

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

FELISBERTO GONÇALVES SANTOS JUNIOR

**Determinação fotométrica de sulfato e cloreto em coque de
petróleo, molibdênio em plantas e zinco em águas empregando
multicomutação com bomba de seringa**

Piracicaba

2016

FELISBERTO GONÇALVES SANTOS JUNIOR

Determinação fotométrica de sulfato e cloreto em coque de petróleo, molibdênio em plantas e zinco em águas empregando multicomutação com bomba de seringa

Versão revisada de acordo com a Resolução CoPGr 6018 de 2011

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

Área de Concentração: Química na Agricultura e no Ambiente

Orientador: Prof. Dr. Boaventura Freire dos Reis

Piracicaba

2016

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

Santos Junior, Felisberto Gonçalves

Determinação fotométrica de sulfato e cloreto em coque de petróleo, molibdênio em plantas e zinco em águas empregando multicomutação com bomba de seringa / Felisberto Gonçalves Santos Junior; orientador Boaventura Freire dos Reis. - - versão revisada de acordo com a Resolução CoPGr 6018 de 2011. - - Piracicaba, 2016.

158 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. Análise em fluxo contínuo 2. Bomba de seringa 3. Espectrofotometria
4. Química ambiental 5. Química analítica 6 Sistemas de propulsão I. Título

CDU (543.48 + 543.068.3) 546.3

*Dedico este trabalho aos meus queridos e amados pais, **Maria Osmunda e Felisberto** que sempre me apoiam em tudo que desejo fazer, estão sempre torcendo, rezando e incentivando, agradeço pela força e por acreditar em mim. Aos meus amados e queridos irmãos **Jardel e Jadson** meu muito obrigado pela força e apoio sempre.*

Amo vocês!

Agradecimentos

Agradeço a Deus por me acompanhar e orientar meus caminhos, me dando forças para realizar mais essa etapa na minha vida.

Agradeço ao Professor Boaventura pela orientação durante todo período da pós-graduação, pelos ensinamentos não só acadêmicos, mas também ensinamentos que ficarão para vida, meu muito obrigado.

À professora da iniciação científica Elizabeth, querida Beth, pela amizade, força, por acreditar que eu poderia chegar mais longe, mais que uma orientadora, uma amiga, sempre ensinando, incentivando. Não tenho nem palavras para agradecer, meu muito obrigado.

A minha amada e querida família, minha mãe, meu pai os meus dois queridos irmãos Jadson e sua namorada Railane, Jardel e sua esposa Fabiana e seu filho Nicolas, o sobrinho mais querido e amado, muito obrigado pelas orações e força durante todo esse processo, que nossos laços se fortaleçam sempre.

A todos os meus familiares, tios, tias, primos, primas, padrinho e madrinha, obrigado pelas orações e força.

À minha querida avó Francisca (in memoriam) sempre rezando por mim, não pôde ver até onde cheguei, mas onde quer que esteja estará sempre olhando por mim.

A todos os amigos de Santa Luzia e Imperatriz que estão sempre na torcida.

Aos amigos Tuanne, Andréia e Alessandra, Jeová agradeço pela força que me deram na minha chegada a Piracicaba por ter me acolhido em sua casa. Nosso convívio diário, nossas conversas, desabafos, angústias, desejos e momentos de descontração, momentos que ficarão para sempre na minha memória. Obrigado a todos!

A todos os colegas do grupo durante todo esse período: Gláucia, Carla, Tuanne, Alessandra, Marcos Brasil, Diogo, Ticiane e Manoel, pelos bons momentos de conversas científicas e descontração.

À amiga e técnica do laboratório Sheila Roberta pelo apoio, sempre disposta a ajudar, pelos momentos de conversas, descontração e conselhos meu muito obrigado por tudo.

Aos professores do Cena: Fábio Rocha, Elias Zagatto, Francisco Krug, Maria Fernanda, José Santista.

Aos técnicos do laboratório da Química Analítica, Fátima “querida Fafá” pelos bolos, Tatinha, Valdemir, Liz e Cláudia secretária da seção.

A todos os colegas da Química Analítica, os que ainda estão e os que passaram durante todo esse período pelas conversas e bons momentos de descontração no café, e também na caminhada para o restaurante universitário, momentos bons.

Aos amigos Milton e Tuanne pela amizade e conversas científicas e Mário Feres e Renata pelo apoio e amizade.

Ao Cena, ao programa de Pós-graduação em Química em especial ao Laboratório de Química Analítica “Henrique Bergamin Filho” por ter

disponibilizado toda a infraestrutura e materiais indispensáveis para realização deste trabalho.

Aos Professores Érico Flores e Cezar Bizzi, e suas alunas Letícia e Sandra da Universidade Federal de Santa Maria por ter disponibilizadas as amostras da primeira parte da tese e por ter me recebido no laboratório para o período de estágio.

Aos Professores: Fábio, Marcos Kamogawa e Jarbas pelas sugestões na qualificação.

Ao professor Victor Cerdà da Universitat de les Illes Balears, Palma de Mallorca, Espanha. Laboratório de Química Analítica, Automatización y Medio Ambiente e todos do seu grupo de pesquisa por ter me recebido para a realização do período de doutorado sanduíche.

A Coordenação de Aperfeiçoamento de Pessoal de Nível Superior (CAPES), pela concessão da bolsa nos primeiros seis meses.

À Fundação de Amparo à Pesquisa do Estado de São Paulo (FAPESP) processo 2013/05728-2 pela concessão da bolsa.

Muito obrigado a todos!

“A vontade de se preparar precisa ser maior que a vontade de vencer.”
BOB KNIGHT

“Superação é ter a humildade de aprender com o passado, não se conformar com o presente e desafiar o futuro.”

HUGO BETHLEM

TEMPO PARA TUDO

Tudo neste mundo tem seu tempo;

cada coisa tem sua ocasião.

Há um tempo de nascer e tempo de morrer;

tempo de plantar e tempo de arrancar;

tempo de matar e tempo de curar;

tempo de derrubar e tempo de construir;

Há tempo de ficar triste e tempo de se alegrar:

tempo de chorar e tempo de dançar;

tempo de espalhar pedras e tempo de ajuntá-las;

tempo de abraçar e tempo de afastar;

Há tempo de procurar e tempo de perder;

tempo de economizar e tempo de desperdiçar;

tempo de rasgar e tempo de remendar;

tempo de ficar calado e tempo de falar.

Há tempo de amar e tempo de odiar

tempo de guerra e tempo de paz.

Eclesiastes 3, 1-8

RESUMO

SANTOS JUNIOR, F. G. **Determinação fotométrica de sulfato e cloreto em coque de petróleo, molibdênio em plantas e zinco em águas empregando multicomutação com bomba de seringa.** 2016. 158 p. Tese (Doutorado) – Centro de Energia Nuclear na Agricultura, Universidade de São Paulo, Piracicaba, 2016.

Nesta tese foram desenvolvidos procedimentos analíticos fotométricos automáticos para determinação simultânea de sulfato e cloreto em coque de petróleo, molibdênio em plantas sem etapa de pré-concentração com solvente orgânico e zinco em águas empregando microextração líquido-líquido. Em todos os procedimentos reportados nesta tese, o módulo de análise foi baseado no processo de multicomutação, utilizou-se bomba de seringa como propulsor de fluidos e válvulas solenoide de três vias como dispositivos de comutação para controlar as inserções das alíquotas da amostra e dos reagentes no percurso analítico. As detecções fotométricas foram realizadas empregando fotômetros de LEDs, construídos para este projeto, equipados com celas de fluxo com caminho óptico longo (50,0 mm para cloreto, sulfato e zinco, 200,0 mm para molibdênio). O fotômetro foi construído com LEDs de alto brilho como máximos de emissão em 472 nm para cloreto, sulfato e molibdênio e 525 nm para zinco. Os procedimentos para determinação simultânea de sulfato e cloreto apresentaram faixa linear entre 10-700 mg L⁻¹; 0,25-10 mg L⁻¹; limite de detecção de 5,3 mg L⁻¹; 0,16 mg L⁻¹; coeficiente de variação de 3,0%; 0,9 % (n=10), respectivamente, e frequência de amostragem de 75 determinações por hora para cada analito. O procedimento para determinação de molibdênio apresentou faixa linear entre 50 – 500 µg L⁻¹, limite de detecção 9,1 µg L⁻¹, coeficiente de variação 1,07% (n=10) e frequência de amostragem de 51 determinações por hora. O procedimento para zinco apresentou uma faixa linear entre 10-100 µg L⁻¹, limite de detecção 8,3 µg L⁻¹, coeficiente de variação 3,3% (n=10) e frequência de amostragem de 19 determinações por hora.

Palavras-chaves: Sulfato. Cloreto. Molibdênio. Zinco. Coque de petróleo. Plantas. Águas. Sistemas de análises em fluxo com multicomutação. Bomba de seringa. Espectrofotometria. Fotômetro de LED.

ABSTRACT

SANTOS JUNIOR, F. G. **Photometric determination of sulfate and chloride in petroleum coke, molybdenum in plants and zinc in water employing multicommutation with syringe pump.** 2016. 158 p. Tese (Doutorado) – Centro de Energia Nuclear na Agricultura, Universidade de São Paulo, Piracicaba, 2016.

In this thesis, automated photometric analytical procedures for simultaneous determination of sulfate and chloride in petroleum coke, molybdenum in plants without pre-concentration step and zinc in water using liquid-liquid microextraction were developed. All procedures reported in this thesis, employed flow analysis modules based on multicommutated process, syringe pump for fluid propulsion and solenoid three-way valves as commutation devices the insertion aliquots of sample and reagents solutions in the analytical path. Photometric detections were performed, using LEDs-photometers, built for this project, equipped with flow cells with long optical path (50.0 mm for chloride, sulfate and zinc, 200.0 mm for molybdenum) and the high intense radiation beam LEDs with maximum emission at 472 nm for chloride, sulfate and molybdenum and 525 nm for zinc. The procedures for simultaneous determination of sulfate and chloride showed linear response between 10 to 700 mg L⁻¹; 0.25 to 10 mg L⁻¹; detection limit of 5.3 mg L⁻¹; 0.16 mg L⁻¹; variation coefficient of 3.0%; 0.9% (n = 10), respectively, and sampling throughput of 75 determinations per hour for each analyte. The procedure for molybdenum presented a linear response between 50 to 500 µg L⁻¹, detection limit of 9.1 µg L⁻¹, variation coefficient of 1.07% (n = 10) and sampling throughput of 51 determinations per hour. The procedure for zinc showed linear response between 10 to 100 µg L⁻¹, detection limit of 8.3 µg L⁻¹, variation coefficient of 3.3% (n = 10) and sampling throughput of 19 determinations per hour.

Keywords: Sulfate. Chloride. Molybdenum. Zinc. Petroleum coke. Plants. Water. Multicommutated flow analysis systems. Syringe pump. Spectrophotometry. LED-based photometer.

LISTA DE FIGURAS

Figura 1 - Diagrama da bomba de seringa com motor de corrente contínua	39
Figura 2 - Diagrama da interface de controle do motor de corrente contínua	39
Figura 3 - Diagrama de blocos do sistema de controle da bomba de seringa com motor de passo.....	41
Figura 4 - Vista do motor de passo	41
Figura 5 - Peça para alinhamento da plataforma das seringas com motor de passo	42
Figura 6 - Vista tridimensional da plataforma da bomba de seringa com motor de passo.....	43
Figura 7 - Vista da disposição das seringas na placa móvel.....	44
Figura 8 - Interface de controle da bomba de seringa como motor de passo	45
Figura 9 - Interface de acionamento do motor de passo	46
Figura 3.1 - Diagrama dos fotômetros utilizados na determinação simultânea de sulfato e cloreto	59
Figura 3.2 - Diagrama do módulo de análises para determinação simultânea de sulfato e cloreto	61
Figura 3.3 - Diagrama da interface de controle para motor de passo	63
Figura 3.4 - Efeito da concentração do reagente	67
Figura 3.5 - Estudo da acidez do reagente	68
Figura 3.6 - Estudo da concentração do surfactante.....	69
Figura 3.7 - Efeito do volume da amostra	70
Figura 3.8 - Efeito do volume de reagente	71
Figura 3.9 - Efeito do comprimento da alça de amostragem.....	72
Figura 3.10 - Efeito do número de ciclos de amostragem	73
Figura 3.11 - Registro de um sinal transiente.....	74
Figura 3.12 - Efeito da concentração de tiocianato de mercúrio	76
Figura 3.13 - Efeito da concentração de ferro (III).....	77
Figura 3.14 - Efeito do volume de reagente	78
Figura 3.15 - Efeito do volume de amostra.....	79
Figura 3.16 - Efeito do número de ciclos de amostragem	80
Figura 3.17 - Cromatograma de uma amostra de coque após digestão por MIC.....	82
Figura 3.18 - Sinais transientes obtidos simultaneamente.....	82
Figura 4.1 - Diagrama do fotômetro utilizado na determinação de molibdênio.....	91

Figura 4.2 - Diagrama da interface para acionar o motor de passo	92
Figura 4.3 - Diagrama do módulo de análises para determinação de molibdênio	94
Figura 4.4 - Efeito da concentração do agente redutor.....	98
Figura 4.5 - Efeito da concentração de ácido clorídrico	99
Figura 4.6 - Efeito da concentração de tiocianato de potássio	100
Figura 4.7 - Efeito da concentração de ferro(III)	101
Figura 4.8 - Efeito do comprimento da bobina de reação	102
Figura 4.9 - Efeito do volume da alíquota da amostra..	103
Figura 4.10 - Efeito do volume do reagente.....	104
Figura 5.1 - Diagrama do fotômetro utilizado na determinação de zinco	117
Figura 5.2 - Diagrama do módulo de análises para determinação de zinco	118
Figura 5.3 - Espectro de absorção do complexo zinco(II) com ditizona.....	122
Figura 5.4 - Efeito da alcalinidade do meio.....	123
Figura 5.5 - Efeito da concentração de citrato de amônio.....	124
Figura 5.6 - Efeito do volume da solução citrato de amônio	125
Figura 5.7 - Efeito do agente mascarante.....	126
Figura 5.8 - Efeito da concentração do agente mascarante.	127
Figura 5.9 - Efeito do volume do agente mascarante	128
Figura 5.10 - Efeito do volume de amostra	129
Figura 5.11 - Efeito da concentração de ditizona.....	130

LISTA DE TABELAS

Tabela 1 - Vazão em função da frequência para motor de passo.	48
Tabela 3.1 - Sequência de eventos para determinação simultânea de sulfato e cloreto.	64
Tabela 3.2 - Valores experimentais obtidos após a otimização do sistema proposto	73
Tabela 3.3 - Comportamento do fotômetro em função do tempo de atraso.	75
Tabela 3.4 - Valores experimentais selecionados após a otimização.	81
Tabela 3.5 - Comparação dos resultados para cloreto e sulfato em coque de petróleo.	83
Tabela 3.6 - Comparação de procedimentos para determinação de sulfato e cloreto.	84
Tabela 4.1 - Sequência de eventos para determinação de molibdênio.	96
Tabela 4.2 - Efeito dos potenciais interferentes Co e Cu na determinação de molibdênio.	105
Tabela 4.3 - Características analíticas obtida com os parâmetros otimizados, para determinação de molibdênio.	106
Tabela 4.4 - Comparação entre método proposto para determinação de molibdênio e o método de referência.	106
Tabela 4.5 - Ensaio de recuperação.	107
Tabela 4.6 - Comparação de procedimento espectrofotométrico para determinação de molibdênio com tiocianato.	108
Tabela 5.1 - Sequência de eventos para determinação de zinco.	120
Tabela 5.2 - Efeito dos potenciais interferentes na determinação de zinco.	131
Tabela 5.3 - Características analíticas obtida com os parâmetros otimizados para determinação de zinco.	132
Tabela 5.4 - Comparação entre método proposto para determinação de zinco e o método de referência.	133
Tabela 5.5 - Efeito de recuperações em amostras de água mineral e torneira.	133
Tabela 5.6 - Comparação de procedimentos extração líquido-líquido para determinação de zinco.	134

LISTA DE SIGLAS

- AOAC:** Association of Official Analytical Chemists
- ASTM:** American Society for Testing and Materials
- CONAMA:** Conselho nacional do meio ambiente
- CV-AFS:** Espectrometria de fluorescência atômica com vapor frio
- CENA:** Centro de Energia Nuclear na Agricultura
- DLLME:** Microextração líquido-líquido dispersiva
- EDTA:** Ácido etilenodiaminotetracético
- ELL:** Extração líquido-líquido
- ETAAS:** Espectrometria de absorção atômica com atomização eletrotérmica
- FIA:** Sistema de análises por injeção em fluxo
- FAAS:** Espectrometria de absorção atômica com chama
- HG-AFS:** Espectrometria de fluorescência atômica com geração de hidreto
- ICP-MS:** Espectrometria de massa com plasma indutivo
- ICP OES:** Espectrometria de emissão óptica com fonte de plasma acoplado indutivamente
- LED:** Diodo emissor de luz
- MIC:** Combustão induzida por micro-ondas
- MCFA:** Sistema de análises em fluxo com multicomutação
- MSFA:** Sistema de análises em fluxo com multiseringa
- SIA:** Sistema de análises por injeção sequencial
- SFODME:** Microextração com gota solidificada flutuante
- UV-vis:** Ultravioleta-visível

SUMÁRIO

APRESENTAÇÃO	27
1. INTRODUÇÃO	29
1.1. Análises por injeção em fluxo	29
1.2. Sistemas de análises em fluxo com multicomutação	31
1.3. Sistemas de análises em fluxo com multiseringa	34
1.4. Fotometria e análises em fluxo	35
1.5. Fotometria com cela de longo caminho	36
1.6. Desenvolvimento da bomba de seringa	38
2. Objetivo	48
3. Procedimento para determinação simultânea de sulfato e cloreto em coque de petróleo empregando o processo de análises em fluxo.	49
3.1. Introdução	49
3.1.1. Determinação de sulfato	50
3.1.2. Determinação de cloreto	53
3.1.3. Sistemas de análises em fluxo com determinação simultânea	54
3.2. Experimental	56
3.2.1. Reagentes e soluções	56
3.2.2. Preparo das amostras	57
3.2.3. Equipamentos e acessórios	57
3.2.4. Descrição do módulo de análises	60
3.3. Resultados e Discussão	65
3.3.1. Sulfato	65
3.3.1.1. Estudo da adição de sulfato	66
3.3.1.2. Estudo da concentração do reagente	66
3.3.1.3. Estudo da acidez do reagente	67
3.3.1.4. Estudo da concentração de EDTA	68
3.3.1.5. Estudo da concentração de surfactante	69
3.3.1.6. Estudo do volume da amostra	70
3.3.1.7. Estudo do volume de reagente	71
3.3.1.8. Estudo do comprimento da alça de amostragem	71
3.3.1.9. Estudo do número de ciclos de amostragem	72
3.3.2. Cloreto	75
3.3.2.1. Estudo da concentração de tiocianato de mercúrio	76
3.3.2.2. Estudo da concentração de ferro (III)	77

3.3.2.3. Estudo do volume de reagente	77
3.3.2.4. Estudo do volume de amostra	78
3.3.2.5. Estudo do número de ciclos de amostragem	80
3.3.3. Avaliação do procedimento MIC para a determinação de sulfato e cloreto em sistema de análises em fluxo por multicomutação.....	81
3.3.4. Determinação simultânea de sulfato e cloreto	82
3.4. Conclusão.....	85
4. Sistema em fluxo para determinação de molibdênio em plantas sem etapa de pré-concentração.....	86
4.1. Introdução.....	86
4.2. Experimental.....	89
4.2.1. Reagentes e soluções	89
4.2.2. Preparo das amostras.....	90
4.2.3. Equipamentos e acessórios.....	90
4.2.4. Descrição do módulo de análises	92
4.3. Resultados e Discussão	96
4.3.1. Estudo da concentração do agente redutor	97
4.3.2. Estudo da concentração de ácido clorídrico	99
4.3.3. Estudo da concentração de tiocianato de potássio.....	99
4.3.4. Estudo da concentração de ferro	100
4.3.5. Estudo do comprimento da bobina de reação	102
4.3.6. Estudo do volume de amostra	103
4.3.7. Estudo do volume do reagente	104
4.3.8. Estudo dos potenciais interferentes	104
4.4. Conclusão.....	109
5. Procedimento de microextração líquido-líquido em fluxo para determinação de zinco em águas.....	110
5.1. Introdução.....	110
5.2. Extração líquido-líquido	112
5.3. Experimental.....	115
5.3.1. Reagentes e soluções	115
5.3.2. Preparo das amostras.....	116
5.3.3. Equipamentos e acessórios.....	116
5.3.4. Descrição do módulo de análises	117
5.4. Resultados e Discussão	121
5.4.1. Efeito da alcalinidade do meio	122

5.4.2. Estudo da concentração da solução citrato de amônio	123
5.4.3. Estudo do reagente mascarante	125
5.4.4. Estudo do volume de amostra	128
5.4.5. Estudo da concentração do reagente.....	129
5.4.6. Estudo dos potenciais interferentes	130
5.4.7. Determinação de zinco em águas	132
5.5. Conclusão	134
6. CONCLUSÕES FINAIS	135
REFERÊNCIAS.....	137

APRESENTAÇÃO

Na primeira parte da tese, é abordado o desenvolvimento de um procedimento para determinação simultânea de sulfato e cloreto em coque de petróleo. Foram utilizadas metodologias clássicas: para sulfato baseada na reação com cloreto de bário com detecção turbidimétrica; e para cloreto baseada na reação de cloreto com tiocianato de mercúrio, na qual o ânion SCN^- deslocado reage com ferro (III) e forma o composto a ser detectado.

A segunda parte compreende o procedimento para determinação de molibdênio em plantas sem etapa de pré-concentração. Este analito é frequentemente determinado por espectrofotometria, usando a reação do Mo(V) com tiocianato, na qual o complexo formado é extraído com um solvente orgânico, geralmente álcool isoamílico. Neste trabalho, foi empregado um fotômetro com cela de fluxo de longo caminho óptico (200 mm), em substituição a etapa de pré-concentração com solvente orgânico. Com este recurso, o ganho de sensibilidade foi suficiente para permitir a determinação de molibdênio em material vegetal.

Na terceira parte, é abordado um procedimento de extração líquido-líquido para a determinação de zinco em águas com detecção fotométrica, usando um fotômetro de LED com cela de fluxo de 50 mm de caminho óptico. A reação entre zinco(II) e ditizona foi utilizada neste procedimento. Este método utiliza como extrator tetracloreto de carbono ou clorofórmio e, nesta parte da tese, foi utilizado o clorofórmio. O módulo de análises compreende válvulas solenoide para gerenciar as soluções e uma câmara *flow-batch* para extração. Este arranjo permitiu que a reação para formação do complexo e a extração ocorressem ao mesmo tempo. A mistura entre a fase aquosa e a orgânica foi realizada, empregando uma haste de vidro, acoplada a um motor de corrente contínua. A agitação obtida com alta rotação da haste facilitou a reação e a extração do complexo formado.

Todos esses procedimentos foram realizados com o uso de uma bomba de seringa *homemade* composta de um motor de corrente contínua ou motor de passo para movimentação dos êmbolos das seringas; as seringas utilizadas foram de vidro com capacidade de 5 mL.

1. INTRODUÇÃO

1.1. Análises por injeção em fluxo

O processo de análise por injeção em fluxo contínuo foi proposto em 1975 por Ruzicka e Hansen e foi denominado análise por injeção em fluxo, representado pela sigla FIA, do inglês *Flow Injection Analysis* [1,2]. Este processo tem como base a inserção de uma alíquota de amostra em um fluido transportador. Ao longo do percurso analítico, a amostra é dispersa na solução transportadora e recebe adição de reagentes por confluência para que ocorra a reação química e o composto formado é transportado para um sistema de detecção. Quando o composto passa pelo sistema de detecção, é gerado um sinal transiente em função do tempo, e o valor máximo é proporcional à concentração do analito [2,3].

Os sistemas de análises em fluxo podem ser divididos em 4 partes, um dispositivo para propulsão de fluido, um para inserção da amostra, um reator e um detector. A bomba peristáltica é o dispositivo de propulsão mais utilizado para propulsão de fluidos em sistemas de análises em fluxo [2]. Outros dispositivos como bomba de seringa [4], mini-bomba solenoide [5] também têm sido usados, incluindo também força da gravidade [6].

Nos primeiros trabalhos, a inserção da alíquota da amostra era realizada usando uma seringa hipotérmica [1], e o uso deste dispositivo deu origem ao nome do processo "análise por injeção em fluxo". Em substituição a esse dispositivo de inserção de amostra, pesquisadores do CENA/USP desenvolveram o injetor comutador [7]. Com este dispositivo, foram projetados módulos de análises mais versáteis. Válvulas solenoide de três vias [8], mini-bomba solenoide [6], são dispositivos também utilizados para inserção de amostra e de soluções de reagentes no percurso analítico.

Quanto à detecção, o sistema FIA têm sido usado com diversas técnicas de detecção, entre elas detecção eletroanalíticas [1,9], espectrometria de absorção atômica com chama [10], espectrometria de emissão atômica com plasma acoplado indutivamente [11] e espectrofotometria UV-vis [12,13,14].

Os sistemas de análises por injeção em fluxo têm pouca manipulação humana, as reações ocorrem em ambientes fechados, utilizam pequenos volumes de amostras e de reagentes, conseqüentemente há menor geração de resíduos, além disso, apresentam frequência superior a 100 determinações por hora [15].

O sistema de análises em fluxo mais simples é o de linha única. A alíquota da amostra é inserida no fluido transportador, formado pela solução do reagente, bombeada em direção ao detector. Durante o transporte, a amostra sofre dispersão continuamente, gerando um gradiente de concentração durante o transporte através do percurso analítico. Durante esse trajeto ocorrem as reações químicas necessárias para detecção do analito. Parâmetros tais como volume da alíquota da amostra, vazão da tubulação e comprimento do percurso analítico devem ser estudados, no intuito de encontrar as melhores condições reacionais.

Os sistemas em linha única apresentavam limitação quanto à mistura da amostra e do reagente. Neste caso, o reagente era o fluido transportador e a mistura ocorria apenas por dispersão através das duas interfaces de contato. Dependendo do volume da amostra inserido, da concentração do reagente e do comprimento do percurso analítico a quantidade de reagente na região mais concentrada da zona da amostra poderia não ser suficiente para atender a estequiometria da reação [16].

Esta deficiência foi superada usando um fluido inerte como transportador e adicionando as soluções de reagentes por confluência ao longo do percurso analítico. O fluido transportador inerte deve ter propriedades físicas e químicas próximas da solução da amostra, mas não deve participar da reação com o analito. Com essa abordagem, toda a zona da amostra recebe a mesma quantidade de reagente, e com esse recurso foi superado a limitação dos sistemas em linha única, onde a mistura ocorria apenas por dispersão, a partir das duas interfaces de contato [16].

A adição de reagente por confluência bombeado continuamente acarreta uso de um grande volume do mesmo, sendo que parte pode ser considerado desperdício, pois é bombeado durante a etapa de amostragem. Este desperdício foi superado com o desenvolvimento do sistema *merging zones* ou zonas coalescentes. Nesse processo, as alíquotas da amostra e das soluções de reagentes são coletas e inseridas ao mesmo tempo no percurso analítico. Em proveito do ganho em economia de reagentes, os módulos de análises se tornaram mais complexos. Este processo é atraente quando se utiliza reagentes com restrições ambientais, contribuindo com química limpa [12].

Os sistemas com reamostragem para efetuar diluição em linha são utilizados quando se trabalha com amostras mais concentradas. Empregando essa abordagem é possível colocar a amostra na faixa de trabalho desejada. Como a

amostra sofre dispersão continuamente no fluido transportador é possível selecionar uma fração da zona da amostra dispersa e inseri-la em um segundo fluido transportador, onde sofrerá novamente dispersão, sendo levada para o sistema de detecção [17].

A dispersão da amostra é um fenômeno inerente aos procedimentos de análises em fluxo, a fim de evitar tal efeito, uma alternativa é a inserção de bolhas de ar, a qual isola a zona da amostra durante o transporte até a detecção, minimiza a dispersão da mesma, pois não há contato com o fluido transportador. Os sistemas de análises em fluxo que utilizam essa abordagem são chamados de fluxo monossegmentado. Um recurso adotado nesses sistemas é a utilização de um dispositivo para eliminação de bolhas de ar antes da detecção ou recurso de eletrônica e informática para reconhecer o sinal analítico [18].

Os sistemas de análises em fluxo foram desenvolvidos a partir da demanda de um número grande de amostras clínicas para serem analisadas. Essas análises eram realizadas de maneira manual, o que demandava tempo. Dessa forma, a automação partir do desenvolvimento da análise por injeção em fluxo, trouxe maior agilidade às análises de rotina. Além disso, as etapas realizadas nos sistemas de análises em fluxo simulam o que ocorre de forma manual. Nesses sistemas é possível, ao longo do percurso analítico, implementar estratégias como extração em fase sólida [19], extração líquido-líquido [7], pré-concentração com resina de troca iônica [20], separação com fase gasosa [21].

1.2. Sistemas de análises em fluxo com multicomutação

No sistema FIA clássico, o dispositivo inicialmente utilizado para inserção da amostra era uma seringa hipodérmica, a qual dependia da habilidade do operador para garantir a repetibilidade das medidas. Essa dificuldade foi contornada quando pesquisadores do CENA/USP propuseram o injetor proporcional [22], constituído de duas barras fixas e uma móvel, a qual podia ser deslocada para frente e para trás. A alça de amostragem era fixada na parte móvel e o deslocamento de avanço e recuo, permitia encher a alça com amostra e inseri-la no fluido transportador. Esse modo de operação garantia que as alíquotas inseridas tinham sempre volumes muito

próximos independente da habilidade do operador, conseqüentemente, garantia melhor repetibilidade das medidas.

O emprego de válvulas solenoides de três vias para inserção da amostra e das soluções dos reagentes no percurso analítico foi proposto por D.J. Malcolme-Lawes e colaboradores em um sistema de análises em fluxo, usando gás pressurizado para propulsão de fluidos [23]. O emprego de válvulas solenoides em sistemas de análises em fluxo, usando bomba peristáltica para propulsão de fluidos foi proposto por Farias e Pasquini [24]. Em trabalho posterior, Reis *et al* empregaram estas válvulas em associação com injetor proporcional para gerar soluções padrão em linha [25]. O emprego destas válvulas solenoide em sistemas de análises em fluxo deu origem ao processo denominado de multicomutação em análises em fluxo (multicommutated flow analysis, MCFA) [26].

As válvulas solenoides de três vias são dispositivos que possuem uma entrada e duas saídas. Quando está desligada, a via central tem comunicação com uma das portas laterais através de um canal interno, quando acionada, ou seja, quando é aplicada uma diferença de potencial de 12 V, na bobina indutora (solenóide), o núcleo metálico ferromagnético é deslocado pelo campo magnético induzido, causando a alteração do estado da válvula. O deslocamento do núcleo metálico libera o canal de comunicação que estava fechado e fecha o que estava aberto. Quando a válvula é desligada, na ausência de corrente elétrica, a força magnética desaparece e uma pequena mola pressiona o cilindro metálico para posição original. Esta característica da válvula solenoide permite controlar a direção de escoamento da solução e também o volume em função do tempo em que a mesma permanece ligada [26].

O processo MCFA é baseado nesta característica, emprega uma válvula solenoide para cada solução usada no procedimento analítico. As válvulas solenoides funcionam como unidade de comutação individual, permitindo que a ordem de adição das soluções dos reagentes à zona da amostra e os volumes das respectivas alíquotas sejam selecionados por software. Os módulos de análises podem ser de linha única com inserção das alíquotas da amostra e dos reagentes por aspiração (pressão negativa), ou com uma linha de bombeamento para cada solução de reagente, circulando com pressão positiva [27]. Quando a válvula solenoide é acionada, a circulação do reagente é interrompida e o fluxo do reagente

é direcionado para o percurso analítico. Após a adição do volume desejado, a válvula é desligada, e a solução do reagente volta a circular novamente.

O emprego do processo de multicomutação aumentou a versatilidade dos sistemas de análises em fluxo. As válvulas solenoides podem ser dispostas ao longo do percurso analítico, servindo como gerenciadores das soluções. Os sistemas podem ser reconfigurados de acordo com o procedimento analítico. Além disso, o uso da multicomutação permite trabalhar com menor consumo de amostra e de reagentes, portanto menor geração de resíduos [28].

A frequência de amostragem alcançada é um parâmetro que deve ser destacado, pois procedimentos analíticos que permitem realizar 220 determinações por hora tem sido reportado, com destaque para reduzido consumo de reagente (0,7 mg por determinação) [26]. O tempo de resposta da válvula solenoide é da ordem de 100 ms [28], o que permite inserir pequenos volumes das soluções dos reagentes, o que resulta em vantagem adicional em relação aos outros dispositivos de inserção de amostra, tais como injetor comutador e válvula rotativa [29].

Com o uso de válvulas solenoide, as alíquotas da amostra e da solução de reagente são inseridas sequencialmente no percurso analítico. Uma sequência de inserção é chamada de ciclo de amostragem, o qual pode ser repetido o número de vezes previamente programado para atender a condição experimental desejada. Em vista da forma de inserção das alíquotas das soluções, as reações têm início na etapa de amostragem [28]. O processo MCFA é uma ótima alternativa para automação de procedimentos analíticos, entretanto é necessário dispor de recursos de eletrônica com software apropriado para controle das válvulas solenoide, o que pode ser considerado um fator limitante para implementação de procedimentos analíticos.

Desde a proposta inicial, os sistemas de análises em fluxo com multicomutação vêm sendo aplicados no desenvolvimento de diferentes procedimentos analíticos e nos mais variados tipos de amostra, por exemplo, determinação de estanho em alimentos [30], desenvolvimento de instrumentação portátil para especiação de ferro [31], determinação de água em biodiesel [32], procedimento automático para determinação de acidez em azeite [33], etc.

1.3. Sistemas de análises em fluxo com multiseringa

O dispositivo largamente utilizado para propulsão de fluidos em sistemas de análises em fluxo é a bomba peristáltica. Cerdà e colaboradores propuseram uma alternativa para propulsão de fluidos em processos de análises em fluxo, denominado de multiseringa do inglês *Multisyringe flow analysis* (MSFA) ou comumente chamado de sistema de análises em fluxo com multiseringa. Esta bomba de seringa é constituída de quatro seringas de vidro e é encontrada com capacidades diferentes. Na cabeça de cada seringa, tem uma válvula solenoide de três vias que é responsável para direcionamentos dos fluidos. O motor de passo é o responsável para realizar os movimentos para cima (bombeamento) e para baixo (aspiração), assim movimenta as soluções na direção desejada [34].

Podemos destacar como vantagens o uso deste dispositivo, a robustez visto que não apresenta tubos para bombeamento das soluções, podendo ser utilizados solventes e reagentes mais agressivos. Outro ponto de destaque na utilização da bomba de seringa para bombeamento, é que o fluxo sempre se mantém constante, mesmo com as mudanças de vazão [34]. Com o uso de bomba peristáltica, por exemplo, a vazão depende do diâmetro dos tubos de bombeamento, o uso contínuo pode levar a desgaste dos tubos o que pode causar variações na vazão [35]. A capacidade de suportar grandes pressões é outra vantagem da bomba de seringa, podendo ser acoplado ao percurso analítico colunas preenchidas com materiais de diferentes tipos e granulométricas [36], ou mesmo colunas monolíticas de baixa pressão [37,38].

O emprego de multiseringa como propulsor de fluidos se consolidou como ferramenta para aplicação em procedimentos analíticos em fluxo, proporcionando versatilidade aos procedimentos. Em geral, ao módulo de seringa é acoplado válvulas seletoras multiportas, similar as utilizada em análises por injeção sequencial (SIA) [34,39]. Uma das aplicações mais recentes com o uso de multiseringa são os sistemas *lab-in-syringe*, onde todas as etapas requeridas na extração líquido-líquido são realizadas dentro da seringa [40]. Podendo utilizar solventes menos densos com a possibilidade de acoplamento do sistema de detecção na seringa [41] ou utilizar solventes mais densos onde a seringa é invertida [42]. A extração em ponto nuvem também foi implementada utilizando *lab-in-syringe* [43]. O uso de nanomateriais para extração [44] são algumas das aplicações mais recentes com multiseringa, que

demonstra sua versatilidade na aplicação de procedimentos em fluxo. Pode destacar ainda, a combinação desta com diferentes técnicas de detecção, incluindo espectrometria de fluorescência atômica com vapor frio (CV-AFS) [45], espectrometria de massas com plasma indutivamente acoplado (ICP-MS) [46], espectrometria de fluorescência atômica com geração de hidreto (HG-AFS) [47]. Estas aplicações mostram a potencialidade deste dispositivo como ferramenta para automatização de procedimentos analíticos.

1.4. Fotometria e análises em fluxo

As medidas baseadas em espectroscopia eletrônica são geralmente feitas com o uso de espectrofotômetro, que é constituído de quatro partes; uma fonte de radiação que emite luz na faixa do UV-vis; um monocromador para seleção do comprimento de onda, o qual pode empregar filtros, lentes ópticas, redes de difração e prismas; um compartimento para amostra, geralmente uma cela de vidro ou de quartzo; e um sistema para detecção [48]. Como fonte de radiação para medidas de absorção molecular na região visível do espectro eletromagnético, tem sido empregado lâmpadas incandescentes com filamento de tungstênio-halogênio e em anos mais recentes diodo emissor de luz do inglês *light emitting diode* (LED).

Os LEDs são dispositivos eletroluminescentes, disponíveis no mercado a partir de 1960 [49]. Apresentam emissão nas regiões visível e alguns no infravermelho próximo e no ultravioleta. Na região visível, estes dispositivos apresentam um espectro de emissão com larguras de bandas em torno de ± 25 nm, que pode ser comparado com os encontrados em dispositivos comerciais que apresentam larguras na faixa de ± 10 a ± 30 nm. A intensidade do feixe de radiação emitida por um LED é 5 vezes maior do que um feixe proveniente de um monocromador [50].

Os diodos emissores de luz são encontrados com uma variedade de cores, tendo monocromaticidade suficiente para serem usados como fonte de radiação, sem o uso de monocromador para seleção de comprimento de onda. Apresentam pequeno porte, são baratos, fáceis de encontrar no mercado, e para uso contínuo, apresentam tempo de vida útil na ordem de 100.000 horas, não dissipam calor e tem baixo nível de ruído térmico. O tempo de vida útil de uma lâmpada de tungstênio, por

exemplo, é estimada em 2000 horas, necessitando de ventilação e de um monocromador. Levando em conta essas características os LEDs tornam-se uma boa alternativa às fontes convencionais, pois dispensam o uso de aparatos ópticos, permitindo a construção de fotômetros simples [49,50]. Os fotômetros baseados em LED foram propostos em 1970, estes apresentando como vantagem a simplicidade, robustez e baixo custo [49].

Fotodiodos e fototransistores são os detectores mais utilizados em fotômetros baseados em LED como fonte de radiação. São pequenos, de baixo custo e de fácil acoplamento. Ambos apresentam sensibilidade na faixa de 350-900 nm. Os fotodiodos são mais utilizados em fotômetros de LEDs, estes apresentam uma maior faixa de resposta linear, um menor tempo de respostas. Os fototransistores são mais sensíveis em comprimentos de onda mais baixos, o tempo de resposta é maior, ou seja, mais lento, o nível de ruído é maior que os fotodiodos; a grande vantagem destes, é que apresentam baixo sinal para leitura no escuro [51,52,49].

Com a possibilidade da construção de fotômetros de LED de pequena dimensão, estes são frequentemente encontrados em laboratórios de instrumentação analítica. Em sistemas de análises em fluxo, esse tipo de fotômetro é facilmente acoplado, sendo uma alternativa aos espectrofotômetros comerciais. A primeira utilização deste tipo de detecção em sistemas em fluxo, foi proposto por Betteridge [53] e desde então o uso de fotômetro de LED (LED como fonte de radiação) se popularizou, sendo empregado numa variedade de procedimentos analíticos, incluindo sistemas em fluxo com multiseringa [54,55], multicomutação em fluxo [56,57], sistemas de análises por injeção sequencial [58,59].

1.5. Fotometria com cela de longo caminho

A espectroscopia eletrônica é baseada na medida da transmitância ou da absorvância quando um feixe de luz incide em soluções. A lei de Bouger-Lambert-Beer [60] estabelece a relação entre a concentração do analito na amostra, o comprimento do caminho óptico da radiação através da amostra e a atenuação da intensidade do feixe de radiação, de modo que parte dela é absorvida pela amostra. Esta relação é representada pela Equação 1 [48], a qual é utilizada para medidas de

absorção da radiação nas regiões ultravioleta, visível e infravermelho do espectro eletromagnético. Na qual (ϵ) é o coeficiente de absorção molecular, (b) é o caminho óptico e (c) é a concentração em mol L⁻¹.

$$A = \epsilon \cdot b \cdot c \quad (1)$$

Uma faixa bem estreita do espectro eletromagnético que corresponde à região visível (400 a 750 nm) é a mais utilizada para efetuar medidas de espectroscopia eletrônica. A constante (ϵ) é característica do composto formado pelo analito e pelo reagente cromogênico, mantendo a temperatura do ambiente e as condições físico-químicas do meio reacional constantes, a absorvidade molar é invariante, portanto as variáveis são a concentração do analito (c) e o comprimento do caminho óptico (b), o qual pode ser explorado para melhorar a sensibilidade do procedimento analítico [61].

O aumento do caminho óptico favorece uma maior interação da espécie química de interesse na amostra com os fótons do feixe de radiação [61], isso pode ser explorado para ganho de sensibilidade. O uso de longo caminho óptico, evita etapas de pré-concentração, melhorando assim a sensibilidade nos procedimentos analíticos. Visando verificar o efeito do longo caminho óptico, foi proposto o uso de uma cela de fluxo construída com guia de onda (4,4 m) para a determinação de cobre. Com o uso desta cela, foi possível um aumento de duas ordens de grandeza na sensibilidade em relação à cela convencional [62].

O uso de celas de longo caminho óptico depende do tipo de material empregado na confecção, estes devem apresentar índice de refração menor que o da água (1,33). As celas com guia de onda confeccionada com fluoropolímero amorfo, denominado Teflon AF-2400[®], apresentam índice de refração menor que o da água (1,29) [61], e são encontradas comercialmente. Este tipo de cela tem sido empregada para determinação em baixas concentrações, por exemplo, determinações de traços de ferro(II) [63], crômio(VI) e molibdênio(VI) [64]. Embora o uso de celas com Teflon AF-2400[®] seja mais difundido, há também celas construídas com capilares de sílica fundida [65] e vidro borossilicato [66].

Embora o uso de celas de longo caminho óptico seja atraente para a determinação de baixas concentrações, evitando etapas de pré-concentração, essas

celas causam atenuação do feixe de radiação por absorção da solução transportadora [61]. Além disso, estas celas de fluxo são disponibilizadas por poucos fabricantes, específicas para seus equipamentos. Celas de fluxos construídas com tubos de vidro com caminho óptico na faixa de 20 a 100 mm têm sido usadas, principalmente em detecção fotométrica usando LED como fonte de radiação [67,68].

Em artigo recente, foi proposta uma cela de fluxo moldada com um tubo de vidro com guias de onda nas extremidades, aumentando a eficiência na transmissão de radiação através da solução. Empregando esta geometria, foram construídas, celas de fluxo com tubos de vidro borossilicato com comprimentos na faixa de 50 a 250 mm e diâmetro interno de 1,2 mm [69]. Segundo os autores, empregando LEDs com emissão na faixa do espectro eletromagnético visível, a resposta do fotômetro obedecia à lei de Bouguer–Lambert–Beer até o comprimento de cela de 200 mm, indicando que era viável o emprego deste recurso para melhorar a sensibilidade de procedimentos analíticos. As celas de fluxo de 51 e 200 mm de comprimento foram utilizadas nos trabalhos desta tese.

1.6. Desenvolvimento da bomba de seringa

A bomba de seringa utilizada para bombeamento das soluções foi inicialmente construída com motor de corrente contínua. O motor de corrente contínua de 12 V e intensidade de corrente de 1 A, caixa de redução para 18 RPM e torque de 10 N cm^{-1} . Na Figura 1, é mostrado o acoplamento das seringas na barra de tração (Plt). No centro dessa barra (não é mostrado na Figura), há um furo com rosca onde é encaixado o parafuso de latão, diâmetro de 15 mm, rosca toroidal usinada com passo de 2,0 mm, uma placa de alumínio com superfície de 15 x10 cm e espessura de 18 mm, tendo um furo no centro com rosca fêmea (porca) para o parafuso. O parafuso era encaixado no eixo do motor, efetuava o deslocamento da barra de tração, a qual arrasta os êmbolos das seringas para baixo ou para cima, quando o motor girava no sentido horário ou anti-horário, respectivamente.

