UNIVERSIDADE DE SÃO PAULO
CENTRO DE ENERGIA NUCLEAR NA AGRICULTURA

TUANNE DOS REIS DIAS

Desenvolvimento de procedimentos analíticos empregando multicomutação em sistemas de análises em fluxo para determinação fotométrica de vanádio em águas e estanho em alimentos

Piracicaba
2014

TUANNE DOS REIS DIAS

Desenvolvimento de procedimentos analíticos empregando multicomutação em sistemas de análises em fluxo para determinação fotométrica de vanádio em águas e estanho em alimentos

Versão revisada de acordo com a Resolução CoPGr 6018 de 2011

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

Área de Concentração: Química na Agricultura e no Ambiente

Orientador: Prof. Dr. Boaventura Freire dos Reis

Piracicaba

2014

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 procedimentos analíticos empregando multicomutação em sistemas de análises em fluxo para determinação fotométrica de vanádio em águas e estanho em alimentos / Tuanne dos Reis Dias; orientador Boaventura Freire dos Reis. - - versão revisada de acordo com a Resolução CoPGr 6018 de 2011. - - Piracicaba, 2014.

117 p. : il.

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

1. Alimentos industrializados 2. Análise da água 3. Análise por injeção em fluxo 4. Espectrofotometria 5. Química analítica instrumental. I. Título

CDU 543.068.3 + 543.422.3

Aos meus pais **Francisco** e **Ironilde**, pelo amor incondicional, paciência em minha ausência e história de vida que me motivaram a continuar!

Aos meus irmãos **Kalianna** e **Thiago** e ao meu afilhado **Enzo Mayran**, por torcerem pela realização deste sonho!

Ao meu amado **Milton** pelas palavras de sabedoria nos momentos difíceis, amor nos momentos necessários e sorriso nos momentos de vitória!

AGRADECIMENTOS

A **todos** que colaboraram para a realização deste trabalho. É gratificante chegar ao fim desta jornada e lembrar de todas pessoas que compartilharam a caminhada!

Ao meu grande herói: **Deus!** Por fazer de cada alvorecer uma oportunidade para recomeçar com mais fé. É incrível poder confiar na misericórdia de Deus, mesmo sem enxergar o próximo degrau.

A minha **família**, pelo brilho nos olhos a cada vitória. Vocês são fonte de inspiração, amor, honestidade e outros adjetivos que não caberiam nesta folha.

Ao **Milton** por todo apoio científico e emocional. És um companheiro admirável e um profissional exemplar.

Ao amigo e professor **Boaventura**, uma pessoa compassiva que abriu as portas e mostrou-me a ciência sob uma nova perspectiva. Revelou-me a importância não apenas do saber, mas da força de vontade.

Aos professores Francisco **Krug**, Elias **Zagatto**, **Maria Fernanda** e **Fábio** Rocha por toda disponibilidade fornecida para a finalização deste.

Ao **Centro de Energia Nuclear na Agricultura** pela formação acadêmica e ao **CNPq** pela concessão da bolsa.

Aos **funcionários** deste Centro, pela disponibilidade e atenção durante a execução do trabalho.

Aos técnicos Valdemir (**Mi**), Iolanda (**Tatinha**) e Fátima (**Fafá**) pela amizade e colaboração no desenvolvimento de algumas etapas deste trabalho.

A técnica Sheila (**Perdigão**) pelo apoio científico e, principalmente, pelas boas gargalhadas. Em muitos momentos, como uma mãe, soube ouvir-me e aconselhar-me.

A **Alessandra**, **Andréia, Jeová e Felisberto** pelas lembranças vividas em nosso 'universo paralelo'.

Aos **companheiros** do Laboratório de Química Analítica Henrique Bergamin Filho pela amizade e troca de experiências.

Aos amigos imperatrizenses **Samara** e **Leo** pela linda amizade e grande carinho a mim dedicados.

Ao grupo **Sentinelas da manhã** que conferiu paciência a mim e leveza a minha jornada.

A todos, o meu muito obrigada!

Um dom precioso que o Espírito Santo traz aos nossos corações é a profunda confiança no amor e na misericórdia de Deus.

Papa Francisco

RESUMO

DIAS, T. R. **Desenvolvimento de procedimentos analíticos empregando multicomutação em sistemas de análises em fluxo para determinação fotométrica de vanádio em águas e estanho em alimentos.** 2014. 117 p. Tese (Doutorado) – Centro de Energia Nuclear na Agricultura, Universidade de São Paulo, Piracicaba, 2014.

Esta tese tem como foco o desenvolvimento de procedimentos analíticos automáticos, visando as determinações fotométricas de vanádio e de estanho em águas e em alimentos empregando o processo de multicomutação em fluxo. Um microcontrolador da família PIC e um programa escrito em linguagem Visual Basic 6.0 foram empregados para controle dos dispositivos e aquisição de dados. A unidade de detecção foi construída empregando LED de alto brilho e celas de fluxo com longo caminho óptico (50-200 mm) para ganho em sensibilidade. O módulo de análises, empregando bombas solenoide como propulsores de fluido e o fotômetro foram integrados, formando uma unidade compacta. A determinação de vanádio em águas, mineral e de rio, foi baseada na redução do V(V) à V(IV) com ácido ascórbico e posterior complexação com Eriocromo Cianina R (ECR). Empregando uma cela de 150 mm, o sistema apresentou resposta linear de 0,02 a 1,00 mg L^{-1}, limite de detecção estimado em 13 µg L^{-1}, coeficiente de variação de 0,87% (n=10) e frequência analítica de 47 determinações por hora. Recuperações entre 89 e 109% foram obtidas para adição de V(V) nas amostras de águas. O procedimento para a determinação de estanho em alimentos foi desenvolvido empregando bomba de multi-seringa como unidade de propulsão de fluidos, cela de fluxo com caminho óptico de 200 mm e parada de fluxo de 50 s. Baseado na reação do Sn(IV) com o violeta de pirocatecol (PCV) na presença de surfactantes, o sistema apresentou resposta linear de 0,10 a 1,25 mg L^{-1}, limite de detecção estimado em 0,04 mg L^{-1}, coeficiente de variação de 1,30% (n=10) e frequência analítica de 49 determinações por hora. Recuperações entre 95 e 115% foram obtidas com a adição de Sn(IV) às amostras de alimentos.

Palavras-chave: Análises em fluxo. Espectrofotometria. Fotômetros baseados em LED. Cela de longo caminho óptico. Microcontrolador. Vanádio. Estanho.

ABSTRACT

Dias, T. R. **Development of analytical procedures employing multicommutation flow analysis systems for the photometric determination of vanadium in water and tin in foods.** 2014. 117 p. Tese (Doutorado) – Centro de Energia Nuclear na Agricultura, Universidade de São Paulo, Piracicaba, 2014.

Automatic analytical procedures for photometric determinations of vanadium in water and tin in foods were developed using the multicommutation flow analysis process. A microcontroller of the PIC family and a software written in Visual Basic 6.0 language were used for devices control and data acquisition. Detection unit was designed to use high brightness LED and long optical pathlength flow cells (50-200 mm) to improve sensitivity. The flow analysis module using solenoid mini-pumps as fluid propelling devices and the photometer were integrated in order to form a compact unit. The determination of vanadium in mineral and river waters was based on the reduction of V(V) to V(IV) with ascorbic acid and subsequent complexation with Eriochrome Cyanine R (ECR). Employing flow cell of 150 mm, the system presented linear response between 0.02 and 1.00 mg L^{-1}, detection limit of 13 µg L^{-1}, variation coefficient of 0.87% (n=10) and sampling throughput of 47 determinations per hour. Recoveries between 89 and 109% were attained for vanadium spiked to mineral and river water. The procedure for determination of tin in foods was development employing a multi-syringe pump as fluid propelling device, a flow cell with optical pathlength of 200 mm and stop flow of 50 s. The procedure was based on the reaction of Sn(IV) with pyrocatechol violet (PCV) in the presence of surfactants, presented linear response between 0.10 and 1.25 mg L^{-1}, detection limit of 0.04 mg L^{-1}, variation coefficient of 1.30% (n=10) and sampling throughput of 49 determination per hour. Recoveries between 95 and 115% were attained for tin spiked samples.

Keywords: Flow analysis. Spectrophotometry. LED based photometer. Microcontroller. Long flow cell. Vanadium. Tin.

LISTA DE FIGURAS

Figura 1 – Representação da dispersão com a formação do gradiente de concentração (a) e os dos fenômenos de convecção (b) e difusão radial (c) e axial (d)..... 23

Figura 2 – Diagrama de fluxo de um sistema empregando estratégia de amostragem binária com multicomutação em fluxo..... 24

Figura 3 – Representação dos principais componentes de uma bomba de seringa..... 26

Figura 4 – Diagrama de fluxo de um sistema baseado na estratégia de multi-impulsão..... 28

Figura 5 – Funcionamento interno da bomba solenoide..... 29

Figura 6 – Componentes de um LED..... 36

Figura 7 – Cela de fluxo..... 49

Figura 8 – Kit de desenvolvimento com microcontrolador PIC18F4550.... 50

Figura 9 – (a) tela principal para controle do operador e (b) formulário de codificação..... 51

Figura 10 – Diagrama do fotômetro (ampliado) e do sistema de análises em fluxo..... 53

Figura 11 – Estrutura molecular do reagente eriocromo cianina R..... 56

Figura 12 – Método das variações contínuas..... 57

Figura 13 – Espectros de absorção referente ao ECR, ao complexo V(IV)-ECR e à emissão do LED da unidade de detecção..... 59

Figura 14 – Efeito do volume da zona da amostra para as celas de fluxo de diferentes comprimentos de caminho óptico..... 61

Figura 15 – Efeito do pH sobre a formação do complexo..... 64

Figura 16 – Registro do processamento das soluções padrão..... 65

Figura 17 – Bomba de seringa para propulsão dos fluidos..... 78

Figura 18 – Diagrama do módulo de análises e diagrama de tempo..... 80

Figura 19 – Método das variações contínuas. (a) – Espectros dos ensaios variando a concentração entre o PCV e o Sn(IV); (b) – Gráfico de *Job* em função da concentração do reagente..... 82

Figura 20 – Reação de formação do complexo Sn(IV)-PCV..... 83

Figura 21 – Espectros de (a) absorção do complexo Sn(IV)-PCV (sem e com surfactante), espectro de emissão do LED empregado na unidade de detecção e (b) sequência de inserção da amostra (A), reagente (R), surfactantes (S) e tampão (T)..... 84
Figura 22 – Efeito do volume de amostra de acordo com o número de passos..... 85
Figura 23 – Sinais transientes relativos ao complexo e ao corante em cada posição da bomba de seringa..... 86
Figura 24 – Efeito da concentração de PCV..... 87
Figura 25 – Efeito do pH do meio reacional..... 89
Figura 26 – Efeito do tempo de parada de fluxo para formação do complexo..... 90
Figura 27 – Efeito da concentração dos surfactantes..... 93
Figura 28 – Curva analítica obtida processando o branco e as soluções padrão de 0,10 a 1,25 mg L^{-1} de Sn(IV)..... 94
Figura 29 – Amostras de latas com e sem recobrimento, lata com as crateras oriundas do laser pulsado e fragmento do espectro de emissão do Sn..... 98

LISTA DE TABELAS

Tabela 1 – Métodos baseados na formação de complexos ternários a partir de surfactantes..... 33

Tabela 2 – Materiais semi-condutores empregados na composição de LEDs..... 36

Tabela 3 – Comparação entre fotômetro multi-LED do sistema proposto e dois equipamentos comerciais utilizados em determinações de Fe(II)..... 38

Tabela 4 – Sequência de acionamento dos dispositivos..... 54

Tabela 5 – Número de pulsos de amostra por pulso de solução redutora/transportadora..... 60

Tabela 6 – Efeito da concentração de ECR..... 62

Tabela 7 – Figuras de mérito obtidas em função do comprimento do caminho óptico..... 64

Tabela 8 – Comparação de métodos espectrofotométricos para determinação de vanádio..... 66

Tabela 9 – Efeito dos potenciais interferentes..... 67

Tabela 10 – Interferência observada em função da proporção das espécies com o analito..... 68

Tabela 11 – Teste de adição e recuperação das amostras..... 68

Tabela 12 – Programa para digestão em forno micro-ondas..... 77

Tabela 13 – Sequência de acionamento das válvulas solenoide e deslocamento do eixo da bomba de seringa..... 81

Tabela 14 – Efeito da acidez das soluções padrão em relação ao comportamento linear das curvas de calibração..... 91

Tabela 15 – Parâmetros investigados e valores selecionados..... 93

Tabela 16 – Figuras de mérito do sistema proposto..... 94

Tabela 17 – Comparação entre métodos para determinação espectrofotométrica de estanho..... 95

Tabela 18 – Estudo dos potenciais interferentes..... 96

Tabela 19 – Comparação entre o método proposto e o método de referência..... 99

SUMÁRIO

1	**INTRODUÇÃO.....**	**19**
1.1	**Análises em fluxo.....**	**21**
1.2	Sistemas de multicomutação em fluxo.....	23
1.3	Sistemas de multicomutação em fluxo empregando multi-seringa.....	25
1.4	Sistemas de multicomutação em fluxo empregando multi-impulsão.....	27
1.5	Os sistemas de análises em fluxo e a química verde.....	30
1.6	Espectrofotometria com cela de longo caminho óptico.....	32
1.7	Fotômetros com lâmpada de LED.....	35
1.8	Sistemas microcontrolados.....	39
1.9	Objetivos.....	41
2	**DETERMINAÇÃO DE VANÁDIO EM ÁGUAS.....**	**42**
2.1	**Características do vanádio e sua determinação por espectrofotometria**.....	43
2.2	**Parte experimental.....**	**47**
2.2.1	Reagentes e soluções.....	47
2.2.2	Equipamentos.....	48
2.2.2.1	Unidade de detecção.....	48
2.2.2.2	Módulo de análises microcontrolado.....	49
2.2.3	Procedimento experimental.....	52
2.3	**Resultados e discussão**.....	**55**
2.3.1	Cálculo de absorbância.....	55
2.3.2	Avaliação da estequiometria da reação.....	56
2.3.3	Espectros de emissão do LED e de absorção do complexo V(IV)-ECR.....	58
2.3.4	Número de pulsos de amostra por pulso de solução redutora.....	59
2.3.5	Número de ciclos de amostragem.....	60
2.3.6	Concentração dos reagentes.....	62
2.3.7	Concentração hidrogeniônica.....	63
2.3.8	Figuras de mérito.....	64

2.3.9 Comparação de desempenho..... 66
2.3.10 Estudo dos potenciais interferentes..... 66
2.3.11 Determinação de vanádio em amostras de água..... 68
2.4 Tratamento de resíduos..... **69**
3 DETERMINAÇÃO DE ESTANHO EM ALIMENTOS..... 70
3.1 Características do estanho e sua determinação por espectrofotometria..... **71**
3.2 Parte experimental..... **75**
3.2.1 Reagentes e soluções..... 75
3.2.2 Equipamentos..... 77
3.2.2.1 Unidade de detecção..... 77
3.2.2.2 Unidade de propulsão dos fluidos..... 77
3.2.2.3 Módulo de análises microcontrolado..... 78
3.2.3 Procedimento experimental..... 79
3.3 Resultados e discussão..... **82**
3.3.1 Avaliação da estequiometria da reação..... 82
3.3.2 Espectros do complexo Sn(IV)-PCV e sequência dos reagentes. 83
3.3.3 Estudo do volume da amostra..... 85
3.3.4 Estudo de fração volumétrica..... 86
3.3.5 Estudo da concentração de PCV..... 87
3.3.6 Estudo de pH do meio reacional..... 88
3.3.7 Estudo do tempo de parada de fluxos..... 89
3.3.8 Estudo sobre a acidez das soluções padrão..... 91
3.3.9 Estudo da concentração dos surfactantes..... 92
3.3.10 Características analíticas relativas ao desempenho do sistema... 93
3.3.11 Comparação de desempenho..... 95
3.3.12 Estudo dos potenciais interferentes..... 96
3.3.13 Determinação de estanho em amostras de alimentos..... 97
3.4 Tratamento de resíduos..... **99**
4 CONCLUSÕES..... 100
REFERÊNCIAS..... 103

1. INTRODUÇÃO

Muitos esforços nortearam a automação ou a mecanização dos processos de análises químicas com o intuito de diminuir a interferência humana. Atualmente, fomentada pela necessidade de análises mais rápidas e confiáveis, as técnicas e os procedimentos têm sido “reinventados”, a fim de possibilitar determinações expeditas de inúmeras espécies, em matrizes complexas e em níveis “traço”.

Ao longo dos anos, os procedimentos analíticos antes executados de maneira manual, foram sendo gradualmente automatizados, a fim de se adaptarem às necessidades da sociedade.

Adicionalmente, apoiado nos conceitos preconizados pela Química Verde, a “geração micro” ganha cada vez mais espaço, com procedimentos que empregam equipamentos e/ou dispositivos miniaturizados e volumes de amostra e de reagentes da ordem de microlitros ou nanolitros.

Esta crescente necessidade por procedimentos versáteis, deu origem a uma ferramenta que mudou o curso da história da Química Analítica: as Análises em Fluxo.

1.1 Análises em fluxo

Em substituição aos procedimentos manuais, os analisadores em fluxo [1] abriram uma gama de opções para a análise instrumental, por possibilitarem a realização de várias etapas de uma análise química, como a adição de amostras e reagentes, diluições, separações, dentre outras, continuamente dentro de tubulações.

A proposta pioneira de Skeggs[2] denominada inicialmente análises em fluxo contínuo (do inglês, *Continuous Flow Analysis* - CFA) e, anos depois, análises em fluxo segmentado (do inglês, *Segmented Flow Analysis* - SFA), visava suprir a necessidade da grande demanda de resultados em análises clínicas. Contudo, ao longo dos anos, a estratégia passou por inúmeras modificações, dando origem a outras vertentes, que podem ser classificadas[3] de acordo com a forma de inserção da amostra, ou ainda, com as características dos fluxos utilizados.

As análises em fluxo contínuo são baseadas no transporte de alíquotas de amostra em um fluxo segmentado por bolhas de ar até o sistema de detecção. Diferentemente das análises em batelada, nas análises em fluxo contínuo, as

amostras são introduzidas em intervalos regulares. A estratégia da segmentação do fluxo teve como principal objetivo evitar a contaminação entre as amostras[3].

Desde sua concepção, as análises em fluxo chamaram atenção devido às inúmeras vantagens apresentadas, como a facilidade de automação, a redução do risco de contaminações (pois a reação ocorre em sistema fechado), manipulação de volumes reduzidos de soluções, menor tempo por análise, etc.

Quase 20 anos depois, sem a utilização da segmentação dos fluxos, originou-se a análise por injeção em fluxo (do inglês, *Flow Injection Analysis* - FIA)[4], que se baseia na inserção de volumes específicos de amostra e/ou reagentes em um fluxo não-segmentado, que os transporta para o detector.

As medidas consideram a formação de zonas com gradientes de concentração, devido à dispersão sofrida pela alíquota de amostra na solução transportadora durante o percurso analítico. A temporização precisa dos sistemas em fluxo proporciona uma alta repetibilidade, possibilitando a obtenção de resultados antes que o estado de equilíbrio químico seja atingido[5].

O efeito da dispersão em sistemas de análises em fluxo é um ponto crucial e pode ser controlado de acordo com a necessidade de cada procedimento, através da modificação de alguns parâmetros como vazões das soluções, volume da amostra, comprimento do percurso analítico, dentre outros, os quais podem também afetar o desempenho dos sistemas.[6] A dispersão de uma zona de amostra e a formação de um produto ao longo de um percurso definem o perfil do sinal analítico monitorado. O fluxo laminar, proveniente, por exemplo, de uma bomba peristáltica, proporciona a dispersão através do transporte de massas por convecção e difusão radial e axial, conforme representação da Figura 1.[1]

As detecções são realizadas com a zona de amostra em transição em relação ao detector e, por este fato, os sinais são chamados de transientes. Em geral, a medida da altura máxima dos registros dos sinais é relacionada com a concentração do analito.[5,7]

A forma de inserção da amostra tornou-se um divisor de águas para as análises por injeção em fluxo, e a partir da utilização da seringa hipodérmica[4] (primeira forma de inserção de amostra), deu-se origem a novos dispositivos para esta função, assim como novas ramificações dentro das análises em fluxo que foram propostas.

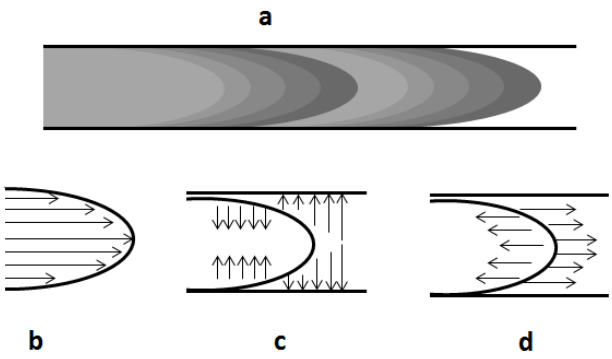


Figura 1 – Representação da dispersão com a formação do gradiente de concentração (a) e os dos fenômenos de convecção (b) e difusão radial (c) e axial (d) (Adaptado de [3]).

A seringa sem agulha,[8] a válvula rotativa,[9] o injetor proporcional,[10] a válvula solenoide[11] e a bomba solenoide,[12] são alguns dos dispositivos empregados para a inserção de soluções em sistemas de análises em fluxo. Assim como as unidades de propulsão de fluidos, como a bomba peristáltica (mais comumente utilizada nesses sistemas), que também apresentaram alternativas como a bomba de seringa[13] e as bombas solenoide.[12]

1.2 Sistemas de multicomutação em fluxo

A simplicidade e a versatilidade inerentes às análises em fluxo, citadas anteriormente, estimularam seu desenvolvimento, como na proposta de Reis e colaboradores, que originou uma modalidade denominada multicomutação em fluxo (do inglês, *Multicommutation in Flow Analysis* - MCFA).[14] Esta modalidade é caracterizada pela alta versatilidade obtida através da utilização de dispositivos, reduzindo-se assim a interferência do operador.

A MCFA aborda uma estratégia para introdução de amostras e de reagentes, a qual possibilita o gerenciamento individual, simultâneo ou sequencial das soluções por microcomputador, promovendo a formação de uma zona de amostra de forma eficiente.[15] Assim como em outros sistemas de análises em fluxo, na multicomutação a dispersão depende dos parâmetros citados anteriormente.

As válvulas solenoide fornecem uma via alternativa para cada solução, redirecionando o fluxo conforme o acionamento destas. Normalmente, a estratégia

explora válvulas solenoide de três vias ou válvulas de estrangulamento único ou duplo.[16]

Com o emprego das válvulas solenoide acionadas pelo microcomputador, a propulsão dos fluidos pode ser realizada em modo de pressão positiva (utilizando a unidade de propulsão antes do conjunto de válvulas) e em pressão negativa (com a unidade de propulsão posicionada após a unidade de detecção, aspirando as soluções envolvidas). [17] A multicomutação possibilita, ainda, um melhor aproveitamento das alíquotas envolvidas na reação.[15]

O primeiro trabalho realizado neste sentido,[14] empregou a MCFA com apenas duas válvulas solenoide de três vias, explorando a estratégia de amostragem binária, em modo de pressão negativa, para a determinação espectrofotométrica de ferro em digeridos de plantas, utilizando sistema ilustrado na Figura 2. Cubetas de fluxo com 5 ou 11 mm de caminho óptico foram empregadas para avaliação do sistema. Os dispositivos eram controlados pelo microcomputador, através de uma interface acoplada diretamente à placa principal deste, e empregando um *software* escrito em linguagem de programação QuickBasic 4.5.

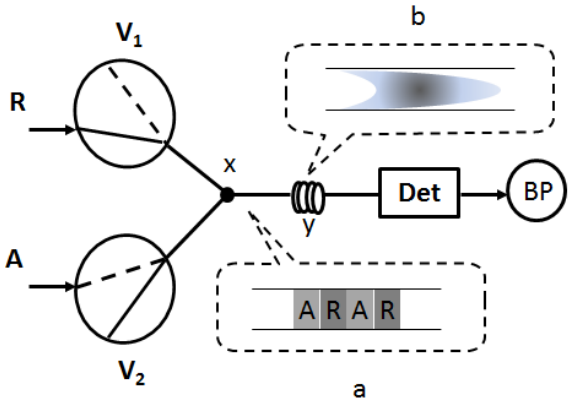


Figura 2 – Diagrama de fluxo de um sistema empregando estratégia de amostragem binária com multicomutação em fluxo. R – reagente; A – amostra; V_1 e V_2 – válvulas solenoide de 3 vias; x – confluência; y – bobina reacional; Det – detector; BP – bomba peristáltica; a – alíquotas de amostra e reagente; b – gradiente de concentração da zona de amostra (Adaptado de [14]).

Nesta estratégia, as soluções de amostra e de reagente foram aspiradas utilizando uma bomba peristáltica, e as alíquotas eram inseridas no percurso analítico sequencialmente por meio do acionamento das válvulas solenoide de três

vias. Assim, a formação do produto era iniciada ainda na etapa de amostragem e, ao ocorrer a inserção das soluções no percurso analítico, ocorria a formação de *plugs* (Figura 2a), que no decorrer do percurso analítico formavam as zonas com os gradientes de concentração (Figura 2b), em função do regime laminar estabelecido.

1.3 Sistemas de multicomutação em fluxo empregando multi-seringa

Uma nova modalidade dentro da multicomutação em fluxo foi originada explorando a bomba multi-seringa (do inglês, *Multi-syringe Flow Injection Analysis* - MSFIA). Como o próprio nome sugere, esta modalidade emprega seringas como unidade de propulsão dos fluidos. Proposta por Albertus *et al.*,[18] foi caracterizado como um “distribuidor multicanal” simples, rápido e versátil. Sua primeira aplicação foi dedicada à titulação de ácidos e bases, explorando diluição em linha com fluxo contínuo.

Como representado na Figura 3, a bomba de seringa é constituída basicamente por seringas (geralmente uma, duas ou quatro), válvulas e um motor de passo, o qual é responsável pela movimentação de todos os êmbolos simultaneamente. É gerenciada por microcomputador, e a propulsão ocorre de forma solidária, seja bombeando ou aspirando soluções.[19]

A cada seringa é acoplada uma válvula três vias, o que permite a alternância do caminho percorrido pelo fluido, independente do modo aspiração ou bombeamento, além de selecionar precisamente o volume a ser dispensado. A vazão das soluções contidas em cada seringa depende do volume destas, assim como da velocidade com a qual o motor de passo movimenta os êmbolos. E o volume dispensado é dado pelo número de passos do motor.

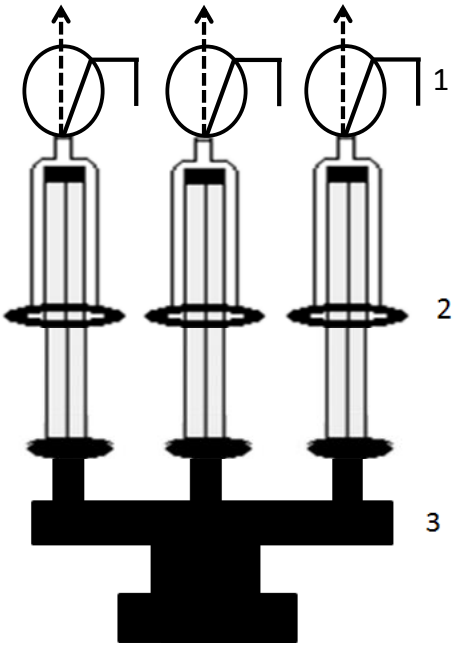


Figura 3 – Representação dos principais componentes de uma bomba de seringa. 1 – válvulas solenoide de três vias; 2 – seringas; 3 - motor de passo. (Adaptado de [19]).

Uma das principais características deste equipamento é a robustez, pois diferentemente de uma bomba peristáltica, a bomba de seringa não requer tubos de bombeamento, os quais podem sofrer desgaste e perda de elasticidade ao longo do tempo, prejudicando a precisão com que os fluidos são bombeados. Outra importante característica relacionada à robustez da bomba de seringa é a possibilidade de uso com soluções altamente ácidas ou alcalinas, sem danificação dos componentes. [20] Embora a estratégia de multi-seringa possa promover vantagens aos sistemas em fluxo, as seringas necessitam ter seu preenchimento realizado durante as análises, o que pode diminuir a frequência analítica.

Desde sua concepção, a multi-seringa tem sido empregada em diferentes procedimentos, como no trabalho de Páscoa *et al.*,[21] que aliaram as vantagens advindas desta estratégia com uma coluna de pré-concentração à bomba de seringa, além de uma cela de fluxo de longo caminho óptico. Ambos contribuíram para o aumento em sensibilidade, tornando possível a determinação espectrofotométrica de ferro a partir de 0,05 µg L^{-1} em águas. A cela empregada para realização das medidas tinha 1,0 m de caminho óptico e 250 µL de volume

interno. Parâmetros como o comprimento da coluna com resina, volume da amostra, comprimento do reator, vazão dos fluxos e concentração de reagente também foram avaliados.

