade de material disponível era menor que nos outros casos. No segundo caso não podemos atribuir os efeitos observados (Tabela 2) à saturação da fase sólida, pois a quantidade de material presente no caminho óptico era maior que nos casos anteriores. Então, pode-se concluir que o efeito foi causado pelo espalhamento do feixe de radiação pelas partículas de C<sub>18</sub>.

O caminho óptico de 6 mm, apresentou atenuação significativa do feixe de radiação em relação ao caminho óptico de 4 mm, onde o decréscimo do coeficiente angular foi em torno de 2,5 vezes. O valor da interseção obtido foi próximo ao apresentado pelo caminho óptico de 2 mm, tornando mais evidente o efeito do espalhamento. Nos outros casos, também houve espalhamento da radiação, entretanto, é perceptível que no caminho óptico de 6 mm este efeito é predominante. É interessante observar que a sensibilidade aumenta com o caminho óptico através da fase sólida,

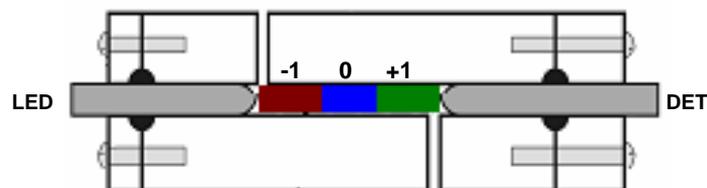
porém não obedece a Lei Lambert-Beer. Isso ocorreu, provavelmente, devido ao espalhamento da radiação, efeito que no domínio da Lei de Lambert-Beer deve ser desprezível, entretanto, neste caso, foi predominante.

#### 4.13 Posição do caminho óptico em relação ao LED

A cela de fluxo proposta apresenta 2 mm de diâmetro e capacidade para acomodar até 9 mm de sólido. Esta geometria permite a utilização de uma quantidade 4 vezes maior que nas celas convencionais.

A inserção do sólido na cela de fluxo deve ser eficiente, evitando a formação de caminhos preferenciais e aumento da pressão hidrodinâmica. O emprego de guias de onda favorece a incidência de luminosidade de forma igual ao longo de todo o caminho óptico, independente da área que o sólido foi inserido.

Para este estudo, a cela foi dividida em três regiões diferentes, mantendo o comprimento da fase sólida em 3 mm. Em cada caso foi processado um conjunto de soluções de referência com concentrações variando de 0,05 a 0,85 mg L<sup>-1</sup> Zn(II). Na Figura 22 é mostrada uma representação da divisão da cela de fluxo em regiões.



**FIGURA 22** – Representação da divisão do caminho óptico da cela em regiões.

A partir dos valores máximos dos sinais gerados pelo fotômetro foram encontradas as respectivas curvas analíticas por regressão linear, e os parâmetros correspondentes são mostrados na Tabela 3.

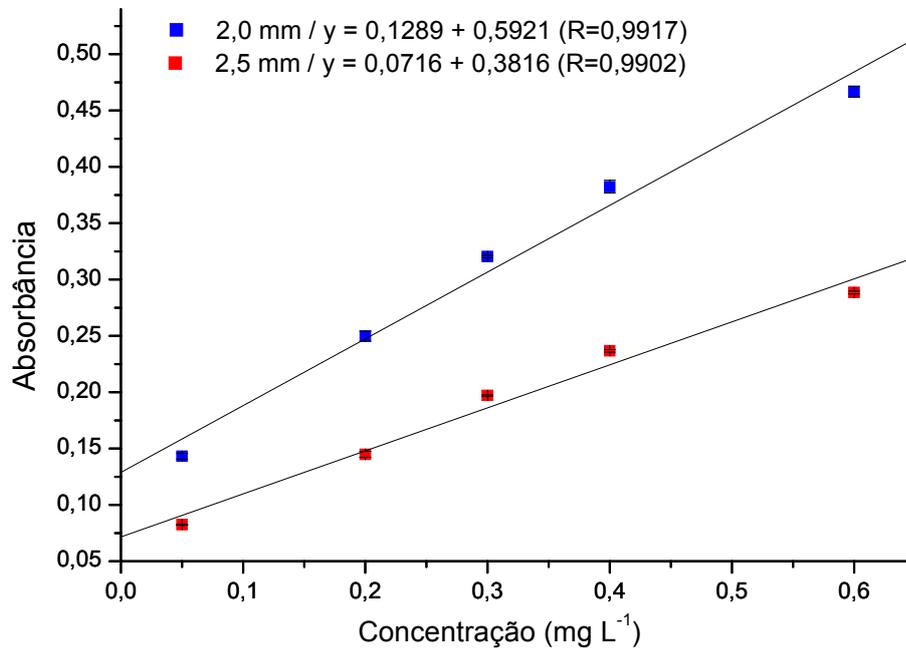
**TABELA 3** - Parâmetros analíticos avaliados variando a posição do caminho óptico.

| Região | Interseção | Coef. Angular | R      |
|--------|------------|---------------|--------|
| -1     | 0,1216     | 0,2498        | 0,9922 |
| 0      | 0,1177     | 0,2830        | 0,9925 |
| +1     | 0,1214     | 0,2605        | 0,9979 |

Observa-se que o melhor coeficiente angular foi obtido com a fase sólida posicionada na região central da cela, entretanto a melhor correlação linear foi obtida com a fase sólida posicionada mais próxima do fotodetector. Em relação à posição central, as variações do coeficiente angular foram de 8 e 13 %, indicando que este posicionamento não é crítico, o que facilita o trabalho quando é necessário trocar a fase sólida.

#### 4.14 - Efeito do diâmetro da cela

Para o estudo deste parâmetro foram construídas duas celas de mesma geometria, com diâmetros de 2,0 e 2,5 mm. As condições foram idênticas para ambas as celas e os resultados obtidos podem ser observados na Figura 23. Analisando as duas curvas, observa-se que os valores da interseção e do coeficiente angular relacionados à cela de 2 mm é aproximadamente 44,5 e 36 %, respectivamente, maiores que os da cela de 2,5 mm. A interseção está relacionada com o sinal do branco, e pode ser limitante quanto à largura da faixa de resposta linear até a saturação, mas não afeta o limite de detecção desde que a instrumentação tenha um baixo nível de ruído. O coeficiente angular está relacionado com a sensibilidade, portanto a cela com diâmetro de 2,0 mm seria preferida.



**FIGURA 23** - Efeito do diâmetro da Cella de fluxo. Soluções de referência usadas: 0,05; 0,2; 0,3; 0,4 e 0,6 mg L<sup>-1</sup> em pH= 6,4.

#### 4.15 - Estudo de Interferentes

Alguns elementos tais como Co (II), Cu (II), Ni (II), Cd (II), Ca (II), Be (II), Ba (II) e Mg (II), também formam complexo com o TAN apresentando espectro de absorção de radiação eletromagnética na mesma faixa do composto formado com zinco, para tanto, a interferência foi contornada empregando ácido ascórbico e tiosulfato de sódio.

No caso do cobre, principal interferente, o mascaramento é baseado na redução do Cu(II) para Cu(I) seguido de complexação do Cu(I) com tiosulfato, formando o complexo  $[Cu_2(S_2O_3)_2]^{2-}$ . A formação deste complexo é eficiente em pH acima de 6,0, o que coincide com o pH ótimo para reação do zinco. O complexo  $[Cu_2(S_2O_3)_2]^{2-}$  não é retido na fase sólida [91].

