

UNIVERSIDADE DE SÃO PAULO

INSTITUTO DE QUÍMICA

**CARACTERIZAÇÃO ESTRUTURAL DO COMPLEXO
Cu(II)/DPKBH E DESENVOLVIMENTO/APLICAÇÃO
DE MÉTODO ESPECTROFOTOMÉTRICO EM FLUXO,
EMPREGANDO MULTICOMUTAÇÃO E AMOSTRAGEM
BINÁRIA, PARA DETERMINAÇÃO DE
Cu(II), Fe(II) E Fe(III)**

SÍLVIO MIRANDA PRADA

TESE DE DOUTORADO

**PROFA. DRA. MARIA ENCARNACIÓN VÁZQUEZ SUÁREZ IHA
ORIENTADORA**

SÃO PAULO

22/02/2001

DEDALUS - Acervo - CQ



30100004042

Ficha Catalográfica

Elaborada pela Divisão de Biblioteca e
Documentação do Conjunto das Químicas da USP.

Prada, Sílvio Miranda

P896c Caracterização estrutural do complexo Cu(II)/DPKBH e desenvolvimento / aplicação de método espectrofotométrico em fluxo, empregando multicomutação e amostragem binária, para determinação de Cu(II), Fe(II) e Fe(III) / Sílvio Miranda Prada. -- São Paulo, 2001.
292p.

Tese (doutorado) – Instituto de Química da Universidade de São Paulo. Departamento de Química Fundamental.

Orientador: Suárez Iha, Maria Encarnación Vázquez

1. Espectrofotometria 2. Análise por injeção em fluxo :
Química I. T. II. Suárez Iha, Maria Encarnación Vázquez,
orientador.

543.0852 CDD

"Caracterização Estrutural do Complexo Cu(II)/DPKBH e Desenvolvimento/Aplicação de Método Espectrofotométrico em Fluxo, Empregando Multicomutação e Amostragem Binária, para Determinação de Cu(II), Fe(II) e Fe(III)"

SILVIO MIRANDA PRADA

Tese de Doutorado submetida ao Instituto de Química da Universidade de São Paulo como parte dos requisitos necessários à obtenção do grau de Doutor em Ciências - Área: Química Analítica.

Aprovado por:

Profa. Dra. MARIA ENCARNACIÓN VAZQUEZ SUÁREZ IHA
IQ - USP
(Orientadora e Presidente)

Prof. Dr. CLAUDIMIR LUCIO DO LAGO
IQ - USP

Prof. Dr. FRANCISCO JOSÉ KRUG
CENA - USP

Prof. Dr. JOAQUIM DE ARAUJO NÓBREGA
UFSCar

Profa. Dra. SOLANE CADORE
IQ - UNICAMP

SÃO PAULO
22 DE FEVEREIRO DE 2001.

*A minha mãe Maria Aparecida,
pessoa batalhadora e espelho de vida,
dedico este trabalho, por todo seu amor,
carinho, apoio incansável e dedicação.*

*À Profa. Dra. Maria Encarnación V. Suárez Iba,
todo o meu reconhecimento e gratidão pela
orientação, contribuição em minha
formação profissional e amizade.*

AGRADECIMENTOS

Ao Prof. Boaventura Freire dos Reis pela oportunidade de realizar o estágio no CENA-USP, e por me orientar na etapa de adaptação do método de condições estacionárias para injeção em fluxo, empregando multicomutação e amostragem binária.

Aos Profs. Ivano Gutz, Lúcio Angnes e Claudimir L. Lago por permitir o uso da oficina, para construção das peças em acrílico e demais materiais.

Ao Prof. Claudimir e à Maria Carolina pelo auxílio na obtenção e interpretação dos dados da espectrometria de massas com ionização por electrospray.

Ao Prof. Jivaldo Matos pelas análises térmicas e ajuda na interpretação das mesmas.

À Profa. Elisabeth de Oliveira por permitir o uso de seu laboratório na etapa de solubilização das amostras de sedimento, bem como pelo uso do ICP-OES.

À Karem pela grande amizade e por todo o aprendizado na etapa de coleta das amostras de água e sedimento e, também, durante o processo de solubilização das amostras e leitura no ICP-OES.

Ao Fábio R. P. Rocha pela acolhida em sua casa durante o meu estágio em Piracicaba, e inestimável ajuda na elaboração do programa do sistema de multicomutação e descrição do fotômetro a base de LED.

À Hilda pela amizade e inestimável apoio e incentivo durante todos estes anos de USP.

Aos grandes amigos dos tempos de graduação Leandro, Luiza, Patrícia e Ana Paula, por todos estes anos de luta, apoio e incentivo mútuo, e pelos alegres momentos de convivência.

À Luciane e Felipe pela amizade, apoio e incentivo.

A todos os colegas que passaram pelo LABEQ durante todos estes anos, pelo companheirismo e incentivos diários.

Aos Pós-Graduandos, Pós-doutorandos e estagiários do laboratório do Prof. Boaventura, pela agradável acolhida durante o meu breve estágio em Piracicaba.

A todos os Professores, Pós-Graduandos, Estagiários e Funcionários do Instituto de Química da USP que, direta ou indiretamente, contribuíram para a realização deste Trabalho.

Ao CNPq, FAPESP e CAPES pelo auxílio financeiro.

SUMÁRIO

LISTA DE FIGURAS.....	vii
LISTA DE TABELAS.....	xvii
RESUMO	xxi
ABSTRACT	xxiii
I - INTRODUÇÃO.....	01
II – ÍONS COBRE.....	07
II.1 – Aspectos Gerais.....	09
II.2 – Métodos de Determinação.....	14
III – ÍONS FERRO.....	23
III.1 – Aspectos Gerais.....	25
III.2 – Métodos de Determinação.....	27
IV – O RESERVATÓRIO GUARAPIRANGA.....	33
V – PARTE EXPERIMENTAL.....	47
V.1 – Reagentes e Soluções.....	49
V.1.1 – Preparação do Ligante DPKBH e Síntese do Complexo Cu(II)/DPKBH	50
V.2 – Instrumentação e Acessórios.....	53
V.2.1 – Sistema de Análise em fluxo.....	54
V.2.1.1 – Detector Fotométrico Empregando LED Como Fonte de Radiação	56

VI.2.1.2 – Descrição do Programa de Execução	59
VI.2.1.3 – Diagrama de Fluxos do Módulo de Análise	61
VI.2.2 – Coleta e Pré-Tratamento das Amostras de Água e Sedimento.....	63
VI - RESULTADOS E DISCUSSÃO	69
VI.1 – Estequiometria e Caracterização Estrutural do Complexo Cu(II)/DPKBH	71
VI.1.1 – Espectrometria no Infravermelho.....	71
VI.1.2 – Espectrometria de massas	76
VI.1.3 - Estudo Termoanalítico do Ligante DPKBH e do Complexo Cu(II)/DPKBH	88
VI.1.4 – Análise Elementar	94
VI.1.5 – Conclusão.....	96
VI.2 - Desenvolvimento de Metodologia Analítica para Determinação Espectrofotométrica de Cu(II)	98
VI.2.1 - Características Espectrais do Complexo Cu(DPKBH) ₂	98
VI.2.2 - Otimização dos Parâmetros Analíticos	99
VI.2.2.1 - Influência do Valor de pH na Formação do Complexo Cu(DPKBH) ₂	100
VI.2.2.2 - Efeito da Percentagem de Etanol	103
VI.2.2.3 - Estudo da Razão Ligante/Metal	104
VI.2.2.4 - Ordem de Adição dos Reagentes	107
VI.2.3 - Curva Analítica do Sistema Cu(II)/DPKBH	110

VI.2.3.1 - Limite de Determinação (Quantificação).....	112
VI.2.4 - Estudo de Interferentes.....	112
VI.2.5 - Determinação de Cu(II) em Amostras de Aguardente.....	117
VI.3 - Adaptação do Método Espectrofotométrico Cu(II)/DPKBH de Condições Estáticas para Injeção em Fluxo	127
VI.3.1 - Determinação dos Parâmetros Instrumentais de Dispersão	142
VI.3.1.1 - Diâmetro Interno dos Tubos e Vazão.....	142
VI.3.1.2 - Volume de Amostra Injetado	145
VI.3.1.3 - Bobina de Mistura	146
VI.3.1.4 - Bobina de Reação	149
VI.3.1.5 - Determinação do Coeficiente de Dispersão	151
VI.3.1.6 - Curva Analítica do Sistema de Análise em Fluxo Cu(II)/DPKBH	152
VI.4 – Desenvolvimento de Métodos para Determinação de Fe(II) e Fe(III)	158
VI.4.1 – Características Espectrais e Otimização dos Parâmetros Analíticos	158
VI.4.1.1 – Ordem de Adição dos Reagentes	161
VI.4.1.2 – Estabilidade dos complexos Fe(III)/DPKBH e Fe(II)/DPKBH	164
VI.4.1.3 – Razão Ligante/Metal	167

VI.4.2 – Curvas Analíticas dos Sistemas Fe(II)/DPKBH, Fe(III)/DPKBH e Cu(II)/DPKBH de soluções puras	169
VI.4.2.1 – Curva Analítica do Sistema Fe(II)/DPKBH	170
VI.4.2.2 – Curva Analítica do Sistema Fe(III)/DPKBH	171
VI.4.2.3- Curva Analítica do Sistema Cu(II)/DPKBH	173
VI.4.3 – Faixas de Análise e Absortividades Molares dos Complexos Envolvidos	175
VI.5 – Estudo da Adição de Reagentes Mascarantes para Íons Cu(II) Fe(II) e Fe(III).....	176
VI.5.1 – Estudo da adição de Reagente Mascarante para Íons Cu(II) e redutor de Íons Fe(III) a Fe(II).....	176
VI.5.2 – Estudo da Adição de Reagente Mascarante para Íons Fe(II) e Fe(III).....	182
VI.5.2.1 – Influência da Concentração de Fluoreto e H ₂ O ₂ Frente a Íons Cu(II).....	185
VI.5.3 – Curvas Analíticas dos Sistemas Cu(II)/DPKBH, Fe(II)/DPKBH/FeTotal.....	187
VI.5.3.1 – Determinação de Íons Cu(II), Fe(II) e Fe(III) em Amostras Sintéticas.....	190
VI.6 – Adaptação dos Métodos Espectrofotométricos Cu(II)/Fe(II)/ Fe(III)/DPKBH de Condições Estacionárias para Injeção em Fluxo Empregando Multicomutação e Amostragem Binária	193

VI.6.1 – Estudo dos Parâmetros Analíticos.....	196
VI.6.2 – Curvas Analíticas dos Sistemas de Análise em Fluxo	204
VI.6.2.1 – Curva Analítica para o Sistema	
Fe(II)/DPKBH.....	205
VI.6.2.2 – Curva Analítica para o Sistema	
Cu(II)/DPKBH	207
VI.6.2.3 – Curva Analítica para o Sistema	
FeTotal/DPKBH	208
VI.6.3 – Determinação de Íons Cu(II), Fe(II) e Fe(III)	
em Amostras Sintéticas	212
VI.6.4 – Conclusões	212
VI.7 – Determinação de Cu(II), Fe(II) e Fe(III) em Amostras de	
Água e Sedimento do Reservatório de Guarapiranga.....	216
VII – CONSIDERAÇÕES FINAIS	227
VIII – PERSPECTIVAS FUTURAS.....	233
IX – GLOSSÁRIO.....	237
X – REFERÊNCIAS	241
APÊNDICE.....	259
CURRICULUM VITAE.....	275

LISTA DE FIGURAS

Figura 1 – Carta imagem de satélite da bacia do Guarapiranga.....	36
Figura 2 – Fotos de alguns gêneros de algas que podem causar problemas à saúde pública ou em estações de tratamento de água.....	43
Figura 3 – Quantidades de algicida sulfato de cobre aplicadas no Reservatório de Guarapiranga no período de 1988 a julho de 1998 (fonte SABESP)	44
Figura 4 – Foto da adição de algicidas no Reservatório de Guarapiranga.....	45
Figura 5 - Reação de preparação da di-2-piridil cetona benzoilhidrazona (DPKBH).....	51
Figura 6 – Cristais do complexo $Cu(II)/DPKBH$	52
Figura 7 – Diagrama de blocos do sistema de análise em fluxo para a determinação seqüencial de íons $Fe(II)$, $Cu(II)$ e $Fe(III)$ com DPKBH.....	55
Figura 8 - Espectro de emissão do LED vermelho empregado como fonte de radiação, no detector construído para a determinação de íons $Fe(II)$ e ferro total. Máximo de emissão em 660nm.....	57
Figura 9 – Circuito eletrônico do fotômetro empregado para medidas na região do visível (660 nm – LED vermelho).....	57
Figura 10 – Fluxograma do programa de controle e aquisição de dados.....	60

Figura 11 – Diagrama de fluxo para a determinação espectrofotométrica de Fe^{2+} , Fe total e Cu^{2+}	62
Figura 12 – Pontos de amostragem de água e sedimento no reservatório de Guarapiranga. Adaptado de Patella.....	64
Figura 13 – Ponto de captação de água da SABESP no Reservatório de Guarapiranga.....	66
Figura 14 – Foto da draga Petit Ponar, utilizada nas coletas de sedimento do Reservatório de Guarapiranga.....	66
Figura 15 - Equilíbrio tautomérico da molécula de DPKBH.....	72
Figura 16 - Espectro de infravermelho do complexo Cu(II)/DPKBH	73
Figura 17 - Espectro de infravermelho do DPKBH.	74
Figura 18 - Espectro de massas da di-2-piridil-cetona benzoilhidrazona (DPKBH) e suas principais fragmentações.	78
Figura 19 - Espectro de massas do complexo Cu(II)/DPKBH	79
Figura 20 – Formação de íons na fase gasosa por electrospray.....	82
Figura 21 – Espectro de massas do complexo Cu(II)/DPKBH	84
Figura 22 – Espectro de massas do complexo Fe(II)/DPKBH	85
Figura 23 – Espectro de massas do complexo Fe(III)/DPKBH	86
Figura 24 – Curvas TG e DTG do ligante DPKBH em atmosfera de ar.....	89
Figura 25 – Curva DSC do ligante DPKBH em atmosfera de N_2	90
Figura 26 – Curvas TG e DTG do complexo Cu(II)/DPKBH em atmosfera de ar.....	91

- Figura 27** – Curva DSC do complexo Cu(II)/DPKBH em atmosfera de N₂92
- Figura 28** – Estrutura do complexo Cu^{II}(C₁₈H₁₃N₄O)₂, obtida por difração de raios X.....97
- Figura 29** - Espectros de absorção: (a) DPKBH 25,1 μM vs. etanol/ água 50% (v/v); (b) complexo Cu(II)-DPKBH. Cu(II) = 14,8 μM; DPKBH = 103 μM (em meio de NH₄Ac).....99
- Figura 30** - Absorbância do complexo Cu(II)-DPKBH em função do tempo, para diferentes valores de pH.....102
- Figura 31** - Espectros de absorção do complexo Cu(DPKBH)₂, em pH = 7,2, variando-se a percentagem de etanol de 10% a 60% (v/v).....104
- Figura 32** - Absorbância do complexo Cu(DPKBH)₂ em função da percentagem de etanol.....105
- Figura 33** - Absorbância do complexo Cu(DPKBH)₂ em função da razão ligante/metál.....106
- Figura 34** - Absorbância do complexo Cu(DPKBH)₂ em função do tempo.....109
- Figura 35** - Curva analítica do sistema Cu(II)/DPKBH em 381 nm.....111
- Figura 36** - Espectros de absorção de: (a) amostra de aguardente A considerando o fator de diluição; (b) solução de DPKBH 503 μM e (c) complexo Cu(DPKBH)₂ para a amostra de aguardente A com a adição de padrão de Cu(II) de 17,50 μM.....120

- Figura 37** - Espectros de absorção do complexo $\text{Cu}(\text{DPKBH})_2$ para a amostra de aguardente A com a adição de padrão de $\text{Cu}(\text{II})$ de $17,50 \mu\text{M}$, após subtração do espectro da solução de DPKBH $503 \mu\text{M}$121
- Figura 38** - Curva analítica da aguardente A, com adição de padrões de $\text{Cu}(\text{II})$ de $10,10 \mu\text{M}$, $12,50 \mu\text{M}$, $17,50 \mu\text{M}$ e $20,20 \mu\text{M}$122
- Figura 39** - Curva analítica da aguardente D, com adição de padrões de $\text{Cu}(\text{II})$ de $10,10$; $12,50$; $17,50$ e $20,20 \mu\text{M}$124
- Figura 40** - Curvas analíticas das aguardentes A, B, C e D, com adição de padrão de $\text{Cu}(\text{II})$ $14,81$; $32,57$ e $63,67 \mu\text{M}$ obtidas via espectrometria de absorção atômica com chama.....125
- Figura 41** – Diagrama de fluxo proposto para a utilização no método espectrofotométrico $\text{Cu}(\text{II})/\text{DPKBH}$128
- Figura 42** - Diagrama obtido pela injeção de duas alíquotas de água desionizada (0 a 50 e de 450 a 500 segundos), três alíquotas de mistura água e etanol 50 % (v/v) (50 a 200 segundos (2) e 400 a 450 segundos (1)), e três alíquotas de solução padrão de $\text{Cu}(\text{II})$ $88 \mu\text{M}$ (200 a 400 segundos).....132
- Figura 43** - Reator construído em acrílico com confluências múltiplas na forma de "zigue-zague".....135
- Figura 44** - Esquema do sistema de análise por injeção em fluxo com pré-diluição da amostra aquosa com etanol absoluto na proporção de 50 % (v/v).....140

- Figura 45** - Valores de altura de pico (em absorbância) obtidos utilizando no canal do transportador-tampão e do percurso analítico, tubos de diâmetro interno de 0,55; 0,7; 0,8 e 1 mm, variando-se o fluxo do sistema até rotação máxima da bomba peristáltica (100 rpm).....144
- Figura 46** - Influência do volume de amostra de Cu(II) 60 μ M (em 50 % (v/v) de etanol) injetado, no sinal analítico do sistema de análise em fluxo.146
- Figura 47** - Avaliação do comprimento ideal de bobina de mistura do sistema de análise em fluxo Cu(II)/DPKBH.147
- Figura 48** - Esquema do sistema de injeção em fluxo proposto para a utilização no método espectrofotométrico Cu(II)/DPKBH, com canal adicional do tampão ácido succínico-succinato.....149
- Figura 49** - Avaliação do comprimento ideal da bobina de reação do sistema de análise em fluxo Cu(II)/DPKBH.....150
- Figura 50** - Diagrama obtido pela injeção de 7 soluções de referência aquo-etanólicas de Cu(II) e as injeções das amostras reais de aguardente A e B (em triplicata).....153
- Figura 51** - Curva analítica do sistema de análise por injeção em fluxo Cu(II)/DPKBH.....154
- Figura 52** - Curvas analíticas com adição de padrão de Cu(II), para as aguardentes A e B, obtidas por espectrometria de absorção atômica com chama.....156

- Figura 53** - Espectros de absorção de (a) íons Fe(II) 25,0 μ M e (b) Fe(III) 73,1 μ M em presença de solução tampão ácido succínico/succinato de potássio, etanol e água 50% (v/v), contra tampão, etanol e água159
- Figura 54** - Características espectrais dos complexos: (a) Complexo Fe(II)/DPKBH; (b) Complexo Fe(III)/DPKBH.....160
- Figura 55** – Espectros de absorção do complexo Fe(III)/DPKBH, com as seguintes ordens de adição: (1) e (2) Fe(III), tampão, etanol, água e DPKBH, com registro dos espectros após 1 e 20 minutos, respectivamente ; (3) Fe(III), DPKBH, etanol, água e tampão, após 1 minuto da mistura.....164
- Figura 56** – Absorbância do complexo Fe(III)/DPKBH em função do tempo, utilizando-se a ordem de adição Fe(III), DPKBH, etanol, água e tampão.....165
- Figura 57** - Absorbância do complexo Fe(II)/DPKBH em função do tempo, monitorada em 362 e 658 nm, utilizando-se a ordem de adição Fe(II), DPKBH, etanol, água e tampão.....166

- Figura 58** - Absorbância do complexo Fe(II)/DPKBH em função da razão ligante/metál, em 364 e 658 nm.....168
- Figura 59** - Absorbância do complexo Fe(III)/DPKBH em função da razão ligante/metál.....169
- Figura 60** - Curvas analíticas do sistema Fe(II)/DPKBH, em 364 nm e 658 nm. Caminho óptico de 1 cm.171
- Figura 61** - Curva Analítica do sistema Fe(III)/DPKBH. Caminho óptico de 1 cm.....172
- Figura 62** - Curva Analítica do sistema Cu(II)/DPKBH. Caminho óptico de 1 cm.....174
- Figura 63** – Espectros de absorção do complexo Cu(DPKBH)₂:
 (a) sem adição de A.As., e com a adição de A.As. em razões crescentes Cu(II):A.As. de: (b) 1:600; (c) 1:1200; (d) 1:2400 e (e) 1:5000.....177
- Figura 64** – Espectros de absorção do complexo Fe(II)/DPKBH:
 (a) solução preparada a partir de sal de Fe(II) 20,01 µM, sem a adição de A.As. e SCN⁻; (b) com a adição de A.As. 0,0375 mol/L e SCN⁻ 0,0375 mol/L; (c) solução preparada a partir de sal de Fe(III) 20,01 µM e a adição de A.As. e SCN⁻.....180
- Figura 65** – Espectros de absorção do complexo Cu(DPKBH)₂: (a) sem a adição de A.As. e tiouréia; (b) com a adição de A.As. e tiouréia nas razões C_{Cu(II)}:C_{tiouréia}:C_{A.As.} 1:500:1500.....181

- Figura 66** – Espectros de absorção do complexo Fe(III)/(DPKBH)₂:
(a) sem adição de F⁻, e com a adição de F⁻ em razões crescentes C_{Fe(III)}:C_{fluoreto} de: (b) 1:100; (c) 1:175; (d) 1:350 e (e) 1:400.....183
- Figura 67** – Espectros de absorção do complexo Fe(II)/DPKBH: (a) sem a adição de F⁻; (b) com a adição de F⁻ 1150 vezes a concentração de Fe(II) e (c) com a adição de H₂O₂ e F⁻ nas razões C_{Fe(II)}:C_{H₂O₂}:C_{F⁻} de 1:5:1150.....185
- Figura 68** – Espectros de absorção do complexo Cu(DPKBH)₂: (a) sem a adição de F⁻ e H₂O₂ e (b) com a adição de F⁻ e H₂O₂186
- Figura 69** – Curva analítica do sistema Cu(II)/DPKBH, com a adição de fluoreto 0,0313 mol/L e H₂O₂ 140 μM. C. óptico de 1 cm.....188
- Figura 70** – Curvas analíticas do sistema Fe(II)/DPKBH/FeTotal em 364 nm e 658 nm, com a adição de A.As. 0,0375 mol/L e tiouréia 0,0125 mol/L. Caminho óptico de 10 mm.....189
- Figura 71** – Diagramas obtidos de uma solução contendo íons Cu(II) 25 μM, Fe(II) 25 μM e Fe(III) 30 μM, com o sistema de análise em fluxo empregando multicomutação e amostragem binária. F1 = fotômetro a base de LED vermelho (660nm). F2 = espectrofotômetro ajustado em 381 nm; leitura em absorbância.....203

- Figura 72** – Sistema Fe(II)/DPKBH empregando multicomutação e amostragem binária. A = sinais analíticos obtidos para as soluções padrão de Fe(II) contendo 0,0; 2,994; 6,979; 15,03; 29,89 e 49,64 μM , respectivamente. B = curva analítica construída com os valores de intensidade *versus* concentração.....206
- Figura 73** – Sistema Cu(II)/DPKBH empregando multicomutação e amostragem binária. A = sinais analíticos obtidos para as soluções padrão de Cu(II) contendo 0,0; 4,955; 9,974; 19,94; 39,88; 59,95 e 79,72 μM , respectivamente. B = curva analítica construída com os valores de absorbância *versus* concentração.....209
- Figura 74** – Sistema FeTotal/DPKBH empregando multicomutação e amostragem binária. A = sinais analíticos obtidos para as soluções padrão de Fe(III) contendo 0,0; 3,987; 5,980; 7,972; 11,95; 19,91; 39,77; 59,69 e 79,29 μM , respectivamente. B = curva analítica construída com os valores de intensidade *versus* concentração.....211
- Figura 75** – Variação sazonal da concentração de cobre ($\mu\text{g/g}$) presente no sedimento do Reservatório de Guarapiranga, em cinco pontos amostrados, em comparação ao valor do *folhelho médio mundial*. Primeira coleta em outubro de 1998 e segunda coleta em março de 2000.....222