Cerdá e colaboradores[22] exploraram o processo de análises em fluxo com multi-seringa para o monitoramento (372 nm) de reações moderadamente rápidas, como a reação para geração de bromo e posterior utilização na bromação de ácido salicílico. A proposta utilizou duas câmaras de mistura e a bomba de seringa, com o motor de passo (5.000 passos) e quatro seringas (2,5; 5,0 e 10,0 mL) acopladas a válvulas solenoide de 3 vias. O método consistia, basicamente, na geração do bromo e posterior parada para monitoramento da espécie e, em seguida, na rápida reação entre o bromo e o ácido salicílico e, novamente, uma parada para monitoramento, ressalta-se que em 372 nm apenas o bromo era a espécie absorvente. Dessa forma, o emprego da estratégia de multi-seringa com parada de fluxo, permitiu também a realização de estudos cinéticos.

Outra interessante estratégia foi explorada por Almeida e colaboradores[23], na qual a introdução direta de amostras era realizada para a determinação de potássio em plantas. Foram utilizados alguns aparatos como válvulas de estrangulamento duplo, acopladas à bomba de seringa e um forno micro-ondas. As amostras eram inseridas em um frasco de digestão no forno e, depois de um intervalo de tempo pré-definido, a amostra digerida era enviada ao fotômetro de chama. O sistema proposto demonstrou ser uma alternativa ao método de referência para a determinação de potássio em digeridos de planta, no qual a etapa de digestão das amostras necessitava de horas para sua execução.

1.4 Sistemas de multicomutação em fluxo empregando multi-impulsão

As bombas peristálticas são reconhecidamente a unidade de propulsão de fluidos mais empregada em sistemas de análises em fluxo, porém, no mesmo ano do surgimento da estratégia de multi-seringa, Lapa e colaboradores[12] propuseram uma interessante modalidade, na qual aliava-se a utilização de um mesmo dispositivo para a inserção e propulsão dos fluidos, chamada de análises em fluxo com multi-impulsão (do inglês, *Multi-Pumping Flow Analysis* - MPFA).

O dispositivo utilizado, denominado bomba solenoide, apresentava dimensões reduzidas e menor consumo de energia, quando comparado à bomba

peristáltica. Esta última, a uma vazão de 1 mL min^{-1}, exige um gasto de 0,14 W, ao passo que o gasto equivalente a 4 bombas solenoide seria de 1/20 dessa mesma energia. Ainda, supondo que uma bomba permanecesse em operação contínua durante 1 ano, à 1 mL min^{-1}, equivaleria a 10 milhões de pulsos de uma bomba solenoide.[24]

Assim como as válvulas solenoide, as bombas solenoide são capazes de gerenciar de forma individual cada solução utilizada no módulo de análises, tendo como vantagem ainda, o direcionamento e a propulsão de fluidos realizados pelo mesmo dispositivo. Dessa forma, com esta versatilidade obtida, pode-se reduzir drasticamente o número de dispositivos empregados na montagem do módulo de análises, conforme exemplificado na Figura 4.

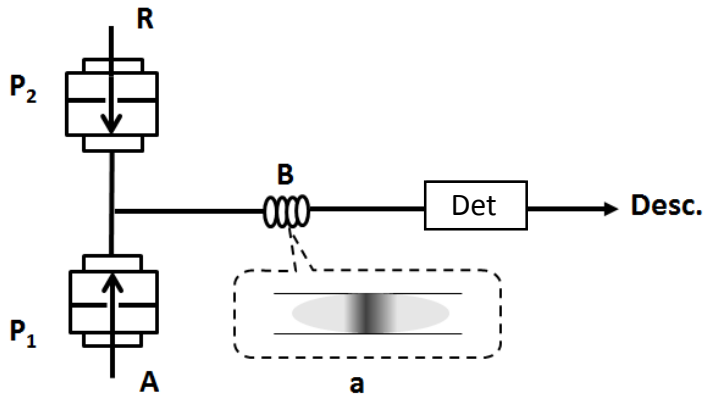


Figura 4 – Diagrama de fluxo de um sistema baseado na estratégia de multi-impulsão. P_1 e P_2 – bomba solenoide; R – reagente; A – amostra; B – bobina de reação; D – detector; Desc. – descarte; a – perfil da dispersão em fluxo pulsado. (Adaptado de [12]).

A dinâmica deste dispositivo consiste na propulsão de volumes da ordem de microlitros. O fluxo resultante da manipulação desses pequenos volumes é caracterizado pela liberação súbita e repetitiva das alíquotas, a frequência programada, promovendo assim um fluxo pulsado. Esta estratégia favorece o transporte radial de massas, tornando mais eficiente a homogeneização das misturas das soluções[25].

A bomba solenoide tem como componentes principais uma mola, um solenoide e um diafragma, conforme apresentado na Figura 5. O acionamento da bomba solenoide ocorre através de pulsos elétricos gerenciados pelo microcomputador. Esta diferença de potencial (*ca.* 300 mA e 12 V) carrega eletricamente o solenoide, gerando um campo magnético, e a mola é comprimida por um diafragma, assim a pressão hidrodinâmica interna é diminuída, permitindo a entrada de fluido. Em seguida, quando o campo magnético é cessado, o diafragma permite que a mola se expanda, restabelecendo a pressão interna e promovendo a liberação do fluido[26].

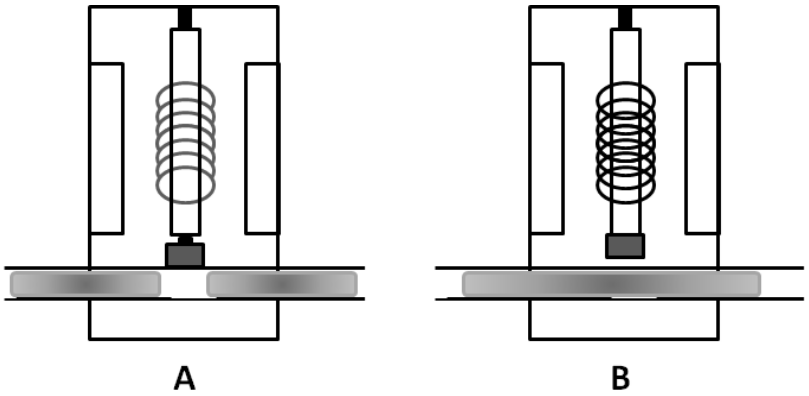


Figura 5 – Funcionamento interno da bomba solenoide. A - bomba solenoide desligada; B - bomba solenoide acionada (Adapatada de [26]).

Estes dispositivos podem dispensar volumes entre *ca.* 20 e 250 µL por pulso e apresentam capacidade de trabalho de até 20 milhões de atuações, o que corresponde a 3000 horas de uso contínuo a 2 Hz de frequência.[26]

Um dos primeiros trabalhos empregando a estratégia de multi-impulsão foi proposto por Carneiro e colaboradores [27], o qual propunha a determinação espectrofotométrica de ácido fítico em extratos de cereal envolvendo a extração do ácido fítico e reação com o salicilato de Fe(III). O sistema consistiu de 3 bombas solenoide, as quais dispensavam 3,0, 8,0 e 25 µL por pulso. O número de pulsos e a frequência de acionamento das bombas solenoide foram alguns dos principais parâmetros avaliados. Os autores ressaltaram a velocidade do sistema, com frequência analítica de 150 determinações por hora, bem como a redução do consumo dos reagentes (aproximadamente 0,01 µg de cloreto de ferro e 0,008 µg de salicilato de sódio, por determinação) e a simplicidade do sistema.

Pons e colaboradores [28] propuseram um sistema de multi-impulsão para especiação de ferro com extração em fase sólida. A reação era baseada na complexação de Fe(III) com o tiocianato, e a concentração de ferro total era obtida pela oxidação do Fe(II) a Fe(III) com peróxido de hidrogênio. A concentração de Fe(II) era obtida pela diferença entre Fe total e Fe(III). Uma válvula solenoide de 3 vias foi empregada para gerenciar a passagem do fluxo pela coluna de extração quando necessário. Os autores ressaltaram que as bombas não conseguiram superar a contrapressão promovida pela fase sólida quando eram utilizadas vazões altas, assim a vazão das soluções não ultrapassou 1 mL min^{-1}. Contudo, relataram a versatilidade fornecida pela implementação do procedimento com bombas solenoide, além do volume reduzido de reagente e controle preciso das soluções.

Outra interessante aplicação foi proposta por Rocha,[29] no qual foi proposto o fracionamento de fósforo solúvel em água em amostras de cereais. Uma conversão fotoquímica *on-line* era realizada para a conversão de fósforo orgânico a fosfato, o qual era determinado por espectrofotometria usando o método do azul de molibdênio. A implementação da micro-digestão em sistemas de análise em fluxo, explorando a multi-impulsão permitiu o fracionamento do fósforo de maneira eficiente e rápida. A contaminação e perda de analito durante a etapa de conversão fotoquímica e consequente exposição do analista foram evitados, devido ao fato de o sistema ser fechado. Melhores condições de mistura inerentes a utilização das bombas solenoide, possibilitaram o emprego de reatores de menor comprimento, provocando assim uma menor dispersão. Os autores relataram também, vantagens como o baixo custo do sistema proposto, além de ser uma alternativa ambientalmente adequada.

1.5 Os sistemas de análises em fluxo e a química verde

Ao longo dos anos, preocupações relativas ao meio ambiente tem estimulado a criação de medidas que conscientizem a população mundial sobre as consequências da atividade antropogênica contra as reservas ambientais.[30] Com esta preocupação, novas tendências foram delineadas e ganharam espaço dentro de áreas diversas. Com a química não seria diferente, devido principalmente à geração de resíduos químicos. Dessa forma, alternativas para redução ou eliminação desses resíduos deram origem a um novo conceito dentro da química: a

química verde que, derivada do inglês “green chemistry”, também é conhecida como química limpa, química sustentável ou química ambientalmente benigna.

A IUPAC (*International Union for Pure and Applied Chemistry*), em 1997, organizou a primeira conferência voltada para a química verde e, nos anos que se seguiram, publicou vários trabalhos voltados a esta temática. Dentre os seus princípios citam-se: a prevenção da produção de resíduos, a síntese de produtos com pouca ou nenhuma toxicidade, a eliminação (sempre que possível) do emprego de solventes tóxicos, a utilização de matéria-prima renovável, o emprego de produtos sintéticos (no qual, o produto degradado não persista no ambiente), o desenvolvimento de metodologias analíticas que possibilitem o monitoramento e controle antes da formação de produtos nocivos, dentre outros.[31]

Neste contexto, as análises em fluxo tem sido uma importante ferramenta, pois suas vantagens inerentes vão de encontro com os princípios preconizados pela química verde. Dentre as vantagens podem-se citar a redução dos volumes de soluções empregados, e consequente redução na geração de efluentes gerados, além da redução de riscos ao analista, uma vez que a reação ocorre em sistema fechado. [32] Contudo, algumas preferências devem ser estimuladas, como a reutilização de resíduo tóxico gerado (sempre que possível) e compreender o tratamento adequado para o resíduo.[32]

O emprego de fluxos confluentes e a estratégia de zonas coalescentes nas análises por injeção em fluxo permitiam uma redução dos reagentes empregados. Em adição, a vazão do fluxo da solução contendo o reagente poderia ser reduzida sem afetar a zona da amostra.[33] A estratégia empregada para o favorecimento de reações lentas através de uma interrupção do fluxo (*stopped-flow*), realizada após a formação da zona da amostra, aumentava o tempo de residência desta, colaborando assim, para o desenvolvimento da reação, sem afetar a dispersão e, ainda, reduzindo o consumo do reagente.[34]

O emprego de comutadores discretos, como as válvulas solenoide, também chamou atenção como uma ferramenta ambientalmente amigável dentro das análises em fluxo. Comandadas por microcomputador, os dispositivos inseriam apenas o volume necessário para o desenvolvimento da reação, conferindo uma versatilidade e economia de reagentes aos sistemas. [35] Outra interessante combinação das análises em fluxo foi observada com as extrações em fase sólida, as quais apresentavam vantagens inerentes aos sistemas heterogêneos: a

imobilização de reagentes em uma mini-coluna possibilita determinações utilizando reações com a fase imobilizada, de forma que o analito pode ser determinado em baixas concentrações, já que a eluição desta fase é possível com pequenos volumes de eluente.[36]

Dentro da modalidade de análises em fluxo explorando multi-seringa, válvulas para comutação dos fluxos são empregadas para cada seringa, realizando um controle exato da entrada de uma alíquota da solução na seringa ou propulsão para o percurso analítico, permitindo um maior aproveitamento das soluções.[37] Nos sistemas que empregam a multi-impulsão em fluxo, a propulsão é realizada pelas bombas solenoide (conforme explanado anteriormente), as quais dispensam alíquotas fixas de cada solução gerenciada.[38]

Os sistemas dedicados às análises por injeção de microfluxos (do inglês, *Micro-flow injection systems* - µFIA), permitem ainda maior redução dos volumes de amostra, reagentes e efluentes, além do alto potencial para portabilidade, já que se tratam, geralmente, de módulos ainda menores, quando comparado aos outros sistemas em fluxo citados até o momento. Esses sistemas exploram o conceito de microfluidos e dispositivos miniaturizados e permitem a integração de várias etapas em um mesmo dispositivo, como os micro-sistemas analíticos totais (do inglês, *Micro Total Analytical Systems* - µTAS).[39]

Mais do que princípios, existe urgência para que a conscientização sobre a química verde se torne, cada vez mais, uma realidade dentro dos laboratórios e das linhas de pesquisa. A postura deve ser adotada com boas práticas laboratoriais e com a consciência de “desperdício mínimo”.

1.6 Espectrofotometria com cela de longo caminho óptico

A espectrofotometria é uma técnica analítica muito empregada devido às vantagens relativas ao baixo custo e robustez. Esta técnica é baseada no monitoramento da interação de espécies química de interesse com a radiação eletromagnética. Esta técnica de detecção é fundamentada na lei de Bouguer-Lambert-Beer,[40] a qual relaciona a absorbância (**A**) com a absortividade molar (**ε**), o caminho óptico (**b**) e a concentração da espécie química de interesse (**c**); ou, na prática, em termos de valores de leituras, considera-se: valor da leitura (**ref**) obtida com a cela cheia com uma solução de referência (água, no caso de soluções

aquosas), e a leitura (**sinal**) feita com uma solução padrão ou com amostra, após o desenvolvimento da reação. Resultando-se deste modo, na equação:

$$A = \varepsilon bc = \log (ref / sinal)$$

Várias estratégias têm sido propostas para o aumento de sensibilidade em métodos espectrofotométricos. Estas estratégias incluem a formação de compostos com maiores absortividades molares, aumento do caminho óptico e concentração prévia ou simultânea ao monitoramento da espécie de interesse.[41]

Nesta dinâmica, espécies que apresentam baixa absorção, podem ser convertidas quimicamente a espécies que apresentem absorção mais adequada a sua detecção, de modo a possibilitar determinações com maior seletividade e sensibilidade. Neste sentido, uma estratégia eficiente é a formação de complexos ternários onde, ao invés de substituir uma das espécies, uma terceira espécie é acoplada as outras duas (analito e reagente principal).[42] Com a formação destes complexos, algumas características podem ser alteradas, como as características espectrais (deslocamento da banda de absorção) e a absortividade molar. A formação de complexos ternários pode ocorrer não apenas por associações iônicas, mas também por sistemas micelares, através do uso de surfactantes, os quais podem conferir maior estabilidade ao complexo formado, além de maiores sensibilidade e seletividade. A Tabela 1 mostra três exemplos de aplicações envolvendo a formação de complexos ternários utilizando surfactantes, com suas respectivas absortividades molares e alterações espectrais.[41]

Tabela 1 – Métodos baseados na formação de complexos ternários a partir de surfactantes (adaptado de [41])

Analito	**Reagente**	**λ_{max} (nm)**		**ε (L mol^{-1} cm^{-1})**	**Ref.**
		Sem surf.	Com surf.	Com surf.	
Al[1]	Cromazurol S	620	640	125000	43
Co[2]	5 - Br-PADP	-	586	92400	44
Fe[3]	Cromazurol S	610	645	135000	45

[1]HCP - Cloreto de heaxadecilpiridinio; [2]Triton X-100; [3]CTA - Brometo de cetiltrimetilamônio

O prolongamento do caminho óptico, também tem sido uma estratégia explorada para o aumento em sensibilidade, já que com este prolongamento, proporciona-se um maior número de espécies absorventes para interagir com o feixe de radiação incidente. Contudo, esta estratégia pode encontrar entraves, principalmente uma excessiva atenuação do feixe de radiação incidente, em decorrência dos fenômenos de refração e reflexão oriundos da interação do feixe de radiação eletromagnético com a solução e as paredes da cela de detecção.[46] Para contornar essa limitação, alguns recursos têm sido explorados, como as celas de multi-reflexão[47] e os capilares (com volume interno reduzido).[48] Outros aparatos, confeccionados em vidro, também têm sido acoplados aos sistemas de detecção, para minimizar o efeito de espalhamento. Nestes dispositivos, a própria cela se comporta como um guia de onda; no entanto, a dificuldade está em utilizar materiais que apresentem índices de refração menores que o meio no qual a medida é realizada. [41]

Na literatura são encontradas algumas aplicações visando o aumento em sensibilidade através do aumento do caminho óptico. Fuwa e colaboradores [49] apresentaram um dos primeiros trabalhos voltados para esta vertente. Os autores empregaram uma cela, confeccionada em vidro pyrex (índice de refração de 1,47), como guia de onda para a determinação espectrofotométrica de fosfato, iodeto, mercúrio e cobre. A cela possuía 4 m de comprimento e 2 mm de diâmetro interno e apresentou um aumento de 3000 vezes em sensibilidade, se comparado com os procedimentos que empregaram uma cela de 1 cm de caminho óptico. A posição da cela nas formas reta e enrolada (ambas com o mesmo comprimento, variando apenas o fluido constituinte do núcleo) também foi um aspecto avaliado. Depois de preenchidas com um fluido com índice de refração maior que 1,47, a maior eficiência de transmissão pôde ser observada para a cela com formato enrolado.

Infante *et al.*[50] também exploraram alguns efeitos decorrentes do emprego dos guias de onda de núcleo líquido (*liquid core waveguide, LCW*), acoplados aos sistemas de análises em fluxo para detecção espectrofotométrica. Nesta proposta, foram realizados estudos com celas de 1 cm e 100 cm (0,56 mm de diâmetro interno e cerca de 250 µL de volume interno). O material interno da cela de longo caminho óptico era constituído de sílica fundida revestida com Teflon AF-2400®, um material com índice de refração de 1,29, portanto menor que o da água (n = 1,33). Foram montados dois sistemas em fluxo, um deles apresentava uma alça para inserção da

amostra e o reagente inserido por confluência, e o outro sistema era monossegmentado com bolhas de ar. O primeiro sistema foi empregado para os experimentos com permanganato de potássio (sem reação química), e experimentos com Cr(VI) e DFC (difenilcarbazida). Observando os resultados apresentados pelos autores, nota-se que para os experimentos com permanganato de potássio houve um aumento em sensibilidade, estimado através dos coeficientes angulares, de 100,2 vezes maior para LCW, e para os experimentos de Cr(VI)/DFC com cela de 100 cm, o aumento observado foi de 80 vezes para LCW. O ganho em sensibilidade não proporcional pôde ser explicado pela dispersão da amostra decorrente da cela de maior comprimento.

1.7 Fotômetros com lâmpada de LED

Os espectrofotômetros são equipamentos que permitem a determinação de espécies por meio da razão entre as potências dos feixes incidente na amostra e transmitido por esta, que é o princípio básico estabelecido pela lei de Bouguer-Lambert-Beer. Esses equipamentos são basicamente constituídos de uma fonte de radiação, um monocromador (ou filtro), um compartimento para amostra, um fotodetector e um dispositivo de leitura.

As fontes de radiação mais empregadas são constituídas por lâmpadas de filamento de tungstênio (emitem na região visível e infravermelho próximo), de deutério (emitem na região ultravioleta) e de xenônio (emitem na região ultravioleta, visível e infravermelho próximo). Além disso, os diodos emissores de luz (*light emitting diode, LED*) também tem sido utilizados em aplicações voltadas para a região do visível, como os equipamentos *homemade.*

As vantagens decorrentes da instrumentação empregada em espectrofotometria, como simplicidade, portabilidade e baixo custo tem permitido a construção de fotômetros *homemade*, além de possibilitar a miniaturização dos mesmos.

Os LEDs são componentes eletrônicos constituídos de material semicondutor dopado formando uma junção do tipo p-n que, ao receber uma diferença de potencial elétrico, emitem radiação, fenômeno este chamado de eletroluminescência. Os principais componentes deste dispositivo são apresentados na Figura 6.

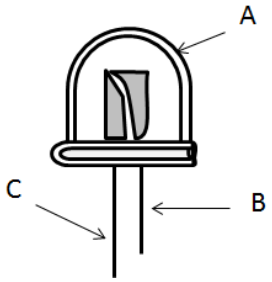


Figura 6 – Componentes de um LED: A - cápsula; B – terminal catodo; C – terminal anodo.

A eletroluminescência ocorre devido aos elétrons livres no material tipo n e elétrons ausentes no material tipo p. Dessa forma, aplicando-se uma diferença de potencial apropriada entre os dois polos, o material torna-se condutor, devido ao deslocamento dos elétrons e das lacunas para a interface. Ao ultrapassarem esta interface, os elétrons preenchem as lacunas em n e a radiação eletromagnética é gerada na interface.[51] Se a diferença de potencial aplicada não alcançar o valor limiar para o fenômeno, a emissão de radiação não ocorre. Entretanto, se a corrente drenada for excessiva (I>25 mA), danifica-se o LED. A diferença de potencial adequada pode variar de um LED para outro, principalmente quando a faixa de emissão é diferente. Na Tabela 2 são listados alguns dos materiais mais empregados na composição de LEDs.

Tabela 2 – Materiais semi-condutores empregados na composição de LEDs (adaptada de [51]).

Material semi-condutor	**λ_{max} (nm)**	**Faixa de emissão (nm)**	**Cor emitida**
GaN	435; 482	418-510	azul
SiC	470	435-510	azul
GaP	560	552-582	verde
GaAsP	583	565-601	vermelho
GaAs	940	929-978	infravermelho
AlInGaP	590	584-598	amarelo

A perceptível aceitação do emprego de LEDs como fonte de radiação decorre de algumas características, como o longo tempo de vida útil (dependendo das condições, pode chegar a 100.000 horas), a estabilidade (a emissão torna-se constante em pouco tempo e não apresenta variações significativas durante o uso), o baixo custo (5 mm de diâmetro e alto brilho: aproximadamente R$ 0,50), o tamanho reduzido e a largura da banda de emissão em torno de 25 nm (adequado para muitas aplicações).

O primeiro protótipo de um fotômetro de LED foi proposto por Flaschka *et al.*[52] em 1973. O LED foi acoplado em uma das extremidades da cela, enquanto que na outra extremidade havia um fototransistor. Neste trabalho, o autor observou alguns aspectos favoráveis a respeito do comportamento do LED, como a estabilidade da radiação emitida, a estreita banda de emissão, a robustez e as dimensões reduzidas do dispositivo.

Pessoa-Neto e colaboradores[53] construíram um fotômetro de baixo custo com três LEDs para determinação de ácido ascórbico, empregando um analisador em fluxo automático e reator em fase sólida. Os LEDs utilizados eram das cores azul (λ_{max}= 465 nm), verde (λ_{max}= 525 nm) e vermelho (λ_{max}= 640 nm), os quais apresentavam largura da banda de emissão de 20, 30 e 20 nm, respectivamente, e para detecção utilizou-se um fotodiodo. Embora os autores tenham avaliado um fotômetro com três LEDs, o equipamento não era multi-LED. Foram realizados testes relativos à estabilidade e ao tempo de resposta utilizando o LED azul. Observou-se que, com uma frequência de 20 Hz, o tempo de reposta foi limitado a 10 ms, reduzindo o sinal em 30 mV, não causando variação significativa no desempenho. Ao permanecer 5 horas ligado, o LED apresentou d.p.r. = 0,023. Os autores concluíram que o fotômetro de LED era eficiente, além do baixo custo, se comparado com os espectrofotômetros comerciais.

Um fotômetro multi-LED, microcontrolado e portátil, foi proposto por Gaião *et al*.[54] O fotômetro empregava 6 LEDs, os quais apresentavam máximos de emissão variando de 430 nm (violeta) a 660 nm (vermelho). Todos os LEDs foram acoplados em um suporte circular com 6 posições, que através de uma chave eletro-mecânica permitia o acionamento e o posicionamento de cada LED, alinhando-se com o detector (fototransistor). O deslocamento dos LEDs era realizado através da movimentação de um botão localizado no painel de controle. O caminho óptico empregado era de 1 cm de comprimento e o microcontrolador PIC era da família

16F877 com A/D de 10 bits. A estabilidade foi avaliada durante um período ininterrupto de 8 horas, no qual não foi observada variação significativa no sinal. A Tabela 3 (apresentada pelos autores), mostra a concordância do equipamento proposto frente aos comerciais, empregando as mesmas amostras de xarope para a determinação de Fe(II). O desvio padrão relativo obtido foi de 0,3% para n = 5.

Tabela 3 – Comparação entre fotômetro multi-LED do sistema proposto e dois equipamentos comerciais utilizados em determinações de Fe(II) (retirada de [54]).

Características	Fotômetro proposto	Micronal	HP
Linearidade (r)*	0,99960	0,99978	0,99954
L.D. (mg L^{-1})	$1,9 \times 10^{-2}$	$1,2 \times 10^{-2}$	$3,3 \times 10^{-4}$
L.Q. (mg L^{-1})	$5,7 \times 10^{-2}$	$3,6 \times 10^{-2}$	$1,0 \times 10^{-3}$

*para n = 5

Um fotômetro de LED para determinação espectrofotométrica de ortofosfato em águas de rio e mineral, empregando multicomutação em fluxo, foi proposto por Silva *et al*.[55] O sistema era constituído de uma cela de fluxo construída em vidro borossilicato com formato em Z, com caminho óptico de 100 mm e 2,0 mm de diâmetro interno, e um LED de alta intensidade de emissão com o máximo em 640 nm (vermelho). Segundo Silva, eram esperados os efeitos de espelhamento e *Schlieren*, devido ao formato da cela. Portanto, para minimizar estes efeitos, a cela foi moldada com uma janela de superfície plana e um colimador foi acoplado entre a cela e o fotodiodo. A alta intensidade e o ângulo de emissão do feixe emitido pelo LED possibilitaram um fundo de escala de 0 a 2000 mV sem amplificação adicional. Segundo os autores, não foram observados sinais advindos de efeito *Schlieren*. Uma limitação foi observada com relação ao aprisionamento de bolhas nas extremidades da cela, devido ao formato em Z, e uma alternativa adotada para isso foi posicionar a cela na posição horizontal.

Os fotômetros com LED têm se mostrado alternativas confiáveis em relação aos equipamentos comerciais por apresentarem grande versatilidade e potencial portabilidade (devido às dimensões reduzidas e o baixo consumo de energia), além de baixo custo para construção e manutenção do equipamento.

1.8 Sistemas microcontrolados

Os equipamentos voltados ao controle de dispositivos e aquisição de dados, compatibilizam o sinal digital enviado pelo computador ao sinal elétrico enviado para o acionamento de dispositivos de controle (por exemplo, válvulas solenoide) e da mesma forma ocorre para o sinal gerado pelo fotodetector (analógico), o qual é convertido para um padrão adequado ao equipamento de leitura (por exemplo, registrador potenciométrico). Com esta finalidade, algumas interfaces têm sido empregadas nos sistemas de análises em fluxo para comunicação com o computador. Destacam-se a PCL (do inglês, *Peripheral Component Interconnect*),[14] o Arduino[56] e outros microcontroladores,[57] todos estes comercialmente disponíveis.

Os microcontroladores são dispositivos presentes em diversos tipos de equipamentos e estão inseridos na sociedade desde ações corriqueiras, como o preparo de um café, em cafeteira digital, até situações mais delicadas, como o disparo de uma bomba por controle remoto. Um carro atual, por exemplo, pode contar com aproximadamente 50 microcontroladores.[58]

Alguns dos equipamentos utilizados atualmente, por exemplo, os equipamentos médicos, eletrodomésticos e de comunicação, existem apenas devido ao uso desses dispositivos microcontrolados. Além da praticidade diária, possibilitada pelo uso desses equipamentos, ações relativas à sustentabilidade também tem sido possíveis devido ao uso dos microcontroladores, como o controle de energia em motores elétricos, os quais representam 50% do consumo de energia elétrica de todo o planeta.[59]

O microcontrolador é definido como um dispositivo inteligente, autossuficiente e de baixo custo. É composto de uma CPU (*central processing unit*), portas de I/O (*input / output*), memória de dados e programa para armazenar e manipular os dados, um sistema de *clock*, que sequencia as atividades do CPU, dentre outros periféricos, como o conversor A/D (analógico / digital).[59]

A maioria dos microcontroladores são embarcados (do inglês, *embedded system)*, referindo-se ao microcontrolador que está inserido em produtos e que são dedicados a esses produtos. O PIC (*Peripheral Interface Controller*) é uma família de microcontroladores, que foi desenvolvida pela *Microchip tecnology*, e são divididos em séries de 12, 14 e 16 bits, possuem encapsulamento de 6 a 100 pinos e

funcionam com alimentação de 2 a 6 V.[58] Esses microcontroladores, geralmente, são voltados para a automação com o intuito de controlar outros dispositivos.

Neste contexto, Cantrell e Ingle[60] propuseram um fotômetro de LED simples, de baixo custo e microcontrolado. Esse sistema, constituído de uma cela com caminho óptico de 1,5 mm de comprimento e LEDs, foi empregado para a determinação de tionina. O microcontrolador da família PIC16F84 era responsável pelo gerenciamento de todo o sistema, o qual é constituído de 13 portas I/O e seu programa foi escrito em linguagem BASIC. Este microcontrolador foi selecionado devido ao seu baixo custo, tamanho reduzido e baixo consumo de energia. O uso do mesmo também colaborou para o desenvolvimento do fotômetro de LED com características comparáveis aos fotômetros comerciais.