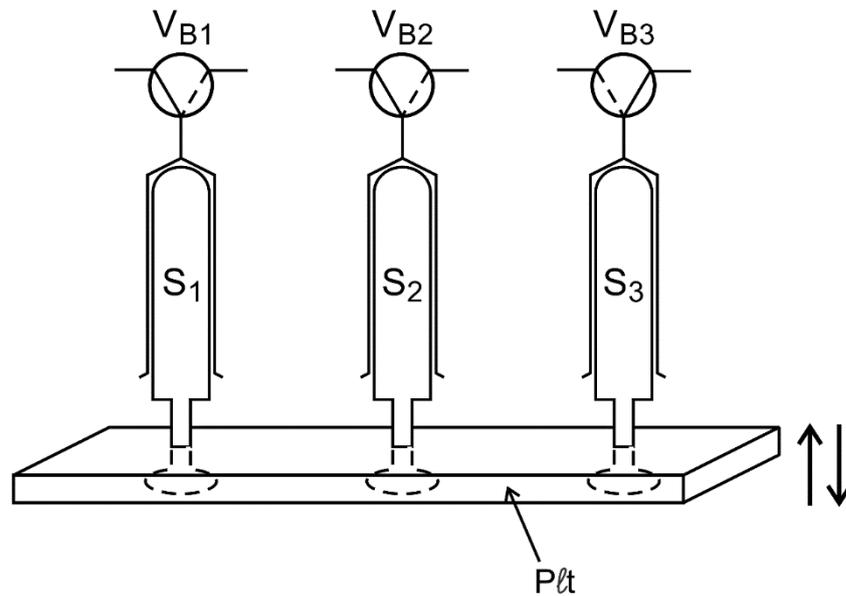


Figura 1 – Acoplamento das seringas ao motor de corrente contínua. S₁, S₂ e S₃ = seringas (5 mL); Vb₁, Vb₂ e Vb₃ = válvulas solenóide de 3 vias, Plt = barra de tração. As linhas contínuas nos símbolos das válvulas indicam o caminho do fluido com a válvula desligada, enquanto que as linhas tracejadas indicam o caminho de escoamento com as válvulas ligadas.

O acionamento e o controle da direção de rotação do motor foram efetuados empregando a interface mostrada na Figura 2.

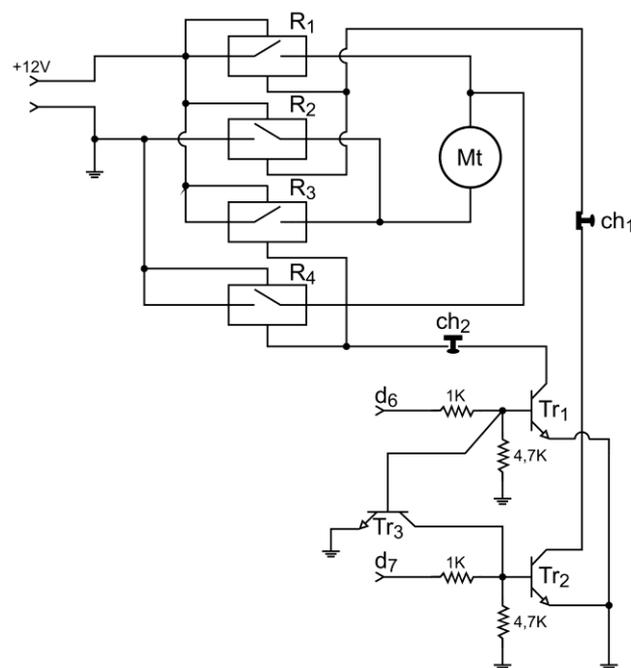


Figura 2 - Diagrama da interface de controle do motor de corrente contínua. Mt = motor de corrente contínua; R₁, R₂, R₃ e R₄ = relés; Tr₁, Tr₂ e Tr₃ = transistor; ch₁ e ch₂ = chaves; d₆ e d₇ = diodos.

Na Figura 2, é mostrado o diagrama da interface desenvolvida para permitir a inversão do sentido da rotação, isto é, para a direita (horária) e para a esquerda (anti-horária). Nesta condição, quando o computador envia um sinal de controle através do bit d_6 da interface PCL711S em nível lógico alto ($2,5 < V \leq 5V$), o transistor Tr_2 é ativado, o qual fecha circuito elétrico constituído pelos relés R_1 e R_2 . Desta forma, o motor gira no sentido horário e desloca a barra de tração para baixo. Quando o sinal de controle é enviado através do bit d_7 , o transistor Tr_1 é ativado, e o circuito constituído pelos relés R_3 e R_4 é fechado. Nesta condição, a corrente elétrica circula através do motor em sentido oposto ao caso anterior, o motor gira no sentido anti-horário e desloca a barra de tração para cima. O transistor Tr_3 foi instalado para evitar conflito de polaridade, pois o motor é alimentado com uma fonte de polaridade positiva, assim, se os bits d_6 e d_7 forem acidentalmente ativados com nível lógico alto ao mesmo tempo, a fonte de alimentação seria colocada em curto circuito. Então, sempre que o bit d_6 estiver em nível lógico alto, o transistor Tr_3 desabilita o transistor Tr_2 . As chaves ch_1 e ch_2 foram posicionadas no final do curso de deslocamento da barra de tração (Plt), assim ao completar o esvaziamento ou o enchimento das seringas o motor é automaticamente desligado. As válvulas solenoides acopladas às seringas permitem controlar direção do fluxo da solução movimentada pela respectiva seringa.

A bomba de seringa desenvolvida com motor de corrente contínua, apresentou ótimo desempenho, e foi utilizada para o desenvolvimento dos procedimentos para determinação de sulfato e cloreto. Entretanto, a mesma tinha como limitação, a dificuldade de variação da vazão. A velocidade de rotação do motor de corrente contínua pode ser controlada, variando a diferença de potencial aplicada, entretanto, há perda de torque. Há recursos de eletrônica que possibilitam reduzir a rotação mantendo-se o torque. Tendo em vista que a eletrônica envolvida seria mais complexa, optou-se pelo emprego de um motor de passo. Na Figura 3 é mostrado o diagrama de blocos da interface de controle da bomba de seringa desenvolvida, nas Figuras 4 e 5 são mostradas parte das peças usadas para construção da mesma.

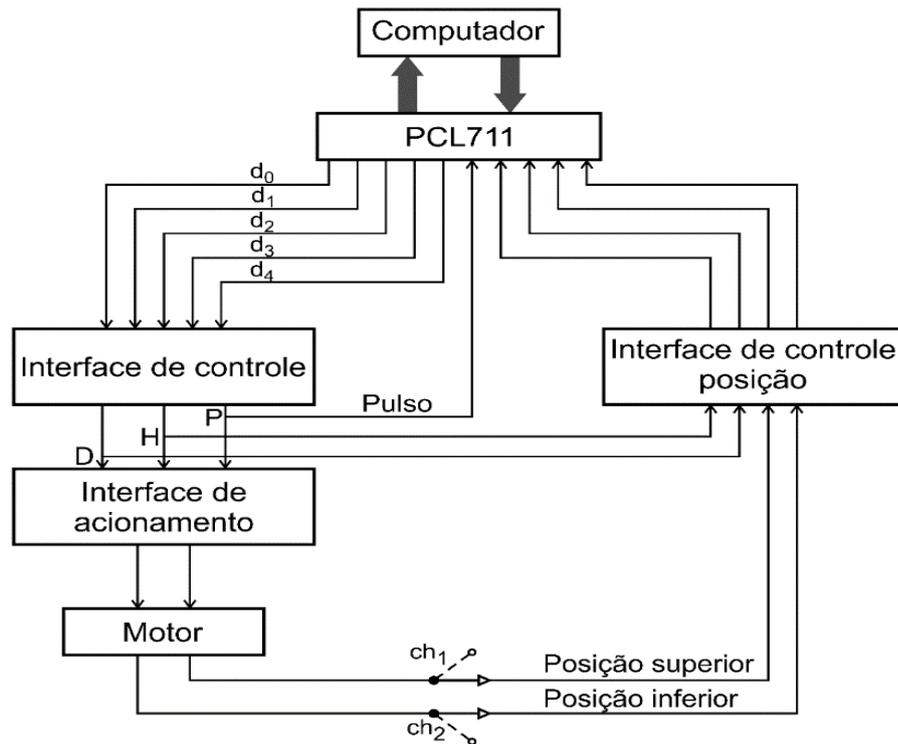


Figura 3 - Diagrama de blocos do sistema de controle da bomba de seringa com motor de passo. d_0 , d_1 , d_2 , d_3 e d_4 = bits de controle gerados pelo computador através da interface PCL 711; P = pulsos elétricos; H = habilitação de rotação do motor; D = direção de rotação, ch_1 e ch_2 = chaves elétricas de fim de curso.

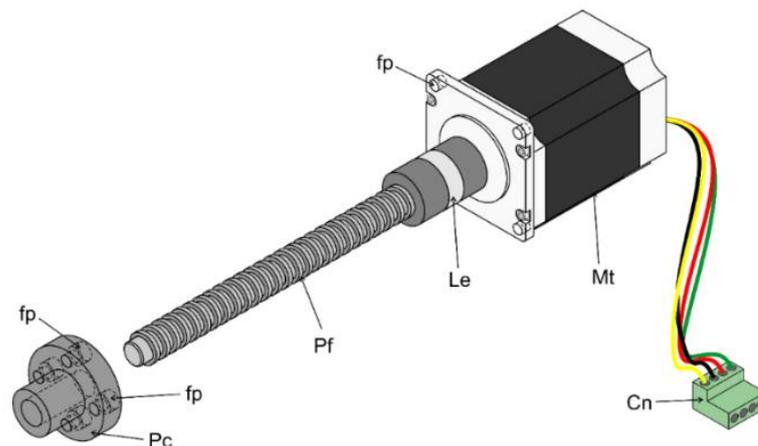


Figura 4 - Vista do motor de passo. Mt = motor de passo; Cn = conector da fiação; Pc = castanha com porca; fp = furos passantes 5 mm de diâmetro; Pf = parafuso (fuso), comprimento de 17 cm, diâmetro de 14 mm, rosca de 2 mm por passo; Le = junta mecânica para acoplamento do parafuso ao eixo de motor de passo.

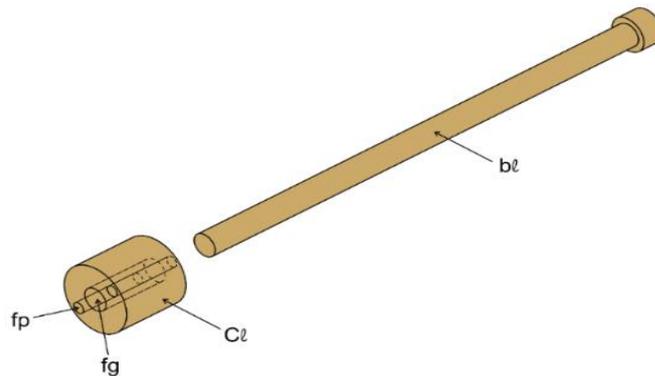


Figura 5 - Peça para alinhamento da plataforma das seringas com motor de passo. bl = barra cilíndrica de latão, diâmetro 11,0 mm comprimento 22 cm; Cl = cilindro de latão, diâmetro = 3 cm, comprimento = 3,5 cm; fg = furo-guia, diâmetro = 11,1 mm; fp = furo passante, diâmetro 5 mm.

A plataforma da bomba de seringa é mostrada na Figura 6. O motor de passo mostrado na Figura 4 foi fixado com parafusos na parte inferior da placa de acrílico P_1 . No centro da placa P_1 foi feito um furo para passagem do eixo do motor e nas placas P_2 , P_3 e P_4 foram feitos furos para a passagem do parafuso (fuso) de tração. As placas P_1 , P_3 e P_4 foram fixadas com parafusos às placas de PVC A_1 e A_2 usadas como suporte. No furo central de placa P_2 , foi fixada a porca do parafuso de tração, mostrada na Figura 4. Esta placa é móvel e é deslocada para cima ou para baixo em função do sentido de rotação do motor de passo.

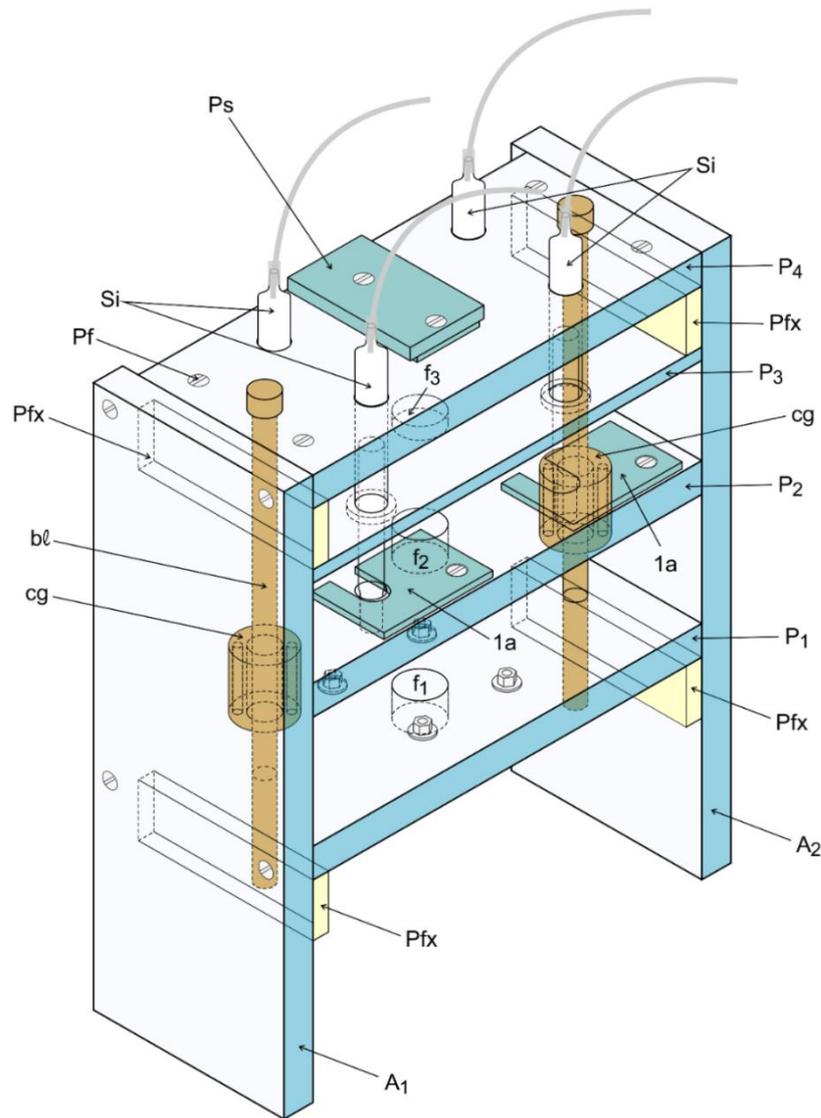


Figura 6 - Vista tridimensional da plataforma da bomba de seringa com motor de passo. A_1 e A_2 = placas de PVC, largura de 10 cm, altura de 30 cm e espessura de 16 mm; P_1 , P_2 e P_4 = placas de acrílicos, largura de 10 cm, comprimento de 20 cm e espessura de 16 mm; P_3 = placa de PVC, largura de 10 cm, comprimento de 20 cm e espessura de 5 mm; P_{fx} = placas de acrílico, largura de 34 cm, comprimento de 10 cm e espessura de 8 mm; pf = parafusos; Cg = cilindro de latão com furo guia; bl = barra cilíndrica de latão para alinhamento; Si = seringas de vidro; f_1 , f_2 e f_3 = furos de passagem para o parafuso de tração; $1a$ = lâminas de alumínio para acoplamento dos êmbolos das seringas; Ps = placa de aço inox para ajustar o encaixe do parafuso de tração na junta mecânica do motor de passo.

As barras cilíndricas de latão (bl), são fixadas nas placas de acrílico P_1 e P_4 . A placa móvel (P_2) tem furos passantes usinados com mesmo diâmetro das barras cilíndricas (bl). Os cilindros de latão com furo guia (Cg), são fixados com parafusos na parte inferior da placa móvel (P_2). Estes dois dispositivos garantem um perfeito

alinhamento da placa móvel durante o deslocamento dos êmbolos das seringas para cima e para baixo. A parte externa de cada seringa foi encaixada através de furo passante na placa P_4 e fixadas pela extremidade inferior na placa P_3 . Os êmbolos foram acoplados à placa móvel (P_2), usando uma pequena lâmina de alumínio (la), ajustada para permitir o deslocamento bidirecional sem restrição mecânica e sem folga.

Na Figura 7, é mostrada a disposição das seringas na placa móvel e as conexões das válvulas, as quais permitem encher as seringas e direcionar as soluções para o módulo de análise.

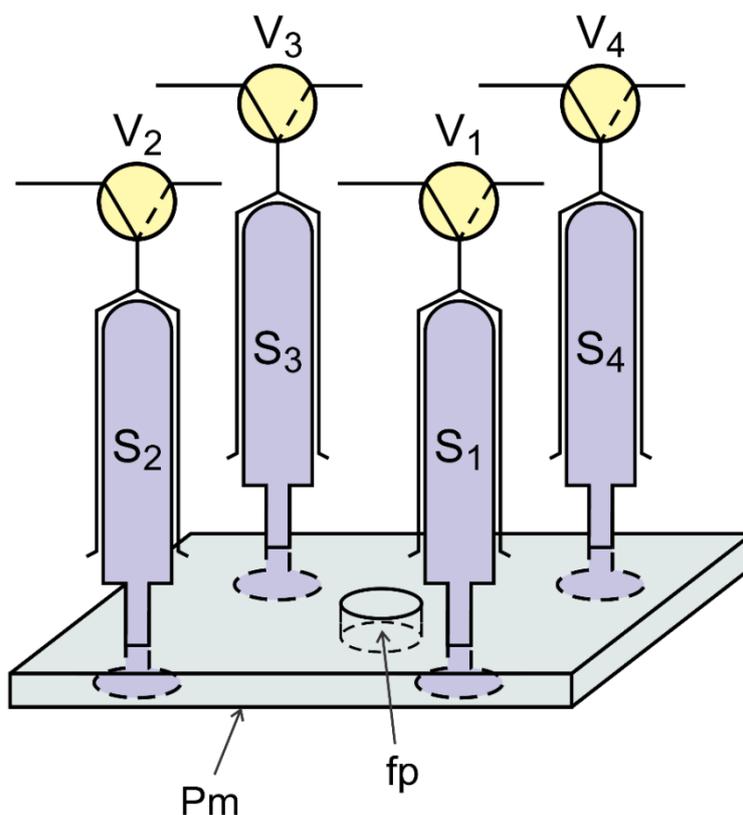


Figura 7 - Vista da disposição das seringas na placa móvel. S_1 , S_2 , S_3 e S_4 = seringas de vidros de 5 mL; v_1 , v_2 , v_3 e v_4 = válvulas solenoides de três vias; Pm = placa móvel; fp = furo de passagem para o parafuso de tração.

A interface de controle para esta bomba de seringa, mostrada na Figura 8, foi desenvolvida para ser controlada usando uma porta digital paralela, disponível na interface PCL711, instalada no computador usado para controle e aquisição de dados no laboratório de química analítica. Nos parágrafos seguintes é descrito o funcionamento desta interface.

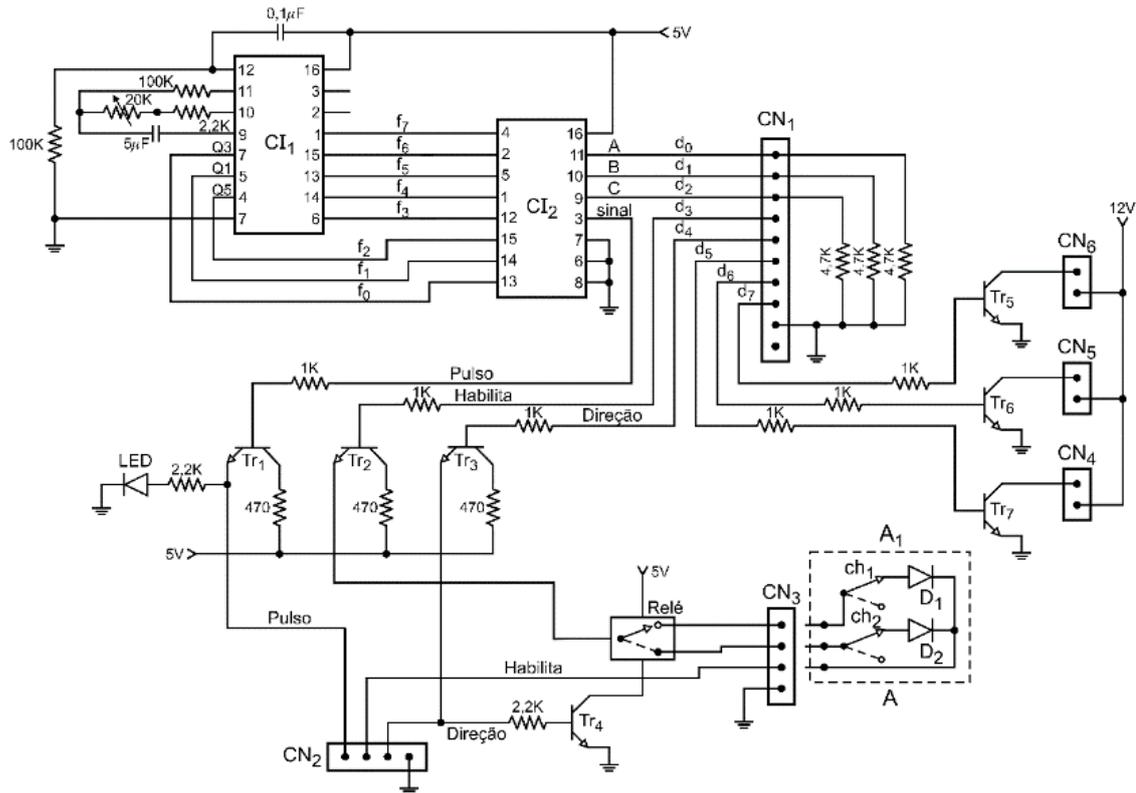


Figura 8 - Interface de controle da bomba de seringa como motor de passo. CI_1 e CI_2 = circuitos integrados CD4060 e CD4051B, respectivamente; f_0, f_1, f_2, \dots e f_7 , = frequências geradas pelo CI CD4060, pulso = frequência selecionada pelo CI CD4051B; A, B, C = linhas de seleção do CI CD4051B; CN_1 = conector de 10 pinos, tipo molex; d_0, d_1, d_2, \dots e d_7 = linhas de controle digital da interface PCL711; Tr_1, Tr_2, \dots e Tr_7 = transistores Bc547; LED = diodo emissor de luz; Ch_1 e Ch_2 = chaves eletromecânicas; D_1 e D_2 = diodos retificadores de cílio 4007; CN_2 = conector da interface de acionamento do motor de passo; CN_3 = conector das chaves de fim de curso Ch_1 e Ch_2 ; CN_4, CN_5 e CN_6 = conectores do tipo molex para solda em placa de circuito impresso. Nestes terminais podem ser acopladas válvulas solenoide.

O circuito integrado CI_1 na configuração desta interface funciona como gerador e divisor de frequência. O capacitor e o resistor acoplados aos pinos 9 e 10, formam um circuito oscilador, o qual fornece um sinal elétrico pulsante com frequência estimada pela seguinte equação: $f = 1/(2,3 \times RC)$. Esta frequência é dividida internamente e distribuída através dos pinos do CI indicados na Figura 8. A frequência de saída mais alta (f_0), é disponibilizada no pino 7. A segunda maior frequência (f_1) é metade de (f_0) e a terceira (f_2), é metade de f_1 . Esta lógica é mantida para as demais frequências disponibilizadas.

O sinal de menor frequência é disponibilizado no pino 13 do CI. O resistor variável de 20 k Ω acoplado ao pino 10 permite ajustar a frequência fundamental em função do efeito desejado. Neste caso, foi ajustado para conseguir um sinal de saída com frequência mais alta (f_0) de 512 Hz. Então, os sinais apresentados nas demais

saídas do CI tem seguinte sequência de frequência: 512, 256, 128, 64, 32, 16, 8 e 4 Hz. O CI₁ pode fornecer 10 valores de frequência, mas nesta interface selecionamos somente as 8 de valores mais altos.

O circuito integrado, CD4051B é um multiplex analógico e nesta montagem foi configurado para trabalhar com 8 entradas e uma saída. A seleção de qual entrada será conectada internamente com a saída, é definida pelas linhas A, B e C. Sendo 3 linhas de controle, podemos selecionar até 8 portas de entrada, que é o máximo de combinações binárias que podem ser conseguidas (2^3). A seleção pode ser realizada sequencialmente ou de forma aleatória por software. Quando as três linhas de controle estão em 0V, é selecionada a saída de frequência mais alta (f_0) e quando a três estão em nível alto (padrão TTL), é selecionada a saída de frequência mais baixa (f_7).

A interface de acionamento do motor de passo, mostrada na Figura 9 necessita de três sinais de controle: habilitação, direção e frequência de acionamento.



Figura 9 - Interface de acionamento do motor de passo. (Tekkno mecatrônica, NS 04579). A parte em verde são conectores, os quais a partir da esquerda têm as seguintes designações: no primeiro estão as saída de alimentação das bobinas do motor de passo; o segundo é a conexão da fonte de alimentação (24 V); e o terceiro é onde se localiza as estradas do sinal de controle pulsante, o sinal de habilitação e o sinal de direção. As chaves em azul permitem selecionar por hardware, o número de passos por volta. Neste projeto foi selecionado 200 passos por volta.

Nos parágrafos anteriores foram descritos os circuitos de geração de frequência e seleção. Observa-se que o sinal de acionamento disponibilizado no pino 3 do CI₂, ativa o transistor Tr₁. O emissor deste transistor está ligado ao

conector da interface de acionamento do motor de passo e a função deste transistor é amplificar a corrente fornecida pelo circuito integrado CDF4051B. O LED acoplado ao emissor do transistor permite visualizar se os circuitos integrados de geração e de seleção de frequência estão funcionando. Para frequências abaixo de 32 Hz, o vemos piscando e para frequências mais altas, o vemos brilhando continuamente.

O sinal de habilitação é gerado usando o bit d_3 da interface PCL711, conectado ao conector CN_1 . Um sinal em nível alto (padrão TTL), transmitido através da linha de conexão, é amplificado em corrente pelo transistor Tr_2 e enviado para o relê de direção. O estado funcional deste relê é definido pelo sinal de controle de direção, gerado com o bit d_4 da PCL711. Quando a diferença de potencial deste bit está no estado baixo (0 V), o motor de passo gira para à direita. Nesta condição, o transistor Tr_4 permanece em corte, o relé é mantido desligado, e o sinal de habilitação passa através da chave ch_1 e do diodo D_1 e retorna ao conector CN_3 e deste ao conector CN_2 , onde está conectada a interface de acionamento do motor de passo. Quando o motor gira para à direita, os êmbolos das seringas são solidariamente deslocados para cima. A chave ch_1 foi instalada na plataforma da bomba de seringa como limitador de fim de curso, assim quando os êmbolos das seringas chegam próximo do fim (≈ 1 mm), a chave abre o circuito de habilitação e o movimento do motor é interrompido. Quando é aplicado ao bit d_4 uma diferença de potencial de nível alto ($2,5 < V < 5$), o motor gira para à esquerda. Este sinal ativa o transistor Tr_4 , e este liga o relê, então o sinal de habilitação é conduzido através da chave ch_2 e do diodo D_2 para o conector CN_2 , permitindo funcionamento do motor. A chave ch_2 tem a mesma função da ch_1 , interrompe o sinal de habilitação quando o deslocamento dos êmbolos das seringas para baixo chegam ao final. Estas chaves foram instaladas para definir o curso máximo de deslocamentos dos êmbolos das seringas de forma autônomas, isto é, não são controladas por software. Estas chaves protegem as seringas de dano que poderia ocorrer se por erro de comando, o deslocamento excedesse o limite de segurança.

Os controles de vazão e de direção são feitos por software, e pode ser escolhido 8 vazões distintas. O volume liberado pode ser controlado por tempo de acionamento das válvulas das seringas ou por contagem de pulsos. A interface de acionamento do motor de passo está configurada para trabalhar com 200 passos por volta, portanto contando o número de pulsos enviados, podemos definir o volume liberado. O parafuso de tração, mostrado na Figura 4, tem rosca com passo de 2.0

mm, portando a partir do diâmetro interno da seringa podemos estimar o volume liberado por pulso ou por mm de deslocamento.

Tendo em vista que velocidade de rotação do motor de passo é função da frequência, então a vazão de bombeamento é função da frequência. Então, visando encontrar esta relação, alguns testes foram realizados os resultados são mostrados na Tabela 1.

Tabela 1 - Vazão em função da frequência para motor de passo.

Frequência (Hz)	Vazão (mL min⁻¹)
524	26
256	13
128	6,5
64	3,3
32	1,6
16	0,8
8	0,4

Observa-se que as vazões obedecem a uma sequência de divisão binária, tal como esperado, pois circuito integrado CI₂ é um divisor binário de frequência. Esta bomba de seringa foi utilizada para desenvolver os procedimentos analíticos para determinação de molibdênio e zinco.

2. Objetivo

A construção de uma bomba de seringa para propulsão dos fluidos e sua aplicação no desenvolvimento de procedimentos analíticos em fluxo para determinação simultânea de sulfato e cloreto em coque de petróleo, molibdênio em plantas e zinco em águas.

3. Procedimento para determinação simultânea de sulfato e cloreto em coque de petróleo empregando o processo de análises em fluxo

3.1. Introdução

O petróleo é uma das matérias-primas mais utilizada na indústria para obtenção de diferentes produtos este se caracteriza por uma mistura de hidrocarbonetos, formando composto de cadeia simples como metano até compostos de cadeias mais complexas, com composição superior a 2000 átomos de carbono [70]. A partir do refino do petróleo, nome dado ao processo no qual o mesmo é aquecido e por destilação é obtido uma variedade de produtos, como gás, combustíveis líquidos, óleos lubrificantes, produtos utilizados na indústria de plásticos e de borrachas, etc [71].

O coque de petróleo, um subproduto originado na última fração do processo de refinamento do petróleo, é um resíduo sólido com elevado teor de carbono, baixo teor de cinzas, baixa umidade e apresenta uma alta capacidade calorífica [72,73]. Além de apresentar elevada quantidade de carbono, contém quantidades de enxofre e de nitrogênio. Estas espécies químicas, quando lançadas na atmosfera podem causar danos ao meio ambiente [73]. Outros elementos inorgânicos, tais como V, As, Mo, Ni, S e íons cloreto, também são encontrados em coque de petróleo e podem causar efeitos danosos ao meio ambiente e também nas tubulações durante o processo de refinamento [73,74].

Devido à grande demanda por produtos derivados do petróleo para as atividades humanas, há uma grande geração de coque de petróleo. Como este apresenta uma alta capacidade calorífica e por ser um produto de baixo custo, pode ser utilizado como combustível para geração de energia em indústrias metalúrgicas [75,76,77,78]. Outro problema enfrentado pelas refinarias devido ao aumento no processamento de petróleo é o surgimento de incrustações geradas, principalmente, por sais de cloreto no interior dos equipamentos, os quais vão gradativamente reduzindo a eficiência global do processo e degradando a vida útil dos equipamentos. Com o aumento do consumo de combustíveis derivados de petróleo tem aumentado a produção de coque [79].

A presença e a quantidade de enxofre nos combustíveis fósseis servem como indicativo de qualidade, o que reflete também no custo benefício do mesmo. Os compostos de enxofre causam envenenamento dos catalisadores e corrosão em

equipamentos como fornos e caldeiras [76]. Como o coque de petróleo apresenta alto valor calorífico, pode ser utilizado como alternativa ao carvão mineral, conseqüentemente os produtos de enxofre são lançados na atmosfera o que pode causar danos ao meio ambiente. Em virtude disso, avaliar as concentrações de enxofre serve como parâmetro para verificar sua adequação e seu uso em processos industriais. A presença de enxofre e outros metais determinam também qual deve ser a utilização adequada. Outro problema da queima do coque de petróleo é a emissão de material particulado que contém compostos de enxofre (SO_x), contribuindo para poluição atmosférica; por exemplo a formação da chuva ácida [76,80,81].

O cloreto é outra espécie química que pode causar danos às tubulações em uma planta de refinamento de petróleo, a corrosão ocorre principalmente durante a produção de coque de petróleo. O coque de petróleo também é utilizado como material prima na indústria siderúrgica e na fabricação de eletrodos de carbono, portanto sua qualidade e pureza são fatores que devem ser monitorados [82,83].

Em vista da importância econômica e ambiental destas espécies químicas, o desenvolvimento de metodologias simples e robustas para a determinação de cloreto e sulfato em coque de petróleo é o objetivo desta parte da tese. A determinação de sulfato foi baseada na reação entre bário e sulfato. A detecção fotométrica foi realizada, monitorando o espalhamento de radiação pelo composto formado em 480 nm. A determinação de cloreto foi baseada na reação de deslocamento do íon tiocianato do composto formando com mercúrio(II) pelo íon cloreto e subsequente reação com o íon Fe(III). A detecção fotométrica foi realizada, monitorando a absorção de radiação pelo composto formado em 480 nm.

3.1.1. Determinação de sulfato

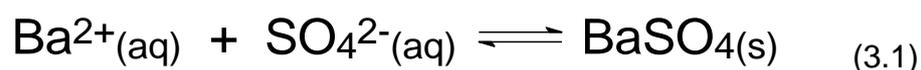
O enxofre apresenta estado de oxidação (-2), (+4) e (+6) na forma de sulfeto, dióxido e sulfato, respectivamente. A forma sulfato (SO_4^{2-}) pode ser originada a partir do ácido sulfúrico e como este produto é frequentemente utilizado em diferentes processos industriais, pode chegar ao meio ambiente. O sulfato pode ser encontrado também em diferentes minerais [84,85,86]. Diante disso, o sulfato é de grande interesse ambiental, sendo frequentemente determinado em diversos tipos de amostra como águas, vegetais, solos e combustíveis.

Os métodos para determinação de enxofre, relatados como os mais sensíveis, é o de azul de metileno, no qual o enxofre em forma de sulfato ou outras formas de óxido de enxofre é reduzido por uma mistura de ácido iodídrico e hipofosfito a sulfeto de hidrogênio, este é transportado em meio de nitrogênio para uma solução de acetato de zinco, onde ocorre a formação de sulfeto de zinco. Em meio ácido, o sulfeto reage com *p*-amino-dimetilanilina e ferro (III) para produzir azul de metileno. Outro método encontrado é o da pararosanilina, no qual o dióxido de enxofre reage com tetraclomercuro de sódio formando complexo estável de dicloro sulfetomercuro. Além desses, o método mais frequentemente utilizado para determinação de enxofre é o método turbidimétrico, baseado na reação com bário, onde há formação do precipitado de sulfato de bário(BaSO₄)[86].

O método do cloranilato de bário (BaC₆Cl₂O₄), é também utilizado para determinação de sulfato. É baseado na reação do sulfato em meio ácido, na qual o cloranilato é deslocado em função da menor solubilidade do sulfato de bário. A quantidade de cloranilato deslocado é proporcional à concentração de sulfato [87].

O método espectrofotométrico baseado em descolorimetria também tem sido utilizado para determinação de sulfato, baseado na reação de descoloração do complexo dimetilsulfonazo(III)-bário. O bário reage com sulfato e forma sulfato de bário e a coloração da solução perde intensidade. As condições da reação devem ser controladas para evitar possível turvação da solução. Essa reação foi utilizada na determinação de sulfato em águas de chuva [88] e etanol combustível [89,90].

O método gravimétrico baseado na precipitação de sulfato de bário é largamente utilizado para a determinação de sulfato. Neste método, o cátion (Ba²⁺) ao reagir com sulfato, forma um precipitado de sulfato de bário como mostra a Equação 3.1 abaixo.



O sulfato de bário é pouco solúvel em meio aquoso ($K_{ps} = 1,1 \times 10^{-10}$) [91] forma uma suspensão, a qual permite a detecção por turbidimetria. Essa técnica de detecção não tem uma faixa de comprimento de onda específico, então muitos autores têm empregado o comprimento de onda de 400 nm [92,85]. Neste caso, o espalhamento da radiação eletromagnética é o fenômeno que ocorre causado pelo

espalhamento da radiação pelas partículas de sulfato de bário em suspensão. O espalhamento da radiação eletromagnética em todas as direções causa atenuação da intensidade do feixe de radiação eletromagnética que chega ao fotodetector. Este efeito é equivalente à absorção, e tem sido empregado para o desenvolvimento de procedimentos analíticos empregando espectrofotômetro como detector. O tratamento do sinal gerado pelo espectrofotômetro tem sido feito de forma equivalente a absorção.

O espalhamento da radiação eletromagnética emitida pela fonte do espectrofotômetro depende do tamanho das partículas em suspensão, portanto a reação deve ser conduzida de modo a assegurar a uniformidade das partículas formadas ao longo do tempo. Os sistemas de análises em fluxo contribuem para alcançar a uniformidade requerida. A detecção é feita com a zona da amostra em movimento, o que minimiza a deposição de precipitado na cela de detecção, o que causaria um aumento ascendente do sinal da linha de base [93].

Verificando a base de dados *Web of Science*, observa-se que desde o primeiro artigo publicado na década de setenta [92], um grande número de trabalhos foram desenvolvidos para determinação de sulfato, empregando sistemas de análises por injeção em fluxo baseados em turbidimetria. No primeiro trabalho foi utilizado o cloreto de bário como precipitante, este foi aplicado para a determinação de sulfato em águas naturais e digeridos de plantas [92]. Recentemente, o mesmo reagente foi usado em um procedimento de pré-concentração em linha com resina de troca iônica, para a determinação sulfato em águas de chuvas, utilizando um fotômetro de LED como detector. O módulo de análises foi baseado no processo de multicomutação em análises em fluxo (MCFA) [94].

Observa-se que o reagente cloreto de bário, utilizando sistemas de análises em fluxo, é largamente utilizado na determinação de sulfato, sendo aplicada numa variedade de matrizes incluindo águas [95,85,96], plantas [92,97], solos [98], soro sanguíneo [99] e vinhos [100].

O sulfato em coque de petróleo tem sido determinado, utilizando espectrometria de emissão óptica com fonte de plasma acoplado indutivamente (ICP OES) [76,83], e o método para avaliação de produtos de petróleo da *American Society for Testing and Materials* (ASTM) [101].

Nessa parte da tese, é proposto um procedimento baseado no processo de multicomutação em análises em fluxo, utilizando detecção turbidimétrica para a

determinação de sulfato, utilizando cloreto de bário como reagente. O módulo de análises para implementar o processo de multicomutação emprega uma bomba de seringa como propulsor de fluidos e um fotômetro de LED, projetados para este trabalho. A determinação de sulfato em coque de petróleo, utilizando detecção turbidimétrica e análises em fluxo, está sendo realizada pela primeira vez.

3.1.2. Determinação de cloreto

O cloro apresenta vários estados de oxidação (-1), (+1), (+3), (+4) e (+6), identificados como cloreto, hipoclorito, clorito, clorato e perclorato, respectivamente. Na forma de cloreto (-1), pode apresentar ação oxidante ou redutora [86]. Nos seres humanos, o cloreto é importante para manter o equilíbrio eletroquímico nos fluidos extracelulares, além disso, é encontrado na saliva, sangue e suor [102]. Em água mineral, potável e em ambientes com problemas de salinidade, o cloreto é uma espécie que deve ser investigado, pois o mesmo pode causar corrosão nos equipamentos e dependendo da quantidade pode afetar a saúde humana [103,104].

Vários métodos são recomendados para determinação de cloreto, embora alguns se destaquem. O método do vermelho de metila, baseado na oxidação do cloreto a cloro. Uma solução, em meio ácido, contendo vermelho de metila, sofre oxidação pelo cloro, causando descoloração parcial do vermelho de metila. O método turbidimétrico com uso da prata, para formação do precipitado de cloreto de prata. O método fotométrico indireto, no qual tiocianato é deslocado do complexo tiocianato-mercúrio(II) pelo íon cloreto, formando um complexo estável de cloreto de mercúrio. Na presença de ferro(III), o tiocianato deslocado forma o complexo tiocianato-ferro (III), que é monitorado no comprimento de onda de 480 nm [86].

O método gravimétrico com uso de prata e o indireto com uso do mercúrio(II) são recomendados pela AOAC, para a determinação de cloreto em águas [102]. O método espectrofotométrico, baseado na reação com tiocianato de mercúrio, é o mais utilizado para a determinação de cloreto, incluindo o processo de análises por injeção em fluxo. A primeira utilização desse processo com essa reação envolveu um procedimento espectrofotométrico para determinação de cloreto em águas salobras. O procedimento apresentou uma boa sensibilidade, redução no volume dos reagentes em comparação com o procedimento manual. Segundo os autores, o sistema de análises em fluxo proposto tinha potencial para realizar

500 determinações por hora. Neste caso, teria que realizada uma injeção a cada 7 s, tarefa inexequível empregando injeção manual e seleção das alíquotas de amostra com seringa [105].

Utilizando outra modalidade do processo de análise em fluxo (injeção sequencial – SIA) e utilizando a mesma reação relatada no parágrafo anterior, foi proposta a determinação de cloreto em água mineral e bebidas, tendo como característica frequência de amostragem de 37 determinações por hora [106]. Embora, a frequência de amostragem seja muito menor, apresenta uma abordagem exequível com um consumo do reagente muito menor, visto que no procedimento proposto anteriormente, a solução do reagente era bombeada como uma vazão de $8,6 \text{ mL min}^{-1}$. O método fotométrico baseado na reação com tiocianato de mercúrio, seguido da formação do complexo de tiocianato com o íon ferro (III), tem sido empregado em procedimentos para a determinação de cloreto em diferentes matrizes, por exemplo, água [107,106,108], leite [103], planta [109], urina [102], etanol [110].

A literatura consultada indica que a melhor metodologia para determinação fotométrica de cloreto é a baseada na reação com tiocianato de mercúrio e subsequente reação do ânion tiocianato liberado com o íon ferro (III). Então, esta metodologia foi adotada nesta parte da tese para desenvolver o procedimento em fluxo para a determinação de cloreto em coque de petróleo. Nessa matriz, o cloreto tem sido determinado utilizando como técnicas de detecção espectrometria de emissão óptica com fonte de plasma acoplado indutivamente (ICP OES) [111,83], cromatografia de íons (CI) [82], espectrometria de massas com plasma indutivamente acoplado (ICP-MS) [112].

3.1.3. Sistemas de análises em fluxo com determinação simultânea

Analisando os primeiros artigos referentes ao processo de análises por injeção em fluxo (FIA), observa-se que a determinação simultânea como recurso para aumentar a produtividade analítica, foi proposta no quinto artigo da antológica série, publicada por Ruzicka e Hansen entre 1975 e 1978 [113-122]. O quinto artigo desta série, reporta um procedimento para determinação de amônio e fosfato em digeridos de material vegetal [117]. A partir da invenção do injetor proporcional [22], os procedimentos para determinação simultânea propostos por pesquisadores

brasileiros, empregaram módulos de análises com diagramas de fluxos mais simples e mais eficientes quanto ao consumo de reagentes [123,124,125,126].

O conceito “simultâneo” compreende fatos ou ações que ocorrem ou são realizados ao mesmo tempo. Nos sistemas de análises em fluxo com detecção por espectrofotometria, frequentemente é utilizado o termo determinação simultânea, entretanto analisando a forma como os eventos ocorrem, o conceito não é utilizado no sentido real da palavra. Na maioria dos casos, as determinações são realizadas sequencialmente, usando a mesma amostra para determinar dois analitos. Há poucos procedimentos analíticos envolvendo a determinação de três ou quatro espécies químicas [127,128].

Nos artigos citados [123,124], as determinações foram realizadas de forma sequencial, usando a mesma amostra. A propulsão de fluidos tem sido realizada empregando bomba peristáltica [123,124,125,126,128], aceleração da gravidade [127] e mini-bombas solenoide [129,130]. Bomba de seringa tem sido usada como propulsor de fluidos, em menor escala, em sistemas de análises em fluxo para determinação simultânea [131,132]. Outra possibilidade para a determinação simultânea em análises em fluxo são os métodos baseados em cinética diferencial com vários detectores em série ou com um único detector [133].

Neste capítulo da tese, é desenvolvido procedimento para determinação simultânea de sulfato e cloreto em coque de petróleo, utilizando uma bomba de seringa para bombeamento das soluções e detecção com dois fotômetros de LED.

3.2. Experimental

3.2.1. Reagentes e soluções

Todas as soluções foram preparadas com água destilada e deionizada com condutividade elétrica menor que $0,1 \mu\text{S cm}^{-1}$. Os reagentes usados eram de grau analítico.

Solução de limpeza 0,3% (m/v) de EDTA (Merck), foi preparada em $0,2 \text{ mol L}^{-1}$ de NaOH (Merck). Solução de hidróxido de amônio (NH_4OH , Merck) $8,5 \times 10^{-3} \text{ mmol L}^{-1}$ foi preparada diluindo 1,1 mL de hidróxido de amônio concentrado em 1000 mL de água.

Solução estoque de 1000 mg L^{-1} de sulfato foi preparada dissolvendo 1,376 g sulfato de amônio ($(\text{NH}_4)_2\text{SO}_4$, Merck) em 1000 mL de água. As soluções de referência de sulfato com concentrações de 10 a 700 mg L^{-1} foram preparadas diariamente a partir da solução estoque, adicionando 6 mL da solução de hidróxido de amônio $8,5 \text{ mmol L}^{-1}$ e completando o volume para 50 mL com água.