Figura 76 – Variação sazonal da concentração de ferro ($\mu\text{g/g}$)
presente no sedimento do Reservatório de Guarapiranga,
em cinco pontos amostrados, em comparação ao valor
do *folhelho médio mundial*. Primeira coleta em outubro de
1998 e segunda coleta em março de 2000.....223

LISTA DE TABELAS

- Tabela I** - Número de onda (em cm^{-1}) de grupos característicos do complexo Cu(II)/DPKBH e do ligante DPKBH.....75
- Tabela II** - Percentagens dos elementos teórica e obtida por análise elementar do DPKBH e do complexo Cu(II)/DPKBH.....95
- Tabela III** -Valores de pH real e aparente das soluções tampão em meio aquoso e aquo-etanólico 50% (V/V).....101
- Tabela IV** - Valores de absorvância obtidos para medidas pontuais do sistema Cu(II)/DPKBH, alternando-se a ordem de adição dos reagentes.....108
- Tabela V** - Valores de absorvância obtidos para as séries de 10 medidas do complexo Cu(DPKBH)₂, nas concentrações de Cu(II) de 0,528 μM e 0,240 μM 113
- Tabela VI** - Limite de tolerância dos 34 principais íons, encontrados em águas, sedimentos e outras amostras naturais, no sistema Cu(II)/DPKBH.....114
- Tabela VII** - Grau de interferência (%) de cada íon estudado, no sistema Cu(II)/DPKBH.....115
- Tabela VIII** - Concentrações de íons Cu(II) encontradas nas amostras de aguardente A, B, C e D, utilizando-se as técnicas de espectrometria de absorção atômica com chama por adição de padrão e espectrofotométrica do sistema Cu(II)/DPKBH.....126

Tabela IX - Valores de altura de pico devido ao efeito <i>Schlieren</i> e de coeficiente de dispersão obtidos para cada tipo de reator	137
Tabela X - Tipos de membranas avaliadas no desgaseificador do sistema de pré-diluição da amostra aquosa com etanol absoluto.....	141
Tabela XI - Valores máximos de altura de pico (média de 3 picos) obtidos para cada tubulação e vazão avaliados e os respectivos valores de coeficiente de dispersão.....	145
Tabela XII - Concentração de Cu(II) obtida para as duas amostras de aguardente, pelas técnicas de espectroscopia de absorção atômica com chama e espectrofotométrica envolvendo análise por injeção em fluxo.....	157
Tabela XIII - Ordens de adição avaliadas para o sistema Fe(III)/DPKBH/tampão ácido succínico/succinato.....	162
Tabela XIV - Absortividades molares dos complexos Fe(II)/DPKBH, Fe(III)/DPKBH e Cu(II)/DPKBH, e as faixas de concentração para aplicação dos métodos.....	175
Tabela XV – Determinação de íons Cu(II), Fe(II) e Fe(III) em amostras sintéticas, utilizando a metodologia proposta, em condições estacionárias. Concentrações em μM	192
Tabela XVI – Alguns parâmetros analíticos estudados para o sistema de análise em fluxo, empregando multicomutação e amostragem binária, para determinação de íons Cu(II), Fe(II) e Fe(III).....	201

Tabela XVII – Determinação de Cu(II), Fe(II) e Fe(III) em amostras sintéticas utilizando a metodologia proposta. Concentrações em μM	213
Tabela XVIII – Comparação do consumo de reagentes utilizando os métodos para a determinação de íons Cu(II), Fe(II) e Fe(III), em condições estacionárias e em fluxo empregando multicomutação e amostragem binária.....	214
Tabela XIX – Pontos de coleta no Reservatório de Guarapiranga, e os parâmetros registrados para cada amostra de água e sedimento coletadas.....	217
Tabela XX – Determinação de cobre e ferro total em amostras de sedimento do Reservatório de Guarapiranga, pelos métodos espectrofotométrico, método em fluxo espectrofotométrico e método padrão ICP-OES. Valores em $\mu\text{g/g}$	220
Tabela XXI - Faixas de aplicação para determinação de íons Cu(II) com DPKBH em processo estático, em fluxo e em fluxo com multicomutação, e os métodos de referência da literatura.....	230
Tabela XXII - Faixas de aplicação para determinação de íons Fe(II) e Fe(III) com DPKBH em processo estático e em fluxo com multicomutação, e os métodos de referência da literatura.....	230

RESUMO

Desenvolveu-se um método espectrofotométrico para determinação de íons Cu(II), Fe(II) e Fe(III) com o reagente cromogênico di-2-piridil cetona benzoilhidrazona (DPKBH), em condições estacionárias e em fluxo. Fez-se a caracterização estrutural e estequiométrica do complexo de Cu(II) com DPKBH usando-se técnicas espectroscópicas de infravermelho e massas, além de análise térmica e elementar. Estudou-se, ainda, a estequiometria dos complexos de Fe(II) e Fe(III) com DPKBH utilizando espectrometria de massas com ionização por electrospray. Desenvolveu-se, preliminarmente, um método espectrofotométrico para a determinação de íons Cu(II) com DPKBH e aplicou-se em amostras de aguardente. Posteriormente, adaptou-se para análise por injeção em fluxo, utilizando-se injetor comutador manual. Em seguida, desenvolveu-se em condições estacionárias um método espectrofotométrico para determinação de Fe(II) e Fe(III) e Cu(II) em uma mesma amostra, com o uso de agentes mascarantes. Fez-se também a adaptação do método para análise em fluxo empregando multicomutação e amostragem binária. Finalmente, determinou-se a concentração de íons Cu(II), Fe(II) e Fe(III) em amostras sintéticas e Cu(II) e ferro total em amostras de sedimento coletadas no reservatório de Guarapiranga. Os resultados obtidos foram comparados com o método de referência de ICP-OES, apresentando concordância para um nível de confiança de 95% da média.

ABSTRACT

A spectrophotometric method was developed to the determination of Cu(II), Fe(II) and Fe(III) with the chromogenic reagent di-2pyridyl ketone benzoylhydrazone (DPKBH) in stationary conditions as a flow injection process. The structural characterization and the stoichiometry of Cu(II)/DPKBH complex were achieved using infrared spectrometry, mass spectrometry, thermal and elemental analysis. The stoichiometry of the Fe(II) and Fe(III) complexes with DPKBH was studied by electrospray ionization mass spectrometry. The spectrophotometric method for the determination of Cu(II) with DPKBH was developed in stationary conditions and, after this, it was adapted to flow injection analysis, using a manual commutator. Subsequently, a spectrophotometric method was developed to determine Fe(II), Fe(III) and Cu(II) in the same sample, in stationary conditions, using masking reagents. This method was also adapted to flow injection analysis, using multicommutation and binary sampling. Finally, Cu(II), Fe(II) and Fe(III) were determined in sediments from Guarapiranga reservoir. The obtained results were compared with the ICP-OES standard methods, showing a good agreement into a 95% confidence level (t-test).

I - INTRODUÇÃO

O cobre é um elemento traço e um micronutriente essencial à vida de plantas e animais. No corpo humano, considerando-se apenas os minerais traço (< 5 g), é o terceiro elemento mais abundante, depois do ferro e zinco, apresentando importante papel biológico, sendo vital na proteção contra doenças cardiovasculares, osteoporose, radicais livres e câncer, além de ajudar a manter a elasticidade e flexibilidade da pele, vasos sanguíneos e tecidos conectivos. A dieta normal indicada para um adulto inclui entre 2 e 5 mg de cobre/dia⁽¹⁾, e este é encontrado como constituinte de alimentos e na água potável.

Sulfato de cobre vem sendo intensamente utilizado como algicida em reservatórios, a fim de controlar a proliferação de algas, principalmente quando as águas dos formadores e tributários destes reservatórios são advindas de efluentes domésticos e industriais, que levam a um enriquecimento das águas (eutrofização), apresentando elevadas concentrações de nutrientes, tais como fosfato e compostos nitrogenados. Outro nutriente importante que pode agir como fator limitante de crescimento do fitoplâncton é o íon ferro. Provavelmente em seu estado reduzido, como íon Fe^{2+} , é o nutriente preferido⁽²⁾.

O reservatório de Guarapiranga, que é o segundo maior sistema produtor de água da Região Metropolitana de São Paulo, fornecendo 25 % da água consumida, encontra-se em uma situação crítica em relação à qualidade de suas águas. O aporte de matéria orgânica e nutrientes causou sua eutrofização, e vem se tornando cada vez mais freqüentes os processos de floração de algas. Como consequência tem-se a aplicação quase diária de sulfato de cobre, como algicida.

Assim, dois aspectos das águas podem ser estudados: especiação e determinação de íons Fe(II) e Fe(III), nutrientes, em águas de reservatórios com ambientes eutrofizados, e o controle da concentração de íons Cu(II) em água e sedimento oriundo da adição de sulfato de cobre.

O objetivo do presente trabalho foi desenvolver um método espectrofotométrico para determinação de íons Cu(II), Fe(II) e Fe(III), em processo estático e em fluxo, empregando multicomutação e amostragem binária. O método baseia-se na reação do reagente cromogênico di-2-piridil cetona benzoilhidrazona (DPKBH), com íons Cu(II), Fe(II) e Fe(III), que absorvem na região do ultravioleta (381 e 364 nm, respectivamente). Adicionalmente, Fe(II) apresenta outra banda na região do visível (658 nm) que possibilita a especiação entre estas espécies iônicas de ferro.

Inicialmente, foi feita a caracterização estrutural e estequiométrica do complexo de Cu^{2+} com DPKBH usando-se técnicas espectroscópicas de infravermelho, massas e difração de raios-X, além de análise térmica e elementar. Estudou-se, ainda, a estequiometria dos complexos de Fe(II) e Fe(III) com DPKBH utilizando espectrometria de massas com ionização por electrospray.

Na segunda parte do trabalho, desenvolveu-se preliminarmente um método espectrofotométrico para a determinação de íons Cu(II) com a di-2-piridil cetona benzoilhidrazona (DPKBH), em meio contendo água/etanol 50 % (V/V) e solução tampão de ácido succínico/succinato. Com as condições estabelecidas, fez-se a adaptação do método para análise por injeção em fluxo, utilizando-se um injetor comutador manual, para inserção da amostra no percurso analítico. Para

avaliar o método em condições estacionárias e em fluxo, foram feitas determinações de Cu(II) em amostras de aguardente, e os resultados comparados com o método padrão de espectrometria de absorção atômica com chama.

Tendo-se ainda como base as condições pré-estabelecidas para o método do Cu(II), desenvolveu-se um método espectrofotométrico para determinação de Fe(II), Fe(III) e Cu(II) em uma mesma amostra, em processo estático, com o uso de agentes mascarantes. Em seguida, foi feita a adaptação do método para análise em fluxo, empregando multicomutação e amostragem binária, no qual utilizam-se válvulas solenóides de três vias para inserção das soluções da amostra e dos reagentes no percurso analítico.

Finalmente, foram feitas determinações de Cu(II), Fe(II) e Fe(III) em amostras sintéticas e de Cu(II) e ferro total em amostras de sedimento coletadas no reservatório de Guarapiranga, utilizando os métodos espectrofotométricos em condições estacionárias e em fluxo, empregando multicomutação e amostragem binária. No caso das amostras de sedimento, as determinações foram realizadas após a solubilização das amostras pelo método EPA 3051.

II – ÍONS COBRE

II.1 – Aspectos Gerais

Cobre foi o primeiro metal a ser usado pelo homem e perde apenas para o ferro quanto às aplicações que vem apresentando no decorrer dos tempos. Seu descobrimento data de épocas pré-históricas entre 8.000 e 7.000 a.C.. Utensílios de cobre foram encontrados em tumbas egípcias que datam de antes de 5.000 a.C. A palavra cobre deriva do latim *cuprum*, uma versão alterada de *cyprium*. *Cyprium* é uma abreviação de *aes cyprium*, o nome original do cobre em latim, e refere-se à ilha de Chipre onde os povos antigos localizaram minas de cobre⁽³⁾.

Os alquimistas chamavam-no Vênus e era designado com o símbolo da deusa ($\overset{\circ}{+}$), o que pode ser considerado referência à ilha de Chipre, consagrada a Vênus ou Afrodite. Talvez também esta nomenclatura tenha relação com a característica do metal de, ao contrário dos metais nobres afins, dar origem a compostos vivamente coloridos. Posteriormente, associou-se a identificação do planeta Vênus com o nome do metal⁽⁴⁾.

Poucos metais, entre os quais o cobre, são encontrados em estado nativo, isto é, como metais, e também na forma de minérios. O uso primitivo do metal em seu estado natural pertence à Idade da Pedra, enquanto que a metalurgia começou com o conhecimento da fusão dos minérios para a separação dos metais. A obtenção do cobre relativamente puro ou em ligas dependia da natureza dos minérios fundidos. Então, é bastante provável que desta maneira tenha sido produzido o primeiro bronze, sem quaisquer conhecimentos de ligas.

Cobre é facilmente misturado com muitos outros elementos⁽⁵⁾ e mais de 1000 tipos de ligas têm sido formados, sendo muitos de importância tecnológica. Pode-se citar, por exemplo, uma série de ligas bronze-alumínio que, graças à contribuição do alumínio, permitiram o emprego do cobre em materiais expostos à água do mar ou a fabricação das pás de turbinas, de objetos brilhantes (espelhos, refletores, moedas), etc.

Por outro lado, graças à adição de cobre, conseguiu-se aumentar o consumo dos metais leves, em razão da resistência mecânica acrescida (duralumínio) o que permitiu o rápido desenvolvimento da aviação. Alguns aços especiais contêm cobre tendo em vista assegurar a proteção contra a corrosão.

O cobre é um dos poucos metais que, em estado puro, sem formar ligas, tem funções técnicas importantes. O cobre eletrolítico é empregado com preferência em todos os casos onde se necessita de grande condutibilidade térmica e elétrica, pois impurezas insignificantes reduzem consideravelmente a condutibilidade. O cobre é largamente utilizado para fios de rede elétrica, de telefone, antenas, bobinas, enrolamentos de motores, transformadores, etc. Empregavam-se tubos de cobre nas locomotivas, para transmitir com a maior rapidez possível o calor do fogo do carvão à água da caldeira. Pelas mesmas razões, fabricam-se caldeiras para fazer cerveja, painéis de vácuo, ferros de soldar, alambiques, serpentinas de aquecimento e refrigeração, etc. de cobre ou de ligas de cobre⁽⁵⁾.

Emprega-se além disso o cobre em coberturas de telhados, estátuas, ferragem de navios, cartuchos, cápsulas de ignição, moedas, aparelhos da indústria

de álcool, vinagre, gordura e açúcar, etc. A facilidade de polimento do cobre metálico e de suas ligas possibilita obter detalhes decorativos de extrema beleza. Devido a sua notável resistência e tenacidade, é também adequado para anéis de guia de granadas e para tampas de caldeiras de alta pressão.

Sulfato de cobre(II) tem muitas aplicações industriais, incluindo a mistura de Bordeaux (calda bordoleza - fungicida) e na manufatura de outros compostos de cobre. É utilizado, também, em soluções de eletrodeposição, como corante textil e como protetor de madeiras empregadas em construção. Provavelmente o primeiro uso do cobre como fungicida foi na forma de solução de sulfato de cobre. Nos dias de hoje, é utilizado como algicida em diversos reservatórios de água⁽⁶⁾.

O estado de oxidação +2 é o mais comum. Encontra-se Cu(I) estável em solução aquosa, somente quando na forma de algum composto de coordenação ou, então, na forma de sólido. Poucos compostos de Cu(III) são conhecidos.

O íon Cu^{2+} freqüentemente tem um número de coordenação 4, com os ligantes arranjados às extremidades de um quadrado. Há em muitos casos, entretanto, dois ligantes adicionais ligados mais fracamente e com suas ligações de valência direcionadas perpendicularmente ao plano do quadrado, conferindo assim, uma simetria tetragonal ao complexo.

Complexos de Cu(II) são geralmente coloridos. Os comprimentos de onda de máxima absorção e a absortividade molar dependem do número e natureza dos diferentes ligantes. Por exemplo, o íon tetraaquo, $[\text{Cu}(\text{H}_2\text{O})_4]^{2+}$, é azul. Uma forte coloração azul é manifestada pelo complexo tetramin, $[\text{Cu}(\text{NH}_3)_4]^{2+}$, mas

como a maior parte dos complexos de Cu(II) a absorvidade molar não é maior que $100 \text{ L}\cdot\text{mol}^{-1}\cdot\text{cm}^{-1}$ (7).

Devido a um aumento gradual no potencial de ionização com a carga iônica, elementos de transição apresentam uma valência variável. Assim ocorrem variações cíclicas no sistema $\text{Cu}^{2+}/\text{Cu}^{+}$ que são de fundamental importância nas reações de óxido-redução em organismos vivos.

Como Cu(I) tem todos os seus orbitais *d* preenchidos, e portanto uma nuvem de elétrons esfericamente simétrica, supõe-se somente a formação de complexos octaédricos. Entretanto, parece preferencial a coordenação tetraédrica, com forte contribuição de ligações covalentes. Os complexos de Cu(I), que não possuem nenhum elétron desemparelhado, são sempre diamagnéticos.

Outra característica mostrada pelos complexos de Cu(I) é a ausência de coloração, como no $[\text{CuCl}_2]^{-}$ ou o complexo tetraédrico $[\text{Cu}(\text{CN})_4]^{3-}$. Quando compostos coloridos são encontrados, as bandas de absorção não envolvem transições *d-d*, mas transições de transferência de carga. Este é, por exemplo, o caso em complexos com O_2 ou CO . Neste caso, a transferência de carga envolve orbitais *d* do íon metálico e orbitais π do ligante.

Apesar da longa história de associação entre o cobre e o homem, o fato de que o cobre está presente em organismos vivos tornou-se conhecido apenas há 150 anos, quando cobre foi encontrado em plantas^(8,9) e logo depois em tecidos animais⁽¹⁰⁾.

A primeira indicação que cobre é um constituinte essencial do corpo, pelo menos em algumas espécies, foi o reconhecimento do cobre contido no

pigmento respiratório hemocianina em animais de sangue frio⁽¹¹⁾ e a descoberta da turacina, um pigmento contendo cobre, nas penas de certos pássaros⁽¹²⁾.

O reconhecimento da ocorrência natural de estados de deficiência de cobre em um número de animais domésticos foi um passo de grande importância para estabelecer o cobre como um nutriente essencial, devido ao fato que em organismos vivos apresenta funções catalíticas⁽¹³⁾. O cobre foi reconhecido como constituinte essencial de moléculas em diversas enzimas. Algumas destas, como citocromo e oxidase, são encontradas em tecidos vivos de várias espécies e indispensavelmente envolvidas em processos básicos da vida.

A dieta normal para o homem inclui entre 2 e 5 mg de cobre por dia. Devido à presença ubíqua de cobre em constituintes de alimentos e igualmente em água potável, é difícil imaginar uma dieta balanceada, composta de alimentos naturais, que contenha menos que 1 mg de cobre por dia. A taxa mínima diária requerida de cobre para um homem adulto é estabelecida em 2 mg/dia⁽¹⁾. Crianças necessitam de 0,05 mg/kg do peso corporal por dia⁽¹⁴⁾.

A deficiência hereditária da proteína ceruloplasmina, conhecida como mal de Wilson, é associada ao aumento patológico do conteúdo de cobre em quase todos os tecidos, particularmente no cérebro e fígado. Mamíferos albinos apresentam falta da forma normal da enzima tirosinase que contém cobre, o qual participa na síntese do pigmento melanina. Cobre pode, também, ser tóxico em grandes quantidades⁽¹⁵⁾, especialmente para organismos como bacilos, fungos e algas.

II.2 – Métodos de Determinação

Encontram-se na literatura vários métodos de determinação para cobre⁽¹⁶⁾. Dentre estes métodos, pode-se destacar a espectrometria de absorção atômica com chama (FAAS)^(17,18,19,20), espectrometria de absorção atômica com forno de grafite (GFAAS)^(21,22), a titulação amperométrica⁽²³⁾, métodos complexométricos⁽²⁴⁾, eletrodos de íons seletivo^(25,26) ou eletrodos de pasta de carbono modificados⁽²⁷⁾, fluorescência de raios-X⁽²⁸⁾, a difração de raios-X⁽²⁹⁾, análise por ativação de neutrôns^(30,31), eletroforese capilar⁽³²⁾ entre outros.

Os métodos considerados padrão para a determinação de íons Cu(II) são: espectrometria de absorção atômica com chama (FAAS), espectrometria de emissão óptica com plasma induzido (ICP-OES) e os métodos espectrofotométricos usando a neocuproina e a batocuproina⁽³³⁾. Segundo o *Standard Methods*, os métodos praticamente são livres de interferências, mas no caso dos métodos espectrofotométricos algumas espécies tais como: crômio, estanho, cianeto, sulfeto e matéria orgânica, quando presentes em grandes quantidades, podem causar interferência.

O método da neocuproina (2,9-dimetil-1,10-fenantrolina)^(34,35) consiste em uma etapa prévia de redução dos íons Cu(II) a Cu(I) com uma solução de hidroxilamina-ácido clorídrico. Solução de citrato de sódio é adicionada para complexar outros íons que estejam presentes. Após isso, o pH é ajustado entre 4 e 6 com NH₄OH e solução de neocuproina, preparada em metanol, é adicionada para a formação do complexo, que é extraído com clorofórmio da fase aquosa. A

absorbância do complexo amarelo formado é medida em 457 nm, apresentando absorvidade molar igual a $8 \times 10^3 \text{ L.mol}^{-1}.\text{cm}^{-1}$. A faixa de análise do método é de 40 a 200 $\mu\text{g/L}$.

Os inconvenientes do método são o número de etapas necessárias e o uso dos solventes orgânicos metanol e clorofórmio, que são tóxicos.

O segundo método espectrofotométrico considerado como padrão, também necessita da etapa prévia de redução dos íons Cu(II) a Cu(I), mas não utiliza solventes orgânicos. Os íons Cu(I) formam complexos de coloração alaranjada com solução aquosa do sal disódico disulfonato-batocuproina (ácido disulfônico 2,9-dimetil-4,7-difenil-1,10-fenantrolina)^(36,37). O complexo formado apresenta máximo em 479 nm, e a faixa de análise do método é de 1 a 10 mg/L.

Considerando que a espectrofotometria foi a técnica empregada para desenvolver o método proposto, neste item da Tese, uma breve revisão enfocará exclusivamente os métodos espectrofotométricos.

A espectrofotometria é um dos métodos mais utilizados para a determinação de cobre, principalmente por ser um método mais acessível para pequenos laboratórios de análise. Um grande número de reagentes colorimétricos para cobre são citados na literatura. Sua sensibilidade relativa pode ser comparada com base em suas absorvidades molares.

Dietilditiocarbamato forma um complexo azul com cobre, apresentando um máximo de absorvância em 440 nm, e uma absorvidade molar de $8 \times 10^3 \text{ L.mol}^{-1}.\text{cm}^{-1}$. O método foi utilizado para a determinação de cobre em amostras de soro sanguíneo^(38,39). Outros autores propuseram alterações no método,

fazendo extrações do complexo dietilditiocarbamato-Cu(II) com outros solventes. Com isso, o método mostrou-se mais sensível e menos sujeito a alguns interferentes. Foram utilizados álcool isoamílico^(40,41) e tetracloreto de carbono⁽⁴²⁾ e o complexo apresentou uma absorvidade molar de $1,27 \times 10^4$ e $1,47 \times 10^4$ L.mol⁻¹.cm⁻¹, respectivamente.

Como pode ser visto através das absorvidades molares, o complexo produz uma coloração menos intensa em meio aquoso do que em solvente orgânico. Também em água o complexo Cu(II)-ditiocarbamato é uma suspensão coloidal e pode provocar medidas incertas^(38,43). Outra desvantagem é que o complexo é instável em meio ácido e também é sensível à luz.

Dibenzilditiocarbamato não tem estas desvantagens e é mais sensível e mais específico. MAYTUM et al.⁽⁴⁴⁾ e GIORGIO et al.⁽⁴⁵⁾ descreveram um método para a determinação de cobre em urina com este reagente. O complexo formado absorve em 435 nm e a absorvidade molar é de $1,62 \times 10^4$ L.mol⁻¹.cm⁻¹. A única desvantagem deste método é o uso de tetracloreto de carbono, devido a sua toxicidade.

Ditizona também tem sido indicada para a determinação espectrofotométrica de cobre⁽⁴⁶⁾. Entretanto, este é pouco recomendado, pois apresenta uma menor sensibilidade e é menos específico que os outros reagentes.