Um sistema para monitoramento de parâmetros de qualidade, como temperatura, condutividade e pH, foi proposto para a análise de águas.[57] O monitoramento foi realizado *in situ* e empregou um microcontrolador programável para contornar entraves, como a baixa portabilidade e o alto custo de sistemas comerciais, principalmente importados, além de permitir a automatização das análises. O microcontrolador empregado era um PIC16F877A de 8 bits, conversor A/D de 10 bits e 8 portas para aquisição dos dados. No monitoramento, o sinal analógico era capturado pelo microcontrolador e convertido pelo A/D interno do PIC. Depois de convertidos em suas respectivas unidades, através da calibração analítica, os sinais eram transmitidos por radiofrequência para o módulo receptor, e os dados obtidos eram visualizados em uma tela LCD. O emprego do microcontrolador diminuiu drasticamente o número de componentes eletrônicos do sistema, além de possibilitar modificações na sua execução, sem necessidade de alterações no circuito eletrônico, além de realizar a aquisição e tratamento dos dados, sem a necessidade de um microcomputador. Este sistema possibilitou o monitoramento simultâneo de 6 parâmetros de águas de reservatório.

1.9 Objetivos

Este trabalho teve como objetivo desenvolver procedimentos analíticos automáticos para a determinação fotométrica de vanádio e de estanho em águas e em alimentos empregando o processo de multicomutação em fluxo, para permitir redução do consumo de amostra e de reagentes, assim como do volume de efluente gerado.

O equipamento para detecção fotométrica foi desenvolvido para permitir o emprego de celas de fluxo com longo caminho óptico (50-200 mm) visando melhoria em sensibilidade. Esta unidade foi construída empregando LED de alto brilho, fotodiodo integrado à unidade de transdução e amplificação de sinal usando amplificador de alto desempenho, para possibilitar o emprego de cela de fluxo com longo caminho óptico. O módulo de análises e o fotômetro foram integrados para formar uma unidade compacta e de dimensão reduzida em comparação a sistemas usuais. O *software* de controle de dispositivos e aquisição de dados foi desenvolvido para permitir a implementação de ambos os procedimentos analíticos. Por fim, pretendeu-se dispor de um equipamento de baixo custo e de alto desempenho, que atendesse aos limites estabelecidos pelas agências reguladoras.

2. DETERMINAÇÃO DE VANÁDIO EM ÁGUAS

2.1 Características do vanádio e sua determinação por espectrofotometria

O vanádio (V) forma compostos, principalmente, nos estados de oxidação de II a V e, dentre estes, os estados tetra e pentavalente são mais comumente encontrados. O estado pentavalente é o mais estável e mais tóxico, em relação à forma IV. Já os íons V^{2+} e V^{3+}, são fortes agentes redutores, e o íon V^{4+} ocorre como íon vanadila VO^{2+} (azul), que é estável em meio ácido e é rapidamente oxidável a V(V) em condições alcalinas, além de formar complexos com fluoreto, oxalato e EDTA.[61]

O incorporamento do vanádio no ambiente ocorre através de alguns minerais, tais como carnotita e vanadinita. Entretanto, a maior parcela do metal é advinda de ações antropogênicas, como a queima de combustível fóssil. Neste contexto, o Conselho Nacional do Meio Ambiente (CONAMA) estabeleceu o valor máximo de 0,1 mg L^{-1} de vanádio para águas doces.[62]

As aplicações que envolvem o vanádio incluem a produção de aço inoxidável, fabricação de tintas, pigmentos, vidros, assim como a produção de catalisadores e produtos cerâmicos.[63] A maior participação do vanádio está na produção das ligas de ferro-vanádio, as quais são empregadas na produção de aço e outras ligas, uma vez que elas conferem maior resistência à corrosão.[63] Alguns processos inerentes à metalurgia, envolvem a produção de vapores contendo vanádio, que pode ser inalado e, portanto, ser uma fonte tóxica.[64,65]

A exposição ao vanádio liberado em queimas (V_2O_5) pode provocar distúrbios nervosos, irritação no trato respiratório (por exemplo, bronquite, rinite, faringite e pneumonia), arritmia cardíaca, anemia e leucopenia. A organização mundial de saúde (do inglês, *World Health Organization* - WHO) sugere a exposição ao máximo de 1 µg m^{-3} de vanádio em um período de 24 horas.[66]

Para a saúde humana, o vanádio é um elemento essencial devido à atuação como agente regulador de atividades enzimáticas, inibidor da biossíntese de colesterol, preventor de doenças cardíacas, além de agir também no controle de antioxidantes endógenos.[66] A literatura sugere, ainda, que o vanádio é capaz de mimetizar as funções da insulina, colaborando assim, no controle da diabetes.[67]

O maior acúmulo de vanádio ocorre nos ossos e nos rins, e as concentrações consideradas normais no sangue são da ordem de 0,05 µg L^{-1}, e na urina de 0,50 µg L^{-1}. As maiores fontes alimentares de vanádio são os frutos do mar.[68]

Sua atuação no organismo ainda é pouco elucidada. Suspeita-se entretanto, que altos níveis de vanádio estejam relacionados às condições cerebrais irregulares, tais como as psicoses. Isso decorreria da participação do vanádio no metabolismo de dopamina, epinefrina e norepinefrina.[69]

Neste sentido, o desenvolvimento de procedimentos analíticos para sua determinação tem despertado muito interesse, os quais tem sido implementados para vários tipos de amostras, com o emprego de técnicas de detecção como a fluorimetria,[70] a espectrofotometria,[71] a espectrometria de absorção atômica com atomização eletrotérmica,[72] além da espectrometria de emissão óptica com plasma acoplado indutivamente.[73]

Para a determinação de vanádio com detecção espectrofotométrica, são encontradas na literatura algumas estratégias empregando etapas de concentração, incluindo extração com solventes orgânicos,[74] extração em fase sólida[75] e extração em fase sólida com detecção simultânea[76].

Os procedimentos analíticos realizados manualmente são morosos e produzem grandes volumes de efluente,[77] consequentemente são necessárias etapas adicionais para a eliminação dos resíduos, a fim de aumentar o comprometimento com a sustentabilidade ambiental. Outros procedimentos analíticos tem sido implementados explorando as análises em fluxo, o que reduz os volumes utilizados.[63] O bombeamento contínuo de soluções, inerente à algumas modalidades dentro das análises em fluxo, gera uma quantidade de resíduos significativa se comparada àquelas geradas com fluxo intermitente, como por exemplo, a multi-impulsão em fluxo.

Um trabalho proposto para a determinação em batelada de vanádio em amostras de água e de petróleo, baseou-se na pré-concentração da espécie em fase sólida. O procedimento explorava a formação do complexo V(IV)-ECR (Eriocromo Cianina R), e a mistura do vanádio com o ECR, juntamente com a fase sólida, ocorria por centrifugação durante 45 min e a determinação era realizada no próprio sólido. A pré-concentração foi realizada em resina Sephadex DEAE A-25, e o efeito batocrômico foi observado com deslocamento do máximo em absorbância de 550 nm para 593 nm. O limite de detecção foi estimado em 0,6 µg L^{-1}, usando um volume de amostra de 1000 mL.[78]

Outra proposta para determinação espectrofotométrica de V(V), na presença de V(IV), em amostras de plantas foi desenvolvida com o emprego das análises por injeção em fluxo. Nesta proposta, o V(V) formava complexo com o 4-(2-piridilazo)resorcinol (PAR), com máximo de absorbância em 550 nm. Uma solução de ciclohexanodiaminetetracético (CDTA) foi utilizada para mascarar a presença do V(IV), através da formação do complexo V(IV)-CDTA. O sistema era constituído de uma bomba peristáltica, 2 válvulas seletoras para gerenciamento dos fluidos, uma câmara de mistura (volume interno de 200 µL) e um fotômetro de LED equipado com um fotodiodo como unidade de detecção. A incorporação da câmara de dispersão ao sistema ocorreu devido à diluição em linha da amostra em 240 vezes. A adição do surfactante catiônico brometo de cetiltrimetilamônio (CTAB) foi avaliada e não foi observado um aumento em sensibilidade, porém houve aumento na estabilidade do complexo. A faixa linear de trabalho encontrada foi de 0,1 a 1,2 g L^{-1} (na presença de V(IV) com um excesso de até 10 vezes), e a frequência analítica foi estimada em 120 determinações por hora.[63]

A determinação simultânea de V(IV) e V(V) foi proposta empregando um sistema de análises por injeção em fluxo e detector espectrofotométrico com duas celas alinhadas ao caminho óptico. Utilizaram-se os mesmos comprimentos de caminho óptico e de onda (530 nm) para ambas as celas, e 2 picos sucessivos eram obtidos para cada determinação. O sistema ainda dispunha de 3 bombas de pistão, para gerenciamento dos fluxos, e a determinação explorou a diferença cinética na complexação do V(IV) e V(V) com o reagente xilenol laranja (XO), em meio ácido. As concentrações das espécies eram calculadas por meio de duas equações proporcionais:

$$A_1 = (X_{1,IV}[V(IV)] + Y_{1,IV}) + (X_{1,V}[V(V)] + Y_{1,V}) \qquad \text{equação 1}$$

$$A_2 = (X_{2,IV}[V(IV)] + Y_{2,IV}) + (X_{2,V}[V(V)] + Y_{2,V}) \qquad \text{equação 2}$$

A_1 (máximo de absorbância na primeira cela) e A_2 (máximo de absorbância na segunda cela), onde: $X_{1,IV}$, $X_{1,V}$, $X_{2,IV}$, $X_{2,V}$, $Y_{1,IV}$, $Y_{1,V}$, $Y_{2,IV}$, $Y_{2,V}$ são constantes obtidas em cada curva analítica para V(IV) e V(V), respectivamente. Ao analisar os resultados, notou-se que sob as mesmas condições, a formação do complexo V(V)-XO ocorria mais rapidamente que a do complexo V(IV)-XO. O limite de detecção foi estimado em 0,01 µg mL^{-1} para ambas as espécies e a frequência analítica de cerca

de 19 determinações por hora. As faixas lineares de trabalho foram de 0,3 até 5 µg mL^{-1} para V(IV) e de 0,4 até 5 µg mL^{-1} para V(V). Amostras sintéticas foram utilizadas para verificação da exatidão.[79]

Outro exemplo da junção da espectrofotometria em fase sólida com as análises em fluxo contínuo foi a proposta de Ayora-Canada *et al.*[76], cujo sistema era composto de uma bomba peristáltica, 3 válvulas rotatórias de 6 vias e uma cela de fluxo com 10 mm de caminho óptico e 50 µL de volume interno. As fases sólidas avaliadas para a retenção do complexo foram Sephadex QAE e DEAE. Já as resinas do tipo Dowex foram desconsideradas por apresentarem forte retenção, o que dificultaria a eluição do complexo formado, assim como a regeneração da fase sólida. Nesta proposta, o monitoramento do complexo formado entre o V(V) e o ácido 5-bromo salicilhidroxâmico era realizado diretamente na fase sólida em 550 nm. Depois de cada determinação, a espécie química de interesse era eluída e a fase sólida era regenerada para as determinações subsequentes. Utilizando-se volumes de 2 e 5 mL de amostra, as frequências analíticas foram de 10 e 15 determinações por hora, e os limites de detecção foram estimados em 0,024 e 0,014 µg mL^{-1}, respectivamente. O procedimento foi empregado em amostras de água, petróleo e frutos do mar.

Uma determinação indireta também pôde ser realizada por reação de redução-oxidação com Cu(II), em presença de neocuproína e empregando um sistema de análises em fluxo contínuo. Nesta estratégia, o Cu(II) era facilmente reduzido pelo V(IV) à Cu(I). E o Cu(I) resultante formava complexo com neocuproína, com o máximo de absorbância em 454 nm. Interferências positivas foram observadas com a presença de Fe(II), pois tal como V(IV), a espécie também reduzia Cu(II) a Cu(I); assim, a determinação de Fe(II) foi incorporada à proposta com a adição do reagente pirofosfato, além da neocuproína. E a determinação de vanádio era realizada sem a presença de pirofosfato, o qual agiu como mascarante para Fe(II). A faixa linear para a determinação de vanádio foi de $2x10^{-5}$ a $8x10^{-5}$ mol dm^{-3}, com uma frequência analítica de 120 determinações por hora.[80]

A extração em fase sólida com C_{18} também foi explorada em proposta apresentada para a determinação de vanádio. Neste procedimento, o V(V) era complexado com 2,3-dicloro-6-(2,7-diidroxi-1-naftilazo)quinoxalino e então, extraído na fase sólida. Depois da concentração da espécie nesta fase, a eluição foi efetivada com acetronitrila, seguida da detecção fotométrica realizada em 573 nm. Como o

complexo formado apresentava baixa solubilidade em água, vários surfactantes foram avaliados para aumentá-la e, ao final destes estudos, o surfactante catiônico zefiramina foi recomendado. As vazões dos fluxos para a extração e a eluição da espécie foram selecionados em 20 e 5 mL min^{-1}, respectivamente, assim como o volume de 100 mL de amostra. O limite de detecção foi estimado em 3,2 µg L^{-1} e o método foi aplicado à amostras de aço, solo, água, planta e tecido animal. Ressalte-se que a inclusão da fase sólida promoveu um fator de enriquecimento de 100 vezes[81].

Assim, observa-se que a maior parte dos trabalhos voltados à determinação de vanádio por espectrofotometria são baseados em estratégias com etapas de pré-concentração ou necessitam de repouso para que a reação possa atingir o equilíbrio químico. Dessa forma, o procedimento proposto é baseado em etapas simples e rápidas.

2.2 Parte experimental

2.2.1 Reagentes e soluções

Todos os reagentes empregados eram de grau analítico e a água purificada, com condutividade elétrica menor que 0,1 µS cm^{-1}. Solução estoque do reagente cromogênico 0,05% (m/v) eriocromo cianina R (Merck) foi preparada por dissolução de 0,05 g do sólido em 100 mL de água. Uma solução de trabalho de 0,007% (m/v) foi preparada, por diluição com água a partir da solução estoque.

Uma solução tampão de acetato / ácido acético foi preparada por dissolução de 28,71 g de acetato de sódio (Merck), suficiente para perfazer uma solução 0,35 mol L^{-1}, em cerca de 700 mL de água. Após dissolução, o pH foi ajustado para 5,0 com ácido acético glacial (Merck), e o volume completado para 1000 mL com água. A solução 0,5% (m/v) de ácido ascórbico foi preparada diariamente por dissolução do sólido (Quimex) em 50 mL da solução tampão acetato. A solução estoque de 1,00 g L^{-1} V(V) foi preparada pesando-se 0,2296 g de NH_4VO_3 (Merck), dissolvendo esta massa em 1,0 mL de HNO_3 concentrado e completando-se o volume para 100 mL com água. Soluções padrão de V(V) com concentrações variando de 0,02 a 1,50 mg L^{-1} foram preparadas diariamente, por diluição (com água) de uma solução intermediária de 20 mg L^{-1} V(V), preparada a partir da solução estoque.

Os potenciais interferentes para o método, geralmente presentes em águas doces, foram avaliados e para tal, soluções contendo Al^{3+}, Ni^{2+}, Pb^{2+}, Co^{2+}, Mn^{2+}, Zn^{2+}, Fe^{3+}, SO_4^{2-}, Cl^-, F^-, NO_3^- foram testadas. Para cada espécie potencialmente interferente a ser analisada, foram preparadas soluções contendo 1,0 mg L^{-1} de V(V), com adição de 0,5, 1,0, ou 2,0 mg L^{-1} de cada potencial interferente. Uma solução de 1,0 mg L^{-1} de V(V) sem adição de interferente foi empregada como referência. Algumas destas espécies comumente encontradas neste tipo de amostra, em concentrações superiores às citadas, como por exemplo, Cl^-, NO_3^-, Al^{3+} e Fe^{3+} foram avaliadas em concentrações mais elevadas.

As amostras de água de rio foram filtradas com membrana acetato celulose de 0,45 µm (Millipore). Em seguida, foram acidificadas pela adição de 1,0 mL de HNO_3 concentrado e os volumes foram completados para 1000 mL. Antes das análises, foram tomadas alíquotas de 25,0 mL de cada amostra e adicionou-se uma solução de F^- (Merck). Águas minerais foram adquiridas no mercado local e antes de suas análises, as mesmas foram acidificadas semelhantemente às amostras de águas de rio.

2.2.2. Equipamentos

2.2.2.1 Unidade de detecção

O fotômetro compreendia uma cela de fluxo com arquitetura modificada*, um LED verde de 5 mm (máximo de emissão em 560 nm e um ângulo de abertura de 23º) e um fotodiodo OPT301 (Burr-Brown) com malha de amplificação acoplada à unidade de transdução. A montagem da cela de fluxo é mostrada na Figura 7.

---

*Artigo publicado no periódico Sensors and Actuators B, 198 (2014) 448-454.

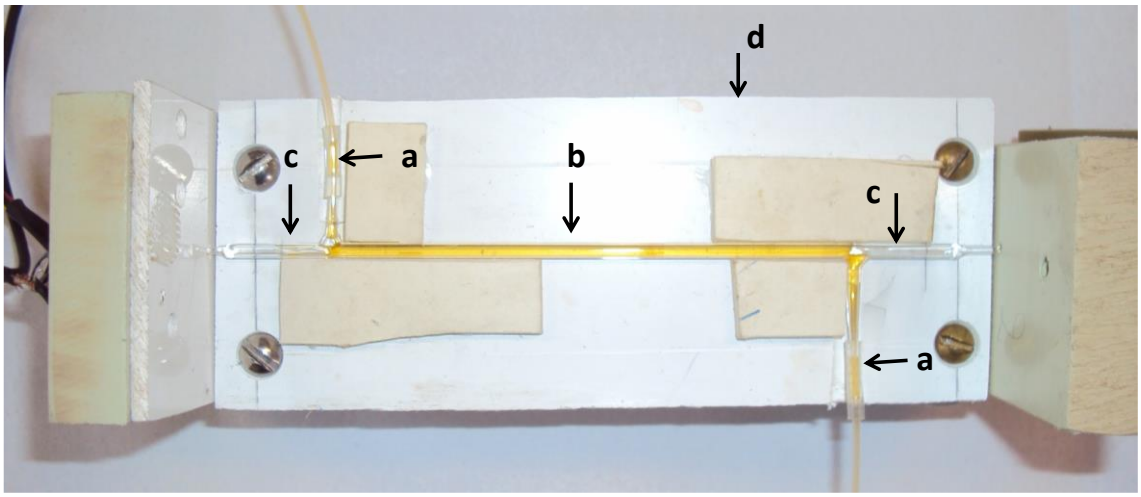


Figura 7 – Cela de fluxo com caminho óptico de 100 mm. a – entrada/saída do fluxo; b – corpo da cela em vidro borossilicato; c – guias de onda acoplados à cela; d – suporte de madeira.

Foram confeccionadas celas com 50, 100 e 150 mm de caminho óptico em vidro borossilicato. Todas as celas apresentavam 1,2 mm de diâmetro interno e volume estimado em 58, 113 e 170 µL, respectivamente.

Os suportes das celas de fluxo foram confeccionados de modo a permitir que os estudos empregando celas de diferentes comprimentos pudessem empregar o mesmo LED e fotodetector. A interface de amplificação do sinal analítico compreendia um amplificador operacional de instrumentação (AD524, Analog Devices) e resistências. Sua montagem foi realizada em uma plataforma de fibra de vidro com dimensões de 5 x 5 cm, acoplada à saída do fotodiodo. O LED e o detector foram acoplados às extremidades da cela de fluxo de modo que ambos ficassem alinhados à cela. O fotômetro foi acomodado em uma caixa (30 cm de largura, 15 cm de altura e 20 cm de profundidade) para protegê-lo da incidência de radiação externa.

2.2.2.2 Módulo de análises microcontrolado

Para controle dos dispositivos utilizados e conversão do sinal analítico monitorado no fotômetro, de analógico para digital, empregou-se um microcontrolador da família PIC18F4550, fabricado pela Microgênios Microcontroladores (São Paulo, Brasil).

Este microcontrolador possui interfaces digitais, usadas para controlar o módulo de análises, e um conversor analógico-digital com 12 bits de resolução, com fundo de escala de 4096 mV. O microcontrolador é o núcleo do kit de desenvolvimento empregado, e foi configurado para funcionar como um “escravo” interligado ao microcomputador através das interfaces seriais (vide Figura 8).

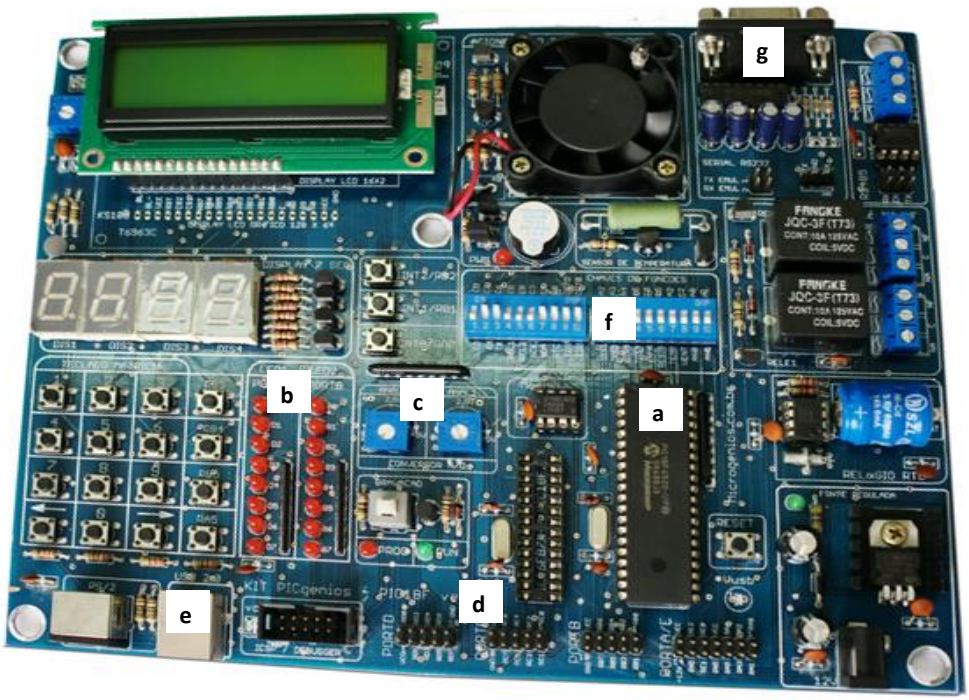
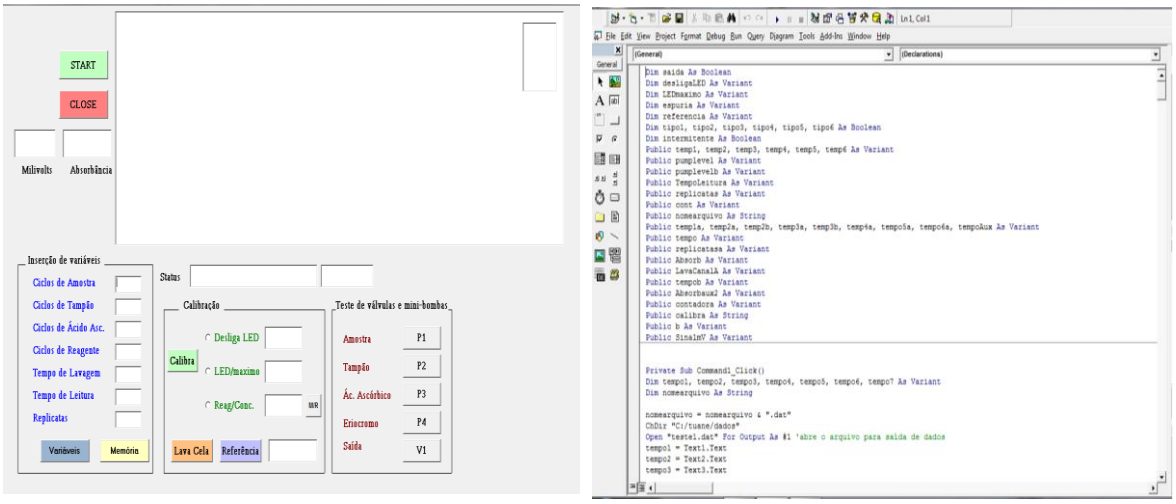


Figura 8 - Kit de desenvolvimento (Microgênios Microcontroladores, São Paulo, Brasil). (a) microcontrolador PIC18F4550; (b) LEDs ligados ao PIC para visualização de acionamento de outros dispositivos; (c) trimpots para simulação do A/D; (d) portas de expansão: conecta outros dispositivos ao kit; (e) canal USB 2.0; (f) chaves seletoras: habilita os dispositivos disponíveis no kit; (g) canal de comunicação serial RS232.

O programa computacional para controle dos dispositivos e aquisição dos dados foi escrito em linguagem Visual Basic 6.0 (Microsoft). Para o controle e visualização pelo operador são disponibilizadas na tela principal do programa (Figura 9a) as variáveis para o acionamento individual ou automático dos dispositivos, assim como para a realização da calibração do fotômetro. A aquisição de dados também é realizada pelo programa via microcontrolador, os quais são

salvos em arquivo ASCII. Cada sequência do procedimento para a realização de cada uma das tarefas foi escrita no formulário de codificação (Figura 9b) e disponibilizada na tela principal.

O sistema proposto também é composto por uma fonte regulada de alimentação de 12 V para fornecer energia para as bombas e para a válvula solenoide; uma fonte regulada de alimentação (- 12 V, + 12 V) para alimentar o fotômetro; uma interface digital de controle baseado no circuito integrado ULN 2803, para acionar as bombas e a válvula solenoide, um transistor BD547 e resistências para controle da intensidade de emissão do LED. A interface de controle dos dispositivos foi acoplada às saídas digitais do microcontrolador PIC18F4550.



(a) (b)

Figura 9 – (a) tela principal para controle do operador e (b) formulário de codificação

O módulo de análises do sistema em fluxo, projetado para a implementação do procedimento analítico, foi baseado no processo de multicomutação em fluxo explorando multi-impulsão. O sistema consiste de 1 válvula solenoide de 3 vias HP225T031 (NResearch), 3 bombas solenoide PN120SP1210-5TP (Biochem Valve, volume nominal = 10 µL), e 2 reatores helicoidais confeccionados em tubo de polietileno, com 20 e 40 cm de comprimento e 0,8 mm de diâmetro interno. Estes dispositivos foram montados em uma plataforma de acrílico com 20 cm de comprimento, 15 cm de largura e 1,5 cm de espessura.

2.2.3 Procedimento experimental

A reação para formação do complexo ocorre com o vanádio em seu estado tetravalente e, dessa forma, antes da mistura da amostra com a solução do reagente cromogênico eriocromo cianina R (ECR), uma etapa de redução do V(V) à V(IV) foi incluída. O diagrama de um sistema integrado, compreendendo o sistema de análises em fluxo e o fotômetro está representado na Figura 10.

O sinal gerado pelo fotômetro foi convertido para um padrão digital através do microcontrolador e enviado para o microcomputador, através da interface serial. Simultaneamente ao monitoramento, os dados eram armazenados como um arquivo em formato ASCII, para permitir a análise dos dados em tempo real.

O sistema desenvolvido para a determinação de vanádio era constituído de bombas solenoide que dispensavam volumes de 10 µL de solução por pulso e uma válvula solenoide de três vias, utilizada quando da troca de amostras. A sequência de acionamento dos dispositivos é sumarizada na Tabela 4. O *software* iniciava o procedimento analítico, no qual cada bomba solenoide era ligada/desligada sequencialmente por 20 vezes, promovendo o preenchimento das linhas de fluxo correspondentes, que eram ligadas às bobinas de reação (Rc_1 e Rc_2), com suas respectivas soluções.

Definiu-se o pulso de atuação de cada bomba solenoide, como o ato de ligar o dispositivo durante um intervalo de 0,15 s (preenchimento da câmara interna com a solução correspondente) e mantê-lo desligado por igual tempo (dispensação do volume aspirado). Portanto, a frequência de acionamento utilizada era de 3,3 Hz, sendo este o valor mínimo recomendado pelo fabricante, para dispensar volumes de forma reprodutível.

Para a etapa de calibração do fotômetro eram efetuados 30 ciclos da bomba P_2, para garantir o preenchimento da cela de fluxo com a solução transportadora (Cs). Em seguida, o sinal gerado pelo fotômetro (Fs) era lido, convertido para digital e enviado ao computador pelo microcontrolador.