O estudo foi feito adicionando-se 0,5 mg L<sup>-1</sup> do possível interferente em uma solução contendo a mesma concentração de zinco. A tolerância aceitável na variação da absorbância para considerar a interferência desprezível foi de  $\pm 5\%$ . Os cátions

estudados foram: Mo (VI), Al (III), Fe (III), Ca (II), Mg (II), Mn (II), Cu (II), Co (II), Ni (II), e os resultados são mostrados na Tabela 4.

Tabela 4. Estudo dos interferentes

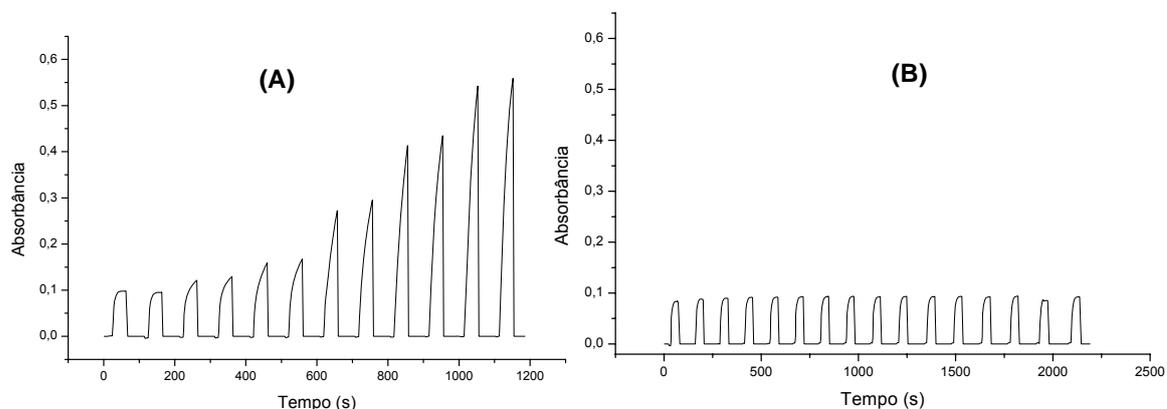
| Interferente | Absorbância<br>A | Absorbância<br>A+ B | (%)*  |
|--------------|------------------|---------------------|-------|
| Ca           | 0,4860           | 0,5016              | > 3,2 |
| Mo           | 0,4860           | 0,4680              | < 3,7 |
| Cu           | 0,4860           | 0,5771              | >18,7 |
| Mn           | 0,4860           | 0,5020              | > 3,3 |
| Mg           | 0,4860           | 0,4704              | < 3,2 |
| Fe           | 0,4860           | 0,4691              | < 4,5 |
| Al           | 0,4860           | 0,5005              | > 3,0 |
| Co           | 0,4860           | 0,4980              | > 2,5 |
| Ni           | 0,4860           | 0,4860              | < 2,0 |

\*Os resultados são referentes à média de 3 determinações consecutivas. A e A+B correspondem as absorbâncias referentes à solução de referência de  $0,5 \text{ mgL}^{-1}$  Zn(II) e de Zn mais o interferente, respectivamente.

Os dados da Tabela 4 mostram que apenas a solução de cobre apresentou interferência significativa, a qual foi superada adicionando-se ácido ascórbico e tiosulfato de sódio.

#### 4.16 Características do método proposto

Os sinais transientes advindos da aplicação dos parâmetros estabelecidos são apresentados na Figura 24. Aplicando-se um método de regressão linear, tomando os máximos dos sinais gerados pelo fotômetro como parâmetros, obteve-se as seguinte equação linear:  $\text{Absorb} = 0,10024 + 0,54633X$  ( $R = 0,995$ ). Os demais parâmetros do sistema como um todo é mostrado na Tabela 5.



**FIGURA 24** - (A) Sinais transientes referentes ao branco analítico, seguidos de soluções de referência contendo 0,05; 0,15; 0,3; 0,55; 0,85 mg L<sup>-1</sup> de zinco. (B) Sinais referentes ao branco.

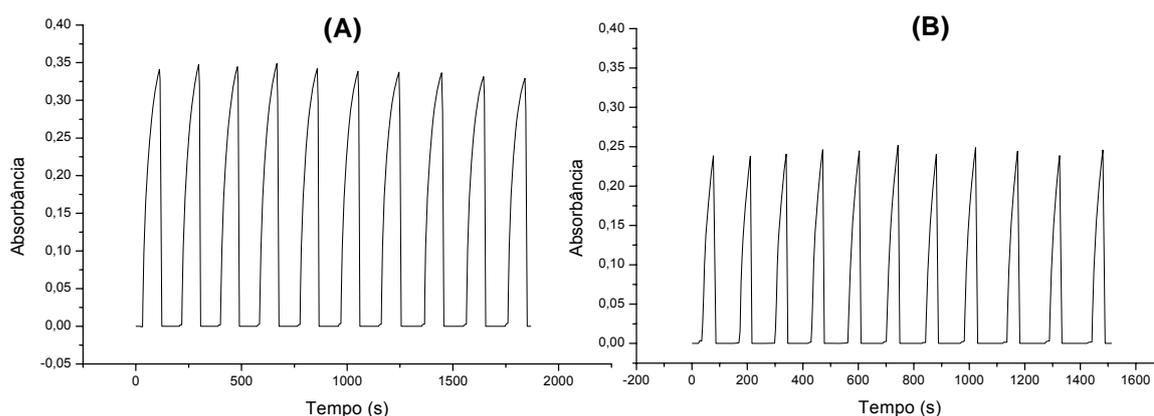
**TABELA 5** - Características Analíticas do Método Proposto

|  |             |
|--|-------------|
| Faixa linear (mg L <sup>-1</sup> )       | 0,05 – 0,85 |
| Amostra (μL)                             | 667         |
| Caminho óptico (mm)                      | 4           |
| Coef. Linear                             | 0,1002      |
| Coeficiente Angular                      | 0,546       |
| Limite de detecção (μg L <sup>-1</sup> ) | 9,3         |
| Frequência de amostragem (h)             | 36          |
| Coef. De variação (n=10)                 | 1,4         |

#### 4.17 - Estudo da estabilidade do procedimento ao longo do tempo

Neste experimento foi empregado a mesma solução contendo 0,3 mg L<sup>-1</sup> Zn(II), e tempo de inserção programado em 40 e 80 s e os resultados obtidos são mostrados na Figura 25. Os volumes da solução de referência bombeados através da fase sólida foram 1300 e 667 μL, respectivamente. Observa-se que os registros relacionados ao

volume de 1300  $\mu\text{L}$ , apresenta uma tendência decrescente a partir do sexto registro. Este efeito não é observado nos registros obtidos com o tempo de inserção de 40 s. Este efeito é observado nos coeficientes de variação estimados em 1,8 e 1,4 % para os intervalos de tempo de 80 e 40 s, respectivamente.



**FIGURA 25** - Sinais transientes referentes ao teste de repetibilidade. A e B correspondem aos tempos de inserção de 80 e 40 s, respectivamente.

Quando aumentamos o intervalo de tempo para adsorção do analito na fase sólida, é necessário aumentar, também, o intervalo de tempo necessário à eluição, o que ao longo do tempo pode lixiviar o reagente cromogênico. Imaginamos que este efeito ocorreu quando o tempo de inserção da amostra foi de 80 s.