Solução 10% (m/v) de cloreto de bário hidratado $\text{BaCl}_2 \cdot 2\text{H}_2\text{O}$ (Merck), foi preparada dissolvendo 10 g do sólido em 100 mL de uma solução 0,1% de Tween 80 (Merck). O tensoativo Tween 80 foi usado como estabilizante da suspensão de sulfato de bário formada durante o processo reacional.

O reagente para cloreto 0,06% (m/v) em $\text{Hg}(\text{SCN})_2$ (Merck) e 1% (m/v) em nitrato férrico hidratado $\text{Fe}(\text{NO}_3)_3 \cdot 9\text{H}_2\text{O}$ (Merck), foi preparado dissolvendo o tiocianato de mercúrio em 15 mL de etanol. Em seguida, o nitrato férrico foi dissolvido nesta solução, adicionando 2 mL ácido nítrico concentrado (14 mol L^{-1}) e 50 mL de água. Após a dissolução, o volume foi completado para 100 mL com água.

Solução estoque 1000 mg L^{-1} de cloreto foi preparada dissolvendo 1,647 g de cloreto de sódio (NaCl, Merck) em 1000 mL de água. As soluções de referência de cloreto com concentrações de 0,25 a $10,0 \text{ mg L}^{-1}$ foram preparadas diariamente a partir da solução estoque, adicionando 6 mL da solução de hidróxido de amônio $8,5 \text{ mmol L}^{-1}$ e completando o volume para 50 mL com água.

As soluções de referência de sulfato e de cloreto foram preparadas adicionando 6 mL de hidróxido de amônio, para obter um meio com composição similar à das amostras digeridas por combustão iniciada por micro ondas (MIC).

Todos os recipientes utilizados para determinação de cloreto foram descontaminados com HNO_3 20% (v/v) em seguida lavados com água purificada.

3.2.2. Preparo das amostras

As amostras de coque de petróleo foram decompostas, empregando a metodologia de combustão induzida por micro-ondas (MIC) [83]. Usando um forno de micro-ondas (Multiwave 3000, Anton Paar, Graz, Áustria), equipado com 8 vasos de quartzo (80 mL, temperatura máxima e pressão de 280 °C e 80 bar, respectivamente). Depois da moagem criogênica e secagem até massa constante, as amostras foram prensadas como pastilhas usando uma prensa hidráulica (15 ton, Specac, Orpington, UK), antes da decomposição por MIC. As pastilhas de 500 mg das amostras foram colocadas em um suporte de quartzo, contendo um disco de papel de filtro umedecido com 50 µL de uma solução 6 mol L⁻¹ de NH₄NO₃ (Merck), utilizada para ignição por MIC.

O suporte foi posicionado em um tubo de quartzo que continha 6 mL de uma solução 50 mmol L⁻¹ de NH₄OH (Merck), utilizada como solução absorvedora para retenção dos compostos de Cl e S depois da combustão. Cada recipiente foi pressurizado com 20 bar de oxigênio (99,6%, White Martins, Brasil) antes do aquecimento por micro-ondas. Etapa de combustão da amostra, 1 min em 1400 W, seguida de uma etapa de refluxo durante 4 min e de uma etapa de resfriamento de 20 min. Depois da digestão, os digeridos foram diluídos para 50 mL com água para posterior análise.

A precisão do procedimento de digestão por MIC foi avaliada usando materiais de referência certificados (MRCs). O sulfato foi determinado com MRC de coque de petróleo (NIST 2718, coque verde de petróleo, Instituto Nacional de Padrões e Tecnologia, USA). O cloreto foi determinado com MRC carvão de coque (BCR 181, carvão de coque, Instituto de Materiais de Referência e Medições, Bélgica).

3.2.3. Equipamentos e acessórios

Na montagem do módulo de análise, da bomba de seringa e do fotômetro foram utilizados os componentes descritos a seguir: sete válvulas solenoide de estrangulamento, modelo 225P011-11 *Nreserach*; quatro válvulas solenoide de 3 vias, modelo HP225T031 *NReserach*; quatro circuitos integrados ULN2803; quatro relés de 12 V e corrente de contato de 10 A; dois LED azul de 5 mm, máximo de emissão em 470 nm, e ângulo de abertura do feixe de radiação de 25°; um motor de corrente contínua de 12 V e intensidade de corrente de 1 A, caixa de redução

para 18 RPM e torque de 10 N cm^{-1} ; duas chaves elétricas de fim de curso, do tipo normalmente fechada; três transistores PC547; um potenciômetro de $5 \text{ k}\Omega$ multi-voltas; quatro seringas de vidro com volume de 5 mL; duas placas de circuito impresso em fibra de vidro construídas para este projeto; um fotodetector OP301 (Burr-Brown); um parafuso de latão, diâmetro de 15 mm, rosca toridal usinada com passo de 2,0 mm; uma placa de alumínio com superfície de 15 x 10 cm e espessura de 18 mm, tendo um furo no centro com rosca fêmea (porca) para o parafuso descrito. Outros componentes tais como placas de acrílico e de PVC de diferentes tamanhos e espessura para montagem da bomba de seringa e do módulo de análise; componentes eletrônicos tais como resistores, capacitores e fiação usados, não seriam necessários descrevê-los de forma detalhada.

O módulo de análise projetado para desenvolvimento do procedimento analítico é constituído por um conjunto de válvulas solenoides, uma bomba de seringas para bombeamento das soluções. As conexões entre os constituintes do módulo de análises e os reatores foram construídas utilizando tubos de polietileno com diâmetro interno de 0,8 mm. Um microcomputador equipado com uma interface eletrônica PCL711 (Advantech), e um programa computacional escrito em linguagem Quick BASIC 4.5 foi empregado para controlar o módulo de análise e fazer aquisição de dados.

Uma fonte de corrente contínua de 12 V estabilizada, e com capacidade para fornecer intensidade de corrente de 2 A, usada para alimentar as válvulas solenoide e motor da bomba de seringa. Uma fonte com diferença de potencial estabilizada em -12 V e +12 V, e capacidade para fornecer intensidade de corrente de 0,5 A, usada para alimentar o fotômetro. Estas fontes foram construídas no laboratório empregando os reguladores de voltagem LM317 (positivo) e LM337 (negativo), foram montadas em placas de circuito impresso em fibra de vidro.

Um fotômetro duplo canal construído empregando LEDs de 5 mm como fonte de radiação e dois fotodetectores (OPT301) com transdutores de sinais, o qual tem integrado no mesmo encapsulamento, o sistema de amplificação de sinal. Os LEDs com máximo de emissão de radiação em 470 nm (azul), que está na faixa de detecção dos dois analitos. O fotômetro foi equipado com duas celas de fluxo de 50 mm de caminho óptico e 1,2 mm de diâmetro interno. Estas celas de fluxo tem um design que permite um bom aproveitamento do feixe de radiação e fácil descarte de bolhas.

A interface PCL711 tem um conversor analógico/digital com 12 bits de resolução e duas portas digitais paralelas de 8 bits. O software foi desenvolvido para controlar o funcionamento da bomba de seringas, e a comutação das válvulas solenoide do módulo de análises. Estas atividades foram executadas através das portas paralelas, onde cada bit foi destinado para o acionamento de um dispositivo. Um conversor analógico/digital tem 8 linhas de entradas analógicas multiplexadas, duas foram empregadas para ler os sinais gerados pelos fotômetros, e duas foram usadas para monitorar o status da bomba de seringa, permitindo desligar de forma automática no fim do curso de enchimento ou de esvaziamento das seringas.

O diagrama dos fotômetros é mostrado na Figura 3.1, onde podemos observar que os fotômetros foram projetados para serem idênticos, mas permitindo condições de trabalho independentes. A intensidade dos feixes de radiação emitida pelos LED₁ e LED₂ é uma função da intensidade da corrente elétrica que flui através deles, controlados pelos resistores variáveis (5 kΩ), acoplados às bases dos transistores Tr₁ e Tr₂.

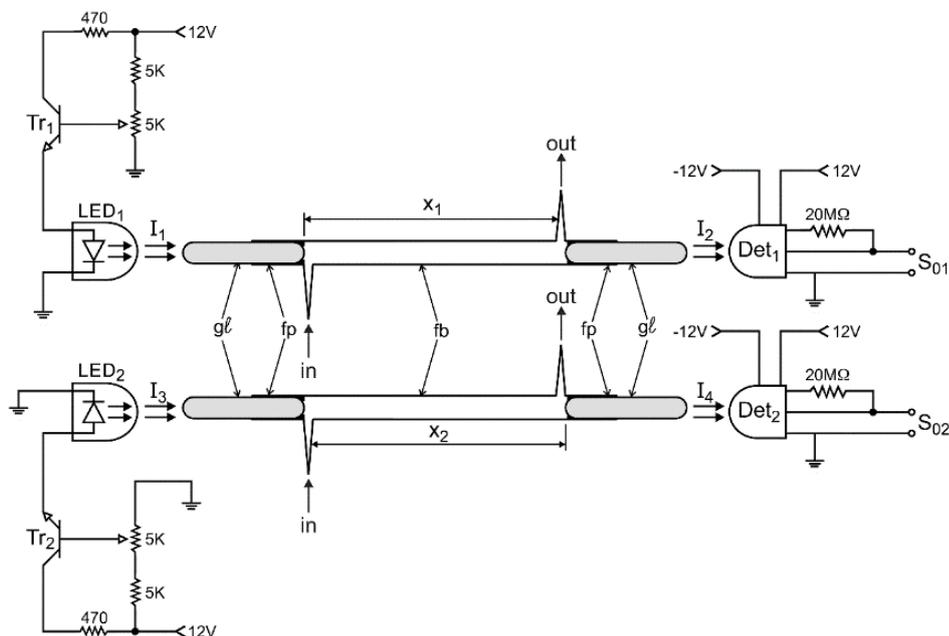


Figura 3.1 - Diagrama dos fotômetros utilizados na determinação simultânea de sulfato e cloreto. Tr₁ e Tr₂ = transistor BC547; LED₁ e LED₂ = diodos emissores de luz, $\lambda = 472$ nm; fb = corpo da célula de fluxo, tubo de vidro (boro-silicato); x₁ e x₂ = comprimento da cela 50 mm e diâmetro interno de 1,2 mm; gl = cilindros de vidro; fp = ponto fundido; I₁, I₂, I₃, e I₄ = feixe de radiação emitida pelos LEDs que entram e saem da cela de fluxo, respectivamente; Det₁ e Det₂ = fotodetector OPT301; in e out = entrada e saída de fluxo respectivamente; S₀₁ e S₀₂ = sinal gerado pelos fotômetros (mV).

Os feixes de radiação I_1 e I_3 emitidos pelos LED₁ e LED₂, propagam através das celas fb₁ e fb₂, respectivamente. Os feixes de radiação I_2 e I_4 são dirigidos pelos cilindros de vidro gl em direção aos fotodetectores Det₁ e Det₂, respectivamente, gerando diferenças de potenciais (mV), diretamente relacionadas com as intensidades dos respectivos feixes de radiação. Quando a cela de fluxo é preenchida com uma solução, que absorve radiação no mesmo comprimento de onda emitido pelo LED, a absorção ocorre durante a propagação da radiação através da cela de fluxo, provocando uma atenuação da intensidade do feixe de radiação. Como resultado, os feixes de radiação (I_2 e I_4) quando chegam aos detectores, apresentam menores intensidades ($I_1 > I_2$ e $I_3 > I_4$).

A variação da intensidade é em função das concentrações das espécies químicas que estão presentes na cela de fluxo. Sob estas condições, a variação da diferença de potencial elétrico gerado pelo fotômetro, é menor do que quando a célula está preenchida com água. Este fenômeno foi explorado para obter os valores de absorção, usado para determinar as concentrações dos analitos.

3.2.4. Descrição do módulo de análises

O procedimento para a determinação de cloreto baseia-se na reação de deslocamento do tiocianato do composto tiocianato de mercúrio, pelos íons cloreto seguido pela reação do tiocianato libertado com ferro(III), formando um complexo colorido que pode ser detectado por espectrofotometria[104,108]. O valor máximo da banda de absorção pode variar entre 460 e 490 nm, dependendo do meio em que ocorre a reação [134]. Neste trabalho, a detecção fotométrica foi realizada utilizando um diodo emissor de luz azul com uma emissão máxima a 472 nm e uma largura de banda de ≈ 25 nm.

O procedimento para a determinação de sulfato é baseado na reação com íons bário, formando uma suspensão de sulfato de bário [135], a qual causa a dispersão da radiação na cela de fluxo, diminuindo a intensidade do feixe de radiação. Como há formação de precipitado, então ao longo das análises, pode ocorrer deposição no interior da cela de fluxo. O acúmulo de precipitado causa desvios na linha de base, e essa desvantagem foi superada com a utilização de uma solução alcalina de EDTA para dissolver o sulfato de bário [135], evitando a aderência do precipitado na cela de fluxo e nas paredes da tubulação.

O diagrama do módulo de análises mostrado na Figura 3.2 emprega uma bomba de seringa automática para a propulsão dos fluidos. O deslocamento dos êmbolos das seringas para cima e para baixo foi efetuado utilizando um motor de corrente contínua, o qual foi acoplado a uma placa de tração (Tb), utilizando um parafuso conectado ao motor. Nesta configuração, as seringas S₃ e S₄ e as válvulas solenoides V₃, V₄, V₉, V₁₀ e V₁₁, a bobina de reação B₂ e o Det₁ foram designadas para a determinação de sulfato. As outras duas seringas foram utilizadas para a determinação de cloreto.

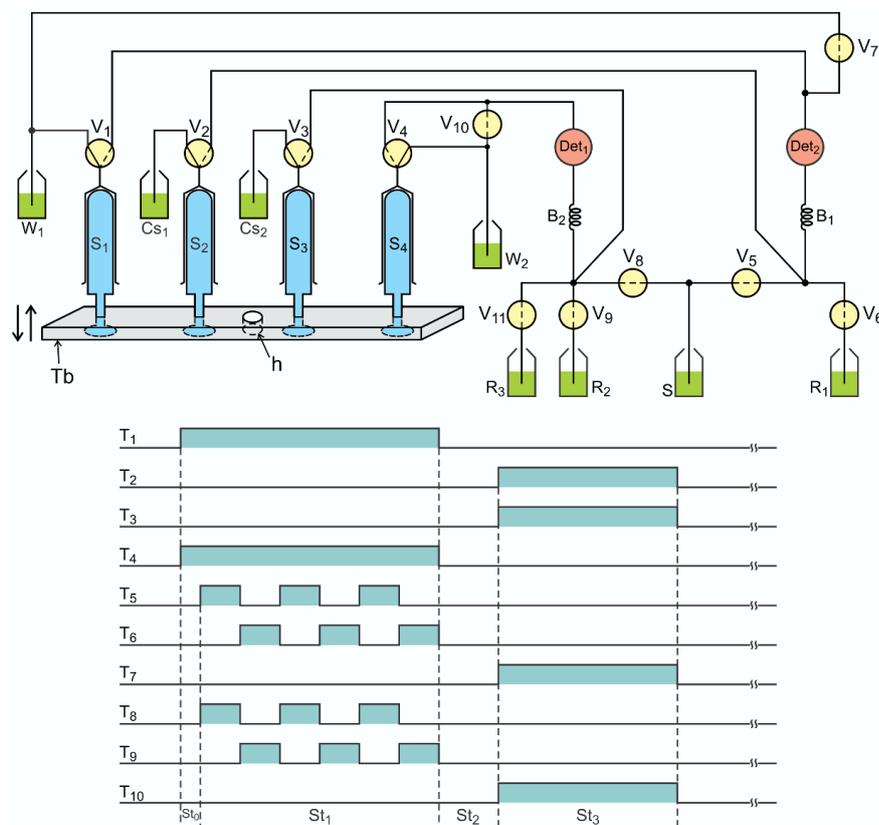


Figura 3.2 - Diagrama do módulo de análises para determinação simultânea de sulfato e cloreto. Tb = placa de tração de alumínio; h = furo roscado (fêmea) para anexar o parafuso de deslocamento (não mostrado); S₁, S₂, S₃ e S₄ = seringas de vidro (5 mL); V₁, V₂, V₃ e V₄ = válvulas solenoides de três vias; V₅, V₆,..., V₁₁ = válvulas solenoides *pinch*; S = solução da amostra; R₁ = solução de tiocianato de mercúrio; R₂ = solução de cloreto de bário; R₃ = solução de EDTA; C_{S1} e C_{S2} = solução transportadora (ácido nítrico 0,014 mol L⁻¹ e água, respectivamente); B₁ e B₂ = bobina de reação (100 cm x 0,8 mm d. i.); Det₁ e Det₂ = fotômetro, λ = 472 nm; W₁ e W₂ = descarte do efluente; T₁, T₂,..., T₁₀ = diagrama de acionamento das válvulas V₁, V₂,..., V₁₀, respectivamente. As linhas tracejadas e sólidas nas válvulas V₁, V₂, V₃ e V₄ indicam o caminho dos fluidos quando as válvulas são ligadas ou desligadas, respectivamente. As linhas tracejadas nas válvulas V₅, V₆,..., V₁₁ indicam que estas são normalmente fechadas, permitindo que o fluxo passe através delas somente quando acionadas.

Como mostra a Figura 3.2, as seringas estão com os êmbolos no fim do curso de deslocamento e estão vazias. Quando o software de controle é posto em operação, o computador verifica se os êmbolos das seringas estão no fim do curso. Para isso foram instaladas nas chaves de fim de curso, fiação conectada à entrada da interface PCL711. Então, se o status da chave que define o fim de curso para seringas vazias, indicar um valor próximo de 0V, o motor é acionado no sentido anti-horário para encher as seringas.

Conforme indicado na legenda desta figura, quando as válvulas V_1 , V_2 , V_3 e V_4 permanecem desligadas, os fluidos são direcionados para o respectivo reservatório de cada seringa, na etapa de enchimento e esvaziamento das mesmas. Essas mesmas válvulas são utilizadas para direcionar as soluções, enquanto os êmbolos das seringas se movimentam para cima ou para baixo. Quando os êmbolos das seringas atingem deslocamento máximo, o motor da bomba é automaticamente desligado e um sinal de ocupado é gerado, o qual é detectado pelo microcomputador.

O processo de amostragem tem início com o acionamento do motor com rotação no sentido anti-horário. Durante essa etapa, as válvulas solenoide V_5 e V_{11} são mantidas ligadas, conforme o diagrama de tempo (T_1, T_2, \dots, T_{10}), estas são acionadas alternadamente, o número de vezes previamente programado. O volume de cada alíquota das soluções é função da vazão de aspiração da seringa S_1 e S_4 e do intervalo de tempo (Δt_i) que cada válvula permaneceu ligada. Uma sequência de acionamento destas válvulas é chamada de um ciclo de amostragem, o qual pode ser repetido o número de vezes necessário para formar a zona da amostra no interior da bobina (B_1 e B_2).

Na etapa inicial, as válvulas solenoides V_1 e V_4 são acionadas, enquanto as válvulas V_5 , V_6 , V_8 e V_9 são ligadas e desligadas três vezes. Como mostra a Figura 3.2, as válvulas V_5 e V_8 são acionadas ao mesmo tempo, seguidas pelo acionamento das válvulas V_6 e V_9 e assim por diante. Esta sequência é responsável pelo preenchimento da bobina (B_1) com alíquotas das soluções de amostra e do reagente (R_1). A mesma sequência ocorre para o preenchimento da bobina (B_2) com alíquotas das soluções de amostra e o reagente (R_2). Subsequentemente, o motor é acionado para o deslocamento dos êmbolos das seringas para cima. Depois de um tempo de 2,0 segundo para estabilizar o fluxo, as válvulas V_2 e V_3 são acionadas, enquanto isso ocorre, as soluções C_{S1} e C_{S2} fluem através das válvulas V_2 , V_3 , V_7 e

V_{10}

e são direcionadas para as bobinas B_1 e B_2 , respectivamente. A zona da amostra contendo complexo relacionado com cloreto é deslocada para a cela de fluxo do fotômetro (Det_2), onde é gerado o sinal para a determinação de cloreto. Ao mesmo tempo, similar situação ocorre com C_{S2} , seguido pelo monitoramento do sinal para a determinação de sulfato pelo fotômetro (Det_1). Essa etapa é repedita o número de vezes estabelecido pelo software de controle, depois desse número de vezes é realizado uma etapa de limpeza do percurso analítico (C_{S1}) com a solução de EDTA para remoção de sulfato de bário que poderia ter depositado nas paredes do percurso analítico, e assim evitando obstrução e desvio da linha de base. Todas essas etapas são resumidas na Tabela 3.1.

As interfaces utilizadas para acionar a bomba de seringa e as válvulas solenoides são mostradas na Figura 3.3. A parte designada pela sigla CIA, é utilizada para acionar o motor para bombeamento das soluções e para controlar as válvulas solenoide V_1 , V_2 , V_3 e V_4 , usadas para redirecionamento dos fluxos. A secção CIB foi usada para as válvulas solenoide de V_5 a V_{11} , como mostra a Figura 1.2.

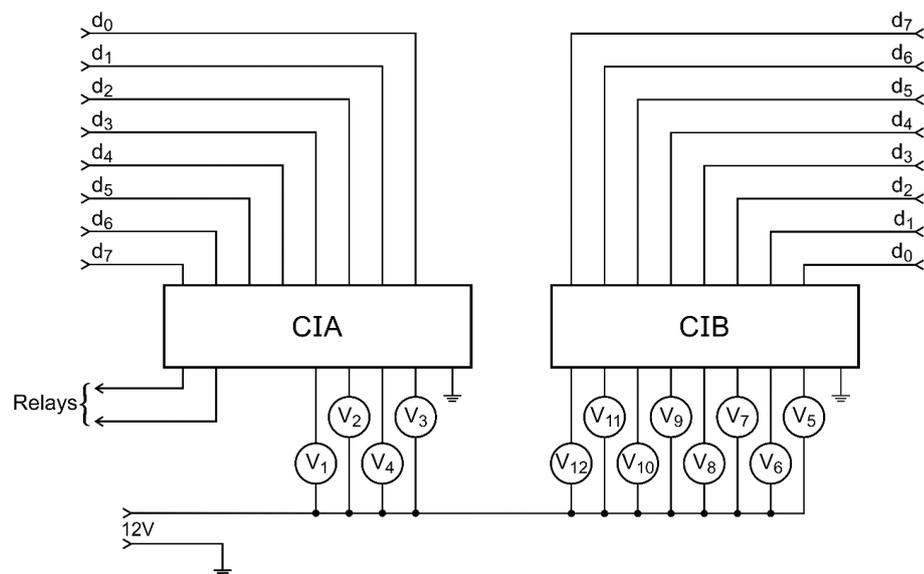


Figura 3.3 - Diagrama da interface de controle para motor de passo. CIA e CIB = circuito integrado ULN2803; V_1, V_2, V_3 e V_4 = válvulas solenoides de três vias; V_5, V_6, \dots, V_{11} = válvulas solenoide de estrangulamento (*pinch*) normalmente fechada; d_0, d_1, \dots, d_7 = linhas de controle da interface PCL711.

Tabela 3.1 - Sequência de eventos para determinação simultânea de sulfato e cloreto.

Etapa	Evento	Rotação	V ₁	V ₂	V ₃	V ₄	V ₅	V ₆	V ₇	V ₈	V ₉	V ₁₀	V ₁₁	Tempo/s
1	Preenche canal do reagente	E	1	0	0	1	0	1	0	0	1	0	1	4,0
2	Preenche canais	E	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	10
3	Limpa percurso analítico	D	0	1	1	0	0	0	1	0	0	1	0	14
4	Calibra fotômetro	P	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	-
5	Limpeza com EDTA	E	0	0	0	1	0	0	0	0	0	0	1	5,0
6	Limpeza com EDTA	D	0	0	1	0	0	0	0	0	0	1	0	7,0
7	Preenche canal da amostra	E	1	0	0	1	1	0	0	1	0	0	0	3,0
8	Limpa canal da amostra	D	0	1	1	0	0	0	1	0	0	1	0	3,0
9	Amostragem para cloreto ^a	E	1	0	0	0	1	0	0	0	0	0	0	1,0
	Amostragem para cloreto ^a	E	1	0	0	0	0	1	0	0	0	0	0	0,5
10	Amostragem para sulfato ^b	E	0	0	0	1	0	0	0	1	0	0	0	1,0
	Amostragem para sulfato ^b	E	0	0	0	1	0	0	0	0	1	0	0	1,0
11	Leitura do cloreto/sulfato	D	0	1	1	0	0	0	1	0	0	1	0	6,0

Os eventos marcados como a e b correspondem aos ciclos de amostragem para cloreto e sulfato, respectivamente. E, D, e P na coluna de rotação do motor = esquerda, direita e parado, respectivamente. V₁-V₁₁= válvulas solenoides (Fig.3.2). Números 0 e 1 indicam que válvula está desligada ou ligada, respectivamente. Os números da última coluna são referentes aos intervalos de tempo selecionados.

Quando o programa de controle é colocado em funcionamento, consulta se a calibração dos fotômetros deve ser efetuada. Em caso afirmativo, o microcomputador envia sinais de controle para o módulo de seringas para deslocar os êmbolos para cima e as válvulas V_2 , V_3 , V_7 e V_{10} são acionadas. Quando isto ocorre, as soluções C_{S1} e C_{S2} são transportadas para celas de fluxos. Os sinais gerados pelos fotômetros denominados aqui como medições de fundo de escala (F_{sm1} , F_{sm2}) são ajustados para 2000 mV, utilizando os resistores variáveis conectados às bases dos transistores Tr_1 e Tr_2 (Figura 3.1). As medidas relacionadas à radiação espúria (D_{fm1} e D_{fm2}) foram realizadas aspirando uma solução concentrada dos compostos analisados. Estas soluções foram preparadas, misturando 15 mL de uma solução 4 % (m/v) de tiocianato com igual volume de uma solução de ferro (III) com concentração de 40 e 50 mg L⁻¹, respectivamente. As medidas D_{fm1} e F_{sm1} e D_{fm2} e F_{sm2} referentes aos fotômetros Det_1 e Det_2 , foram salvas para serem usadas nos cálculos de absorvância.

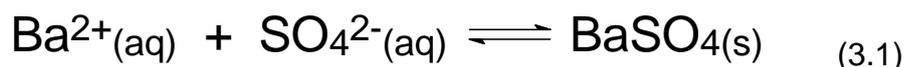
A etapa de calibração para ajustar as medições de fundo de escala, foi realizada 15 min depois que o fotômetro foi ligado. Os ensaios para obtenção de medidas de espalhamento da luz foram realizados uma vez por semana, visto que mantendo as medições de fundo de escala por volta de 2000 mV, não ocorria variação significativa em sua magnitude. As etapas de 5 a 8 foram efetuadas uma vez antes de se iniciar a análise de uma nova amostra.

Este sistema foi projetado para lidar com as soluções de amostras e de reagentes pelo processo de multicomutação em análise em fluxo, portanto, os volumes das alíquotas inseridas no percurso analítico eram em função da vazão de bombeamento e do intervalo de tempo de acionamento das válvulas solenoide. Os intervalos de tempo e as concentrações das soluções de reagentes foram as variáveis estudadas.

3.3. Resultados e Discussão

3.3.1. Sulfato

O procedimento para a determinação de sulfato foi baseado na reação entre cátion (Ba^{2+}) e ânion sulfato (SO_4^{2-}), o qual tem a formação do precipitado de sulfato de bário como mostra a Equação 3.1 abaixo.



Nestes experimentos foram avaliados os efeitos da adição de sulfato, e das concentrações de cloreto de bário, surfactante e EDTA. Os parâmetros que caracterizam os sistemas de análises em fluxo, como volumes de amostra e de reagente e comprimento do percurso analítico também foram avaliados.

3.3.1.1. Estudo da adição de sulfato

Na determinação turbidimétrica de sulfato, utilizando cloreto de bário como reagente, tem sido utilizado a adição de uma pequena alíquota de uma solução de sulfato concentrada, para aumentar a taxa de nucleação, pois a supersaturação favorece a formação dos cristais [135]. Visando avaliar o efeito da adição da solução de sulfato no módulo de análise proposto, foram realizados experimentos usando soluções com concentrações de 10, 15, 20 e 25 mg L⁻¹ SO₄²⁻. Observou-se que o sinal começa a ter variação significativas a partir da concentração de 10 mg L⁻¹ SO₄²⁻, também apresentado melhor resposta linear. Este efeito é conhecido de trabalhos anteriores, baseados no processo de análise por injeção em fluxo [135].

Apesar de ter sido realizado o estudo da adição de sulfato, este não foi utilizado para dar continuidade na otimização do sistema proposto, visto que, as amostras de coque de petróleo, apresentavam concentrações de sulfato acima de 10 mg L⁻¹, então não havia necessidade de apoio adicional para induzir a nucleação.

3.3.1.2. Estudo da concentração do reagente

Para avaliar o efeito da concentração do reagente, foram feitos testes usando as concentrações de 2,5; 5,0; 10; 15 e 20 % (m/v) de cloreto de bário e os resultados são mostrados na Figura 3.4.

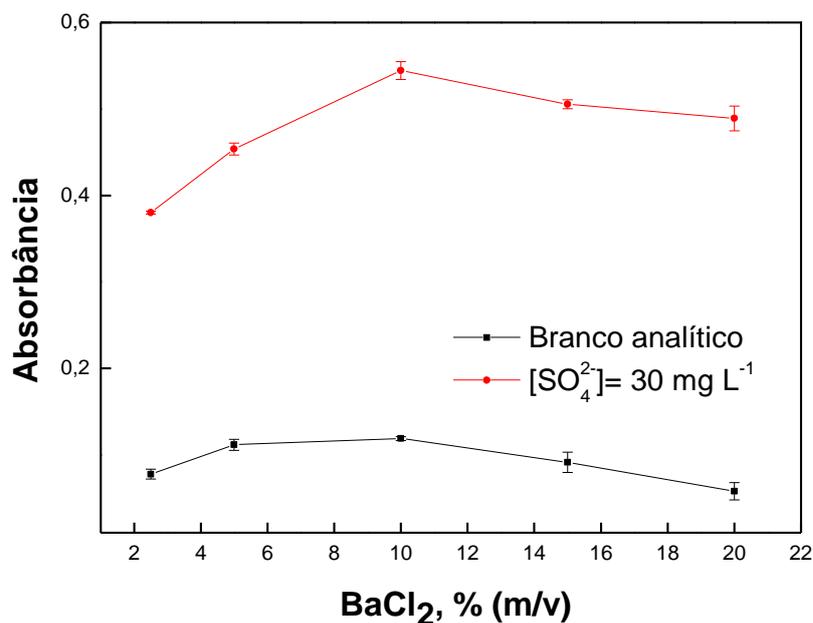


Figura 3.4 - Efeito da concentração do reagente. (■) = branco analítico; (●) = solução padrão de sulfato. Condições experimentais: Solução padrão de $(\text{NH}_4)_2\text{SO}_4$ 30 mg L^{-1} ; Solução de limpeza contendo EDTA 0,3% (m/v) em NaOH $0,2 \text{ mol L}^{-1}$.

Os resultados da Figura 3.4, mostram que até a concentração de 10 % (m/v) cloreto de bário, houve um aumento da diferença entre as duas curvas, indicando ganho de sinal analítico em torno de 30 %. A partir dessa concentração, a curva referente ao branco apresenta inclinação decrescente, assim como para a solução padrão de sulfato. Não encontrou-se uma explicação para o decréscimo dos sinais do branco e da solução padrão, o qual é observado para concentrações maiores que 10 % (m/v). Baseado nestes resultados a concentração de 10 % (m/v) foi selecionada.

3.3.1.3. Estudo da concentração de ácido nítrico

A influência da acidez no desenvolvimento da reação foi avaliada, usando soluções de cloreto de bário preparadas em água e em ácido nítrico com concentrações de 0,014; 0,14 e $0,28 \text{ mol L}^{-1}$ e os resultados são mostrados na Figura 3.5.

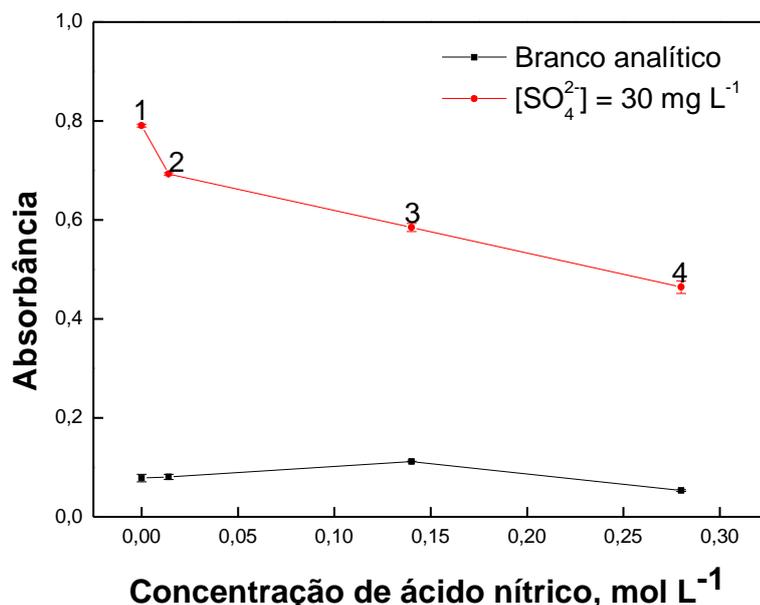


Figura 3.5 - Estudo da concentração de ácido nítrico. (■) = branco analítico; (●) = solução padrão de sulfato. Condições experimentais: Solução padrão de $(\text{NH}_4)_2\text{SO}_4$ 30 mg L⁻¹; BaCl₂ 10% (m/v) em 0,1% Tween 80; Solução de limpeza contendo EDTA 0,3% (m/v) em NaOH 0,2 mol L⁻¹. 1, 2, 3, 4 representam as soluções em água e ácido nítrico 0,014; 0,14 e 0,28 mol L⁻¹, respectivamente.

Observa-se que a partir da concentração de 0,014 mol L⁻¹ HNO₃ a curva correspondente à solução padrão de sulfato, apresenta um decréscimo praticamente linear com o aumento da concentração do ácido. A concentração do ácido pode afetar a taxa de nucleação. Este resultado está em concordância com relatos encontrados na literatura. Segundo esses autores, a acidez do meio afeta formação do precipitado [135]. As amostras foram preparadas em meio levemente alcalino (8,5 mmol L⁻¹ NH₄OH), que não tem capacidade tamponante. Então, para dar sequência ao trabalho, a solução de cloreto de bário foi preparada em água, que também foi usada como fluido transportador.

3.3.1.4. Estudo da concentração de EDTA

A suspensão de sulfato de bário tende a aderir na parede das tubulações e da cela de fluxo, causando desvio da linha de base e eventualmente podendo causar obstrução da tubulação. Para contornar este inconveniente, o emprego de uma etapa de limpeza com uma solução de EDTA em meio alcalino foi avaliada. Os ensaios foram realizados, usando soluções de EDTA nas concentrações de 0,05;

0,1; 0,2; 0,3 e 0,6% (m/v), preparada em uma solução alcalina de hidróxido de sódio $0,2 \text{ mol L}^{-1}$. Utilizando uma solução padrão de sulfato de 800 mg L^{-1} , observou-se que a partir da concentração 0,2% não se observou qualquer variação na linha de base, porém para assegurar total limpeza do sistema, foi utilizada a concentração de 0,3% (m/v) para continuação dos estudos.

3.3.1.5. Estudo da concentração de surfactante

O espalhamento de luz depende do tamanho das partículas, então as condições de nucleação devem ser reprodutíveis, a fim de se obter resultados mais precisos. A utilização de surfactante em determinação por turbidimetria é necessária, para estabilizar as partículas e prevenir a rápida precipitação de sulfato de bário. Em virtude disso, foi utilizado como agente estabilizante o Tween 80, e foram avaliadas as concentrações de 0,05; 0,1; 0,15 e 0,2% (m/v) de Tween 80. Os resultados mostrados na Figura 3.6 indicam que não houve ganho significativo na sensibilidade. Observa-se que houve uma pequena diminuição nos sinais do branco para concentrações acima de 0,05%. A função do surfactante é melhorar a homogeneidade das partículas formadas, o que favorece a precisão dos resultados. Em vista disso, a concentração de 0,1% foi selecionada para os experimentos seguintes.

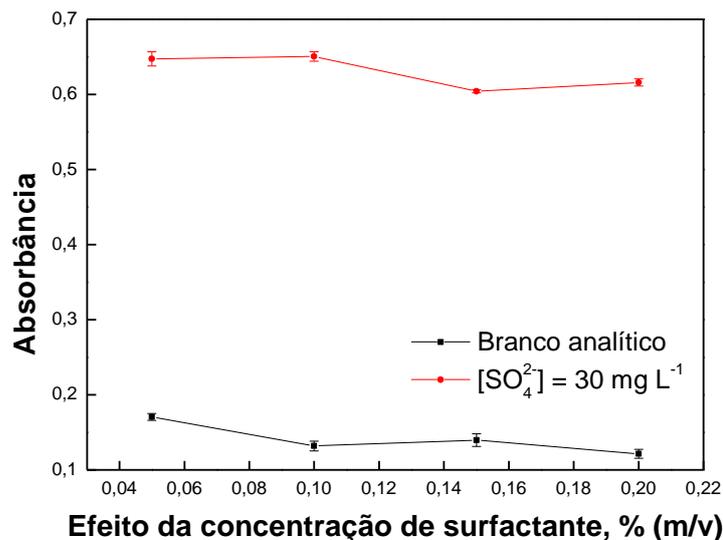


Figura 3.6 - Estudo da concentração do surfactante. (■) = branco analítico; (●) = solução padrão de sulfato. Condições experimentais: Solução padrão de $(\text{NH}_4)_2\text{SO}_4$ 30 mg L^{-1} ; BaCl_2 10% (m/v) em Tween 80; Solução de limpeza contendo EDTA 0,3% (m/v) em NaOH $0,2 \text{ mol L}^{-1}$.

3.3.1.6. Estudo do volume da amostra

O efeito do volume de amostra foi avaliado, variando-se os tempos de acionamento da V_8 em 0,25; 0,5; 1,0; 1,5 e 2,0 s. Nesta condição, os volumes da zona da amostra no instante da inserção foram 250, 500, 1000, 1500 e 2000 μL respectivamente. Os resultados obtidos são mostrados na Figura 3.7, na qual se observa um aumento da sensibilidade com aumento no volume da zona da amostra. Entretanto, para o branco, observa-se um acentuado decréscimo do sinal gerado. O sinal do branco está relacionado com a concentração do reagente, o qual pode absorver e/ou espalhar uma fração da radiação incidente. O volume da alíquota da solução do reagente foi mantido constante, e em vista disso, à medida que o volume da solução da amostra aumentou, o reagente foi diluído dentro da zona da amostra (solução do branco ou do padrão), gerando a curva decrescente observada nesta figura. Observa-se que a curva decresce de forma praticamente linear, o que corrobora a suposição de que a solução do reagente sofreu um processo de diluição dentro da zona da amostra.

A curva relacionada à solução padrão de sulfato é ascendente em toda a extensão, indicando que não houve falta de reagente para o desenvolvimento da reação. Estes resultados mostram que podemos empregar a variação do volume da zona da amostra como recurso para ajustar a sensibilidade procedimento analítico.

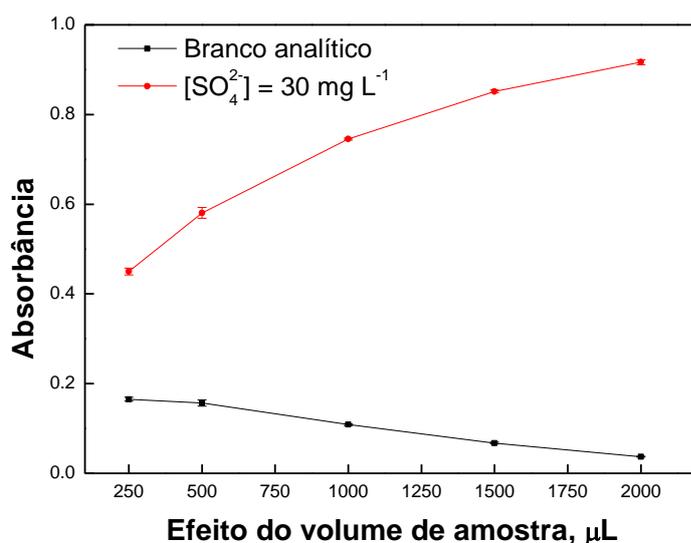


Figura 3.7 - Efeito do volume da amostra. (■) = branco analítico; (●) = solução padrão de sulfato. Condições experimentais: Solução padrão de $(\text{NH}_4)_2\text{SO}_4$ 30 mg L^{-1} ; BaCl_2 10% (m/v) em Tween 80 0,1 %, Solução de limpeza contendo EDTA 0,3% (m/v) em NaOH $0,2 \text{ mol L}^{-1}$; ciclos de amostragem = 5.

3.3.1.7. Estudo do volume de reagente

Para este experimento foi estabelecido um intervalo de tempo de 0,5 s para inserção da solução da amostra, portanto o volume inserido em cada ciclo de amostragem era 100 μL . O tempo de inserção do reagente reflete no aumento de seu volume no percurso analítico, e para estudar seu efeito, foram estabelecidos tempos de 0,25; 0,5; 1,0; 1,5 e 2,0 s para manter acionada a válvula solenoide V_9 (Figura 1.2). Nesta condição, foram inseridos os seguintes volumes 250, 500, 1000, 1500 e 2000 μL . Conforme mostra a Figura 3.8, à medida que aumentou o tempo de inserção, ocorreu uma diminuição na magnitude dos sinais. A quantidade de reagente na zona da amostra é crescente, portanto o comportamento das curvas indica diluição da zona da amostra por dispersão.

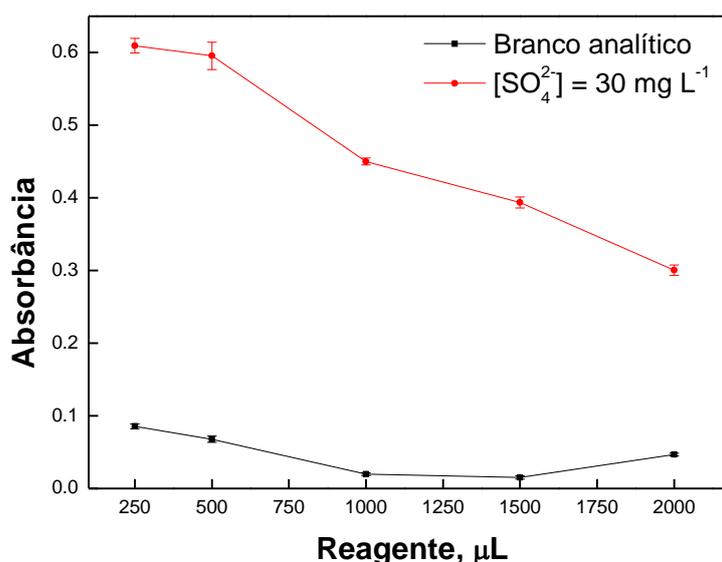


Figura 3.8 - Efeito do volume de reagente. (■) = branco analítico; (●) = solução padrão de sulfato. Condições experimentais: Solução padrão de $(\text{NH}_4)_2\text{SO}_4$ 30 mg L^{-1} ; BaCl_2 10% (m/v) em Tween 80 0,1 %, Solução de limpeza contendo EDTA 0,3% (m/v) em NaOH 0,2 mol L^{-1} ; ciclos de amostragem = 5.

3.3.1.8. Estudo do comprimento da alça de amostragem

No sistema proposto, a inserção da amostra era feita por alça de amostragem. Assim, o acionamento sequencial das válvulas V_8 , e V_9 , inseriam na bobina (B_2), volumes das soluções proporcionalmente aos tempos de acionamento das respectivas válvulas de controle. Os experimentos foram realizados usando alças de amostragem com comprimentos de 25, 50, 80, 100 e 150 cm que corresponde aos volumes de 125, 250, 400, 500 e 750 μL respectivamente. A Figura

3.9 mostra que houve um aumento na sensibilidade em torno de 55 %, quando o comprimento da alça de amostragem variou de 25 para 80 cm, sendo que para comprimentos maiores não houve ganho significativo de sinal, portanto, foi mantido o tamanho de 100 cm para estudos futuros. Neste experimento, o número de ciclos de amostragem foi mantido em 5 para garantir que na alça de amostragem não ocorresse diluição por dispersão.