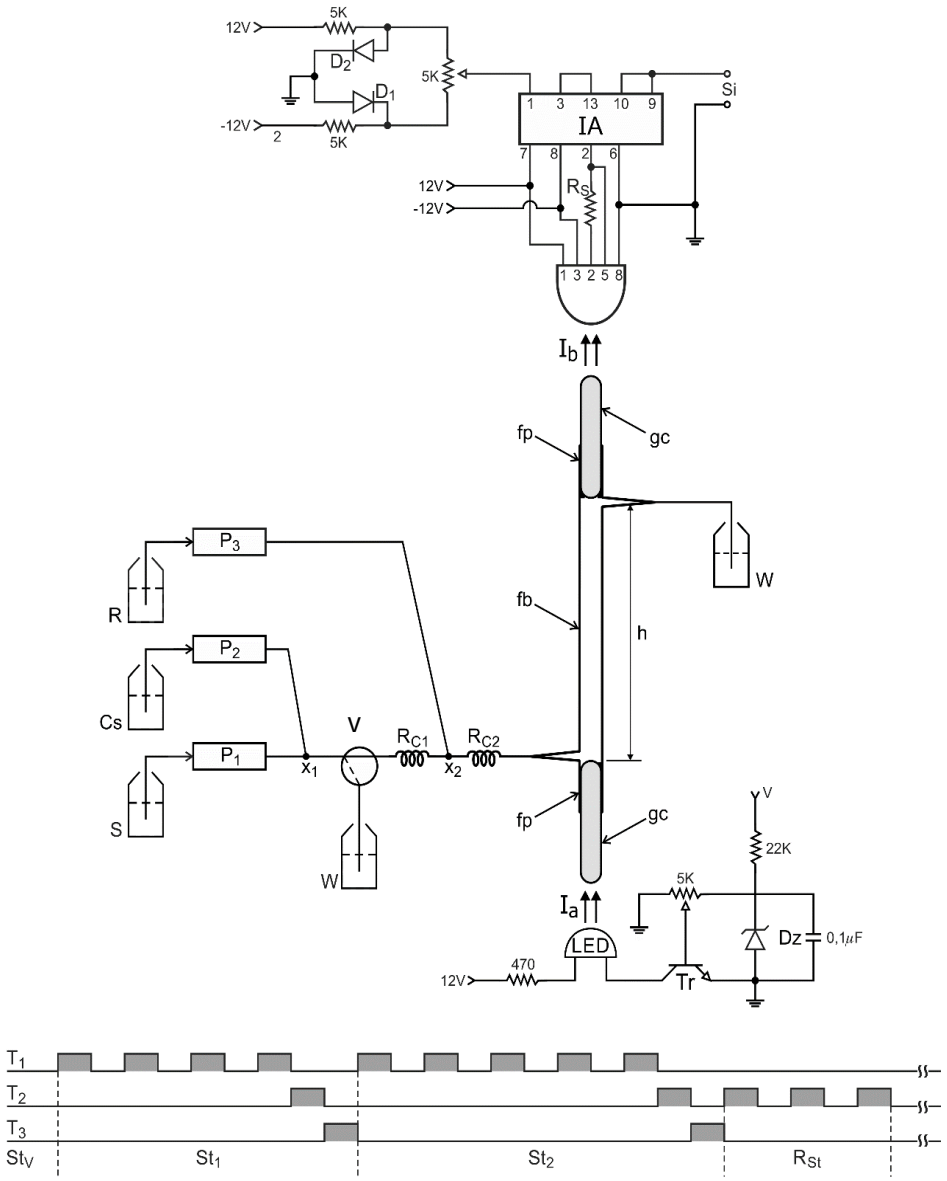


Figura 10 – Diagrama do fotômetro (ampliado) e do sistema de análises em fluxo. LED = diodo emissor de luz, $\lambda_{máx}$ = 560 nm; I_a e I_b = feixe de radiação emitido pelo LED e feixe transmitido, respectivamente; Tr = transistor BC547; Dz = diodo Zener, 3,2 V; fb = corpo da cela de fluxo; fp = ponto de fusão; gc = guia de onda; h = comprimento da cela de fluxo; IA = sistema de amplificação; Si = sinal de saída em mV; D_1 e D_2 = diodos retificadores 4007; Rs = resistor. S = amostra, Cs = fluido transportador, solução ácido ascórbico 0,5% (m/v); R = ECR; P_1, P_2 e P_3 = bombas solenoide; v = válvula solenoide de 3 vias; Rc_1 e Rc_2 = bobinas de reação, 20 cm e 40 cm, respectivamente; x_1 e x_2 = confluências; W = resíduos. Linhas de fluxo e bobinas de reação em tubo de polietileno, de diâmetro interno 0,8 mm; T_1, T_2 e T_3 = curso de temporização para ativar/desativar as bombas solenoide P_1, P_2 e P_3, respectivamente; Superfícies sombreadas abaixo das linhas de sincronismo indicam que o dispositivo correspondente está acionado.

Para valores de Fs diferentes do valor estabelecido como referência (Sr = 4000 mV), um ajuste era realizado através de um resistor variável acoplado à base do transistor, a fim de igualar o valor de Fs à Sr. O sinal residual (Rs), relacionado à radiação difusa, foi obtido preenchendo-se a cela de fluxo com soluções obtidas, misturando-se 5,0 mL de soluções contendo 50 e 75 mg L^{-1} de V(IV) com volumes iguais da solução ECR 0,05% (m/v), resultando em soluções de coloração intensa, devido ao excesso de produto formado. Leituras foram realizadas preenchendo-se a cela de fluxo com as duas soluções e, se os sinais obtidos fossem iguais, seria admitido que a radiação incidente na cela de fluxo era completamente absorvida pelas soluções com excesso do produto. Os valores de Fs e Rs eram armazenados como referência e eram utilizados para o cálculo de absorbância, como discutido detalhadamente na seção 2.3.1.

Após a etapa de calibração, o procedimento para as determinações analíticas era iniciado com a etapa St_1, onde a bomba solenoide P_1 era ligada/desligada (pulso) 5 vezes, seguido de um pulso de P_2 e, em sequência, um pulso de P_3. Esta sequência de eventos, como repetidas na etapa St_2 (Figura 10), foi nomeada de ciclo de amostragem. A reação para converter V(V) à V(IV), usando solução de ácido ascórbico como fluxo transportador, procedeu-se enquanto a zona de amostra era deslocada através dos reatores Rc_1 e Rc_2. O sinal gerado (Si), relacionado com a concentração de vanádio na amostra, foi convertido de analógico à digital e enviado ao microcomputador.

Tabela 4 – Sequência de acionamento dos dispositivos

Etapa	**nº de pulsos**				**nº de ciclos**
	P_1	**P_2**	**P_3**	**V***	
Preenchimento dos canais	1	1	1	0	20
Calibração	0	1	0	0	30
Amostragem	5	1	1	0	15
Leitura	0	1	0	0	60
Lavagem	0	1	0	0	100
Troca de padrão/amostra	1	0	0	1	20

*1 = acionada e 0 = desligada

Ao usar uma abordagem de análises em fluxo, explorando a multicomutação em fluxo, as principais variáveis que poderiam afetar o desempenho geral incluíam comprimentos de reatores, volume de zona de amostra, intervalo de tempo para o desenvolvimento de reação, concentração de reagentes e acidez do meio. Assim, estudos envolvendo essas e outras variáveis foram realizados a fim de selecionar as melhores condições de trabalho. Após esta seleção de condições, um conjunto de amostras de águas de rio e de águas minerais foi processado com o objetivo de avaliar a exequibilidade do módulo de análises e do procedimento analítico proposto, incluindo também a precisão e a exatidão dos resultados.

2.3 Resultados e discussão

2.3.1 Cálculo de absorbância

O princípio básico da detecção fotométrica, baseado na lei de Bouguer-Lambert-Beer, permite relacionar a radiação eletromagnética absorvida à concentração do analito em uma amostra.[40] Para os fotômetros de LED, a absorbância tem sido calculada considerando o sinal gerado com a amostra, a leitura de referência e a leitura obtida com o LED apagado. Em trabalho recente, foi demonstrado que o uso do sinal gerado pela radiação difusa em substituição à leitura obtida no escuro, permite melhor aderência a lei Bouguer-Lambert-Beer. Esta estratégia de cálculo foi adotada neste trabalho, e é expressa na equação mostrada a seguir.

$$Abs = \log [(Fs - Rs) / (Si - Rs)] = kcx$$

Onde:

Fs = sinal de referência;

Rs = sinal residual;

Si = sinal relacionado com a concentração do analito;

k = constante;

c = concentração do analito;

x = comprimento do caminho óptico da cela de fluxo.

Os valores Fs e Rs eram obtidos na etapa de calibração do fotômetro no início da operação, enquanto que Si correspondia às leituras dos sinais em tempo real. O sinal (Si) gerado pelo fotodetector era convertido para um sinal digital e expresso em mV, o qual era utilizado para o cálculo de absorbância, segundo a equação acima.

Durante a realização da etapa de calibração, o valor de Fs era ajustado para 4000 mV e os sinais residuais (Rs), obtidos com o emprego das celas de fluxo com caminho óptico de 50, 100, e 150 mm, foram de 64,4, 85,6, e 95,3 mV, respectivamente. Como mencionado anteriormente, esta leitura era realizada usando duas soluções com concentrações diferentes do analito. Os sinais Rs obtidos com as diferentes celas de fluxo apresentaram valores praticamente iguais, indicando que a radiação transmitida por dentro da cela de fluxo era completamente absorvida. Neste sentido, os sinais gerados podem ser considerados como medidas residuais.

Durante o desenvolvimento do trabalho foi observado que o fotômetro matinha a calibração sem variação significativa por um período de 4 à 5 horas de trabalho. Também foi verificado que o valor do sinal residual (Rs) não variava, quando a leitura de fundo de escala (Fs) era mantida em 4000 mV. Acredita-se que a origem do sinal residual era a radiação difusa que chegava ao detector, transmitida através das paredes da cela de fluxo, sem passar pela solução. Assim, mantendo-se a intensidade de emissão do LED constante, a mesma se tornava invariante. Dessa forma, uma vez determinado este valor, não era necessário repetir esta etapa para cada calibração do fotômetro.

2.3.2. Avaliação da estequiometria da reação

A reação envolvida na proposta baseia-se na formação de um complexo formado entre o vanádio, no seu estado tetravalente, e o reagente cromogênico eriocromo cianina R. Como pode ser observado em sua estrutura, ilustrada na Figura 11, este reagente apresenta grupos carboxilatos, hidroxilas e sulfonados.

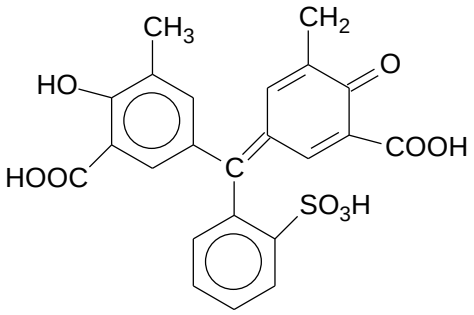


Figura 11 – Estrutura molecular do reagente eriocromo cianina R.

O vanádio não forma complexos com este reagente em seu estado pentavalente e, desta forma, a estequiometria da reação de formação do complexo V(IV)-ECR foi avaliada pelo método das variações contínuas. Para isto, soluções equimolares (0,1 mol L^{-1}) de V(IV) e de ECR foram preparadas. A solução de V(IV) foi dividida em alíquotas contendo de 1 a 9 mL e estas foram completadas com ECR, para um volume final de 10 mL para todas as soluções (para que todas apresentassem o mesmo número total de mols), ou seja, as alíquotas de ECR também foram variadas de 1 a 9 mL. Na Figura 12 são apresentados os espectros correspondentes a cada razão entre o V(IV) e o ECR, assim como o gráfico com a variação em termos de proporção de ECR em função da absorbância correspondente ao complexo.

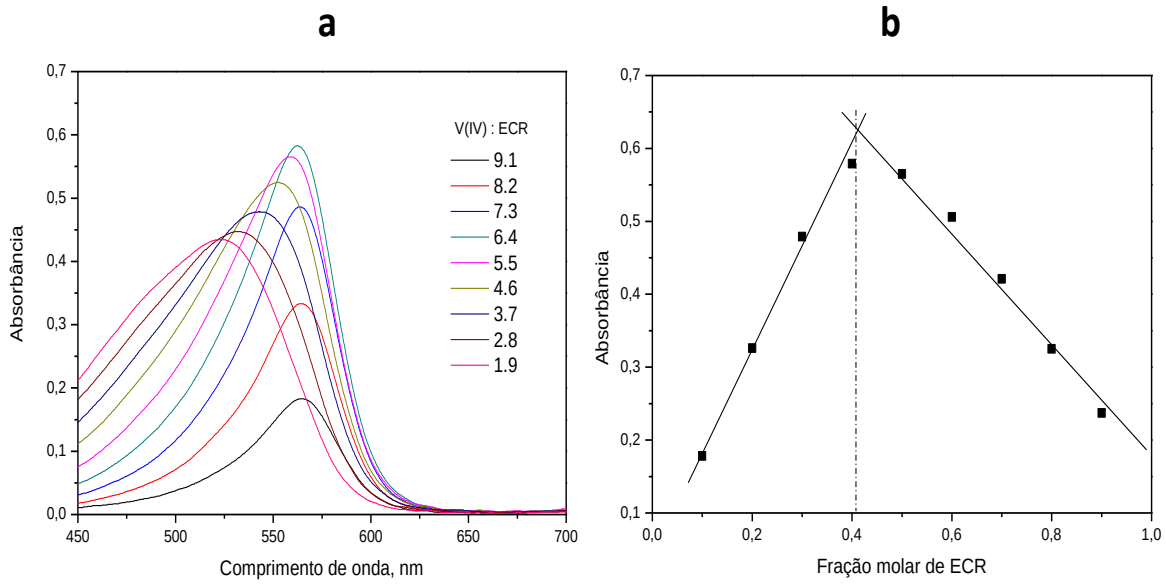


Figura 12 – Método das variações contínuas. a - Espectros de absorção do complexo V(IV)-ECR; b – Gráfico de *Job* para a determinação da estequiometria para a reação de formação do complexo.

Observando-se os espectros de absorção (Figura 12a), nota-se que há um deslocamento hipsocrômico das bandas, à medida que nas frações o excesso de reagente aumenta, isso ocorre devido ao reagente apresentar o máximo de absorção abaixo de 500 nm.

A Figura 12b corresponde ao gráfico apenas com as absorbâncias no comprimento de onda de máxima absorção do complexo (λ = 560 nm). Neste comprimento relacionou-se as absorbâncias obtidas em cada razão com a fração molar de ECR. Com este estudo foi possível observar em qual razão havia maior quantidade de produto formado. Observa-se que o ponto máximo está em X_{ECR} = 0,4, o que corresponde a uma razão de 3:2 (V(IV):ECR).

2.3.3 Espectros de emissão do LED e de absorção do complexo V(IV)-ECR

As características do LED foram avaliadas a fim de compatibilizá-lo aos requisitos do fotômetro e do melhor monitoramento do complexo formado. Dessa forma o ângulo de emissão do LED empregado foi estimado segundo a equação abaixo.

$$\alpha = 360°.\ell / 2.\pi.r$$

Onde: α = ângulo de emissão do LED (°);
ℓ = comprimento do arco (cm);
r = distância focal (cm);

Considerando os valores obtidos de r = 50 cm e ℓ = 20 cm, o ângulo do feixe de emissão do LED foi estimado em 23°. Um LED com feixe de emissão com elevado ângulo de abertura diminuiria a intensidade luminosa por unidade de área, o que limitaria o emprego de cela de fluxo com longo caminho óptico.

Em seguida, 3 espectros foram obtidos, onde dois espectros foram relativos ao ECR e ao complexo formado e o terceiro espectro era relativo à banda de emissão proveniente do LED. Os experimentos foram realizados com o emprego de um espectrofotômetro multi-canal UV-Vis (modelo USB 4000) de fabricação Ocean Optics. Para tanto, utilizou-se um LED verde e soluções com concentrações de 0,1 mol L^{-1} e 0,5 mg L^{-1} de ECR e V(IV), respectivamente.

Sobrepondo os espectros, observa-se na Figura 13, que a banda de absorção do complexo V(IV)-ECR, a qual apresenta o máximo de absorção em 560 nm, concorda com a banda de emissão do LED empregado. Nota-se, ainda, que o espectro correspondente ao reagente ECR absorve na banda de absorção do complexo, o que pode ocasionar brancos relativamente altos, em concentrações altas deste.

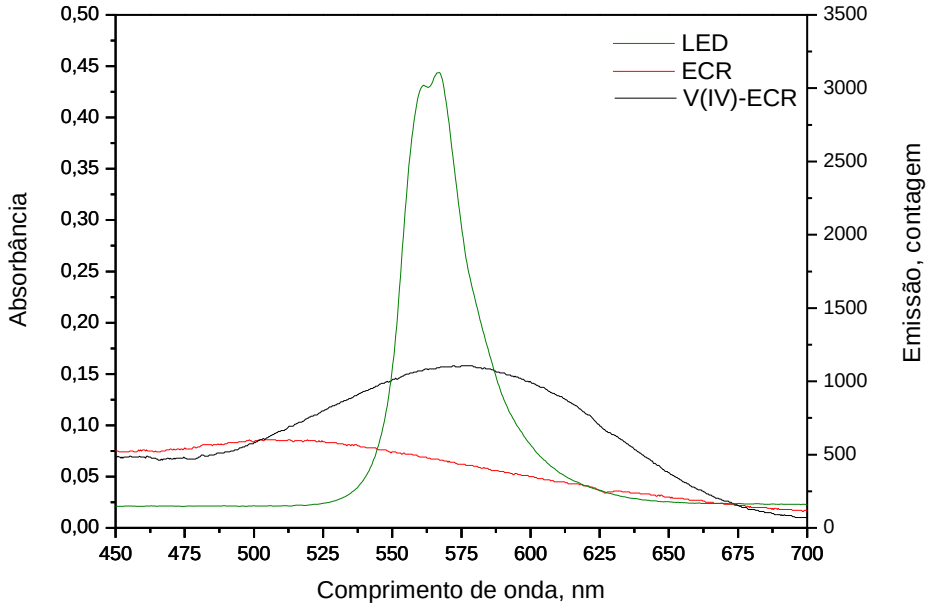


Figura 13 – Espectros de absorção referente ao ECR, ao complexo V(IV)-ECR e de emissão do LED da unidade de detecção.

2.3.4 Número de pulsos de amostra por pulso de solução redutora

O ácido ascórbico foi o reagente utilizado como agente redutor para a conversão do V(V) à V(IV) e o mesmo foi adicionado diretamente à solução tampão (transportadora). Assim, a relação entre os volumes de amostra e de solução transportadora / redutora foi avaliada através do número crescente de pulsos de amostra por pulso de transportador/redutor. Para tanto, empregou-se uma cela de fluxo de 50 mm de caminho óptico e soluções de 0,25; 1,0 e 3,0 mg L^{-1} de V(V), tampão pH=5,0 e ECR 0,007% (m/v). Os resultados obtidos a partir das curvas analíticas são apresentados na Tabela 5.

A condição de 5 pulsos foi selecionada para os estudos posteriores, pois observou-se uma queda do coeficiente de correlação, acima deste valor. Este

comportamento sugere duas possibilidades: a primeira seria uma conversão incompleta do V(V) à V(IV) e a segunda seria em relação à variação do pH em função do volume excessivo de amostra, já que tanto as soluções padrão quanto às amostras estavam em meio ácido. Dessa forma, 5 pulsos de amostra por pulso de redutor/tampão foram selecionados, por não comprometer a redução do V(V) e o tamponamento do meio.

Tabela 5 – Número de pulsos de amostra por pulso de solução redutora/transportadora

nº de pulsos	**Coef. angular ($L\ mg^{-1}$)**	**Coef. linear**	**Coef. de correlação (r)**
4	0,0666	0,1682	0,9821
5	0,0630	0,1812	0,9984
6	0,0961	0,2001	0,9911
7	0,1202	0,2073	0,9893
8	0,1117	0,1914	0,9699

2.3.5 Número de ciclos de amostragem

A seleção adequada tanto do volume da zona da amostra, quanto da proporção volumétrica das alíquotas de amostra e de reagente é mandatória para a obtenção de uma maior sensibilidade em procedimento analítico implementado em sistema de análises em fluxo.

Desta forma, o volume interno das celas era um fator muito importante, e foi calculado segundo a equação abaixo:

$$v = \pi\ d^2\ x / 4$$

onde:

v = volume interno (µL);

d = diâmetro interno da cela (mm);

x = comprimento do caminho óptico (mm).

Considerando-se que o diâmetro interno das celas era 1,2 mm, as celas de 50, 100 e 150 mm tinham volumes internos de 56,5; 113,0 e 169,6 µL, respectivamente.

Conforme esplanado anteriormente a alíquota da amostra podia ser cinco vezes maior que o volume da solução do reagente. Assim, a zona de amostra formada no reator R_{Cx} tinha um volume de amostra 5 vezes maior que o volume de ácido ascórbico ou ECR. O estudo do número de ciclos de amostragem foi realizado variando-o de 3 a 18, correspondente a um volume da zona da amostra de 210 a 1260 µL. Este estudo foi realizado com o emprego das três celas de fluxo, uma solução com concentração de 0,35 mg L^{-1} V(V) e uma solução 0,007% (m/v) ECR, e os resultados obtidos são mostrados na Figura 14.

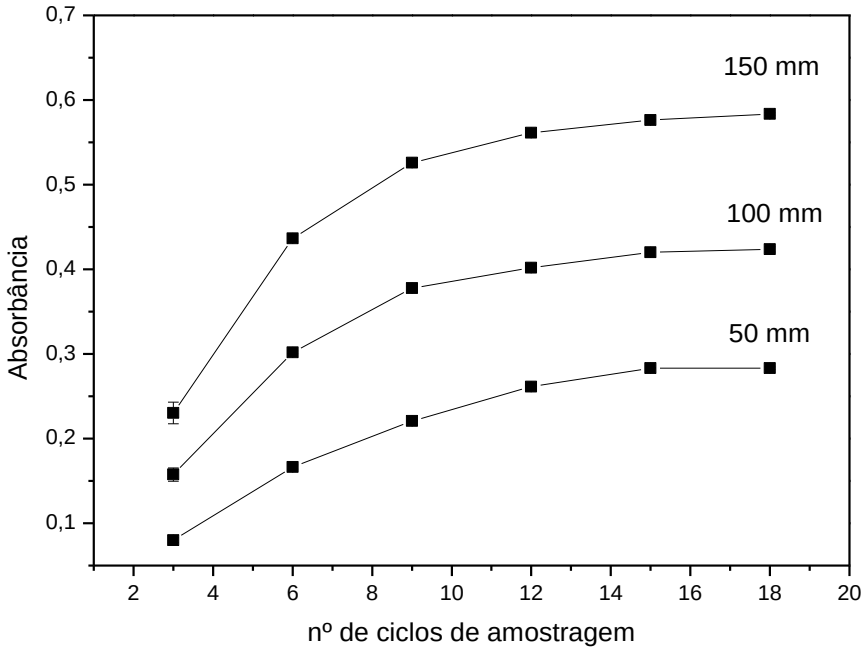


Figura 14 – Efeito do volume da zona da amostra para as celas de fluxo de diferentes comprimentos de caminho óptico.

Analisando as curvas obtidas, observa-se que a partir de 15 ciclos de amostragem, o aumento do sinal analítico não foi significativo para as 3 celas, indicando que o volume da zona de amostragem (1050 µL) era suficiente para levar o sinal a uma condição estacionária. Estes resultados mostram que, enquanto o volume da zona aumentou cinco vezes, o ganho em termos de sinal foi da ordem de quatro vezes. Comparando-se os resultados decorrentes do percurso óptico de 50 e 150 mm, podemos observar um sinal cerca de três vezes maior. Estes resultados

mostram que, o aumento do comprimento do caminho óptico do fotômetro de LED proposto obedece a lei de Bouguer-Lambert-Beer.[40]

Sabe-se que, o comprimento da bobina de reação pode desempenhar um importante papel, incluindo o tempo para o desenvolvimento da reação, que pode ser melhorado com o aumento do comprimento da bobina de reação. No entanto, este recurso faz com que o aumento da dispersão da amostra comprometa a sensibilidade. Analisando o conjunto de curvas mostrado na Figura 14, observa-se que cada uma apresenta um comportamento assimptótico para ciclos de amostragem acima de 15 ciclos, o que indica que o efeito de dispersão da amostra foi superado pelo aumento do volume da zona da amostra. No presente trabalho, estudos prévios com parada de fluxo de 15 s, mostrou que nenhum aumento significativo no sinal ocorreu, indicando, assim, que o comprimento da bobina de reação (40 cm) foi o suficiente para permitir o desenvolvimento da reação.

2.3.6 Concentração dos reagentes

Com o objetivo de encontrar a concentração de reagente cromogênico adequada, foram realizados experimentos variando a concentração desta solução. Os estudos foram realizados usando um conjunto de soluções de V(V) com soluções padrão de concentração de 0,04 à 2,00 mg L^{-1}. Os resultados obtidos são apresentados na Tabela 6.

Tabela 6 – Efeito da concentração de ECR

Concentração (%, m/v)	**Faixa linear (mg L^{-1})**	**Coef. linear**	**Coef. angular (L mg^{-1})**	**Linearidade (r)**
0,0017	0,04 – 1,50	0,0964	0,1040	0,9975
0,0035	0,04 – 1,50	0,1294	0,2321	0,9997
0,0070	0,04 – 1,50	0,2248	0,3040	0,9997
0,0140	0,04 – 1,50	0,4217	0,3087	0,9990

Resultados incluindo as soluções padrão com concentrações superiores a 1,50 mg L^{-1} apresentaram um decréscimo em linearidade, portanto não foram considerados. Observa-se que há um aumento significativo em sensibilidade até a concentração de 0,007% (m/v), que também foi seguido por um aumento no valor de

coeficiente linear, efeito esperado, considerando-se que a solução de reagente também absorve em 560 nm. Analisando os dados referentes as concentrações de 0,0035 e 0,007%, pode-se observar que, enquanto o coeficiente linear aumentou 74%, a inclinação aumentou apenas 31%. Entretanto, considerando que a obtenção de uma melhor sensibilidade era uma meta a ser atingida pelo sistema proposto, e também que valores mais altos do coeficiente linear não prejudicaram a faixa de resposta linear, a concentração de 0,007% ECR foi selecionada.

Outros estudos envolvendo a concentração do ácido ascórbico, foram realizados utilizando soluções com concentrações de 0,25, 0,50 e 1,0% (m/v) de ácido ascórbico e uma solução de 1,50 mg L^{-1} de V(V). Os resultados indicaram que valores abaixo da concentração de 0,5% não apresentavam uma conversão eficiente, principalmente para as concentrações mais elevadas. E, como para valores acima de 0,5% não houve diferença significativa entre os sinais obtidos, esta concentração foi selecionada.

2.3.7 Concentração hidrogeniônica

Os resultados discutidos anteriormente foram obtidos utilizando uma solução tampão pH = 5,0. Com o objetivo de encontrar a acidez adequada para o meio reacional, uma série de ensaios foram realizados utilizando soluções tampão de ácido acético com concentrações hidrogeniônicas diferentes (pH entre 4,3 e 6,1) e padrão de V(IV) 0,35 mg L^{-1}, conforme os resultados apresentados na Figura 15.

Analisando o gráfico, observa-se que o aumento do pH do meio reacional promove um aumento gradativo do sinal obtido, o que sugere um pH mais adequado à formação do complexo. Em seguida, é observada uma tendência a um decréscimo para valores de pH mais elevados. Portanto, para os estudos posteriores, o pH = 5,3 foi selecionado.

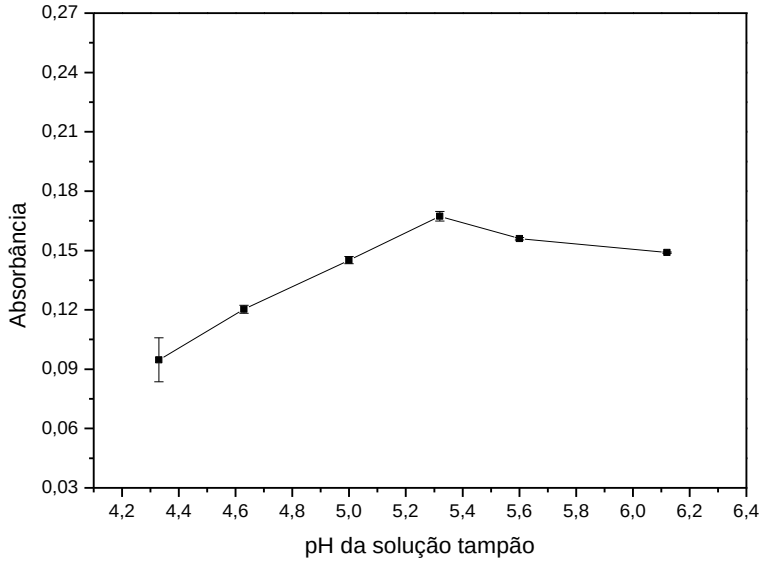


Figura 15 – Efeito do pH sobre a formação do complexo.

2.3.8 Figuras de mérito

O emprego das celas de fluxo com os caminhos ópticos de 50, 100, e 150 mm propiciou a obtenção das características analíticas mostradas na Tabela 7.

Tabela 7 – Figuras de mérito obtidas em função do comprimento do caminho óptico

Característica analítica	**Comprimento do caminho óptico e volume interno da cela**		
	50 mm (56,5 µL)	100 mm (113 µL)	150 mm (170 µL)
Faixa linear (n = 3, mg L^{-1})	0,04 – 1,50	0,04 –1,50	0,02 – 1,00
Linearidade (r)	0,9980	0,9991	0,9980
Limite de detecção (µg L^{-1})	20	16	13
Coef. variação (n = 10, %)	0,69	1,58	0,87
Frequência analítica (h^{-1})	47	47	47
Eriocromo Cianina R (µg)*	11,6	11,6	11,6
Ácido ascórbico (mg)*	8,6	8,6	8,6
Volume de amostra (µL)*	600	600	600
Volume de efluente (mL)*	2,4	2,4	2,4

*Consumo por determinação

Depois do dimensionamento do sistema, um conjunto de soluções padrão foi analisado com o emprego da cela de fluxo com caminho óptico de 150 mm, obtendo-se boas figuras de mérito (Tabela 7), além da robustez do sistema que foi observada mesmo para períodos de até *ca*. 8 horas. Os registros das medidas fotométricas e a curva de calibração, obtidas com o sistema baseado nos valores selecionados do dimensionamento deste, são mostrados na Figura 16.