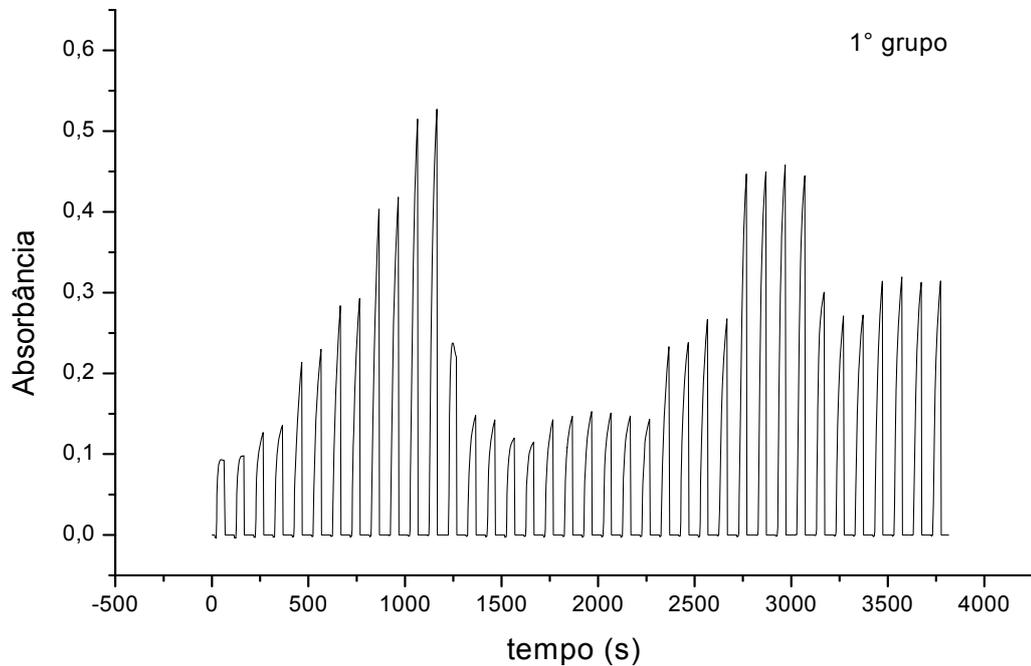
#### **4.18 - Determinação de zinco em amostras de produtos farmacêuticos**

A determinação do zinco foi realizada em dois tipos de amostras farmacêuticas: manipuladas e de origem industrial. O objetivo da utilização de amostras manipuladas ocorreu devido à comercialização deliberada de compostos manipulados, atualmente.

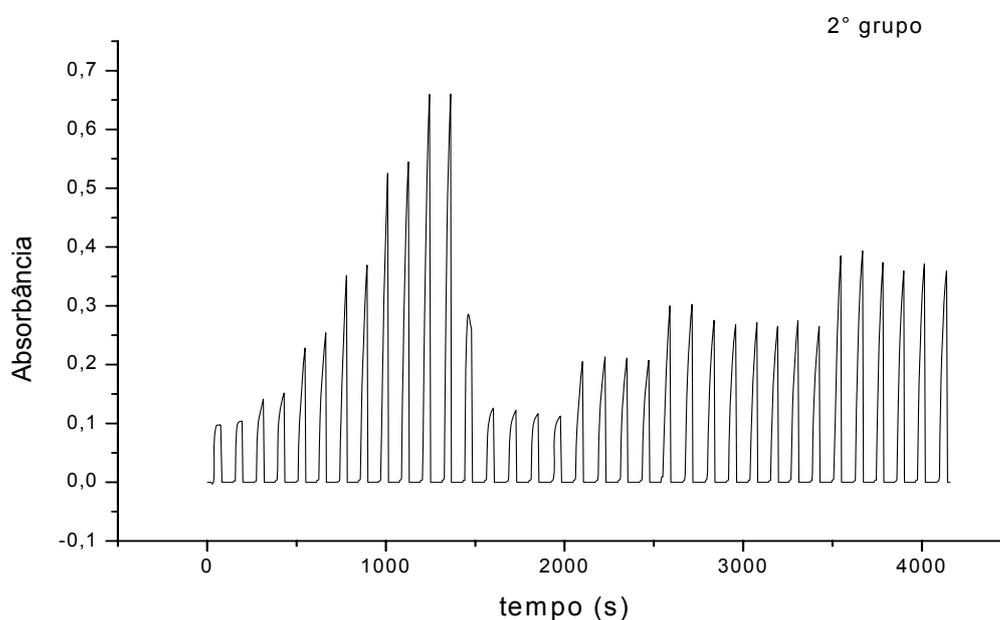
A ingestão de altas doses de zinco pode ocasionar intoxicação e apesar de não ser utilizado como substância anabolizante, é capaz de potencializar o efeito de outras substâncias, quando presente. As amostras foram adquiridas em farmácia local e os resultados obtidos serão apresentados a seguir.

#### 4.18.1 - AMOSTRAS MANIPULADAS

Os registros referentes ao monitoramento dos sinais gerados pelo fotômetro, processando as amostras de produtos farmacêuticos obtidos junto à farmácia de manipulação são mostrados nas Figuras 26 e 27, e os resultados obtidos por interpolação com as respectivas curvas analíticas são mostrados na Tabela 6.



**FIGURA 26** - Registro de sinais transientes obtidos com o sistema proposto. Da esquerda para a direita: sinais correspondem ao branco, soluções de referência de zinco a  $0,05 \text{ mg L}^{-1}$ ,  $0,15 \text{ mg L}^{-1}$ ,  $0,3 \text{ mg L}^{-1}$ ,  $0,55 \text{ mg L}^{-1}$ ,  $0,85 \text{ mg L}^{-1}$ , seguidos de amostras manipuladas com as concentrações de  $0,097 \text{ mg}$  e  $0,580 \text{ mg}$  de zinco e uma mistura de  $0,580 \text{ mg}$  de zinco com  $0,580 \text{ mg}$  de cobre. Equação de regressão linear:  $\text{Absorb} = 0,1221 + 0,4939X$  ( $R = 0,9910$ ).



**FIGURA 27** - Registro de sinais transientes obtidos com o sistema proposto. Da esquerda para a direita: sinais correspondem ao branco, soluções de referência de zinco a  $0,05 \text{ mg L}^{-1}$ ,  $0,15 \text{ mg L}^{-1}$ ,  $0,3 \text{ mg L}^{-1}$ ,  $0,55 \text{ mg L}^{-1}$ ,  $0,85 \text{ mg L}^{-1}$ , seguidos de amostras manipuladas com as concentrações de 0,192 mg, 0,289, 0,481 e 0,865 de zinco. Equação de regressão linear:  $\text{Absorb} = 0,1291 + 0,6679X$  ( $R = 0,9898$ )

**TABELA 6** - Comparação do método proposto para amostras manipuladas

| Amostra*<br>(mg) | ICP-OES <sup>1</sup> | FI-SPS <sup>1</sup> | Composição rotulada |
|------------------|----------------------|---------------------|---------------------|
| A                | $0,111 \pm 0,007$    | $0,106 \pm 0,002$   | 0,097               |
| B                | $0,550 \pm 0,0025$   | $0,560 \pm 0,002$   | 0,580               |
| C                | $0,921 \pm 0,030$    | $0,752 \pm 0,003$   | 0,865               |
| D                | $0,203 \pm 0,045$    | $0,231 \pm 0,004$   | 0,192               |
| E                | $0,409 \pm 0,028$    | $0,331 \pm 0,02$    | 0,289               |
| F                | $0,395 \pm 0,002$    | $0,403 \pm 0,004$   | 0,481               |
| G                | $0,852 \pm 0,014$    | $0,715 \pm 0,010$   | 0,580               |