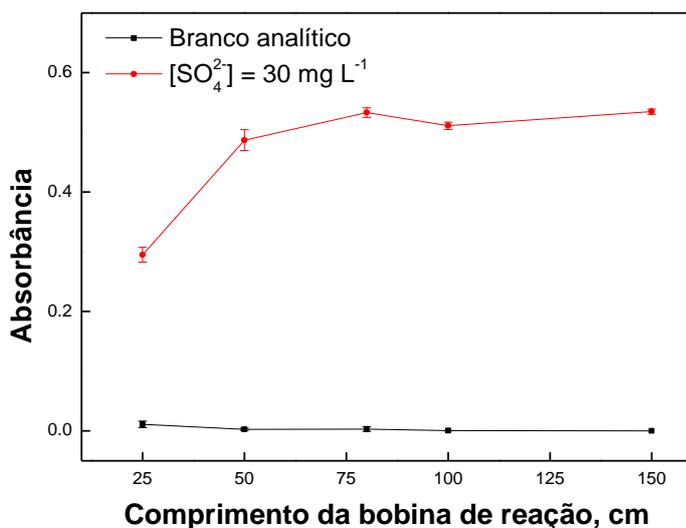


Figura 3.9 - Efeito do comprimento da alça de amostragem. (■) = branco analítico; (●) = solução padrão de sulfato. Condições experimentais: Solução padrão de (NH₄)₂SO₄ 30 mg L⁻¹; BaCl₂ 10% (m/v) em Tween 80 0,1 %, Solução de limpeza contendo EDTA 0,3% (m/v) em NaOH 0,2 mol L⁻¹, ciclos de amostragem: 5

3.3.1.9. Estudo do número de ciclos de amostragem

O número de ciclos de amostragem pode variar em função do procedimento analítico, os experimentos cujos resultados são mostrados a seguir, foram realizados para verificar a resposta em função do aumento do mesmo. Como mostra Figura 3.10 houve aumento em torno de 73 %, quando o número de ciclos de amostragem variou de 3 para 5, os resultados obtidos com 5 e 8 ciclos de amostragem são similares, portanto, a partir de 5 ciclos de amostragem, o sistema de análise em fluxo estava sob a condição de volume infinito, e nesta condição não ocorreu ganho de sinal com o aumento do volume da zona da amostra.

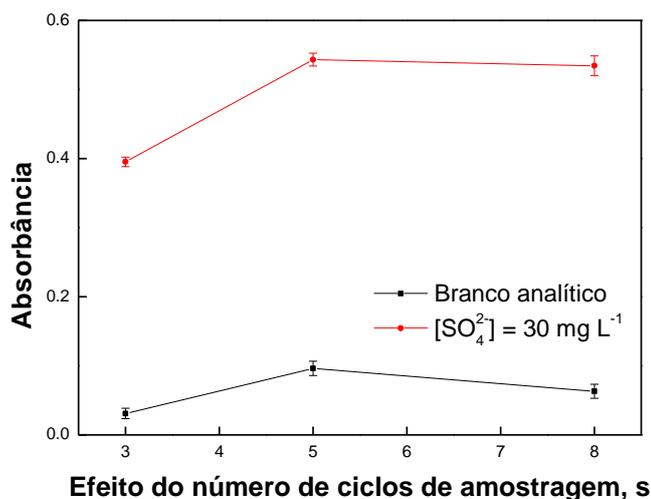


Figura 3.10 - Efeito do número de ciclos de amostragem. (■) = branco analítico; (●) = solução padrão de sulfato. Condições experimentais: Solução padrão de $(\text{NH}_4)_2\text{SO}_4$ 30 mg L^{-1} ; BaCl_2 10% (m/v) em Tween 80 0,1 %, Solução de limpeza contendo EDTA 0,3% (m/v) em NaOH $0,2 \text{ mol L}^{-1}$.

A partir do estudo dos parâmetros experimentais discutidos previamente, os valores selecionados são mostrados na Tabela 3.2.

Tabela 3.2 - Valores experimentais obtidos após a otimização do sistema proposto

Parâmetros	Valores estabelecidos
Tempo de inserção da amostra (s)	0,5
Nº de ciclos de amostragem	5
Tempo de inserção do reagente (s)	1,0
Alça de amostragem (cm)	100

O procedimento analítico foi baseado no espalhamento de luz causado pela suspensão de sulfato de bário. Medidas em absorbância são, geralmente, utilizadas para determinar a concentração de sulfato, empregando esta metodologia. Os espectrofotômetros, equipados com sistema óptico, emitem um feixe de radiação com uma banda de comprimento de onda mais estreita e que tende a ser paralelo. No presente trabalho, foi empregado um fotômetro equipado com LED como fonte de radiação. Neste caso, o feixe de radiação não é nem paralelo nem monocromático. Diante disso, para avaliar a faixa de resposta linear, foram realizados testes para estabelecer a melhor faixa de trabalho.

O sinal gerado pelo sistema em fluxo proposto Figura 3.11, apresenta um perfil de sinal transiente, o qual se refere à concentração do analito. Normalmente, a altura do pico é tomada como parâmetro para medição. Cada ponto nesse perfil está associado com uma concentração do analito, este recurso tem sido explorado para realizar a diluição online [136,137]. Este artifício foi utilizado para encontrar a faixa de absorvância que poderia ser utilizada para a determinação de sulfato. Uma vez que cada ponto no perfil do sinal representa uma concentração do analito, a aquisição de dados foi programada para ser realizada utilizando um tempo de atraso para iniciar a etapa de monitoramento do sinal.

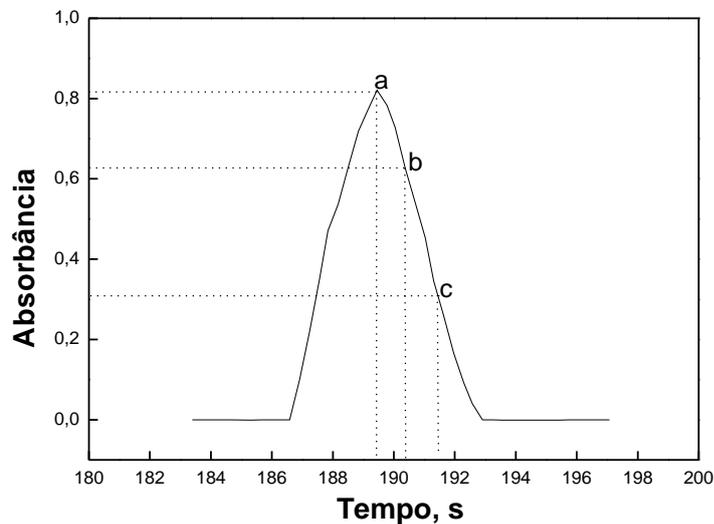


Figura 3.11 - Registro de um sinal transiente. Sinal referente à concentração de 200 mg L^{-1} de uma solução padrão de sulfato.

As avaliações foram realizadas utilizando soluções padrão de sulfato com concentrações que variaram de 50 a 700 mg L^{-1} . Tomando o valor máximo do sinal como um parâmetro de medição, e utilizando regressão linear, foram obtidos os resultados apresentados na Tabela 3.3. O resultado da primeira linha da tabela refere-se à medida realizada sem tempo de atraso ($\Delta t = 0 \text{ s}$), ou seja, sinal analítico de toda a zona de amostra. Para os tempos de atraso na segunda e terceira linha foram parecidos com o da primeira linha, quando se observa os valores referentes à faixa de absorvância. Efeito significativo na faixa de absorvância foi observado para os tempos $6,0$ e $8,0 \text{ s}$, ou seja, na lateral do sinal analítico. Este estudo foi realizado utilizando dois e três ciclos de amostragem o que se observa comportamento semelhante quando aumenta em 50% a zona da amostra.

Tabela 3.3 - Comportamento do fotômetro em função do tempo de atraso.

Ciclos de amostragem	$\Delta t(s)^*$	Intercepto	Inclinação	R	Faixa de absorvância
2,0	0,0	0,2083	0,0019	0,9771	0,2421 – 1,4585
	2,0	0,2017	0,0019	0,9772	0,2368 – 1,4349
	4,0	0,1951	0,0019	0,9806	0,2226 – 1,4157
	6,0	0,0590	0,0014	0,9943	0,1024 – 1,0102
	8,0	0,0369	0,0006	0,9983	0,0707 – 0,5235
3,0	0,0	0,3820	0,0026	0,9609	0,4158 – 1,9890
	2,0	0,3761	0,0026	0,9676	0,4150 – 2,0316
	4,0	0,3680	0,0025	0,9633	0,4037 – 1,8886
	6,0	0,1540	0,0014	0,9933	0,2076 – 1,0927
	8,0	0,0064	0,0008	0,9933	0,0553 – 0,6051

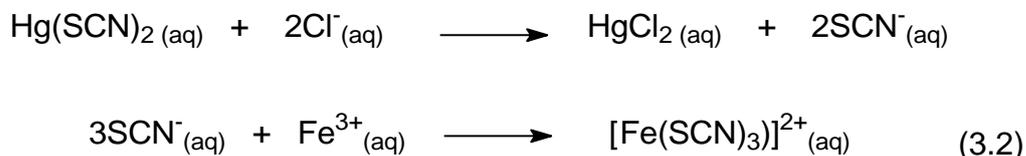
* Tempo de atraso antes da etapa de leitura do sinal analítico.

Os resultados também mostram que se pode utilizar uma amostra com uma alta concentração de sulfato e aplicar os tempos de diluição de 6,0 e 8,0 s para alcançar a faixa linear desejada e que a absorvância em torno de 1,0 é o limite para o sistema proposto, ou seja, no qual o espalhamento da luz pode ser associado a concentração de sulfato de forma linear. Com base nos resultados apresentados, foram escolhidos três ciclos de amostragem, e os intervalos de tempo de 0,5 e 1,0 s para inserir a solução da amostra e do reagente, respectivamente, e o tempo de atraso de 6,0 s para iniciar a etapa de leitura do sinal. Estabelecidas as condições experimentais, um conjunto de soluções padrões de sulfato na faixa de 10 a 700 mg L⁻¹ foram analisadas e foi obtida a seguinte curva analítica: Absorvância = 0,0554 + 0,0013C, (r = 0,9994), onde C representa a concentração de sulfato em mg L⁻¹. Empregando este recurso, foi possível alcançar uma ampla faixa linear, o que se destaca frente aos outros trabalhos apresentados na literatura [135,138]. Além disso, com essa proposta pode se utilizar qualquer concentração de sulfato, sem fazer mudanças no módulo de análises.

3.3.2. Cloreto

Para a determinação de cloreto foi utilizado o procedimento espectrofotométrico, com medidas efetuadas em 480 nm, empregando o método baseado no deslocamento do íon tiocianato do composto formado com mercúrio(II) pelo íon cloreto. A concentração de composto tiocianato de ferro(III) formado, é

proporcional à concentração original de íon cloreto, como mostra a Equação 3.2 [108].



3.3.2.1. Estudo da concentração de tiocianato de mercúrio

Os experimentos foram realizados usando soluções de tiocianato de mercúrio com concentrações de 0,47; 0,94; 1,89 e 2,84 mmol L⁻¹ e os resultados são mostrados na Figura 3.12. Observa-se que as duas curvas têm comportamento ascendente com a concentração do reagente até 1,89 mmol L⁻¹. As duas curvas são praticamente paralelas, indicando que não houve aumento na sensibilidade e sim aumento do sinal do branco analítico. Quanto ao decréscimo observado nas duas curvas para a concentração de 2,84 mmol L⁻¹, não encontrou-se uma explicação. Para continuação da otimização do sistema proposto foi utilizado à concentração de 1,89 mmol L⁻¹.

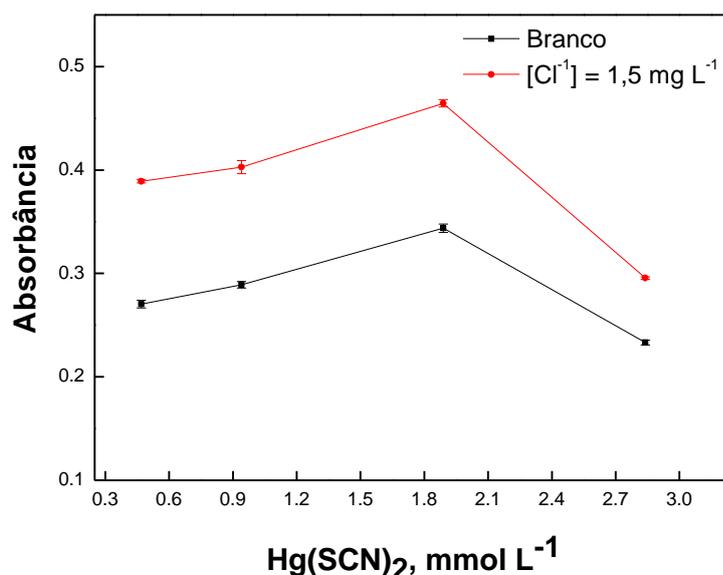


Figura 3.12 - Efeito da concentração de tiocianato de mercúrio. (■) = branco analítico; (●) = solução padrão de sulfato. Condições experimentais: Solução padrão de NaCl 1,5 mg L⁻¹.

3.3.2.2. Estudo da concentração de ferro (III)

Conforme indicado na Equação 3.2 relatada em item anterior, a liberação do ânion SCN^- tem uma relação direta com o íon Cl^- presente na amostra ou na solução padrão, portanto o composto formado pode ser relacionado à concentração de cloreto na amostra, e para isso é necessário que a concentração de ferro (III) no meio reacional atenda a estequiometria da reação. Em vista disso, foi avaliado o efeito da concentração de ferro (III), usando soluções com concentrações de 25; 50; 74 e 99 mmol L^{-1} de ferro (III), e os resultados são mostrados na Figura 3.13. As duas curvas são praticamente paralelas, portanto o aumento da concentração de ferro (III), não afetou de forma significativa a magnitude do sinal gerado. Devido a isso, qualquer uma das concentrações estudadas poderia ser escolhida, pois estaria satisfazendo a formação do complexo. Em virtude disso, e por apresentar um menor valor no sinal do branco a concentração de 25 mmol L^{-1} foi selecionada.

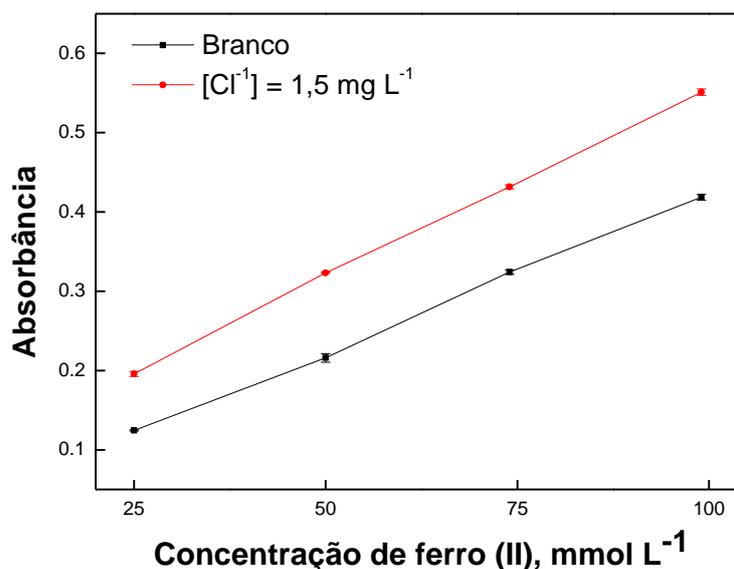


Figura 3.13 - Efeito da concentração de ferro (III). (■) = branco analítico; (●) = solução padrão de sulfato. Condições experimentais: Solução padrão de NaCl $1,5 \text{ mg L}^{-1}$; solução de $\text{Hg}(\text{SCN})_2 = 1,89 \text{ mmol L}^{-1}$.

3.3.2.3. Estudo do volume de reagente

Em se tratando da solução de reagente, seria possível variar a concentração e o volume da alíquota inserida. Mas, neste caso, a concentração da solução de tiocianato de mercúrio $1,89 \text{ mmol L}^{-1}$ é saturada, então os experimentos realizados

envolveram somente o volume inserido. Então, foram programados os seguintes intervalos de tempo de acionamento da válvula solenoide V_6 (Figura 1.2) 0,125; 0,25; 0,5; 0,75 e 1,0 s. Considerando-se que a vazão de aspiração da seringa S_1 era de $200 \mu\text{L s}^{-1}$, o volume da solução do reagente na zona de amostra variou de 75 a $600 \mu\text{L}$, tendo em vista que foram programados 3 ciclos de amostragem. Analisando as curvas da Figura 3.14, pode-se deduzir que não ocorreu ganho significativo de sinal, pois as duas curvas são praticamente paralelas. Ocorreu aumento da leitura da solução do branco, causada pelo aumento de seu volume na zona da amostra. Em vista destes resultados, o intervalo de tempo de 0,5 s foi escolhido. Nessa condição o volume das soluções de tiocianato de mercúrio inserido em cada ciclo de amostragem era de $100 \mu\text{L}$.

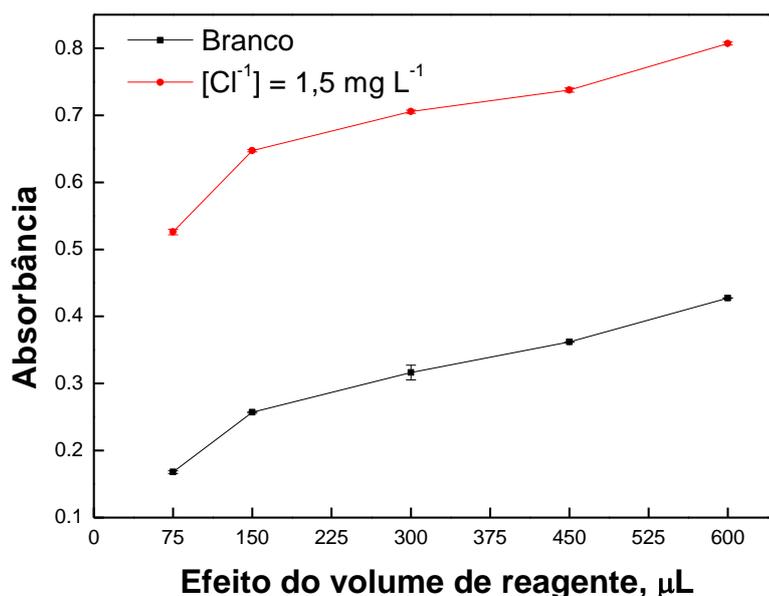


Figura 3.14 - Efeito do volume de reagente. (■) = branco analítico; (●) = solução padrão de sulfato. Condições experimentais: Solução padrão de NaCl $1,5 \text{ mg L}^{-1}$; solução de $\text{Hg}(\text{SCN})_2 = 1,89 \text{ mmol L}^{-1}$.

3.3.2.4. Estudo do volume de amostra

O efeito do volume de amostra pode afetar a magnitude do sinal analítico, portanto em sistemas de análise em fluxo é um parâmetro que deve ser investigado. No módulo de análise proposto (Figura 3.2), o volume da alíquota da amostra inserido na alça de amostragem é definido pela vazão de aspiração da seringa (S_1) e

pelo tempo de acionamento da válvula solenoide V_6 . Os resultados mostrados na Figura 3.15, foram obtidos empregando os intervalos de tempo de 0,5 a 2,5 s para acionamento da válvula V_6 .

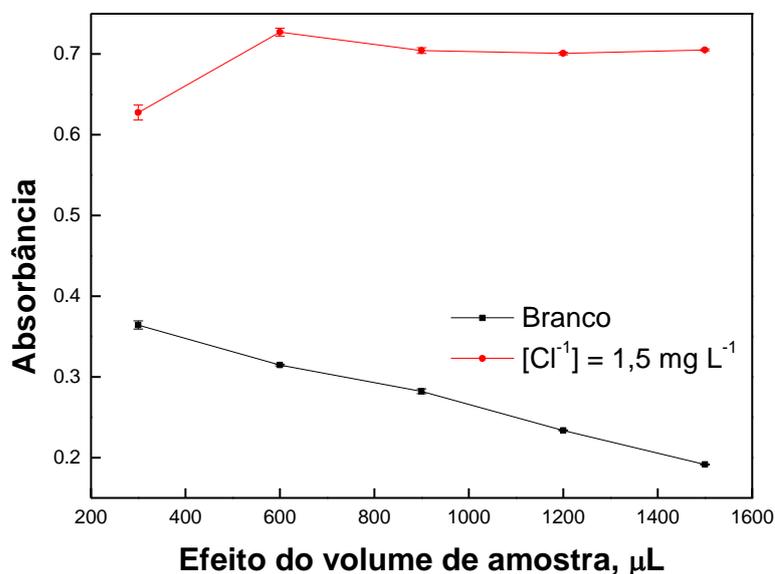


Figura 3.15 - Efeito do volume de amostra. (■) = branco analítico; (●) = solução padrão de sulfato. Condições experimentais: Solução padrão de NaCl $1,5 \text{ mg L}^{-1}$; solução de $\text{Hg}(\text{SCN})_2$ $1,89 \text{ mmol L}^{-1}$.

Observa-se que o sinal referente à solução padrão de cloreto, apresentou aumento até o intervalo de tempo de 1,0 s, seguido de um pequeno decréscimo, permanecendo praticamente constante para tempos maiores, o que significa também volumes maiores. Quanto à curva referente à solução do branco, observa-se um decréscimo praticamente linear. O reagente apresenta absorção na mesma faixa do composto formado, tanto que para o primeiro ponto da curva, a absorbância do branco é em torno de 0,35. O volume da alíquota do reagente inserida foi mantido constante, enquanto que o da amostra variou de 300 a 1500 μL por ciclo de amostragem. Portanto, pode-se imaginar que ocorreu uma diluição da solução do reagente na zona da amostra. Considerando estes resultados, foi escolhido o intervalo de tempo de 1,0 s para o ciclo de amostragem, o que corresponde a inserção de um volume de amostra 600 μL , pois foi programado 3 ciclos de amostragem.

3.3.2.5. Estudo do número de ciclos de amostragem

O volume da zona de amostra afeta o processo de dispersão na solução transportadora, podendo afetar a sensibilidade do procedimento analítico. Portanto, seu estudo tem importância para estabelecer as melhores condições de sensibilidade. Os testes foram realizados empregando 3, 5, 8 e 10 ciclos de amostragem. Os resultados da Figura 3.16 mostram que não houve um ganho de sensibilidade, pois as duas curvas são praticamente paralelas.

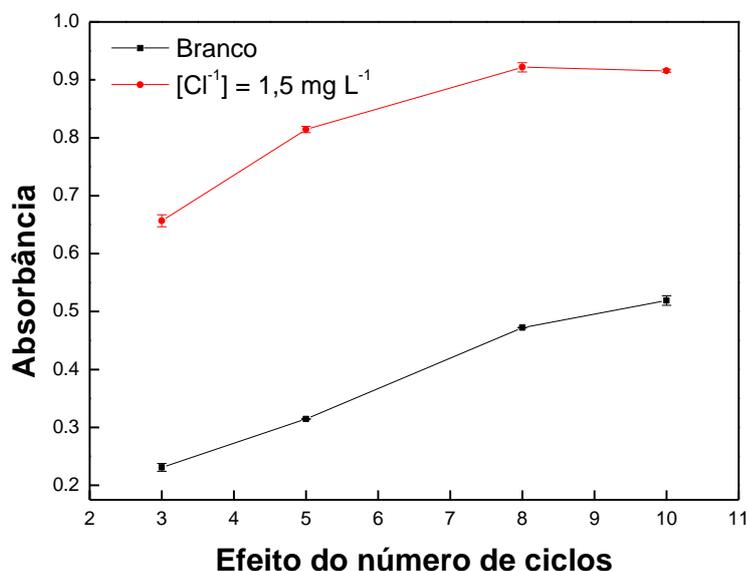


Figura 3.16 - Efeito do número de ciclos de amostragem. (■) = branco analítico; (●) = solução padrão de sulfato. Condições experimentais: Solução padrão de NaCl 1,5 mg L⁻¹; solução de Hg(SCN)₂ 1,89 mmol L⁻¹.

O aumento do volume da zona da amostra aumentou o valor da leitura do branco, causando aumento da leitura da solução de cloreto na mesma proporção. Neste experimento, os intervalos de tempos de acionamento das válvulas solenoide V₅ e V₄ foram estabelecidos em 1,0 e 0,5 s, respectivamente. Neste caso, em cada ciclo de amostragem era inserido um volume de 300 µL, portanto em 3 ciclos de amostragem era inserido um volume de 900 µL. O volume interno da alça de amostragem R₁ (Figura 3.2) era de 500 µL e o volume da cela de fluxo era de 56 µL, então o volume total do percurso analítico era de 556 µL, portanto menor que o volume da zona de amostra. Esta condição reduziu de forma drástica o efeito de dispersão, em vista disso, podemos considerar que módulo de análise estava

trabalhando na condição de volume infinito. Então, foi selecionado 3 ciclos de amostragem para dar continuidade ao trabalho.

Após o estudo dos parâmetros experimentais, os valores selecionados foram reunidos na Tabela 3.4, sendo obtida a respectiva curva analítica, caracterizada pela seguinte equação linear: $A = 0,2236C + 0,1250$ ($r = 0,9996$), onde C é a concentração de cloreto em mg L^{-1} .

Tabela 3.4 - Valores experimentais selecionados após a otimização.

Parâmetros	Valores estabelecidos
Tempo de inserção da amostra (s)	1,0
Nº de ciclos de amostragem	3
Tempo de inserção do reagente (s)	0,5
Bobina de reação (cm)	100

3.3.3. Avaliação do procedimento MIC para a determinação de sulfato e cloreto em sistema de análises em fluxo por multicomutação

O preparo da amostra é um parâmetro crítico e pode afetar a exatidão dos resultados, interferência pode ocorrer se carbono orgânico dissolvido estiver presente na digestão final. Então, a eficiência da digestão da amostra preparada por MIC foi avaliada, usando ICP OES. Os resultados obtidos apresentaram concentração inferior a 1% ($<5 \text{ mg L}^{-1}$) para teor de carbono residual (RCC), esta concentração tem sido comumente encontrada quando o coque de petróleo é digerido por MIC, indicando uma boa eficiência na digestão garantindo uma amostra praticamente livre de carbono residual. Foi avaliado também o estado de oxidação das espécies presentes que poderiam causar alguma interferência nas reações de Cl^- e SO_4^{2-} . A presença de Cl e S foram avaliadas, empregando cromatografia de troca iônica. O cromatograma na Figura 3.17, mostra os sinais relativo ao tempo de retenção do Cl^- e SO_4^{2-} . Outras espécies como ClO_3^- e SO_3^{2-} que poderiam causar alguma interferência no procedimento proposto, não são observadas no cromatograma.

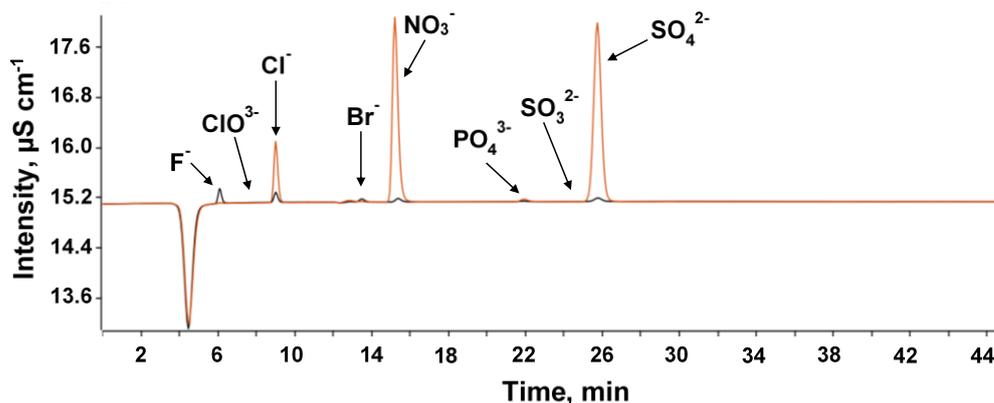


Figura 3.17 - Cromatograma de uma amostra de coque após digestão por MIC. A linha preta representa o tempo de retenção obtido a partir da solução padrão. Linha vermelha representa o tempo de retenção obtido a partir de uma amostra após digestão por MIC.

3.3.4. Determinação simultânea de sulfato e cloreto

As avaliações discutidas anteriormente foram realizadas individualmente para cada analito. A Figura 3.18 a e b mostra um FIAgrama do sistema proposto obtido de forma simultânea, para ambos os analito.

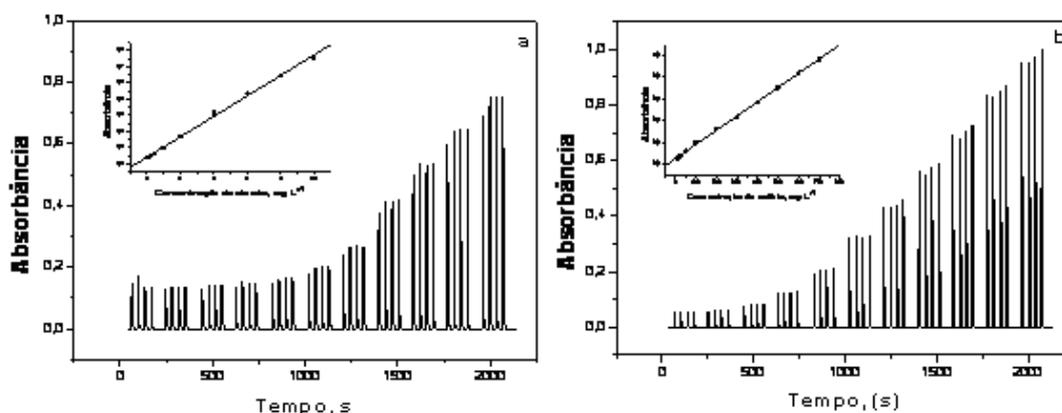


Figura 3.18 - Sinais transientes obtidos simultaneamente O conjunto a refere-se a solução padrão de cloreto 0,0, 0,06, 0,125, 0,25, 0,5, 1,0, 2,0, 4,0, 6,0, 8,0, 10,0 mg L⁻¹, enquanto b representa solução padrão de sulfato 10, 15, 25, 50, 100, 200, 300, 400, 500, 600, 700 mg L⁻¹.

Para demonstrar a eficácia do sistema proposto para a determinação simultânea de sulfato e cloreto, foram analisadas seis amostras de coque de petróleo, os resultados obtidos são apresentados na Tabela 3.5. Para verificação da exatidão as amostras foram também analisadas por cromatografia iônica (CI) para cloreto. Para sulfato, as amostras foram analisadas por espectrometria de emissão óptica com fonte de plasma acoplado indutivamente (ICP OES). Aplicando o teste

t -pareado para o nível de confiança de 95%, foram encontrados valores de $t_{\text{cal}} = 0,30$ e $t_{\text{cal}} = 0,32$ para o cloreto e sulfato, respectivamente. O valor crítico para este nível de confiança é $t_{\text{crítico}} = 2,57$, indicando que não há diferença significativa entre os resultados obtidos para ambos os analitos.

Tabela 3.5 - Comparação dos resultados para cloreto e sulfato em coque de petróleo.

Amostras	Cloreto		Sulfato	
	Procedimento proposto mg L ⁻¹	Método de referência (IC) mg L ⁻¹	Procedimento proposto mg L ⁻¹	Método de referência (ICP OES) mg L ⁻¹
1	0,34 ± 0,02	0,37 ± 0,02	354 ± 2	349 ± 1
2	0,42 ± 0,02	0,46 ± 0,01	341 ± 2	331 ± 2
3	0,64 ± 0,07	0,48 ± 0,02	337 ± 4	336 ± 4
4	0,42 ± 0,00	0,51 ± 0,01	331 ± 4	335 ± 2
5	0,22 ± 0,04	0,40 ± 0,01	338 ± 5	339 ± 1
6	0,51 ± 0,05	0,42 ± 0,03	341 ± 4	346 ± 4

Os resultados são média de três medições consecutivas.

Comparou-se o sistema proposto com outros encontrados na literatura para determinação de sulfato e cloreto em água. As amostras de coque de petróleo digeridas por MIC podem ser consideradas similares as amostras de água, considerando isso, os parâmetros empregados para comparação entre os procedimentos são apresentados na Tabela 3.6. Comparando os resultados obtidos para sulfato com aqueles obtidos por MELCHERT *et al* referência 85, o procedimento proposto neste trabalho, apresentou maior consumo de reagente, entretanto, a faixa linear foi mais ampla, o que é uma vantagem em análises de rotina. Com relação ao cloreto, o consumo de reagente (mercúrio) apresentado por CERDÀ *et al* na referência 4 é menor que o procedimento proposto, entretanto o volume de efluente do procedimento proposto é duas vezes menor, os demais parâmetros são semelhantes, exceto a frequência analítica, a qual no sistema proposto foi de 75 determinações por hora para cada analito.

Tabela 3.6 - Comparação de procedimentos para determinação de sulfato e cloreto.

Parâmetros	Procedimento proposto	Ref. 85	Ref. 139	Procedimento proposto	Ref. 140	Ref. 4
	SO ₄ ²⁻	SO ₄ ²⁻	SO ₄ ²⁻	Cl ⁻	Cl ⁻	Cl ⁻
Faixa linear mg L ⁻¹	10 -700	20 -200	10 - 100	0,25 – 10	1-10	1-40
Coeficiente linear (r)	0,9966	0,999	0,999	0,9994	0,996	0,999
Limite de detecção mg L ⁻¹	5,3	3,0	10,0	0,16	0,4	0,2
Consumo de reagente (mg L ⁻¹)	20 ^a	5,0 ^a	22 ^a	0,12 ^b	0,1 ^b	0,05 ^b
Coeficiente de variação (%)	3,0	2,4	1,6	0,9	2,3	0,8
Geração efluente (mL) ^c	3,0	6,4	7,8	2,5	3,0	5,9
Frequência de amostragem (h ⁻¹)	75	30	20	75	50	130

Os subscritos a e b referem-se ao consumo de bário e mercúrio por determinação, enquanto c indica o volume de efluente gerado por determinação.

3.4. Conclusão

Os resultados obtidos para o cloreto e sulfato utilizando o sistema MCFA usando digestão por MIC, mostrou-se uma associação viável. Essa foi à primeira aplicação dos digeridos por MIC em sistemas de análises em fluxo. A configuração proposta, incluindo bomba de seringa, operou durante seis meses sem substituição de qualquer peça, proporcionando uma boa robustez. A utilização da bomba de seringa no procedimento proposto possibilitou uma boa frequência analítica, além disso, apresentou uma faixa de resposta linear superior às dos procedimentos citados para comparação. A configuração proposta e o procedimento analítico constituem uma alternativa de baixo custo para determinação simultânea de sulfato e cloreto em amostras de coque de petróleo, podendo ser aplicado a outros tipos de amostras. O pequeno volume de efluente gerado contribui com a química limpa.

4. Sistema em fluxo para determinação de molibdênio em plantas sem etapa de pré-concentração

4.1. Introdução

O molibdênio é considerado um micronutriente para as plantas, faz parte da molécula da nitrogenase, que catalisa a redução do nitrogênio (N_2) para a forma de amônia. Sua deficiência afeta o desenvolvimento das plantas e sua produtividade, entretanto o excesso pode ter efeito tóxico [141,142,143]. Em vista disso, a determinação de molibdênio nas plantas é necessária, pois um diagnóstico feito a tempo permite a correção de possíveis deficiências. O molibdênio é considerado um elemento traço em plantas e sua concentração é muito baixa [144], nos vegetais, o papel dos micronutrientes está ligado à atividade enzimática, e sua deficiência diminui atividade da enzima e em consequência, a produtividade [145,146].

Em plantas, a concentração de molibdênio pode variar de acordo com a parte da planta (raiz, caule, folhas, flores e frutos) e a quantidade do mesmo depende do solo e do seu pH. Além disso, depende da espécie, por exemplo, nas raízes das leguminosas é onde se encontra maior quantidade de molibdênio [142]. Além das plantas, o molibdênio pode ser encontrado em animais e humanos, como componente essencial das enzimas xantina, aldeídos e sulfito oxidase [143].

O molibdênio apresenta alto ponto de fusão e boa resistência à corrosão, e em vista disso é utilizado em processos industriais [147]. O molibdênio pode ser encontrado nos estados de oxidação +2, +3, +4, +5 e +6, dentre estes, o estado de oxidação +6 conhecido como molibdato (MoO_4^{2-}) é mais importante [148].

O molibdênio tem sido determinado em diferentes tipos de amostra, empregando como técnicas de detecção espectrofotometria UV-visível, espectrometria de absorção atômica com chama (FAAS), espectrometria de absorção atômica com atomização eletrotérmica (ETAAS), espectrometria de emissão óptica com fonte de plasma acoplado indutivamente (ICP OES), espectrometria de massa com plasma indutivamente acoplado (ICP-MS). Dependendo do tipo de amostra, a concentração de molibdênio é muito baixa, requerendo emprego de uma etapa de pré-concentração, e usualmente tem sido utilizada extração em fase sólida [149,150] e extração líquido-líquido [151,152].

Dentre as estratégias de pré-concentração, a extração líquido-líquido é frequentemente utilizada na determinação de molibdênio. A extração líquido-líquido emprega solventes orgânicos com densidade diferente da solução da amostra, o composto formado com o analito deve ser mais solúvel no solvente orgânico que no meio aquoso. Além disso, o processo de extração envolve muitas etapas quando realizado manualmente, o que torna o procedimento moroso.

A espectrometria de absorção atômica com chama apresenta limitação quanto à sensibilidade para a determinação de molibdênio, sendo necessário utilizar uma etapa de pré-concentração. Nesse contexto um procedimento de microextração com gota flutuante solidificada (SFODME), combinado com (FAAS) foi proposto, utilizando 8-hidroxiquinolina como agente complexante e como extrator foi utilizado 1-undecanol. Esta mistura foi centrifugada durante 2 minutos a 2000 rpm e foi colocado em banho de gelo durante 10 minutos e a gota solidificada (200 μL) foi nebulizada. Essa estratégia permitiu alcançar uma faixa linear entre 0,02- 4,0 mg L^{-1} e limite de detecção de 4,9 $\mu\text{g L}^{-1}$ de molibdênio, esse procedimento foi aplicado em amostras de plantas [153].

Determinação de baixas concentrações de molibdênio foi alcançada, utilizando microextração líquido-líquido dispersiva (DLLME) como etapa de pré-concentração. A fase rica foi obtida utilizando 1-undecanol como solvente extrator e o complexante (8-hidroxiquinolina), preparado em etanol, utilizado como solvente dispersor. A fase obtida foi introduzida diretamente no nebulizador do espectrômetro de plasma acoplado indutivamente. Com essa estratégia, a fase rica não sofreu diluição, e assim foi obtido um fator de enriquecimento de 246 vezes, e um limite de detecção 17 $\mu\text{g Kg}^{-1}$ [154].

A espectrometria de massa com plasma indutivamente acoplado, é uma técnica que possibilita alcançar baixos limites de detecção, na qual a amostra pode ser analisada sem etapa de pré-concentração, entretanto pode apresentar interferências. Visando contornar essa dificuldade, foi apresentado um trabalho utilizando (ICP-MS) com diluição isotópica e extração em ponto nuvem, usando o surfactante Triton X-100 e 8-hidroxiquinolina como complexante. O limite de detecção foi estimado em 0,8 ng g^{-1} , apresentando fator de enriquecimento de 70 vezes. O procedimento foi aplicado para a determinação de molibdênio em amostras vegetais [155].

Utilizando como técnica de detecção, a espectrofotometria UV-Vis, o método do tiocianato é frequentemente utilizado para a determinação de molibdênio, O molibdênio(VI) na presença de um agente redutor, é reduzido para molibdênio(V), que reage com tiocianato formando um complexo laranja avermelhado que absorve radiação com máximo em torno de 460 nm. Este método quando aplicado à amostras de vegetais, tem sido empregado uma etapa de pré-concentração, usando solvente orgânico [156,157]. Empregando análises por injeção em fluxo (FIA) [158], ou multicomutação em análises em fluxo (MCFA) [67], tem sido utilizado para a determinação espectrofotométrica de molibdênio em plantas, uma etapa de extração com solvente orgânico para melhorar a sensibilidade. A redução do volume de efluente gerado, principalmente da fase orgânica tem impacto favorável do ponto de vista ambiental [159,160].

Um procedimento empregando análises em fluxo foi proposto para a determinação de molibdênio em plantas, empregando tiocianato como complexante. Neste caso, a amostra foi injetada em fluxo transportador, em seguida os reagentes foram adicionados por confluência onde ocorreu a formação do complexo, em seguida o complexo foi extraído com álcool isoamílico e transportado para uma câmara onde ocorria a separação de fase. A fase orgânica foi aspirada pela parte superior, e levada para detecção, em seguida foi aspirada a fase aquosa pela parte inferior. Essa estratégia apresentou uma faixa linear 0,05-1,0 mg L⁻¹ Mo, o limite de detecção foi estimado em 50 µg L⁻¹, apresentou uma frequência analítica de 30 determinações por hora [160].

Utilizando o processo de multicomutação em análises em fluxo (MCFA), foi possível acoplar a fonte de radiação (LED), o detector (fotodiodo) e a câmara de separação em uma unidade compacta. Essa estratégia foi utilizada para determinação espectrofotométrica de molibdênio em plantas. O complexo formado molibdênio/tiocianato foi extraído com álcool isoamílico. O procedimento apresentou uma faixa linear de 25-150 µg L⁻¹ Mo, limite de detecção de 4,6 µg L⁻¹ e frequência de amostragem de 25 determinações por hora [67].

Procedimentos em fase sólida também têm sido utilizados para determinação de molibdênio, utilizando o método do tiocianato. O complexo Mo(V)-tiocianato foi retido em uma resina aniônica (Amberlite XAD-7). Em seguida, o complexo foi eluído utilizando acetona, e foi detectado por espectrofotometria em 461 nm. O limite de detecção foi de 38 µg L⁻¹ de molibdênio, apresentou o fator de pré-

concentração 100 vezes para 250 mL de amostra, este procedimento foi aplicado a amostras de solo e plantas [161]. O mesmo procedimento foi utilizado em amostras de aço, mudando para a resina Amberlite XAD-8. O complexo foi monitorado em 462 nm, e o limite de detecção foi estimado em $60 \mu\text{g L}^{-1}$ [162].

Em todos os trabalhos apresentados com detecção por espectrofotometria e por outras técnicas, observa-se que para alcançar limites de detecção mais baixos, foi utilizado alguma estratégia de pré-concentração, baseadas em extração com solvente orgânico. Mesmo quando foi utilizado extração em fase sólida com resina aniônica, foi utilizado o solvente orgânico como eluente. Diante disso, esta parte da tese tem como objetivo, o desenvolvimento de um procedimento fotométrico com sensibilidade suficiente para realizar a determinação de molibdênio em plantas, sem recorrer a uma etapa de pré-concentração com solvente orgânico. Para evitar o uso de uma etapa de extração com solvente orgânico, o fotômetro foi projetado para trabalhar com uma cela de fluxo de longo caminho óptico (200 mm) [69].

4.2. Experimental

4.2.1. Reagentes e soluções

Todas as soluções foram preparadas com água purificada com condutividade elétrica menor que $0,1 \mu\text{S cm}^{-1}$. Os reagentes usados eram de grau analítico.

Uma solução contendo 5,0% (m/v) de tiocianato de potássio (KSCN) e 10,0% (m/v) de cloreto de estanho dihidratado ($\text{SnCl}_2 \cdot 2\text{H}_2\text{O}$), foi preparada dissolvendo os sólidos em $1,5 \text{ mol L}^{-1}$ de ácido clorídrico (HCl) e completando o volume para 100 mL com água. Essa solução era preparada diariamente.

Uma solução estoque contendo 1000 mg L^{-1} de molibdênio, foi preparada dissolvendo 0,1500 g do sólido (MoO_3) em 10 mL de uma solução 10 mol L^{-1} NaOH e 20 mL de uma solução $5,0 \text{ mol L}^{-1}$ HCl. Após a dissolução, o volume foi completado para 100 mL com água. Uma solução de 10 mg L^{-1} Mo(VI) em meio $1,5 \text{ mol L}^{-1}$ de HCl, contendo também 10 mg L^{-1} de ferro(III), foi preparada a partir da solução estoque, e o volume foi completado para 100 mL com água. As soluções de trabalho com concentrações entre 50 e $500 \mu\text{g L}^{-1}$ Mo(VI) foram preparadas a partir desta solução. Estas soluções foram preparadas diariamente, em meio contendo 10 mg L^{-1} de ferro(III) e $1,5 \text{ mol L}^{-1}$ de HCl.

Uma solução estoque de 1000 mg L^{-1} de nitrato férrico, foi preparada dissolvendo $0,723 \text{ g}$ do sólido ($\text{Fe}(\text{NO}_3)_3 \cdot 9\text{H}_2\text{O}$) em 100 mL de uma solução de HCl $1,0 \text{ mol L}^{-1}$.

4.2.2. Preparo das amostras

A mineralização do material vegetal foi obtida a partir de $5,0 \text{ g}$ de amostra, incineradas em forno mufla, com temperatura de $550 \text{ }^\circ\text{C}$, durante 6 horas. Após o resfriamento para a temperatura ambiente ($25 \text{ }^\circ\text{C}$), o resíduo foi dissolvido adicionado 5 mL de uma solução 6 mol L^{-1} HCl . O recipiente com esta solução foi colocado sobre uma chapa aquecedora, com temperatura em torno de $100 \text{ }^\circ\text{C}$ até a completa evaporação do ácido. O sólido obtido foi solubilizado com uma solução $1,5 \text{ mol L}^{-1}$ HCl , contendo em sua composição 10 mg L^{-1} de ferro(III). Após a dissolução foi filtrado em papel filtro Qualidade 1, e o volume foi completado para 25 mL [67,163].