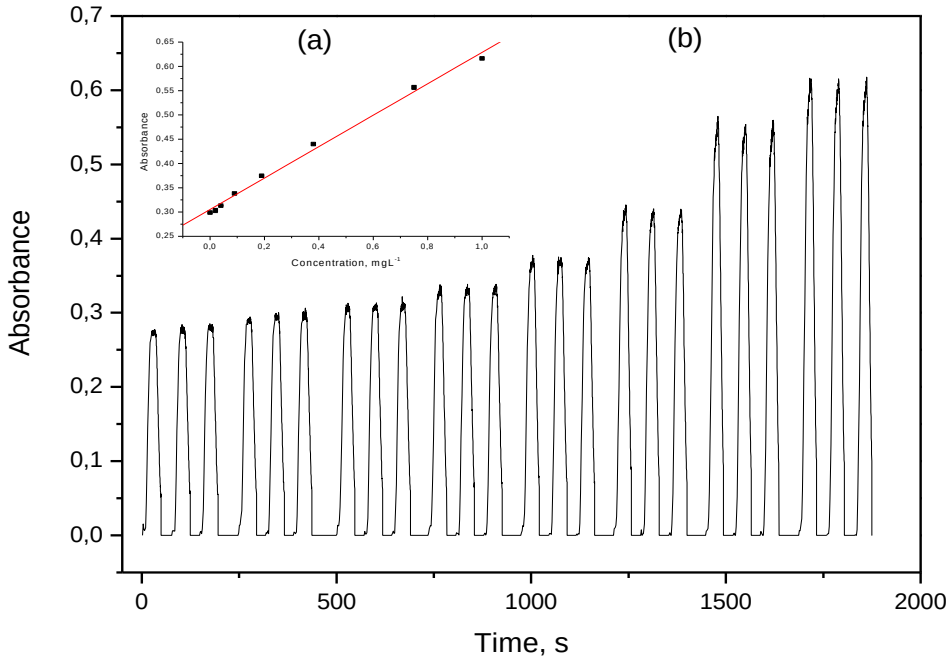


Figura 16 – Registro do processamento das soluções padrão. (a) - curva analítica com soluções padrão 0,00, 0,02, 0,04, 0,09, 0,19, 0,38, 0,75 e 1,00 mg L^{-1} de V(V); (b) - sinais transiente relativos às concentrações citadas.

Para a avaliação do limite de detecção, a solução do branco foi processada 10 vezes, e o valor 13 µg L^{-1} foi estimado utilizando o critério 3σ.[82] Analisando os registros da Figura 16, estimou-se a frequência analítica em 47 determinações por hora. E, além disso, destaque à precisão das medidas, que proporcionou um coeficiente de variação de 0,87%, para 10 leituras consecutivas de uma amostra de água de rio.

2.3.9 Comparação de desempenho

Comparando-se o desempenho do procedimento proposto com aqueles apresentados por alguns procedimentos espectrofotométricos existentes para determinação de vanádio, resumidos na Tabela 8, pode-se observar que o trabalho proposto apresenta vantagens significativas em relação ao baixo volume de resíduo gerado e alta frequência de amostragem. Embora o limite de detecção seja mais elevado do que aqueles apresentados nos trabalhos referidos[81,83] o mesmo é sete vezes menor que o valor máximo recomendado (0,1 mg L^{-1}) pela agência reguladora brasileira para águas doces,[62] além de ser também menor que o nível de notificação (15 mg L^{-1}) recomendado pelo Escritório de Avaliação Ambiental de Riscos a Saúde (OEHHA) para água mineral.[84]

Tabela 8 – Comparação de métodos espectrofotométricos para determinação de vanádio.

Procedimento	**Estratégia**	**Faixa linear (mg L^{-1})**	**Limite de detecção (µg L^{-1})**	**Frequência analítica (h^{-1})**	**Efluente (mL)**	**Ref.**
Análise em Fluxo	Longo caminho óptico	0,02 - 1,50	13,0	47	2,4	*
Análise em Fluxo	-	50 - 1500	-	30	6,8	63
Análise em Fluxo	Pré-concentração	0,00 - 3,00	4,7	-	-	83
Análise em Fluxo	Espectrofotometria em fase sólida	0,05 - 1,20	15,0	10	28	76
Análise em Fluxo	Extração em fase sólida	0,01 - 0,45	3,2	-	100	81
Batelada	-	0,10 - 2,80	12,0	-	10	77
Batelada	Síntese de reagente	0,50 - 5,30	16,8	-	10	85

*Trabalho proposto

2.3.10 Estudo dos potenciais interferentes

Com o intuito de avaliar a possível interferência de alguns íons para o método, presentes em águas doces, como Al^{3+}, Ni^{2+}, Pb^{2+}, Co^{2+}, Mn^{2+}, Zn^{2+}, Fe^{3+}, NO_3^-, SO_4^{2-}, Cl^- e F^-, alguns estudos foram conduzidos. Para tanto, foram preparados

conjuntos de soluções com 1,0 mg L^{-1} de V(V) somada a diferentes concentrações do interferente a ser analisado (0,5; 1,0; e 2,0 mg L^{-1} de cada íon), além de uma solução 1,0 mg L^{-1} V(V) sem a adição do suposto interferente, para a obtenção de um sinal de referência. O critério de ± 5% de variação em absorbância foi adotado para consideração de uma espécie química como um interferente. Os resultados oriundos deste estudo estão sumarizados na Tabela 9.

Tabela 9 - Efeito dos potenciais interferentes. Concentração de V(V): 1,0 mg L^{-1}.

Espécie química	**Concentração adicionada (mg L^{-1})**	**Variação (%)**
SO_4^{2-}	2,0	<5
Ni^{2+}	2,0	<5
Pb^{2+}	2,0	<5
Co^{2+}	2,0	<5
Mn^{2+}	2,0	<5
Zn^{2+}	2,0	<5
F^-	2,0	<5

Outros íons, como Al^{+3}, Fe^{+3}, NO_3^- e Cl^-, comumente encontrados em concentrações mais elevadas foram avaliados considerando uma maior proporção entre o interferente e o V(V), como pode ser observado na Tabela 10. Apenas a adição dos íons Al^{3+} ou Fe^{3+} (a partir de 1,0 mg L^{-1}) resultou em uma variação significativa, sendo então considerados como interferentes.

A interferência observada foi devido a formação de complexos entre estes íons e o reagente cromogênico ECR, os quais absorvem na mesma região UV-Vis.[86] Este efeito foi mascarado pela adição de fluoreto de sódio às soluções analisadas. O fluoreto (F^-) forma complexos estáveis com vários íons, incluindo os cátions Fe^{3+} e Al^{3+}, fato que pode ser explicado pelas elevadas constantes de estabilidade: 1,15 x 10^{12} e 1,00 x 10^{15}, respectivamente.[87] O mascaramento com fluoreto foi efetivo, mesmo nas concentrações mais elevadas dos interferentes, dessa forma a interferência foi suprimida para ambas as espécies.

Tabela 10 - Interferência observada em função da proporção das espécies com o analito

Espécie química	Proporção interferente/analito*
Al^{3+}	20**
Fe^{3+}	50**
NO_3^-	150
Cl^-	500

*1,0 mg L^{-1} V(V); **100 mg L^{-1} F^-.

O mascaramento com fluoreto foi efetivo até as proporções indicadas na Tabela 10, entretanto, não foram observados efeitos de matriz indicando que as proporções destas espécies nas amostras estavam abaixo daquelas indicadas pelo estudo.

2.3.11 Determinação de vanádio em amostras de água

O procedimento proposto foi aplicado à análise de amostras de água de rio e águas minerais (Tabela 11).

Tabela 11 – Teste de adição e recuperação das amostras

Amostra	V(V) adicionado, mg L^{-1}	V(V) encontrado, mg L^{-1}	Recuperação, %
Água de rio			
1	0,50	0,46 ± 0,02	92,36
2	0,50	0,48 ± 0,02	94,94
3	0,50	0,47 ± 0,01	93,96
4	0,50	0,44 ± 0,02	87,18
5	0,50	0,49 ± 0,02	98,62
Água mineral			
6	0,38	0,34 ± 0,01	88,86
7	0,38	0,35 ± 0,02	91,79
8	0,38	0,40 ± 0,01	104,52
9	0,38	0,38 ± 0,03	100,52
10	0,38	0,42 ± 0,01	109,45

As concentrações encontradas com o método proposto mostraram-se abaixo do limite de detecção (13 µg L^{-1}). O mesmo ocorreu com o método de referência utilizado, espectrometria de absorção atômica com forno de grafite, cujo limite de detecção é de 3 µg L^{-1} de vanádio. Por esta razão, aplicou-se o método de adição e recuperação para comprovação da exatidão analítica, no qual alíquotas de diferentes concentrações de V(V) foram adicionadas às amostras.

Os resultados obtidos para os dois conjuntos de amostras testados (água de rio e água mineral) apresentaram uma faixa de recuperação entre 89 e 109%, sendo então, considerados satisfatórios.

2.4 Tratamento de resíduos

O volume de resíduos gerados no desenvolvimento deste procedimento, da ordem de mililitros por dia, foi pequeno em função dos sistemas de análises em fluxo empregados. Estes resíduos contendo vanádio foram devidamente acondicionados em frascos de descarte e encaminhados ao laboratório de tratamento de resíduos do Centro de Energia Nuclear na Agricultura, onde o mesmo é recuperado na forma de metavanadato de amônio[†], o qual apresenta baixa solubilidade em água. Para tanto, o resíduo foi, inicialmente, convertido a V_2O_5, no qual adicionou-se NaOH para formação de um sólido. Em seguida, seguiu-se à neutralização com NH_4OH até pH = 7.

[†] BORGES, B.G.A.L.; SILVA, C.N.; GUEDES, L.K.S.; AFONSO, J.C. Recuperação de chumbo, mercúrio e elementos dos grupos 4 a 7 da tabela periódica de seus resíduos. **Química Nova**, São Paulo, v. 34, n. 4, p. 720-729, 2011.

3. DETERMINAÇÃO DE ESTANHO EM ALIMENTOS

3.1 Características do estanho e sua determinação por espectrofotometria

O estanho pode existir nos estados de oxidação II e IV,[88] no qual o estado II é mais instável, pois pode converter-se facilmente à Sn(IV), e mais tóxico[89,90]. Algumas reações decorrentes do emprego de estanho com alguns ácidos são descritas na literatura, tal como a reação com ácido nítrico concentrado, que leva à formação de um óxido de estanho hidratado, chamado de ácido metaestânico:

$$Sn_{(s)} + 4HNO_{3(conc.)} \rightarrow 4NO_{2(g)} + H_2SnO_{3(s)} + H_2O.$$ [91]

Na natureza, o estanho ocorre principalmente na forma de cassiterita (SnO_2), o qual é um composto insolúvel em água e de baixa toxicidade.[92] Na sociedade, este elemento tem sido extensivamente empregado em diversas aplicações, tais como em pigmentos (por exemplo, o estanato de cobalto II - $CoSnO_3$), em recobrimento de vidro, em fluoretação dentária (na forma de SnF_2), em dispositivos eletrônicos (devido sua resistência à corrosão) e em estabilizantes (por exemplo, do PVC). [90,93,94] Além destas aplicações na indústria, uma importante fonte de liberação de estanho são as queimas de combustíveis fósseis.[95]

Os compostos de estanho de natureza orgânica, por sua vez, podem ocorrer através da metilação do estanho inorgânico por microrganismos, convertendo estes compostos não tóxicos a compostos orgânicos tóxicos.[93,96]

Entre as principais aplicações do estanho, destacam-se ainda, os fungicidas e os bactericidas.[90] Estes tipos de compostos têm provocado problemas ambientais, por exemplo, o seu emprego na formulação de tintas anti-incrustantes, na forma de películas para proteção de cascos de navios, a fim de evitar a fixação de colônias de moluscos. Os produtos derivados do tributilestanho são amplamente voltados para esta função, os quais são extremamente tóxicos.[90]

Embora o estanho inorgânico seja pouco absorvido pelo trato gastrointestinal, ele pode ser acumulado nos tecidos, e o tempo de meia-vida no organismo é considerado longo (29 dias).[97] Dessa forma, a espécie pode provocar problemas agudos no trato digestivo. De acordo com a organização mundial de saúde, a concentração de estanho tolerável por semana é de 14 mg kg^{-1} ou 120 mg por dia, para um indivíduo adulto com 60 kg.[66] Um longo tempo de exposição ao Sn suspenso, como material particulado, pode provocar o acúmulo deste elemento nos pulmões, uma vez que este é pobremente absorvido pelo organismo. Por ingestão, os compostos com a espécie na forma divalente apresentam maior absorção se

comparado àqueles tetravalentes, e a maior concentração de estanho no organismo humano é encontrada nos ossos.[93]

O estanho não é considerado um elemento essencial aos organismos; em contrapartida, vários são os efeitos provocados pela contaminação com a espécie, tais como distúrbios gastrointestinais, dores abdominais, diarréia, náusea, vômito, anemia, problemas no fígado, insuficiência renal, dentre outros.[98] No caso dos compostos orgânicos, devido à toxicidade destes, os efeitos são mais pronunciados, por exemplo, encefalopatia, desordem do sistema nervoso central e edemas cerebrais, os quais podem ser provocados devido ao trietilestanho.[93]

Acredita-se que a baixa toxicidade do estanho inorgânico tenha colaborado para a ampla utilização do mesmo em folhas de flandres (material laminado estanhado), como agente anticorrosivo. Neste sentido, atenção especial tem sido dada a aplicação do estanho no revestimento interno das latas para armazenamento de bebidas e de alimentos, sendo este considerado uma das principais fontes de contaminação ao ser humano.[99] Dependendo da composição e das características dos alimentos enlatados, por exemplo, a acidez, a presença de agentes oxidantes (antocianinas, ferro, etc.), a presença de oxigênio na embalagem, o tempo e as condições de armazenamento, pode ocorrer a lixiviação do estanho para o alimento.[100,101]

A lixiviação do estanho metálico, presente nas latas para armazenamento de alimentos, resulta em sua forma divalente,[99] a qual é a forma mais agressiva. Assim, a Agência Nacional de Vigilância Sanitária proíbe o uso de estanho nas soldas das embalagens, exceto para produtos desidratados,[102] e a comissão reguladora da comunidade européia estabeleceu o máximo de estanho inorgânico de 100 mg kg^{-1} para bebidas enlatadas, e de 200 mg kg^{-1} para alimentos enlatados.[103]

Na literatura são reportadas diferentes aplicações visando à determinação de estanho. Dentre as técnicas empregadas para tal, destacam-se a espectrometria de emissão óptica com plasma acoplado indutivamente com geração de hidretos,[104] a espectrometria de absorção atômica com forno de grafite,[105] a voltametria,[106] a espectrofotometria [107] e espectrometria de massas com plasma acoplado indutivamente. [108] Alguns dos trabalhos que versam sobre a detecção espectrofotométrica foram considerados aqui e as estratégias envolvidas nestas propostas são descritas a seguir.

A determinação de estanho com o emprego de um sistema de análises em fluxo, com espectrofotometria em fase sólida, em amostras de suco de frutas foi proposta. A reação ocorria entre o estanho, em seu estado tetravalente, e o reagente violeta de pirocatecol (PCV) em pH = 4,3, formando um complexo com máximo de absorção em 576 nm, o qual era concentrado em fase sólida (Sephadex QAE A-25). O sistema era composto de uma cela de fluxo com caminho óptico de 1,5 mm, bomba peristáltica e válvulas seletora rotatórias. Nenhum tratamento prévio foi dado à fase sólida, e a etapa de eluição do complexo foi realizada com ácido clorídrico 5% v/v. Como esperado, a redução da vazão utilizada para o transportador aumentou o tempo de residência e, portanto, a magnitude do sinal analítico, cujo comportamento crescente evidenciou que a reação não ocorria de forma instantânea. O limite de detecção foi estimado em 0,3 ng mL^{-1} e a faixa linear de 2 a 40 ng mL^{-1} foi verificada. A frequência analítica foi estimada em 7,2 determinações por hora.[109]

Uma estratégia para o aumento da estabilidade do complexo Sn(IV)-PCV foi empregada utilizando uma mistura de surfactantes (brometo de cetiltrimetilamônio - CTAB e Tween-20), visando a determinação de estanho em ligas à base de cobre. No procedimento, a leitura do complexo (660 nm) era realizada após 30 min da mistura entre os reagentes. O ferro foi identificado como espécie interferente, e a sua influência foi suprimida utilizando-se uma solução de ácido ascórbico para redução a Fe^{2+}. As determinações foram realizadas em batelada, com uma cela de 1,0 cm e, devido a presença dos surfactantes, foi observado um deslocamento da banda de absorção, de 555 nm para 660 nm. Experimentos relativos à sequência de introdução dos reagentes, assim como ao pH, para favorecer o desenvolvimento da reação, também foram realizados. A faixa linear de trabalho foi estimada entre 0,02 e 1,20 µg mL^{-1} e o coeficiente de variação foi de 1,25 %. A exatidão foi avaliada comparando-se os resultados obtidos com o método proposto com aqueles obtidos com o método de referência (ICP-OES), e não foi verificada diferença significativa ao nível de 95% de confiança.[110]

Em procedimento proposto para determinação de estanho em amostras de alimentos enlatados, foi empregado o método baseado na reação do Sn(IV) com o vermelho de bromopirogalol, que era aprimorada com a utilização dos surfactantes CTAB e OP (nonilfenoxi polietoxi etanol), os quais permitiam que o complexo (máximo de absorção em 304 nm) fosse estável por até 4 horas. A estequiometria

do complexo foi avaliada a partir do método das variações contínuas, onde foi observada a proporção de 1 Sn(IV) para 3 moléculas de reagente. A sensibilidade do método foi incrementada pela presença dos surfactantes, e os parâmetros relativos à concentração dos surfactantes, ao pH do meio reacional, aos potenciais interferentes, dentre outros, foram devidamente avaliados. A interferência causada pelo Fe(III) foi suprimida pela utilização de ácido ascórbico. A absortividade molar observada com a utilização dos surfactantes foi 3 vezes maior quando comparada à da proposta de referência, empregando o mesmo reagente cromogênico. A faixa linear de trabalho obtida foi de 0,1 a 2,5 µg mL^{-1} de Sn(IV) e o limite de detecção foi estimado em 0,018 µg mL^{-1}. Os autores destacaram que o sistema proposto por eles era muito sensível e versátil, pois não necessitava de etapas de aquecimento ou de repouso.[111]

Duas estratégias de quantificação, regressão por mínimos quadrados parciais e centragem na média da razão dos perfis cinéticos, foram propostas para a determinação simultânea de Sn(II) e Sn(IV), em amostras de águas e sucos de frutas. O método proposto não apresentava etapas de separação e a determinação e discriminação entre espécies ocorria pela diferença na cinética de formação dos complexos de Sn(II) e Sn(IV) com o PCV em meio ácido (pH = 4,0). No procedimento, que foi realizado em batelada e com o emprego de cela de 1 cm, alíquotas de Sn(II) e Sn(IV) eram misturadas à solução tampão acetato e ao reagente PCV, e em seguida, esta mistura era inserida na cela e o complexo era monitorado em 550 nm, por um intervalo de tempo de 0 a 600 s, com incrementos de 4 s. O reagente cromogênico pode formar dois diferentes complexos com o Sn(IV), contudo a forma predominante era observada em 550 nm, e neste mesmo comprimento de onda, era observada a formação do complexo Sn(II)-PCV. A formação do complexo com Sn(IV) ocorria mais rapidamente que o complexo com Sn(II), e esta diferença na taxa de formação podia ser afetada pelo pH do ambiente reacional, dessa forma, este parâmetro foi criteriosamente avaliado. Faixas de trabalho de 0,10 – 1,80 mg L^{-1} foram observadas para os estanhos bi e tetra valente. Para averiguação da exatidão, foi realizada a determinação simultânea com padrões mistos contendo Sn(II) e Sn(IV), e os resultados encontrados de concentração dos analitos nas amostras de suco de frutas concordaram com aqueles obtidos com o método de referência (espectrometria de absorção atômica com chama); já para as

amostras de água mineral, obteve-se recuperações de 96,5 a 106% para Sn(II) e de 95 a 107% para Sn(IV).[112]

Outro procedimento para a determinação do analito, explorando extração em meio micelar em amostras de bebidas e águas, baseou-se na extração em ponto nuvem do complexo Sn(IV)-PCV. No procedimento, soluções de Sn(IV), PCV e tampão glicina (pH = 2,5) eram adicionadas a tubos específicos e misturados em centrífuga, posteriormente a alíquota de surfactante catiônico (CTAB) era inserida e uma etapa de repouso de 10 minutos era realizada, onde era observada a turvação da mistura, mesmo sem aquecimento; os autores consideraram que nessas condições, não havia formação de complexo com o Sn(II). A separação entre as fases aquosa e orgânica era realizada por centrifugação (15 min), e depois de isolada e diluída, a fase rica em surfactante era inserida na cela para leitura do complexo em 576 nm. Observou-se uma faixa de resposta linear de 0,30 a 175,0 ng mL^{-1}, além de um limite de detecção de 0,16 ng mL^{-1} e um coeficiente de variação de 0,71% (n=5).[94]

A maior parte dos trabalhos encontrados na literatura voltados à determinação de estanho por detecção espectrofotométrica, foram implementados em batelada. Estes procedimentos são morosos e consomem grandes volumes de reagentes e de amostra.[94,111,112] Ainda, alguns desses procedimentos necessitam de uma etapa de repouso para que a reação possa atingir o equilíbrio químico[110] ou de uma fase sólida para melhorar a sensibilidade.[109]

Nos procedimentos baseados nas análises por injeção em fluxo, os volumes utilizados são considerados grandes, pois as soluções de reagentes e de amostra são bombeadas continuamente. Portanto, no procedimento proposto, a espécie de interesse foi determinada empregando um módulo de análises baseado no processo de multicomutação em fluxo, visando a redução do volume de soluções utilizadas. Utilizou-se uma bomba de seringa, como propulsor de fluidos, e a detecção fotométrica, empregando um fotômetro de LED, o qual foi desenvolvido para permitir o uso de uma cela de fluxo com caminho óptico de 200 mm, visando aumento em sensibilidade sem a necessidade de etapas de pré-concentração.

3.2 Parte experimental

3.2.1 Reagentes e soluções

Todos os reagentes empregados eram de grau analítico e a água utilizada era purificada e com condutividade elétrica menor que 0,1 µS cm^{-1}. Solução estoque 0,1% (m/v) de pirocatecol violeta (Merck) foi preparada por dissolução de 0,050 g do sólido em 50 mL de água, e soluções de trabalho de 0,04% (m/v) eram preparadas por diluição com água, a partir da solução estoque.

Uma solução tampão de glicina 1,0 mol L^{-1} foi preparada por dissolução de 15,01 g de glicina (Merck) em cerca de 100 mL de água. Após dissolução, o pH foi ajustado para 2,0 com ácido clorídrico (Merck), e o volume completado para 200 mL com água.

Uma solução estoque 1,0% (m/v) de Tween-80 foi preparada por dissolução de 1,0 g de Tween-80 (Quimex) em 100 mL de água, e outra solução estoque de surfactante 0,4% (m/v) de CTAB (brometo de cetiltrimetilamônio) foi preparada por dissolução de 0,4 g CTAB em 100 mL de água. A solução surfactante de trabalho, mistura dos dois surfactantes, foi preparada com a adição de 0,10 mL de Tween e 0,15 mL de CTAB, e completando-se o volume final para 100 mL com água, resultando em uma mistura de 0,10 e 0,15% (v/v, em relação às soluções estoque) de Tween e CTAB, respectivamente.

Uma solução estoque de 1,00 g L^{-1} Sn(IV) foi preparada pesando-se 0,2950 g de tetracloreto de estanho penta hidratado ($SnCl_4.5H_2O$, Merck), dissolvendo-se este e completado-se o volume para 100 mL com ácido clorídrico 2,0 mol L^{-1}. Soluções padrão de Sn(IV) com concentrações variando de 0,10 a 2,50 mg L^{-1} eram preparadas diariamente, por diluições (com ácido clorídrico 2,0 mol L^{-1}) de uma solução intermediária de 20 mg L^{-1} Sn(IV), a qual era preparada a partir da solução estoque.

O efeito dos potenciais interferentes, que poderiam estar presentes em alimentos, foi avaliado utilizando-se soluções contendo 0,5 mg L^{-1} de Sn(IV) e diferentes concentrações dos potenciais interferentes. Uma solução de 0,5 mg L^{-1} de Sn(IV), sem nenhuma espécie potencialmente interferente, foi empregada como solução de referência.

O preparo das amostras consistiu na homogeneização (moinho analítico Q-298A ou almofariz/pistilo) e pesagem (0,2 g) destas, seguidas de uma decomposição assistida por forno micro-ondas (ETHOS 1600, Milestone) com água régia (ácido clorídrico + ácido nítrico, 3:1). Em cada frasco de digestão (TFM®) contendo as amostras, as quais foram preparadas em triplicata, foram adicionados 6,0 mL de

água régia e, após a conclusão do programa para a digestão das amostras (vide Tabela 12), as mesmas foram completadas para 50 mL com água Milli-Q. O conjunto de amostras de alimentos, adquirido em mercado local, constituiu-se de marcas e composições distintas.

Tabela 12 – Programa para digestão das amostras em forno micro-ondas

Etapa	Tempo, min	Temperatura interna*, ºC	Temperatura externa**, ºC	Potência, W
1	3	160	106	1000
2	2	160	106	1000
3	5	200	140	1000
4	15	200	140	1000
5	5	-	-	0

*no tubo de digestão; **no forno de micro-ondas.

3.2.2 Equipamentos

3.2.2.1 Unidade de detecção

O fotômetro, descrito no item 2.2.2.1, compreendeu uma cela de fluxo com 200 mm de caminho óptico e 1,2 mm de diâmetro interno, além de um LED com máximo de emissão em 560 nm.

3.2.2.2 Unidade de propulsão dos fluidos

A bomba de seringa, empregada como unidade propulsora, apresenta um mecanismo de deslocamento solidário do êmbolo, o qual é acionado por um motor de passo. Este equipamento apresenta um total de 40.000 passos (4000 passos = 1 mL, para seringa de 10,0 mL) e o volume das seringas empregadas pode variar de 1 a 10 mL, as vazões podem variar de 15 a 500 µL s^{-1}, e a resolução de 1 µL pode ser atingida com um erro relativo estimado em 0,2%. Confeccionadas em vidro borossilicato e PTFE, as seringas contam com válvulas de 3 vias em PTFE, para o direcionamento das soluções. A bomba de seringa apresenta, ainda, memória para até 10 diferentes programas pré-estabelecidos.

Alguns dos principais aparatos desta bomba, que foram utilizados no presente trabalho, são apresentados na Figura 17.

Figura 17 – Bomba de seringa para propulsão dos fluidos.

a – entrada para alimentação;
b – entrada para conexão com computador/impressora e para conexão com outros instrumentos via serial RS232;
c – painel para programação manual;
d – válvula de 3 vias;
e – seringa para inserção dos fluidos (10,0 mL);
f – êmbolo conectado ao eixo principal para propulsão solidária;

3.2.2.3 Módulo de análises microcontrolado

Para o controle dos dispositivos e conversão do sinal analítico empregou-se o microcontrolador da família PIC18F4550 fabricado pela Microgênios Microcontroladores (São Paulo, Brasil), apresentado no item 2.2.2.2. O programa para controle dos dispositivos e aquisição dos dados foi escrito em linguagem Visual Basic 6.0 (Microsoft).

O módulo de análises do sistema em fluxo, projetado para a implementação do procedimento analítico, foi baseado no processo de multicomutação em fluxo

empregando bomba multi-seringa como propulsor de fuidos. O sistema consistiu de 3 válvulas solenoide de 3 vias, 1 bomba de seringa 4S (Cryson) (equipada com 4 válvulas acopladas às seringas), 3 reatores helicoidais de tubos de polietileno de 50, 25 e 50 cm de comprimento e 0,8 milímetro de diâmetro interno.

3.2.3 Procedimento experimental

O módulo de análises do sistema em fluxo, representado na Figura 18, com base na abordagem de multicomutação foi projetado para atender aos requisitos necessários para o desenvolvimento da reação do estanho em seu estado tetravalente e o reagente cromogênico violeta de pirocatecol.

A bomba foi programada para dispensar os fluxos em velocidade de 200 passos por segundo, o que resultou em vazões de 3,0 mL min^{-1}. A sequência de acionamento é mostrada na Tabela 13.

Na etapa de calibração do fotômetro, mantendo-se a cela de fluxo preenchida com o fluido empregado como transportador, o sinal gerado no fotômetro era ajustado para a leitura de fundo de escala de 4000 mV. Em seguida, a cela de fluxo era preenchida com o complexo Sn(IV)-PCV, assim como no procedimento adotado na determinação de vanádio, duas concentrações (100 e 150 mg L^{-1} Sn(IV)) foram empregadas para a formação do complexo, e o sinal gerado pelo fotômetro nestas condições, denominado de sinal residual (Rs), foi utilizado posteriormente para o cálculo de absorbância.