BORCHARD e BUTLER⁽⁴⁷⁾ utilizaram a 2,2-biquinolina (cuproina). Este reagente é específico para o cobre, mas não muito sensível. No entanto, foi usado para determinar cobre em gêneros alimentícios com bons resultados. O

complexo formado absorve em 540 nm com uma absorvidade molar de $5,9 \times 10^3$ L.mol⁻¹.cm⁻¹.

TANG et al.⁽⁴⁸⁾ sintetizaram e desenvolveram um método para a determinação espectrofotométrica de cobre usando como complexante o N-(o-carboxifenil)-N'-(P-sulfofenil)-C-fenilformazona, que é altamente seletivo para cobre em valores de pH entre 5 e 6. O complexo formado é de 1:1 em relação ao cobre e absorve em 540 nm. A absorvidade molar é de $1,9 \times 10^4$ L.mol⁻¹.cm⁻¹. O método foi usado para determinar cobre em minérios.

Outro reagente para a determinação espectrofotométrica do cobre, foi sintetizado por GAO et al.⁽⁴⁹⁾. O 2-(4,5-dimetiltiazol-2-ilazo)-5-(dimetilamino)anilina forma um complexo 1:2 (metal-ligante) com o cobre e apresenta uma constante de estabilidade de $1,3 \times 10^{10}$. A absorvidade molar do complexo é de $3,0 \times 10^4$ L.mol⁻¹.cm⁻¹ a 576 nm (pH 4,7-5,9). Níquel (50 vezes), cobalto (500 vezes) e ferro em grandes quantidades interferem no método. O método foi aplicado em amostras de milho, água e minérios.

Um método para a determinação espectrofotométrica de cobre em minérios e ligas contendo ferro e alumínio, foi descrito por YANG⁽⁵⁰⁾. O agente complexante 4-[(5-cloro-2-piridil)azo]-1,3-diaminobenzeno ou (5-Cl-PADAB) forma um complexo vermelho em tampão de acetato (pH = 4,7), em uma razão de 1:1, que apresenta um máximo de absorção em 522 nm e sua absorvidade molar é $4,91 \times 10^4$ L.mol⁻¹.cm⁻¹. A lei de Beer é obedecida para uma faixa de 0,040 a 1,3 mg/L de íons Cu(II).

Existem ainda na literatura, outros dois reagentes semelhantes para a determinação espectrofotométrica de cobre. O 5-[(5-bromo-2-piridil)azo]-2,4-diaminotolueno ou (5-Br-PADAT)⁽⁵¹⁾ que forma um complexo vermelho com o cobre na proporção de 1:1 com máximo de absorvância em 546 nm e absorvidade molar de $5,6 \times 10^4 \text{ L.mol}^{-1}.\text{cm}^{-1}$. O método foi aplicado em amostras de minério de cobre para uma faixa de análise de 0,04 a 1,2 mg/L de íons Cu(II).

O segundo reagente é o 5-[(3,5-dibromo-2-piridil)azo]-2,4-diaminotolueno ou (5-diBr-PADAT)⁽⁵²⁾ que reage com o cobre em pH = 3,6 (tampão acetato), formando um complexo que absorve em 560 nm e apresenta uma absorvidade molar de $5,29 \times 10^4 \text{ L.mol}^{-1}.\text{cm}^{-1}$. O método foi desenvolvido para determinação de cobre em materiais geológicos.

Com o intuito de aumentar a sensibilidade dos métodos, vários autores propuseram o uso de reagentes colorimétricos em meio orgânico, dentre os quais podem ser citados o 1-(2-piridilazo)-2-naftol em clorofórmio⁽⁵³⁾, o 2-hidroxi-1-naftaldeido benzoilhidrazona em DMF⁽⁵⁴⁾, o ligante oxalato de SS'-bis(2-aminofenil) ou H₂L que é preparado em metanol e o complexo formado com Cu(II) é extraído com clorofórmio⁽⁵⁵⁾, a bis(acetilacetona)etilenodiimina preparada em etanol e com processo de extração com clorofórmio⁽⁵⁶⁾, o ácido bis(2,4,4-trimetilpentil)dithiofosfinico ou Cyanex301 em tolueno⁽⁵⁷⁾, entre outros.

Várias adaptações ou mesmo novos métodos espectrofotométricos envolvendo análise por injeção em fluxo têm sido propostos na literatura.

CHIMPALEE et al.⁽⁵⁸⁾ propuseram um método espectrofotométrico envolvendo injeção em fluxo, para determinação de cobre em aço e ligas metálicas

de cobre. O método consiste na injeção de uma amostra de 250 μL em um fluxo transportador (água – 1,35 mL/minuto) que conflui com um fluxo de solução de ácido cítrico 27% (m/v), solução de amônia a 37% (v/v) e solução do reagente bis(ciclohexanona)oxalildihidrazona a 0,18% (m/v) (1,35 mL/minuto). Após a mistura passar por uma bobina de reação de 4 m (0,8 mm d.i.) a detecção do complexo formado é feita em 600 nm. O método deve ser aplicado em amostras contendo no mínimo 20 mg/L de íons Cu(II).

Outro método para a determinação espectrofotométrica de cobre em minérios de cobre, empregando injeção em fluxo, foi proposto por HAJ-HUSSEIN⁽⁵⁹⁾. Após o processo de solubilização da amostra, uma alíquota de 50 μL é injetada em um fluxo transportador (água – 0,6 mL/minuto), que por confluência se mistura a outro fluxo (0,6 mL/minuto) contendo o reagente pirofosfato em pH 9. Depois de passar por uma bobina de reação de 50 cm (0,51 mm d.i.) a absorvância é medida em 240 nm. O método tem uma frequência de 70 amostras por hora, com faixa de análise 2 a 50 mg/L de Cu(II). Íons Fe^{3+} , Pb^{2+} e Ag^+ interferem quando presentes em concentrações maiores que 1 mg/L.

Uma adaptação para injeção em fluxo do método espectrofotométrico, utilizando o reagente bis(acetilacetona)etilenodiimina⁽⁵⁶⁾, foi feita por CHIMPALEE et al.⁽⁶⁰⁾. Uma amostra de 250 μL é injetada em um fluxo transportador (água – 1,4 mL/minuto) e por confluência se mistura seqüencialmente com fluxos de tampão acetato pH 5 (1,4 mL/minuto), solução aquo-etanólica 10% (V/V) de bis(acetilacetona)etilenodiimina a 0,2% (m/v) (1,4 mL/minuto) e clorofórmio (1 mL/minuto). Após a mistura passar por uma bobina de reação de 400 cm

(0,8 mm d.i.) e um separador de fases, a absorvância da fase orgânica é medida em 370 nm. O método foi aplicado em amostras, contendo no mínimo 100 mg/L, de minérios de cobre e rações para porcos. A frequência de análises é de 20 amostras por hora.

OLIVEIRA et al.⁽⁶¹⁾ descreveram um método espectrofotométrico em fluxo, para determinação de Cu(II) e Zn(II) em digeridos de plantas, empregando multicomutação e amostragem binária. Neste método, uma amostra de 300 µL é injetada em um fluxo transportador (2 mL/minuto) e com inserções sequenciais de soluções de ácido ascórbico 2% (m/v) (0,4 mL/minuto), KCN 1% (m/v)/Na₂B₄O₇ 0,5 mol/L em NaOH 1,5 mol/L (0,4 mL/minuto) para formar cianocomplexos metálicos. Em seguida, é adicionado por amostragem binária uma mistura dos reagentes Zincon 0,04% (m/v), formaldeído 3,3% (v/v) e Na₂B₄O₇ 0,5 mol/L (0,5 mL/minuto), para destruir os cianocomplexos metálicos e formar os complexos metálicos com Zincon, sendo que a leitura de absorvância é feita em 620 nm. Após a adição do último reagente na zona de amostra, parte desta é desviada do percurso analítico, via controle computacional das válvulas solenóides de três vias, para uma bobina de reação de 50 cm (0,8 mm d.i.), na qual o complexo de zinco é destruído, e o restante é propulsionado através de uma bobina de reação de 200 cm (0,8 mm d.i.) na qual os complexos de zinco e cobre são destruídos. O primeiro sinal registrado corresponde ao zinco, e o segundo corresponde a zinco e cobre. Por diferença se encontra a concentração de íons cobre na amostra. O método apresenta faixa de análise de 0,1 a 1 mg/L de cobre e 0,1 a 2 mg/L de zinco.

BLANCO et al.⁽⁶²⁾ adaptaram o método do dietilditiocarbamato em clorofórmio, com extração líquido-líquido em fluxo. O método foi utilizado para digeridos de plantas e pode ser aplicado em amostras contendo de 50 a 400 µg/L de íons Cu(II), com uma frequência de 30 amostras/hora.

III – ÍONS FERRO

III.1 – Aspectos Gerais

O ferro, dentre todos os metais, é considerado o mais importante, devido à sua atividade biológica tanto no reino vegetal quanto no reino animal, ou ainda à aplicação encontrada em várias áreas das atividades humanas.

No núcleo terrestre é o elemento mais abundante⁽⁶³⁾, sendo o quarto mais abundante na natureza e constitui cerca de 5,5 % da crosta terrestre na forma de minerais e rochas.

No reino vegetal tem participação importante no metabolismo de plantas durante o processo de fotossíntese^(64,65,66), na forma de um complexo protéico chamado ferredoxina. É considerado também um nutriente limitante no crescimento de fitoplânctons^(67,68), especialmente na forma reduzida Fe^{2+} , que provavelmente é a preferida⁽²⁾.

Um adulto saudável possui aproximadamente 3 g de ferro no corpo, principalmente como hemoglobina, sendo o ferro dentre os elementos metálicos o mais abundante no sangue⁽⁶⁹⁾.

O ferro está presente na hemoglobina, a molécula que nos glóbulos vermelhos do sangue é responsável pelo transporte do oxigênio dos pulmões para outros tecidos corporais. A mioglobina é uma molécula semelhante à hemoglobina, encontrada nos tecidos musculares, e também contém ferro. A mioglobina recebe oxigênio da hemoglobina e o reserva até que as células dos músculos o utilizem. Os citocromos, compostos que contêm ferro no interior de cada célula, participam da oxidação das moléculas dos alimentos. Nestes casos, o elemento de transição tem

papel central na estrutura e na operação da molécula biológica. A hemoglobina e a mioglobina são exemplos de complexos metálicos, ou compostos de coordenação, nos quais o átomo do metal está circundado por outros átomos, que a ele se ligam através dos pares de elétrons disponíveis. Na hemoglobina e mioglobina, a molécula de O₂ liga-se ao átomo de ferro⁽⁷⁰⁾.

Cerca de 1 mg de ferro é perdido diariamente pelo suor, fezes e cabelo, e no caso das mulheres essa perda pode chegar a 20 mg durante a menstruação. Considerando isso, ferro deve ser ingerido diariamente para se manter o balanço apropriado. A dose mínima recomendada de ferro para ingestão diária é em torno de 10 mg para os homens e de 18 mg para as mulheres, podendo ser ingerido através da água⁽⁷¹⁾, fontes animais como peixes, aves domésticas e carnes vermelhas ou vegetais como feijão, ervilha, folhagens verde-escuro e uva passa⁽⁷²⁾.

A deficiência de ferro no organismo, ou anemia, resulta em uma redução do transporte de oxigênio para o cérebro e músculos, e um sintoma precoce é a fadiga crônica⁽⁷³⁾. Dentre outras doenças que a deficiência de ferro pode causar estão a obstipação intestinal, dor epigástrica, disfagia, estomatite, esplenomegalia, vitiligo entre outras⁽⁷⁴⁾.

Na água potável, o limite de ferro recomendado é de 0,3 mg/L⁽⁷¹⁾ e baseia-se mais no gosto e aparência do que nos danos que possa causar à saúde. Quando este limite citado é ultrapassado, a água pode apresentar gosto metálico e odor desagradável bem como levar à formação de depósitos nos utensílios domésticos. Além disso, as tubulações podem ficar obstruídas devido ao acúmulo de ferro nas suas paredes internas diminuindo assim a vazão de água⁽⁷⁵⁾.

III.2 – Métodos de Determinação

A determinação de íons ferro, quando presentes em concentrações acima de 100 mg/L, pode ser feita por técnicas gravimétricas ou volumétricas, tais como a permanganometria e dicromatometria⁽⁷⁶⁾.

No caso de outros tipos de amostra que apresentam baixas concentrações de íons ferro, como por exemplo águas naturais, amostras biológicas ou alimentos, há a necessidade de se utilizar técnicas instrumentais mais sensíveis⁽⁷⁷⁾.

Na literatura encontram-se vários métodos instrumentais para a determinação de ferro. Pode-se destacar a espectrometria de absorção atômica^(78,79), a titulação complexométrica⁽⁸⁰⁾, a polarografia de pulso diferencial^(81,82), métodos quimiluminescentes^(83,84), métodos colorimétricos⁽⁸⁵⁾ e eletroforese capilar^(86,87), entre outros.

Os métodos espectrofotométricos são os mais comumente usados na determinação de íons ferro, e incluem-se entre os poucos que permitem fazer a especiação entre íons Fe(II) e Fe(III). Um grande número de reagentes colorimétricos para ferro são citados na literatura. Entretanto, a maioria dos métodos conseguem determinar apenas uma espécie ou outra, sendo poucos os métodos de determinação simultânea.

Em sua Tese de Doutorado, ANDRADE⁽⁸⁸⁾ fez uma revisão minuciosa sobre os métodos espectrofotométricos capazes de determinar a presença de ferro em vários sistemas. Mais recentemente, em 1995, PEHKONEN⁽⁸⁹⁾ fez uma revisão

sobre métodos para determinação de Fe(II) e Fe(III) empregando técnicas como: espectrofotometria UV-Visível, quimiluminescência, espectrofluorimetria, voltametria e potenciometria.

Dos reagentes colorimétricos, o mais conhecido para a determinação de íons Fe(III) é o tiocianato^(90,91) que, em meio ácido, produz o íon complexo $[\text{Fe}(\text{SCN})]^{2+}$ de cor avermelhada, o qual apresenta um máximo de absorção em 447 nm, e absorvidade molar igual a $4,7 \times 10^3 \text{ L} \cdot \text{mol}^{-1} \cdot \text{cm}^{-1}$ ⁽⁹²⁾. O limite de detecção é de $9 \times 10^{-6} \text{ mol/L}$ de Fe(III).

Outro reagente bastante utilizado é a 2,2'-bipiridila^(93,94) também conhecida como bipy, a qual é empregada na determinação de ferro como íons Fe(II). O complexo $[\text{Fe}(\text{C}_{10}\text{H}_8\text{N}_2)_3]^{2+}$ formado, de cor púrpura avermelhada, é estável e apresenta máximo de absorbância em 522 nm e absorvidade molar igual a $8,65 \times 10^3 \text{ L} \cdot \text{mol}^{-1} \cdot \text{cm}^{-1}$. A faixa de linearidade do método é de $8,9 \times 10^{-6}$ a $5,37 \times 10^{-5} \text{ mol/L}$ apresentando um limite de detecção igual a $3,58 \times 10^{-7} \text{ mol/L}$ de Fe(II).

A 1,10-fenantrolina⁽⁹⁵⁾ forma com os íons Fe(II) o complexo $[\text{Fe}(\text{C}_{12}\text{H}_8\text{N}_2)_3]^{2+}$ de cor vermelho-alaranjado, comumente chamado de ferroína. Este complexo apresenta um máximo de absorção em 510 nm e permite determinar concentrações entre $3,58 \times 10^{-7}$ e $1,79 \times 10^{-5} \text{ mol/L}$ de Fe(II) com um limite de detecção igual a $1,79 \times 10^{-7} \text{ mol/L}$. Apesar deste ligante também complexar com o Fe(III), produzindo um complexo de cor amarela⁽⁹⁶⁾ com máximo em 396 nm este não é comumente usado para este fim.

Os íons Fe(II) reagem com a ferrozina⁽⁹⁷⁾ para formar um complexo de coloração vermelho púrpura, o qual apresenta máximo de absorção em 562 nm e absorvidade molar igual a $2,9 \times 10^4 \text{ L} \cdot \text{mol}^{-1} \cdot \text{cm}^{-1}$.

Outros reagentes que podem ser utilizados na determinação de íons Fe(II) ou íons Fe(III) são o ácido salicílico⁽⁹⁸⁾, o ácido sulfosalicílico⁽⁹⁹⁾, o ácido triglicólico⁽¹⁰⁰⁾, entre outros.

Os métodos de determinação existentes na literatura comumente não são capazes de determinar Fe(II) e Fe(III) simultaneamente. De uma maneira geral, os complexantes utilizados são específicos para Fe(II) ou Fe(III), e para se realizar a especificação de ferro em uma amostra, tem-se que fazer uso de agentes redutores ou oxidantes⁽⁷⁵⁾.

Dentre os agentes redutores mais empregados estão a hidroxilamina^(101,102), o cloreto estanoso⁽¹⁰³⁾ e o ácido ascórbico^(104,105). Já o agente oxidante mais utilizado é o peróxido de hidrogênio⁽¹⁰⁶⁾.

Os métodos considerados padrão pelo *Standard Methods for the Examination of Water and Wastewater*⁽³³⁾, para a determinação de íons ferro, são: a espectrometria de absorção atômica com chama (FAAS), a espectrometria de emissão óptica com plasma induzido (ICP-OES) e o método espectrofotométrico com 1,10-fenantrolina. Entretanto, no caso dos dois primeiros só é possível determinar ferro total, não se podendo fazer a especificação direta entre as espécies Fe(II) e Fe(III). Já com o método espectrofotométrico da 1,10-fenantrolina determina-se íons Fe(II) e com o uso de um agente redutor, determina-se Fe(III) ou ferro total. Íons metálicos como Ni(II), Co(II) e Cu(II) podem interferir no método

produzindo espécies que absorvem em região próxima àquela de absorção do complexo formado entre o Fe(II) e a 1,10-fenantrolina.

Um método pode ser considerado quimicamente simultâneo quando os analitos A e B, após reagirem com o reagente C, geram os produtos D e E de tal forma que estes possam ser detectados num mesmo instante⁽⁷⁵⁾.

A di-2-piridil cetona benzoilhidrazona (DPKBH) foi usada para determinar a quantidade de íons Fe(II) e Fe(III) em soluções sintéticas (pH = 5,0) e em águas de nuvens (pH = 6,5), respectivamente, por ZATAR et al.⁽¹⁰⁷⁾ e PEHKONEN et al.⁽²⁾ em meio aquo-etanólico 50% (V/V). Íons Fe(II) complexam com a di-2-piridil cetona benzoilhidrazona apresentando duas bandas de absorção com máximos em 360 e 650 nm, enquanto que os complexos de Fe(III) apresentam somente uma banda com máximo em 360 nm.

Um fato contraditório observado diz respeito aos valores de absorvidades molares dos complexos de Fe(II) e Fe(III) com DPKBH, encontrados por ZATAR et al.⁽¹⁰⁷⁾ e PEHKONEN et al.⁽²⁾, que foram praticamente iguais nos dois comprimentos de onda, enquanto GARCIA-VARGAS et al.⁽¹⁰⁸⁾ encontraram valores de absorvidade molar diferentes. Em benzeno a pH = 5,0, outra contradição é verificada para os complexos de Fe(II) e Fe(III) com DPKBH. GARCIA-VARGAS et al.⁽¹⁰⁸⁾ encontraram diferentes absorvidades molares para Fe(II) ($4,4 \times 10^4 \text{ L.mol}^{-1}.\text{cm}^{-1}$) e Fe(III) ($6,1 \times 10^3 \text{ L.mol}^{-1}.\text{cm}^{-1}$), em 380 nm, e NAKANISHI e OTOMO⁽¹⁰⁹⁾ não observaram a reação entre Fe(III) e o DPKBH. SUÁREZ-IHA et al.⁽¹¹⁰⁾ determinaram a estequiometria, estrutura e a

termodinâmica dos complexos de Fe(II) e Fe(III) com DPKBH confirmando ser favorável a coordenação de ambas as espécies com este reagente.

A técnica de análise por injeção em fluxo vem sendo acoplada à espectrofotometria no UV-visível visando obter uma simultaneidade instrumental. A exemplo disto, pode-se citar o trabalho de YAMANE e GOTO⁽¹¹¹⁾ sobre a determinação de Fe(II) e ferro total (após redução com ácido ascórbico), pela complexação com 1,10-fenantrolina, e utilizando a técnica de análise em fluxo, para detecção seqüencial em amostra sintética.

LYNCH et al⁽¹¹²⁾ determinaram Fe(II) e Fe(III) em extratos de amostras geológicas adicionando 1,10-fenantrolina e tiocianato, respectivamente. As leituras das absorbâncias foram realizadas em 508 e 475 nm para Fe(II) e Fe(III), respectivamente, apresentando resposta linear no intervalo de $8,95 \times 10^{-6}$ a $2,15 \times 10^{-4}$ mol/L para Fe(II) e $8,95 \times 10^{-4}$ a $3,22 \times 10^{-3}$ mol/L para Fe(III).

Utilizando uma microcoluna contendo redutor de Jones para a redução de íons Fe(III) a Fe(II), FAIZULLAH e TOWNSHEND⁽¹¹³⁾ fizeram a especiação do ferro. A determinação espectrofotométrica foi realizada com o agente complexante 1,10-fenantrolina em tampão de citrato, com faixa de análise de 3 a 500 μ M. Métodos similares podem ser encontrados na literatura usando 1,10-fenantrolina^(114,115).

BLAIN e TREGUER⁽¹¹⁶⁾ descreveram um método espectrofotométrico em fluxo para a determinação de Fe(II) e Fe(III) em água do mar, utilizando uma coluna de preconcentração de C-18 impregnada com ferrozina, um reagente seletivo

para Fe(II). Para as determinações de Fe(III), usou-se ácido ascórbico como agente redutor.

Um método espectrofotométrico em fluxo, utilizando o tiocianato como agente complexante para Fe(III), foi desenvolvido por LOPES DA CONCEIÇÃO et al.⁽¹¹⁷⁾. A determinação de Fe(III) e ferro total foi feita em amostras de águas naturais, nas quais os íons Fe(II) eram oxidados a Fe(III) quando uma fração da amostra, injetada no sistema, era bombeada através de uma coluna de oxidação de DEAE Sephadex, saturada com o reagente de Folin-Ciocalteu's.

IV – O RESERVATÓRIO
GUARAPIRANGA

Construído pela antiga Light Serviços de Eletricidade S/A, entre 1906 e 1908, o reservatório Guarapiranga foi, inicialmente, destinado à regularização da vazão do rio Tietê para garantir o pleno funcionamento da Usina Hidroelétrica de Santana do Parnaíba. Porém, em 1927, seu uso foi estendido como manancial para abastecimento público da cidade de São Paulo. Atualmente, é o segundo maior produtor de água da Grande São Paulo fornecendo 20 % da água consumida, atendendo aproximadamente 3,5 milhões de habitantes⁽¹¹⁸⁾. A água que é captada no Guarapiranga é tratada nas ETA Alto da Boa Vista e Theodoro Ramos.

O Reservatório Guarapiranga faz parte da Bacia do Tietê, e está situado a 740 metros de altitude, à latitude sul de 23°43' e 46°32' de longitude oeste, possuindo uma área de drenagem de 631 km², área superficial de 34 km², volume de 195x10⁶ m³, profundidade média de 5 a 7 m e máxima de 13 m e um perímetro de 85 km⁽¹¹⁹⁾. Inclui os municípios de Embú-Guaçu, parte de São Paulo, Embu, Itapeperica, Cotia e Juquitiba, Figura 1.

Os principais formadores do Guarapiranga são os rios Guarapiranga, Lavra, Santa Rita, Embu-Guaçu, Embu-Mirim além de outros 17 córregos de menor extensão⁽¹²⁰⁾. A vazão média retirada do reservatório, para tratamento, é 13 m³/s sendo que a vazão efluente total é de aproximadamente 14 m³/s, e o tempo de residência de 180 a 200 dias⁽¹²¹⁾.

De acordo com o Decreto nº 10755, de 22 de novembro de 1977⁽¹²²⁾, as águas do Guarapiranga estão enquadradas como sendo de classe especial⁽¹²³⁾, ou seja, são águas destinadas, dentre outros usos preponderantes, à preservação das

comunidades aquáticas. Em águas desta classe não são admitidos lançamentos de efluentes, mesmo tratados.