\* Adquiridas em farmácia de manipulação

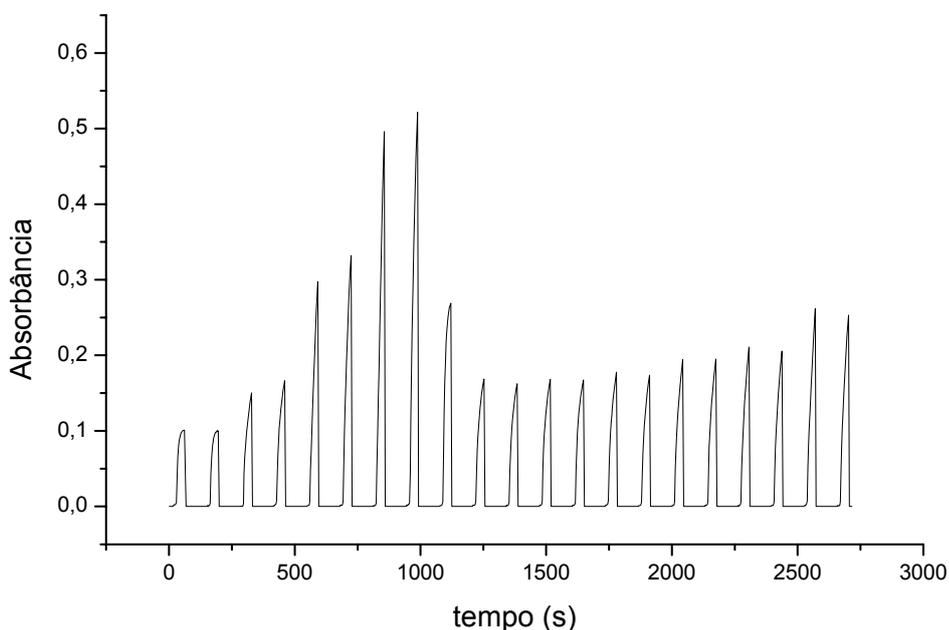
<sup>1</sup> Média de quatro determinações com os respectivos desvios-padrão

Visando comprovar a exatidão dos resultados, o analito também foi determinado nas amostras empregando espectrometria de emissão óptica com plasma acoplado indutivamente (ICP-OES). Aplicando o teste-*t* pareado entre os resultados, o valor encontrado para o nível de confiança de 95% foi  $t_{\text{calc.}} = 0,06015$ . O valor tabelado para esse nível de confiança é  $t_{\text{tab}} = 2,228$ . Tendo em vista que valor encontrado é menor, então não há diferença significativa em nível de confiança de 95% e dez graus de liberdade.

As Figuras 26 e 27 correspondem à dois lotes de amostras distintas, processados em dias distintos. Observa-se que os conjuntos de registros têm perfis semelhantes, o que indica uma boa performance do sistema analítico como um todo. Nos dois casos foi usada a mesma fase sólida sem refazer a imobilização do reagente cromogênico. Observa-se que foram realizadas 72 determinações, e aparentemente não houve variação significativa nos perfis dos sinais analíticos. Observa-se na Figura 27 que 36 determinações analíticas foram executadas em um intervalo de tempo de 3600 s, portanto, o procedimento tem uma produtividade de 36 determinações por hora.

#### 4.18.2 - AMOSTRAS DE ORIGEM INDUSTRIAL

Os registros referentes ao monitoramento dos sinais gerados, processando as amostras de produtos farmacêuticos de origem industrial são mostrados na Figura 29 e os resultados obtidos com as respectivas curvas analíticas são mostrados na Tabela 7. Observa-se que os registros apresentam repetibilidade semelhante a dos registros das Figuras 26 e 27, incluindo a curva de regressão linear. Verifica-se que 21 corridas analíticas foram executadas em intervalo de tempo de 2.750 s, portanto, a produtividade do sistema é estimada em 29 determinações por hora. Este valor é menor do que o estimado a partir dos registros da Figura 26. Os intervalos de tempo programados foram os mesmos. Posteriormente, observou-se que o equipamento utilizado para aquisição dos dados apresentava uma velocidade de processamento diferente, alterando a linha de tempo entre as determinações.



**FIGURA 28** - Registro de sinais transientes obtidos com o sistema proposto. Da esquerda para a direita: sinais correspondem ao branco, soluções de referência de zinco a  $0,1 \text{ mg L}^{-1}$ ,  $0,40 \text{ mg L}^{-1}$  e  $0,85 \text{ mg L}^{-1}$ , seguidos de amostras farmacêuticas: Stresstabs; Tongifort; Centrum e Life Vit. Equação de regressão linear:  $\text{Absorb} = 0,1117 + 0,46949X$  ( $R = 0,995$ )

**TABELA 7** - Comparação do método proposto para amostras de produtos farmacêuticos de origem industrial

| Amostra               | ICP-OES*          | FI-SPS*           | Composição rotulada |
|-----------------------|-------------------|-------------------|---------------------|
| <i>Stresstabs 600</i> | $27,02 \pm 0,005$ | $23,78 \pm 0,005$ | 23,90               |
| <i>Tongifort</i>      | $26,52 \pm 0,002$ | $22,25 \pm 0,002$ | 23,90               |
| <i>Centrum</i>        | $7,84 \pm 0,0012$ | $7,02 \pm 0,003$  | 7,00                |
| <i>Life Vit</i>       | $14,01 \pm 0,005$ | $22,64 \pm 0,003$ | 15,00               |

\* Média de três determinações com os respectivos desvios-padrão.

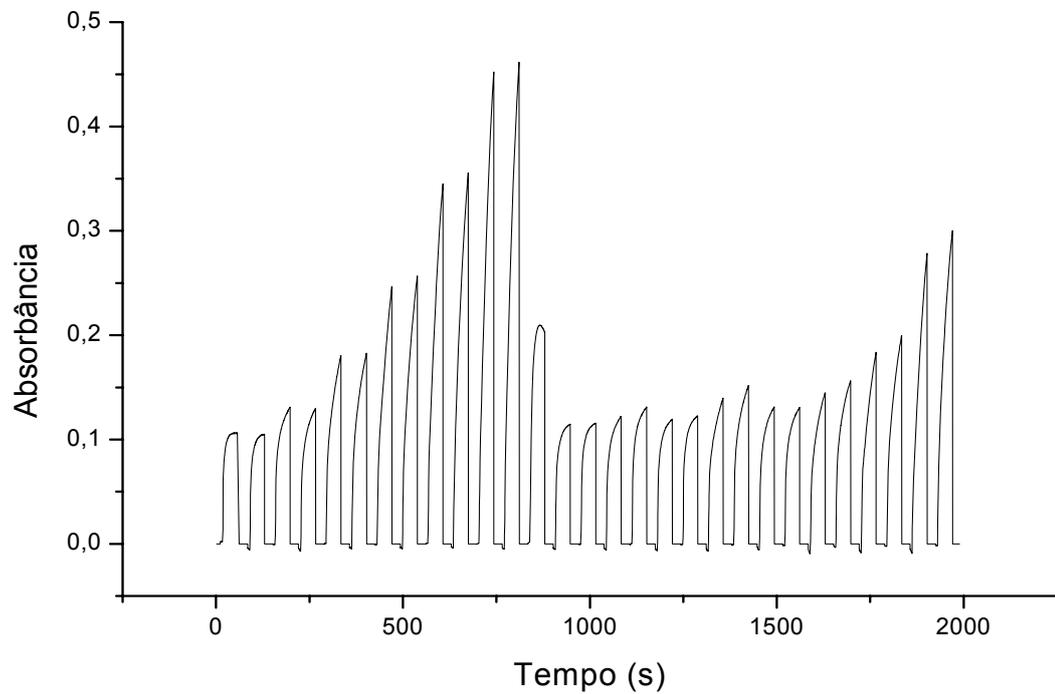
Visando verificar a exatidão do método proposto, o analito foi determinado nas amostras empregando espectrometria de emissão óptica com plasma acoplado