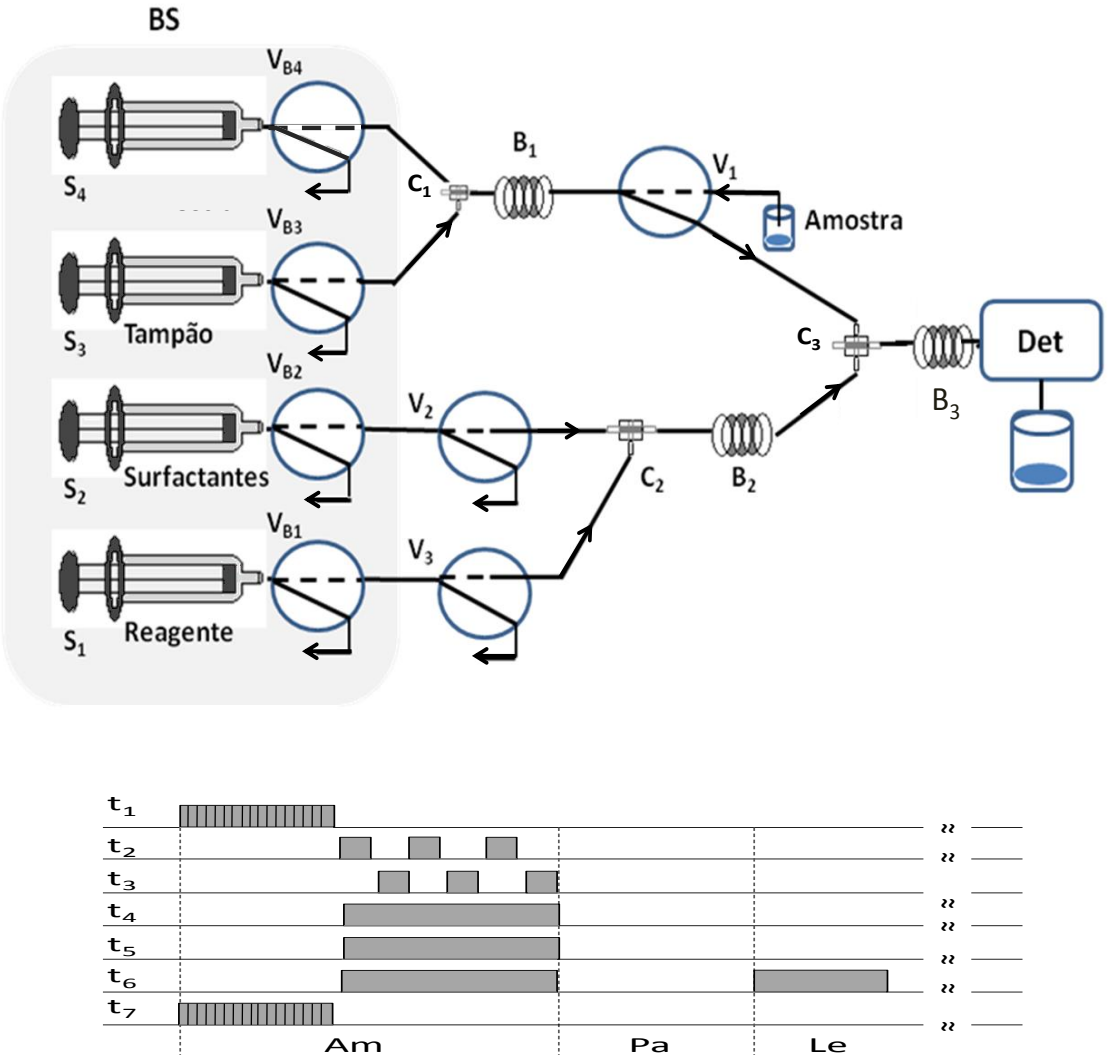


Figura 18 – Diagrama do módulo de análises e diagrama de tempo. BS = bomba de seringa; S_1 – S_4 = seringas; V_{B1} – V_{B4} = válvulas solenoide acopladas à bomba de seringa; V_1 – V_3 = válvulas solenoide; B_1 = alça de amostragem; B_2 – B_3 = bobinas de reação; C_1 – C_3 = confluências; Det = unidade de detecção fotométrica. Am = amostragem; Pa = parada de fluxo; Le = leitura; T_1 – T_7 = curso de temporização para ativar/desativar as válvulas solenoide V_1, V_2, V_3, V_{B1}, V_{B2}, V_{B3} e V_{B4}, respectivamente. Superfícies sombreadas e rachuradas indicam acionamento do dispositivo com fluxo em pressão positiva e negativa, respectivamente.

Após a etapa de calibração, o procedimento para determinação de estanho era iniciado: na etapa de amostragem, as válvulas V_1 e V_{B4} eram acionadas e a solução da amostra era aspirada, preenchendo a alça de amostragem (B_1); em seguida, o fluxo era revertido e as válvulas V_{B1}, V_{B2} e V_{B3} eram acionadas, enquanto que V_2 e V_3 eram ligadas e desligadas de forma intermitente, de modo que as

alíquotas das soluções de PCV e dos surfactantes fossem inseridas intercaladamente; com a válvula V_{B3} acionada, a solução de glicina transportava a amostra, residente na bobina B_1, misturando esta com o reagente e os surfactantes (da bobina B_2) em B_3, onde ocorria uma parada no fluxo para favorecer o desenvolvimento reacional; para o fechamento do ciclo analítico, o movimento das seringas era retomado e a válvula V_{B3} era acionada, dessa forma, o complexo formado era monitorado e posteriormente, a cela de fluxo era limpa para a próxima determinação.

Tabela 13 – Sequência de acionamento das válvulas solenoide e deslocamento do eixo da bomba de seringa

Etapa	Acionamento							nº de passos	Sentido do fluxo
	V_1	V_2	V_3	V_{B1}	V_{B2}	V_{B3}	V_{B4}		
Amostragem	1	0	0	0	0	0	1	1500	-
	0	0	0	0	0	0	0	5100	-
	0	0/1	1/0	1	1	1	0	1200	+
Parada	0	0	0	0	0	0	0	40*	
Leitura/Lavagem	0	0	0	0	0	1	0	5300	+
Troca de amostra	1	0	0	0	0	0	1	4000	-
	0	0	1	0	0	0	0	4000	+

0/1 = válvula desligada/ligada; -/+ = fluxo em pressão negativa/positiva; *tempo em segundos.

O preenchimento das seringas era realizado durante a etapa de amostragem, no qual eram realizados 5100 passos (1,275 mL) em pressão negativa, repondo-se assim, os volumes dispensados pelas seringas durante as outras etapas.

As variáveis que poderiam afetar o desempenho geral do sistema incluíram: número de passos para preenchimento dos canais, comprimento dos reatores, volume de zona de amostra, tempo de parada do fluxo, concentração de reagentes, acidez do meio reacional, dentre outras. Dessa forma, foram realizados estudos envolvendo essas e outras variáveis a fim de se selecionar a melhor condição para a obtenção de boas figuras de mérito. Após a execução destes estudos, um conjunto de digeridos de alimentos foi processado no sistema com o objetivo de comprovar a viabilidade do procedimento proposto e avaliar a exatidão dos resultados obtidos.

3.3 Resultados e discussão

3.3.1 Avaliação da estequiometria da reação

A estequiometria da reação para formação de Sn(IV)-PCV foi estudada utilizando-se soluções equimolares de 1,0 mmol L^{-1} de PCV e de Sn(IV). Para que todos os ensaios apresentassem igual massa molar, foram adicionados volumes de 1 a 9 mL do reagente e, em seguida, os volumes de Sn(IV) foram adicionados para totalizar o volume de 10 mL em todos os ensaios. Um volume fixo de solução tampão em pH = 2,0 também foi adicionado aos ensaios. Os padrões de estanho foram preparados em ácido clorídrico 0,5 mol L^{-1} e os ensaios foram conduzidos em temperatura ambiente (*ca*. 22 ºC). Os espectros e o gráfico (considerando as leituras em 555 nm) obtidos com os resultados dos ensaios são mostrados na Figura 19.

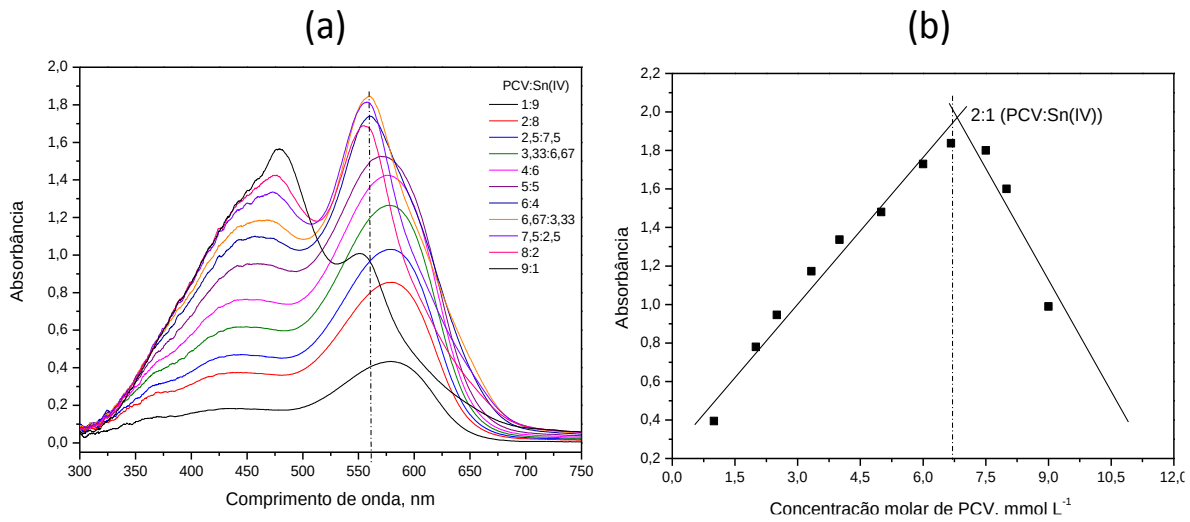


Figura 19 – Método das variações contínuas. (a) – Espectros dos ensaios variando a razão de concentrações entre o PCV e o Sn(IV); (b) – Gráfico de *Job* em função da concentração do reagente.

O Sn(IV) forma pelo menos 2 complexos com o PCV, porém a maior absorbância desses complexos é observada na banda cujo máximo está em 555 nm. A outra espécie pode ser observada na situação em que há excesso de Sn(IV), até atingir a absorbância máxima na razão 1:1 de Sn(IV)-PCV (λ_{max} em torno de 600 nm), no qual as bandas estão sobrepostas.[113] Nestas condições de pH = 2,00 e temperatura ambiente, não é observada a formação de complexos com Sn(II).[112]

Observa-se nos espectros da Figura 19a que, onde há excesso de PCV, a banda de absorção apresenta um máximo em 555 nm, que se desloca até atingir a proporção que satisfaz a estequiometria. Observa-se ainda, que para um excesso de PCV (por exemplo, a proporção de 9:1) a banda de absorção é deslocada para um comprimento de maior energia, aproximadamente 450 nm, comprimento correspondente à absorção do reagente.

No gráfico de *Job* (Figura 19b) são organizados os valores de absorbância em função da concentração de PCV no comprimento de onda de máxima absorção do complexo (555 nm). Neste sentido, notou-se que a condição de 1:2 de Sn(IV):PCV satisfaz a estequiometria da reação, conforme apresentada na Figura 20, devido ao maior valor de absorbância observado nestes ensaios, no comprimento de onda supracitado. Ressalte-se que o reagente PCV, em meio aquoso, é estável por pelo menos 4 meses, mas pode ser afetado pela acidez e força iônica.[113]

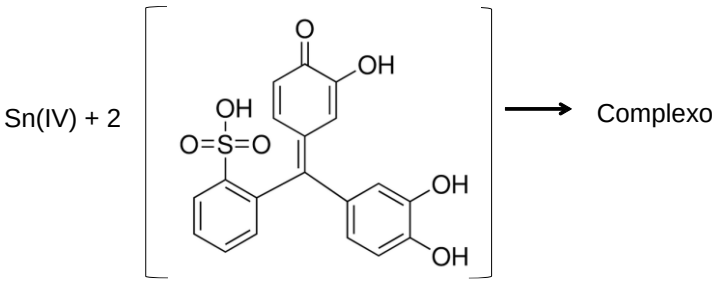


Figura 20 – Reação de formação do complexo Sn(IV)-PCV.

3.3.2 Espectros do complexo Sn(IV)-PCV e sequência dos reagentes

Alguns testes foram realizados a respeito do LED, empregado na unidade de detecção do sistema proposto, e da utilização de surfactantes para a formação do complexo. Para isso, os estudos foram conduzidos com um espectrofotômetro multicanal UV-Vis de fabricação Ocean Optics e diferentes soluções contendo o complexo, com e sem surfactantes. Os surfactantes empregados nestes estudos foram o Tween-80 (surfactante não iônico) e o CTAB (surfactante catiônico). A sequência de inserção dos reagentes também foi avaliada.

Para ambos os estudos foram preparadas soluções de 0,04% (m/v) PCV, com tampão glicina pH = 2,0 (1,0 mol L^{-1}) e surfactantes a 0,10 e 0,15% (v/v) de Tween-

80 e CTAB, respectivamente. Os espectros obtidos a partir dos testes estão compilados na Figura 21.

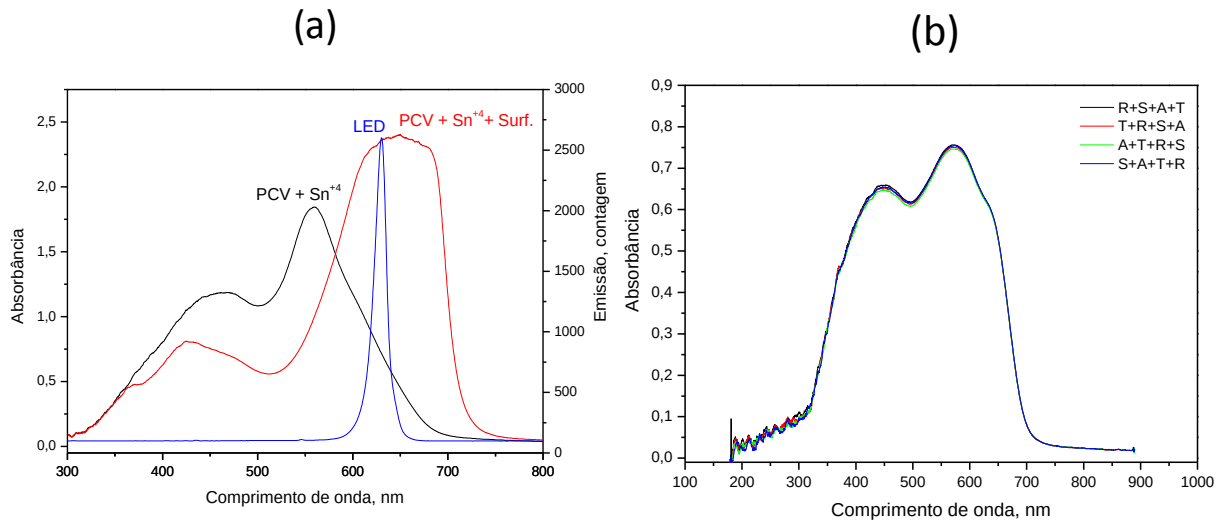


Figura 21 – Espectros de (a) absorção do complexo Sn(IV)-PCV (sem e com surfactante) e espectro de emissão do LED empregado na unidade de detecção, e (b) sequência de inserção de amostra (A), reagente (R), surfactantes (S) e tampão (T).

Observando os espectros obtidos (Figura 21a), nota-se que nas condições de temperatura = *ca.* 25ºC e pH = 2,0, o complexo Sn(IV)-PCV sem a presença de surfactantes apresenta o máximo de absorção em 555 nm e absortividade molar estimada em 1,82 x 10^3 L mol^{-1} cm^{-1}. Ao passo que a presença de surfactantes na formação do complexo, desloca o comprimento de onda para uma região de menor energia (máximo em 630 nm) e a absortividade molar é elevada para 2,81 x 10^3 L mol^{-1} cm^{-1}. Assim, tem-se um deslocamento de cerca de 75 nm em comprimento de onda, considerando os máximos, e um ganho de 54,4% na absortividade molar, quando da presença dos surfactantes. Ainda, no espectro referente ao complexo sem surfactantes, nota-se também a presença de mais um pico, em aproximadamente 450 nm, que corresponde à região de absorção do reagente PCV.

O LED escolhido apresentou máximo de emissão em 630 nm, portanto, o mesmo foi selecionado para constituir a unidade de detecção do sistema proposto, pois apresentava intensidade luminosa adequada e, sobretudo, por apresentar

emissão na região de máxima absorbância do complexo monitorado. Já os espectros relativos à sequência de inserção das soluções (Figura 21b), não apresentaram diferenças significativas sobre sinal analítico e, dessa forma, para as condições experimentais, concluiu-se que esta sequência não afetaria a formação do complexo. Contudo, a inserção de amostra ocorreu após a mistura dos reagentes e surfactantes, para se evitar uma possível hidrólise do Sn(IV), em meio ácido (diluído).

3.3.3 Estudo do volume da amostra

A inserção dos volumes pela bomba de seringa, conforme citado anteriormente, ocorre através do movimento realizado pelo motor de passo. Dessa forma, o preenchimento da alça de amostragem (B_1) foi realizado variando-se o número de passos executado. O intervalo avaliado foi entre 500 e 2000 passos (Figura 22), o que correspondia a volumes de 125 a 500 µL de amostra. Neste estudo foi utilizada uma solução de Sn(IV) a 2,0 mg L^{-1}.

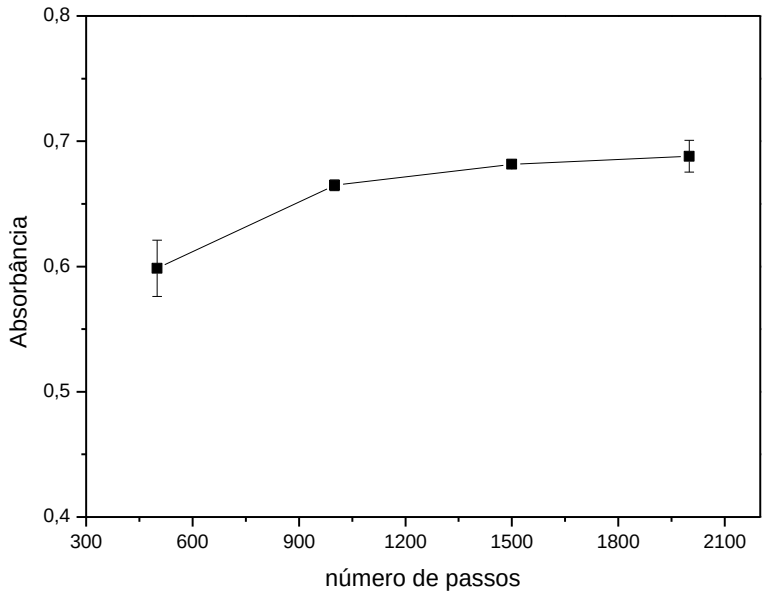


Figura 22 – Efeito do volume de amostra de acordo com o número de passos. Dados referentes a 3 replicatas.

Nota-se que valores abaixo de 1000 passos eram insuficientes para o preenchimento da alça de amostra. Valores acima deste a preenchem

apropriadamente, o que pôde ser confirmado devido a tendência de formação de um patamar no gráfico. Assim, o valor correspondente a 1500 passos (375 µL) foi selecionado como volume adequado para a continuação dos estudos.

3.3.4 Estudo de fração volumétrica

Estudo acerca da fração volumétrica entre as soluções gerenciadas no sistema foi realizado a fim de se avaliar a interpenetração das alíquotas inseridas. Para tanto, preparou-se uma solução do indicador verde de bromocresol em concentração tal que possibilitasse seu monitoramento tanto em condições de alta, quanto de baixa dispersão, que as diferentes soluções eram submetidas. Assim, este indicador era colocado em um dos 4 canais da bomba de seringa, enquanto que nos demais era colocado água e, dessa forma, ao se executar o ciclo analítico para cada posição da solução indicadora, esta seria avaliada na posição de cada solução envolvida na formação do complexo. Por fim, as soluções envolvidas no procedimento foram inseridas, e o sinal transiente decorrente do sistema sem o corante foi denominado de produto. Este sinal e os demais sinais decorrentes do estudo com o corante foram sobrepostos, conforme apresentado na Figura 23.

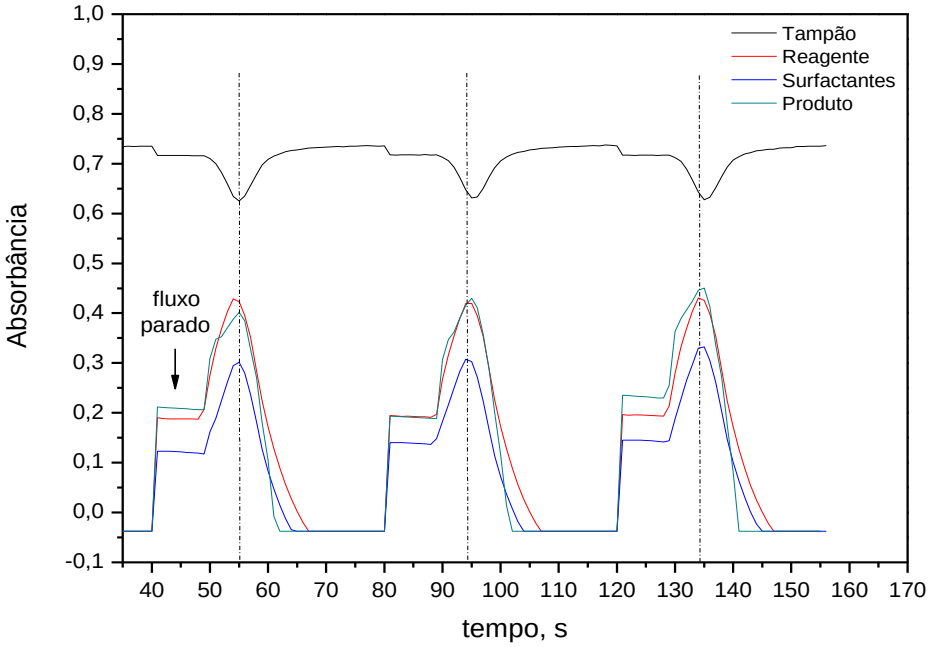


Figura 23 – Sinais transientes relativos ao complexo e ao corante em cada posição da bomba de seringa

Observando os perfis dos registros, nota-se um patamar ao início de cada registro, decorrente da parada de fluxos e ao atraso de 3,4 s inerente à bomba de seringa e, dessa forma, a etapa de leitura/lavagem ocorre com o fluxo ainda parado por 3,4 s. Passado este tempo, a válvula (V_{B3}) é acionada enquanto a leitura é realizada, e a cela é lavada para a próxima determinação.

Nota-se que os sinais advindos do sistema com o uso do corante se sobrepõem àqueles obtidos com o complexo formado, o que indica uma boa mistura das alíquotas inseridas no percurso analítico; além do sinal transiente relativo a solução tampão, o qual demonstra que toda a zona da amostra foi alcançada pela solução. A contribuição de cada solução nas frações volumétricas foi estimada através das absorbâncias e resultaram em: 29,45; 32,90; 21,71 e 15,94 % para amostra, tampão, reagente e surfactantes, respectivamente.

3.3.5 Estudo da concentração de PCV

O efeito da variação da concentração do reagente cromogênico PCV foi conduzido a fim de avaliar a concentração necessária para satisfazer a estequiometria da reação. Para isso, as soluções do branco e do padrão de 1,0 mg L^{-1} foram avaliadas com diferentes soluções de PCV com concentrações de 0,01 a 0,08 % (m/v), e os resultados são mostrados na Figura 24.

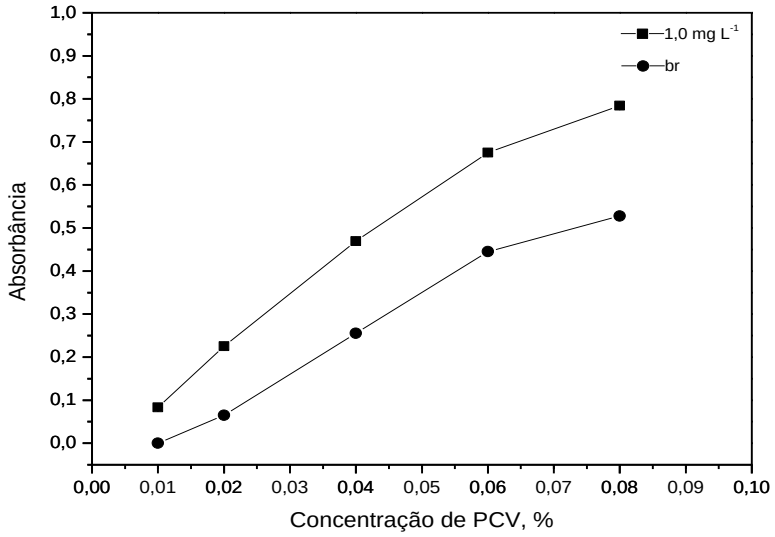


Figura 24 – Efeito da concentração de PCV. Dados referentes a 3 replicatas, os quais representam leituras da solução do branco e 1,0 mg L^{-1} em HCl 0,5 mol L^{-1}, tampão 1 mol L^{-1} pH = 2,0 e surfactantes Tween-80 (0,1%) e CTAB (0,15%).

Ao observar o comportamento da solução do branco, em relação à concentração crescente de PCV, nota-se um aumento na absorbância, já que o reagente absorve na banda do complexo formado, conforme explanado anteriormente (Figura 21a). E, como esperado, o mesmo comportamento ocorreu para o padrão de Sn(IV), assim, subtraindo-se os sinais referentes ao padrão dos seus respectivos brancos, tem-se um aumento de 93,48% no sinal analítico, entre as concentrações mais baixas (0,01 e 0,02%). Contudo, para as duas concentrações mais altas (0,06 e 0,08%) o aumento foi de apenas 11,40%, tendendo a um valor de absorbância constante. A concentração de 0,04% m/v (1,0 mmol L^{-1}) de PCV apresentou uma absorbância para o branco em torno de 0,25 e o aumento do sinal analítico (padrão - branco) foi de 31,63%, comparando as diferenças entre as concentrações de 0,02 e 0,04% de PCV. Dessa forma, como um compromisso entre os valores de branco e a sensibilidade, selecionou-se esta concentração de 0,04 % (m/v) para os estudos posteriores.

3.3.6 Estudo de pH do meio reacional

A fim de proporcionar a acidez adequada para a formação do complexo Sn(IV)-PCV, realizou-se um estudo de variação do pH do meio reacional. Para a realização deste estudo, foram preparadas soluções do branco e de um padrão 1,0 mg L^{-1} de Sn(IV) e do tampão glicina, a diferentes valores de pH. A Figura 25, apresenta as absorbâncias decorrentes da concentração da solução do padrão de Sn(IV) subtraídas das leituras do branco.

Em meio extremamente ácido, o PCV apresenta a coloração avermelhada, onde predominam as espécies H_4L, em valores de pH de 2 a 6 ocorre a coloração amarelada devido à ionização do grupo sulfônico, e a espécie predominante é H_3L^-, e coloração violeta predomina em soluções neutras ou alcalinas.[91,114]

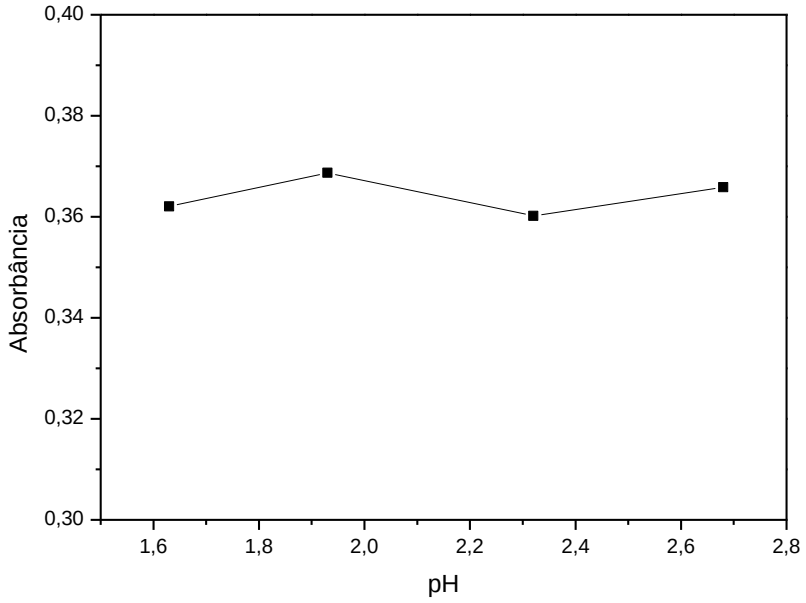


Figura 25 – Efeito do pH do meio reacional. Dados referentes a 3 replicatas, os quais representam leituras da solução de 1,0 mg L^{-1} de Sn(IV) subtraídas dos respectivos brancos

Na faixa de estudo que compreendeu valores de pH entre 1,63 a 2,68, não houve variação significativa no sinal analítico, visto que a maior variação foi de apenas 2,4%, indicando que a reação é resistente à mudanças de pH para o intervalo estudado. A glicina tem um valor de pKa = 2,35 e, dessa forma, o pH na faixa de 2,0 a 2,3 foi considerada a melhor faixa para a formação do complexo em questão, por se tratar da região de maior capacidade tamponante. Assim, o pH = 2,0 foi selecionado para a continuação dos estudos, por apresentar um sinal 2,4% maior em relação àquele obtido em pH = 2,3, além de também ser descrito na literatura como o pH em que se obtém maior seletividade a esse método.[110]

3.3.7 Estudo do tempo de parada de fluxos

A cinética da reação de formação do complexo foi avaliada realizando-se uma parada de fluxos logo após a etapa de amostragem. Dessa forma, a leitura era realizada durante um intervalo de tempo de 300 s com a zona de amostra parada no interior da cela de fluxo. Este experimento foi realizado usando solução de 2,0 mg L^{-1} de Sn(IV), PCV 0,04% (m/v) e tampão glicina em pH = 2,0, e o registro referente a este estudo é mostrado na Figura 26.