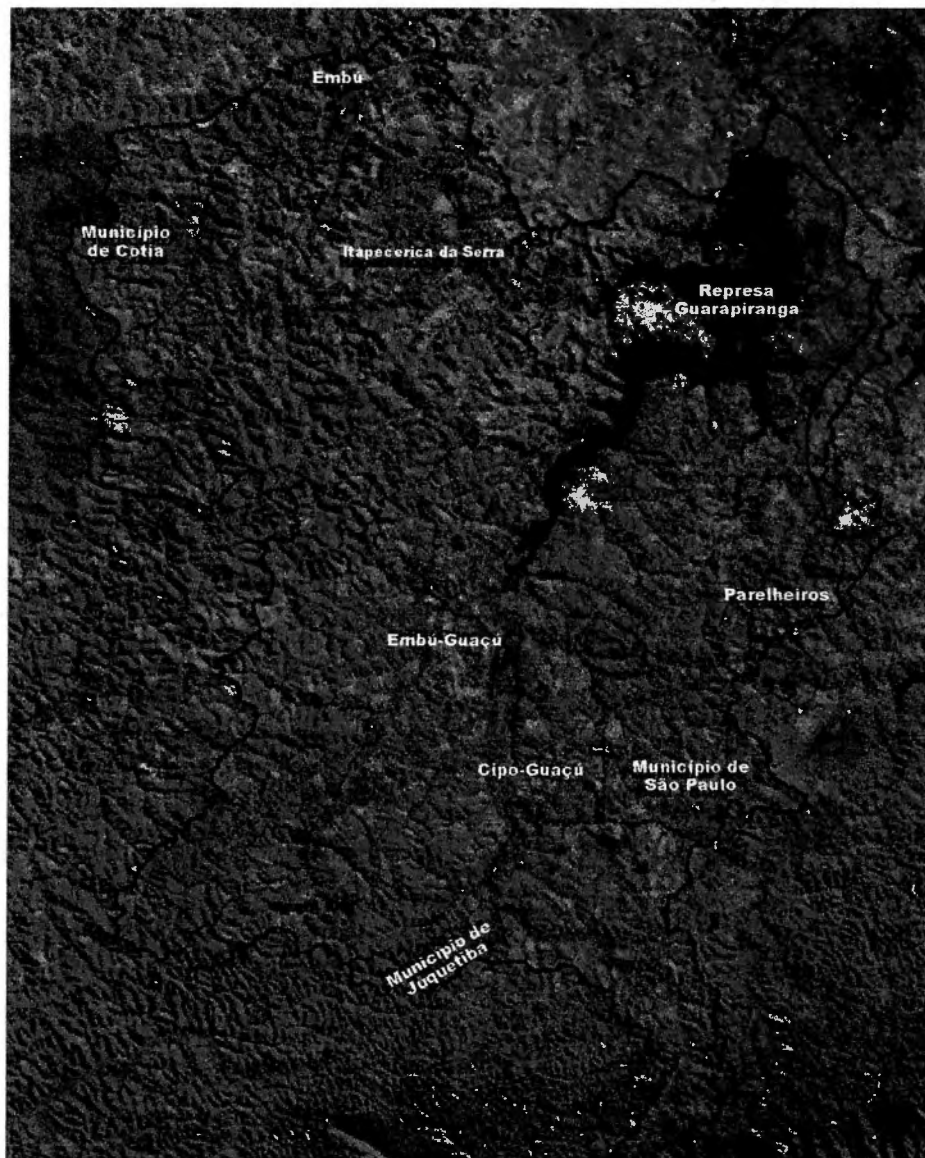


Figura 1 – Carta imagem de satélite da bacia do Guarapiranga. Escala 1:10.000.

No início de sua utilização, a bacia hidrográfica do Guarapiranga encontrava-se desocupada e se caracterizava pela presença de chácaras de recreio. Nas décadas de 40 e 50, a conclusão das obras de canalização e a reversão do rio Pinheiros, propiciaram a expansão da malha urbana metropolitana nas direções sul/sudoeste, marcada pela abertura de loteamentos populares. No entanto, na maior parte da bacia, predominava ainda o uso rural, com produção agrícola bastante expressiva, voltada ao abastecimento da Grande São Paulo⁽¹²⁴⁾.

Recentemente, o Consórcio CNEC e JNS⁽¹²⁵⁾ juntamente com órgãos como o CDHU, SABESP, CETESB, DAEE, EMPLASA e secretarias dos municípios, que compõem a bacia, fizeram um levantamento da região para estabelecer uma carta sobre o uso e ocupação do solo, apresentado de forma resumida a seguir⁽¹²⁴⁾.

Nos últimos 10 anos observou-se uma intensificação da ocupação, notadamente por favelas e loteamentos clandestinos, com ausência de infraestrutura urbana e conseqüentes problemas de poluição dos mananciais. Apesar de ser pequena a proporção de áreas urbanizadas e em expansão urbana (cerca de 27 %), a ocupação que vem ocorrendo nos últimos anos ultrapassa significativamente os parâmetros estabelecidos pela Lei de Uso e Ocupação do Solo do Município de São Paulo (1972). Esta ocupação vem deteriorando prioritariamente certas regiões da bacia, alterando a paisagem de forma significativa, com perda praticamente total dos atributos naturais, e propiciando a criação de zonas de insegurança e instabilidade social.

Na porção norte da bacia do Município de São Paulo ocorre uma ocupação diferenciada em relação às demais áreas. É uma região urbana compactada, formada por loteamentos pouco estruturados, com altas densidades de ocupação do solo. Neste município estão cadastrados 185 loteamentos irregulares, que vem se intensificando nas duas últimas décadas, com ocorrência de 30 e 18 % dos casos nos períodos de 1980/89 e 1990/95, respectivamente, correspondendo em média a 5,4 e 5,5 casos por ano, enquanto que no período de 1973/79 a ocorrência média foi de 2,43 casos por ano. No total de favelas (264 no total da bacia sendo 188 localizadas em São Paulo) encontradas neste município, 57,8% se instalaram na década de 70, 27,3 % na década de 80 e as demais implantadas anteriormente aos anos 70 e algumas nos anos 90.

Deve-se ressaltar que 28 % dos loteamentos irregulares ocorreram até o ano de 1972, ano da Promulgação da Lei de Uso e Ocupação do Solo no Município de São Paulo (nov. 1972). Isso demonstra o descaso do Poder Público ao deixar de fiscalizar estas áreas de mananciais tão importantes e em manter a qualidade das águas para abastecimento de grande parte da população.

Outros municípios no território da bacia possuem suas particularidades como Embu, Itapeccerica da Serra e Embu-Guaçu. Estes municípios constituem pequenos centros de serviços, com características diferenciadas de função dos processos de ocupação e de sua localização. Cidades, antes tradicionalmente ligadas às atividades rurais, incluindo recreação e lazer dos paulistanos nos fins de semanas, sofrem hoje a pressão da ocupação por bairros

dormitórios, que se alastram na periferia de São Paulo, seguindo os principais usos viários.

O Município de Embu constitui um centro urbano histórico, com produção de artesanato, implicando em notável afluxo turístico nos fins de semana. Esta movimentação condiciona a presença de um grande número de estabelecimentos comerciais. Os bairros residenciais são de certa forma dissociados da área central, com ocupação predominantemente de padrão médio-alto, mas contendo loteamentos de baixo padrão nas regiões periféricas e nas áreas de expansão urbana, acompanhando as áreas de uso predominantemente industrial, que se desenvolve ao longo da Rodovia Regis Bittencourt (BR 116).

Esta rodovia, acompanhada por loteamentos de baixo padrão, chega até o Município de Itapecerica da Serra, a noroeste. Este município tem sua área central assentada sobre o topo de uma colina, com uma ocupação mais recente. A leste da cidade estendem-se de forma descontínua bairros de padrão médio e alto, permanecendo remanescentes de ocupação rural e de vegetação natural. Ao longo da estrada Itapecerica-Santo Amaro desenvolve-se área em expansão urbana de alto padrão, com condomínios fechados. Entretanto, neste mesmo eixo viário, já próximo ao limite do município de Embú, ocorrem áreas de baixo padrão com presença de favelas.

O Município de Embu-Guaçu localiza-se num interflúvio pouco elevado, sendo delimitado a leste pela várzea do Embu-Guaçu e a oeste pelo ribeirão Santa Rita, desenvolvendo-se sobre sítio favorável à ocupação urbana. Constituí-se de centro de prestação de serviços e comércio, áreas de uso misto,

bairros de padrão médio e baixo e em expansão urbana ao longo da estrada Itapecerica/Embu-Guaçu (SP-234).

Assim, a ocupação urbana foi favorecida pelas facilidades de acesso introduzidos pelas melhorias do sistema viário, principalmente pela Rodovia Regis Bittencourt, indutora também da ocupação industrial. A maioria das indústrias estão localizadas ao longo desta rodovia que margeia o alto curso do Rio Embu-Mirim.

Os rios Embu-Guaçu e Embú-Mirim contribuem com a maior parcela de nutrientes. O reservatório tem servido, portanto, como receptor de efluentes domésticos, gerados por 6 municípios, de abastecimento industrial e receptor de efluentes líquidos industriais.

A CETESB cadastrou 688 empresas na região da bacia. Estima-se que apenas 5% se enquadram nas faixas de média ou grande empresas, enquanto que 20 % referem-se a unidades de prestação de serviços. O maior número destas empresas enquadra-se no tipo “metal/mecânica”. Entretanto, deve-se ressaltar que aí se encontram incluídas pequenas unidades de produção de parafusos, esquadrias metálicas, bijuterias, sendo inúmeras as oficinas mecânicas prestadoras de serviços⁽¹²⁴⁾.

O lago do Rio Guarapiranga foi o primeiro lago subtropical estudado metodicamente, durante dois anos, quanto às suas principais condições físico-químicas e biológicas. Além do interesse prático, técnico-sanitário e físico havia um interesse teórico, uma vez que não se dispunham de dados hidrobiológicos sobre lagos subtropicais coletados durante um período suficientemente longo⁽¹²⁶⁾.

Desde 1970, a SABESP e CETESB tem feito a monitoração para avaliação da qualidade da água deste reservatório. Este controle envolve tanto a bacia hidrográfica do reservatório, através de seus formadores, como o próprio corpo do reservatório. Nestes acompanhamentos detectou-se um aumento do aporte de matéria orgânica e nutrientes, no reservatório, e freqüentes processos de florações de algas com comprometimento da qualidade da água, encontrando-se, hoje, o reservatório em avançado estágio de eutrofização.

Elevadas concentrações de nutrientes na água, principalmente fosfato e compostos nitrogenados, aumento da intensidade luminosa e da temperatura da água (de 15 a 30°C), pH entre 6 e 9 e altas taxas de evaporação durante os períodos de estiagem contribuem, significativamente, para a proliferação excessiva das algas, em episódios denominados “blooms” ou florações⁽¹²⁷⁾.

As florações de algas são, geralmente, perceptíveis pela mudança da coloração da água, de cristalina para esverdeada, verde-azulada ou avermelhada devido à presença de grandes quantidades de células, filamentos e/ou colônias de algas. Quando essas florações são provocadas por algas azuis pode-se observar uma camada de vários centímetros de espessura de organismos, na superfície d'água⁽¹²⁷⁾.

Além dos riscos à saúde, essas algas, quando em grandes quantidades, podem causar entupimento de filtros nas estações de tratamento de água e também tornar a qualidade da água indesejável para o consumo, pois os metabólitos que produzem podem conferir gosto e odor à água.

Em 1990, esse processo de eutrofização do reservatório já era de domínio público, com a ocorrência de uma floração da alga *Anabaena solitaria*,

causadora de problema de gosto e odor na água e de suspeita de provocar distúrbios gastrointestinais na população da Região Metropolitana de São Paulo (R.M.S.P.), abastecida com água tratada do reservatório de Guarapiranga.

Os principais grupos de algas que podem provocar problemas de aspectos sanitários, são as cianofíceas, clorofíceas, diatomáceas e fitoflagelados, Figura 2, sendo as cianofíceas consideradas as mais problemáticas devido ao seu potencial tóxico e riscos à saúde pública.

O primeiro relato de intoxicação de animais causada por florações de cianofíceas é de 1878, na Austrália, onde morreram ovelhas, cavalos e cães. Desde então, inúmeros casos de intoxicação foram descritos em diversas partes do mundo, como Estados Unidos, Canadá, Argentina, Israel, China, África do Sul e países de Europa⁽¹²⁷⁾.

No Brasil, alguns casos de mortandades de animais domésticos e intoxicação humana foram relacionados às florações. Em 1996, cerca de 70 pessoas morreram devido à utilização de água contaminada por hepatotoxina produzida por algas, em uma clínica de hemodiálise na cidade de Caruaru.

O sulfato de cobre tem sido utilizado mundialmente como algicida nas concentrações de 0,2 a 0,4 mg/L até no máximo 1 mg/L^(128,129,130). A SABESP, para combater a floração de algas no reservatório de Guarapiranga, faz aplicações de algicidas, sendo o sulfato de cobre utilizado nas concentrações de 0,3 a 0,5 mg/L e o peróxido de hidrogênio 50% é utilizado na concentração de 1 a 1,5 mg/L para eliminação de cianofíceas filamentosas. Na Figura 3, são mostrados os gráficos que indicam as quantidades (em toneladas) de sulfato de cobre adicionado no

reservatório do Guarapiranga, no período de 1988 a 1998. A adição é feita por aspersão das soluções sobre a superfície, Figura 4, para atingir as concentrações mencionadas a um metro de profundidade⁽¹³¹⁾.

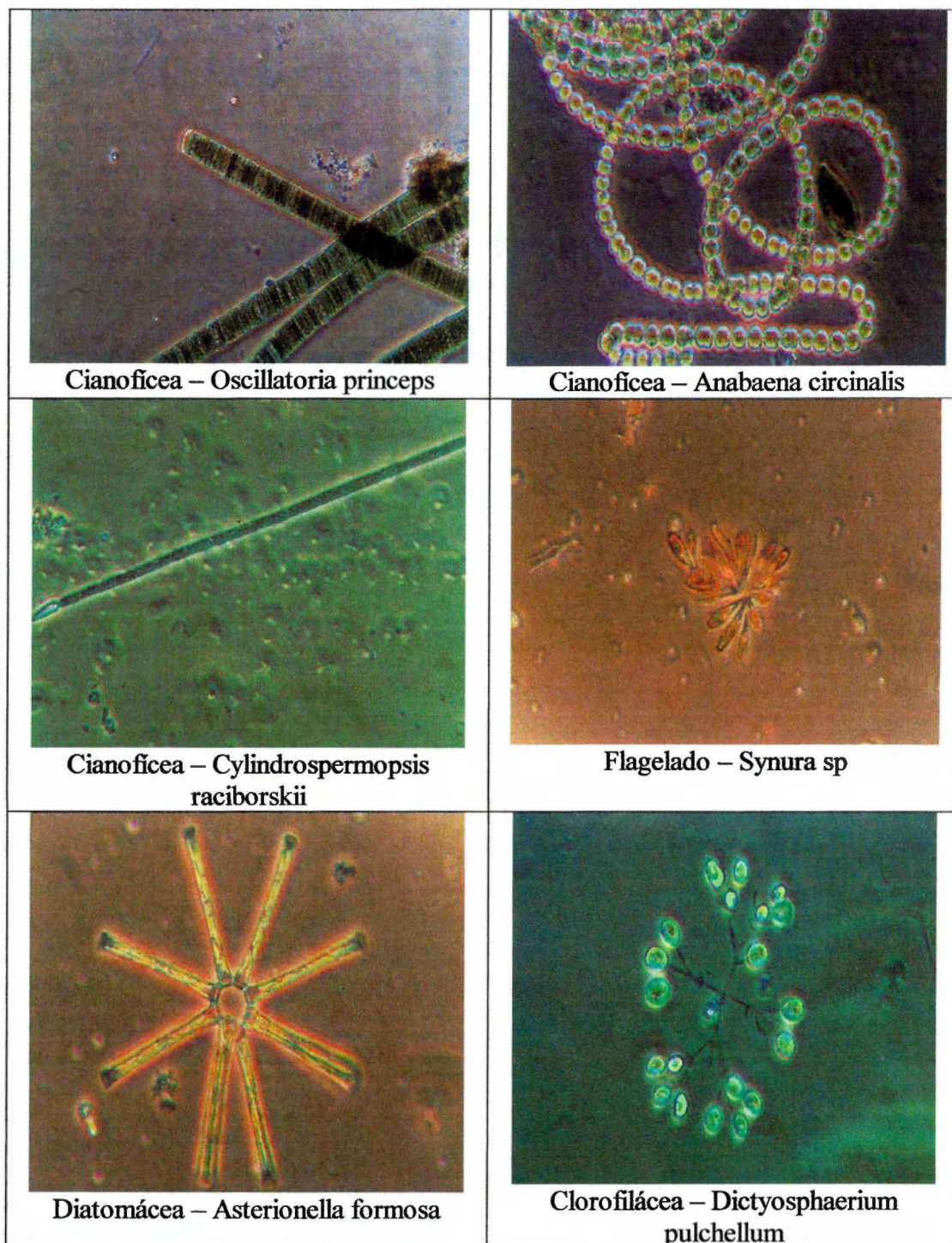


Figura 2 – Fotos de alguns gêneros de algas que podem causar problemas à saúde pública ou em estações de tratamento de água⁽¹²⁷⁾.

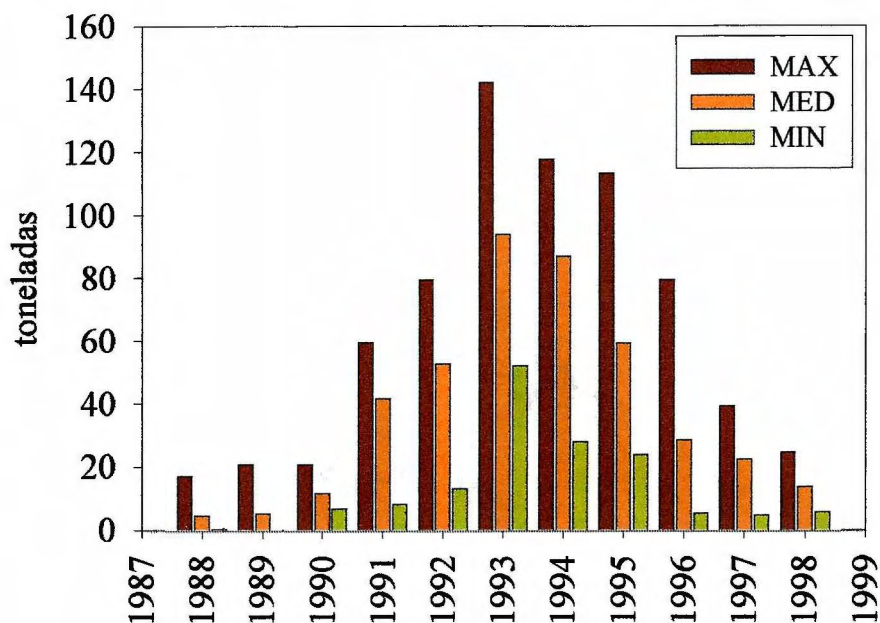


Figura 3 – Quantidades de algicida sulfato de cobre aplicadas no Reservatório de Guarapiranga no período de 1988 a julho de 1998 (fonte SABESP).

Embora os algicidas tenham sido necessários para controlar as florações, sua aplicação pode causar impactos negativos ao ambiente, tais como mortandades de peixe e de outros organismos mais sensíveis e que não são detectados a olho nu. Além disso, os aspectos econômicos também devem ser considerados, uma vez que o custo do tratamento de florações com algicidas é elevado.

Várias espécies de cobre coexistem simultaneamente sob condições naturais. Há evidências de que a toxicidade e biodisponibilidade desse elemento estejam ligadas à concentração de íons cúpricos livres (Cu^{2+}) e não diretamente à

concentração total de cobre⁽¹³²⁾. Entre os fatores que interferem na especiação química do cobre os principais são: a dureza, o valor de pH e a temperatura da água⁽¹³³⁾.



Figura 4 – Foto da adição de algicidas no Reservatório de Guarapiranga.

Segundo RIEMER e TOTH⁽¹³⁴⁾, pode-se esperar que altas taxas de remoção de Cu^{2+} ocorram nas águas de represas tratadas, especialmente se os sedimentos são ricos em argila ou matéria orgânica, ou ainda em locais que tenham grande circulação de água. Este é o caso do Guarapiranga, onde o sedimento é argiloso e ocorre grande circulação.

Em águas naturais com pH igual ou maior a 7⁽¹³⁵⁾, como no caso do Guarapiranga, o íon cúprico precipita na forma de carbonato e/ou hidróxido. Na eventual diminuição do pH, o que ocorre quando há estratificação e conseqüente anaerobiose nas regiões mais profundas do reservatório, o cobre precipitado seria

ressolubilizado, liberando os íons cobre novamente para a coluna d'água. Como a captação no Guarapiranga é feita em profundidade, parte do cobre é removido como material precipitado através do revolvimento do sedimento e parte como íons Cu^{2+} em solução.

Assim, o objetivo do presente trabalho foi desenvolver um novo método espectrofotométrico envolvendo análise em fluxo, para a determinação e especiação de íons Fe(II) e Fe(III) em águas de reservatórios com ambientes eutrofizados, bem como o controle da concentração de íons Cu(II) em água e sedimento.

V - PARTE EXPERIMENTAL

V.1 – REAGENTES E SOLUÇÕES

Todos os reagentes utilizados foram de grau analítico (P.A.) de procedência Merck, com exceção do sal de perclorato de ferro (III) da Aldrich. As soluções foram preparadas com água desionizada ou etanol absoluto.

A solução estoque de cobre(II) 0,07530 mol/L foi preparada pela dissolução do sal de sulfato de cobre(II) pentahidratado em água desionizada, e teve o valor de pH ajustado em 3,0 com ácido sulfúrico. A solução foi padronizada por eletrogravimetria⁽¹³⁶⁾, utilizando-se um aparelho de eletrólise da Thomas Scientific. As demais soluções de cobre(II) foram preparadas por diluição da solução estoque.

As soluções de Fe(II) 0,01467 mol/L e Fe(III) 0,01326 mol/L foram obtidas pela dissolução em água dos sais de sulfato ferroso amoniacal e perclorato de ferro(III), respectivamente. Ajustou-se o valor de pH em 1,7 com ácido sulfúrico. Padronizaram-se as soluções de ferro (II) e (III) por titulometria de óxido-redução, com solução de permanganato de potássio previamente padronizada com oxalato de sódio⁽¹³⁶⁾. A solução de ferro(III) foi padronizada após a redução a ferro(II) com zinco metálico em pó⁽¹³⁷⁾.

Para o preparo das soluções tampão empregaram-se vários reagentes⁽¹³⁸⁾, conforme a faixa de pH a ser estudada, tais como: ácido cloroacético e hidróxido de potássio (pH = 2,2 e 3,0), ácido fórmico e hidróxido de potássio (pH = 3,5), ácido acético e hidróxido de potássio (pH = 4,1 e 5,0) e ácido succínico e hidróxido de potássio (pH = 5,5 e 6,0).

Após a preparação do DPKBH, como descrito a seguir, considerou-se a di-2-piridil cetona benzoilhidrazona (DPKBH) como padrão primário. As soluções foram preparadas dissolvendo-se os cristais do ligante em etanol absoluto, devido à baixa solubilidade em água.

As soluções utilizadas no estudo dos interferentes, foram preparadas pela dissolução dos sais de cloreto ou nitrato, no caso de estudo de cátions, e sais de sódio ou potássio no estudo de ânions.

V.1.1 – Preparação do Ligante DPKBH e Síntese do Complexo Cu(II)/DPKBH

A preparação da di-2-piridil cetona benzoilhidrazona foi feita de acordo com o procedimento descrito por GARCIA-VARGAS et al.⁽¹⁰⁸⁾.

Quantidades equimolares de di-2-piridil cetona (10 g) e benzoilhidrazida (7,5 g) foram misturadas em 250 mL de etanol e adicionaram-se 10 gotas de ácido clorídrico concentrado. A mistura foi mantida em refluxo durante 1 h e, após resfriamento, adicionou-se água até uma razão 1:3 (volume de etanol: volume de água). Cerca de 600 mL de água foram adicionados. Solução de hidróxido de sódio foi também adicionada de maneira a aumentar o pH para 5. A mistura foi deixada em repouso por 24 h para formação lenta do precipitado. O precipitado formado foi, então, filtrado a vácuo, sendo recolhido num funil de Büchner e recristalizado por três vezes, em solução etanol-água. Para a recristalização foi adicionada uma quantidade mínima de etanol, a quente e sob agitação, para dissolução do precipitado formado. Após resfriamento, algumas gotas de água foram adicionadas para iniciar a precipitação. Os cristais resultantes foram

filtrados a vácuo e secos em dessecador com sílica gel, à temperatura ambiente. A reação que leva ao produto DPKBH está representada na Figura 5.