indutivamente (ICP-OES). Aplicando o teste- $t$  pareado entre os resultados, o valor encontrado para o nível de confiança de 95% foi  $t_{\text{calc.}} = -0,02549$ . O valor tabelado para esse nível de confiança é  $t_{\text{tab}} = 3,182$ . Tendo em vista que valor encontrado é menor, então não há diferença significativa em nível de confiança de 95%.

#### **4.19 - Determinação de zinco em amostras de água**

Os registros referentes ao monitoramento dos sinais gerados pelo fotômetro processando as amostras de água são mostrados na Figura 29, e os resultados obtidos por interpolação das curvas analíticas são mostrados na Tabela 8. Nesta Figura observa-se que 21 determinações foram feitas em um intervalo de tempo de 2000 s, portanto podemos deduzir que o sistema proposto apresenta uma produtividade de 41 determinações por hora. Os parâmetros de tempo foram os mesmos do caso anterior, então, o aumento de produtividade ocorreu em vista da eliminação do excesso de arquivos.

Neste caso, a concentração de zinco nas amostras é muito baixa, estão na ordem da menor solução de referência usada para traçar a curva analítica, desta forma, não temos segurança para apresentar como um resultado válido. Entretanto, analisando os registros da Figura 29, observa-se que há discriminação entre os sinais. Neste sentido, apresentamos os resultados como indicativo da viabilidade do sistema. Considerando que o nível de ruído é baixo, acreditamos que podemos trabalhar com concentrações mais baixas, aumentando o tempo de inserção da amostra.



**Figura 29** - Registro de sinais transientes obtidos com o sistema proposto. Da esquerda para a direita: sinais correspondem ao branco, soluções de referência de zinco a  $0,05 \text{ mg L}^{-1}$ ;  $0,15 \text{ mg L}^{-1}$ ;  $0,3 \text{ mg L}^{-1}$ ,  $0,55 \text{ mg L}^{-1}$  e  $0,85 \text{ mg L}^{-1}$ , seguidos das amostras de água. Equação de regressão linear:  $\text{Absorb} = 0,1152 + 0,4136X$  ( $R = 0,998$ )

**Tabela 8** – Resultados obtidos com amostras de água.

| Amostras | Proposto ( $\text{mg l}^{-1}$ ) |
|----------|---------------------------------|
| 1        | $0,05 \pm 0,01$                 |
| 2        | $0,14 \pm 0,01$                 |
| 3        | $0,07 \pm 0,00$                 |
| 4        | $0,16 \pm 0,01$                 |
| 5        | $0,36 \pm 0,01$                 |
| 6        | $0,81 \pm 0,01$                 |

**Tabela 9** – Comparação das características dos procedimentos

| <b>Características</b>                   | <b>Proposto</b> | <b>Referência**</b> |
|--|-----------------|---------------------|
| Faixa linear (mg L <sup>-1</sup> )       | 0,05 – 0,85     | 0,04 – 4,00         |
| Coef. Linear                             | 0,100           | 0,016               |
| Coef. Angular                            | 0,546           | 0,310               |
| R  | 0,9950          | 0,9994              |
| Volume de amostra (µL)*                  | 667             | 400                 |
| Coef. de variação (n=10)                 | 1,4             | 3,3                 |
| Limite de detecção (µg L <sup>-1</sup> ) | 9,3             | 10,0                |
| Frequência Analítica (h)                 | 36              | 45                  |
| Volume de eluente (µL)*                  | 133             | 625                 |
| Geração de efluente (mL)*                | 1,7             | 6,0                 |
| Caminho óptico (mm)                      | 4               | 1                   |

\*Valor por determinação. \*\* Teixeira et al., 1999

Analisando os dados da Tabela 9, verifica-se que o sistema proposto apresentou desempenho equivalente ao do método de referência. Apresenta desvantagem em relação a frequência de amostragem e amplitude da faixa de concentração, enquanto que o sistema proposto apresenta como vantagens menor consumo de eluente e menor volume de efluente gerado. O volume de amostra efetivamente usado na análise pelo procedimento de referência foi 40 % menor que o do sistema proposto, entretanto, o módulo de análise do método de referência usava bombeamento contínuo, então o consumo de amostra era bem maior do que o mencionado.

## 5 - CONCLUSÕES

O principal objetivo deste trabalho foi desenvolver uma instrumentação e um procedimento analítico automático empregando espectrofotometria em fase sólida para determinação de zinco em produtos farmacêuticos. Em face aos resultados concluiu-se que:

✓ O método proposto apresentou significativo ganho de sensibilidade frente aos métodos espectrofotométricos convencionais, oferecendo vantagens como baixo custo e simplicidade;

✓ O sistema mostrou ser estável, pois o complexo  $Zn - C_{18}$  é reversível, mostrando que o suporte sólido pode ser reutilizado, sem que ocorra o arraste do reagente cromogênico durante a etapa de eluição;

✓ A cela de fluxo desenvolvida permitiu o acoplamento do LED e do fotodetector por meio dos cilindros de vidro, mostrou ser tecnicamente viável, evitando o arraste da fase sólida e vazamento de fluido;

✓ A possibilidade de variar a quantidade de material sólido no caminho óptico da cela é uma vantagem adicional, que foi explorada com sucesso neste trabalho;

✓ A aplicação do sistema de multicomutação em análise em fluxo minimizou o consumo de soluções gerando menos efluentes, contribuindo para o conceito de Química Limpa;

✓ O sistema proposto para a determinação de zinco em amostras de produtos farmacêuticos é exequível, uma vez que apresentou grau de automação elevado, possibilitando a realização das determinações com o mínimo de intervenção do operador;

✓ Os resultados obtidos provam que o fotômetro de LED empregado em fotometria em fase sólida é viável, permitindo ao pesquisador fazer intervenções de desempenho no equipamento, como por exemplo, mudar a geometria da cela de fluxo, ajustar a intensidade do feixe de radiação, modificar o ganho da amplificação, etc. Recursos estes, que não são disponibilizados em um equipamento comercial.

## REFERÊNCIAS

[1] VITTI, C.G.;SERRANO, C.G.E. **O Zinco na Agricultura. DBO Agrotecnologia.** Disponível em: <[www.anda.org.br/artigos](http://www.anda.org.br/artigos)>. Acesso em:15/05/2009.