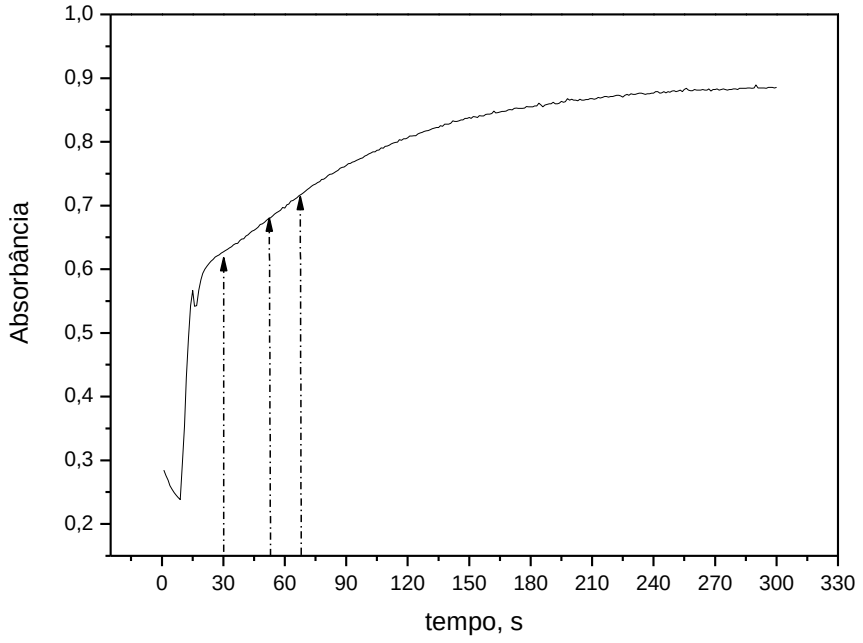


Figura 26 – Efeito do tempo de parada de fluxo para formação do complexo

O gráfico mostra o desenvolvimento da reação ao longo do tempo de parada e indica que a mesma não ocorre de forma instantânea, e que a parada de fluxos seria uma interessante estratégia, a qual favoreceria a determinação em concentrações mais baixas de Sn(IV). Porém, o fornecimento de altos tempos de parada para a zona de amostra afetaria a frequência analítica do procedimento. Ao se avaliar a magnitude do sinal registrado em função do tempo de parada, observa-se que houve um ganho na magnitude do sinal analítico de 10,62% com um tempo de 30 s, se comparado ao tempo = 0 (sem parada). Em adição, comparando o tempo de 50 s ao de 30 s, o ganho estimado foi de 8,0%, e de 6,67% comparando-se o tempo de 70 s ao de 50 s. Dessa forma, o tempo de parada de fluxos selecionado foi de 50 s, no qual o ganho foi de 18,62% se comparado ao sistema sem parada, além de possibilitar melhoraria em sensibilidade sem comprometer muito a frequência analítica. Observa-se ainda, que a partir de 150 s, os sinais tenderam ao equilíbrio e, portanto, em uma condição extrema, este tempo de parada poderia ser selecionado para melhorar a sensibilidade do procedimento. Dessa forma, no tempo selecionado de parada (50 s), tem-se aproximadamente 81% do máximo de sinal que poderia ser alcançado e, nesta condição, pôde-se conciliar condições satisfatórias da frequência de amostragem e da sensibilidade.

3.3.8 Estudo sobre a acidez das soluções padrão

Como o estanho pode sofrer hidrólise lentamente, dependendo da acidez do meio,[113] estudos foram conduzidos variando-se a concentração do ácido clorídrico utilizado no preparo da solução estoque e das soluções padrão. Soluções nas concentrações de 0,25 até 2,0 mol L^{-1} em ácido clorídrico foram preparadas e, em seguida, o sal de estanho foi dissolvido com cada solução de ácido. As soluções padrão foram preparadas da mesma forma. Neste estudo, tomou-se como parâmetro de avaliação, as curvas de calibração entre 0,1 e 2,0 mg L^{-1} Sn(IV), cujos coeficientes são apresentados na Tabela 14.

Tabela 14 – Efeito da acidez das soluções padrão em relação ao comportamento linear das curvas de calibração

Concentração, mol L^{-1}	**Coef. linear**	**Coef. angular, L mg^{-1}**	**Coef. correlação linear, r**
0,25	0,2306	0,1855	0,9948
0,50	0,2837	0,2097	0,9991
1,00	0,3902	0,2516	0,9683
2,00	0,4063	0,2069	0,9859

Os resultados da Tabela 14 indicam que o aumento da acidez das soluções padrão tende a melhorar a sensibilidade do procedimento até a acidez de 1,00 mol L^{-1} HCl, e em concentração mais alta, percebe-se um decréscimo deste parâmetro; este efeito decrescente, também pôde ser observado através dos coeficientes de correlação linear acima de 0,5 mol L^{-1} de HCl. Este comportamento sugere que o aumento da acidez tenha afetado o pH do meio reacional (pH da solução coletada na saída do detector referente à 3 determinações = 0,84; para 1,0 mol L^{-1} de HCl), comprometendo assim a formação do complexo. Entretanto, concentrações mais baixas, como com a acidez de 0,25 mol L^{-1}, não foram suficientes para evitar a hidrólise do Sn(IV), onde era possível observar a formação de precipitados. Embora a concentração de 1,0 mol L^{-1} de HCl apresentasse o coeficiente angular 17% maior que o valor obtido com a concentração de 0,5 mol L^{-1}, o coeficiente linear também era 28% maior (o coeficiente linear relaciona-se ao sinal do branco, e sendo este valor elevado, poderia ocorrer a redução da faixa de resposta linear). Portanto,

devido à melhor resposta linear obtida, com ausência de hidrólise do analito, quando utilizada a solução de 0,5 mol L^{-1}, esta acidez de HCl foi selecionada para os estudos subsequentes.

3.3.9 Estudo da concentração dos surfactantes

O emprego de surfactantes para a formação de complexos ternários tem sido relatado na literatura[115] como uma estratégia para aumento em sensibilidade dos métodos analíticos, devido ao proporcionamento de um aumento em absortividade molar, além de provocar um deslocamento no comprimento de onda de maior absorção dos complexos.[116] Em pH = 2,4, o complexo binário formado entre o Sn(IV)-PCV não é estável (cerca de 20 min.), dessa forma, o surfactante comporta-se também como um agente que favorece a estabilidade do complexo.[91,117]

Para a avaliação do efeito destes, a concentração de Tween-80 foi mantida em 0,1 % (v/v) para todos os ensaios e foi variada a concentração de CTAB de 0,01 a 0,30 % (v/v).

Os resultados apresentados na Figura 27 demonstraram que o aumento da concentração de CTAB promoveu um acréscimo significativo na magnitude do sinal analítico (principalmente para as concentrações mais baixas), o qual tendeu a um valor constante a partir da concentração de 0,15% (v/v). Acredita-se que o sinal com menor absorbância se deve a um menor deslocamento do comprimento de onda de absorção do complexo (*ca.* de 22 nm), que era insuficiente para a adequada sobreposição dos espectros de emissão do LED (λ_{max} = 630 nm) e absorção do complexo.

Os sinais obtidos com a presença de ambos os surfactantes apresentaram valores de absorbância mais altos, isso ocorreu devido ao aumento da absortividade molar, bem como do deslocamento do comprimento de onda de absorção máxima para a região de emissão do LED empregado. Os sinais obtidos com concentrações acima de 0,15% (v/v) de CTAB não mostraram tendência crescente. Trabalhos anteriores mostraram que a mistura destes surfactantes aumenta a estabilidade do complexo,[110] e este comportamento foi observado nos estudos realizados, uma vez que, com a presença da mistura dos surfactantes, o complexo permaneceu estável por pelo menos 48 horas. Dessa forma, as concentrações dos surfactantes de 0,1%

(v/v) para Tween-80 e de 0,15% (v/v) para CTAB, foram selecionadas para a continuidade dos estudos.

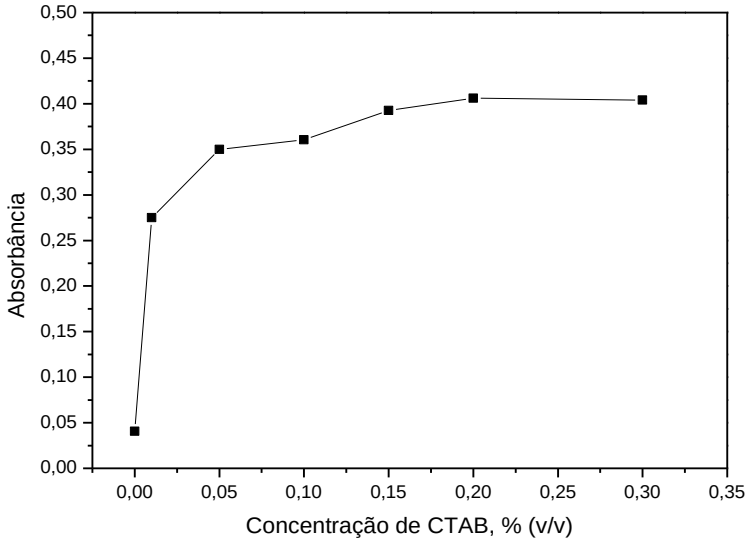


Figura 27 – Efeito da concentração dos surfactantes. Dados referentes a 3 replicatas, as quais representam leituras da solução padrão (1,0 mg L^{-1} Sn) subtraídas das leituras dos brancos

3.3.10 Características analíticas relativas ao desempenho do sistema

Os parâmetros considerados como mais relevantes para o desempenho do sistema foram avaliados e as faixas de estudo, assim como os valores escolhidos, são dispostos na Tabela 15. A partir dos valores escolhidos, um conjunto de soluções padrão foi analisado e algumas importantes características foram avaliadas, tais como a faixa linear de trabalho, o limite de detecção e o coeficiente de variação.

Tabela 15 – Parâmetros investigados e valores selecionados

Parâmetro	Faixa estudada	Selecionado
Volume de amostra*, µL	125 - 500	375
Concentração de PCV*, % (m/v)	0,01 - 1,0	0,04
pH	1,6 - 2,6	2,0
Tempo de parada, s	0 - 300	50
Acidez das soluções padrão, mol L^{-1}	0,25 - 2,00	0,50
Concentração de CTAB, % (v/v)	0,01 - 0,30	0,15

*por determinação.

A curva analítica (y = 0,4211 + 0,3077x; n = 6) obtida com as medidas fotométricas é mostrada na Figura 28, e as principais figuras de mérito são dispostas na Tabela 16.

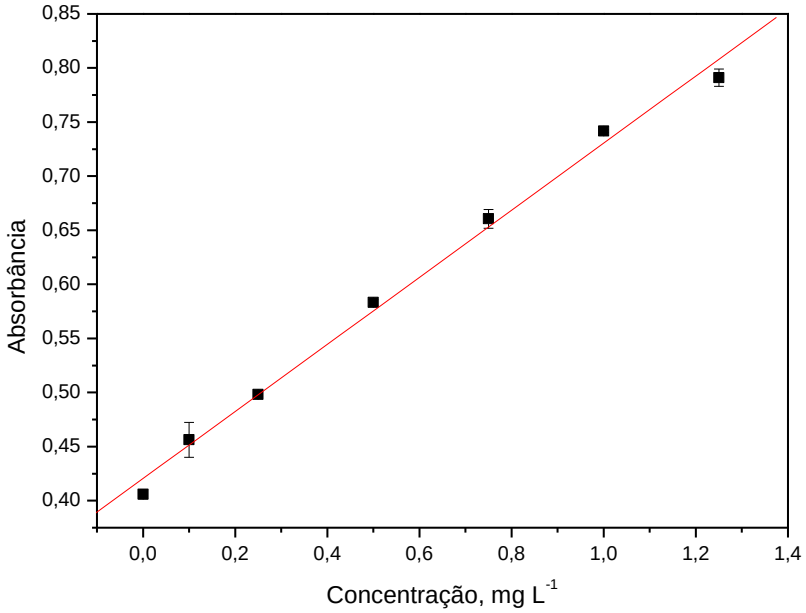


Figura 28 – Curva analítica obtida processando o branco e as soluções padrão de 0,10 a 1,25 mg L^{-1} de Sn(IV), dados em triplicata

O limite de detecção foi estimado a partir do critério 3σ[82] sobre 10 replicatas do branco.

Tabela 16 – Figuras de mérito do procedimento proposto.

Parâmetros	
Faixa linear (mg L^{-1} Sn)	0,10 - 1,25
Linearidade (r)	0,996
Limite de detecção (mg L^{-1})**	0,04
Frequência de analítica (h^{-1})	49
Violeta de Pirocatecol (mg)*	0,058
Volume de amostra (mL)*	0,38
Volume de efluente (mL)*	2,03
Coeficiente de variação (%)**	1,30

* correspondente a uma determinação; **n = 10

3.3.11 Comparação de desempenho

Alguns aspectos relativos ao desempenho de outros métodos espectrofotométricos para determinação de estanho, explorando diferentes estratégias, descritos na literatura foram compilados na Tabela 17 e comparados ao procedimento proposto.

Tabela 17 – Comparação entre métodos para determinação espectrofotométrica de estanho

Procedimento	**Estratégia para aumento de sensibilidade**	**Limite de detecção, µg L^{-1}**	**Frequência analítica, h^{-1}**	**Efluente gerado,* mL**	**Ref.**
MSFIA	Cela de longo caminho óptico	40	49	2,0	Proposto
FIA	Espectrofotometria em fase sólida	0,3	7,2	-	109
FIA	Surfactante	40	30	-	118
Batelada	Surfactantes	7	-	50**	110
Batelada	Surfactantes	18	-	10**	111
Batelada	-	30	-	5**	112
Batelada	Extração em ponto nuvem	0,16	-	10**	94

*Valor por determinação; **calculado a partir de dados retirados da referência.

Nota-se que alguns desses trabalhos apresentaram melhores limites de detecção que aquele alcançado pelo procedimento proposto, contudo, algumas etapas utilizando grandes volumes de reagentes e amostra,[110,111] ou incluindo procedimento em fluxo com pré-concentração,[109] ou longos tempos para desenvolvimento da reação (por exemplo, 30 min.),[94,110,112] ou ainda, controle de temperatura[118] são requeridos para atingir os valores listados. Diferentemente deste cenário, o trabalho proposto é simples, rápido (quando comparado aos trabalhos referidos) e não requer grandes volumes de reagentes ou de amostras.

3.3.12 Estudo dos potenciais interferentes

Uma avaliação dos efeitos de potenciais interferentes presentes nos alimentos também foi realizada. Para tanto, soluções com 0,5 mg L^{-1} de Sn(IV) e cada espécie avaliada foram preparadas. Uma solução com mesma concentração em analito (sem o potencial interferente) foi empregada como solução de referência. O critério de variação de ±5,0% sobre o sinal analítico para a solução de referência foi adotado para avaliação das espécies interferentes, conforme apresentado na Tabela 18. O estudo foi conduzido em pH = 2,0 e com tempo de parada de fluxos = 50 s.

Tabela 18 – Estudo dos potenciais interferentes

Espécie avaliada	**Limite da proporção Interferente: Sn(IV)**	**Interferência*, %**
Co^{2+}	2000	<5
Na^{2+}	2000	<5
Ni^{2+}	400	<5
Mg^{2+}	2000	<5
K^{+}	400	<5
Cd^{2+}	100	<5
Mg^{2+}	2000	<5
Zn^{2+}	2000	<5
Cu^{2+}	20	<5
Al^{3+}	100	<5
V^{5+}	100	<5
Fe^{3+}	20	9,45

*Determinação realizada em triplicata.

A Tabela 18 mostra que em uma concentração 20 vezes maior que a concentração de referência, o Fe^{3+} apresentou interferência, que ocorreu devido ao fato de o PCV também formar complexos com esta espécie.

Alguns testes para contornar esta interferência foram realizados e a adição de uma alíquota de 200 µL de ácido ascórbico 0,2 mol L^{-1} em 10 mL de amostra foi suficiente para mascarar a interferência de forma eficiente, mesmo para uma solução com concentração de Fe^{3+} 600 vezes maior que a concentração de Sn^{4+}. Este efeito supressor sobre a interferência apresentada pelo Fe^{3+} foi creditado à redução desta espécie, sem a redução do analito.

3.3.13 Determinação de estanho em amostras de alimentos

As amostras de alimentos enlatados foram, primeiramente, submetidas a um processo de análise qualitativa das latas, afim de se verificar a presença de estanho na composição destas. Em seguida, os alimentos foram decompostos para a análise quantitativa empregando o procedimento proposto e o método de referência.

- Identificação de estanho na composição das latas por LIBS

A espectrometria de emissão óptica com plasma induzido por laser (do inglês *Laser Induced Breakdown Spectroscopy*, LIBS) é uma técnica voltada para a análise direta de materiais, principalmente sólidos. Nesta técnica, um laser pulsado realiza uma micro amostragem sobre a superfície amostrada, no qual um plasma é formado com consequente excitação de átomos, íons e/ou moléculas das espécies contidas na amostra.[119,120] Esta técnica apresenta a vantagem de dispensar, ou minimizar, etapas de pré-tratamento da amostra.

Desta forma, as latas para armazenamento dos alimentos foram cortadas, para compatibilização de suas dimensões com o equipamento, e lavadas com água desionizada. Algumas delas apresentavam um verniz de recobrimento (película orgânica) total, parcial, ou ainda, nenhum recobrimento sobre as superfícies internas. Estes vernizes têm como principal função reduzir o contato dos metais constituintes da lata com o produto alimentício.[121] Para alimentos mais ácidos (por exemplo, derivados do tomate) essa camada de verniz é considerada necessária[122] porém, algumas das latas, as quais não apresentavam esta película de proteção, continham alimentos derivados de tomate.

Para a execução deste estudo (Figura 29), empregou-se um laser Nd:YAG@1064 nm com energia por pulso de 100 mJ, um tempo de atraso de 2,0 μs para início das leituras e um tempo de integração de 5,0 μs. Os pulsos foram focalizados na superfície da amostra e a emissão do plasma foi focalizada na entrada da fibra óptica de um espectrômetro LLA modelo ESA3000; as lentes empregadas para a focalização tanto dos pulsos de laser na amostra, quanto da emissão na entrada da fibra óptica foram do tipo plano convexas convergentes de sílica fundida.

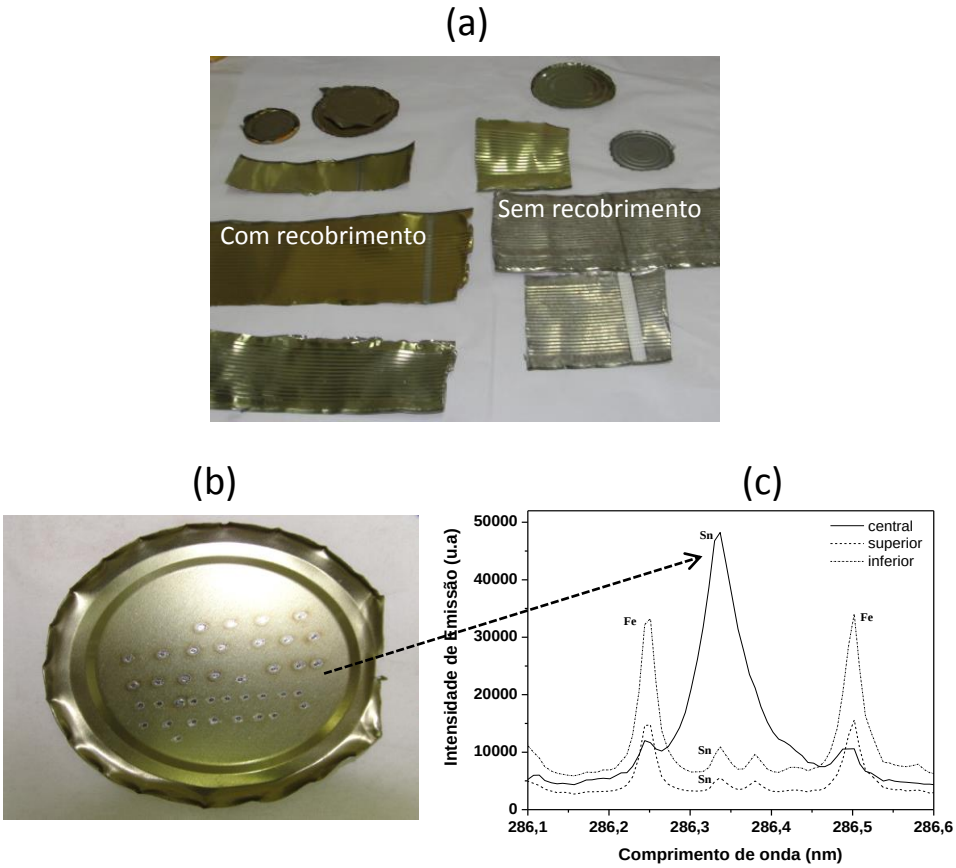


Figura 29 – Amostras de latas com e sem recobrimento (a), lata com as crateras oriundas do laser pulsado (b) e fragmento dos espectros de emissão do estanho presente na parte superior, central e inferior de uma lata de extrato de tomate com recobrimento total (c).

Um pulso do laser era empregado para a limpeza, visando retirar a primeira camada das latas que apresentavam o recobrimento (vide Figura 29a). Estudos sobre a profundidade da camada contendo estanho foram realizados com a focalização de pulsos em um mesmo ponto e observou-se que a camada de estanho era alocada abaixo da camada de verniz.

Cada lata foi dividida em parte superior, central e inferior. As partes superior e inferior destas apresentaram menores intensidades de emissão (Figura 29c). As maiores contribuições foram encontradas nas partes centrais das latas sem recobrimento, as quais mostraram a maior intensidade de emissão. O estanho foi identificado em todas as latas das amostras envolvidas no estudo.

- Quantificação de estanho nas amostras de alimentos

Para a avaliação da exatidão do método proposto, as amostras também foram analisadas pela técnica de espectrometria de emissão óptica com plasma acoplado indutivamente (ICP OES). Embora as amostras apresentassem concentrações de estanho acima do limite de detecção estimado para o procedimento proposto (0,04 mg L^{-1} Sn), para a técnica de referência, na maioria das amostras, a concentração do analito encontrava-se abaixo do limite de detecção estimado (0,14 mg L^{-1} Sn). Dessa forma, o método de adição e recuperação foi empregado para a avaliação da exatidão do método proposto. Conforme exposto na Tabela 19, os resultados obtidos para as amostras apresentaram uma faixa de recuperação entre 95 e 115%, as quais foram consideradas satisfatórias.

Tabela 19 – Comparação entre o método proposto e o método de referência.

Amostra	Referência*	Proposto*	Conc. adicionada*	Conc. encontrada*	Rec. (%)
Atum ralado**	<L.D.	0,14 ± 0,09	0,2	0,33 ± 0,06	95
Milho verde	<L.D.	0,11 ± 0,07	0,2	0,30 ± 0,08	95
Tomate sem pele	0,43 ± 0,06	0,34 ± 0,03	0,2	0,57 ± 0,06	115
Extrato de tomate	<L.D.	0,16 ± 0,07	0,2	0,38 ± 0,06	110
Tomate sem pele	0,42 ± 0,07	0,44 ± 0,04	0,2	0,63 ± 0,01	95
Extrato de tomate	<L.D.	0,20 ± 0,02	0,2	0,40 ± 0,05	99

n = 3; *Concentração em mg L^{-1}; **Determinação realizada apenas na parte sólida da amostra.

3.4 Tratamento de resíduos

O armazenamento e encaminhamento dos resíduos referentes à determinação de estanho foram realizados conforme descrito na seção 2.4. O tratamento[‡] consiste na precipitação da espécie, com NaOH em pH ~ 8. Ao fim do processo tem-se um sólido na forma de cloreto estanoso.

[‡] Informação fornecida por Tavares, G. A. (Seção Técnica de Gerenciamento e Tratamento de Resíduos) em Piracicaba, em 2014.

4. CONCLUSÕES

Diante dos resultados obtidos, pode-se afirmar que a sustentabilidade ambiental, preconizada pelas diretrizes da química verde, foi alcançada em função do uso de reagentes pouco tóxicos e da baixa geração de efluente.

Os sistemas propostos são robustos e o uso do fotômetro com LED, equipado com cela de fluxo de longo caminho óptico, foi eficiente para o aumento de sensibilidade.

A unidade de detecção é simples e compacta, pois permite o acoplamento da cela de fluxo com longo caminho óptico (50-200 mm), do LED e do fotodetector em uma mesma estrutura. A cela de fluxo apresenta baixo custo (*ca*. R$ 150) quando comparada às comerciais (cela de fluxo em vidro óptico de 10 mm de caminho Hellma: *ca*. R$ 2500).

O microcontrolador empregado provou que é uma interessante ferramenta para automação de procedimentos analíticos, pois pode controlar todos os dispositivos do módulo de análises e efetuar a aquisição de dados. Os procedimentos permitiram melhorias quanto aos limites de detecção sem utilizar etapas de pré-concentração.

O sistema de análises em fluxo baseado em multi-impulsão para determinação de vanádio, proporcionou um baixo consumo do reagente (11,6 µg de ECR por determinação), assim como das outras soluções empregadas. A configuração proposta forneceu vantagens relativamente ao custo e à facilidade de operação. Desta forma, a proposta afigura-se como uma alternativa adequada e atrativa para o monitoramento de vanádio em amostras de interesse ambiental.

O sistema proposto para a determinação de estanho em amostras de alimentos, afigura-se como uma estratégia eficiente, pois atende aos limites recomendados pela WHO. Quando comparado aos procedimentos discutidos anteriormente, a proposta contempla etapas rápidas (mesmo considerando a parada de fluxo) e simples, pois não requer etapas de aquecimento, extração ou pré-concentração. O emprego da multicomutação em fluxo empregando multi-seringa como propulsor de fluido, proporcionou um menor consumo de reagente (58 µg PCV por determinação) e menor geração de efluente (2,0 mL por determinação). O emprego da bomba de seringa, em alternativa à bomba peristáltica, mostrou-se vantajoso por ser um equipamento de fácil operação, com componentes quimicamente resistentes, podendo suportar pressões mais altas que a bomba

peristáltica, além de gerenciar pequenos volumes de maneira altamente reprodutível.

A unidade de detecção foi construída empregando LED de alto brilho como fonte de radiação eletromagnética, para possibilitar o emprego da cela de fluxo com longo caminho óptico.

Em suma, os procedimentos analíticos desenvolvidos para a determinação fotométrica de vanádio em águas e de estanho em alimentos, empregando o processo de multicomutação em fluxo, alcançaram os limites estabelecidos pelas agências reguladoras, podendo então serem empregados em laboratórios de controle de qualidade.

REFERÊNCIAS

[1] RUZICKA, J.; HANSEN, E.H. **Flow injection analysis**. New York: John Wiley, 1988.

[2] SKEGGS, L.T. An automatic method for colorimetric analysis. **American Journal of Clinical Pathology**, Chicago, v. 28, n. 3, p. 311-322, 1957.

[3] ZAGATTO, E.A.G.; OLIVEIRA, C.C.; COLLINS, C.H. Classificação e definição dos métodos de análises em fluxo (recomendações - IUPAC 1994). **Química Nova**, São Paulo, v. 22, n. 1, p. 143-146, 1999.

[4] RUZICKA, J.; HANSEN, E.H. Flow injection analyses. 1. New concept of fast continuous-flow analysis. **Analytica Chimica Acta**, Amsterdam, v. 78, n. 1, p. 145-157, 1975.

[5] ROCHA, F.R.P.; MARTELLI, P.B.; REIS, B.F. Experimentos didáticos utilizando sistema de análise por injeção em fluxo. **Química Nova**, São Paulo, v. 23, n. 1, p. 119-125, 2000.

[6] ARRUDA, M. A. Z.; COLLINS, C. H. Informações essenciais para a caracterização de um sistema de análise em fluxo. **Química Nova**, São Paulo, v. 28, n. 4, p. 739-742, 2005.

[7] REIS, B.F. Análise química por injeção em fluxo: 20 anos de desenvolvimento. **Química Nova**, São Paulo, v. 19, n. 1, p. 51-58, 1996.

[8] RUZICKA, J.; STEWART, J.W.B.; ZAGATTO, E.A.G. Flow injection analysis. 4. Stream sample splitting and its application to continuous spectrophotometric determination of chloride in brackish waters. **Analytica Chimica Acta**, Amsterdam, v. 81, n. 2, p. 387-396, 1976.

[9] RUZICKA, J.; HANSEN, E.H.; MOSBAEK, H.; KRUG, F.J. Exchange of comments: pumping pressure and reagent consumption in flow injection analysis. **Analytical Chemistry**, Washington, v. 49, n. 12, p. 1858-1861, 1977.