4.2.3. Equipamentos e acessórios

Os equipamentos e acessórios empregados são descritos a seguir: um microcomputador equipado com uma interface eletrônica PCL711 (Advantech), e com um programa de controle para aquisição de dados, escrito em linguagem Quick BASIC 4.5; cinco válvulas solenoide de 3 vias, modelo HP225T031 *NReserach*; quatro circuitos integrados ULN2803; três relés de 12 V e corrente de contato de 10 A ; um LED azul de 5 mm , máximo de emissão em 470 nm , e ângulo de abertura do feixe de radiação de 25° ; uma bomba de seringa descrita no capítulo referente à determinação cloreto e sulfato em coque de petróleo; duas seringas de vidro com volume de 5 mL ; duas placas de circuito impresso em fibra de vidro construídas para este projeto; um fotodetector OP301 (Texas Instruments); uma cela de fluxo de 200 mm de caminho óptico e $1,2 \text{ mm}$ de diâmetro interno; uma fonte de corrente contínua de 12 V estabilizada, e com capacidade para fornecer intensidade de corrente de 2 A , para alimentar as válvulas solenoide e o motor da bomba de seringa; uma fonte de -12 V e $+12 \text{ V}$ estabilizada, e capacidade para fornecer intensidade de corrente de $0,5 \text{ A}$, usada para alimentar o fotômetro. Estas fontes foram construídas no laboratório empregando os reguladores de voltagem

LM317 (positivo) e LM337 (negativo), foram montadas em placas de circuito impresso em fibra de vidro.

O fotômetro foi construído empregando um LED de 5 mm como fonte de radiação e um fotodetector (OPT301) como transdutor de sinal, o qual tem integrado no mesmo encapsulamento, o sistema de amplificação de sinal. O LED apresenta máximo de emissão de radiação em 470 nm (azul), e ângulo de abertura do feixe de radiação de 25° , o que facilita o acoplamento à cela de fluxo, permitindo um bom aproveitamento do feixe de radiação. O fotômetro mostrado na Figura 4.1 foi equipado com uma cela de fluxo de 200 mm de caminho óptico e 1,2 mm de diâmetro interno, a qual foi moldada como descrito na literatura [69]. Esta cela de fluxo tem um design que permite um bom aproveitamento do feixe de radiação e fácil descarte de bolhas gás.

A saída do fotodetector foi acoplada à entrada analógica da interface PCL711s, a qual tem um conversor analógico/digital com 12 bits de resolução, e converte para digital o sinal (Si) gerado pelo fotodetector.

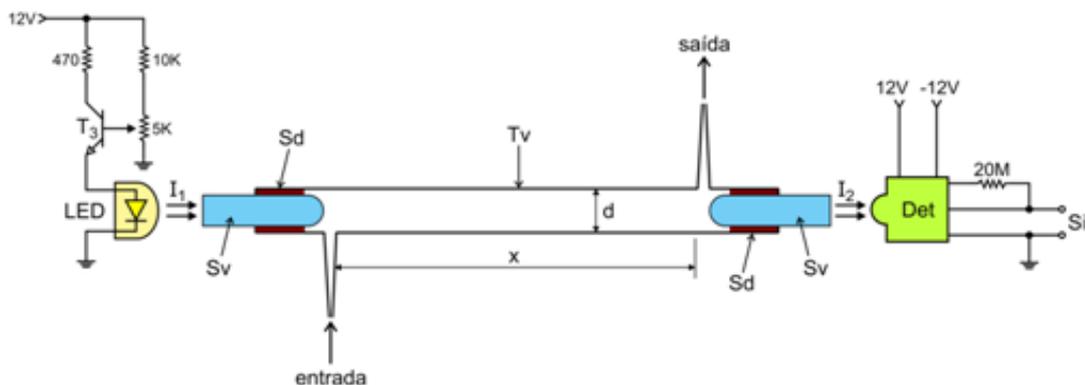


Figura 4.1 - Diagrama do fotômetro utilizado na determinação de molibdênio. T_3 = transistor; LED = diodo emissor de luz, $\lambda_{\max} = 470$ nm; Det = fotodetector OPT301; I_1 e I_2 = feixe de radiação emitida pelo LED antes e depois de passar pela cela de fluxo, respectivamente; T_v = tubo de vidro; $d = 1,2$ mm de diâmetro; $x = 200$ mm; S_v = cilindro de vidro; S_d = ponto de selagem; S_i = sinal gerado em mV.

O feixe de radiação I_1 emitido pelo LED é coletado pelo cilindro de vidro (S_v) e conduzido até a entrada da cela de fluxo, propaga-se através da cela e emerge na outra extremidade, onde é coletado pelo outro cilindro de vidro (S_v), o qual está alinhado com a janela de observação do fotodetector (Det), permitindo que o feixe

de radiação I_2 alcance a unidade de transdução de sinal. Quando há na cela de fluxo uma solução que absorve parte da radiação, a intensidade do feixe I_2 torna-se menor do que a intensidade de I_1 e o detector gera uma diferença de potencial proporcional à variação da intensidade do feixe de radiação. Essa variação de diferença de potencial é usada para calcular a absorvância, permitindo a determinação da concentração da espécie química de interesse.

4.2.4. Descrição do módulo de análises

O módulo de análises projetado para desenvolvimento do procedimento analítico é constituído por um conjunto de válvulas solenoide, uma bomba de seringa para bombeamento das soluções. As conexões entre os constituintes do módulo de análises e os reatores foram construídos utilizando tubos de polietileno com diâmetro interno de 0,8 mm.

A interface PCL711 tem duas portas paralelas de saídas de 8 bits, uma foi usada para controlar a bomba de seringas e a outra para controlar o módulo de análises. A parte mecânica da bomba de seringa usada nos experimentos descritos já foram relatados anteriormente. Para o controle do movimento do motor foi desenvolvida uma nova interface, mostrada na Figura 4.2.

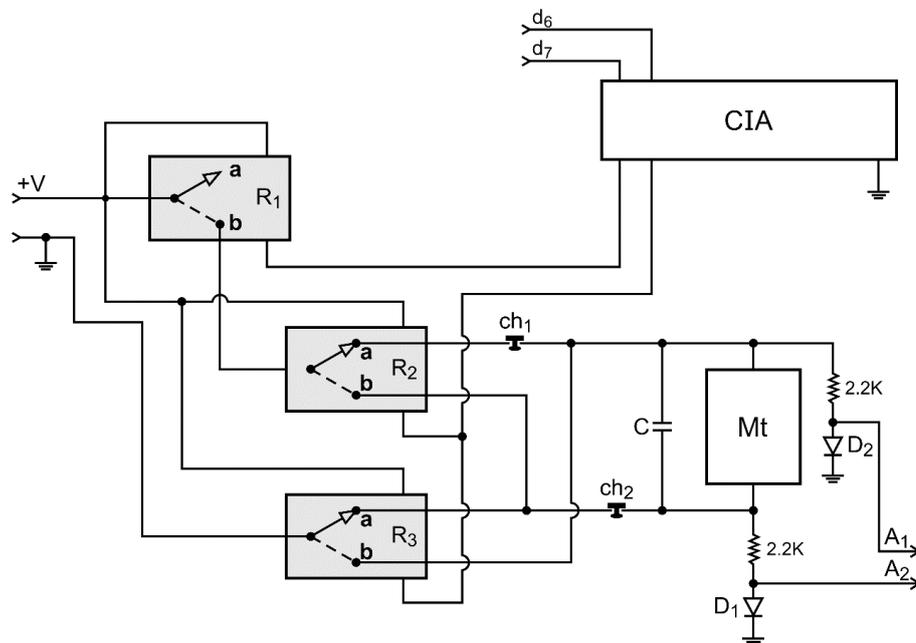


Figura 4.2 - Diagrama da interface para acionar o motor. Superfícies sombreadas R_1 , R_2 , e R_3 = relés, a e b contatos normalmente fechados e abertos, respectivamente; CH_1 e CH_2 = interruptor de fim de curso normalmente fechado; D_1 e D_2 = diodo IM4007; Mt = motor; C = capacitor, 1 μ F; CIA = ULN2803; A_1 e A_2 = Linhas de sinais acopladas às entradas analógicas A_1 e A_2 da interface PCL771 usando cabos blindados.

Na configuração mostrada na Figura 4.2, os relês estão desligados e o motor (Mt) está parado. Quando um sinal de controle (d_7) é enviado pelo microcomputador através do dispositivo CIA, o relé R_1 é ligado, o contato b é fechado, e a corrente elétrica flui através dos contatos dos relês R_2 e R_3 . Nesta configuração, a corrente elétrica flui através do motor (Mt), levando-o a girar no sentido horário. Nesta condição, os pistões das seringas (Figura 4.3) são deslocados para cima. Quando o deslocamento atinge a posição superior, a placa de tração empurra para baixo o interruptor de fim de curso Ch_1 , instalado na plataforma das seringas. Quando isso acontece, o circuito elétrico é aberto, interrompendo a rotação do motor (Mt). Quando o microcomputador ativa os bits de controle d_7 e d_6 ao mesmo tempo, os relês R_1 , R_2 e R_3 são ligados, e a corrente elétrica flui através dos contatos b , levando o motor a girar no sentido anti-horário. Nesta condição, os pistões das seringas são deslocados para baixo, aspirando soluções através das válvulas solenoide V_1 e V_2 acopladas às seringas S_1 e S_2 (Figura 4.3). No final do deslocamento, a barra de tração empurra para baixo o interruptor Ch_2 para abrir o circuito elétrico, parando assim a rotação do motor (Mt).

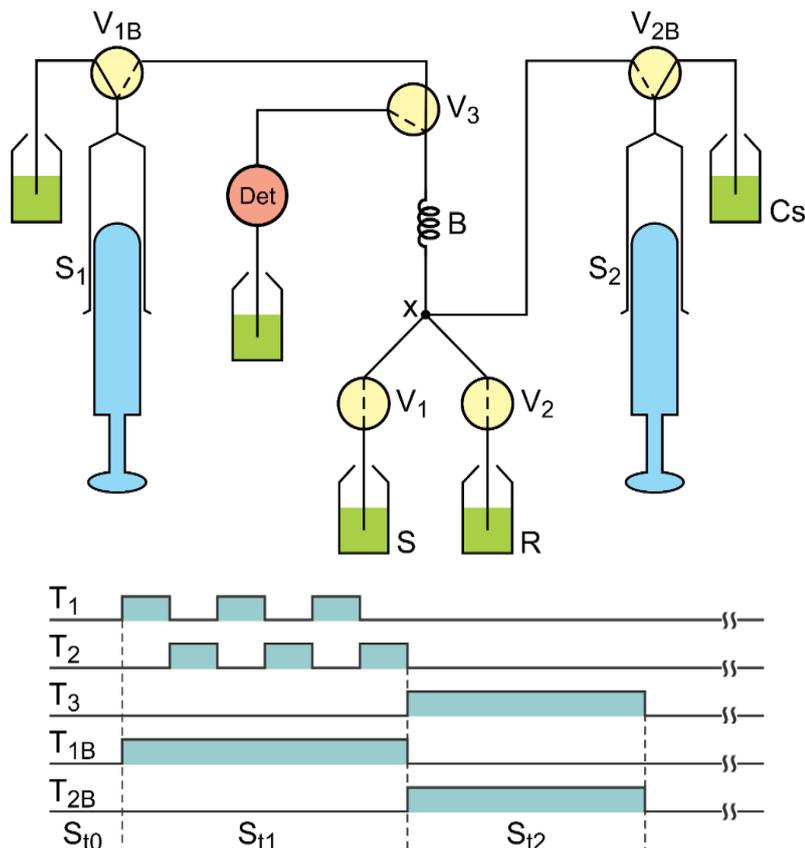


Figura 4.3 - Diagrama do módulo de análises para determinação de molibdênio. S_1 e S_2 = Seringas; V_{1B} , V_{2B} e V_3 = válvula solenoide de três vias; V_1 e V_2 = válvula solenoide de estrangulamento; S = amostra (Mo(VI)+Fe(III)); R = Solução do reagente ($\text{SnCl}_2 + \text{KSCN}$); Cs = solução transportadora ($\text{HCl } 1,0 \text{ mol L}^{-1}$); B = Bobina de reação (150 cm, d.i. 0,8 mm); Det = fotômetro ($\lambda = 470 \text{ nm}$); W = reservatório de descarte. As linhas cheias e interrompidas nos símbolos das válvulas V_{B1} e V_{B2} indicam o caminho de escoamento de fluido quando estão desligadas e quando ligadas, respectivamente. As linhas pontilhadas nos símbolos das válvulas V_1 , V_2 e V_3 indicam que são do tipo normalmente fechado, permitindo o escoamento de fluido somente quando estão ligadas; T_1, T_2, \dots, T_{2B} = diagrama de tempo de acionamento das válvulas $V_1, V_2, V_3, V_{1B}, V_{2B}$, respectivamente.

Os dois circuitos elétricos constituídos pelos resistores de $2,2 \text{ K}\Omega$ e os díodos D_1 e D_2 , foram instalados como interfaces para indicar a posição dos êmbolos das seringas. Quando o motor gira no sentido horário, a linha A_1 fornece um sinal de 640 mV , o qual cai para 0V quando o motor está desligado. A linha A_2 tem função semelhante, quando o motor (Mt) gira no sentido contrário. As linhas A_1 e A_2 foram acopladas às entradas analógicas da interface PCL711, permitindo que o microcomputador verifique a posição dos êmbolos das seringas, antes de começar uma corrida analítica.

O procedimento para determinação fotométrica de molibdênio foi baseado na reação do íon Mo(V) com tiocianato em meio contendo cloreto de estanho (SnCl_2) como redutor e na presença de ferro (III). Então, o módulo de análises para desenvolver o procedimento analítico foi projetado considerando-se as características da reação envolvida, e o diagrama é mostrado na Figura 4.3.

Na configuração mostrada na Figura 4.3, as seringas S_1 e S_2 estão com os êmbolos posicionados no meio do curso de deslocamento e estão vazias. Quando o software de controle era posto em operação, o computador verificava se os êmbolos das seringas estavam no fim do curso. Para isso, foram instaladas as chaves de fim curso Ch_1 e Ch_2 (Fig.4.2), acoplados por fiação elétrica à entrada da interface PCL 711. Então, se o estado da chave que define o fim de curso para seringas vazias, indicava um valor próximo de 0V, o motor era acionado no sentido anti-horário para encher as seringas. Conforme indicado na legenda desta Figura 4.3, quando as válvulas V_{B1} e V_{B2} estão desligadas, a solução do respectivo reservatório acoplado a cada seringa na etapa de enchimento e esvaziamento era reciclado.

A etapa de amostragem tinha início, acionando o motor com rotação no sentido anti-horário, e velocidade de deslocamento para a vazão de $50,0 \mu\text{Ls}^{-1}$. Nesta condição, os êmbolos das seringas eram deslocados no sentido de aspiração. O computador verificava se os êmbolos das seringas estavam na posição de seringas vazias, lendo o estado da chave de fim curso para seringas vazias. Quando esta condição não era satisfeita, o computador ligava o motor com rotação no sentido horário para deslocar os êmbolos das seringas para posição desejada.

O processo de amostragem tinha início com o acionamento do motor com rotação no sentido anti-horário. Durante essa etapa, a válvula solenoide V_{1B} era mantida ligada e as válvulas solenoide V_1 , V_2 e V_3 eram acionadas sequencialmente. Nessa condição, eram inseridas sequencialmente na bobina de reação (B), alíquotas da amostra (A) e da solução do reagente (R). O volume de cada alíquota das três soluções era função da vazão de aspiração da seringa S_1 e do intervalo de tempo (Δt) em que cada válvula permanecia ligada. Uma sequência de acionamento destas válvulas foi chamada de um ciclo de amostragem, o qual poderia ser repetido o número de vezes necessário para formar a zona da amostra no interior da bobina (B). Completado o número de ciclos de amostragem, as válvulas solenoide eram desligadas. Em seguida, era executada a etapa de leitura, e para isso, o motor era ligado com rotação no sentido horário, mantendo as válvulas solenoide V_{2B} e V_3

ligadas. Nesta condição, a solução transportadora deslocava a zona da amostra da bobina (B) para o descarte (W) através da cela de fluxo do fotômetro (Det), o sinal gerado era convertido para digital e salvo no computador no padrão ASCII, para posterior processamento. Finalizada essa etapa, o sistema estava apto para realizar a próxima sequência analítica, estas ações estão sumarizadas na Tabela 4.1. Enquanto, o processamento das amostras estava em curso, um gráfico do sinal em função do tempo era mostrado na tela do computador, permitindo a visualização em tempo real.

Tabela 4.1 - Sequência de eventos para determinação de molibdênio.

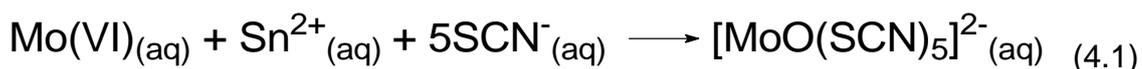
Etapa	Evento	Rotação	V _{B1}	V _{B2}	V ₁	V ₂	V ₃	Tempo (s)
1	Preenche canal do reagente	E	1	0	0	0	0	4
2	Lavagem do percurso analítico	D	0	1	0	0	1	18
3	Calibração do fotômetro	P	0	0	0	0	0	-
4	Preenche canal da amostra	E	1	0	1	0	0	5
5	Preenche seringa com transportador	E	0	1	0	0	1	18
6	Lavagem do canal da amostra	D	1	0	1	0	0	18
7	Amostragem	E	1	0	1	1	0	10
8	Leitura do sinal	D	0	1	0	0	1	-

D, E, P: rotação do motor, direita, esquerda e parada respectivamente; válvulas solenoide de três vias: V_{B1}, V_{B2}, V₁, V₂, V₃; Números 0 e 1 indicam que a válvula correspondente foi desligada ou ligada, respectivamente. Os números da última coluna à direita são os intervalos de tempo selecionados.

4.3. Resultados e Discussão

A calibração do fotômetro foi feita de acordo com o descrito no item 3.2.4. O molibdênio ocorre principalmente no estado de oxidação (+VI) como íons molibdato (MoO₄²⁻), os quais formam várias espécies condensadas em meio ácido (HCl, H₂SO₄, HClO₄). Dependendo do agente redutor utilizado e das condições de redução, o molibdênio(VI) é reduzido a Mo(V) ou Mo(III). A determinação do molibdênio foi baseada na redução do molibdênio(VI) para molibdênio(V) com cloreto de estanho (SnCl₂) em meio ácido (HCl). O molibdênio(V) reage com tiocianato formando o complexo molibdênio(V)-tiocianato, como mostra a Equação

4.1. Dependendo do meio reacional, o molibdênio(V) pode formar vários complexos com tiocianato. O complexo laranja avermelhado molibdênio(V)-tiocianato apresenta máximo de absorção em torno de 470 nm. As concentrações das soluções de tiocianato e do cloreto de estanho e acidez do meio são parâmetros que afetam o desenvolvimento da reação e foram avaliados [86,157,148,164].



4.3.1. Estudo da concentração do agente redutor

No método do tiocianato, o cloreto de estanho(II) é o agente redutor comumente utilizado. Na presença de Sn(II) em meio ácido, ocorre a redução do Mo(VI) para Mo(IV) que é rapidamente transformado em Mo(V) e Mo(III), porém apenas a espécie Mo(V) forma complexo colorido com tiocianato [86,157]. Visando encontrar a concentração adequada do redutor, foram realizados experimentos com as concentrações variando de 0,04 a 0,8 mol L⁻¹ e os resultados são mostrados na Figura 4.4

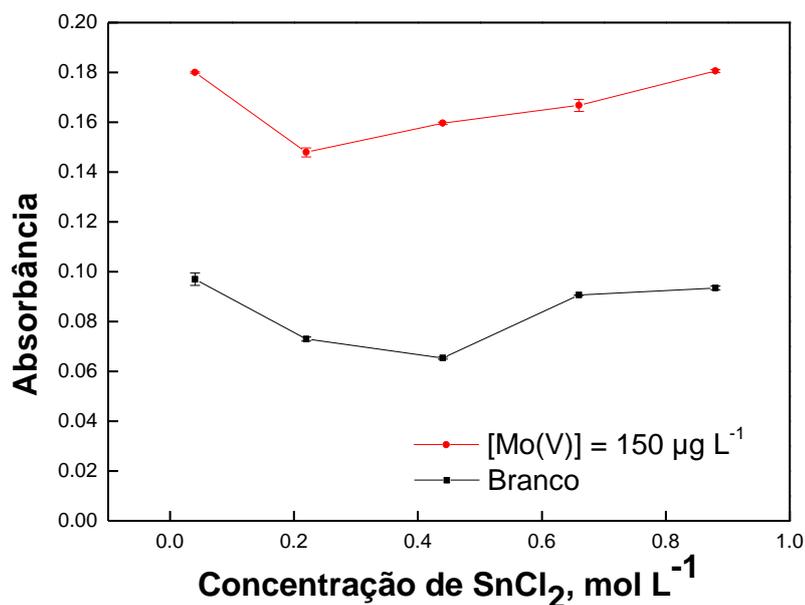


Figura 4.4 - Efeito da concentração do agente redutor. (■) branco analítico; (●) solução padrão de Mo(VI) 150 µg L⁻¹ em 20 mg L⁻¹ Fe(III). Condições experimentais: 0,5 mol L⁻¹ SCN⁻; ciclos: 7; tempo amostra: 2,0 s; tempo do reagente: 1,0 s; amostras e reagentes em HCl 1,5 mol L⁻¹.

Analisando as curvas da Figura 4.4, observa-se que os sinais do branco diminuíram com o aumento da concentração do agente redutor. Esta solução tinha 20 mg L⁻¹ Fe(III), que forma composto com tiocianato, portanto o decréscimo de sinal até a concentração de 0,44 mol L⁻¹, indica que para concentrações menores do reagente redutor, a redução dos íons Fe (III) para Fe(II), não foi completa. O aumento do sinal do branco para concentrações mais altas pode estar relacionado com a geometria da cela de fluxo. O aumento da concentração da solução de cloreto de estanho aumenta o índice de refração do meio. O feixe de radiação emitido pelo LED não é paralelo, então para uma cela fluxo longa, pode ocorrer desvio de radiação e para o fotodetector é equivalente à absorção. A curva referente à solução padrão de 150 µg L⁻¹ de Mo(V), apresenta aumento praticamente linear a partir da concentração de cloreto de estanho de 0,2 mol L⁻¹. A maior diferença entre os sinais do branco e da solução padrão de molibdênio ocorreu quando a concentração da solução do redutor foi de 0,44 mol L⁻¹ e, em vista disso, esta solução foi selecionada.

4.3.2. Estudo da concentração de ácido clorídrico

A reação do molibdênio com tiocianato se dá em meio ácido. Além disso, o cloreto de estanho é dissolvido em ácido clorídrico concentrado. O meio ácido evita possível hidrólise do estanho. Foram avaliadas as concentrações de 1,0 a 2,5 mol L⁻¹ HCl e os resultados são mostrados na Figura 4.5. Observa-se que a partir da concentração de 1,5 mol L⁻¹ HCl, as duas curvas são praticamente paralelas entre si, com uma pequena elevação em relação à linha de base. Estes resultados mostram que na faixa de concentração estudada, o efeito da acidez do meio não teve efeito significativo, portanto a concentração de 1,5 mol L⁻¹ HCl foi selecionada.

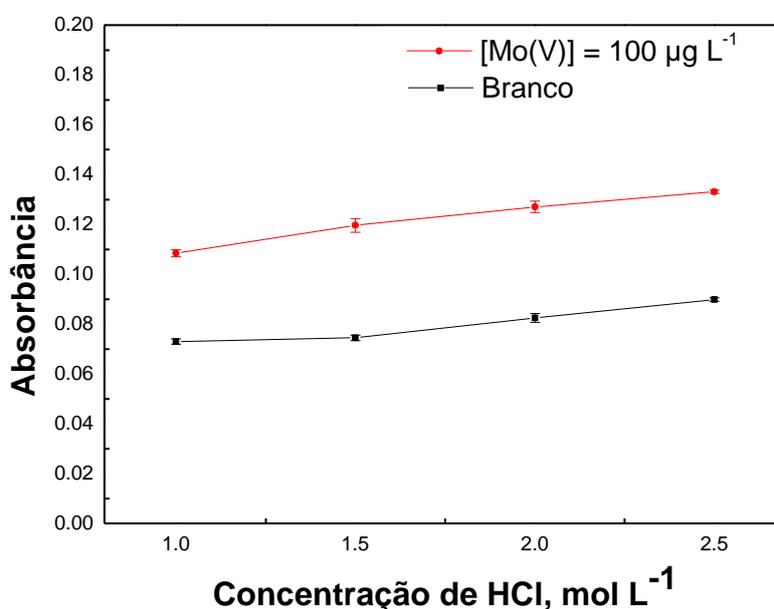


Figura 4.5 - Efeito da concentração de ácido clorídrico. (■) branco analítico; (●) solução padrão de Mo(VI) 100 µg L⁻¹ em 20 mg L⁻¹ Fe(III). Condições experimentais: 0,5 mol L⁻¹ SCN⁻; 0,4 mol L⁻¹ SnCl₂; ciclos: 7; tempo amostra: 2,0 s; tempo do reagente: 1,0 s; amostras e reagentes em HCl.

4.3.3. Estudo da concentração de tiocianato de potássio

O método espectrofotométrico para a determinação de molibdênio, é baseado na formação do complexo colorido entre o molibdênio(V) e o tiocianato, formando o complexo [MoO(SCN)₅]²⁻. Foram avaliadas as concentrações de 0,05; 0,10; 0,31; 0,51 e 1,02 mol L⁻¹ de tiocianato de potássio. A Figura 4.6 mostra que o aumento da concentração do reagente, melhorou a sensibilidade até a concentração de 0,5 mol L⁻¹. Para concentrações maiores não ocorreu ganho na sensibilidade,

apenas aumento do sinal do branco. Em vista disso, foi escolhida a concentração de $0,5 \text{ mol L}^{-1}$ de tiocianato de potássio.

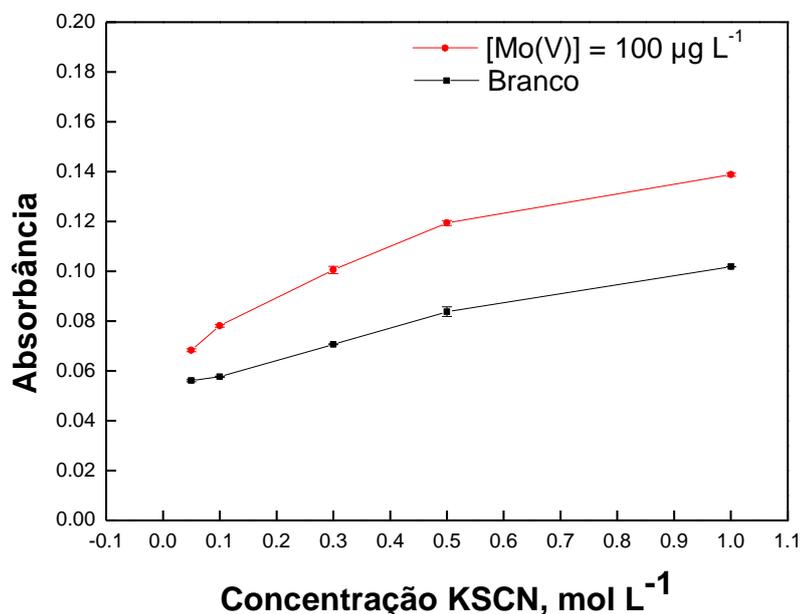


Figura 4.6 - Efeito da concentração de tiocianato de potássio. (■) branco analítico; (●) solução padrão de Mo(VI) $100 \mu\text{g L}^{-1}$ em 20 mg L^{-1} Fe(III). Condições experimentais: $0,5 \text{ mol L}^{-1}$ SCN⁻; $0,4 \text{ mol L}^{-1}$ SnCl₂; ciclos: 7; tempo amostra: 2,0 s; tempo do reagente: 1,0 s; amostras e reagentes em amostras e reagentes em $1,5 \text{ mol L}^{-1}$ HCl.

4.3.4. Estudo da concentração de ferro

Na determinação espectrofotométrica de molibdênio com tiocianato na presença de cloreto de estanho como redutor, é usual a presença de ferro(III) na solução do reagente. Visando avaliar o efeito da presença de ferro (III) no meio reacional, foram realizados experimentos com e sem a presença de ferro(III) e os resultados são mostrados na Figura 4.7. O ponto zero representa a ausência de ferro(III) na amostra, na ausência desse, os resultados apresentam baixa sensibilidade e reprodutibilidade, isso ocorre por que há redução de Mo(VI) para Mo(III), havendo a formação do complexo $\text{Mo}_2^{\text{III}}[\text{Mo}^{\text{V}}\text{O}(\text{SCN})_5]_3$ [86,165,157].

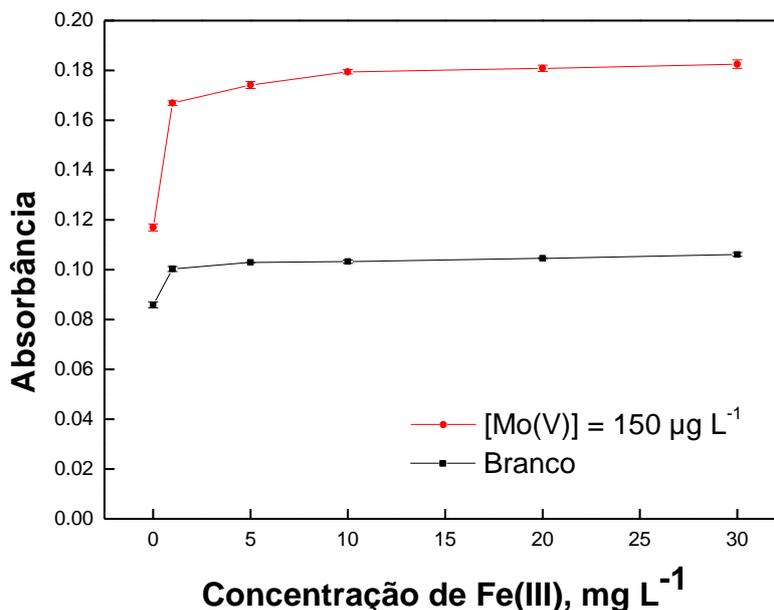


Figura 4.7 - Efeito da concentração de ferro(III). (■) branco analítico; (●) solução padrão de Mo(VI) 100 µg L⁻¹. Condições experimentais: 0,5 mol L⁻¹ SCN⁻ 0,4 mol L⁻¹ SnCl₂; ciclos: 7; tempo amostra: 2,0 s; tempo do reagente: 1,0 s.; amostras e reagentes em amostras e reagentes em 1,5 mol L⁻¹ HCl.

Devido à necessidade de adição de ferro, foram avaliadas as concentrações de 1,0; 5,0; 10,0; 20,0 e 30,0 mg L⁻¹ de ferro(III). Nestes experimentos, a solução de ferro(III) foi adicionada às soluções padrão de molibdênio. Analisando as duas curvas, observa-se que houve um aumento de 75% no sinal analítico, quando foi adicionado 1,0 mg L⁻¹ de ferro(III) à solução de molibdênio. Na presença de ferro(II), ocorre a formação do complexo Fe^{II}[Mo^VO(SCN)₅], o qual favorece um aumento na absorção de radiação pelo complexo [157]. Observa-se também, que uma pequena quantidade de ferro(III), é suficiente para o aumento na sensibilidade. Levando-se em conta esses resultados, escolheu-se a concentração de 10,0 mg L⁻¹ para continuação do trabalho. A curva do branco demonstra que mesmo com aumento na concentração de ferro(III), a quantidade do redutor utilizado (0,44 mol L⁻¹) era suficiente para reduzir possíveis interferências de Fe(III). Isso é um importante parâmetro, em amostras de plantas, visto que esta espécie química pode estar presente em altas concentrações.

4.3.5. Estudo do comprimento da bobina de reação

O comprimento da bobina de reação pode ter efeito significativo na magnitude do sinal. Um reator curto pode não permitir uma boa mistura entre amostra e reagente, e também, o tempo de trânsito da zona de amostra até a cela fluxo, pode não ser suficiente para o desenvolvimento da reação, fator primordial quando o procedimento analítico busca por sensibilidade. O aumento no comprimento do reator foi avaliado, variando de 50 a 200 cm, o que corresponde a variação de volume de 250 a 1000 μL , respectivamente. A Figura 4.8, mostra que até o comprimento de 150 cm ocorreu aumento de sinal, provavelmente devido à melhor mistura entre a amostra e a solução do reagente e ao aumento do tempo para o desenvolvimento da reação. Para comprimentos maiores, o resultado mostra um pequeno decréscimo, o qual pode ser atribuído à dispersão da zona de amostra.

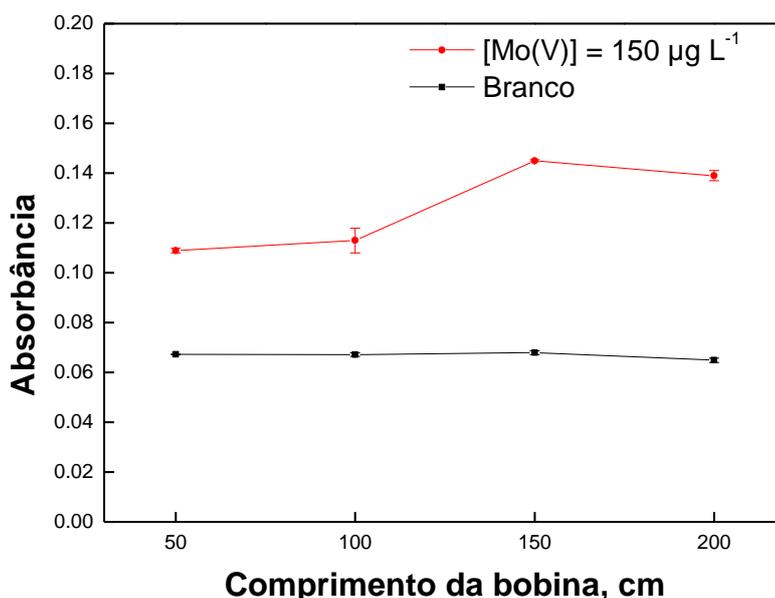


Figura 4.8 - Efeito do comprimento da bobina de reação. (■) branco analítico; (●) solução padrão de Mo(VI) $150 \mu\text{g L}^{-1}$ em 20 mg L^{-1} Fe(III). Condições experimentais: $0,5 \text{ mol L}^{-1}$ SCN^- ; $0,4 \text{ mol L}^{-1}$ SnCl_2 ; ciclos: 7; tempo amostra: 2,0 s; tempo do reagente: 1,0 s; amostras e reagentes em amostras e reagentes em $1,5 \text{ mol L}^{-1}$ HCl.

4.3.6. Estudo do volume de amostra

Nos sistemas de análises em fluxo, o volume de amostra pode afetar a sensibilidade, pois o aumento do mesmo pode minimizar o efeito da dispersão. O efeito do volume da alíquota da amostra em cada ciclo de amostragem foi avaliado inserindo volumes de 175, 350, 700, 1050 e 1400 μL , variando o intervalo de tempo de acionamento da válvula solenoide V_1 (Fig.4.3) de 0,5 a 4,0 s. As curvas da Figura 4.9, mostram que houve aumento do sinal analítico até o volume de 1050 μL , permanecendo constante para volumes maiores. O volume da alíquota do branco foi mantido constante, portanto o decréscimo do sinal do branco indica diluição do mesmo na zona da amostra. A curva relacionada à solução padrão de molibdênio, não apresentou decréscimo em toda sua extensão, portanto é uma indicação de que a concentração do reagente foi suficiente para atender a estequiometria da reação. O formato assintótico da curva relacionada à solução padrão de molibdênio representa comportamento usual de sistemas FIA com o aumento do volume da alça de amostragem.

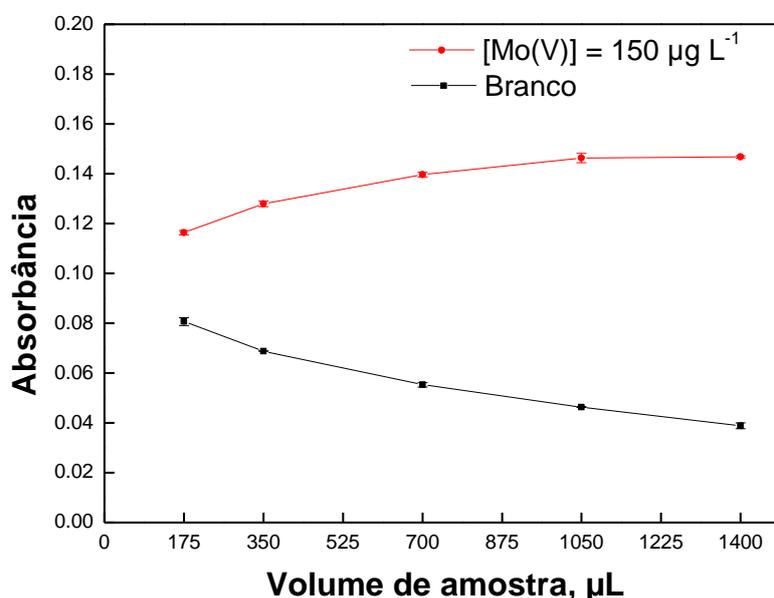


Figura 4.9 - Efeito do volume da alíquota da amostra. (■) branco analítico; (●) solução padrão de Mo(VI) $150 \mu\text{g L}^{-1}$ em 10 mg L^{-1} Fe(III). Condições experimentais: $0,5 \text{ mol L}^{-1}$ SCN^- ; $0,4 \text{ mol L}^{-1}$ SnCl_2 ; ciclos: 7; tempo do reagente: 1,0 s; amostras e reagentes em $1,5 \text{ mol L}^{-1}$ HCl..

4.3.7. Estudo do volume do reagente

O efeito do volume do reagente foi avaliado inserindo volumes de 175, 350, 525 e 700 μL , que corresponde aos tempos de abertura da válvula solenoide V_2 (Fig.4.3) de 0,5 a 2,0 s. Como mostra a Figura 4.10, houve um aumento de 20 % no sinal analítico, quando o volume do reagente variou de 175 para 350 μL , mantendo constante até o volume de 525 μL . O pequeno decréscimo observado para volume maior da solução do reagente pode ser atribuído à diluição da amostra na solução do reagente. Para volumes maiores, houve o aumento somente do sinal do branco analítico, o que é característico quando se aumenta o volume do reagente. Foi selecionado o tempo de 1,0 s que corresponde ao volume de 50 μL por ciclo de amostragem.

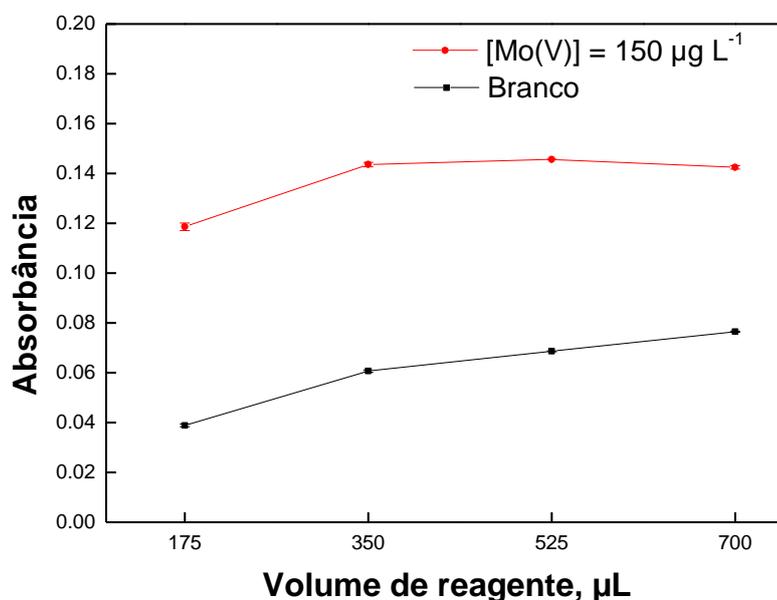


Figura 4.10 - Efeito do volume do reagente. (■) branco analítico; (●) solução padrão de Mo(VI) $150 \mu\text{g L}^{-1}$ em 10 mg L^{-1} Fe(III). Condições experimentais: $0,5 \text{ mol L}^{-1}$ SCN⁻; $0,4 \text{ mol L}^{-1}$ SnCl₂; ciclos: 7; tempo da amostra: 2,0 s; amostras e reagentes em $1,5 \text{ mol L}^{-1}$ HCl.

4.3.8. Estudo dos potenciais interferentes

Os elementos W, Ti, Re, U, V, Co, Cu e Bi podem interferir na determinação de molibdênio, empregando a reação com tiocianato. Entretanto, em material vegetal as concentrações de W, Re, Ti, U, V e Bi estão abaixo da concentração de molibdênio, assim Co e Cu são elementos que poderiam causar interferência [10]. Então, os testes para avaliação destes dois elementos como interferentes,

foram realizados empregando a metodologia de adição de padrão, e os resultados são mostrados na Tabela 4.2. Como critério para considerar se houve interferência, considerou-se a variação de $\pm 5\%$ dos sinais gerados, tomando a leitura do sinal referente uma solução padrão de molibdênio ($0,5 \text{ mg L}^{-1}$) como referência.

Tabela 4.2 - Efeito dos potenciais interferentes Co e Cu na determinação de molibdênio.

Padrão Mo(VI) (mg L^{-1})	Interferente (mg L^{-1})	Sinal (Abs)	Interferente (mg L^{-1})	Sinal (Abs)
	Cu		Co	
0,5	-	$0,492 \pm 0,002$	-	$0,474 \pm 0,003$
0,5	0,5	$0,484 \pm 0,003$	0,5	$0,467 \pm 0,004$
0,5	2,5	$0,476 \pm 0,006$	1,0	$0,473 \pm 0,004$
0,5	5,0	$0,486 \pm 0,004$	2,0	$0,467 \pm 0,003$
0,5	10	$0,498 \pm 0,003$	5,0	$0,463 \pm 0,006$

Os resultados são média de três medições consecutivas.

Em plantas, a concentração de cobalto e de cobre estão na faixa de $0,1$ a $0,2 \text{ mg Kg}^{-1}$ e 10 a 20 mg Kg^{-1} matéria seca (folhas de café por exemplo), respectivamente [166]. Observa-se que o procedimento proposto conseguir suportar até $10,0 \text{ mgL}^{-1}$ de cobre e $5,0 \text{ mgL}^{-1}$ de cobalto, concentrações superiores às encontradas em material vegetal.

As variáveis de controle do procedimento analítico, incluindo intervalo de tempo de acionamento das válvulas solenoide, o volume da zona da amostra, a concentração dos reagentes, acidez do meio reacional foram estudadas de forma individual. Então, visando verificar a resposta global do sistema proposto, um conjunto de soluções padrão de molibdênio foi processado, usando os valores das variáveis previamente estabelecidos. Neste caso, os resultados refletem a escolha apropriada dos parâmetros experimentais, e o comportamento do sistema de bombeamento e do fotômetro. A curva analítica obtida, a partir dos valores máximos dos sinais é representada pela seguinte equação linear: $\text{Absorbância} = 0,0006C + 0,0329$ ($r = 0,9969$), no qual C é a concentração de molibdênio em $\mu\text{g L}^{-1}$. A partir deste experimento, propuseram-se os parâmetros de figuras de mérito mostrados na Tabela 4.3.

Tabela 4.3 - Características analíticas obtida com os parâmetros otimizados, para determinação de molibdênio.

Figuras de mérito	Valores estabelecidos
Faixa linear $\mu\text{g L}^{-1}$	50 - 500
Curva analítica	$A = 0,0006C + 0,0329$
Coefficiente de correlação linear R	0,9969
Sensibilidade $\text{L } \mu\text{g}^{-1}$	0,0006
Limite de detecção $\mu\text{g L}^{-1}$	9,1
Desvio padrão relativo % DPR	1,07
Consumo tiocianato/estanho* mg	17,5/35
Volume de efluente mL*	3,75
Frequência analítica Det h^{-1}	51

*Valores encontrados por determinação.

Para verificar eficácia e a exatidão do procedimento analítico proposto, um conjunto de amostras de grãos de soja foi analisado, empregando o sistema proposto e espectrometria de emissão óptica com fonte de plasma acoplado indutivamente (ICP OES) e os resultados são apresentados na Tabela 4.4. Aplicando-se o teste- t pareado em nível de confiança de 95% e três graus de liberdade entre os resultados, encontramos o valor de $t_{cal} = (0,77)$. O valor crítico é $t_{crítico} = (3,18)$. Portanto não há diferença significativa entre os resultados.

Tabela 4.4 - Comparação entre método proposto para determinação de molibdênio e o método de referência.

Amostras	Método proposto mg Kg^{-1}	Método de referência (ICP OES) mg Kg^{-1}
1	$2,273 \pm 0,012$	$1,751 \pm 0,012$
2	$7,248 \pm 0,004$	$6,876 \pm 0,020$
3	$19,005 \pm 0,450$	$20,390 \pm 0,07$
4	$13,065 \pm 0,067$	$9,197 \pm 0,003$

Os resultados são média de três medições consecutivas.