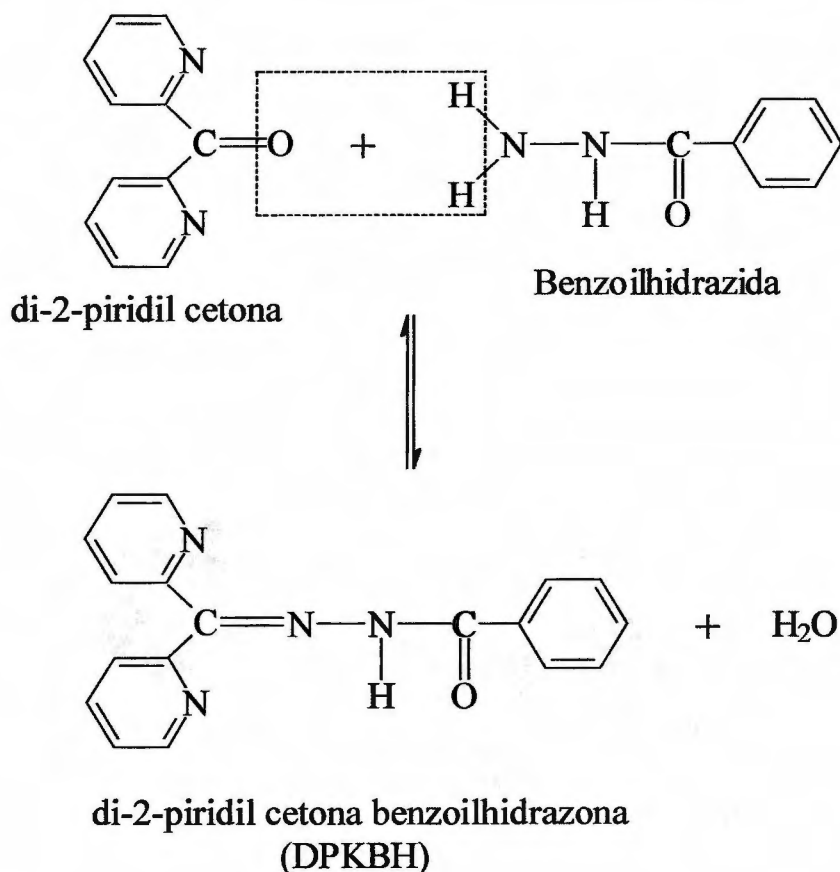


Figura 5 - Reação de preparação da di-2-piridil cetona benzoilhidrazona (DPKBH).

Para confirmar o produto obtido, o ponto de fusão do DPKBH recém sintetizado foi obtido, resultando em 137°C, não sendo concordante com a literatura^(108,109) (130-132°C). Entretanto, o espectro de massas e de infravermelho, bem como o espectro em meio aquo-etanólico do DPKBH foi registrado, sendo todos concordantes com a estrutura do produto formado. Deve-se ressaltar que as diversas vezes em que foi feita a preparação do ligante DPKBH, o ponto de fusão foi sempre 137-138 °C.

O Complexo Cu(II)/DPKBH foi sintetizado a partir da mistura de cobre eletrolítico em pó e solução etanólica de DPKBH e água em volumes iguais. Após agitação magnética durante 2 h, a mistura foi filtrada em papel de filtro quantitativo e mantida em repouso para evaporação do solvente durante 7 dias. O restante da solução foi desprezada, e os cristais obtidos foram lavados com etanol absoluto e secos a temperatura ambiente. Os cristais obtidos, Figura 6, apresentaram coloração roxo-acastanhado e forma de losangos.

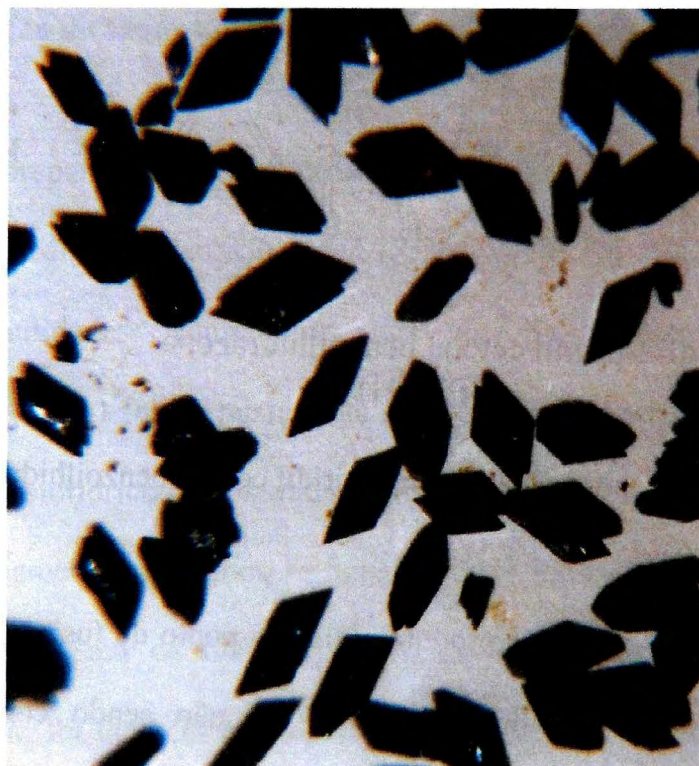


Figura 6 – Cristais do complexo Cu(II)/DPKBH

V.2 – INSTRUMENTAÇÃO E ACESSÓRIOS

Utilizou-se um espectrofotômetro HITACHI U-3000 e cubetas de quartzo de caminho óptico igual a 1 cm, para medidas de absorbância. Medidor de pH Metrohm, modelo 654, e eletrodo de vidro combinado Metrohm, para ajuste do valor de pH das soluções tampão e demais medidas. Aparelho para medida de ponto de fusão tipo Koffler, marca Thomas Scientific.

Os espectros de massas foram obtidos em um espectrômetro de massa modelo Mat-90 da Finnigan-Mat. Os espectros de infravermelho (FTIR) foram obtidos em um espectrofotômetro série 1750 da Perkin-Elmer (500-4000 cm^{-1} em discos de KBr).

Já os espectros de massas com ionização por electrospray foram obtidos com um espectrômetro de massas da Micromass Platform II, com o sistema de injeção da amostra modificado⁽¹³⁹⁾. O equipamento foi otimizado em condições brandas, isto é, baixas tensões no cone de amostragem, a fim de se evitar a geração de íons por CID (dissociação induzida por colisão). Os espectros de massas foram obtidos a partir de uma solução 40% de etanol, 40% de metanol e 20 % de água contendo 1mg/mL do complexo. Todos os experimentos foram realizados nas seguintes condições: Tensão no capilar 1500V, tensão no contra eletrodo 250 V, tensão no cone de amostragem a 20 e 30V, vazão de amostra 10 $\mu\text{L}/\text{min}$. Vazão de gás secante: 150 L/h para o Cu(II) e 300 L/h para o ferro. Vazão do gás para formação do spray de 20 L/h.

As curvas DSC e TG/DTG foram obtidas em uma Célula DSC-50 e Analisador Termogravimétrico TGA-50, respectivamente, da marca Shimadzu. Para realização das curvas TG/DTG pesou-se, em cadinhos de platina, massa de amostra de 3,256 mg do ligante DPKBH e 3,176 mg do complexo Cu(II)/DPKBH. Usou-se atmosfera dinâmica de ar (50 mL/min.), com razão de aquecimento de 10°C/min, em um intervalo de temperatura de 25 a 600°C para o ligante DPKBH e de 25 a 900°C para o complexo Cu(II)/DPKBH. Já as curvas DSC foram obtidas em atmosfera dinâmica de N₂ (50 mL/min.), com razão de aquecimento de 10°C/min em cápsula de alumínio, com massa de amostra de 1,420 mg do DPKBH e 1,430 mg do complexo Cu(II)/DPKBH, e intervalo de temperatura de 25 a 600°C.

Para determinação de íons Cu(II) em amostras de aguardente, como método de referência, utilizou-se um espectrômetro de absorção atômica com chama (F.A.A.S.) da Perkin-Elmer, modelo 3110.

V.2.1 – Sistema de Análise em Fluxo

Para o desenvolvimento do método espectrofotométrico em fluxo, empregando multicomutação e amostragem binária, propôs-se um esquema composto de um microcomputador Pentium 166 MHz, conversor analógico/digital (interface PCL 711S), bomba peristáltica Ismatec IPC-8, 6 válvulas solenóides de 3 vias Cole Parmer NR225T031, espectrofotômetro Micronal B-352, sistema de detecção à base de LED e fotodiodo de silício, e reatores (bobinas helicoidais). O

diagrama de blocos apresentado na Figura 7 mostra as interligações dos componentes.

A interface de controle é responsável pelo acoplamento entre o microcomputador e os dispositivos que são controlados ou monitorados. Assim, o microcomputador aciona as válvulas solenóides e monitora as saídas analógicas do espectrofotômetro e do fotômetro à base de LED. Esta interface possui um fundo de escala de ± 5 V para conversão analógica/digital.

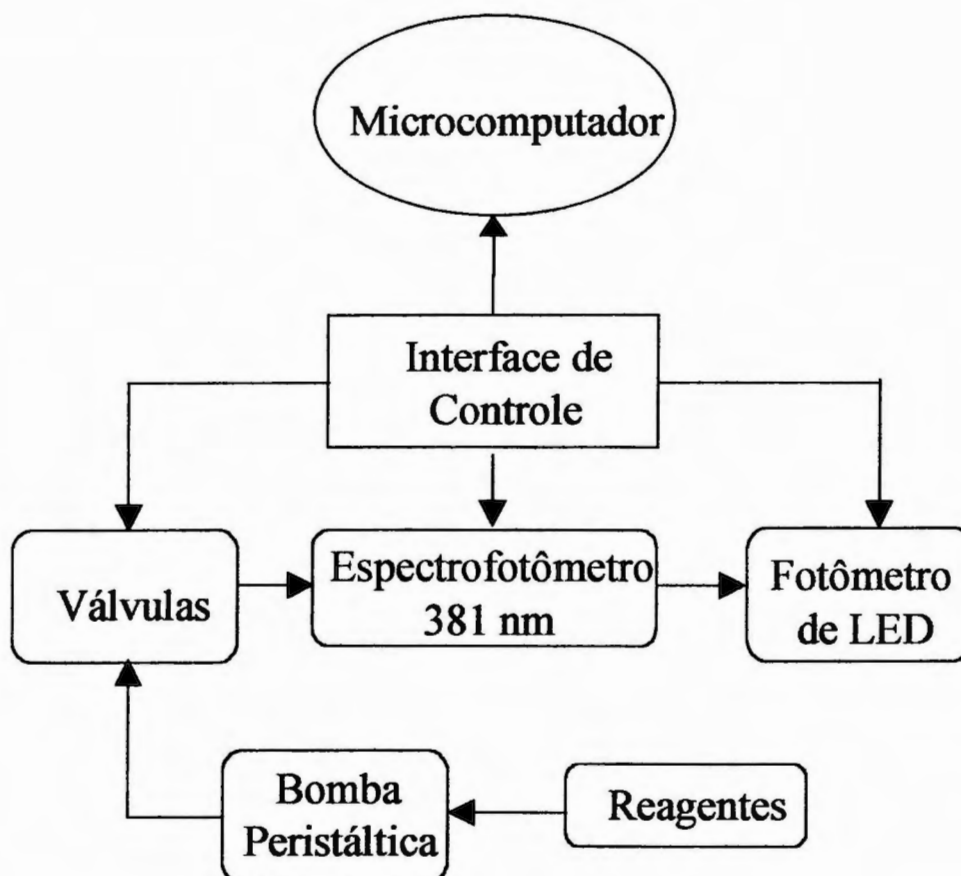


Figura 7 – Diagrama de blocos do sistema de análise em fluxo para a determinação sequencial de íons Fe(II), Cu(II) e Fe(III) com DPKBH.

V.2.1.1 – Detector Fotométrico Empregando LED como Fonte de Radiação

Como alternativa ao uso de um espectrofotômetro de varredura, do tipo arranjo linear de diodos, com o qual seria possível efetuar determinações em diferentes comprimentos de onda, simultaneamente, propôs-se o uso de um fotômetro construído à base de LED como fonte de radiação e fotodiodo de silício como detector, para monitorar a determinação de íons Fe(II) e ferro total em 658 nm. Já para monitorar a determinação de íons Cu(II), em 381 nm, sugeriu-se a utilização de um espectrofotômetro de pequeno porte (Micronal B-352).

A Figura 8 mostra o espectro de emissão do LED vermelho empregado como fonte de radiação, no detector construído para a determinação de íons Fe(II) e ferro total. O uso do LED vermelho mostra-se adequado para o sistema proposto, pois uma das bandas do complexo Fe(II)/DPKBH é registrada em 658 nm, que é muito próximo ao máximo de emissão do LED vermelho, em 660nm.

Já na Figura 9 é mostrado o esquema eletrônico do sistema de detecção construído para compor o módulo de análise. O fotômetro constitui um sistema composto por um LED vermelho como fonte de luz e por um fotodiodo de silício, com amplificador integrado. Tem-se ainda, uma fonte de alimentação de 12 V e um circuito elétrico que conecta os fotosensores ao amplificador.

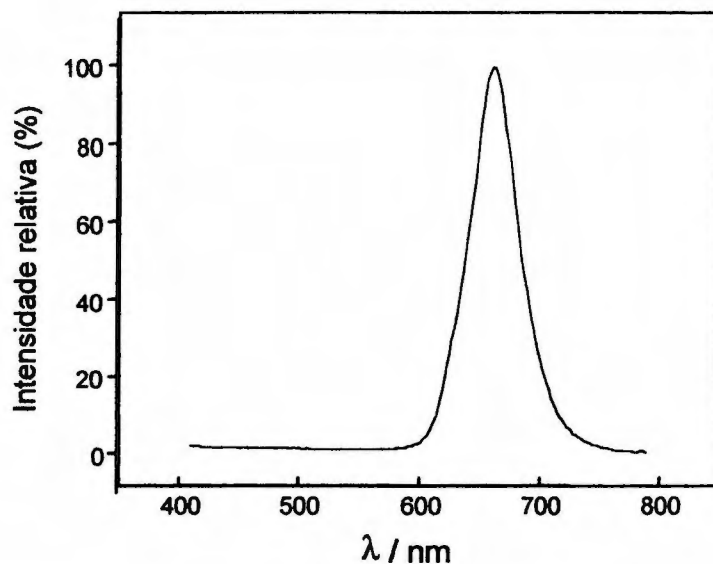


Figura 8 - Espectro de emissão do LED vermelho empregado como fonte de radiação, no detector construído para a determinação de íons Fe(II) e ferro total. Máximo de emissão em 660nm.

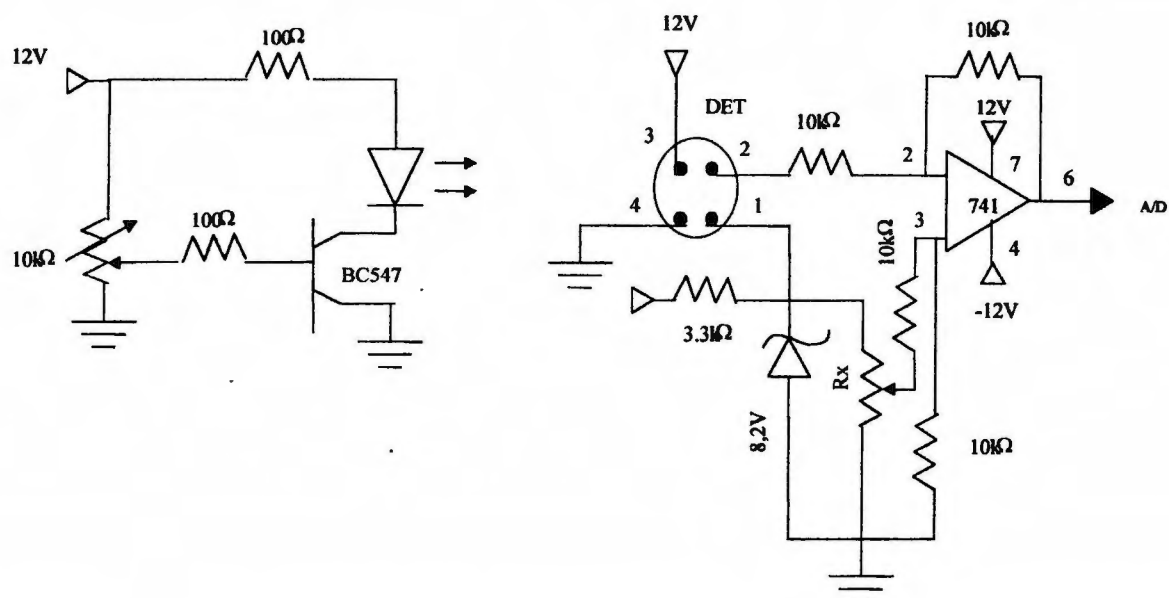


Figura 9 – Circuito eletrônico do fotômetro empregado para medidas na região do visível (660 nm – LED vermelho). DET – fotodiodo de silício (RS 308-067); LM741 – amplificador operacional; BC547 – transistores; ADC – entrada do conversor analógico/digital da interface PCL-711S.

O amplificador operacional (LM 741) está configurado para trabalhar com ganho unitário e sua função é fazer o casamento de impedância e permitir o ajuste da linha base. Este ajuste é feito selecionando-se, por meio do resistor variável (R), a diferença de potencial de referência aplicada à entrada não inversora do amplificador operacional.

O sinal analítico é obtido através do pino 2 do fotodetector, o qual é proporcional à intensidade de radiação que chega ao mesmo. Assim, a presença do composto de interesse na cela de fluxo causa uma diminuição da intensidade do feixe de radiação, em consequência ocorre um decréscimo na magnitude da diferença de potencial no pino 2. Para que este sinal seja positivo, o pino 2 foi acoplado à entrada inversora do amplificador operacional. O sinal analítico é a diferença de potencial lida na saída do amplificador proporcional (pino 6) e é proporcional a diferença entre os valores das entradas inversora e não inversora. Assim, para zerar a leitura da linha de base, aplica-se à entrada não inversora, por meio do resistor variável R, uma diferença de potencial igual à gerada pelo fotodetector (pino 3). O diodo Zener em série com o resistor de $3,3 \text{ k}\Omega$ forma um divisor de tensão onde o Zener mantém um valor constante de $8,20 \text{ V}$, o qual é a referência utilizada pelo fotodetector. Uma fração desta diferença de potencial é selecionada por meio de R para ajustar a linha de base. O resistor variável R_1 é usado para ajustar a intensidade de emissão do LED, pois dependendo da solução usada como transportadora, pode ser necessário o ajuste. Excesso de radiação pode saturar o detector e este não responde em função da concentração. Por outro lado

uma diminuição excessiva da intensidade de radiação diminui a faixa de resposta linear.

Em síntese, o sinal analítico resulta do fato de que parte da radiação emitida pelo LED é absorvida pela solução colorida contida na cela de fluxo em quantidade proporcional à concentração do analito. O excedente de radiação é dirigido ao fotosensor que a converte em diferença de potencial. O sinal elétrico, então amplificado, é digitalizado por um conversor analógico/digital de 12 bits. O dado digital é guardado pelo microcomputador para processamento posterior.

V.2.1.2 – Descrição do Programa de Execução

Para controlar o sistema proposto, via microcomputador, um programa na linguagem QuickBasic 4.5 foi escrito (Apêndice). O programa gerencia o acionamento das válvulas solenóides e processa a aquisição de dados. Os sinais gerados no fotodetector são arquivados e processados posteriormente para um programa gráfico, como por exemplo Origin, para tratamento e impressão.

Na Figura 10 é apresentado um fluxograma das etapas executadas pelo programa. As variáveis solicitadas pelo microcomputador quando o programa é inicializado são as seguintes: tempo de entrada da amostra; tempo de entrada do reagente; tempo de entrada do tampão; número de ciclos do reagente e do tampão; tempo de entrada do mascarante 1; tempo de entrada do mascarante 2; número de ciclos do mascarante 1; número de ciclos do mascarante 2; número de replicatas e tempo de leitura.

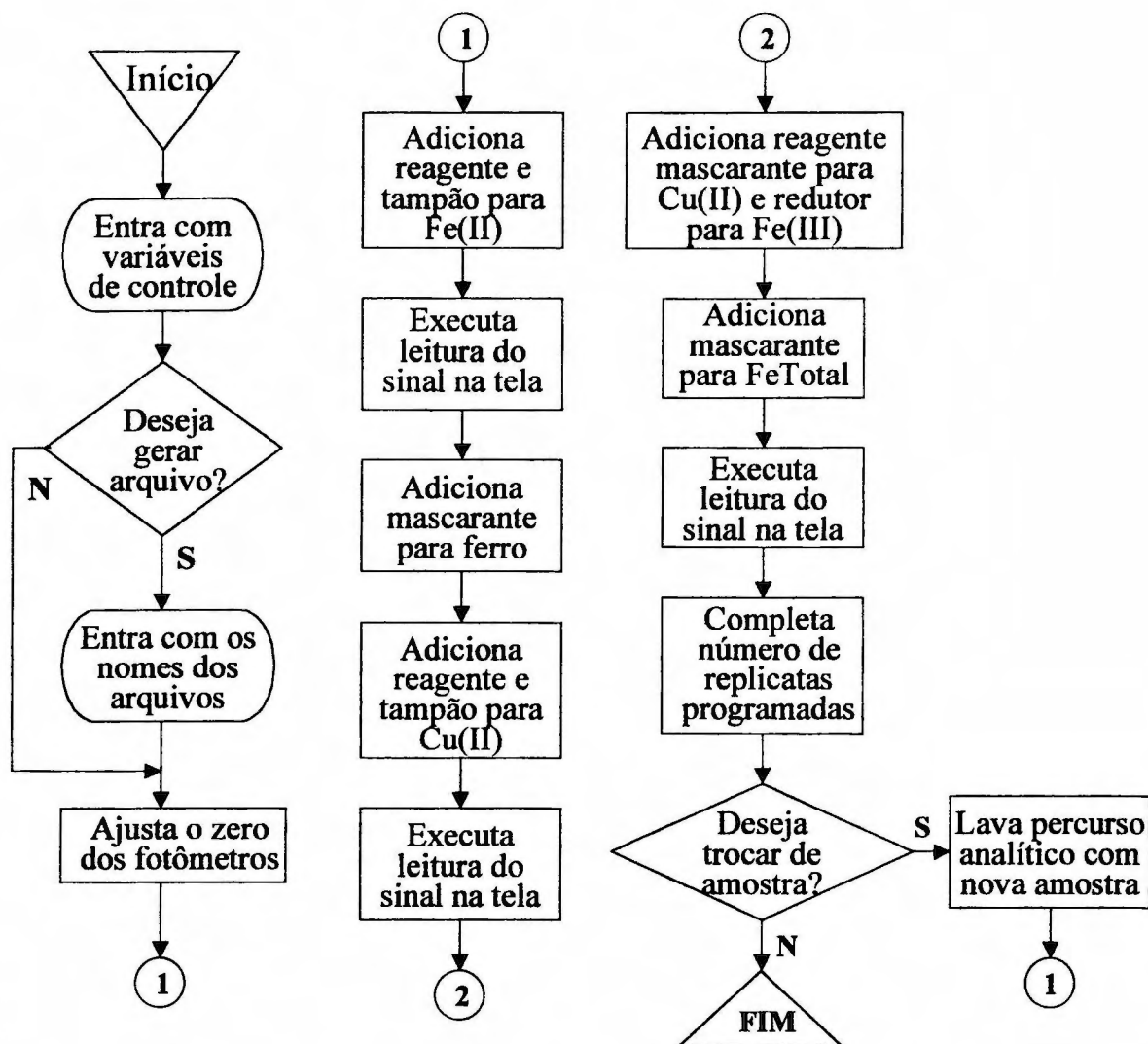


Figura 10 – Fluxograma do programa de controle e aquisição de dados.

O programa executa simultaneamente as sub-rotinas de inserção de mascarantes, reagente e de aquisição de dados. Através da saída analógica do fotômetro, que é acoplada ao conversor analógico/digital da interface PCL-711S, o microcomputador coleta os dados referentes ao sinal gerado. Uma vez que um conversor A/D de 12 bits apresenta um tempo de conversão que pode chegar até 25 μ s, esta alta velocidade de conversão foi explorada para definir cada ponto do sinal analítico gerado como sendo a média de 50 leituras⁽¹⁴⁰⁾.

V.2.1.3 – Diagrama de Fluxos do Módulo de Análise

O diagrama de fluxos do módulo de análise apresentado na Figura 11 contém seis válvulas solenóides de 3 vias e três reatores, sendo dois para os agentes mascarantes, B1 e B2, e outro para o desenvolvimento da reação com o reagente DPKBH, B3. As válvulas encontram-se todas desligadas.