---

[10] BERGAMIN FILHO, H.; MEDEIROS, J.X.; REIS, B.F.; ZAGATTO, E.A.G. Solvent extraction in continuous flow injection analysis: determination of molybdenum in plant material. **Analytica Chimica Acta**, Amsterdam, v.101, p. 9-16, 1978.

[11] MARTELLI, P.B.; REIS, B.F.; KRONKA, E.A.M.; BERGAMIN, H.; KORN, M.; ZAGATTO, E.A.G.; LIMA, J.L.F.C.; ARAUJO, A.N. Multicommutation in flow-analysis. 2. Binary sampling for spectrophotometric determination of nickel, iron and chromium in steel alloys, **Analytica Chimica Acta**, Amsterdam, v. 308, n. 1, p. 397-405, 1995.

[12] LAPA, R.A.S.; LIMA, J.L.F.C.; REIS, B.F.; SANTOS, J.L.M.; ZAGATTO, E.A.G. Multi-pumping in flow analysis: concepts, instrumentation, potentialities. **Analytica Chimica Acta**, Amsterdam, v. 466, n. 1, p. 125-132, 2002.

[13] MIRO, M.; CLADERA, A.; ESTELA, J.M.; CERDA, V. Dual wetting-film multi-syringe flow injection analysis extraction: application to the simultaneous determination of nitrophenols. **Analytica Chimica Acta**, Amsterdam, v. 438, n. 1, p. 103-116, 2001.

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

[15] KRONKA, E.A.M.; REIS, B.F.; KORN, M.; BERGAMIN, H. Multicommutation in flow analysis. 5. Binary sampling for sequential spectrophotometric determination of ammonium and phosphate in plant digests. **Analytica Chimica Acta**, Amsterdam, v. 334, n. 3, p. 287-293, 1996.

[16] OLIVEIRA, C.C.; SARTINI, R.P.; REIS, B.F.; ZAGATTO, E.A.G. Multicommutation in flow analysis. 4. Computer-assisted splitting for spectrophotometric determination of copper and zinc in plants. **Analytica Chimica Acta,** Amsterdam, v. 332, n. 2, p. 173-178, 1996.

[17] LAVORANTE, A.F.; FERES, M.A.; REIS, B.F. Multi-commutation in flow analysis: a versatile tool for the development of the automatic analytical procedure focused on the reduction of reagent consumption. **Spectroscopy Letters**, Philadelphia, v. 39, p. 631-650, 2006.

[18] ALBERTUS, F.; HORSTKOTTE, B.; CLADERA, A.; CERDA, V. A robust multisyringe system for process flow analysis. Part I. On-line dilution and single point titration of protolytes. **Analyst**, London, v. 124, n. 9, p. 1373–1381, 1999.

[19] ALBERTUS, F; CLADERA, A; CERDA, V. A robust multisyringe system for process flow analysis. Part II. A multi-commuted injection system applied to the photometric determination of free acidity and iron(III) in metallurgical solutions. **Analyst**, London, v. 125, n.12, p. 2364-2371, 2000.

[20] SEGUNDO, M.A.; RANGEL, A.O.S.S.; CLADERA, A.; CERDA, V. Multisyringe flow system: determination of sulfur dioxide in wines. **Analyst**, London, v. 125, n. 8, p. 1501-1505, 2000.

[21] PASCOA, R.N.M.J.; TOTH, I.V.; RANGEL, A.O.S.S. A multi-syringe flow injection system for the spectrophotometric determination of trace levels of iron in waters using a liquid waveguide capillary cell and different chelating resins and reaction chemistries. **Microchemical Journal**, Amsterdam, v. 93, n. 2, p. 153-158, 2009.

[22] CERDA, V.; UBIDE, C.; ZURIARRAIN, J. A multi-syringe flow system for monitoring moderately fast chemical reactions. **Journal of the Brazilian Chemical Society**, São Paulo, v. 23, n.11, p. 1989-1996, 2012.

[23] ALMEIDA, M.I.G.S.; SEGUNDO, M.A.; LIMA, J.L.F.C.; RANGEL, A.O.S.S. Direct introduction of slurry samples in multi-syringe flow injection analysis: determination of potassium in plant samples. **Analytical Sciences**, Tokyo, v. 24, n. 5, p. 601-606, 2008.

[24] WEEKS, D.A.; JOHNSON, K.S. Solenoid pumps for flow injection analysis. **Analytical Chemistry**, Washington, v. 68, n. 15, p. 2717- 2719, 1996.

[25] FORTES, P.R.; FERES, M.A.; SASAKI, M.K.; ALVES, E.R.; ZAGATTO, E.A.G.; PRIOR, J.A.V.; SANTOS, J.L.M.; LIMA, J.L.F.C. Evidences of turbulent mixing in multi-pumping flow systems. **Talanta**, Amsterdam, v. 79, n. 4, p. 978-983, 2008.

[26] BIO-CHEM FLUIDICS. **What is a solenoid operated micro-pump?** Disponível em: <http://www.biochemfluidics.com/Products/micro-pumps.asp# operation>. Acesso em: 20 ago. 2014.

[27] CARNEIRO, J.M.T.; ZAGATTO, E.A.G.; SANTOS, J.L.M.; LIMA, J.L.F.C. Spectrophotometric determination of phytic acid in plant extracts using a multi-pumping flow system. **Analytica Chimica Acta**, Amsterdam, v. 474, n. 1, p. 161-166, 2002.

[28] PONS, C.; FORTEZA, R.; CERDA, V. Multi-pumping flow system for the determination, solid-phase extraction and speciation analysis of iron. **Analytica Chimica Acta**, Amsterdam, v. 550, n. 1, p. 33-39, 2005.

[29] ROCHA, D.L.; ROCHA, F.R.P. Photochemical micro-digestion in a multi-pumping flow system for phosphorus fractionation in cereals. **Microchemical Journal**, Amsterdam, v. 109, p. 139-144, 2013.

[30] LENARDÃO, E.J.; FREITAG, R.A.; DABDOUB, M.J.; BATISTA, A.C.F.; SILVEIRA, C.C. “Green chemistry”: os 12 princípios da química verde e sua inserção nas atividades de ensino e pesquisa. **Química Nova**, São Paulo, v. 26, n. 1, p. 123-129, 2003.

[31] ANASTAS, P.T.; WARNER, J. **Green chemistry:** theory and practice. Oxford: Oxford University Press, 1998.

[32] ROCHA, F.R.P.; NÓBREGA, J.A.; FATIBELLO-FILHO, O. Flow analysis strategies to greener analytical chemistry: an overview. **Green Chemistry**, London, v. 3, n. 5, p. 216-220, 2001.

[33] ZAGATTO, E.A.G.; REIS, B.F.; MARTINELLI, M.; KRUG, F.J.; BERGAMIN FILHO, H.; GINE, M.F. Confluent streams in flow injection analysis. **Analytica Chimica Acta**, Amsterdam, v. 198, p. 153-163, 1987.

[34] RIOS, A.; VALCARCEL, M. Exploiting the hydrodynamic aspects of continuous-flow systems. **Talanta**, Amsterdam, v. 38, n. 12, p. 1359-1368, 1991.

[35] VIEIRA, G.P.; CRISPINO, C.C.; PERDIGÃO, S.R.W.; REIS, B.F. An environmentally friendly photometric procedure for ammonium determination in rainwater employing a multicommutation approach. **Analytical Methods**, London, v. 5, n. 2, p. 489-495, 2013.

[36] DIAS, T.R.; REIS, B.F. A LED based photometer for solid phase photometry: zinc determination in pharmaceutical preparation employing a multicommuted flow analysis approach. **Journal of the Brazilian Chemical Society**, São Paulo, v. 23, n. 8, p. 1515-1522, 2012.

[37] MAYA, F.; ESTELA, J.M.; CERDA, V. Multisyringe flow injection technique for development of green spectroscopic analytical methodologies. **Spectroscopy Letters**, Boca Raton, v. 42, n. 6, p. 312-319, 2009.

[38] RIBEIRO, M.F.T.; COUTO, C.M.C.M.; CONCEICAO, P.M.M.; SANTOS, J.L.M. An automated multi-pumping pulsed flow system with spectrophotometric detection for the determination of phosphate in natural waters. **Analytical Letters**, New York, v. 46, n. 11, p. 1769-1778, 2013.

[39] MELCHERT, W.R.; REIS, B.F.; ROCHA, F.R.P. Green chemistry and the evolution of flow analysis: a review. **Analytica Chimica Acta**, Amsterdam, v. 714, p. 8-19, 2012.

[40] BOTEV, I. A new conception of Bouguer-Lambert-Beer's law. **Fresenius Zeitschrift für Analytische Chemie**, Berlin, v. 297, n. 5, p. 419, 1979.

[41] ROCHA, F.R.P.; TEIXEIRA, L.S.G. Estratégias para aumento de sensibilidade em espectrofotometria uv-vis. **Química Nova**, São Paulo, v. 27, n. 5, p. 807-812, 2004.

[42] BABKI, A.K. Ternary complexes in analytical chemistry. **Talanta**, Amsterdam, v. 15, n. 8, p. 721-733, 1968.

[43] SAMPSON, B.; FLECK, A. Measurement of aluminum in dialysis fluid and water by a spectrophotometric procedure. **Analyst**, London, v. 109, p. 369-372, 1984.

[44] ZBIRAL, J.; SOMMER, L. Spectrophotometric determination of cobalt with 2-(5-bromo-2-pyridylazo)-5-diethylaminophenol. **Fresenius Zeitschrift für Analytische Chemie**, Berlin, v. 306, n. 2-3, p. 129-135, 1981.

[45] MARCZENKO, Z.; KALOWSKA, H. Spectrophotometric determination of iron(III) with chrome azurol s or eriochrome cyanine-r and some cationic surfactants. **Analytica Chimica Acta**, Amsterdam, v. 123, p. 289-287, 1981.

[46] MELCHERT, W.R.; ROCHA, F.R.P.; RAIMUNDO-JR, I.M.; REIS, B.F. Construção de uma cela de fluxo de longo caminho óptico para medidas espectrofotométricas. **Química Nova**, São Paulo, v. 31, n. 2, p. 427-429, 2008.

[47] ELLIS, P.S.; LYDDY-MEANEY, A.J.; WORSFOLD, P.J.; MCKELVIE, I.D. Multi-reflection photometric flow cell for use in flow injection analysis of estuarine waters. **Analytica Chimica Acta**, Amsterdam, v. 499, n. 1, p. 81-89, 2003.

[48] LEI, W.; FUJIWARA, K.; FUWA, K. Determination of phosphorus in natural-waters by long-capillary-cell absorption spectrometry. **Analytical Chemistry**, Washington, v. 55, n. 6, p. 951-955, 1983.

[49] FUWA, K.; LEI, W.; FUJIWARA, K. Colorimetry with a total-reflection long capillary cell. **Analytical Chemistry**, Washington, v. 56, n. 9, p. 1640-1644, 1984.

[50] INFANTE, C.M.C.; ROCHA, F.R.P. A critical evaluation of a long pathlength cell for flow-based spectrophotometric measurements. **Microchemical Journal**, Amsterdam, v. 90, n. 1, p. 19-25, 2008.

[51] 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**, Amsterdam, v. 40, n. 1, p. 53-74, 1992.

[52] FLASCHKA, H.; MCKEITHA, C.; BARNES, R. Light emitting diodes and phototransistors in photometric modules. **Analytical Letters**, New York, v. 6, n. 7, p. 585-594, 1973.

[53] PESSOA-NETO, O.D.; SANTOS, V.B.; F.C. VICENTINI, W.T. SUAREZ, J. ALONSO-CHAMARRO, O. FATIBELLO-FILHO, R.C.F. A low-cost automated flow analyzer based on low temperature co-fired ceramic and LED photometer for ascorbic acid determination. **Central European Journal of Chemistry**, Berlin, v. 12, n. 3, p. 341-347, 2014.

[54] GAIÃO, E.N.; MEDEIROS, E.P.; LYRA, W.S.; MOREIRA, P.N.T.; VASCONCELOS, P.C.; SILVA, E.C.; ARAÚJO, M.C.U. Um fotômetro multi-LED microcontrolado, portátil e de baixo custo. **Química Nova**, São Paulo, v. 28, n. 6, p. 1102-1105, 2005.

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

[56] KAMOGAWA, M.Y.; MIRANDA, J.C. Uso de hardware de código fonte aberto “arduino” para acionamento de dispositivo solenoide em sistemas de análises em fluxo. **Química Nova**, São Paulo, v. 36, n. 8, p. 1232-1235, 2013.

[57] LIMA, R.S.; SANTOS, V.B.; GUERREIRO, T.B.; ARAÚJO, M.C.U.; GAIÃO, E.N. Um sistema microcontrolado para o monitoramento on-line, in situ e remoto de pH, condutividade e temperatura de águas. **Química Nova**, São Paulo, v. 34, n. 1, p. 135-139, 2011.

[58] CERNE TECNOLOGIA. **A história e as diferenças entre um microcontrolador e um microprocessador.** Disponível em: <http://www.cerne-tec.com.br/Artigo3_ Historia.pdf>. Acesso em: 22 fev. 2014.

[59] DENARDIN, G.W. **Microcontroladores.** Disponível em: <http://www.joinville.udesc.br/professores/eduardo_henrique/materiais/apostila_micro_do_Gustavo_Weber.pdf.> Acesso em: 20 fev. 2014.

[60] CANTRELL, K.M.; INGLE, J.D. The SLIM spectrometer. **Analytical Chemistry**, Washington, v. 75, n. 1, p. 27-35, 2003.

[61] MARCZENKO, Z.; BALCERZAK, M. **Separation, preconcentration and spectrophotometry in inorganic analysis**. Amsterdam: Elsevier, 2000.

[62] CONSELHO NACIONAL DO MEIO AMBIENTE. **Resolução nº 357**, de 17 de março de 2005. Brasília: CONAMA, 2005.

[63] TAYLOR, M.J.C.; MARSHALL, G.D.; WILLIAMS, S.J.S.; VANSTADEN, J.F.; SALING, C. The determination of vanadium(V) in the presence of vanadium(IV) using 4-(2-pyridylazo)resorcinol in a flow-injection manifold. **Analytica Chimica Acta**, Amsterdam, v. 329, p. 275-284, 1996.

[64] CHEN, Z.L.; OWENS, G. Trends in speciation analysis of vanadium in environmental samples and biologic fluids: a review. **Analytica Chimica Acta**, Amsterdam, v. 607, n. 1, p. 1-14, 2008.

[65] DOMINGO, J.L. Vanadium: a review of the reproductive and developmental toxicity. **Reproductive Toxicology**, Amsterdam, v. 10, n. 3, p. 175-182, 1996.

[66] WORLD HEALTH ORGANIZATION. **Evaluation of certain food additives and contaminants**. Geneve: WHO, 2001. (WHO Technical Report Series, 901).

[67] GAVAZOV, K.; SIMEONOVA, Z.; ALEXANDROV, A. Extraction spectrophotometric determination of vanadium in natural waters and aluminium alloys using pyridyl azo resorcinol (PAR) and iodo-nitro-tetrazolium chloride (INT). **Talanta**, Amsterdam, v. 52, n. 3, p. 539-544, 2000.

[68] U.S. DEPARTMENT OF HEALTH AND HUMAN SERVICES. **ToxGuide for vanadium**. Disponível em: <http://www.atsdr.cdc.gov/toxguides/toxguide-58.pdf>. Acesso em: 23 abr. 2014.

[69] PEIXOTO, E.M.A. Vanádio**. Química Nova na Escola** (versão online), v.24, 2006.

[70] RAMA, M.J.R.; MEDINA, A.R.; DIAZ, A.M. A flow-injection renewable surface sensor for the fluorimetric determination of vanadium(V) with Alizarin Red S. **Talanta**, Amsterdam, v. 66, n. 5, p. 1333-1339, 2005.

[71] AHMED, M.J.; BANOO, S. Spectrophotometric method for determination of vanadium and its application to industrial, environmental, biological and soil samples. **Talanta**, Amsterdam, v. 48, n. 5, p. 1085–1094, 1999.

[72] AUCELIO, R.Q.; DOYLE, A.; PIZZORNO, B.S.; TRISTÃO, M.L.B.; CAMPOS, R.C. Electrothermal atomic absorption spectrometric method for the determination of vanadium in diesel and asphaltene prepared as detergentless microemulsions. **Microchemical Journal**, Amsterdam, v. 78, n. 1, p.21-26, 2004.

[73] AYDIN, I.; AYDIN, F.; HAMAMCI, C. Vanadium fractions determination in asphaltite combustion waste using sequential extraction with ICP-OES. **Microchemical Journal**, Amsterdam, v. 108, p. 64-67, 2013.

[74] DADFARNIA, S.; SHABANI, A.M.H.; MIRSHAMSI, A. Solidified floating organic drop microextraction and spectrophotometric determination of vanadium in water samples. **Turkish Journal of Chemistry**, Ankara, v. 35, n. 4, p. 625-636, 2011.

[75] AMIN, A.S. Solid-phase spectrophotometric determination of trace amounts of vanadium using 2,3-dichloro-6(3-carboxy-2-hydroxynaphthylazo) quinoxaline. **Spectrochimica Acta Part A**, Amsterdam, v. 59, n. 5, p. 1025-1033, 2003.

[76] AYORA-CAÑADA, M.J.; MOLINA-DÍAZ, A.; PASCUAL-REGUERA, M.I. Determination of vanadium by solid-phase spectrophotometry in a continuous flow system. **International Journal of Environmental Analytical Chemistry**, Boca Raton, v. 76, n. 4, p. 319-330, 2000.

[77] AL-TAYAR, N.G.S.; NAGARAJA, P.; VASANTHA, R.A.; SHRESTA, A.K. A spectrophotometric assay method for vanadium in biological and environmental samples using 2,4-dinitrophenylhydrazine with imipramine hydrochloride. **Environmental Monitoring and Assessment**, Berlin, v. 184, n. 1, p. 181-191, 2012.

[78] BOUDRA, S.; BOSQUE-SENDRA, J.M.; VALENCIA, M.C. Determination of vanadium by solid-phase spectrophotometry after its preconcentration as an Eriochrome Cyanine R complex on a dextran-type exchanger. **Talanta**, Amsterdam, v. 42, n. 10, p. 1525-1532, 1995.

[79] OGUMA, K.; YOSHIOKA, O.; NORO, J.; SAKURAI, H. Simultaneous determination of vanadium(IV) and vanadium(V) by flow injection analysis using kinetic spectrophotometry with Xylenol Orange. **Talanta**, Amsterdam, v. 96, p. 44-49, 2012.

[80] ITABASHI, H.; UMETSU, K.; SATOH, K.; KAWASHIMA, T. Indirect spectrophotometric determination of vanadium(IV) by flow-injection analysis based on the redox reaction with copper(II) in the presence of neocuproine. **Analytical Letters**, New York, v. 24, n. 7, p. 1219-1230, 1991.

[81] AMIN, A.S.; SABER, A.L.; MOHAMMED, T.Y. Study on solid phase extraction and spectrophotometric determination of vanadium with 2,3-dichloro-6-(2,7-dihydroxy-1-naphthylazo)quinoxaline. **Spectrochimica Acta Part A**, Amsterdam, v. 73, n. 1, p. 195-200, 2009.

[82] CURRIE, L.A. Limits for qualitative detection and quantitative determination: application to radiochemistry. **Analytical Chemistry**, Washington, v. 40, n. 3, p. 586, 1968.

[83] PINTO, J.J.; GARCÍA-VARGAS, M.; MORENO, C. A bulk liquid membrane-flow injection (BLM-FI) coupled system for the preconcentration and determination of vanadium in saline waters. **Talanta**, Amsterdam, v. 103, p. 161-165, 2013.

[84] OFFICE OF ENVIRONMENTAL HEALTH HAZARD ASSESSMENT. **Proposed notification level for vanadium**. Disponível em: <http://oehha.ca.gov/water/pals/vanadium.html#sthash.2a0asEnm.dpuf>. Acesso em: 10 jun. 2014.

[85] NARAYANA, S.L.; REDDY, K.J.; REDDY, S.A.N.; SARALA, Y.; REDDY, A.V. A highly sensitive spectrophotometric determination of micro amounts of vanadium(V) in environmental and alloy samples by using 3, 4-dihydroxybenzaldehydeisonicotinoylhydrazone (3,4-DHBINH). **Environmental Monitoring and Assessment**, Berlin, v. 144, n. 1, p. 341-349, 2008.

[86] DURUKAN, I.; SAHIN, C.A.; SATIROGLU, N.; BEKTAS, S. Determination of iron and copper in food samples by flow injection cloud point extraction flame atomic absorption spectrometry. **Microchemical Journal**, Amsterdam, v. 99, n. 1, p. 159-163, 2011.

[87] MIYAZAWA, M.; PAVAN, M.A.; CHIERICE, G.O. Determinação de alumínio em soluções puras contendo ácidos orgânicos e em solo com eletrodo seletivo de fluoreto. **Química Nova**, São Paulo, v. 15, n. 4, p. 286-290, 1992.

[88] MAHAN, B. M. **Química:** um curso universitário. São Paulo: Edgard Blucher, 2003.

[89] TRANDAFIR, I.; NOUR, V.; IONICA, M.H. Determination of tin in canned foods by inductively coupled plasma - mass spectrometry. **Polish Journal of Environmental Studies**, Olsztyn, v. 21, n. 3, p. 749-754.

[90] FILGUEIRAS, C.A.L. A nova química do estanho. **Química Nova**, São Paulo, v. 21, n. 2, p. 176-192, 1998.

[91] HANLEY, G. **Surfactant sensitised colorimetric reactions in inorganic analysis**. Dublin: Dublin City University, 1988.

[92] GREENWOOD, N.N.; EARNSHAW, A. **Chemistry of the elements**. Oxford: Pergamon Press, 1984.

[93] OSTRAKHOVITCH, E.A.; CHERIAN, M.G. **Handbook on the toxicological of metals:** Tin. Amsterdam: Academic Press, 2007.

[94] MADRAKIAN, T.; GHAZIZADEH, F. Micelle-mediated extraction and determination of tin in soft drink and water samples. **Journal of the Brazilian Chemical Society**, São Paulo, v. 20, n. 8, p. 1535-1540, 2009.

[95] U.S. DEPARTMENT OF HEALTH AND HUMAN SERVICES. Public Health Service Agency for Toxic Substances and Disease Registry. **Tin and tin compounds**. Disponível em: <http://www.atsdr.cdc.gov/tfacts55.pdf.> Acesso em: 23 abr. 2014.

[96] QUEVAUVILLER, P.; LAVIGNE, R.; PINEL, R.; ASTRUC, M. Organo-tins in sediments and mussels from the sado estuarine system (Portugal). **Environmental Pollution**, Amsterdam, v. 57, n. 2, p. 149-166, 1989.

[97] BROWN, R.A.; NAZARIO, C.M.; TIRADO, R.S.; CASTRILLON, J.; AGARD, E. T. A comparison of the half-life of inorganic and organic tin in the mouse. **Environmental Research**, Amsterdam, v. 13, n. 1, p. 56-61, 1977.

[98] AMJADI, M.; MANZOORI, J.L.; HAMEDPOUR, V. Optimized ultrasound-assisted temperature-controlled ionic liquid microextraction coupled with FAAS for determination of tin in canned foods. **Food Analytical Methods**, Berlin, v. 6, n. 6, p.1657-1664, 2013.

[99] BLUNDEN, S.; WALLACE, T. Tin in canned food; a review and understanding of occurence and effect. **Food and Cosmetics Toxicology**, Amsterdam, v. 41, n.12, p. 1651-1652, 2003.

[100] PERRING, L.; BASIC-DVORZAK, M. Determination of total tin in canned food using inductively coupled plasma atomic emission spectroscopy. **Analytical and Bioanalytical Chemistry**, Berlin, v. 374, n. 2, p. 235-243, 2002.

[101] SHIMBO, S.; WATANABE, T.; NAKATSUKA, H.; YAGINUMA-SAKURAI, K.; IKEDA, M. Dietary tin intake and association with canned food consumption in Japanese preschool children. **Environmental Health and Preventive Medicine**, Berlin, v. 18, n. 3, p. 230-236, 2013.

[102] AGÊNCIA NACIONAL DE VIGILÂNCIA SANITÁRIA. **Lei nº 9.832, de 14 de setembro de 1999**. Brasília: ANVISA, 1999.

[103] EUROPEAN COMMISSION. **Setting maximum levels for certain contaminants in foodstuffs nº 1881/2006.** Paris: European Commission, 2006.

[104] WELNA, M.; SZYMCZYCHA-MADEJA, A. Evaluation of optimal conditions for determination of low tin content in fresh and canned tomato samples using hydride generation inductively coupled plasma optical emission spectrometry. **Food Analytical Methods**, Berlin, v.7, p.127–134, 2014.

[105] YUAN, C.G.; JIANG, G.B.; HE, B.; LIU, J.F. Preconcentration and determination of tin in water samples by using cloud point extraction and graphite furnace atomic absorption spectrometry. **Microchimica Acta**, Berlin, v.150, p. 329–334, 2005.

[106] GAO, Z.Q.; SIOW, K.S. Adsorptive stripping differential pulse voltammetric determination of trace amounts of tin in biological samples. **Analytical Sciences**, Tokyo, v. 12, n. 2, p. 267-271, 1996.

[107] MENDEZ, J.H.; CORDERO, B.M.; MARTINEZ, R.C.; DAVILA, L.G. Spectrophotometric determination of tin (IV) with catechol violet sensitized with polyvinylpirrolidone. **Microchemical Journal**, Amsterdam, v. 35, n. 3, p. 288-292, 1987.

[108] YU, Z.H.; SUN, J.Q.; JING, M.; CAO, X.; LEE, F., WANG, X.R. Determination of total tin and organotin compounds in shellfish by ICP-MS. **Food Chemistry**, Amsterdam, v.119, p. 364–367, 2010.

[109] CAPITAIN-VALLVEY, L.F.; VALENCIA, M.C.; MIRÓN, G. Flow-injection method for the determination of tin in fruit juices using solid-phase spectrophotometry. **Analytica Chimica Acta**, Amsterdam, v. 289, n. 3, p. 365-370, 1994.

[110] COSTA, A.C.S.; TEIXEIRA, L.S.G.; FERREIRA, S.L.C. Spectrophotometric determination of tin in copper-based alloys using pyrocatechol violet. **Talanta**, Amsterdam, v. 42, n. 12, p. 1973-1978, 1995.

[111] HUANG, X.R.; ZHANG, W.J.; HAN, S.H.; WANG, X.Q. Determination of tin in canned foods by UV/visible spectrophotometric technique using mixed surfactants. **Talanta**, Amsterdam, v. 44, n. 5, p. 817-822, 1997

[112] MADRAKIAN, T.; AFKHAMI, A.; MOEIN, R.; BAHRAM, M. Simultaneous spectrophotometric determination of Sn(II) and Sn(IV) by mean centering of ratio kinetic profiles and partial least squares methods. **Talanta**, Amsterdam, v. 72, n. 5, p. 1847-1852, 2007.

[113] ROSS, W.J.; WHITE, J.C. Application of pyrocatechol violet as a colorimetric reagent for tin. **Analytical Chemistry**, Washington, v. 33, n. 3, p. 421-424, 1961.

[114] WAKLEY, W.D.; VARGA, L.P. Stability constants of tin-pyrocatechol violet complexes from computer analysis of absorption spectra. **Analytical Chemistry**, Washington, v. 44, n. 1, p. 169-178, 1972.

[115] BAILEY, B.W.; CHESTER, J.E.; DAGNALL, R.M.; WEST, T.S. Analytical applications of ternary complexes. VII. Elucidation of mode of formation of sensitized metal-chelate systems and determination of molybdenum and antimony. **Talanta**, Amsterdam, v. 15, n. 12, p. 1359-1369, 1968.

[116] CORBIN, H.B. Rapid and selective pyrocatechol violet method for tin. **Analytical Chemistry**, Washington, v. 45, n. 3, p. 534-537, 1973.

[117] DAGNALL, R.M.; WEST, T.S.; YOUNG, P. Catechol violet colour reaction for tin(IV) sensitised by cetyltrimethylammonium bromide. **Analyst**, London, v. 92, n. 1090, p. 27, 1967.

[118] ZOU, X.; LI, Y.; LI, M.; ZHENG, B.; YANG, J. Simultaneous determination of tin, germanium and molybdenum by diode array detection–flow injection analysis with partial least squares calibration model. **Talanta**, Amsterdam, v. 62, p. 719–725, 2004.

[119] NUNES, L.C.; BRAGA, J.W.B.; TREVIZAN, L.C.; SOUZA, P.F.; CARVALHO, G.G.A.; SANTOS, D.; POPPI, R.J.; KRUG, F.J. Optimization and validation of a LIBS method for the determination of macro and micronutrients in sugar cane leaves. **Journal of Analytical Atomic Spectrometry**, London, v. 25, n. 9, p. 1453-1460, 2010.

[120] SANTOS JUNIOR, D.; TARELHO, L.V.G.; KRUG, F.J.; MILOR, D.M.B.P.; MARTIN NETO, L.; VIEIRA JUNIOR, N.D. Espectrometria de emissão óptica com plasma induzido por laser (LIBS): fundamentos, aplicações e perspectivas. **Revista Analytica**, São Paulo, n. 24, p. 72-81, 2006.

[121] BARÃO, M.Z. **Embalagens para produtos alimentícios**. Brasília: Serviço Brasileiro de Repostas Técnicas, 2011. (Dossiê Técnico).

[122] ASSOCIAÇÃO BRASILEIRA DE EMBALAGEM DE AÇO. **Como são produzidas as latas de aço**. Disponível em: <http//www.abeaco.org.br/latas.html>. Acesso em: 15 maio 2014.