Ensaio adicionais foram realizados empregando a metodologia de adição de padrões e recuperação em um conjunto de amostras de material vegetal (folhas). Os resultados são mostrados na Tabela 4.5, e observa-se uma recuperação na faixa entre 82 e 113%, a qual é aceitável para esta faixa de concentrações. Recuperações nesta mesma faixa são encontradas na literatura [167,168,169], incluindo procedimento que utilizou o mesmo preparo da amostra deste trabalho [165].

Tabela 4.5 - Ensaio de recuperação.

Amostras	Não adicionado ($\mu\text{g L}^{-1}$)	Adicionado ($\mu\text{g L}^{-1}$)	Encontrado ($\mu\text{g L}^{-1}$)	Recuperação %
1	74 \pm 1	80	157 \pm 1	103,7
2	94 \pm 2	80	185 \pm 3	113,5
3	73 \pm 1	80	146 \pm 2	92,2
4	74 \pm 3	80	140 \pm 2	82,7
5	74 \pm 3	75	135 \pm 1	82,5
6	73 \pm 2	75	135 \pm 4	82,1
7	74 \pm 1	75	136 \pm 1	82,2

Os resultados são média de três medições consecutivas.

Os dados mostrados na Tabela 4.6 permitem realizar uma comparação de desempenho com outros procedimentos, encontrados na literatura. O procedimento analítico proposto não utiliza solvente orgânico, o que é uma vantagem frente aos trabalhos encontrados na literatura. Além disso, pode-se incluir como vantagens adicionais, alta frequência analítica, baixo consumo de reagente e pequeno volume de efluente gerado, o que atende aos requisitos de um método limpo.

Tabela 4.6 - Comparação de procedimento espectrofotométrico para determinação de molibdênio com tiocianato.

Procedimento	Parâmetros						Ref.
	Faixa linear ($\mu\text{g L}^{-1}$)	Limite de detecção ($\mu\text{g L}^{-1}$)	Frequência amostragem (h^{-1})	Consumo reagente (mg)*	Volume efluente (mL)*	Volume Solvente (μL) ^a	
MCFA	50 - 500	9,1	51	17,5 ^b 35 ^c	3,75	-	Proposto
MCFA	25 - 150	4,6	25	30 ^b 30 ^c	2,03	200	24
FIA	50-1000	-	30	64 ^b 64 ^c	14,6	1400	23
Batelada	-	60	-	188 ^b 600 ^c	100	2000	26
Batelada	-	38	-	882 ^b 456 ^d	50	2500	25

*Consumo de reagente e geração de efluente por determinação; ^aConsumo de solvente por determinação; ^bTiocianato; ^cCloreto de estanho (II); ^dTiouréia.

4.4. Conclusão

O procedimento analítico proposto é uma alternativa viável para a determinação de baixas concentrações de molibdênio, sem necessidade de uma etapa de pré-concentração. Essa vantagem foi obtida com uso da cela fluxo de longo caminho óptico.

O procedimento proposto apresentou alta frequência analítica em comparação com outros procedimentos. Tendo em vista que não houve uso de solvente orgânico, e o volume de efluente gerado é pequeno, podemos considerar que o procedimento proposto, atende as condições de química limpa.

5. Procedimento de microextração líquido-líquido em fluxo para determinação de zinco em águas

5.1. Introdução

O zinco é considerado um elemento traço essencial para animais e plantas, atua como metaloenzima com função catalítica em processos enzimáticos. Também, atua na estabilidade de proteínas em animais e plantas [170,171]. Em humanos e animais, no sistema biológico atua nas funções de neurotransmissor, transdução de sinal e expressão gênica [172]. Em vegetais, sua absorção se dá através das raízes, funcionando como cofator em diversos processos bioquímicos [172].

Como cofator enzimático, o zinco participa em mais de 200 enzimas, também é um dos elementos que atua com função estrutural em proteínas [173]. A deficiência de zinco pode inibir o crescimento dos animais e das plantas [174], seu excesso também pode levar a complicações nos seres humanos como danos de natureza imunológica, retardo no crescimento, aumento do estresse oxidativo, dentre outros [175].

O zinco é encontrado no estado de oxidação +2, é um dos elementos mais comum da terra, pode ser encontrado no ar, na água e no solo. É também um dos elementos mais utilizado em diferentes processos industriais, incluindo a produção de aço, materiais elétricos, tintas, pigmentos, pesticidas e fertilizantes. Encontram-se aplicações na indústria de beleza e de saúde, envolvendo a produção de cosméticos, produtos farmacêuticos e suplementos alimentares [176,177,178].

O zinco é um elemento de fundamental importância para animais e vegetais sua deficiência ou excesso, é frequentemente investigado. O Conselho Nacional do Meio Ambiente (CONAMA 357/2005), estabelece como condição padrão da qualidade das águas a concentração de 0,18 mg L⁻¹ para zinco total como a concentração máxima aceitável [179]. Em virtude disso, diferentes procedimentos analíticos são propostos e aplicados em amostras de interesse ambiental [180,181,182], farmacêutico [183,184] e biológico [185], utilizando diferentes técnicas de detecção [186].

Os procedimentos que empregam fase sólida [187,188,189,177,185,186] são frequentemente utilizados para a determinação de zinco. E dentre esses, destaca-se a utilização de uma coluna de 100 mm de comprimento, diâmetro interno de 10 mm, preenchida com resina Amberlite XAD-7, a qual foi usada para

determinação de zinco, cobre e níquel em amostras de águas de torneira, águas residuais tratadas e suco de tomilho. Uma solução contendo o complexante 4-(2-pyridylazo)resorcinol (PAR), foi bombeada através da coluna com vazão de 3,0 mL min⁻¹. O reagente era retido na coluna, em seguida, por gravidade, a solução da amostra foi passada através da coluna, onde ocorria a formação do complexo com o metal. Em seguida, o complexo formado foi eluído com 4,0 mL de acetona, bombeada com uma vazão de 3,0 mL min⁻¹. Após a secagem do eluato, o resíduo foi dissolvido com 1,0 mL de ácido nítrico 0,1 mol L⁻¹. Os analitos foram determinados utilizando espectrometria de absorção atômica. O procedimento apresentou um limite de detecção para zinco(II) de 0,027 µg L⁻¹ [190].

Um procedimento com fase sólida foi proposto para determinação de zinco em produtos farmacêuticos. Uma cela de fluxo com 4,0 mm de caminho óptico foi preenchida com material sólido (C₁₈), o qual foi utilizado para imobilizar o reagente cromogênico. Nesse procedimento foi possível usar extração em fase sólida com um fotômetro de LED, tendo apresentado como características analíticas uma faixa linear de 0,05 a 0,85 mg L⁻¹, limite de detecção de 9 µg L⁻¹, frequência de amostragem de 36 determinações por hora e baixo consumo de reagente e reduzida geração de efluente[185].

A geometria da cela de fluxo tem efeito significativo na detecção em fase sólida, principalmente a atenuação do feixe de radiação pelas partículas sólidas. Visando minimizar este efeito, foi construída uma cela de fluxo com 1,0 mm de caminho óptico e 78 mm² de corte transversal, a qual foi preenchida com material sólido(C₁₈). O reagente cromogênico 1-(2-tiazolilazo)-2-naftol (TAN) foi imobilizado na fase sólida (C₁₈). Essa estratégia permitiu alcançar uma resposta linear na faixa de 0,04 – 4,0 mg L⁻¹ zinco, um limite de detecção 10 µg L⁻¹. Este procedimento foi aplicado para a determinação de zinco em produtos farmacêuticos[186].

Além da extração com fase sólida, citada nos parágrafos anteriores, outras estratégias de pré-concentração são encontradas para determinação de baixas concentrações de zinco. Dentre as mais utilizadas, pode-se destacar a extração em ponto nuvem [191,192,193,194] microextração líquido-líquido dispersiva [195,196,197], sistema aquoso bifásico [198], extração líquido-líquido [199,200,201]. Determinações sem etapa de pré-concentração são também encontradas [202,203] e estratégias com uso de celas de detecção com longo caminho óptico para aumento de sensibilidade, também tem sido proposto [204]. Os procedimentos em

fluxo desenvolvidos para determinação de zinco são aplicados em vários tipos de amostras, incluindo água [205,206], material vegetal [207], produtos farmacêuticos [208], material biológico [209,210] e cosméticos [211].

5.2. Extração líquido-líquido

Em química analítica, com frequência, se recorre à etapa de extração ou pré-concentração, que consiste na transferência da espécie química de interesse para um ambiente onde este tem mais afinidade, ou apresenta a capacidade de se distribuir entre duas fases insolúveis. Essa transferência ocorre quando se coloca em contato duas fases líquida/sólida, comumente chamada de extração em fase sólida [212,213,214], líquido/líquido, chamada de extração fase líquida [215,216], extração com fase gasosa também são utilizadas [217,218].

Para que ocorra o processo de transferência do analito, as duas fases são postas em contato, de maneira a favorecer a transferência do analito, que pode ser manual ou mecânica, isso dependendo do tipo de extração que se deseja realizar. O processo de extração quando utilizado em procedimentos analíticos, aumentam a concentração do analito, melhora a seletividade, diminui efeitos de espécies que podem interferir no procedimento e diminui efeito de matriz [219].

Na extração líquido-líquido (ELL), duas fases líquidas imiscíveis, uma aquosa polar (F_{aq}) onde contém o analito e outra orgânica apolar (F_{org}), são postas em contato, o analito que pode ser uma substância orgânica ou um complexo com uma espécie inorgânica, tende a migrar para fase orgânica, com a qual tem maior afinidade. Quando esta transferência ocorre, são formadas duas fases distintas e ocorre um equilíbrio químico entre as fases, como representado pela Equação 5.1. Durante a extração não ocorre mudanças na natureza do analito, apenas a transferência para um ambiente de maior afinidade [220].



Quando o equilíbrio é estabelecido, esse pode ser representado por uma constante chamada de constante de distribuição ou partição (K_d) como indicado pela Equação 5.2. Esta equação estabelece que quando um soluto se distribui em dois

solventes imiscíveis, há para cada espécie, em uma dada temperatura, uma relação constante de distribuição entre os dois solventes. Essa relação de distribuição é independente de qualquer outra espécie presente. O valor dessa constante pode variar de acordo com a temperatura, pressão, tipo de soluto e as fases que estão sendo empregadas. Além disso, o pH e a concentração de outras espécies podem interferir no valor da constante de distribuição[148].

$$K_d = [F_{(org)}] / [F_{(aq)}] \quad \text{Equação 5.2}$$

Em geral, a extração líquido-líquido utiliza grandes volumes de solventes orgânicos, e para aumentar a concentração do analito, podem ser requeridas várias etapas de extração, conseqüentemente, tornando o processo moroso, podendo ocorrer erros, perda do analito e contaminações. Além disso, o uso de solvente orgânico que libera vapores tóxicos pode acarretar perigo à saúde do operador [221].

A automação de procedimentos de extração líquido-líquido diminui os erros, pois há mínima manipulação humana, utilizam pequenos volumes de solventes. Os procedimentos em fluxo apresentam-se como alternativa para essa finalidade, utilizam pequenos volumes de amostras e reagentes, minimizando o volume de efluente gerado em comparação com os procedimentos realizados em batelada. As reações ocorrem em um ambiente fechado, diminuindo os riscos com vapores tóxicos e em geral os procedimentos apresentam uma boa frequência analítica [222,223].

Em sistemas de análise em fluxo, o processo de extração ocorre quando a mistura da amostra com reagente forma o composto a ser extraído, em seguida o solvente é adicionado por confluência, quando este entra em contato com amostra há formação de segmentos alternados e coloridos das duas fases, indicando que extração está ocorrendo.

Utilizando detecção espectrofotométrica, o composto a ser detectado deve chegar à cela de detecção de forma homogênea, pois as interfaces dos segmentos quando em contato com o feixe de radiação causam difração e refração na entrada e na saída de cada segmento na cela de fluxo, causando perturbação no sinal analítico. Para contornar tal efeito são inseridas antes do sistema de detecção,

câmaras de separação, que podem ser confeccionadas de forma que favoreçam a separação de fase, como proposto por Bergamin e colaboradores no primeiro trabalho de extração líquido-líquido em fluxo. A câmara confeccionada em forma cilíndrica favorecia a limpeza do sistema, o solvente utilizado era menos denso que água, então o composto a ser analisado ficava na parte superior, e era aspirado para o sistema de detecção [224].

Baseado nesse conceito foi proposto uso de uma câmara em forma cilíndrica. Neste caso, foi utilizado solvente mais denso que a água e o composto formado foi aspirado para sistema de detecção [218]. Estes dois trabalhos utilizaram para separação de fase a diferença de densidade. Outras estratégias de extração em fluxo que podemos destacar envolvem a utilização de membranas hidrofóbicas [225], uso de um filme de solvente [226] e uso de gota pendente [227].

Os métodos que utilizam microextração líquido-líquido em fluxo [228,229] vêm ganhando destaque como alternativa aos métodos clássicos de extração líquido-líquido. As etapas requeridas na extração são automatizadas, diminuindo erros sistemáticos, além disso, há uma minimização do uso de solventes orgânicos, o que é importante quando se utiliza solventes com restrições ambientais, e como consequência há uma menor geração de efluente. Outro ponto de destaque em microextração em fluxo, é que as reações ocorrem em um ambiente fechado, diminuindo o contato do usuário com vapores tóxicos que podem causar danos à saúde.

O desenvolvimento de métodos de análises limpo, conforme estabelecido pelo princípio da química verde estabelece que o uso de solventes orgânicos deve ser reduzido ou eliminado, a fim de evitar produtos nocivos à saúde e ao ambiente. Entretanto, quando utilizado deve produzir o mínimo de produtos prejudiciais ao meio ambiente e a saúde humana [230]. Os procedimentos de análises em fluxo se destacam para o desenvolvimento de métodos mais limpos de análises, utilizam pequenos volumes de reagentes com restrições ambientais, contribuindo com os métodos limpos de análises [231].

Neste capítulo da tese, foi desenvolvido um procedimento de microextração líquido-líquido em fluxo, para a determinação de zinco em águas, com uso reduzido de solvente orgânico. O método espectrométrico utilizado foi baseado na formação do complexo entre zinco(II) e difeniltiocarbazona, comumente chamada de ditizona. O composto formado foi monitorado no comprimento de onda de 520 nm. Utilizou-se

clorofórmio como extrator. A extração de zinco com esse solvente é relativamente lenta. Em vista disso, foi utilizada uma câmara onde foram realizadas todas as etapas da reação e para acelerar o processo de extração foi utilizada uma haste acoplada a um motor para fazer a mistura das duas fases. Foi utilizado o mínimo de solvente orgânico (200 μL), suficiente para preencher toda a cela de fluxo, a qual apresenta caminho óptico de 50 mm.

5.3. Experimental

5.3.1. Reagentes e soluções

Todas as soluções foram preparadas com água purificada com condutividade elétrica menor que $0,1 \mu\text{S cm}^{-1}$. Os reagentes usados eram de grau analítico.

Solução estoque de ditizona (difeniltiocarbazona, Sigma) $3,9 \text{ mmol L}^{-1}$ foi preparada dissolvendo 0,100 g do sólido em 100 mL com clorofórmio (Merck). Essa solução foi armazenada em frasco âmbar e mantida sob refrigeração. A solução de trabalho $7,8 \mu\text{mol L}^{-1}$ foi preparada diariamente, a partir da solução estoque e diluída em clorofórmio.

Solução de citrato de amônio ($0,5 \text{ mol L}^{-1}$) foi preparada dissolvendo 11,31 g de citrato de amônio (Merck) em água e completando o volume para 100 mL com água. Em seguida para ajustar o pH desejado ($\text{pH} = 9,5$), foi adicionando 10 mL de hidróxido de amônio concentrado (Merck).

Solução de dietilditiocarbamato de sódio trihidratado (Merck), $0,011 \text{ mol L}^{-1}$ foi preparada dissolvendo 0,25 g do sólido em água e completando o volume para 100 mL com água. Essa solução era preparada diariamente.

Uma solução estoque de 1020 mg L^{-1} de Zn(II) foi preparada a partir de zinco sólido em meio de $0,5 \text{ mol L}^{-1}$ de ácido nítrico. Uma solução $1000 \mu\text{g L}^{-1}$ foi preparada a partir da solução estoque. A partir dessa solução foram preparadas as soluções de trabalho na faixa de 5,0 a $200 \mu\text{g L}^{-1}$. O $\text{pH} = 3,0$ das soluções foi ajustado com HNO_3 .

As soluções dos potenciais interferentes Pb^{2+} , Ni^{2+} , Sn^{2+} e Co^{2+} foram preparadas a partir das soluções estoque.

5.3.2. Preparo das amostras

As amostras foram coletadas em tubos *falcon* e ajustado o pH para 3,0 com ácido nítrico antes da análise. As amostras de água mineral foram obtidas no mercado local. As amostras de água de torneira foram obtidas de diferentes torneiras do Laboratório de Química Analítica do Centro de Energia Nuclear na Agricultura e de residências nas cidades de Piracicaba e Rio Claro. As amostras também foram analisadas por espectrometria de emissão óptica com fonte de plasma acoplado indutivamente (ICP OES), para efeito de comparação entre o procedimento proposto.

5.3.3. Equipamentos e acessórios

Os equipamentos e acessórios empregados são descritos a seguir: um microcomputador equipado com uma interface eletrônica PCL711 (Advantech), e com um programa de controle e aquisição de dados, escrito em linguagem Quick BASIC 4.5; cinco válvulas solenoide de 3 vias, modelo HP225T031 *NReserach*;; uma micro-bomba solenoide (Bio-Chem, 120SP1210, volume nominal de 10 μ L por pulso); mini-bomba peristáltica compacta (Welco Co. Ltd., Tokyo, Japan); quatro circuitos integrados ULN2803; três relés de 12 V e corrente de contato de 10 A; um LED verde de 5 mm, máximo de emissão em 520 nm, e ângulo de abertura do feixe de radiação de 25°; uma bomba de seringa já descrita anteriormente, duas placas de circuito impresso em fibra de vidro construídas para este projeto; um fotodetector OP301 (Texas Instruments); uma cela de fluxo de 50 mm de caminho óptico e 1,2 mm de diâmetro interno;

O fotômetro foi construído empregando um LED de 5 mm como fonte de radiação e um fotodetector (OPT301) com transdutor de sinal, o qual tem integrado no mesmo encapsulamento, o sistema de amplificação de sinal. O LED apresenta máximo de emissão de radiação em 520 nm (verde), e ângulo feixe de radiação de 25°, o que facilita o acoplamento à cela de fluxo, permitindo um bom aproveitamento do feixe de radiação. O fotômetro mostrado na Figura 5.1 foi equipado com uma cela de fluxo de 50 mm de caminho óptico e 1,2 mm de diâmetro interno, a qual foi moldada como descrita na literatura [69]. Esta cela de fluxo tem um design que permite um bom aproveitamento do feixe de radiação e fácil descarte de bolhas gás.

A saída do fotodetector foi acoplada à entrada analógica da interface PCL711s, a qual tem um conversor analógico/digital com 12 bits de resolução, e converte para digital o sinal analógico (S_i) gerado pelo fotodetector.

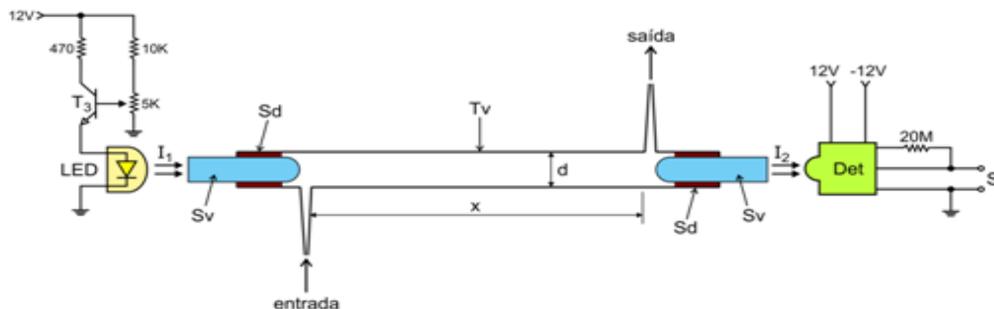


Figura 5.1 - Diagrama do fotômetro utilizado na determinação de zinco. T_3 = transistor BD547; LED = diodo emissor de luz, $\lambda_{\max} = 520 \text{ nm}$; Det = fotodetector OPT301; I_1 e I_2 = feixe de radiação emitida pelo LED antes e depois de passar pela cela de fluxo, respectivamente; T_v = tubo de vidro; $d = 1,2 \text{ mm}$ de espessura; $x = 50 \text{ mm}$ de comprimento; S_v = cilindro de vidro; S_d = ponto de selagem; S_i = sinal gerado em mV.

O feixe de radiação I_1 emitido pelo LED é coletado pelo cilindro de vidro (S_v) e conduzido até a entrada da cela de fluxo, propaga-se através da cela e emerge na outra extremidade, onde é coletado pelo outro cilindro de vidro (S_v), o qual está alinhado com a janela de observação do fotodetector (Det), permitindo que o feixe de radiação I_2 alcance a unidade de transdução de sinal. Quando há na cela de fluxo uma solução que absorve parte da radiação, a intensidade do feixe I_2 torna-se menor do que a intensidade de I_1 e o detector gera uma diferença de potencial proporcional à variação da intensidade do feixe de radiação. Essa variação de diferença de potencial é usada para calcular a absorvância, permitindo a determinação da concentração da espécie química de interesse.

5.3.4. Descrição do módulo de análises

Na configuração mostrada na Figura 5.2, as seringas S_1 , S_2 , S_3 e S_4 estão com os êmbolos no fim do curso de deslocamento e estão vazias.

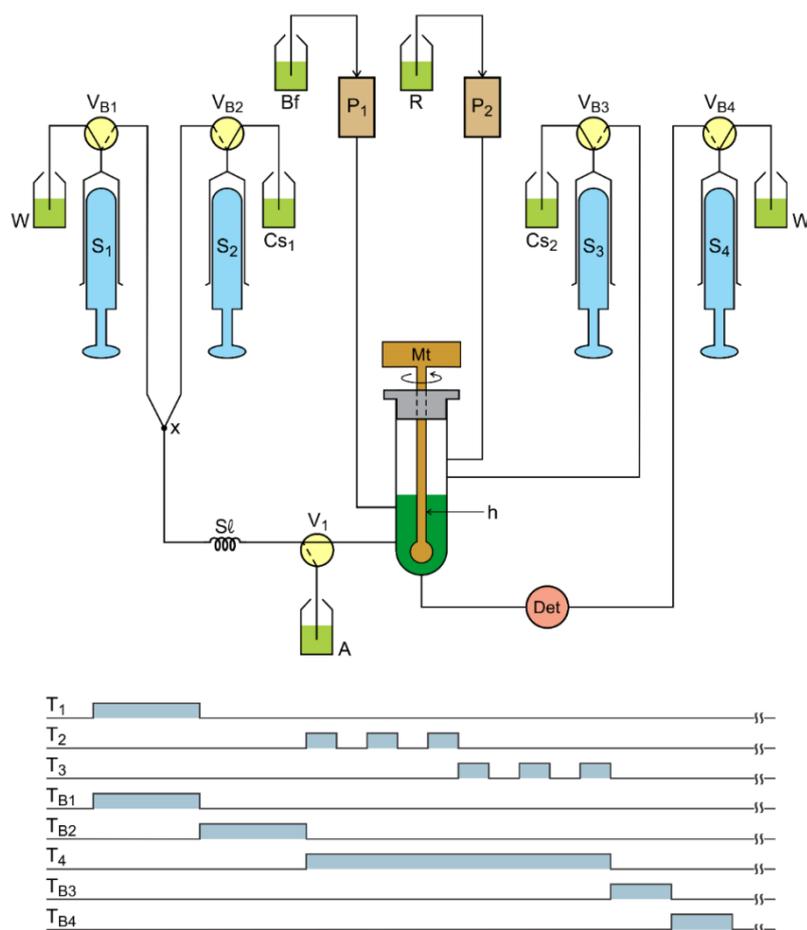


Figura 5.2 - Diagrama do módulo de análises para determinação de zinco. S₁, S₂, S₃ e S₄ = Seringas (5 mL); V_{B1}, V_{B2}, V_{B3}, V_{B4} e V₁ = válvula solenóide de três vias; P₁ = mini-bomba solenóide; P₂ = mini-bomba peristáltica; A = amostra; R = Solução do reagente (ditizona); Bf = Solução citrato; C_{S1} = solução transportadora (água); C_{S2} = solução de limpeza (etanol 20%(v/v)); Sl = loop de amostra (100 cm d.i. 1,6 mm); Det = fotômetro ($\lambda = 520$ nm); Mt = câmara de mistura; h = haste de vidro; X = confluência; W = reservatório de descarte. As linhas cheias e interrompidas nos símbolos das válvulas V_{B1}, V_{B2}, V_{B3}, V_{B4} e V₁ indicam o caminho de escoamento de fluido quando estão desligadas e quando ligadas, respectivamente. T₁ T_{B4} = diagrama de tempo de acionamento das válvulas, mini-bombas, T₁, T_{B1}, T_{B2}, T₂, T₃, T₄, T_{B3}, T_{B4}, respectivamente.

Quando o software de controle era posto em operação, o computador verificava se os êmbolos das seringas estavam no fim do curso. Para isso, foram instaladas as chaves de fim curso Ch₁ e Ch₂ (Fig.2), acoplados por fiação elétrica à entrada da interface PCL 711. Então, se o estado da chave que define o fim de curso para seringas vazias, indicava um valor próximo de 0V, o motor era acionado no sentido anti-horário para encher as seringas. Conforme indicado na legenda desta Figura, quando as válvulas V_{B1}, V_{B2}, V_{B3} e V_{B4} estão desligadas, a solução do respectivo reservatório acoplado a cada seringa na etapa de enchimento e esvaziamento era reciclado, ou dispensado para respectivo descarte.

A etapa de calibração do fotômetro era realizada 20 min após ser ligado à fonte de alimentação. A cela de fluxo era lavada com a solução transportadora, usando uma seringa manual; Após essa etapa, a leitura do fotômetro era ajustada para 2000 mV. Em seguida, o software de controle acionava mini-bomba peristáltica (P_2) e a mini-bomba solenoide (P_1) para o preenchimento dos canais das soluções do reagente (R) e do citrato (Bf). Em seguida, era realizada a etapa de limpeza da câmara de reação, onde o motor de passo era acionado no sentido de enchimento da seringa (S_3), e posteriormente o volume da seringa era dispensado na câmara. Após um período da agitação de 5 s, a câmara era esvaziada, aspirando com seringa(S_4).

A etapa de amostragem tem início com o motor sendo acionado com rotação no sentido anti-horário, os êmbolos das seringas eram deslocados no sentido de aspiração, nesse momento a válvula solenoide (V_{B1}) era acionada, em seguida a válvula solenoide (V_1) era acionada e mantida ligada por um tempo necessário para preenchimento da bobina (SI) com solução da amostra. Em seguida, a válvula solenoide (V_{B2}) era acionada, o volume de amostra 2,0 mL era deslocado para câmara de reação pelo fluído transportador (S_2). Em seguida, o motor da haste de agitação era acionado (V_3), volumes de 100 μ L da solução de citrato e 200 μ L da solução do reagente eram inseridos na câmara. Durante essa etapa, a haste de agitação permanecia em movimento (alta rotação), acionada para mistura das soluções e para efetuar a etapa de extração do analito. Após um intervalo de tempo previamente programado, o motor da haste de agitação era desligado, e ocorria a etapa de separação de fase. Para efetuar a etapa de leitura, o motor da bomba de seringas era acionado com rotação no sentido horário, a válvula solenoide (V_{B4}) era acionada, a fase orgânica era aspirada para cela de fluxo. A leitura do complexo formado era efetuada com a fase orgânica parada na cela de fluxo. Em seguida, a solução aquosa da câmara era aspirada até o completo esvaziamento da câmara. Em seguida, o motor da bomba de seringas era acionado com rotação no sentido horário, a válvula solenoide (V_{B3}) era acionada para inserir uma solução de alcoólica 20% (v/v), para efetuar a limpeza da câmara. A barra de agitação era acionada para melhorar a limpeza. Depois de um tempo previamente programado, o motor era acionado no sentido anti-horário para o esvaziamento da câmara de reação. Todas as etapas do procedimento analítico e as etapas descritas acima estão resumidas na Tabela 5.1 abaixo.

Tabela 5.1 - Sequência de eventos para determinação de zinco.

Etapa	Evento	Rotação	Vazão mL/min	VB ₁	VB ₂	VB ₃	VB ₄	V ₁	V ₂	V ₃	V ₄	Tempo (s)
1	Êmbolos na posição de enchimento	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
2	Preenche canal da amostra	E	6,0	1	0	0	0	1	0	0	0	08
3	Desloca êmbolos para cima	D	12	0	0	0	0	0	0	0	0	08
4	Preenche bobina com solução da amostra	E	12	1	0	0	1	1	0	0	0	15
5	Desloca amostra para câmara	D	12	0	1	0	0	0	0	0	0	15
6	Aciona barra de agitação	P	-	0	0	0	0	0	0	1	0	-
7	Encerre solução tampão na câmara	P	10*	0	0	0	0	0	0	1	1	10 ciclos
8	Encerre solução do reagente na câmara	P	12	0	0	0	0	0	1	1	0	1,0
9	Etapa de extração do analito	P	-	0	0	0	0	0	0	1	0	30
10	Etapa de separação de fase	P	-	0	0	0	0	0	0	0	0	20
11	Deslocamento fase orgânica para cela de fluxo	E	1,5	0	0	0	1	0	0	0	0	12
12	Etapa de leitura	P	-	0	0	0	0	0	0	0	0	05
13	Esvazia a câmara	E	6,0	0	0	0	1	0	0	0	0	08
14	Encerre solução limpeza na câmara	D	12	0	0	1	0	0	0	0	0	15
15	Aciona barra de agitação	P	-	0	0	0	0	0	0	1	0	-
16	Esvazia câmara	E	12	0	0	0	1	0	0	0	0	18
17	Desloca êmbolos para cima	D	12	0	0	0	0	0	0	0	0	18

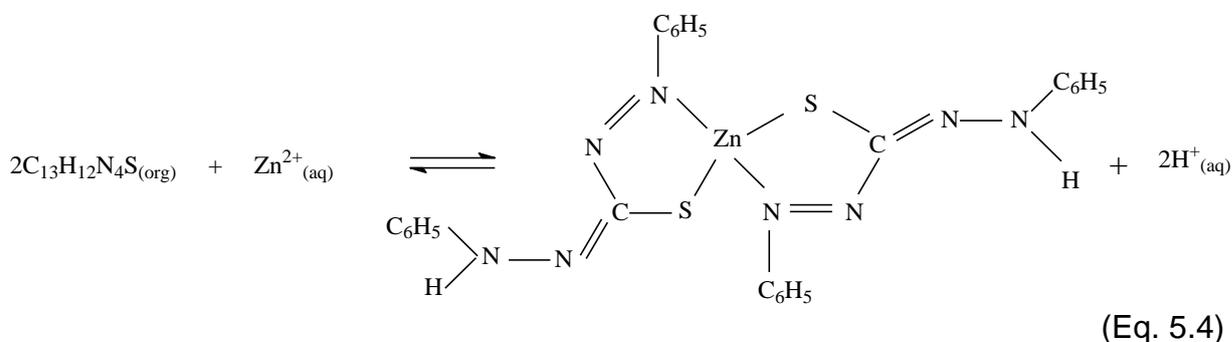
D, E, P: rotação do motor, direita, esquerda e parada respectivamente; válvulas solenoide de três vias: VB₁, VB₂, VB₃, VB₄ e V₁; mini-bomba peristáltica: V₂; barra de agitação: V₃; micro-bomba solenoide: V₄; Números 0 e 1 indicam que a válvula correspondente foi desligada ou ligada, respectivamente. Os números da última coluna à direita são os intervalos de tempo selecionados; *10 µL min⁻¹.

5.4. Resultados e Discussão

A ditizona (difeniltiocarbazona) é um reagente comumente utilizado em determinações espectrofotométricas, e pode formar complexo com uma variedade de íons metálicos, (e.g. chumbo, zinco, cádmium, mercúrio, cobre, etc) [232]. A ditizona é um sólido violeta escuro, insolúvel em água, é solúvel em amônia diluída, e em solventes orgânicos (e.g. clorofórmio, etanol, metanol) formando soluções de cor verde. Em solução funciona como um ácido monoprótico ($pK_a = 4,7$), até pH próximo de 12. Quando reage com íons metálicos divalentes e trivalentes, forma os ditizonatos metálicos como mostra na Equação 5.3, abaixo [224]. Os íons metálicos combinam-se com a ditizona, formando complexos coloridos não polares. Estes complexos são geralmente extraídos com solventes orgânicos como clorofórmio e tetracloreto de carbono [225].



A reação entre ditizona e o zinco(II) ocorre em solução levemente alcalina [201], conforme indicado pela Equação 5.4, havendo a formação de um complexo vermelho (ditizonato de zinco). O espectro mostrado na Figura 5.3, indica que o complexo extraído em clorofórmio, apresenta máximo de absorção em torno de 540 nm, portanto um LED com máximo de emissão em 525 nm e meia banda de 25 nm, pode ser usado como fonte de radiação do fotômetro usado neste procedimento analítico.



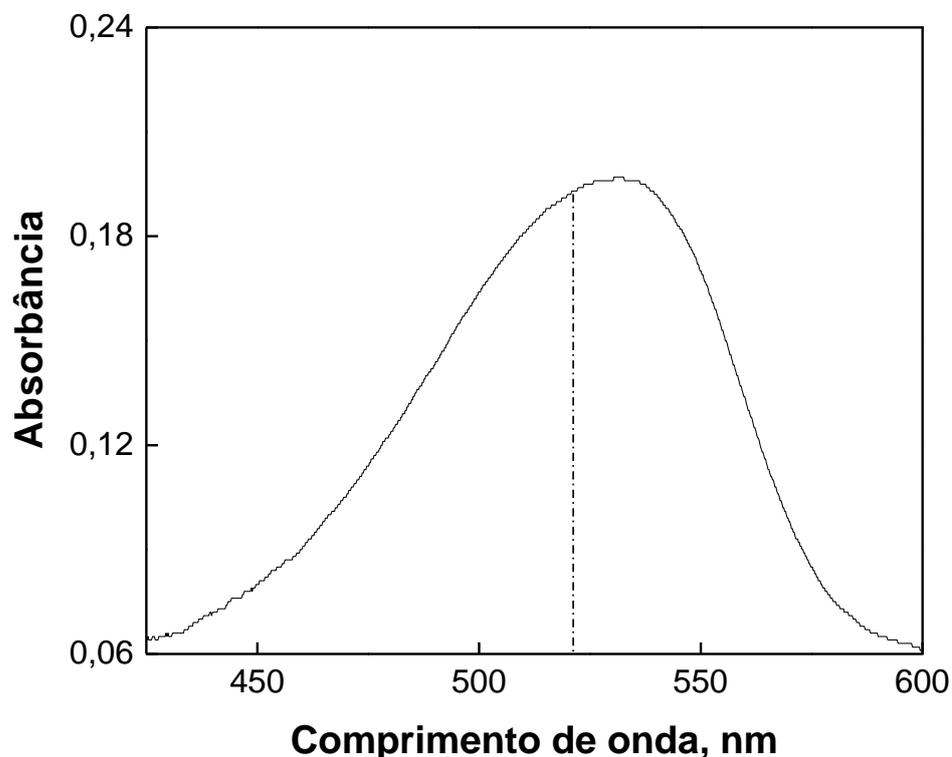


Figura 5.3 - Espectro de absorção do complexo zinco(II) com ditizona. Espectro obtido com uma solução padrão de $100 \mu\text{g L}^{-1}$ de zinco(II), concentração de ditizona $3,9 \mu\text{mol L}^{-1}$.

5.4.1. Efeito da alcalinidade do meio

A ditizona é um reagente muito sensível e pode complexar muitos metais. Portanto, alguns fatores são necessários para torna-lá mais seletiva, o pH é um desses fatores. O complexo de ditizona com zinco $[\text{Zn}(\text{HDz})_2]$, pode ser extraído numa faixa de pH entre 4-11. Utilizando o clorofórmio como extrator, o ditizonato de zinco pode ser extraído quantitativamente em uma faixa alcalina que pode variar entre 8-10 [201,202]. Portanto, variando o pH da solução de citrato entre 8 e 10, foi avaliado o efeito do mesmo na extração. Como mostra a Figura 5.4, a alcalinidade do meio tem efeito relevante na magnitude do sinal na faixa de pH entre 8,5 e 9,5, o qual pode afetar o desenvolvimento da reação. A Figura 5.4 mostra que o aumento da alcalinidade do meio, favoreceu a extração de ditizonato de zinco, a extração máxima do complexo ocorreu em pH 9,5. A literatura reporta que os ditizonatos de zinco podem ser extraídos em meio neutro ou levemente básico [221].

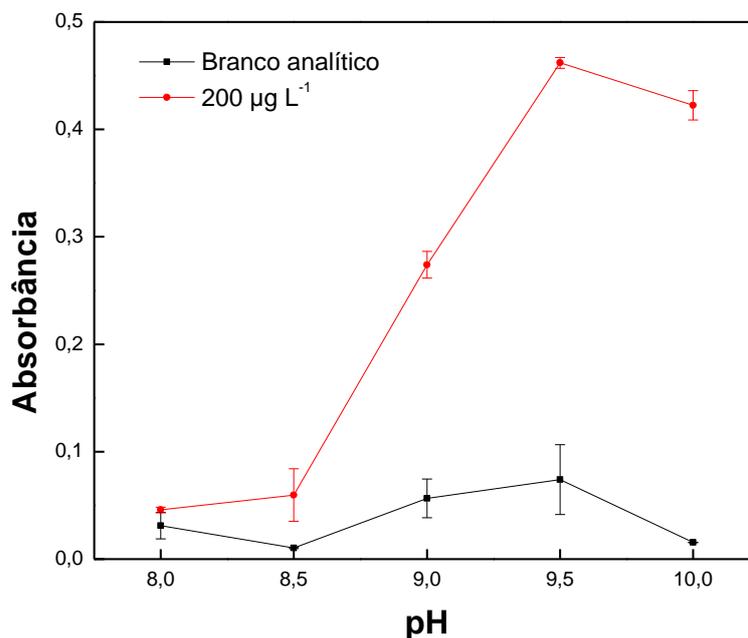


Figura 5.4 - Efeito da alcalinidade do meio. (■) branco analítico; (●) Solução padrão de Zn(II) 200 µg L⁻¹ Condições experimentais: volume de reagente/solvente 200 µL; concentração ditizona 3,9 µmol L⁻¹; volume de amostra 1000 µL, volume de tampão 200 µL.

5.4.2. Estudo da concentração da solução citrato de amônio

A extração do zinco em meio amoniacal é requerida, pois a alcalinidade do meio diminui possíveis efeitos de precipitação de Zn(OH)₂, que pode ocorrer em pH 6,8. Este composto se dissolve em soluções de amônia, havendo a formação de tetraminozincato (II). Usualmente, o uso de tartarato ou citrato é recomendado para evitar possíveis interferências de ferro e alumínio [86,159,148]. Em vista disso, foi utilizada solução de citrato de amônio como mascarante, e foram avaliadas concentrações entre 0,5 e 2,0 mol L⁻¹. A Figura 5.5, mostra uma diminuição do sinal analítico com o aumento da concentração da solução de citrato de sódio. O pH da solução foi ajustado com amônia, portanto sua concentração aumentava com a concentração de citrato, portanto variou as características físico-química do meio, afetando a magnitude do sinal gerado. Em vista disso, foi escolhida a concentração de 0,5 mol L⁻¹ para a solução de citrato de amônio.

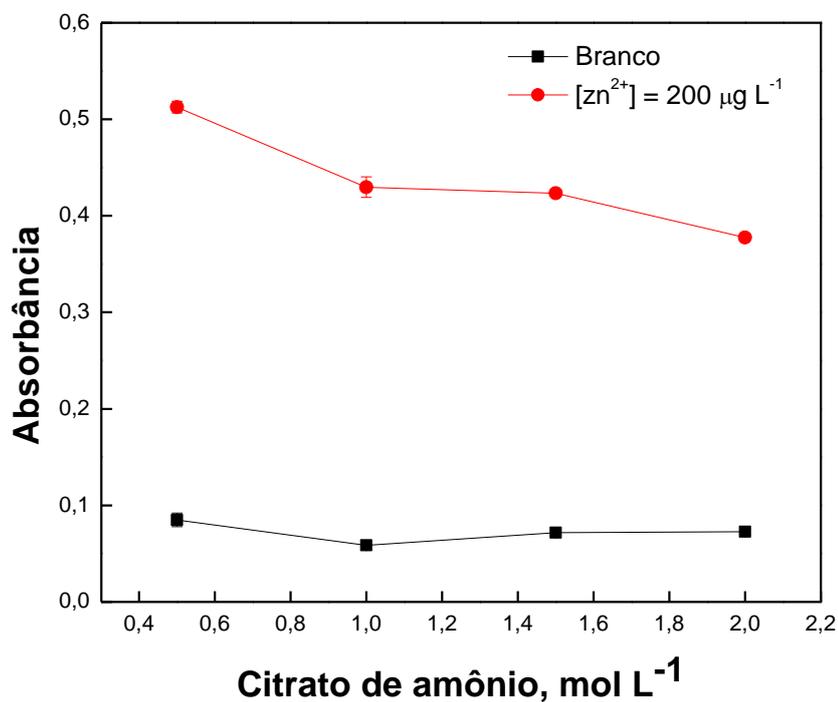


Figura 5.5 - Efeito da concentração de citrato de amônio. (■) branco analítico; (●) Solução padrão de Zn(II) 200 µg L⁻¹ Condições experimentais: volume de reagente/solvente: 200 µL; concentração ditizona: 3,9 µmol L⁻¹; volume de amostra: 1000 µL, volume de tampão: 200 µL.

Após a escolha da concentração da solução de citrato, foi avaliado o efeito do volume desta solução no sinal analítico. Como mostra a Figura 5.6, o volume foi variado de 100 até 500 µL. Observa-se uma leve diminuição da absorvância com o aumento do volume da solução de citrato, provavelmente devido à diluição do complexo formado. Foi selecionado o volume de 100 µL para dar sequência ao trabalho.

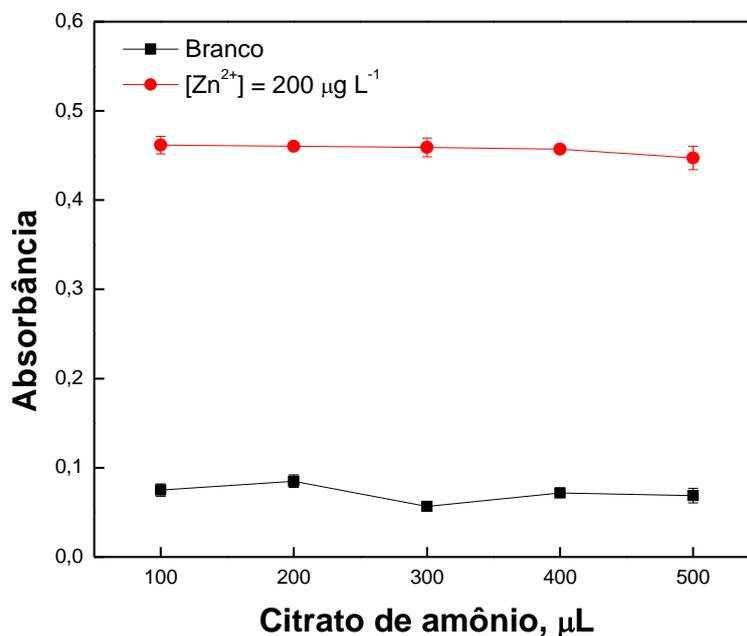


Figura 5.6 - Efeito do volume da solução citrato de amônio. (■) branco analítico; (●) Solução padrão de Zn(II) $200 \mu\text{g L}^{-1}$; Condições experimentais: volume de reagente/solvente: $200 \mu\text{L}$; concentração ditizona: $3,9 \mu\text{mol L}^{-1}$; volume de amostra: $1000 \mu\text{L}$, volume de tampão: $200 \mu\text{L}$.

5.4.3. Estudo do reagente mascarante

O uso de reagente mascarante é um recurso utilizado para suprir ou minimizar interferências em procedimentos analíticos espectrofotométricos. Neste trabalho, foi utilizado para esse fim, o dietilditiocarbamato. Este tem capacidade de mascarar Cu(II), Pb(II), Hg(II), Bi(II), Co(II), Sn(II), Ni(II), Cd(II) e não forma complexo com zinco(II) [199]. Foi avaliado o efeito desse mascarante na determinação de zinco utilizou-se uma concentração de 11 mmol L^{-1} de dietilditiocarbamato. A Figura 5.7 mostra que houve uma redução de 30% na absorbância na presença do mascarante, isso ocorreu porque na presença de dietilditiocarbamato não ocorre a extração completa do zinco, ocorrendo uma redução na intensidade do complexo formado. Embora essa diminuição na intensidade possa ser compensado com o uso da cela de longo caminho óptico, entretanto é necessário que seu uso seja efetivo na eliminação das interferências.