Para a determinação de Fe(II) são adicionados por amostragem binária, volumes de reagente e tampão no fluxo da amostra, acionando-se por tempos pré-determinados as válvulas V_1+V_5 para adição do reagente DPKBH, V_1+V_6 para adição do tampão e V_1 para adição de uma nova fração da amostra. Repete-se estes ciclos por um número de vezes previamente determinado, obtendo-se com isso, uma zona de reação fracionada que sofre o processo de homogeneização na bobina de reação (B₃). Após isso é feita a leitura em 660 nm (detector a base de LED).

Na determinação de Cu(II), inicialmente são adicionados por amostragem binária volumes de solução mascarante para os íons ferro, por acionamento alternado das válvulas V_1+V_3 para adição do mascarante e na posição de repouso, para adição de uma fração da amostra. Repete-se este ciclo por um número de vezes previamente determinado, e na bobina de mistura (B₁) ocorre o mascaramento dos íons Fe(II). Em seguida, são adicionados volumes de reagente e solução tampão de ácido succínico/succinato, acionando-se por tempos pré-determinados as válvulas V_1+V_5 para adição do reagente DPKBH, V_1+V_6 para adição do tampão e V_1 para adição de uma nova fração da amostra. Após

homogeneização na bobina de reação (B_3), faz-se a leitura em 381 nm (espectrofotômetro Micronal B-352).

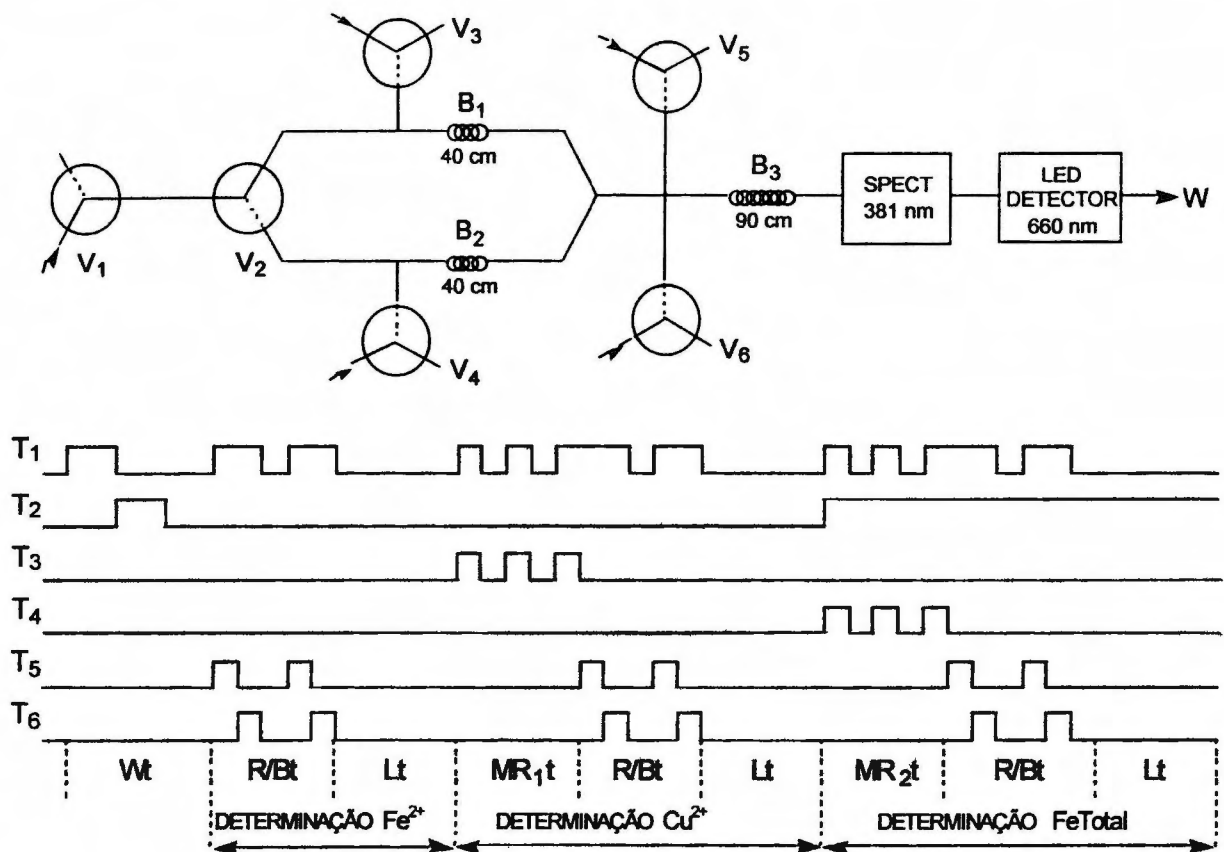


Figura 11 – Diagrama de fluxo para a determinação espectrofotométrica de Fe^{2+} , Fe total e Cu^{2+} . V_1 a V_6 = válvulas solenóides de 3 vias; B_1 = bobina de mascaramento para ferro e B_2 = bobina de mascaramento para cobre e redução de Fe(III) a Fe(II); B_3 = bobina de reação; SPECT = espectrofotômetro; W = descarte; T_1 to T_6 = tempos de acionamento das válvulas solenóides onde o nível mais alto indica que a válvula está ligada. Wt = tempo de lavagem com a amostra; R/Bt = reagente e solução tampão; Lt = tempo de aquisição de dados; MR_{1t} = adição do mascarante para ferro; MR_{2t} = adição do mascarante para cobre e redutor de Fe(III) a Fe(II); S = amostra.

Já para a determinação de Ferro total, e por diferença encontrar a concentração de Fe(III), volumes da solução redutora de Fe(III) a Fe(II) e mascarante para Cu(II) são adicionados por ciclos de amostragem binária, acionando-se alternadamente a seqüência de válvulas $V_1+V_2+V_4$ para adição do mascarante e V_2 para adição de uma nova fração da amostra. O reagente e a solução tampão são adicionados como nos outros casos, mantendo-se durante toda a determinação a válvula V_2 acionada. Finalmente faz-se a leitura do sinal analítico em 660 nm. A cada troca de amostra, o sistema é totalmente lavado com a própria solução amostra ou, se necessário, previamente com solução de HNO_3 0,01 mol/L.

V.2.2 – Coleta e Pré-Tratamento das Amostras de Água e Sedimento

Foram realizadas duas campanhas de amostragem em cinco pontos pré-estabelecidos do reservatório do Guarapiranga, Figura 12. Na primeira, realizada em 13 de outubro de 1998, foram coletadas apenas amostras de sedimento. Já na segunda, realizada em 27 de março de 2000, foram coletadas amostras de água e de sedimento. Ambas as campanhas foram realizadas com participação de equipe da SABESP.

A Figura 12 mostra, em vermelho, os pontos de coleta no reservatório de Guarapiranga, que são descritos a seguir:

- Ponto GU-101 – localizado próximo a captação de água, Figura 13, entre as torres de transmissão;

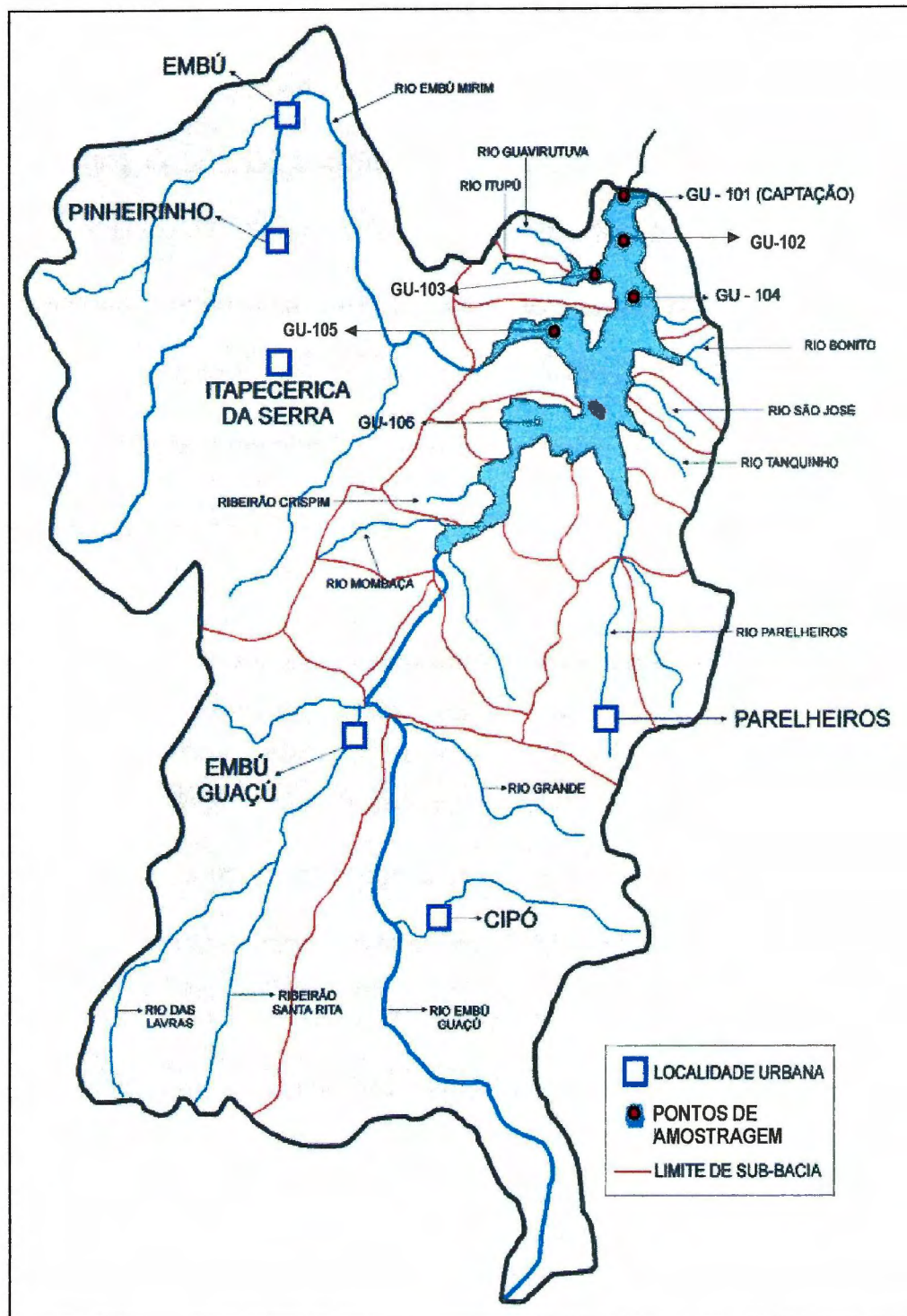


Figura 12 – Pontos de amostragem de água e sedimento no reservatório de Guarapiranga. Adaptado de PATELLA⁽¹²⁴⁾.

- Ponto GU-102 – localizado a uma distância de 200 m da encosta e a ilha das Formigas;
- Ponto GU-103 – localizado entre a encosta e o Yatch Clube Paulista, na desembocadura do rio Guavirutuba e do rio Itupu;
- Ponto GU-104 – localizado no corpo central do reservatório, entre o conjunto de casas e o conjunto de prédios;
- Ponto GU-105 – localizado no braço do reservatório que recebe as águas do rio Embu-Mirim, entre o galpão do campo de treinamento de um clube e a torre de rádio.

Como foram realizadas duas campanhas, os pontos amostrais foram georeferenciados através de valores de latitude(S) e longitude(W), obtidos por meio de medidas com GPS (Global Positioning System) GARMIN modelo GPS II. Este procedimento foi adotado para que se pudesse efetuar a comparação, e verificar possíveis variações nas concentrações de cobre e ferro presentes no sedimento, entre as duas coletas.

Para a coleta das amostras de sedimento, utilizou-se uma draga tipo Petit Ponar de aço inoxidável, Figura 14. Considerou-se apenas a fração central do sedimento, na qual foram feitas medidas do potencial redox (Eh), com eletrodo de platina. Com o intuito de se evitar contaminações, as amostras foram retiradas da draga com espátula de polietileno, acondicionadas em sacos plásticos e preservadas em ambiente refrigerado.



Figura 13 – Ponto de captação de água da SABESP no Reservatório de Guarapiranga.

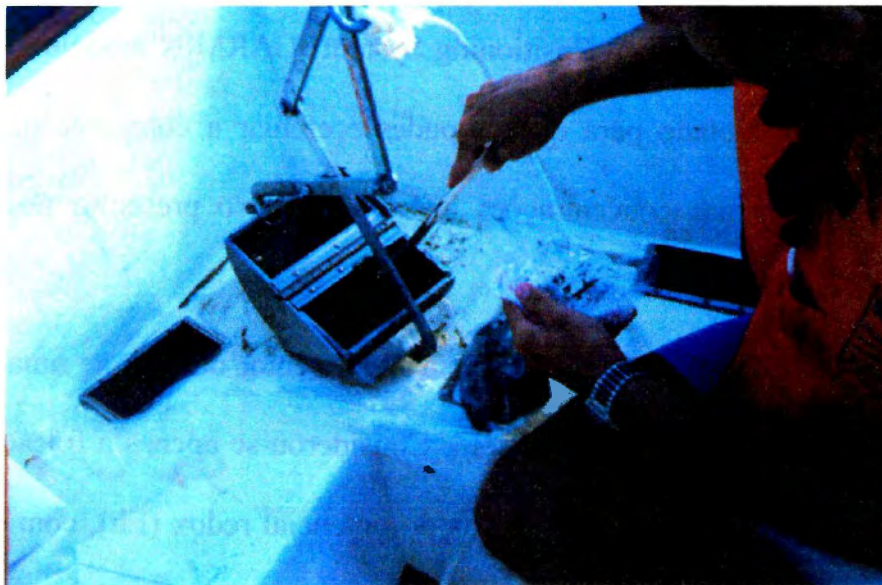


Figura 14 – Foto da draga Petit Ponar, utilizada nas coletas de sedimento do Reservatório de Guarapiranga.

As amostras de água foram coletadas em frascos de polietileno de 1 L e os seguintes parâmetros foram considerados: temperatura da água, pH, condutividade e oxigênio dissolvido, com medidores portáteis da WTW. Após as medidas que foram realizadas no próprio local, ajustou-se o valor de pH em $1,8 \pm 0,1$, com HNO_3 1:1 e acondicionaram-se as amostras em ambiente refrigerado.

As amostras de água foram filtradas em Millex® com membrana de polycarbonato de 0,45 μm . Após isso, as mesmas foram mantidas em refrigerador até o momento da análise.

No caso das amostras de sedimento, estas foram secas em estufa a 60°C e em seguida trituradas em almofariz de porcelana e pistilo, e peneiradas em peneira de nylon de 62 μm . Esta faixa de granulometria de 62 μm representa a fração de argila e silte da amostra, na qual provavelmente estão concentrados as maiores quantidades dos metais pesados e outros.

Para a solubilização das amostras de sedimento utilizou-se o método EPA-3051 (lixiviado), o qual é aplicado com o intuito de se determinar os elementos potencialmente disponíveis presentes na amostra, dentre eles Cu(II) e ferro total. O método de solubilização consiste na adição de 10 mL de HNO_3 concentrado a 0,5 g de amostra seca, em vaso de Teflon® selado empregando-se aquecimento em forno de microondas. A seguir as amostras são filtradas a vácuo em membrana de polycarbonato HA de 0,45 μm e avolumadas para 50 mL. Foram feitas solubilizações em duplicata para cada ponto amostrado.

VI - RESULTADOS

E

DISCUSSÃO

VI.1 – ESTEQUIOMETRIA E CARACTERIZAÇÃO ESTRUTURAL DO COMPLEXO Cu(II)/DPKBH

A partir dos cristais obtidos do complexo Cu(II)/DPKBH e do ligante DPKBH, conforme descrito anteriormente, foram feitos estudos para se tentar propor a estrutura do complexo Cu(II)/DPKBH, bem como a sua estequiometria. Para tal, fez-se uso de várias técnicas instrumentais de análise, tais como: espectrometria no infravermelho, espectrometria de massas, análise térmica, análise elementar e difração de raios-X.

VI.1.1 – Espectrometria no Infravermelho

A radiação de infravermelho refere-se, de modo geral, à parte do espectro eletromagnético que está compreendida entre as regiões do visível e microondas^(141,142). Em análise instrumental, geralmente para compostos orgânicos, a região de interesse prático está limitada entre 4000 e 400 cm^{-1} .

O espectro de infravermelho permite, através de determinadas frequências, localizar a presença ou não de um certo grupo funcional. Entretanto, alguns grupos absorvem na mesma frequência, apresentando sobreposição de bandas, o que ocorre comumente em estruturas complexas. Mas, com o auxílio de outras técnicas como a espectrometria de massas e RMN, o infravermelho é de fundamental importância para se tentar identificar e propor a estrutura de compostos desconhecidos.

No presente trabalho, a técnica de infravermelho irá auxiliar na determinação estrutural dos complexos de Cu(II) com DPKBH, através da comparação do espectro do complexo com o do ligante DPKBH e observação das bandas características das ligações C=O e N-H. No caso destas ligações, tanto no complexo quanto no ligante, sua presença ou não pode ser explicada pela existência do equilíbrio tautomérico⁽¹⁰⁸⁾, Figura 15, da molécula de DPKBH em solução.

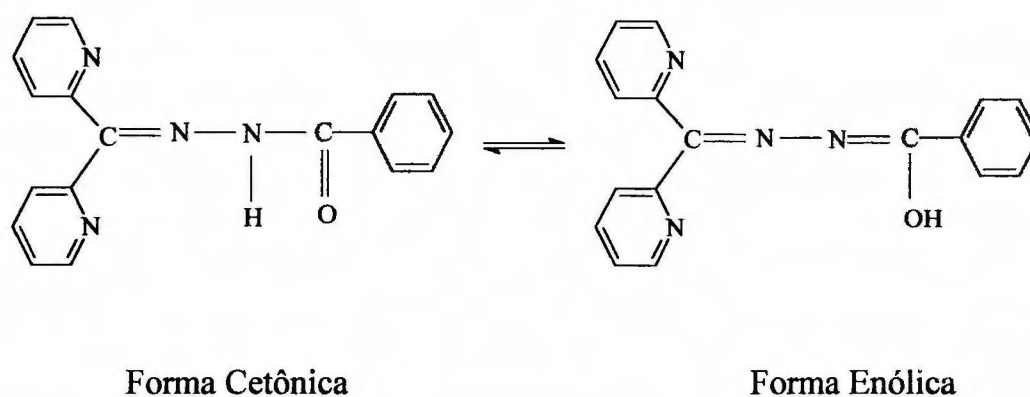


Figura 15 - Equilíbrio tautomérico da molécula de DPKBH⁽¹⁰⁸⁾.

Então, foram registrados espectros de infravermelho do complexo Cu(II)/DPKBH e do DPKBH mostrados nas Figuras 16 e 17, respectivamente.

Na Tabela I estão representadas as possíveis atribuições para as principais frequências de infravermelho (número de onda) de grupos característicos do complexo Cu(II)/DPKBH e do DPKBH.

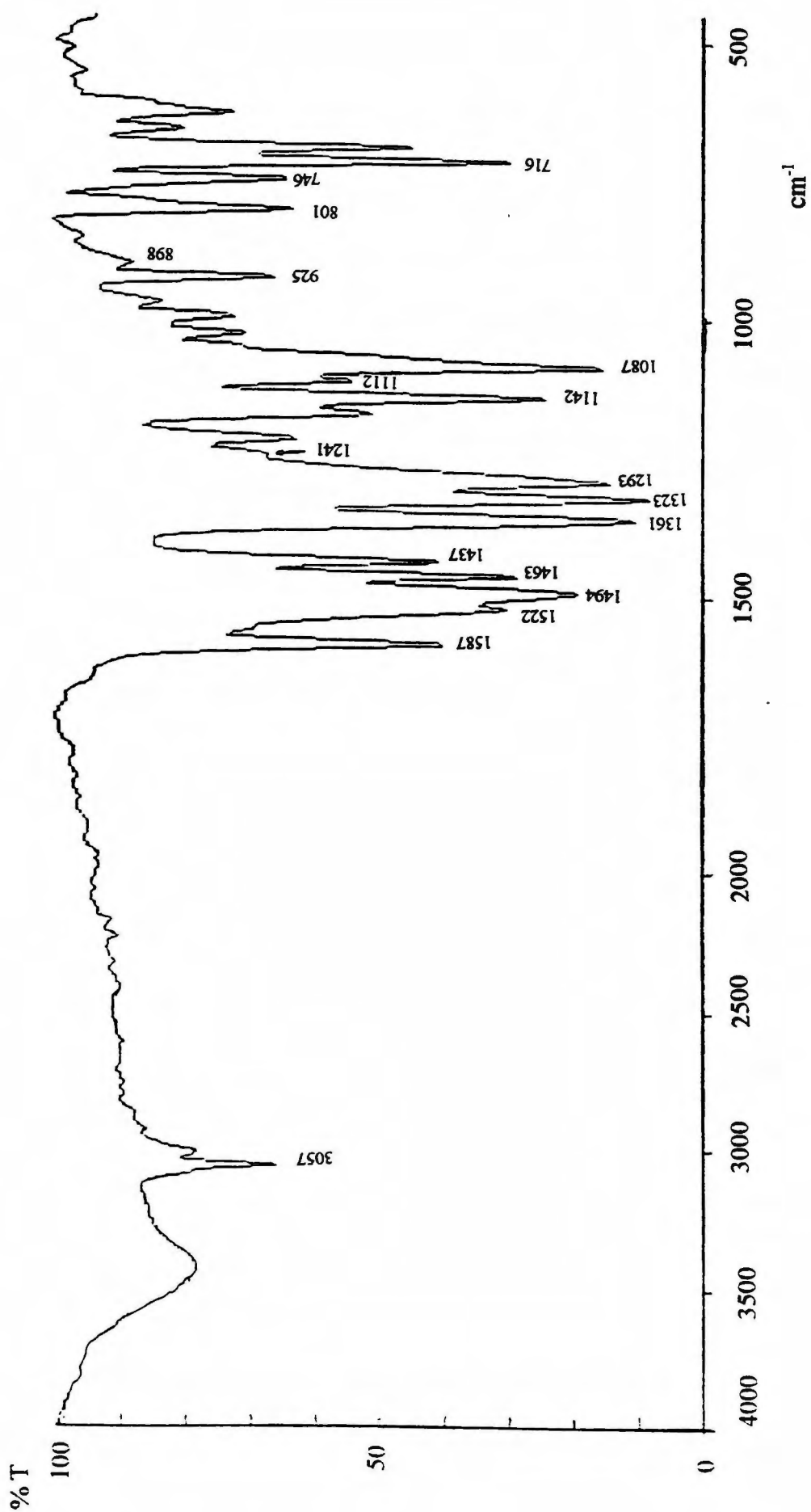


Figura 16 - Espectro de infravermelho do complexo Cu(II)/DPKBH.