[2] TEIXEIRA, L.S.G.;COSTA, A.C.S.;GARRIGUES, S.;DE LA GUARDIA, M. Flow-injection solid phase partial least-squares spectrophotometric simultaneous determination of iron, nickel and zinc. **Journal of the Brazilian Chemical Society**, v.13, p.54-59. 2002.

[3] OLIVEIRA, F.S.;KORN, M. Employment of a single standard solution for analytical curves in flow injection analysis system coupled to solid phase spectrophotometry. **Quimica Nova**, v.26, n.4, p.470-474. 2003.

[4] BOARD, F.A.N. Dietary reference intakes for vitamin A, vitamin K, arsenic, boron, chromium, copper, iodine, iron, manganese, molybdenum, nickel, silicon, vanadium, and zinc. **National Academy of Sciences.** 2001.

[5] MCCALL, K.A.;HUANG, C.C.;FIERKE, C.A. Function and mechanism of zinc metalloenzymes. **Journal of Nutrition**, v.130, n.5, p.1437S-1446S. 2000.

[6] DUARTE, R.P.S.;PASQUAL, A.D., R. G. S. Avaliação do cádmio (Cd), chumbo (Pb), níquel (Ni), e zinco (Zn) em solos, plantas e cabelos humanos. **Energia na agricultura**, v.15, n.1, p.46-58. 2000.

[7] SOUSA, F.A.D. **Extração em fase sólida de zinco (II) e cobre (II) em amostras aquosas e determinação de por espectroscopia de reflectancia difusa.** Universidade federal de viçosa, 2009.

[8] ATKINS, P.;LORETTA, J. **Princípios de Química: Questionando a vida moderna eo meio ambiente.**Porto Alegre: Bookman. 2001.

[9] **Instituto de Metais Ferrosos**. Disponível em: <<http://www.icz.org.br/zinco-sociedade.php>>. Acesso em:10/05/2010.

[10] PAULO, C.A.D. **Companhia Ambiental do Estado de São Paulo**. Disponível em: <[www.cetesb.sp.gov.br/Agua/rios/variaveis.asp](http://www.cetesb.sp.gov.br/Agua/rios/variaveis.asp)>. Acesso em:15/05/2010.

[11] CONAMA, C.N.D.M.A.-. 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. 2005.

[12] BRASIL, M.D.S. **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. Revoga a portaria nº 1469 de dezembro de 2000**. Disponível em: Acesso

[13] MAFRA, D.;COZZOLINO, S.M.F. The importance of zinc in human nutrition. **Revista de Nutrição**, v.17, n.1, p.79-87. 2004.

[14] ASSOCIATION, I.Z. **Zinc - Essential for Human Health**. Disponível em: <[www.zinc-health.org/](http://www.zinc-health.org/)>. Acesso em:15/05/2010.

[15] JACKSON, M.J. Physiology of zinc: general aspects. In: Mills CF, editor. Zinc in human biology. **Springer-Verlag**, p.323-33. 1989.

[16] FURQUIM, N.R. **Dinâmica competitiva e estratégias no segmento do zinco** Universidade Presbiteriana Mackenzie, MACKENZIE, Campinas, 2007.

[17] SOARES, J.C.R.S. O que é a vigilância Sanitária de medicamentos. Universidade Federal Flamengo 2002.

- [18] SANITÁRIA, A.D.V. **Consulta Pública nº 50, de 4 de setembro de 2008.** Disponível em: <[www.anvisa.gov.br/paf/viajantes/index.htm](http://www.anvisa.gov.br/paf/viajantes/index.htm)>. Acesso em:05/09/2008.
- [19] PEGANOVA, S.;EDER, K. Elements and their Compounds in the Environment. In: MERIAN, E., ANKE, M. e M, S. (Ed.): Wiley-VCH2, 2004. p.1203-1239
- [20] FOSMIRE, G.J. Zinc Toxicity. **American Journal of Clinical Nutrition**, v.51, n.2, p.225-227. 1990.
- [21] PRADYOT, P. **Guia geral: Propriedades nocivas das substâncias químicas.**Belo Horizonte: Ergo 2. 2003. 536 p.
- [22] BARNES, P.M.;MOYNAHAN, E.J. Zinc Deficiency in Acrodermatitis Enteropathica - Multiple Dietary Intolerance Treated with Synthetic Diet. **Proceedings of the Royal Society of Medicine-London**, v.66, n.4, p.327-329. 1973.
- [23] GONÇALVES, A. **Estudo da liga de alumínio-cobre, como filtração alternativa para radiação X.** Faculdade de Odontologia de Piracicaba, Universidade de Campinas, 2000.
- [24] SOARES, F.M. **Estudo comparativo entre os níveis séricos e plasmáticos de zinco e a atividade da superóxido dismutase eritrocitária entre idosos portadores e não-portadores de catarata senil.** Universidade Federal do Piauí, 2007.
- [25] KHEDR, A.M.;GABER, M. Spectrophotometric studies of the reaction of zinc(II) with some azo-triazol compounds and its application to the spectrophotometric determination of microamounts of zinc(II). **Spectroscopy Letters**, v.38, n.4-5, p.431-445. 2005.
- [26] PERLAS, L.A.;GIBSON, R.S. Household dietary strategies to enhance the content and bioavailability of iron, zinc and calcium of selected rice- and maize-based Philippine complementary foods. **Maternal and Child Nutrition**, v.1, n.4, p.263-273. 2005.

[27] TEIXEIRA, L.S.G.;REIS, J.O.N.;COSTA, A.C.S.;FERREIRA, S.L.C.;KORN, M.;DE ANDRADE, J.B. ICP-AES determination of small amounts of zinc in copper-base alloys after separation by adsorption of the zinc-TAN complex on Sep Pak C18 cartridges. **Talanta**, v.46, n.6, p.1279-1283. 1998.

[28] MATIES, R.;JIMENEZ, F.;ARIAS, J.J.;ROMAN, M. Spectrofluorimetric determination of zinc with 1,2,4-trihydroxyanthraquinone in pharmaceutical preparations. **Analytical Letters**, v.30, n.11, p.2059-2070. 1997.

[29] LUTKA, A.;BUKOWSKA, H. Voltammetric Determination of Zinc in Compound Pharmaceutical Preparations - Validation of Method. **Acta Poloniae Pharmaceutica**, v.66, n.5, p.471-475. 2009.

[30] ROCHA, F.R.P.;TEIXEIRA, L.S.G. Strategies to increase sensitivity in UV-VIS spectrophotometry. **Quimica Nova**, v.27, p.807-812. 2004.

[31] RUZICKA, J. Discovering Flow-Injection - Journey from Sample to a Live Cell and from Solution to Suspension. **Analyst**, v.119, n.9, p.1925-1934. 1994.

[32] LIMA, R.;LEANDRO, K.C.;SANTELLI, R.E. Lead preconcentration onto C-18 minicolumn in continuous flow and its determination in biological and vegetable samples by flame atomic absorption spectrometry. **Talanta**, v.43, n.6, p.977-983. 1996.

[33] KOCJAN, R.;SWIEBODA, R. Silica gel modified with eriochrome blue SE as a sorbent in trace analysis for metal ions. **Mikrochimica Acta**, v.122, n.3-4, p.175-182. 1996.