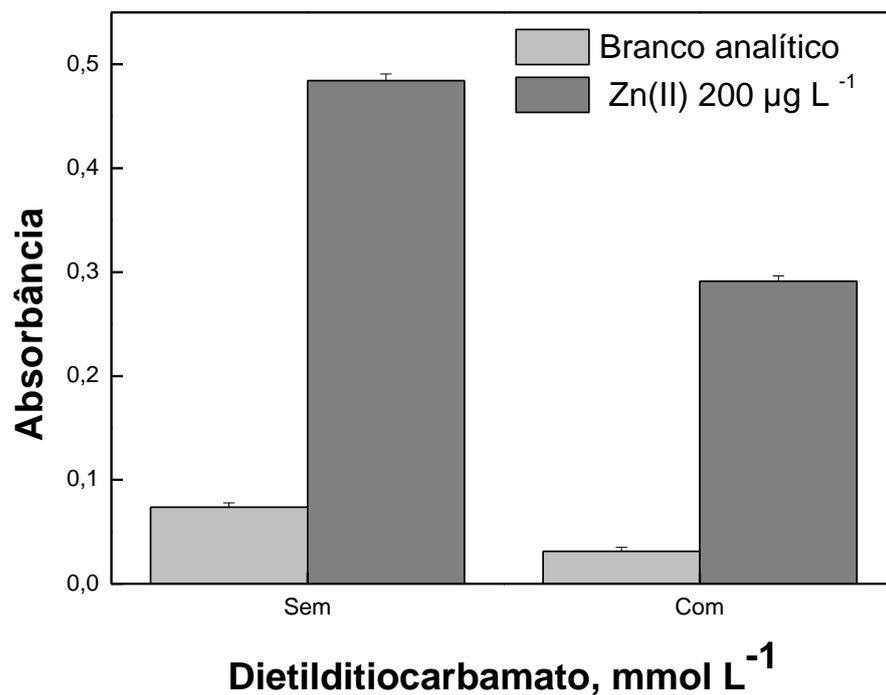


Figura 5.7 - Efeito do agente mascarante. Condições experimentais: Solução padrão de Zn(II) 200 µg L⁻¹; volume de reagente/solvente: 200 µL; concentração ditizona: 3,9 µmol L⁻¹; volume de amostra: 1000 µL, volume de tampão: 100 µL.

Devido a esse efeito na redução da absorbância, foi avaliada a concentração de carbamato, variando entre 11,0 e 44,0 mmol L⁻¹. A curva da Figura 5.8 confirma a diminuição da absorbância com o aumento da concentração do carbamato, em virtude disso, foi escolhido a concentração de 11 mmol L⁻¹.

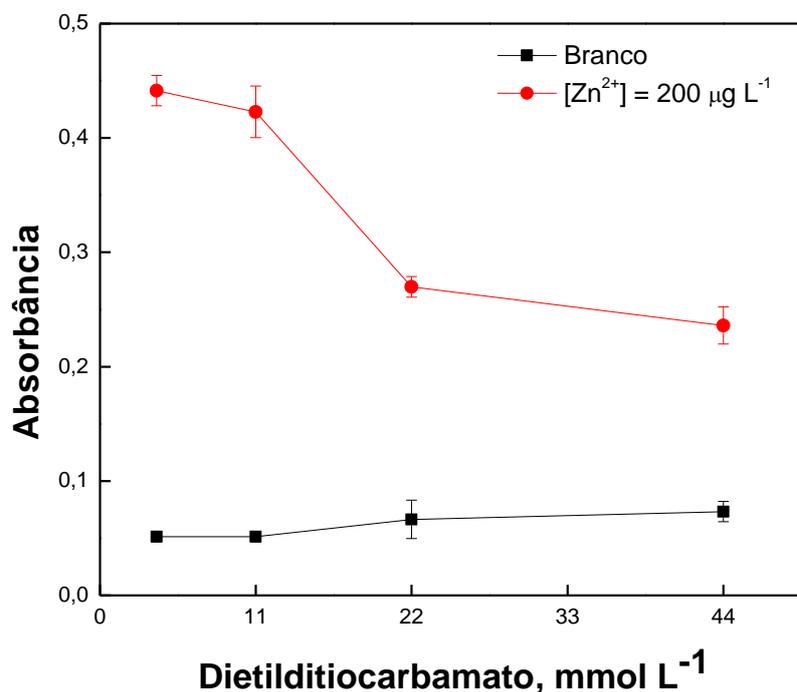


Figura 5.8 - Efeito da concentração do agente mascarante. (■) branco analítico; (●) Solução padrão de Zn(II) 200 µg L⁻¹ Condições experimentais: volume de reagente/solvente: 200 µL; concentração ditizona: 3,9 µmol L⁻¹; volume de amostra: 1000 µL, volume de tampão: 100 µL.

Foi avaliado também o volume de carbamato utilizado, este foi escolhido com um compromisso entre um bom sinal na absorbância e seu efeito para mascarar possíveis interferências. Os volumes entre 100 e 300 µL foram avaliados, na Figura 5.9 observa-se que o aumento do volume causou significativo efeito na absorbância, foi escolhido o volume de 100 µL, com este volume foi possível evitar efeitos dos íons interferentes.

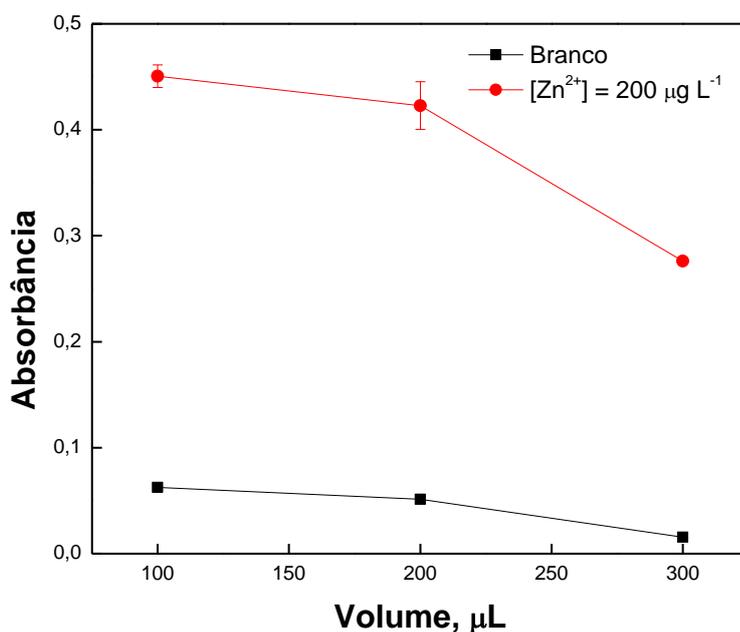


Figura 5.9 - Efeito do volume do agente mascarante. (■) branco analítico; (●) Solução padrão de Zn(II) $200 \mu\text{g L}^{-1}$; Condições experimentais: volume de reagente/solvente: $200 \mu\text{L}$; concentração ditizona: $3,9 \mu\text{mol L}^{-1}$; volume de amostra: $1000 \mu\text{L}$, volume de tampão: $100 \mu\text{L}$.

5.4.4. Estudo do volume de amostra

A pré-concentração baseada na extração com uma fase orgânica, tem como base a transferência do analito de um volume grande da fase aquosa para um volume menor da fase orgânica. Portanto, visando avaliar em que extensão este recurso poderia ser utilizado, alguns experimentos foram realizados, mantendo o volume da fase orgânica constante e variando o volume da fase aquosa. O resultado mostrado na Figura 5.10, indica que o aumento do volume de amostra tem efeito significativo na magnitude do sinal gerado, principalmente quando o volume variou de $0,5 \text{ mL}$ para $1,0 \text{ mL}$. Tomando-se como referência os volumes de $0,5$ e $3,0 \text{ mL}$, observa-se que o volume da fase aquosa teve um aumento de 6 vezes, e a magnitude do sinal analítico teve um acréscimo de 5 vezes. Entretanto, observa-se que para o volume de amostra de $4,0 \text{ mL}$, ocorreu uma redução do sinal, e para qual não encontramos uma explicação, pois em caso de saturação por falta de reagente, o sinal tenderia ser semelhante ao anterior. Observa-se que o aumento do volume da amostra é um recurso para ganhar sinal analítico, entretanto tem limite. Volumes grandes de amostra causariam inconvenientes como a limpeza da câmara o que

demandaria mais ciclo de limpeza, e em consequência gerando maior volume de resíduos, afetaria também a frequência analítica. Em vista disso, foi escolhido o volume de amostra de 2,0 mL. Entretanto, quando o foco do procedimento analítico é o ganho de sensibilidade, o aumento do volume da amostra é um recurso que pode ser usado. O aumento de resíduo gerado ocorre somente na fase aquosa, o que é uma vantagem a ser considerada.

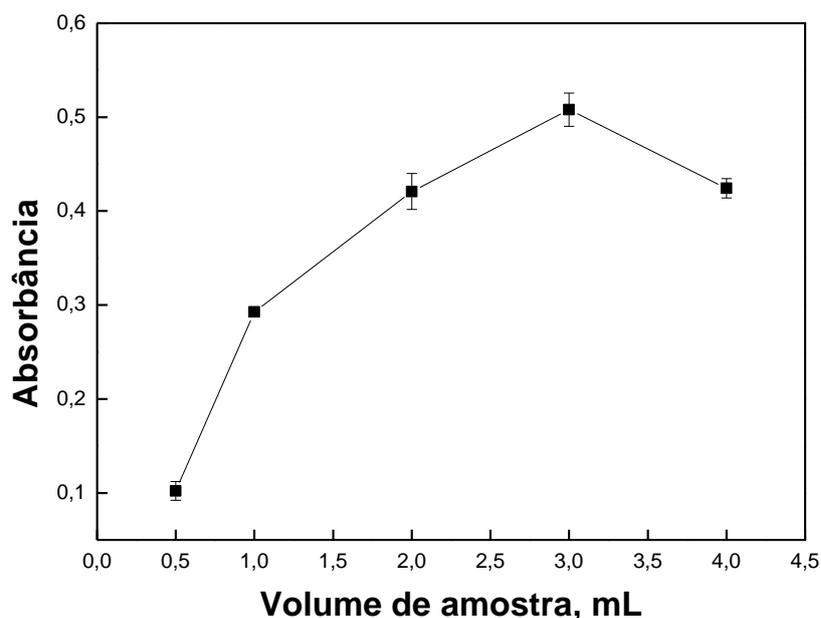


Figura 5.10 - Efeito do volume de amostra. Condições experimentais: Solução padrão de Zn(II) $200 \mu\text{g L}^{-1}$; volume de reagente/solvente: $200 \mu\text{L}$; concentração ditizona: $3,9 \mu\text{mol L}^{-1}$; volume de tampão: $100 \mu\text{L}$.

5.4.5. Estudo da concentração do reagente

A concentração do reagente cromogênico pode afetar a sensibilidade e consequentemente a linearidade do sistema proposto. Isso pode ocorrer se a concentração não atende à estequiometria da reação. Também, em excesso resulta em desperdícios e pode aumentar a magnitude da leitura do branco, podendo estreitar a faixa de resposta linear. Visando encontrar a concentração adequada, experimentos foram realizados usando as concentrações de 3,9; 7,8 e $19,5 \mu\text{mol L}^{-1}$ de ditizona. Os resultados da Figura 5.11, mostram que o aumento da concentração de ditizona, melhorou a sensibilidade. Deduz-se que houve ganho de 66% no sinal analítico, quando a concentração variou de 3,9 para $7,8 \mu\text{mol L}^{-1}$ e de 60 % quando

variou de 7,8 para 18,5 $\mu\text{mol L}^{-1}$. Observa-se o aumento na concentração da solução de ditizona, tem um efeito significativo no sinal do branco analítico, em vista disso, foi escolhida a concentração 7,8 $\mu\text{mol L}^{-1}$, para estudos posteriores.

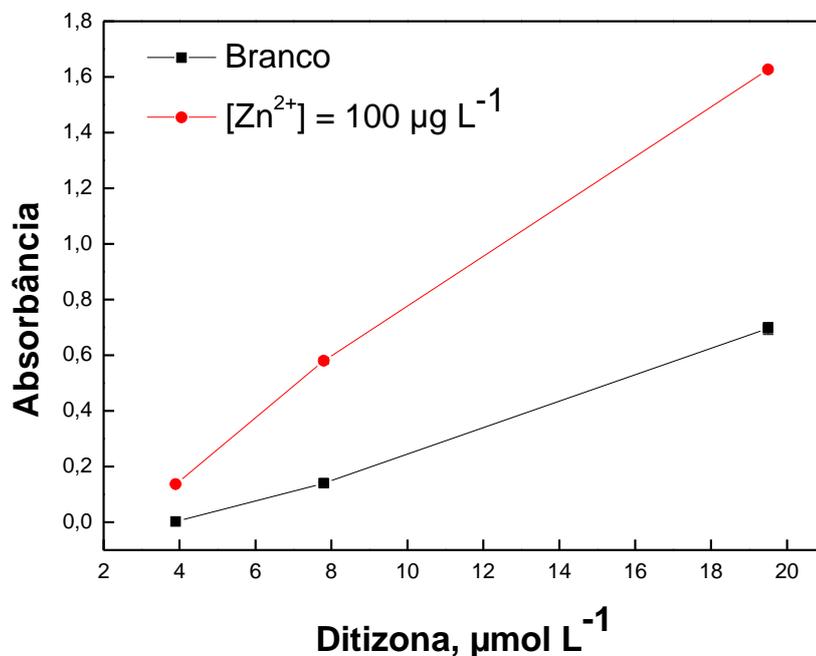


Figura 5.11 - Efeito da concentração de ditizona. (■) branco analítico; (●) Solução padrão de Zn(II) 100 $\mu\text{g L}^{-1}$; Condições experimentais:; volume de reagente/solvente: 200 μL ; volume de amostra: 2000 μL , volume de tampão: 100 μL .

5.4.6. Estudo dos potenciais interferentes

Os potenciais interferentes que podem formar complexos com ditizona em meio de clorofórmio [221] no pH = 9,5 são Sn(II), Co(II), Ni(II) e Pb(II), estes foram avaliados, na presença de 50 mg L^{-1} de zinco. Os experimentos foram realizados, usando soluções padrão de zinco, preparadas com duas concentrações (0,25 e 0,5 mg L^{-1}) do potencial interferente e os resultados são mostrados na Tabela 5.2.

Tabela 5.2 - Efeito dos potenciais interferentes na determinação de zinco.

Interferente mg L⁻¹	Adicionado Zn(II) mg L⁻¹	Sinal (Abs)
-	50	0,439 ± 0,004
Sn(II)	0,25	0,430 ± 0,007
	0,5	0,427 ± 0,006
Co(II)	0,25	0,446 ± 0,017
	0,5	0,463 ± 0,004
Ni(II)	0,25	0,438 ± 0,001
	0,5	0,453 ± 0,005
Pb(II)	0,25	0,420 ± 0,005
	0,5	0,430 ± 0,004

Os resultados são média de três medições consecutivas.

Para verificar se houve ou não interferência, foi utilizando o critério de variação de $\pm 5\%$ na absorvância, tomando como referência o sinal obtido com solução sem o interferente. Como mostra Tabela 5.2, não houve interferência significativa no procedimento proposto, além disso, as concentrações utilizadas são superiores as regulamentadas pela resolução CONAMA 357/2005.

Após a avaliação de todos os parâmetros necessários para otimização do sistema proposto, incluindo concentração dos reagentes, volumes da amostra, reagentes e solventes, uma curva analítica foi obtida com valores máximos de absorvância: $\text{Absorvância} = 0,0035C + 0,2185$ ($r = 0,9934$), onde C representa a concentração de zinco(II) em $\mu\text{g L}^{-1}$, a partir dessa curva foram obtidos parâmetros analíticos apresentados na Tabela 5.3.

Tabela 5.3 - Características analíticas obtida com os parâmetros otimizados para determinação de zinco.

Figuras de mérito	Valores estabelecidos
Faixa linear $\mu\text{g L}^{-1}$	10 - 100
Curva analítica	$A = 0,0035C + 0,2185$
Coefficiente de correlação linear R	0,9934
Limite de detecção $\mu\text{g L}^{-1}$	8,3
Desvio padrão relativo %DPR	3,3
Volume de efluente mL*	8,75
Frequência analítica Det h^{-1}	19
Consumo de reagente mg*	$4,0 \times 10^{-3}$
Consumo de solvente μL^*	200

*Valores encontrados por determinação.

5.4.7. Determinação de zinco em águas

Visando avaliar a praticidade do equipamento desenvolvido, associado ao procedimento analítico, um conjunto de amostras de águas de torneira foi analisado. Para verificar a exatidão do procedimento proposto, as amostras também foram analisadas utilizando como técnica de detecção espectrometria de emissão óptica com fonte de plasma acoplado indutivamente (ICP OES). Os resultados são mostrados na Tabela 5.4. Aplicado o teste- t pareado em nível de confiança de 95%, para 5 graus de liberdade foi encontrado para o procedimento proposto $t_{cal} = 1,07$, o valor de referência, $t_{crítico} = 2,57$, portanto, não há diferença significativa entre os métodos, visto que o valor de referência é maior que o calculado.

Tabela 5.4 - Comparação de resultados entre método proposto e o método de referência.

Amostras	Método proposto $\mu\text{g L}^{-1}$	Método de referência ICP OES $\mu\text{g L}^{-1}$
1	11,5 \pm 4,0	10,0 \pm 0,1
2	80,6 \pm 2,1	85,5 \pm 0,1
3	72,0 \pm 0,5	72,0 \pm 1,3
4	51,0 \pm 1,9	45,0 \pm 0,1
5	24,1 \pm 2,6	31,0 \pm 0,2
6	13,6 \pm 0,6	12,0 \pm 0,1

Os resultados são média de três medições consecutivas.

Para o procedimento proposto foram realizados também ensaios de recuperação. Os resultados são mostrados na Tabela 5.5, onde se observa que as recuperações obtidas estão na faixa de 94 a 125%, que é aceitável para concentrações desta ordem.

Tabela 5.5 - Efeito de recuperações em amostras de água mineral e torneira.

Adicionado $\mu\text{g L}^{-1}$	Encontrado $\mu\text{g L}^{-1}$			Recuperação %	
	0	30	80	30	80
Amostras					
1	-	37,2 \pm 1,5	87,3 \pm 1,7	124,1	109,1
2	-	30,8 \pm 0,5	83,5 \pm 1,6	102,6	104,3
3	-	31,1 \pm 0,5	85,5 \pm 0,8	103,6	106,8
4	-	33,4 \pm 0,4	81,7 \pm 0,9	111,4	102,2
5	-	32,1 \pm 1,5	86,8 \pm 1,8	107,1	108,6
6	9,3 \pm 1,0	45,9 \pm 0,4	94,2 \pm 3,0	122,2	106,2
7	54,5 \pm 1,0	84,4 \pm 0,1	136,5 \pm 3,1	99,6	102,6
8	34,0 \pm 1,2	62,5 \pm 1,1	116,5 \pm 2,3	94,9	103,1
9	-	36,8 \pm 1,0	83,9 \pm 0,6	122,8	104,9
10	-	33,7 \pm 0,3	81,4 \pm 0,8	112,3	101,8

1-5-Amostras de águas mineral, 6-10-torneira. Os resultados são média de três medições consecutivas.

A Tabela 5.6 apresenta comparação entre procedimentos que utilizaram extração líquido-líquido para a determinação de zinco. Nessa comparação, foi levada em consideração a forma como foi desenvolvido o procedimento analítico, tipo de solvente e o volume utilizado. Observa-se na Tabela 5.6, que o procedimento proposto se destaca como alternativa ambientalmente amigável, pois utilizou um volume solvente orgânico muito menor.

Tabela 5.6 - Comparação de procedimentos extração líquido-líquido para determinação de zinco.

Procedimento	Solvente orgânico	Volume solvente (mL)	Faixa linear ($\mu\text{g L}^{-1}$)	Freq. h^{-1}	Efluente mL det^{-1}	Ref.
MCFA	Clorofórmio	0,2	10-100	19	8,75	Proposto
FIA	Tetracloroeto	1,32	-	18	6,6	28
Batelada	Tetracloroeto	43,0	-	12	-	26
Batelada	Clorofórmio	25,0	-	-	-	27
Batelada	Tetracloroeto	100,0	-	-	-	233

5.5. Conclusão

Esta parte da tese envolveu a automatização de todas as etapas requeridas em extração líquido-líquido clássica, utilizou-se um pequeno volume de solvente orgânico (200 μL) por determinação. A reação da ditizona em clorofórmio ocorre de maneira relativamente lenta [177,178], então com a utilização de uma câmara de reação com uma haste para agitação, girando em alta velocidade (2000 rotações por minuto), foi possível contornar essa limitação da reação, reduzindo o tempo de reação/extração para 30 s. Comparado com os procedimentos em batelada, que demandam minutos para etapa de extração, o procedimento proposto torna-se uma alternativa viável para essa determinação. O procedimento é rápido, as reações ocorreram em um ambiente fechado, o que evita danos ao operador. O volume de solvente utilizado é pequeno, o que resultou em menor geração de resíduos tóxicos, o que torna o procedimento ambientalmente amigável, contribuindo com a química verde. Este pode ser aplicado na determinação de zinco em outros tipos de amostras de interesse ambiental e biológicas.

6. CONCLUSÕES FINAIS

Nesta Tese foram desenvolvidos três procedimentos analíticos em fluxo, compreendendo a determinação simultânea de sulfato e cloreto em coque de petróleo, determinação de molibdênio em plantas sem etapa de pré-concentração e um procedimento de microextração líquido-líquido em fluxo para determinação de zinco em águas.

Para o desenvolvimento dos procedimentos para determinação de cloreto e sulfato foi construída uma bomba de seringa empregando motor de corrente contínua e seringas de vidro 5 mL. A bomba apresentou desempenho adequado ao longo do tempo, portanto este tipo de dispositivo é uma alternativa viável para sistemas de análises em fluxo.

O motor de corrente contínua não permitia variar a vazão de bombeamento, então visando superar essa dificuldade, a bomba de seringa foi construída com motor de passo, permitindo escolher por software, sete vazões entre 0,4 e 26 mL min⁻¹. Esta bomba de seringa mostrou bom desempenho ao longo do tempo, apresentando também uma boa robustez mantendo sempre a vazão escolhida. Esta foi usada para o desenvolvimento dos demais procedimentos analíticos.

O procedimento para determinação simultânea de sulfato e cloreto apresentou faixa de resposta linear mais ampla que dos procedimentos analíticos existentes, incluindo baixa geração de resíduo. Portanto, atende aos requisitos da química limpa.

O emprego de uma cela de longo caminho óptico (200 mm) permitiu a determinação de molibdênio em plantas sem o uso de solvente orgânico. Este recurso é uma alternativa ao método clássico e pode ser considerado um método limpo de análises.

O foco do procedimento para determinação de zinco em águas envolveu a microextração líquido-líquido em fluxo. O emprego de uma haste motorizada, girando em alta rotação, para realizar a mistura das fases orgânica e aquosa, permitiu uma eficiente extração, usando reduzido volume (200 µL) de clorofórmio. A combinação desta estratégia de mistura com uma cela de fluxo com percurso óptico de 50 mm permitiu alcançar limite de detecção de 8,3 µg L⁻¹ de zinco.

Os procedimentos analíticos que compõe esta Tese foram automatizados empregando como propulsoras de fluido, bomba de seringa que foi desenvolvida como parte da pesquisa proposta para Tese. Os resultados mostram que este dispositivo oferece flexibilidade para ser usado em procedimentos analíticos baseados em multicomutação. Apresentou desempenho semelhante ao encontrado na literatura com bomba de seringa comercial. Além disso, merece destaque a robustez, o baixo custo e a possibilidade de ser construída em laboratório com poucos recursos de mecânica e de eletrônica.

REFERÊNCIAS

- ¹RUZICKA, 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.
- ²RUZICKA, J.; STEWART, J.W.B. Flow injection analysis. 2. Ultrafast determination of phosphorus in plant material by continuous-flow spectrophotometry, **Analytica Chimica Acta**, Amsterdam, v. 79, p. 79-91, 1975.
- ³STEWART, J.W.B.; RUZICKA, J.; FILHO, H.B.; ZAGATTO, E.A. Flow injection analysis .3. Comparison of continuous-flow spectrophotometry and potentiometry for rapid-determination of total nitrogen content in plant digests. **Analytica Chimica Acta**, Amsterdam, v. 81, n. 2, p. 371-386, 1976.
- ⁴CERDÀ, V.; FORTEZA, R. ESTELA, J.M. Potential of multisyringe flow-based multicommutated systems. **Analytica Chimica Acta**, Amsterdam, v. 600, p. 35-45, 2007.
- ⁵LAPA, 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, p. 125-132, 2002.
- ⁶REIS, B.F.; TUMANG, C.A.; GINÉ, M.F. Amostragem binária em sistema de análises química em fluxo empregando a força gravitacional para movimentar as soluções. Determinação espectrofotométrica de cloreto. **Química Nova**, São Paulo, v. 19, n. 2, p. 116-120, 1996.
- ⁷BERGAMIN, 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, 101, n. 1, p. 9-16, 1978.
- ⁸REIS, 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. 1-2, p. 129-138, 1994.
- ⁹REIS, B.F.; VIEIRA, J.A.; KRUG, F.J.; GINE, M.F. Development of a flow injection system with two analytical paths for ammonium determination in soil extracts by conductometry. **Journal of the Brazilian Chemical Society**, São Paulo, v. 8, n. 5, p. 523-528, 1997.
- ¹⁰ZAGATTO, E.A.G.; KRUG, F.J.; BERGAMIN, H.; JORGENSEN, S.S.; REIS, B.F. Merging zones in flow injection analysis .2. Determination of calcium, magnesium and potassium in plant material by continuous-flow injection atomic-absorption and flame emission spectrometry. **Analytica, Chimica Acta**, Amsterdam, v. 104, n. 2, p. 279-284, 1979.

-
- ¹¹ JACINTHO, A.O.; ZAGATTO, E.A.G.; BERGAMIN, H.; KRUG, F.J.; REIS, B.F.; BRUNS, R.E.; KOWALSKI, B.R. Flow-injection systems with inductively-coupled argon plasma atomic emission-spectrometry .1. Fundamental considerations. **Analytica Chimica Acta**, Amsterdam, v. 130, n. 2, p. 243-255
- ¹² PETROVA, A.V.; ISHIMATSU, R.; NAKANO, K.; IMATO, T.; VISHNIKIN, A.B.; MOSKVIN, L.N.; BULATOV, A.V. Flow-injection spectrophotometric determination of cysteine in biologically active dietary supplements. **Journal of Analytical Chemistry**, New York, v. 71, n. 2, p. 172-178, 2016.
- ¹³ BATISTA, A.D.; AMAIS, R.S.; ROCHA, F.R.P. Liquid-liquid microextraction in sequential injection analysis for the direct spectrophotometric determination of acid number in biodiesel. **Microchemical Journal**, Amsterdam, v. 124, p. 55-59, 2016.
- ¹⁴ TURK, S.C.; SATANA, E.; BASAN, H.; GOGER, N.G. Determination of ibuprofen and paraben in pharmaceutical formulations using flow-injection and derivative spectrophotometry. **Journal of Analytical Chemistry**, New York, v. 70, n. 1, p. 50-54, 2015.
- ¹⁵ HANSEN, E.H.; RUZICKA, J.; GHOSE, A.K. Flow injection analysis for calcium in serum, water and waste-waters by spectrophotometry and by ion-selective electrode. **Analytica Chimica Acta**, Amsterdam, v. 100, p. 151-165, 1978.
- ¹⁶ REIS, B.F.; GINÉ, M.F.; KRONKA, E.A.M. A análise química por injeção em fluxo contínuo. **Química Nova**, São Paulo, v. 12, n. 1, p. 82-91, 1989.
- ¹⁷ REIS, B.F.; JACINTHO, A.O.; MORTATTI, J.; KRUG, F.J.; ZAGATTO, E.A. G.; BERGAMIN, H.; PESSEDA, L.C.R. Zone-sampling processes in flow-injection analysis. **Analytica Chimica Acta**, Amsterdam, v. 123, p. 221-228, 1981.
- ¹⁸ REIS, B.F.; ARRUDA, M.A.Z.; ZAGATTO, E.A.G.; FERREIRA, J.R. An improved monosegmented continuous-flow system for sample introduction in flame atomic spectrometry. **Analytica Chimica Acta**, Amsterdam, v. 206, n. 1-2, p. 253-262, 1988.
- ¹⁹ TEIXEIRA, L.S.G.; ROCHA, F.R.P.; KORN, M.; REIS, B.F.; FERREIRA, S.L. C.; COSTA, A.C.S. Flow-injection solid-phase spectrophotometry for the determination of zinc in pharmaceutical preparations. **Analytica Chimica Acta**, Amsterdam, v.383, n. 3, p.309-315, 1999.
- ²⁰ MIRANDA, C.E.S.; REIS, B.F.; BACCAN, N.; PACKER, A.P.; GINE, M.F. Automated flow analysis system based on multicommutation for Cd, Ni and Pb on-line pre-concentration in a cationic exchange resin with determination by inductively coupled plasma atomic emission spectrometry. **Analytica Chimica Acta**, Amsterdam, v. 453, n. 2, p. 301-310, 2002.

-
- ²¹ FRIZZARIN, R.M.; ROCHA, F.R.P. A multi-pumping flow-based procedure with improved sensitivity for the spectrophotometric determination of acid-dissociable cyanide in natural waters. **Analytica Chimica Acta**, Amsterdam, v. 758, p. 108-113, 2013.
- ²² BERGAMIM 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.
- ²³ MALCOLMELAWES, D.J.; MILLIGAN, G.A.; NEWTON, R. A novel approach to non-segmented flow-analysis .1. An experimental system. **Journal of Automatic Chemistry**, London, v. 9, n. 4, p. 179-183, 1987.
- ²⁴ FARIA, L.C.; PASQUINI, C. Flow-injection determination of inorganic forms of nitrogen by gas diffusion and conductimetry, **Analytica Chimica Acta**, Amsterdam, v. 245, p. 183-190, 1991.
- ²⁵ DOSREIS, B.F.; GINE, M.F.; KRUG, F.J.; FILHO, H.B. Multipurpose flow-injection system .1. Programmable dilutions and standard additions for plant digests analysis by inductively coupled plasma atomic emission-spectrometry. **Journal of Analytical Atomic Spectrometry**, London, v. 7, n. 6, p. 865-868, 1992.
- ²⁶ 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. 1-2, p. 129-138, 1994.
- ²⁷ 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**, New York, v. 39, n. 6, p. 631-650, 2006.
- ²⁸ ROCHA, F.R.P.; REIS, B.F.; ZAGATTO, E.A.G.; LIMA, J.L.F.C.; LAPA, R.A.S.; SANTOS, J.L.M. Multicommutation in flow analysis: concepts, applications and trends. **Analytica Chimica Acta**, Amsterdam, v. 468, n. 1, p. 119-131, 2002.
- ²⁹ REIS, B.F.; BERGAMIM FILHO, H. Evolução dos injetores empregados em sistemas de análise química por injeção em fluxo. **Química Nova**, São Paulo, v. 16, n. 6, p. 570-573, 1993.
- ³⁰ DIAS, T.R.; REIS, B.F. Development of a photometric procedure for tin determination in canned foods employing a multicommutated flow analysis approach. **Analytical Methods**, Cambridge, v. 8, n. 17, p. 3620-3628, 2016.
- ³¹ MIRANDA, J.C.; KAMOGAWA, M.Y.; REIS, B.F. Development of a portable setup and a multicommutated flow analysis procedure for the photometric determination of Fe(III) and Fe(II) in fresh water. **Sensors and Actuators B - Chemical**, Lausanne, v. 207, p. 811-818, 2015.

-
- ³² PEREIRA, A.C.; REIS, B.F.; ROCHA, F.R.P. An air carrier flow system for the spectrophotometric determination of water in biodiesel exploiting bleaching of the cobalt chloride complex. **Talanta**, Amsterdam, v. 131, p. 21-25, 2015.
- ³³ CRISPINO, C.C.; REIS, B.F. Development of an automatic photometric titration procedure to determine olive oil acidity employing a miniaturized multicommutated flow-batch setup. **Analytical Methods**, Cambridge, v. 6, n.1, p. 302-307, 2014.
- ³⁴ 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. **Analytst**, London, v. 124, n. 9, p. 1373-1381, 1999.
- ³⁵ CERDA, V.; FORTEZA, R.; ESTELA, J.M. Potential of multisyringe flow-based multicommutated systems. **Analytica Chimica Acta**, Amsterdam, v. 600, p. 35-45, 2007.
- ³⁶ DE ARMAS, G.; MIRO, M.; ESTELA, J.M.; CERDA, V. Multisyringe flow injection spectrofluorimetric determination of warfarin at trace levels with on-line solid-phase preconcentration. **Analytica Chimica Acta**, Amsterdam, v. 467, n. 1-2, p. 13-23, 2002.
- ³⁷ FERNANDEZ, M.; FORTEZA, R.; CERDA, V. Monolithic columns in flow analysis: a review of sic and msc techniques. **Instrumentation Science & Technology**, Monticello, v. 40, n. 2-3, p. 90-99, 2012.
- ³⁸ FERNANDEZ, M.; FORTEZA, R.; CERDA, V. Multisyringe chromatography (msc): an effective and low cost tool for water-soluble vitamin separation. **Analytical Letters**, New York, v. 45, n. 17, p. 2637-2647, 2012.
- ³⁹ ALBERTUS, F.; CLADERA, A.; BECERRA, E.; CERDA, V. A robust multi-syringe system for process flow analysis. Part 3. Time based injection applied to the spectrophotometric determination of nickel(II) and iron speciation. **Analytst**, London, v. 126, n. 6, p. 903-910, 2001.
- ⁴⁰ MAYA, F.; ESTELA, J.M.; CERDA, V. Completely automated in-syringe dispersive liquid-liquid microextraction using solvents lighter than water. **Analytical and Bioanalytical Chemistry**, Heidelberg, v. 402, n. 3, p. 1383-1388, 2012.
- ⁴¹ MAYA, F.; HORSTKOTTE, B.; ESTELA, J.M.; CERDA, V. Lab in a syringe: fully automated dispersive liquid-liquid microextraction with integrated spectrophotometric detection. **Analytical and Bioanalytical Chemistry**, Heidelberg, v. 404, n. 3, p. 909-917, 2012.
- ⁴² FRIZZARIN, R.M.; MAYA, F.; ESTELA, J.M.; CERDA, V. Fully-automated in-syringe dispersive liquid-liquid microextraction for the determination of caffeine in coffee beverages. **Food Chemistry**, Barking, v. 212, p. 759-767, 2016.

-
- ⁴³ FRIZZARIN, R.M.; PORTUGAL, L.A.; ESTELA, J.M.; ROCHA, F.R.P.; CERDA, V. On-line lab-in-syringe cloud point extraction for the spectrophotometric determination of antimony. **Talanta**, Amsterdam, v. 148, p. 694-699, 2016.
- ⁴⁴ MAYA, F.; CABELLO, C.P.; ESTELA, J.M.; CERDA, V.; PALOMINO, G.T. Automatic in-syringe dispersive microsolid phase extraction using magnetic-metal organic frameworks. **Analytical Chemistry**, Washington, DC, v. 87, n. 15, p. 7545-7549, 2015.
- ⁴⁵ GUZMAN-MAR, J. L.; HINOJOSA-REYES, L.; SERRA, A.M.; HERNANDEZ-RAMIREZ, A.; CERDA, V. Applicability of multisyringe chromatography coupled to cold-vapor atomic fluorescence spectrometry for mercury speciation analysis. **Analytica Chimica Acta**, Amsterdam, v. 708, n. 1-2, p. 11-18, 2011.
- ⁴⁶ CHAPARRO, L.L.; FERRER, L.; CERDA, V.; LEAL, L.O. Automated system for on-line determination of dimethylarsinic and inorganic arsenic by hydride generation-atomic fluorescence spectrometry. **Analytical and Bioanalytical Chemistry**, Heidelberg, v. 404, n. 5, p. 1589-1595, 2012.
- ⁴⁷ AVIVAR, J.; FERRER, L.; CASAS, M.; CERDA, V. Fully automated lab-on-valve-multisyringe flow injection analysis-ICP-MS system: an effective tool for fast, sensitive and selective determination of thorium and uranium at environmental levels exploiting solid phase extraction. **Journal of Analytical Atomic Spectrometry**, London, v. 27, n. 2, p. 327-334, 2012.
- ⁴⁸ SKOOG, D.A.; WEST, D.M.; HOLLER, F.J.; CROUCH, S.R. **Fundamentos de química analítica**. Tradução Marco Grassi; revisão técnica Célio Pasquini. 8. ed. São Paulo: Thomson Learning, 2007.
- ⁴⁹ 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, 1993.
- ⁵⁰ ARAÚJO, M.C.U.; SANTOS, S.R.B.; SILVA, E.A.; VÉRAS, G.; LIMA, J.L.F. C. LAPA, R.A.S. Um fotômetro de fluxo para análises clínicas a base de um diodo emissor de luz bicolor. **Química Nova**, São Paulo, v. 20, n. 2, p. 137-145, 1997.
- ⁵¹ TROJANOWICZ, M.; WORSFOLD, P.J.; CLINCH, J.R. Solid-state photometric detectors for flow-injection analysis. **Trac-Trends in Analytical Chemistry**, Amsterdam, v. 7, n. 8, p. 301-305, 1988.
- ⁵² BUI, D.A.; HAUSER, P.C. Analytical devices based on light-emitting diodes – a review of the state-of-the-art. **Analytica Chimica Acta**, Amsterdam, v. 853, p. 46–58, 2015.
- ⁵³ BETTERIDGE, D.; DAGLESS, E.L.; FIELDS, B.; GRAVES, N.F. Highly sensitive flow-through phototransducer for unsegmented continuous-flow analysis demonstrating high-speed spectrophotometry at parts per 10⁹ level and a new method of refractometric determinations. **Analyt**, London, v.103, n. 1230, p. 897-908, 1978.

-
- ⁵⁴ HENRIQUEZ, C.; HORSTKOTTE, B.; SOLICH, P.; CERDA, V. In-syringe magnetic-stirring-assisted liquid-liquid microextraction for the spectrophotometric determination of Cr(VI) in waters. **Analytical and Bioanalytical Chemistry**, Heidelberg, v. 405, n. 21, p. 6761-6769, 2013.
- ⁵⁵ HORSTKOTTE, B.; DUARTE, C.M.; CERDA, V. Chip-on-valve concept: an integrated platform for multisyringe flow injection analysis: application to nitrite and nitrate determination in seawater. **Analytical Letters**, New York, v. 46, n. 15, p. 2345-2358, 2013.
- ⁵⁶ VIEIRA, G.P.; CRISPINO, C.C.; PERDIGAO, S.R.W.; REIS, B.F. An environmentally friendly photometric procedure for ammonium determination in rainwater employing a multicommutation approach. **Analytical Methods**, Cambridge, v. 5, n. 2, p. 489-495, 2013.
- ⁵⁷ BORGES, S.S.; REIS, B.F. An environmental friendly procedure for photometric determination of hypochlorite in tap water employing a miniaturized multicommutated flow analysis setup. **Journal of Automated Methods & Management in Chemistry**, New York, ID. 463286, p. 1-6. 2011. <http://dx.doi.org/10.1155/2011/463286>.
- ⁵⁸ FIEDORUK, M.; COCOVI-SOLBERG, D.J.; TYMECKI, L.; KONCKI, R.; MIRO, M. Hybrid flow system integrating a miniaturized optoelectronic detector for on-line dynamic fractionation and fluorometric determination of bioaccessible orthophosphate in soils. **Talanta**, Amsterdam, v. 133, p. 59-65, 2015.
- ⁵⁹ POKRZYWNICKA, M.; COCOVI-SOLBERG, D.J.; MIRO, M.; CERDA, V.; KONCKI, R.; TYMECKI, L. Miniaturized optical chemosensor for flow-based assays. **Analytical and Bioanalytical Chemistry**, Heidelberg, v. 399, n. 3, p. 1381-1387, 2011.
- ⁶⁰ BOTEV, I. A new conception of Bouguer–Lambert–Beer’s law. **Fresenius Zeitschrift fur Analytische Chemie**, Berlin, v. 297, n. 5, p. 419-419, 1979.
- ⁶¹ 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.
- ⁶² CALLAHAN, M.R.; ROSE, J.B.; BYRNE, R.H. Long pathlength absorbance spectroscopy: trace copper analysis using a 4.4 m liquid core waveguide. **Talanta**, Amsterdam, v. 58, p. 891-898, 2002.
- ⁶³ WATERBURY, R.D.; YAO, W.S.; BYRNE, R.H. Long pathlength absorbance spectroscopy: trace analysis of Fe(II) using a 4.5 m liquid core waveguide. **Analytica Chimica Acta**, Amsterdam, v. 357, n. 1-2, p. 99-102, 1997.
- ⁶⁴ YAO, W.S.; BYRNE, R.H. Determination of trace chromium(VI) and molybdenum(VI) in natural and bottled mineral waters using long pathlength absorbance spectroscopy (LPAS). **Talanta**, Amsterdam, v. 48, n. 2, p. 277-282, 1999.

-
- ⁶⁵ WANG, T.S.; AIKEN, J.H.; HUIE, C.W.; HARTWICK, R.A. Nanoliter-scale multireflection cell for absorption detection in capillary electrophoresis. **Analytical Chemistry**, Washington, DC, v. 63, n. 14, p. 1372-1376, 1991.
- ⁶⁶ ELLIS, P.S.; LYDDY-MEANNEY, 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. 1-2, p. 81-89, 2003.
- ⁶⁷ COMITRE, A.L.D.; REIS, B.F. Liquid-liquid extraction procedure exploiting multicommutation in flow system for the determination of molybdenum in plants **Analytica Chimica Acta**, Amsterdam, v. 479, p. 185-190, 2003.
- ⁶⁸ PIRES, C.K.; REIS, B.F.; MORALES-RUBIO, A.; DE LA GUARDIA, M. Speciation of chromium in natural waters by micropumping multicommutated light emitting diode photometry. **Talanta**, Amsterdam, v. 72, n. 4, p. 1370-1377, 2007.
- ⁶⁹ DIAS, T.R.; BRASIL, M.A.S.; FERES, M.A.; REIS, B.F. A flow cell with a new design to improve the utilization of the radiation emitted by LED and employed as a radiation source for photometric detection. **Sensors and Actuators B-Chemical**, Lausanne, v. 198, p. 448-454, 2014.
- ⁷⁰ SPEIGHT, J.G. **Handbook of petroleum analysis**. Hoboken: John Willey, 2001. 461 p.
- ⁷¹ MARIA, L.C.S.; AMORIM, M.C.V.; AGUIAR, M.R.M.P.; SANTOS, Z.A.M.; CASTRO, P.S.C.B.G.; BALTHAZAR, R.G. Petróleo: um tema para ensino de química. **Química Nova na Escola**, São Paulo, n. 15, p. 19-23, 2002.
- ⁷² ZHOU, Z.J.; HU, Q.J.; LIU, X.; YU, G.S.; WANG, F.C. Effect of iron species and calcium hydroxide on high-sulfur petroleum coke CO₂ gasification. **Energy & Fuels**, Washington, DC, v. 26, n. 3, p. 1489-1495, 2012.
- ⁷³ SILVA, L.F.O.; OLIVEIRA, M.L.S.; SAMPAIO, C.H.; DE BRUM, I.A.S.; HOWER, J.C. Vanadium and nickel speciation in pulverized coal and petroleum coke co-combustion. **Energy & Fuels**, Washington, DC, v. 27, n. 3, p. 1194-1203, 2013.
- ⁷⁴ SILVA, L.; WARD, C.; HOWER, J.C.; IZQUIERDO, M.; WAANDERS, F.; OLIVEIRA, M.; LI, Z.; HATCH, R.; QUEROL, X. Mineralogy and leaching characteristics of coal ash from a major Brazilian power plant. **Coal Combustion Gasification Products**, Lexington, v. 2, p. 51-65, 2010.
- ⁷⁵ DUCHESNEA, M.A.; ILYUSHECHKIN, A.Y.; HUGHES, R.W.; LU, D.Y.; MCCALDEN D. J.; MACCHI, A.; ANTHONY, E.J. Flow behaviour of slags from coal and petroleum coke blends. **Fuel**, Amsterdam, v. 97, p. 321-328, 2012.