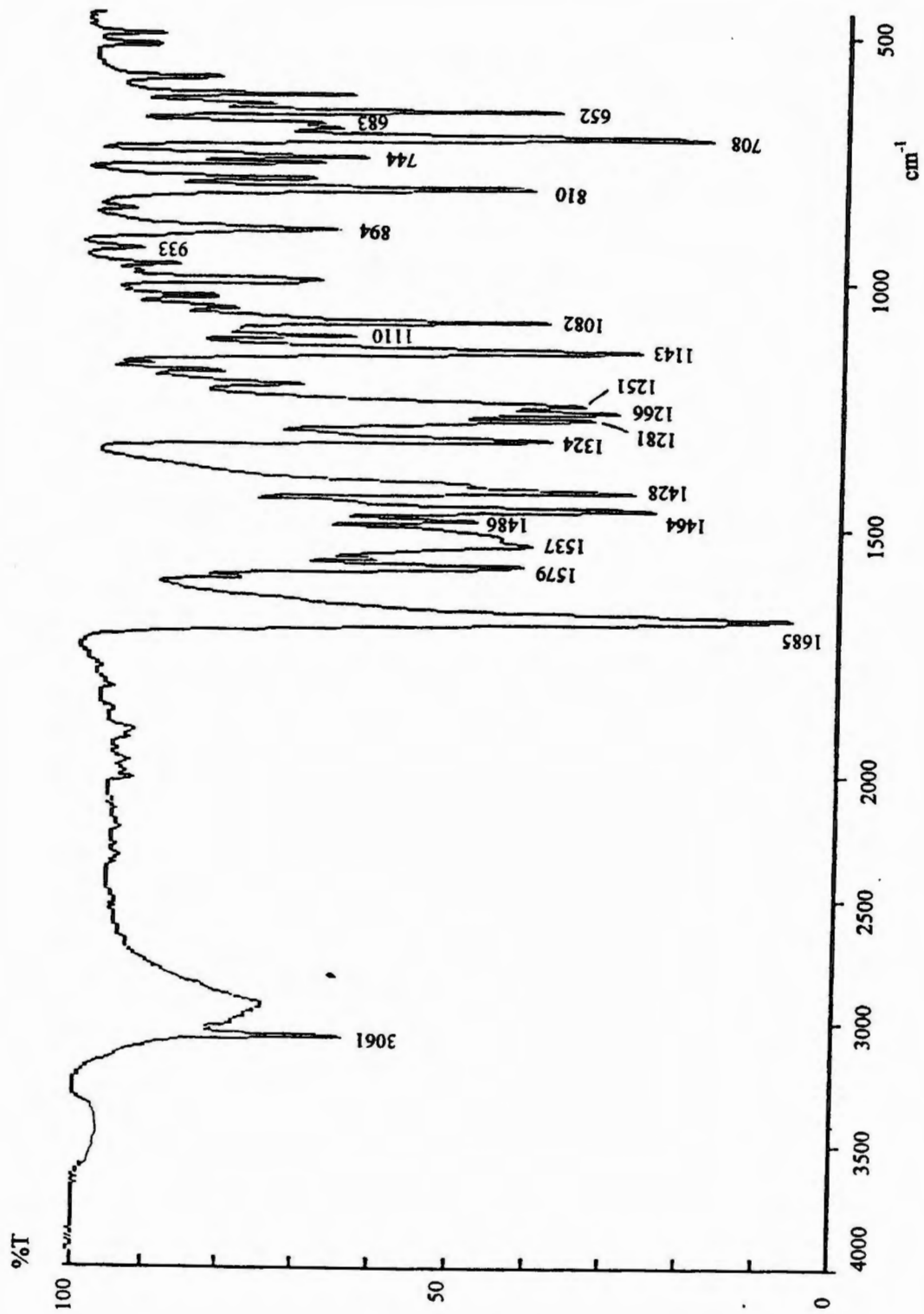


Figura 17 espectro de infravermelho do DP

Tabela I - Número de onda (em cm^{-1}) de grupos característicos do complexo Cu(II)/DPKBH e do ligante DPKBH.

Cu(II)/DPKBH	DPKBH	Grupos Característicos
3057 M	3061 M	ν N-H (livre), ν C-H(aromático)
-	1685 F	ν C=O (amida I)
1585 F	1579 M	δ N-H (amida II), ν C-C e ν C-N (piridínicos)
-	1537 F	ν C-N-H (amida II)
1494 F	1486 M	ν C-C, ν C-N (piridínicos)
1463 F	1464 M	ν C-C, ν C-N (piridínicos)
1437 M	1428 f	ν C-C, ν C-N (piridínicos)
1361 F	-	ν C-O (enólico)
1323 F	1324 f	ν C-C, ν C-N (piridínicos)
1293 F	1281 M	ν C-C, ν C-N (piridínicos)
-	1266 F	ν N-H (amida III)
1241 f	1251 F	ν C=O(cetônico)
1142 M	1143 M	ν C=O(cetônico)
1112 F	1110 M	ν C=O(cetônico)
1087 F	1082 f	ν C=O(cetônico)
925 F	933 f	δ C-H (fora do plano)
898 f	894 M	δ C-H (fora do plano)
801 M	810 F	δ C-H (fora do plano)
746 M	744 M	δ C-H (fora do plano)
716 f	708 f	δ C-H (fora do plano)

Obs.: forte(F), médio(M) e fraco(f); ν = deformação axial e δ = deformação angular

Comparando-se as Figuras 16 (Cu(II)/DPKBH) e 17 (DPKBH), observa-se o desaparecimento de bandas de alta intensidade em 1685; 1537 e 1266 cm^{-1} do espectro do DPKBH, no do complexo. Estas bandas são características das ligações C=O (amida I); C-N-H (amida II) e N-H (amida III) do ligante. Já em 1361 cm^{-1} , na Figura 8 observa-se uma banda de alta intensidade, o que não ocorre no espectro do DPKBH. Esta pode ser devido ao C-O enólico, formado pelo complexo, indicando que Cu(II) forma complexos com o DPKBH na forma enólica.

VI.1.2 – Espectrometria de massas

A espectrometria de massas é uma técnica capaz de fornecer informações sobre a composição elementar de determinadas amostras, estruturas de moléculas inorgânicas, orgânicas e biológicas, a composição qualitativa e quantitativa de misturas complexas, entre outros atributos⁽¹⁴³⁾.

A variação da técnica de espectrometria de massas mais comumente usada para a caracterização de compostos orgânicos é a cromatografia gasosa acoplada à espectrometria de massas com ionização por impacto de elétrons.

Nesta técnica, ocorre a colisão entre elétrons de alta energia (70eV) e moléculas do analito na fase gasosa, usualmente conferindo energia suficiente para as moléculas atingirem um estado excitado. Durante o processo de relaxação, freqüentemente ocorre a fragmentação de parte os íons moleculares para produzir íons de massas menores e, portanto, razões massa/carga menores^(141,143,144).

Os íons positivos produzidos são atraídos para a fenda do analisador de massas, e “classificados” por suas razões massa/carga (m/z) e apresentando-se na forma de um espectro de massas por barras verticais. Ao pico mais intenso do espectro se atribui um valor de intensidade arbitrário igual a 100, o qual é chamado de pico base. Os demais picos são calculados como uma porcentagem da altura do pico base.

No caso de uma parte dos íons moleculares não sofrer fragmentação, permanecendo intacta até chegar ao detector, torna-se possível visualizar o pico do íon molecular, que corresponde à massa molecular da espécie química analisada⁽¹⁴¹⁾.

Assim, foram registrados espectros de massas para o DPKBH (Figura 18) e para o complexo Cu(II)/DPKBH (Figura 19).

Na Figura 18 o espectro de massas mostra as 4 principais fragmentações da molécula do DPKBH e o pico do íon molecular em uma razão massa/carga (m/z) = 302u, que corresponde à massa molecular do DPKBH.

As principais fragmentações da molécula do DPKBH são em $m/z = 105$, que corresponde à massa do anel benzênico ligado à carbonila, e este, com a perda do grupo C=O resulta em uma razão $m/z = 77$, atribuída apenas ao cátion do anel benzênico formado também pela perda de um hidrogênio. Já em razão $m/z = 169$ tem-se o pico base do espectro, que representa a fragmentação correspondente aos dois anéis piridínicos ligados a um carbono, que por sua vez está ligado a um hidrogênio. Esta fragmentação resultou da perda de dois átomos de nitrogênio da fragmentação maior representada pelo pico de razão $m/z = 197$.

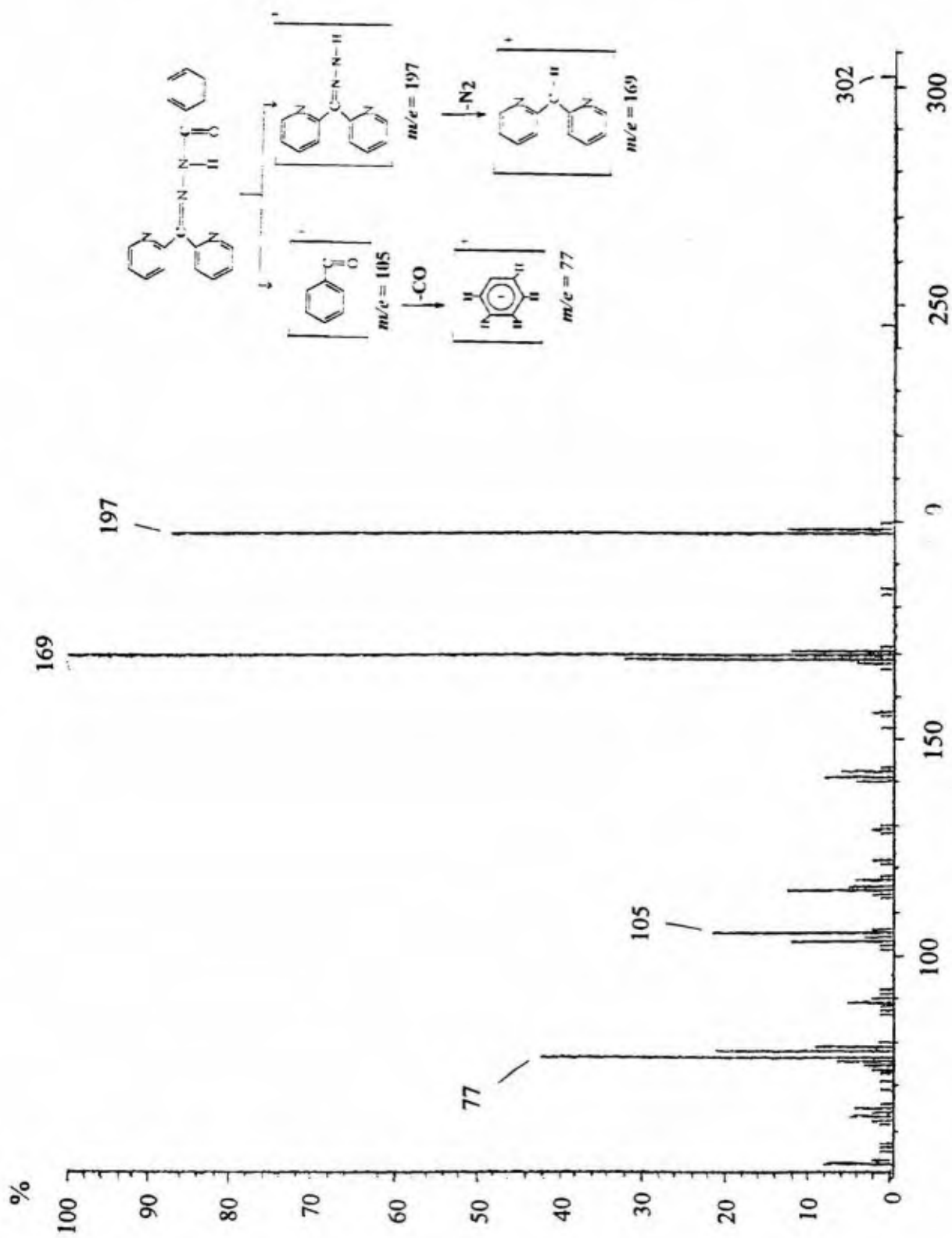


Figura 18 espectro de massas da di-2-piridil na benzoilhidrazona m/e

(BH) e suas principais fragmentações

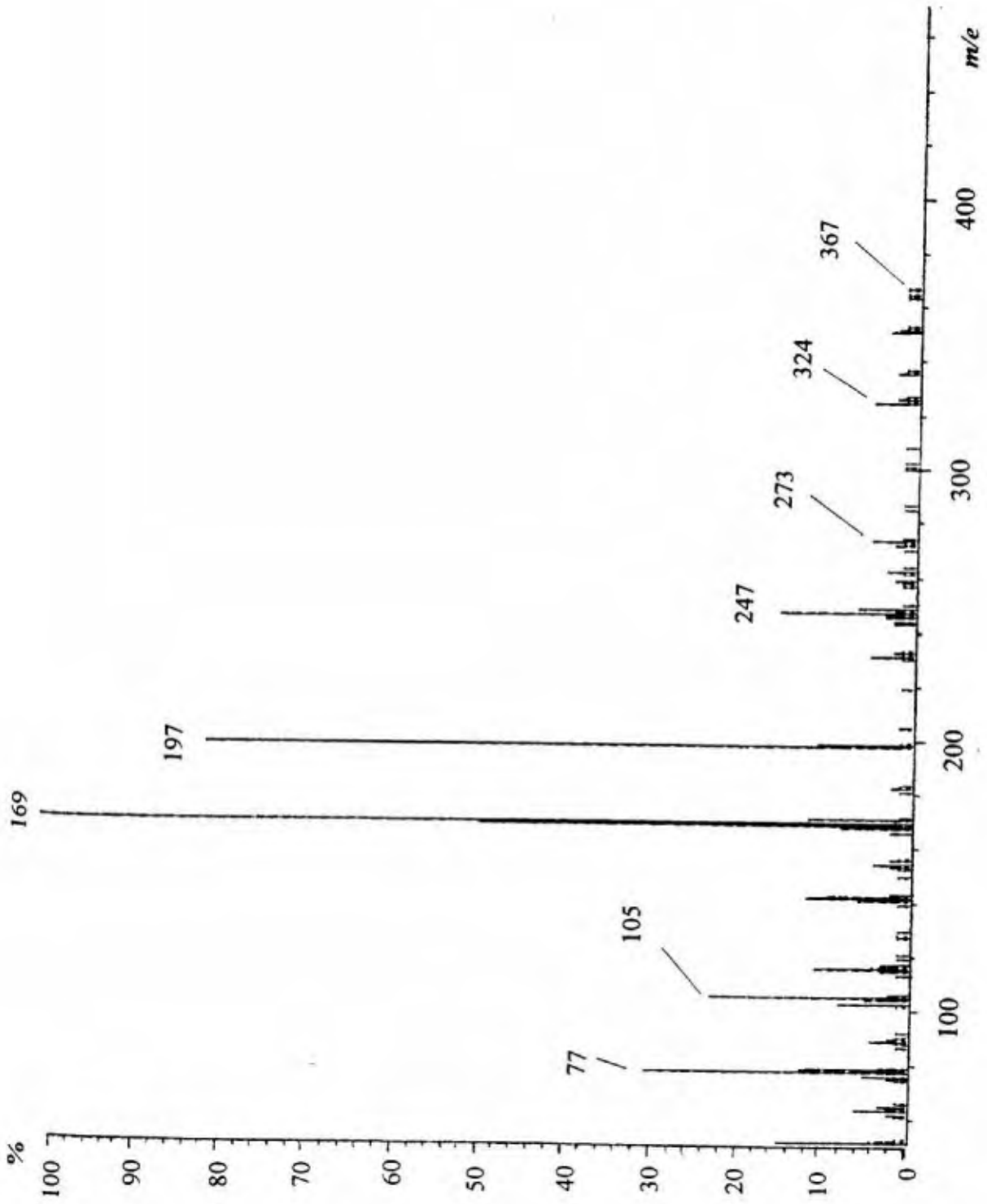


Figura 19 - Espectro de massas do complexo Cu(II)/DPKBH .

Na Figura 19, no espectro de massas do complexo Cu(II)/DPKBH, verifica-se que ocorrem, também, as mesmas fragmentações observadas para o DPKBH, com o pico do íon base em razão $m/z = 169$. Tem-se ainda o último pico do espectro de massas em razão $m/z = 367$ u.

Considerando os resultados obtidos utilizando-se a técnica de espectrometria no infravermelho, tem-se que os íons cobre ($m_a(\text{Cu}) = 63,546$ u) formam complexos com o DPKBH na forma enólica ($m(\text{C}_{18}\text{H}_{13}\text{N}_4\text{O}) = 301,33$ u). Supondo-se que sejam formados complexos na razão 1:1 metal/ligante, a massa molecular do composto formado, seria de aproximadamente 365u. Com isso, o último pico do espectro de massas não se refere ao pico do íon molecular do complexo Cu(II)/DPKBH.

Entretanto, um novo espectro de massas (espectro não apresentado) foi obtido, estendendo-se a faixa de varredura até uma razão $m/z = 700$, para verificar se ocorre a presença do pico do íon molecular em torno de $m/z = 666$, que corresponderia à massa molecular do complexo Cu(II)/DPKBH na razão de 1:2 metal/ligante. Porém, mesmo com a ampliação da escala em 25 vezes, não se observou pico algum na região de $m/z = 600$ a 700, mas verificou-se a presença de novos picos de baixa intensidade em $m/z = 412$, 469 e 560.

Na literatura⁽¹⁴¹⁾ encontra-se que nem sempre o pico do íon molecular pode ser obtido no espectro de massas, pois sua intensidade depende da estabilidade da molécula. Quando esta se fragmenta rapidamente, dificilmente irá sobrar alguma inteira, que possa chegar ao detector e registrar o pico do íon molecular. Isso

geralmente ocorre com alguns tipos de moléculas, como as amidas, que é o caso do DPKBH.

Assim, como alternativa, utilizou-se a técnica de espectrometria de massas com ionização por electrospray (ES/MS), a qual foi descrita pela primeira vez em 1984, e desde então, tem encontrado como principal aplicação a caracterização de espécies inorgânicas e polímeros sintéticos⁽¹⁴⁵⁾.

A técnica de electrospray permite que complexos inorgânicos e organometálicos sejam transferidos da fase aquosa para a fase gasosa por ionização por electrospray. Algumas dessas transferências mantêm as propriedades da fase aquosa na fase gasosa, o que possibilita o estudo estrutural das moléculas. Porém, freqüentemente, ocorrem reações de transferência de carga e reações de dissociação.

A ionização ocorre através da aplicação de uma tensão entre 1-5kV na ponta do capilar, formando gotículas carregadas. Devido à evaporação do solvente, as gotas diminuem de tamanho e a densidade de carga aumenta até atingir o limite onde a tensão superficial é superada, ocorrendo a fissão da gota. As novas gotas geradas pela fissão continuam o processo de evaporação do solvente e fissão até que íons livres e clusters sejam formados⁽¹⁴⁶⁾. Este processo pode ser melhor visualizado na Figura 20.

Então, foi feito um estudo utilizando a espectrometria de massas com ionização por electrospray (ES/MS), para a determinação da composição (estequiometria) de complexos do agente quelante di-2-piridil cetona benzoilhidrazona (DPKBH) com íons Cu(II), e também, com os íons Fe(II) e

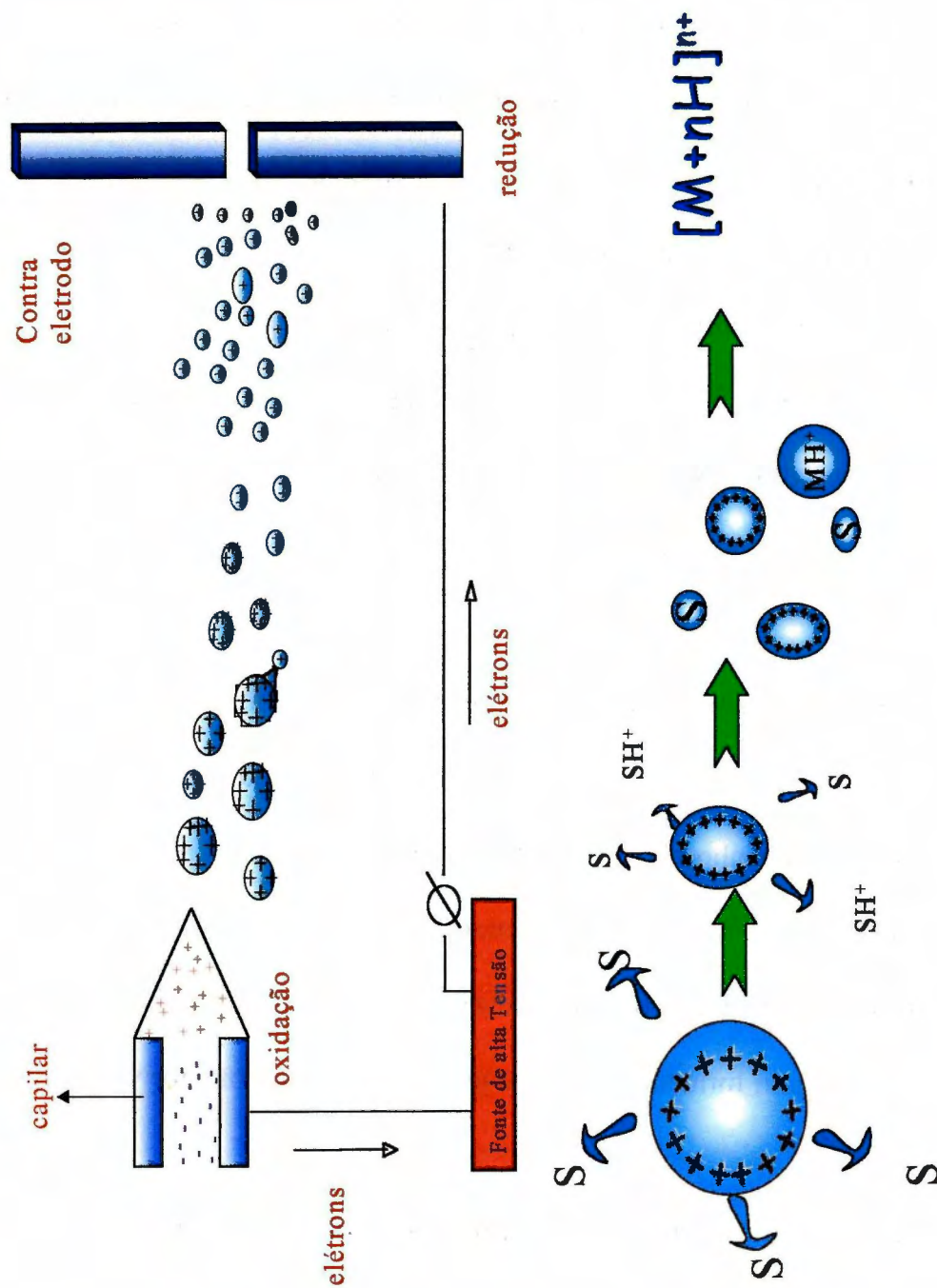


Figura 20 – Formação de íons na fase gasosa por electrospray.

Fe(III), tentando-se fazer uma possível especificação, utilizando esta técnica⁽¹⁴⁷⁾, entre estes dois últimos complexos.

Na Figura 21 é apresentado o espectro de massas do complexo Cu(II)/DPKBH. Como o objetivo do presente trabalho foi desenvolver um método de análise para Cu(II), Fe(II) e Fe(III), nas Figuras 22 e 23 são apresentados, também, os espectros de massas dos complexos Fe(II)/DPKBH e Fe(III)/DPKBH, respectivamente.

Nos experimentos realizados por electrospray a principal tendência observada foi a formação de íons com carga simples. Os espectros dos complexos de cobre e ferro mostraram que pode ocorrer a oxidação e a redução dos íons devido à presença de outras espécies na solução, tais como o próprio solvente, ou espécies formadas durante o processo de ionização. A formação de espécies com diferentes estados de oxidação mostrou que a estabilidade do íon na fase gasosa com carga simples ou com moléculas do ligante é mais importante do que as constantes de estabilidade dos complexos no meio aquoso.

Em todos os espectros de massas observou-se a formação da espécie $[(DPKBH)H]^+$ na razão $m/z = 303u$, que representa a massa molecular do ligante DPKBH mais um próton, e da espécie $[(DPKBH)_2H]^+$ na razão $m/z = 605u$ referente à soma da massa de duas moléculas do ligante mais um próton. A formação destas espécies indica a labilidade do complexo, uma vez que os espectros foram obtidos a baixas tensões do cone, onde não há favorecimento de dissociação induzida por colisão (CID).