[34] AQUINO NETO, F.R.;NUNES, D.S.E.S. **Cromatografia - princípios básicos e técnicas afins**.Rio de Janeiro: Editora Interciência Ltda 1. 2003. 188 p.

- [35] TEIXEIRA, L.S.G. **Aplicações de 1-2-(tiazolilazo)-2-naftol imobilizado em sílica funcionalizada c18 em espectrofotometria em fase sólida.** Universidade federal da bahia, instituto de química, Salvador, 2000.
- [36] FARIAS, L.J.D.S. **Avaliação de diferentes sorventes na extração em fase sólida de pesticidas em água. Desenvolvimento e validação de metodologia.** Unicamp, 2004.
- [37] OLIVEIRA, F.S. **Exploração de Modelagens matemáticas em determinações por espectrofotometria em fase-sólida em sistemas de análise por injeção em fluxo.** UFBA, Salvador, 2001.
- [38] YOSHIMURA, K.;WAKI, H.;OHASHI, S. Ion-Exchanger Colorimetry .1. Micro-Determination of Chromium, Iron, Copper and Cobalt in Water. **Talanta**, v.23, n.6, p.449-454. 1976.
- [39] TEIXEIRA, L.S.G.;ROCHA, F.R.P.;KORN, M.;REIS, B.F.;FERREIRA, S.L.C.;COSTA, A.C.S. Flow-injection solid-phase spectrophotometry for the determination of zinc in pharmaceutical preparations. **Analytica Chimica Acta**, v.383, n.3, p.309-315. 1999.
- [40] FERNANDEZ, B.;LAZARO, F.;DECASTRO, M.D.L.;VALCARCEL, M. Flow-Injection Determination of Mixtures of Amines Immobilized in the Flow Cell of a Photometric Diode-Array Detector. **Analytica Chimica Acta**, v.229, n.2, p.177-182. 1990.
- [41] MOLINA-DIAZ, A.;AYORA-CANADA, M.J.;PASCUAL-REGUERA, M.I. Solid-phase spectrophotometric determination of beryllium at ng mL<sup>-1</sup>. **Spectroscopy Letters**, v.31, n.3, p.503-520. 1998.

[42] BALIZA, P.X.;FERREIRA, S.L.C.;TEIXEIRA, L.S.G. Application of pyridylazo and thiazolylazo reagents in flow injection preconcentration systems for determination of metals. **Talanta**, v.79, n.1, p.2-9. 2009.

[43] DANTAS, A.F. **Avaliação da 2,2'-biquinolina, na separação, pré-concentração de determinação de cobre por espectrofotometria de absorção molecular em solução e em fase sólida**. Universidade federal da Bahia, Salvador, 2004.

[44] QUEIROZ, S.C.N.;MELO, L.F.C.;JARDIM, I.C.S.F.:. Novos sorventes baseados em poli (metiloctilsiloxano) sobre sílica para uso em extração em fase sólida. **Quím. Nova**, v.29, p.637-640. 2006.

[45] LANÇAS, F.L. **Extração em Fase Sólida (SPE)**.São Carlos: Rima. 2004.

[46] LEMOS, V.A.;SANTOS, E.S.;SANTOS, M.S.;YAMAKI, R.T. Thiazolylazo dyes and their application in analytical methods. **Microchimica Acta**, v.158, n.3-4, p.189-204. 2007.

[47] SUBRAHMANYAM, B.;ESHWAR, M.C. Spectrophotometric Determination of Chromium(III) with 4-(2-Thiazolylazo)-Resorcinol. **Mikrochimica Acta**, v.2, n.5-6, p.579-584. 1976.

[48] SANDELL, E.B. Colorimetric Determination of Traces of Metals. **Interscience Publishers**, p.121-123. 1944.

[49] BERGER, W.;ELVERS, H. 1-(2-Pyridyl-Azo)-2-Naphthol (Pan) Als Photometrisches Reagens - Bestimmung Von Zink Und Cadmium in Nickel. **Fresenius Zeitschrift Fur Analytische Chemie**, v.171, n.4, p.255-261. 1959.

[50] YOE, J.H.;RUSH, R.M. A New Colorimetric Reagent for Zinc. **Analytica Chimica Acta**, v.6, n.6, p.526-527. 1952.

[51] RODELLA, A.;BACCAN, N.;ZAGATTO, E.A.G. Espectrofotometria de zinco em fertilizantes por injeção em fluxo. **Scientia Agricola**, v.56, n.3, p.605-611. 1999.

[52] TAGLE, M.V.;GINÉ, M.F.;GINÉ, M.F. Estudio de la extracción en C-18 modificado con 1-(2-tiazolilazo)-2 naftol(TAN) de metales trazas en aguas. **Afinidad**, v.62, n.517, p. 217-224. 2005.

[53] QUEIROZ, Z.F.;ROCHA, F.R.P.;KNAPP, G.;KRUG, F.J. Flow system with in-line separation/preconcentration coupled to graphite furnace atomic absorption spectrometry with W-Rh permanent modifier for copper determination in seawater. **Analytica Chimica Acta**, v.463, n.2, p.275-282. 2002.

[54] TEIXEIRA, L.S.G.;ROCHA, F.R.P.;KORN, M.;REIS, B.F.;FERREIRA, S.L.C.;COSTA, A.C.S. Nickel and zinc determination by flow-injection solid-phase spectrophotometry exploiting different sorption rates. **Talanta**, v.51, n.5, p.1027-1033. 2000.

[55] ANAIA, G.D.C. **Avaliação de diferentes materiais para sorção de metais em sistema de análises em fluxo com detecção por espectrometria de absorção atômica com chama**. Universidade de São Paulo, 2005.

[56] UENO, K.;IMAMURA, T.;CHENG, K.L. Handbook of Organic Analytical Reagents. **CRC Press**, v.203. 1992.

[57] KAWASE, A. Derivatives of 2-(2-thiazolylazo)phenol as analytical reagents-VII1: Spectrophotometric determination of zinc with 1-(2-thiazolylazo)-2-naphthol. **Talanta**, v.12, n.3, p.195-210. 1965.

[58] BHALOTRA, A.;PURI, B.K. Trace determination of zinc in standard alloys, environmental and pharmaceutical samples by fourth derivative spectrophotometry

using 1-2-(thiazolylazo)-2-naphthol as reagent and ammonium tetraphenylborate supported on naphthalene as adsorbent. **Talanta**, v.49, n.3, p.485-493. 1999.

[59] TEIXEIRA, L.S.G.;ROCHA, F.R.P. Espectrofotometria em fase sólida. **Revista Analytica**, v.2, n.5, p.36-43. 2003.

[60] REIS, B.F. Chemical analysis by flow injection: Twenty years of development. **Quimica Nova**, v.19, n.1, p.51-58. 1996.

[61] RUZICKA, J.;HANSEN, E.H. Flow Injection Analyses .1. New Concept of Fast Continuous-Flow Analysis. **Analytica Chimica Acta**, v.78, n.1, p.145-157. 1975.

[62] ROCHA, F.R.P.;MARTELLI, P.B.;DOS REIS, B.F. Didactic experiments employing a flow injection system. **Quimica Nova**, v.23, n.1, p.119-125. 2000.

[63] VALCÁRCEL, M.;LUQUE DE CASTRO, M.D. Flow-Injection Analysis, Principles e Applications. **Ellis Horwood**. 1987.