-
- ⁷⁶ MELLO, P.D.; GIESBRECHT, C.K.; ALENCAR, M.S.; MOREIRA, E.M.; PANIZ, J.N.G.; DRESSLER, V.L.; FLORES, E.M.M. Determination of Sulfur in Petroleum Coke Combining Closed Vessel Microwave-Induced Combustion and Inductively Coupled Plasma-Optical Emission Spectrometry. **Analytical Letters**, New York, v. 41, n. 9, p. 1623-1632, 2008.
- ⁷⁷ FERNANDEZ, B.; ALMANZA, J.M.; RODRIGUEZ, J.L.; CORTES, D.A.; ESCOBEDO, J.C.; GUTIERREZ, E.J. Corrosion mechanisms of $\text{Al}_2\text{O}_3/\text{MgAl}_2\text{O}_4$ by V_2O_5 , NiO, Fe_2O_3 and vanadium slag. **Ceramics International**, London, v. 37, n. 8, p. 2973-2979, 2011.
- ⁷⁸ CHEN, J.H.; LU, X.F. Progress of petroleum coke combusting in circulating fluidized bed boilers—A review and future perspectives. **Resources Conservation And Recycling**, Amsterdam, v. 49, n. 3, p. 203-216, 2007.
- ⁷⁹ ANTES, F.G.; DUARTE, F.A.; FLORES, E.L.M.; PANIZ, J.N.G.; FLORES, E.M.M.; DRESSLER, V.L. Preparo de amostras de combustíveis fósseis por piroidrólise para a determinação de flúor e cloro. **Química Nova**, São Paulo, v. 33, n. 5, p. 1130-1134, 2010.
- ⁸⁰ MELLO, P.D.; PEREIRA, J.S.F.; DE MORAES, D.P.; DRESSLER, V.L.; FLORES, E.M.M.; KNAPP, G. Nickel, vanadium and sulfur determination by inductively coupled plasma optical emission spectrometry in crude oil distillation residues after microwave-induced combustion. **Journal of Analytical Atomic Spectrometry**, London, v. 24, n. 7, p. 911-916, 2009.
- ⁸¹ GAZULLA, M.F.; RODRIGO, M.; VICENTE, S.; ORDUNA, M. Methodology for the determination of minor and trace elements in petroleum cokes by wavelength-dispersive X-ray fluorescence (WD-XRF). **X-Ray Spectrometry**, London, v. 39, n. 5, p. 321-327, 2010.
- ⁸² PEREIRA, J.S.F.; DIEHL, L.O.; DUARTE, F.A.; SANTOS, M.F.P.; GUIMARAES, R.C.L.; DRESSLER, V.L.; FLORES, E.M.M. Chloride determination by ion chromatography in petroleum coke after digestion by microwave-induced combustion. **Journal of Chromatography A**, Amsterdam, v. 1213, n. 2, p. 249-252, 2008.
- ⁸³ PEREIRA, J.S.F.; MELLO, P.A.; MORAES, D.P.; DUARTE, F.A.; DRESSLER, V.L.; KNAPP, G.; FLORES, E.M.M. Chlorine and sulfur determination in extra-heavy crude oil by inductively coupled plasma optical emission spectrometry after microwave-induced combustion. **Spectrochimica Acta Part B-Atomic Spectroscopy**, London, v. 64, n. 6, p. 554-558, 2009.
- ⁸⁴ DEL RIO, V.; LARRECHI, M.S.; CALLAO, M.P. Determination of sulphate in water and biodiesel samples by a sequential injection analysis-Multivariate curve resolution method. **Analytica Chimica Acta**, Amsterdam, v. 676, n. 1-2, p. 28-33.

-
- ⁸⁵ MELCHERT, W.R.; ROCHA, F.R.P. An improved procedure for flow-based turbidimetric sulphate determination based on a liquid core waveguide and pulsed flows, **Analytica Chimica Acta**, Amsterdam, v. 61, n. 1, p. 56-62, 2008.
- ⁸⁶ MARCZENKO, Z. **Separation and spectrophotometric determination of elements**. New York: Ellis Horwood, 1986. 678 p.
- ⁸⁷ CRNKOVIC, P.M.; JACINTHO, A.O. Emprego de reagente em suspensão em sistema de injeção em fluxo. Determinação espectrofotométrica de sulfato em águas naturais. **Química Nova**, São Paulo, v. 25, n. 2, p. 254-258, 2002.
- ⁸⁸ GOMES, T.F.; SASAKI, M.K.; SILVA, C.R.; ZAGATTO, E.A.G. Spectrophotometric flow-injection determination of sulfate in rainwater. **Analytical Methods**, Cambridge, v. 6, n. 13, p. 4889-4894, 2014.
- ⁸⁹ ALMEIDA, J.S.; SOARES, V.R.B.; ANDRADE, C.J.; SILVA, J.D.S.; DANTAS, A.F.; ROCHA, G.O.; TEIXEIRA, L.S.G. Determinação espectrofotométrica de sulfato em álcool etílico combustível empregando dibromosulfonazo III. **Química Nova**, São Paulo, v. 36, n. 6, p. 880-884, 2013.
- ⁹⁰ OLIVEIRA, F.S.; KORN, M. Spectrophotometric determination of sulphate in automotive fuel ethanol by sequential injection analysis using dimethylsulphonazo(III) reaction, **Talanta**, Amsterdam, v. 68, p. 992-999, 2006.
- ⁹¹ SKOOG, D.A. **Fundamentos de química analítica**. Tradução por M. T. Grassi; revisão técnica C. Pasquini. 8. ed. São Paulo: Thomson Learning, 2007. 999 p.
- ⁹² KRUG, F.J.; FILHO, B.; ZAGATTO, E.A.G.; JORGENSEN, S.S. Rapid-determination of sulfate in natural-waters and plant digests by continuous-flow injection turbidimetry. **Analyst**, London, v. 102, n. 1216, p. 503-508, 1977.
- ⁹³ MORAIS, I.P.A.; TÓTH, I.V.; RANGEL, A.O.S.S. Turbidimetric and nephelometric flow analysis: concepts and applications. **Spectroscopy Letters**, New York, v. 39, p. 547-579, 2006.
- ⁹⁴ ZÁRATE, N.; PÉREZ-OLMOSA, R.; REIS, B.F. Turbidimetric determination of sulfate in rainwater employing a led based photometer and multicommutated flow analysis system with in-line preconcentration. **Journal of the Brazilian Chemical Society**, São Paulo, v. 22, n. 6, p. 1009-1014, 2011.
- ⁹⁵ AYALA, A.; LEAL, L.O.; FERRER, L.; CERDA, V. Multiparametric automated system for sulfate, nitrite and nitrate monitoring in drinking water and wastewater based on sequential injection analysis. **Microchemical Journal**, Amsterdam, v. 100, p. 55-60, 2012.
- ⁹⁶ FUNG, Y.S.; WONG, C.C.W.; CHOY, J.T.S.; SZE, K.L. Determination of sulphate in water by flow-injection analysis with electrode-separated piezoelectric quartz crystal sensor. **Sensors And Actuators B-Chemical**, Lausanne, v. 130, n. 1, p. 551-560, 2008.

-
- ⁹⁷ VIEIRA, J.A.; REIS, B.F.; KRONKA, E.A.M.; PAIM, A.P.S.; GINÉ, M.F. Multicomutation in flow analysis. Part 6. Binary sampling for wide concentration range turbidimetric determination of sulphate in plant digest. **Analytica Chimica Acta**, Amsterdam, v. 366, p. 251-255, 1998.
- ⁹⁸ ZHI, Z- L.; RÍUS, A.; VALCÁRCEL, M. Determination of soluble sulphate in soils by use of a filtration probe coupled with a flow injection system. **Química Analítica**, Madrid, v. 13, p. 121-125, 1994.
- ⁹⁹ VIEIRA, J.A.; RAIMUNDO, I.M.; REIS, B.F. Turbidimetric determination of sulphate employing gravity flow-based systems. **Analytica Chimica Acta**, Amsterdam, v. 438, n. 1-2, p. 75-81, 2001.
- ¹⁰⁰ SILVA, H.R.; SEGUNDO, M.A.; RANGEL, A.O.S.S. Use of a mixing chamber for sample preparation and multiple collection in sequential injection analysis: Determination of sulfate in wines, **Journal of the Brazilian Chemical Society**, São Paulo, v. 14, n. 1, p. 59-64, 2003.
- ¹⁰¹ ASTM. **Annual Book of ASTM Standards**: ASTM standard D 5016-03. Standard test method for sulphur in ash from coal, coke, and residues from coal combustion using high-temperature tube furnace combustion method with infrared absorption. West Conshohocken, PA, 2003.
- ¹⁰² ROCHA, D.L.; ROCHA, F.R.P. An environmentally friendly flow-based procedure with photo-induced oxidation for the spectrophotometric determination of chloride in urine and waters. **Microchemical Journal**, Amsterdam, v. 108, p. 193-197, 2013.
- ¹⁰³ DA SILVA, I.S.; RICHTER, E.M.; DO LAGO, C.L.; GUTZ, I.G.R.; TANAKA, A.A.; ANGNES, L. FIA-potentiometry in the sub-Nernstian response region for rapid and direct chloride assays in milk and in coconut water. **Talanta**, Amsterdam, v. 67, n. 3, p. 651-657, 2005.
- ¹⁰⁴ MAYA, F.; ESTELA, J.M.; CERDA, V. Spectrophotometric determination of chloride in waters using a multisyringe flow injection system. **Talanta**, Amsterdam, v. 74, n. 5, p. 1534-1538, 2008.
- ¹⁰⁵ RUZICKA, J.; STEWART, J.W.B.; ZAGATTO, E.A. 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.
- ¹⁰⁶ VAN STADEN, J.F.; TLOWANA, S.I. Spectrophotometric determination of chloride in mineral and drinking waters using sequential injection analysis. **Fresenius Journal of Analytical Chemistry**, Berlin, v. 371, n. 3, p. 396-399, 2001.
- ¹⁰⁷ BONIFACIO, V.G.; FIGUEIREDO-FILHO, L.C.; MARCOLINO, L.H.; FATIBELLO-FILHO, O. An improved flow system for chloride determination in natural waters exploiting solid-phase reactor and long pathlength spectrophotometry. **Talanta**, Amsterdam, v. 72, n. 2, p. 663-667, 2007.

-
- ¹⁰⁸ MAYA, F.; ESTELA, J.M.; CERDA, V. Multisyringe flow injection analysis hyphenated with liquid core waveguides for the development of cleaner spectroscopic analytical methods: improved determination of chloride in waters. **Analytical and Bioanalytical Chemistry**, Heidelberg, v. 394, n. 6, p. 1577-1583, 2009.
- ¹⁰⁹ HAUSER, P.C.; TAN, S.S.; CARDWELL, T.J.; CATTRALL, R.W.; HAMILTON, I.C. Versatile manifold for the simultaneous determination of ions in flow-injection analysis. **Analyst**, London, v. 113, n. 10, p. 1551-1555, 1988.
- ¹¹⁰ KRUG, F.J.; PESSEDA, L.C.R.; ZAGATTO, E.A.G.; JACINTHO, A.O.; REIS, B.F. Spectrophotometric flow injection determination of chloride in ethanol. **Analytica Chimica Acta**, Amsterdam, v. 130, p. 409-413, 1981.
- ¹¹¹ ANTES, F.G.; SANTOS, M.F.P.; GUIMARÃES, R.C.L.; PANIZ, J.N.G.; FLORES, E.M.M.; DRESSLER, V.L. Heavy crude oil sample preparation by pyrohydrolysis for further chlorine determination. **Analytical Methods**, Cambridge, v. 3, p. 288-293, 2011.
- ¹¹² ANTES, F.G.; DULLIUS, E.; BEN DA COSTA, A.; MOLZ, R.F.; PANIZ, J.N.G.; FLORES, E.M.M.; DRESSLER, V.L. Development of a vaporization system for direct determination of chlorine in petroleum coke by ICP-MS. **Microchemical Journal**, Amsterdam, v. 109, p. 117-121, 2013.
- ¹¹³ 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.
- ¹¹⁴ RUZICKA, J.; STEWART, J.W.B. Flow injection analysis .2. Ultrafast determination of phosphorus in plant material by continuous-flow spectrophotometry. **Analytica Chimica Acta**, Amsterdam, v. 79, p. 79-91, 1975.
- ¹¹⁵ STEWART, J.W.B.; RUZICKA, J.; FILHO, H.B. Flow injection analysis .3. Comparison of continuous-flow spectrophotometry and potentiometry for rapid-determination of total nitrogen content in plant digests. **Analytica Chimica Acta**, Amsterdam, v. 81, n. 2, p. 371-386, 1976.
- ¹¹⁶ RUZICKA, J.; STEWART, J.W.B.; ZAGATTO, E.A. 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.
- ¹¹⁷ STEWART, J.W.B.; RUZICKA, J. Flow injection analysis .5. Simultaneous determination of nitrogen and phosphorus in acid digests of plant material with a single spectrophotometer. **Analytica Chimica Acta**, Amsterdam v. 82, n. 1, p. 137-144, 1976.

-
- ¹¹⁸ HANSEN, E.H.; RUZICKA, J. Flow injection analysis .6. Determination of phosphate and chloride in blood-serum by dialysis and sample dilution. **Analytica Chimica Acta**, Amsterdam, v. 87, n. 2, p. 353-363, 1976.
- ¹¹⁹ RUZICKA, J.; HANSEN, E.H.; ZAGATTO, E.A. Flow injection analysis .7. Use of ion-selective electrodes for rapid analysis of soil extracts and blood-serum - determination of potassium, sodium and nitrate. **Analytica Chimica Acta**, Amsterdam, v. 88, n. 1, p. 1-16, 1977.
- ¹²⁰ HANSEN, E.H.; RUZICKA, J.; RIETZ, B. Flow injection analysis .8. Determination of glucose in blood-serum with glucose dehydrogenase. **Analytica Chimica Acta**, Amsterdam, v. 89, n. 2, p. 241-254, 1977.
- ¹²¹ RUZICKA, J.; HANSEN, E.H.; MOSBAEK, H. Flow injection analysis .9. New approach to continuous-flow titrations. **Analytica Chimica Acta**, Amsterdam, v. 92, p. 235-249, 1977.
- ¹²² RUZICKA, J.; HANSEN, E.H. Flow injection analysis .10. Theory, techniques and trends. **Analytica Chimica Acta**, Amsterdam, v. 99, n. 1, p. 37-76, 1978.
- ¹²³ GINE, M.F.; BERGAMIN, H.; ZAGATTO, E.A.G.; REIS, B.F. Simultaneous determination of nitrate and nitrite by flow-injection analysis. **Analytica Chimica Acta**, Amsterdam, v. 114, p. 191-197, 1980.
- ¹²⁴ REIS, B.F.; ZAGATTO, E.A.G. JACINTHO, A.O.; KRUG, F.J.; BERGAMIN F, H. Merging zones in flow injection analysis. Part 4. Simultaneous spectrophotometric determination of total nitrogen and phosphorus in plant material. **Analytica Chimica Acta**, Amsterdam, v. 119, p. 305-311, 1980.
- ¹²⁵ ZAGATTO, E.A.G.; JACINTHO, A.O.; PESSENDA, L.C.R.; KRUG, F.J.; REIS, B.F.; BERGAMIN, H. Merging zones in flow-injection analysis .5. Simultaneous determination of aluminum and iron in plant digests by a zone-sampling approach. **Analytica Chimica Acta**, Amsterdam, v. 125, p. 37-43, 1981.
- ¹²⁶ ROCHA, F.R.P.; MARTELLI, P.B.; REIS, B.F. Simultaneous in-line concentration for spectrophotometric determination of cations and anions. **Journal of the Brazilian Chemical Society**, São Paulo, v. 15, n. 1, p. 38-42, 2004.
- ¹²⁷ ROCHA, F. R. P.; REIS, B. F. A flow system exploiting multicommutation for speciation of inorganic nitrogen in waters. **Analytica Chimica Acta**, Amsterdam, v. 409, p. 227-235, 2000.
- ¹²⁸ ROCHA, F.R.P.; MARTELLI, P.B.; REIS, B.F. An improved flow system for spectrophotometric determination of anions exploiting multicommutation and multidetection. **Analytica Chimica Acta**, Amsterdam, v. 438, n. 1-2, p. 11-19, 2001.
- ¹²⁹ PIRES, C.K.; REIS, B.F.; MORALES-RUBIO, A.; DE LA GUARDIA, M. Speciation of chromium in natural waters by micropumping multicommutated light emitting diode photometry. **Talanta**, Amsterdam, v. 72, n. 4, p. 1370-1377, 2007.

-
- ¹³⁰ CARNEIRO, J.M.T.; DIAS, A.C.B.; ZAGATTO, E.A.G.; SANTOS, J.L.M.; LIMA, J.L.F.C. An improved sampling approach in multi-pumping flow systems applied to the spectrophotometric determination of glucose and fructose in syrups. **Analytica Chimica Acta**, Amsterdam, v. 531, n. 2, p. 279-284, 2004.
- ¹³¹ RUZICKA, J.; MARSHALL, G.D. Sequential injection - a new concept for chemical sensors, process analysis and laboratory assays. **Analytica Chimica Acta**, Amsterdam, v. 237, n. 2, p. 329-343, 1990.
- ¹³² MIRANDA, J.L.A.; MESQUITA, R.B.R.; NUNES, A.; RANGEL, M.; RANGEL, A.O.S.S. Iron speciation in natural waters by sequential injection analysis with a hexadentate 3-hydroxy-4-pyridinone chelator as chromogenic agent. **Talanta**, Amsterdam, v. 148, p. 633-640, 2016.
- ¹³³ CASES, M.V.; CASTRO, M.D.L. Simultaneous determination in flow injection analysis – A Review. **Analyst**, London, v. 109, p. 413-419, 1984.
- ¹³⁴ ZALL, D.M.; FISHER, D.; GARNER, M.Q. Photometric determination of chlorides in water. **Analytical Chemistry**, Washington, DC, v. 28, n. 11, p. 1665-1668, 1956.
- ¹³⁵ KRUG, F.J.; ZAGATTO, E.A.G.; REIS, B.F.; BAHIA, O; JACINTHO, A.O.; JORGENSEN, S.S. Turbidimetric determination of sulfate in plant digests and natural-waters by flow-injection analysis with alternating streams. **Analytica Chimica Acta**, Amsterdam, v. 145, p. 179-187, 1983.
- ¹³⁶ REIS, B.F.; JACINTHO, A.O.; MORTATTI, J.; KRUG, F.J.; ZAGATTO, E.A.G.; BERGAMIN, H.; PESSEDA, L.C.R. Zone-sampling processes in flow-injection analysis. **Analytica Chimica Acta**, Amsterdam, v. 123, p. 221-228, 1981.
- ¹³⁷ SANTOS, F.G.; REIS, B.F. Development of a new version of an automatic commutator injector and a procedure for the photometric determination of ethanol in distilled spirits. **Journal of the Brazilian Chemical Society**, São Paulo, v. 24, n. 6, p. 983-990, 2013.
- ¹³⁸ BRIENZA, S.M.B.; SARTINI, R.P.; NETO, J.A.G.; ZAGATTO, E.A.G. Crystal seeding in flow-injection turbidimetry - determination of total sulfur in plants. **Analytica Chimica Acta**, Amsterdam, v. 308, n. 1-3, p. 269-274, 1995.
- ¹³⁹ MORAIS, I.P.A.; SOUTO, M.R.S.; LOPES, T.I.M.S.; RANGEL, A.O.S.S. Use of a single air segment to minimise dispersion and improve mixing in sequential injection: turbidimetric determination of sulphate in waters. **Water Research**, Oxford, v. 37, n. 17, p. 4243-4249, 2003.
- ¹⁴⁰ ROCHA, F.R. P.; MARTELLI, P.B.; REIS, B.F. An improved flow system for spectrophotometric determination of anions exploiting multicommutation and multidetection. **Analytica Chimica Acta**, Amsterdam, v. 438, n. 1-2, p. 11-19, 2001.

-
- ¹⁴¹ GELAIN, E.; ROSA JUNIOR, E.J.; MERCANTE, F.M.; FORTES, D.G.; SOUZA, F.R.; ROSA, Y.B.C.J.; Fixação biológica de nitrogênio e teores foliares de nutrientes na soja em função de doses de molibdênio e gesso agrícola. **Ciência e Agrotecnologia**, Lavras, v. 35, n. 2, p. 259-269, 2011.
- ¹⁴² ANKE, M.; SEIFERT, M. The biological and toxicological importance of molybdenum in the environment and in the nutrition of plants, animals and man - Part 1: Molybdenum in plants. **Acta Biologica Hungarica**, Budapest, v. 58, n. 3, p. 311-324, 2007.
- ¹⁴³ ANKE, M.; SEIFERT, M.; ARNHOLD, W.; ANKE, S.; SCHÄFER, U.; The biological and toxicological importance of molybdenum in the environment and in the nutrition of plants, animals and man - part v: essentiality and toxicity of molybdenum. **Acta Biologica Hungarica**, Budapest, v. 39, n. 1, p. 12-26, 2010.
- ¹⁴⁴ REZAEI, M.; MOZAFFARI, M.; HADDADI, H.; POURJAVID, M.R.; SEMNANI, A. Extraction and separation of molybdenum by using homogeneous liquid-liquid microextraction via flotation assistance. **Journal of the Brazilian Chemical Society**, São Paulo, v. 26, n. 5, p. 880-886, 2015.
- ¹⁴⁵ MALAVOLTA, E. **Elementos de nutrição mineral de plantas**. Piracicaba: Agronômica Ceres, 1980. 251 p.
- ¹⁴⁶ MALAVOLTA, E.; VITTI, G.C.; OLIVEIRA, S.A. **Avaliação do estado nutricional das plantas, princípios e aplicações**. 2. ed. Piracicaba: Potatos, 1997. 319 p.
- ¹⁴⁷ PYRZYNSKA, K. Determination of molybdenum in environmental samples. **Analytica Chimica Acta**, Amsterdam, v. 590, p. 40-48, 2007.
- ¹⁴⁸ VOGEL, A.I. **Química analítica qualitativa**. Tradução Antonio Gimeno, Revisão G. Svehla. 5. ed. São Paulo: Mestre Jou, 1981. 665 p.
- ¹⁴⁹ MOLINADIAZ, A.; PASCUALREGUERA, M.I.; LINANVEGANZONES, E.; DECORDOVA, M.L.F.; CAPITANVALLVEY, L.F. First-derivative solid-phase spectrophotometric determination of molybdenum at the ng ml⁻¹ level. **Talanta**, Amsterdam, v. 43, n. 2, p. 185-191, 1996.
- ¹⁵⁰ NUKATSUKA, I.; NISHIMURA, A.; OHZEKI, K. Determination of molybdenum in sea water by solid-phase spectrophotometry. **Analytica Chimica Acta**, Amsterdam, v. 304, p. 243-247, 1995.
- ¹⁵¹ KOSTOVA, D. Triphenyltetrazolium chloride as a new analytical reagent for molybdenum(VI): Application to plant analysis. **Journal of Analytical Chemistry**, New York, v. 66, n. 4, p. 384-388, 2011.

-
- ¹⁵² GHIASVAND, A.R.; SHADABI, S.; MOHAGHEGHZADEH, E.; HASHEMI, P. Homogeneous liquid-liquid extraction method for the selective separation and preconcentration of ultra trace molybdenum. **Talanta**, Amsterdam, v. 66, n. 4, p. 912-916. 2005.
- ¹⁵³ OVIEDO, J.A.; FIALHO, L.L.; NOBREGA, J.A. Determination of molybdenum in plants by vortex-assisted emulsification solidified floating organic drop microextraction and flame atomic absorption spectrometry. **Spectrochimica Acta Part B-Atomic Spectroscopy**, London, v. 86, p. 142-145, 2013.
- ¹⁵⁴ BARROS, J.A.; AGUIRRE, M.A.; KOVACHEV, N.; CANAL, S.A.; NÓBREGA, J.A. Vortex-assisted dispersive liquid-liquid microextraction for the determination of molybdenum in plants by inductively coupled plasma optical emission spectrometry. **Analytical Methods**, Cambridge, v. 8, p. 810-815, 2016.
- ¹⁵⁵ BELLATO, A.C.S.; GERVASIO, A.P.G.; GINE, M.F. Cloud-point extraction of molybdenum in plants and determination by isotope dilution inductively coupled plasma mass spectrometry. **Journal of Analytical Atomic Spectrometry**, London, v. 20, n. 6, p. 535-537, 2005.
- ¹⁵⁶ BASAK, A.C.; GHOSH, K.C.; PAUL, A.R.; BHATTACHARJEE, S.; PANDEY, P. A review on thiocyanate methods for the estimation of molybdenum by molecular absorption spectroscopy. **Talanta**, Amsterdam, v. 42, n. 4, p. 497-506, 1995.
- ¹⁵⁷ ONISHI, H. **Photometric determination of traces of metals**. Part IIB: Individual metals, magnesium to zirconium. 4. ed. New York: Wiley, 1989. 821 p.
- ¹⁵⁸ BERGAMIM 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.
- ¹⁵⁹ PEREIRA, A.C.; ROCHA, F.R.P. Liquid-liquid microextraction in a multicommutated flow system for direct spectrophotometric determination of iodine value in biodiesel. **Analytica Chimica Acta**, Amsterdam, v. 829, p.28-32, 2014.
- ¹⁶⁰ KARLBERG, B.O.; Thelander, S. Extraction Based on Flow-Injection Principle.1. Description of Extraction System, **Analytica Chimica Acta**, Amsterdam, v. 98, n. 1, p. 1-7, 1978.
- ¹⁶¹ TUNÇELI, A.; TURKER, A.R. Solid-phase extraction and spectrophotometric determination of molybdenum(VI) in soil and plant samples as a Mo(V)-thiocyanate complex. **Microchimica Acta**, Wien, v. 144, n. 1-3, p. 69-74, 2004.
- ¹⁶² SOYLAK, M.; SAHIN, U.; ELÇI, L. Spectrophotometric determination of molybdenum in steel samples utilizing selective sorbent extraction on Amberlite XAD-8 resin. **Analytica Chimica Acta**, Amsterdam, v. 322, p. 111-115, 1996.

-
- ¹⁶³ OLIVEIRA, S.R.; GOMES NETO, J.A.; NÓBREGA, J.A.; JONES, B.T. Determination of macro- and micronutrients in plant leaves by high-resolution continuum source flame atomic absorption spectrometry combining instrumental and sample preparation strategies. **Spectrochimica Acta Part B-Atomic Spectroscopy**, London, v. 65, n. 4, p. 316-320, 2010.
- ¹⁶⁴ CROUTHAMEL, C.E.; JOHNSON, C.E. Thiocyanate spectrophotometric determination of molybdenum and tungsten. **Analytical Chemistry**, Washington, DC, v. 26, n. 8, p. 1284-1291, 1954.
- ¹⁶⁵ KRUG, F.J.; BAHIA FRANCISCO, O.; ZAGATTO, E.A.G. Determination of molybdenum in steels by flow-injection spectrophotometry. **Analytical Chimica Acta**, Amsterdam, v. 161, p. 245-255, 1984.
- ¹⁶⁶ SILVA, F.C. **Manual de análises químicas de solos, plantas e fertilizantes**. 2. ed. Brasília, DF: Embrapa Informação Tecnológica, 2009. 627 p.
- ¹⁶⁷ PEREIRA, C.C.; SOUZA, A.O.; ORESTE, E.Q.; CIDADE, M.J.A. CADORE, S.; RIBEIRO, A.S.; VIEIRA, M.A. Acid decomposition of yerba mate (*ilex paraguariensis*) using a reflux system for the evaluation of Al, Ca, Cd, Cr, Cu, Fe, K, Mg, Mn, Na, Pb and Zn contents by atomic spectrometric techniques. **Journal of the Brazilian Chemical Society**, São Paulo, v. 27, n. 4, p. 685-693, 2016.
- ¹⁶⁸ HASSAN, J.; ZARI, N.; TABAR-HEYDAR, K. Determination of rare earth elements in environmental samples by solid phase extraction ICP OES. **Journal of Analytical Chemistry**, New York, v. 71, n. 4, p. 365-371, 2016.
- ¹⁶⁹ PEREIRA, J.B.; DANTAS, K.G.F. Evaluation of inorganic elements in cat's claw teas using ICP OES and GF AAS. **Food Chemistry**, Barking, v. 196, p. 331-337, 2016.
- ¹⁷⁰ SIEGEL, H. (Ed.). **Metal Ions in biological systems, biological action of metal ions**. New York: Wiley, 1976. v. 6.
- ¹⁷¹ RASTEGARZADEH, S.; REZAEI, V. An optical sensor for zinc determination based on Zincon as sensing reagent. **Sensors and Actuators B-Chemical**, Lausanne, v. 129, n. 1, p. 327-331, 2008.
- ¹⁷² YANGA, T.; QIN, W.; LIU, W. Study on the new fluorescence enhancement system of Zn-bis-(trimethylolaminomethane)-4-*tert*-butyl-disalicylimine in the presence of β -cyclodextrin and its analytical application. **Talanta**, Amsterdam, v. 62, p. 451-456, 2004.
- ¹⁷³ TABRIZI, A.B. Cloud point extraction and spectrofluorimetric determination of aluminium and zinc in foodstuffs and water samples. **Food Chemistry**, Barking, v. 100, p. 1698-1703, 2007.

-
- ¹⁷⁴ FALCHUK, K.H.; MONTORZI, M. Zinc physiology and biochemistry in oocytes and embryos. **BioMetals**, Amsterdam, v. 14, p. 385–395, 2001.
- ¹⁷⁵ ESCUDERO, L.A.; MARTINEZ, L.D.; SALONIA, J.A.; GASQUEZ, J.A. Determination of Zn(II) in natural waters by ICP-OES with on-line preconcentration using a simple solid phase extraction system. **Microchemical Journal**, Amsterdam, v. 95, n. 2, p. 164-168, 2010.
- ¹⁷⁶ UPADHYAY, A.; SINGH, A.K.; BANDI, K.R.; JAIN, A.K. Selective determination of Zn²⁺ ion in various environmental, biological and medicinal plant samples using a novel coated graphite electrode, **Electroanalysis**, Weinheim, v.25, n. 11, p. 2453-2462, 2013.
- ¹⁷⁷ MARCZENKO, Z. **Separation and spectrophotometric determination of elements**. New York: Ellis Horwood, 1986. 678 p.
- ¹⁷⁸ ONISHI, Hiroshi. **Photometric determination of traces of metals**. Part IIB: Individual metals, magnesium to zirconium. 4. ed. New York: Wiley, 1989. 821 p.
- ¹⁷⁹ CONSELHO NACIONAL DO MEIO AMBIENTE – CONAMA. Resolução nº 375/05. **Diário Oficial da União**, Brasília, DF, n. 053, de 18 mar. 2005. p. 58-63. Disponível em: <http://www.mma.gov.br/port/conama/res/res05/res35705.pdf>. Acesso em: 2 jun. 2016.
- ¹⁸⁰ SANTOS, I.C.; MESQUITA, R.B.R.; RANGEL, A.O.S.S. Micro solid phase spectrophotometry in a sequential injection lab-on-valve platform for cadmium, zinc, and copper determination in freshwaters. **Analytica Chimica Acta**, Amsterdam, v. 891, p. 171-178, 2015.
- ¹⁸¹ PASCOA, R.N.M.J.; TOTH, I.V.; RANGEL, A.O.S.S. Spectrophotometric determination of zinc and copper in a multi-syringe flow injection analysis system using a liquid waveguide capillary cell: Application to natural waters. **Talanta**, Amsterdam, v. 84, n. 5, p. 1267-1272, 2011.
- ¹⁸² 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. 2-3, p. 173-178, 1996.
- ¹⁸³ DIAS, T.R.; REIS, B.F. A LED based photometer for solid phase photometry: zinc determination in pharmaceutical preparation employing a multicommutated flow analysis approach. **Journal of the Brazilian Chemical Society**, São Paulo, v. 23, n. p. 1515-1522, 2012.
- ¹⁸⁴ TEIXEIRA, L.S.G.; ROCHA, F.R.P.; KORN, M.; REIS, B.F.; FERREIRA, S.L.C.; COSTA, A.C.S.; Flow-injection solid-phase spectrophotometry for the determination of zinc in pharmaceutical preparations. **Analytica Chimica Acta**, Amsterdam, v, 383, p. 309-315, 1990.

-
- ¹⁸⁵ AMIN, A.S. Utility of solid-phase spectrophotometry to determine trace amounts of zinc in environmental and biological samples. **Analytical Biochemistry**, San Diego, v. 418, n. 2, p.172-179, 2011.
- ¹⁸⁶ SACMACI, S.; KARTAL, S.; SACMACI, M. Selective back-extraction and preconcentration of zinc(II) from metal-1,3,5-triketone extracts prior to its determination by flame atomic absorption spectrometry. **International Journal of Environmental Analytical Chemistry**, Oxon, v. 92, n. 14, p.1626-1637, 2012.
- ¹⁸⁷ WEI, L.; ZHANG, X.S.; DAI, Y.C.; HUANG, J.; XIE, Y.H.; XIAO, K. Online preconcentration and determination of trace amounts of zinc in nature waters. **Journal of Automated Methods & Management in Chemistry**, New York, v. 2008, ID 742319, p. 1-5, 2008.
- ¹⁸⁸ SENER, S.; TOKALIOGLU, S.; OZENTURK, I.; SOYKAN, C. Preconcentration/separation of some trace metal ions from water samples by a new synthesized chelating resin. **Journal of AOAC International**, Gaithersburg, v. 97, n. 2, p. 598-604, 2014.
- ¹⁸⁹ TRUJILLO, I.S.; ALONSO, E.V.; DE TORRES, A.G.; PAVON, J.M.C. Development of a solid phase extraction method for the multielement determination of trace metals in natural waters including sea-water by FI-ICP-MS. **Microchemical Journal**, Amsterdam, v. 101, p. 87-94, 2012.
- ¹⁹⁰ SERT, R.; HOL, A.; KARTAL, A.A.; AKDOGAN, A.; ELCI, A.; BAIG, J.A.; DIVRIKLI, U.; ELCI, L. Simultaneous solid phase chelate extraction for ultratrace determination of copper, nickel, and zinc by microsample injection system coupled flame atomic absorption spectrometry. **Analytical Letters**, New York, v. 46, n. 16, p. 2570-2582, 2013.
- ¹⁹¹ POURREZA, N.; NAGHDI, T. Combined cloud point-solid phase extraction by dispersion of TiO₂ nanoparticles in micellar media followed by semi microvolume UV-vis spectrophotometric detection of zinc. **Talanta**, Amsterdam, v. 128, p. 164-169, 2014.
- ¹⁹² GHAEDI, M.; SHOKROLLAHI, A.; NIKNAM, K.; NIKNAM, E.; DERKI, S.; SOYLAK, M. A Cloud point extraction procedure for preconcentration/flame atomic absorption spectrometric determination of silver, zinc, and lead at subtrace levels in environmental samples. **Journal of AOAC International**, Gaithersburg, v. 92, n. 3, p. 907-913, 2009.
- ¹⁹³ AFKHAMI, A.; BAHRAM, M. Cloud point extraction simultaneous spectrophotometric determination of Zn(II), Co(II) and Ni(II) in water and urine samples by 1-(2-pyridylazo)2-naphthol using partial least squares regression. **Microchimica Acta**, Wien, v. 155, n.3-4, p. 403-408, 2006.
- ¹⁹⁴ CHEN, J.R.; TEO, K.C. Determination of cadmium, copper, lead and zinc in water samples by flame atomic absorption spectrometry after cloud point extraction. **Analytica Chimica Acta**, Amsterdam, v. 450, n. 1-2, p. 215-222, 2001.

¹⁹⁵ ZEEB, M.; SADEGHI, M. Modified ionic liquid cold-induced aggregation dispersive liquid-liquid microextraction followed by atomic absorption spectrometry for trace determination of zinc in water and food samples.

Microchimica Acta, Wien, v. 175, n. 1-2, p. 159-165, 2011.

¹⁹⁶ ABKENAR, S.D.; DAHAGHIN, Z.; SADEGHI, H.B.; HOSSEINI, M.; SALAVATI-NIASARI, M. Determination of zinc in water samples by flame atomic absorption spectrometry after homogeneous liquid-liquid extraction. **Journal of Analytical Chemistry**, New York, USA, v. 66, n. 6, p. 612-617, 2011.

¹⁹⁷ ABDOLMOHAMMAD-ZADEH, H.; SADEGHI, G.H. A novel microextraction technique based on 1-hexylpyridinium hexafluorophosphate ionic liquid for the preconcentration of zinc in water and milk samples. **Analytica Chimica Acta**, Amsterdam, v. 649, n. 2, p. 211-217, 2009.

¹⁹⁸ SHIBUKAWA, M.; SHIROTA, D.; SAITO, S.; NAGASAWA, S.; SAITOH, K.; MINAMISAWA, H. Simple spectrophotometric determination of trace amounts of zinc in environmental water samples using aqueous biphasic extraction, **Bunseki Kagaku**, Tokyo, v. 59, n. 10, p. 847-854, 2010.

¹⁹⁹ COWLING, H.; MILLER, E.J. Determination of small amounts of zinc in plant materials - A photometric dithizone method. **Industrial and Engineering Chemistry-Analytical**, Washington, DC, v. 13, n. 3, p. 145-149, 1941.

²⁰⁰ CHOLAK, J.; HUBBARD, D.M.; BURKEY, R.E. Determination of zinc in biological material. Photometric and polarographic methods following extraction with di-beta-naphthylthiocarbazone. **Industrial and Engineering Chemistry-Analytical**, Washington, DC, v. 15, n. 12, p. 754-759, 1943.

²⁰¹ ROMBERG, B.; MULLER, H. Photometric screening-test for heavy metals under flow injection conditions using extractive determination with dithizone. **Analytica Chimica Acta**, Amsterdam, v. 353, p. 165-172, 1997.

²⁰² 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. 2-3, p. 173-178, 1996.

²⁰³ KOUPPARIS, M.A.; ANAGNOSTOPOULOU, P.I. Automated flow-injection spectrophotometric determination of zinc using zincon - applications to analysis of waters, alloys and insulin formulations. **Analyst**, London, v. 111, n. 11, p. 1311-1315, 1986.

²⁰⁴ PASCOA, R.N.M.J.; TOTH, I.V.; RANGEL, A.O.S.S. Spectrophotometric determination of zinc and copper in a multi-syringe flow injection analysis system using a liquid waveguide capillary cell: Application to natural waters. **Talanta**, Amsterdam, v. 84, n. 5, p. 1267-1272, 2011.

-
- ²⁰⁵ SANTOS, I.C.; MESQUITA, R.B.R.; RANGEL, A.O.S.S. Micro solid phase spectrophotometry in a sequential injection lab-on-valve platform for cadmium, zinc, and copper determination in freshwaters. **Analytica Chimica Acta**, Amsterdam, v. 891, p. 171-178, 2015.
- ²⁰⁶ HORSTKOTTE, B.; JAROSOVA, P.; CHOCHOLOUS, P.; SKLENAROVA, H.; SOLICH, P. Sequential Injection Chromatography with post-column reaction/derivatization for the determination of transition metal cations in natural water samples. **Talanta**, Amsterdam, v. 136, p. 75-83, 2015.
- ²⁰⁷ RIBEIRO, M.F.T.; DIAS, A.C.B.; SANTOS, J.L.M.; LIMA, J.L.F.C.; ZAGATTO, E.A.G. Fluidized beds in flow analysis: use with ion-exchange separation for spectrophotometric determination of zinc in plant digests. **Analytical and Bioanalytical Chemistry**, Heidelberg, v. 384, n. 4, p. 1019-1024, 2006.
- ²⁰⁸ VAN STADEN, J.K.F.; TSANWANI, M. Determination of zinc in pharmaceutical products by use of a sequential injection analysis system. **Fresenius Journal of Analytical Chemistry**, Berlin, v. 371, n. 3, p. 376-379, 2001.
- ²⁰⁹ LIU, R.M.; LIU, D.J.; SUN, A.L. Application of ion-exchange-resin phase spectrophotometry to flow-injection analysis system .1. Determination of trace zinc in hair of children. **Talanta**, Amsterdam, v. 40, n. 3, p. 381-384, 1993.
- ²¹⁰ DE JESUS, D.S.; CASELLA, R.J.; FERREIRA, S.L.C.; COSTA, A.C.S.; DE CARVALHO, M.S.; SANTELLI, R.E. Polyurethane foam as a sorbent for continuous flow analysis: Preconcentration and spectrophotometric determination of zinc in biological materials. **Analytica Chimica Acta**, Amsterdam, v. 366, n. 1-3, p. 263-269, 1998.
- ²¹¹ AYORA-CANADA, M.J.; PASCUAL-REGUERA, M.I.; MOLINA-DIAZ, A. Continuous flow-through solid phase spectrophotometric determination of trace amounts of zinc. **Analytica Chimica Acta**, Amsterdam, v. 375, n.1-2, p. 71-80, 1998.
- ²¹² TEIXEIRA, L.S.G.; ROCHA, F.R.P.; KORN, M.; REIS, B.F.; FERREIRA, S.L.C.; COSTA, A.C.S. Flow-injection solid-phase spectrophotometry for the determination of zinc in pharmaceutical preparations. **Analytica Chimica Acta**, Amsterdam, v. 383, n. 3, p. 309-315, 1999.
- ²¹³ AMIN, A.S. Utilization of solid phase spectrophotometry for determination of trace amounts of beryllium in natural water. **Analytica Chimica Acta**, Amsterdam, v. 437, p. 265-272, 2001.
- ²¹⁴ 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.

-
- ²¹⁵ PEREIRA, A.C.; ROCHA, F.R.P. Liquid-liquid microextraction in a multicommutated flow system for direct spectrophotometric determination of iodine value in biodiesel. **Analytica Chimica Acta**, Amsterdam, v. 829, p. 28-32
- ²¹⁶ COMITRE, A.L.D.; REIS, B.F. Automatic flow procedure based on multicommutation exploiting liquid-liquid extraction for spectrophotometric lead determination in plant material. **Talanta**, Amsterdam, v. 65, n. 4, p. 846-852, 2005.
- ²¹⁷ SILVA, C.R.; GOMES, T.F.; BARROS, V.A.F.; ZAGATTO, E.A.G. A multi-purpose flow manifold for the spectrophotometric determination of sulphide, sulphite and ethanol involving gas diffusion: Application to wine and molasses analysis. **Talanta**, Amsterdam, v. 113, p. 118-122, 2013.
- ²¹⁸ SILVA, C.R.; HENRIQUEZ, C.; FRIZZARIN, R.M.; ZAGATTO, E.A.G.; CERDA, V. A critical comparison of constant and pulsed flow systems exploiting gas diffusion. **Talanta**, Amsterdam, v.148, p. 596-601, 2016.
- ²¹⁹ JARDIM, I.C.S.F. Extração em fase sólida: fundamentos teóricos e novas estratégias para preparação de fases sólidas. **Scientia Chromatographica**, São Paulo, v. 2, n. 1, p. 13-25, 2010.
- ²²⁰ HAGE, D.S.; CARR, J.D. **Química analítica e a análise quantitativa**. Tradução Midori Yamamoto; revisão técnica Edison Wendler. 1. ed. São Paulo: Person Prentice Hall, 2012. 705 p.
- ²²¹ VOGEL, A.I. **Análise química quantitativa**. Tradução Júlio Carlos Afonso, Paula Fernandes de Aguiar, Ricardo Bicca de Alencastro. 6. ed. Rio de Janeiro: LTC, 2013. 488 p.
- ²²² BATISTA, A.D.; ROCHA, F.R.P. A green flow-injection procedure for fluorimetric determination of bisphenol A in tap waters based on the inclusion complex with beta-cyclodextrin. **International Journal Of Environmental Analytical Chemistry**, Oxon, v. 93, n. 13, p. 1402-1412, 2013.
- ²²³ MIRANDA, J.C.; KAMOGAWA, M.Y.; REIS, B.F. Development of a portable setup and a multicommutated flow analysis procedure for the photometric determination of Fe(III) and Fe(II) in fresh water. **Sensors and Actuators B-Chemical**, Lausanne, v. 207, p. 811-818, 2015.
- ²²⁴ BERGAMIN, 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, n. 1, p. 9-16, 1978.
- ²²⁵ KARLBERG, B.I.; THELANDER, S. Extraction by flow-injection analysis. **Abstracts of Papers of the American Chemical Society**, Washington, DC, v. 176, p. 86-86, 1978.

-
- ²²⁶ PEREIRA, A.C.; ROCHA, F.R.P. A multicommuted flow system with liquid-liquid microextraction for determination of anionic surfactants in freshwaters. **Analytical Methods**, Cambridge, v. 5, n. 8, p. 2104-2109, 2013.
- ²²⁷ LIU, H.H.; DASGUPTA, P.K. A liquid drop: What is it good for? **Microchemical Journal**, Amsterdam, v. 57, n. 2, p. 127-136, 1996.
- ²²⁸ SANCHEZ, M.A.; ROCHA, F.R.P. Liquid-liquid microextraction without phase separation in a multicommuted flow system for diltiazem determination in pharmaceuticals. **Analytica Chimica Acta**, Amsterdam, v. 694, n. 1-2, p. 95-99, 2011.
- ²²⁹ PEREIRA, A.C; ROCHA, F.R.P. Liquid-liquid microextraction in a multicommuted flow system for direct spectrophotometric determination of iodine value in biodiesel. **Analytica Chimica Acta**, Amsterdam, v. 829, p. 28-32, 2014.
- ²³⁰ LENARDAO, E.J.; FREITAG, R.A.; DABDOUB, M.J.; BATISTA, A.C.F.; SILVEIRA, C.D. Green chemistry - The 12 principles of green chemistry and it insertion in the teach and research activities. **Química Nova**, São Paulo, v. 26, n. 1, p. 123-129, 2003.
- ²³¹ 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.
- ²³² PARADKAR, R.P.; WIIIIAMS, R.R. Micellar colorimetric determination of dithizone metal chelates. **Analytical Chemistry**, Washington, DC, v. 66, n. 17, p. 2752-2756, 1994.
- ²³³ HOWARD, J.M. Determination of zinc additives in lubricating oil by a dithizone spectrophotometric method. **Analytical Chemistry**, Washington, DC, v. 37, n. 4, p. 596-597.