[64] KRONKA, E.A.M.;DOSREIS, B.F.;VIEIRA, J.A.;BLANCO, T.;GERVASIO, A.P.G. Multicommutation and binary sampling in chemical flow analysis. Spectrophotometric determination of phosphate in natural waters. **Quimica Nova**, v.20, n.4, p.372-376. 1997.

[65] REIS, B.F. Análise química por injeção em fluxo: Vinte anos de desenvolvimento. **Química Nova**, v.19, p.51-58. 1996.

[66] FERES, M.A.;REIS, B.F. A downsized flow set up based on multicommutation for the sequential photometric determination of iron(II)/iron(III) and nitrite/nitrate in surface water. **Talanta**, v.68, n.2, p.422-428. 2005.

[67] COMITRE, A.L.D.;REIS, B.F. Automatic flow procedure based on multicommutation exploiting liquid-liquid extraction for spectrophotometric lead determination in plant material. **Talanta**, v.65, n.4, p.846-852. 2005.

[68] SILVA, J.A.F.;LAGO, C.L. Electronic module for solenoid valve control. **Quimica Nova**, v.25, n.5, p.842-843. 2002.

[69] PALGROSSI, F.S.;PEDROTTI, J.J.;GUTZ, I.G.R. Pinch valve injector for flow analysis. **Quimica Nova**, v.24, n.5, p.689-692. 2001.

[70] PALGROSSI, F.S.;PEDROTTI, J.J.;GUTZ, I.G.R. Injetor multicanal com válvulas de estrangulamento para análise em fluxo. **Quím. Nova**, v.24, p.689-692. 2001.

[71] BETTERIDGE, D.;DAGLESS, E.L.;FIELDS, B.;GRAVES, N.F. Highly Sensitive Flow-through Phototransducer for Unsegmented Continuous-Flow Analysis Demonstrating High-Speed Spectrophotometry at Parts Per 10<sup>9</sup> Level and a New Method of Refractometric Determinations. **Analyst**, v.103, n.1230, p.897-908. 1978.

[72] DASGUPTA, P.K.;BELLAMY, H.S.;LIU, H.H.;LOPEZ, J.L.;LOREE, E.L.;MORRIS, K.;PETERSEN, K.;MIR, K.A. Light-Emitting Diode Based Flow-through Optical-Absorption Detectors. **Talanta**, v.40, n.1, p.53-74. 1993.

[73] OLIVEIRA, H.P.M.;COSSIELLO, R.F.;ATVARS, T.D.Z.;AKCELRUD, L. Polymeric light emitting devices. **Quimica Nova**, v.29, n.2, p.277-286. 2006.

[74] HUEDER, P.M.;OLIVEIRA, R.F.C.;TERESA, D.Z.A.;LENI, A. Dispositivos poliméricos eletroluminescentes Polymeric light emitting devices. REVISÃO. **Quím. Nova**, v.29. 2006.

[75] LAVORANTE, A.F. **Desenvolvimento de instrumentação e procedimentos analíticos automáticos para a determinação espectrofotométrica de tensoativos em águas.** Centro de Energia Nuclear na Agricultura, 2006.

[76] SILVA, M.B.D. **Desenvolvimento de um fotômetro portátil usando LED como fotodetector e de procedimentos analíticos automáticos empregando multicomutação em fluxo.** Universidade Federal de São Carlos, 2008.

[77] ROCHA, F.R.P.;REIS, B.F. A flow system exploiting multicommutation for speciation of inorganic nitrogen in waters. **Analytica Chimica Acta**, v.409, n.1-2, p.227-235. 2000.

[78] FERES, M.A.J. **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.** Centro de Energia Nuclear na Agricultura, 2006.

[79] SILVA, M.B.;KAMOGAWA, C.C.;REIS, B.F. Automatic Photometric Titration Procedure Based on Multicommutation and Flow-Batch Approaches Employing a Photometer Based on Twin LEDs. **Journal of the Brazilian Chemical Society** v.0, n.0, p.1-7. 2010.

[80] FERNANDES, R.N.;REIS, B.F.;MORALES-RUBIO, A.;DE LA GUARDIA, M. Multi-Pumping Mechanised Determination of Selenium in Natural Waters by Light Emitting Diode (LED) Spectrometry. **Journal of the Brazilian Chemical Society**, v.20, n.7, p.1242-1248. 2009.

[81] REIS, B.F.;MIRANDA, C.E.S.;BACCAN, N. Preconcentration by liquid phase-solid phase extraction in flow analysis systems with spectrometric detection. **Quimica Nova**, v.19, n.6, p.623-635. 1996.

[82] BERGAMIN, H.;REIS, B.F.;JACINTHO, A.O.;ZAGATTO, E.A.G. Ion-Exchange in Flow-Injection Analysis - Determination of Ammonium-Ions at the  $\mu\text{-G11}$  Level in Natural-Waters with Pulsed Nessler Reagent. **Analytica Chimica Acta**, v.117, n.JUN, p.81-89. 1980.

[83] VAN STADEN, J.F.;HATTINGH, C.J. Determination of zinc in pharmaceutical products using an electro dialyser incorporated into a flow system. **Fresenius Journal of Analytical Chemistry**, v.367, n.1, p.79-83. 2000.

[84] GAUBEUR, I.;AVILA-TERRA, L.H.S.;MASINI, J.C.;SUAREZ-IHA, M.E.V. Spectrophotometric flow injection methods for zinc determination in pharmaceutical and biological samples. **Analytical Sciences**, v.23, p.1227-1231. 2007.

[85] AL-KINDY, S.M.Z.;AI-BULUSHI, S.T.;SULIMAN, F.E.O. Spectrofluorimetric determination of zinc using 8-hydroxy-7-(4-sulfo-1-naphthylazo)-5-quinoline sulfonic acid. **Spectrochimica Acta Part a-Molecular and Biomolecular Spectroscopy**, v.71, n.2, p.676-681. 2008.

[86] WEI, L.;ZHANG, X.S.;DAI, Y.C.;HUANG, J.;XIE, Y.H.;XIAO, K. Online preconcentration and determination of trace amounts of zinc in nature waters. **Journal of Automated Methods & Management in Chemistry**. 2008.

[87] MATSUOKA, S.;YOSHIMURA, K. Recent trends in solid phase spectrometry: 2003-2009. A Review. **Analytica Chimica Acta**, v.664, n.1, p.1-18. 2010.

[88] REIS, B.F.;ROCHA, F.R.P.;TEIXEIRA, L.S.G.;COSTA, A.C.S.;KORN, M. Construction of a flow cell for measurements by solid-phase spectrophotometry. **Quimica Nova**, v.23, p.116-118. 2000.

[89] KRUG F. J.: EDIÇÃO DO AUTOR, V. , P. . Métodos de Preparo de Amostras - Fundamentos sobre preparo de amostras orgânicas e inorgânicas para análise elementar. In: (Ed.). Piracicaba1, 2008. p.1-12

[90] ZAGATTO, E.A.G.;ARRUDA, M.A.Z.;JACINTHO, A.O.;MATTOS, I.L. Compensation of the Schlieren Effect in Flow-Injection Analysis by Using Dual-Wavelength Spectrophotometry. **Analytica Chimica Acta**, v.234, n.1, p.153-160. 1990.

[91] SHEET, T.X.-T.D., **Trademark of The Dow Chemical Company (“Dow”) or an affiliated TRITON™ X-100 Surfactant Product Information**. 2009.