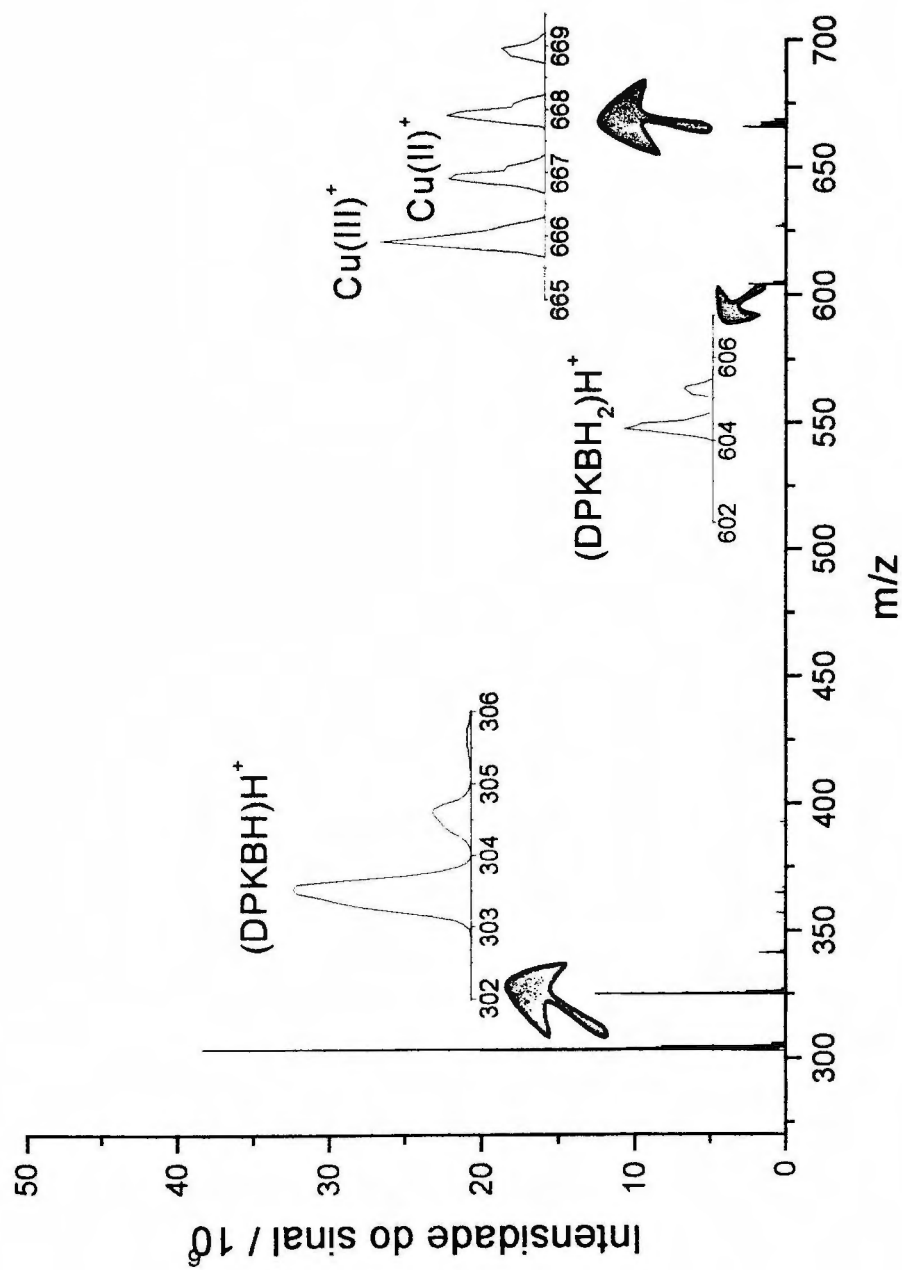


Figura 21 – Espectro de massas do complexo Cu(II) com DPKBH. Tensão do cone de amostragem de 30 V.

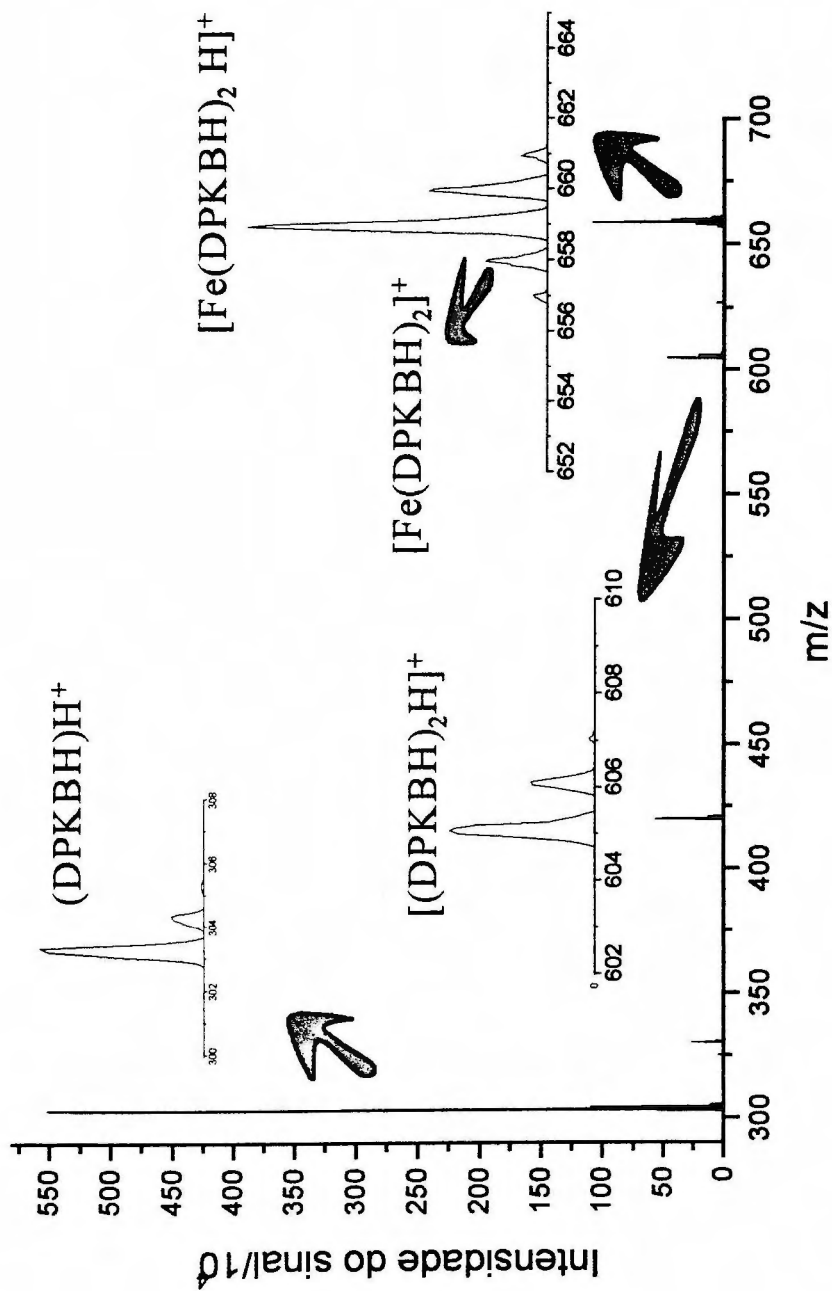


Figura 22 – Espectro de massas do complexo Fe(II)/DPKBH. Tensão do cone de amostragem de 20 V.

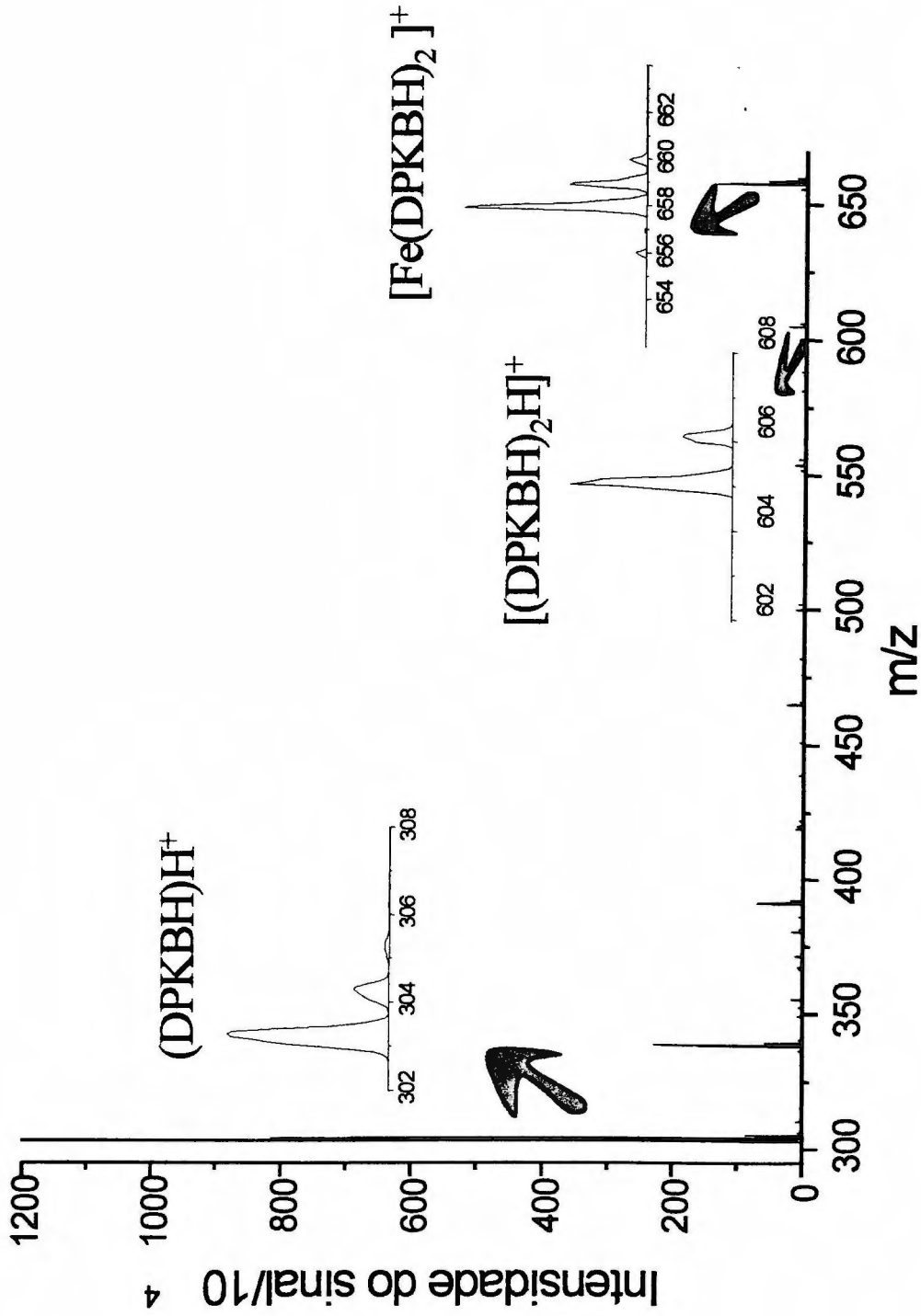


Figura 23 – Espectro de massas do complexo Fe(III)/DPKBH. Tensão do cone de amostragem de 30 V.

O espectro de massas do complexo Cu(II)/DPKBH, Figura 21, mostrou uma série de 4 picos entre m/z 666 e 669u. Isso evidencia que o Cu(II) forma complexos com o DPKBH na forma enólica, Figura 15, como sugerido pelos resultados de espectrometria no infravermelho, na razão de 1:2 metal/ligante. Com isso, pode-se atribuir a fórmula molecular $\text{Cu}^{\text{II}}(\text{C}_{18}\text{H}_{13}\text{N}_4\text{O})_2$ com massa molar igual a 666,21 g/mol.

Já os espectros de massas dos complexos de Fe(II) e Fe(III), Figuras 22 e 23, respectivamente, mostram que estes também complexam com o DPKBH em sua forma enólica, na razão metal/ligante 1:2, podendo-se atribuir a fórmula molecular $\text{Fe}(\text{C}_{18}\text{H}_{13}\text{N}_4\text{O})_2$ para os dois complexos, e massa molar igual a 658,51 g/mol.

A diferença entre os complexos $\text{Fe}^{\text{III}}(\text{DPKBH})_2$ e $\text{Fe}^{\text{II}}(\text{DPKBH})_2$ é que o primeiro apresentou pico em m/z 658u, e o segundo em m/z 659u. Entretanto a especiação dos complexos de Fe(II) e Fe(III) fica comprometida, visto que o complexo de Fe(II) sofreu oxidação durante o processo de electrospray, formando um pico de menor intensidade em m/z 658u, característico do complexo de Fe(III).

Assim, conclui-se que o principal objetivo deste tópico foi alcançado, o qual era estabelecer a estequiometria dos complexos de Cu(II), Fe(II) e Fe(III) com DPKBH. Entretanto, a possível especiação entre os complexos de Fe(II) e Fe(III) não foi observada mas, poderá ser estudada em etapas futuras.

VI.1.3 – Estudo Termoanalítico do Ligante DPKBH e do Complexo Cu(II)/DPKBH

A análise térmica é um grupo de técnicas nas quais as propriedades físicas de uma substância e/ou seus produtos de reação são medidos em função da temperatura⁽¹⁴³⁾.

Com o intuito de investigar o comportamento térmico e os produtos de reação do ligante di-2-piridil cetona benzoilhidrazona (DPKBH) e do complexo Cu(II)/DPKBH, utilizaram-se as técnicas de termogravimetria (TG) e da calorimetria exploratória diferencial (DSC).

As curvas TG/DTG e DSC obtidas são apresentadas nas Figuras 24 e 25 para o ligante DPKBH, e nas Figuras 26 e 27 para o complexo Cu(II)/DPKBH, respectivamente.

Observa-se na Figura 24, que as curvas TG/DTG não mostraram variação de massa do ligante DPKBH até 229°C. A partir desta temperatura, as curvas TG/DTG evidenciam uma etapa principal de perda de massa, com $\Delta m = 96,77\%$, que ocorre entre 229 e 350°C e pode ser atribuída à volatilização e decomposição do ligante com parcial carbonização. Acima de 400°C os 3% do material carbonáceo restante são decompostos completamente.

Estes eventos observados na Figura 24 podem ser acompanhados através da Figura 25, na qual a curva DSC do DPKBH evidenciou um evento endotérmico, devido ao processo de fusão, com temperatura de pico em 138,6 °C e

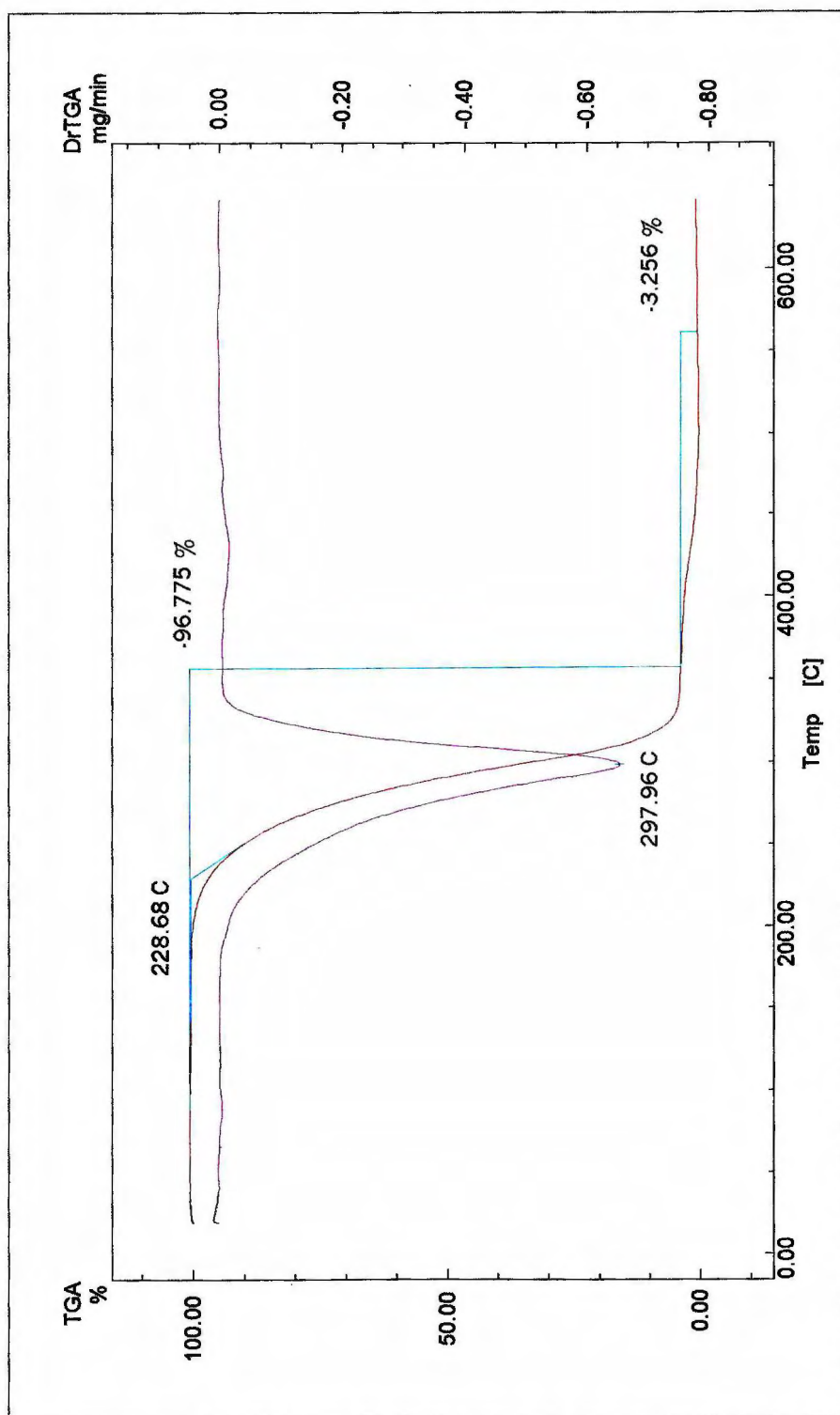


Figura 24 – Curvas TG e DTG do ligante DPKBH em atmosfera de ar, com vazão de 50 mL/minuto e razão de aquecimento de 10 °C/minuto, em cadinho de platina. Massa de DPKBH = 3,256 mg.

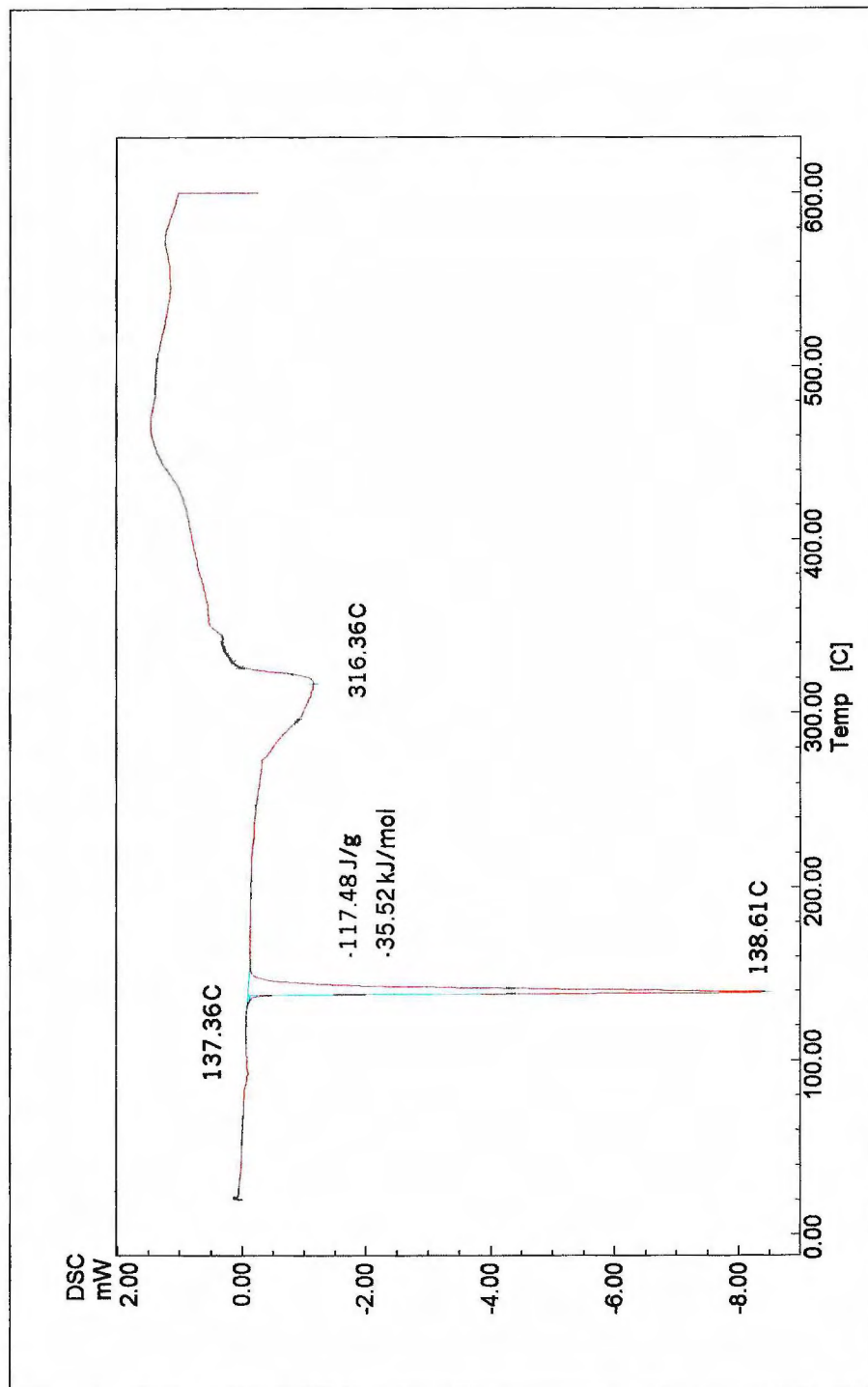


Figura 25 – Curva DSC do ligante DPKBH em atmosfera de N₂, com vazão de 50 mL/minuto e razão de aquecimento de 10 °C/minuto, em cadinho de alumínio. Massa de DPKBH = 1,420 mg.

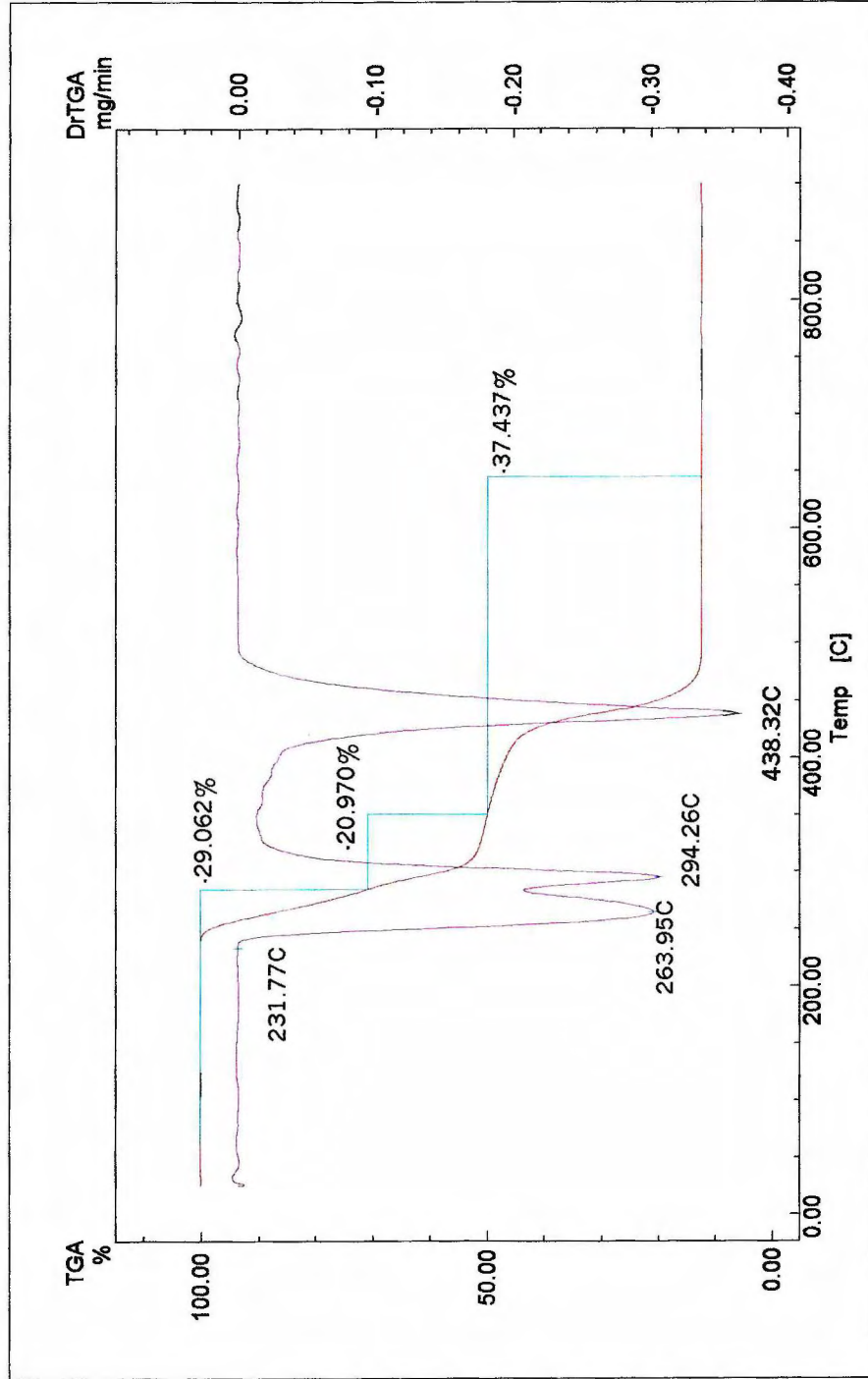


Figura 26 – Curvas TG e DTG do complexo Cu(II)/DPKBH em atmosfera de ar, com vazão de 50 mL/minuto e razão de aquecimento e 10 °C/minuto, em cadinho de platina. Massa de Cu(II)/DPKBH = 3,176 mg.

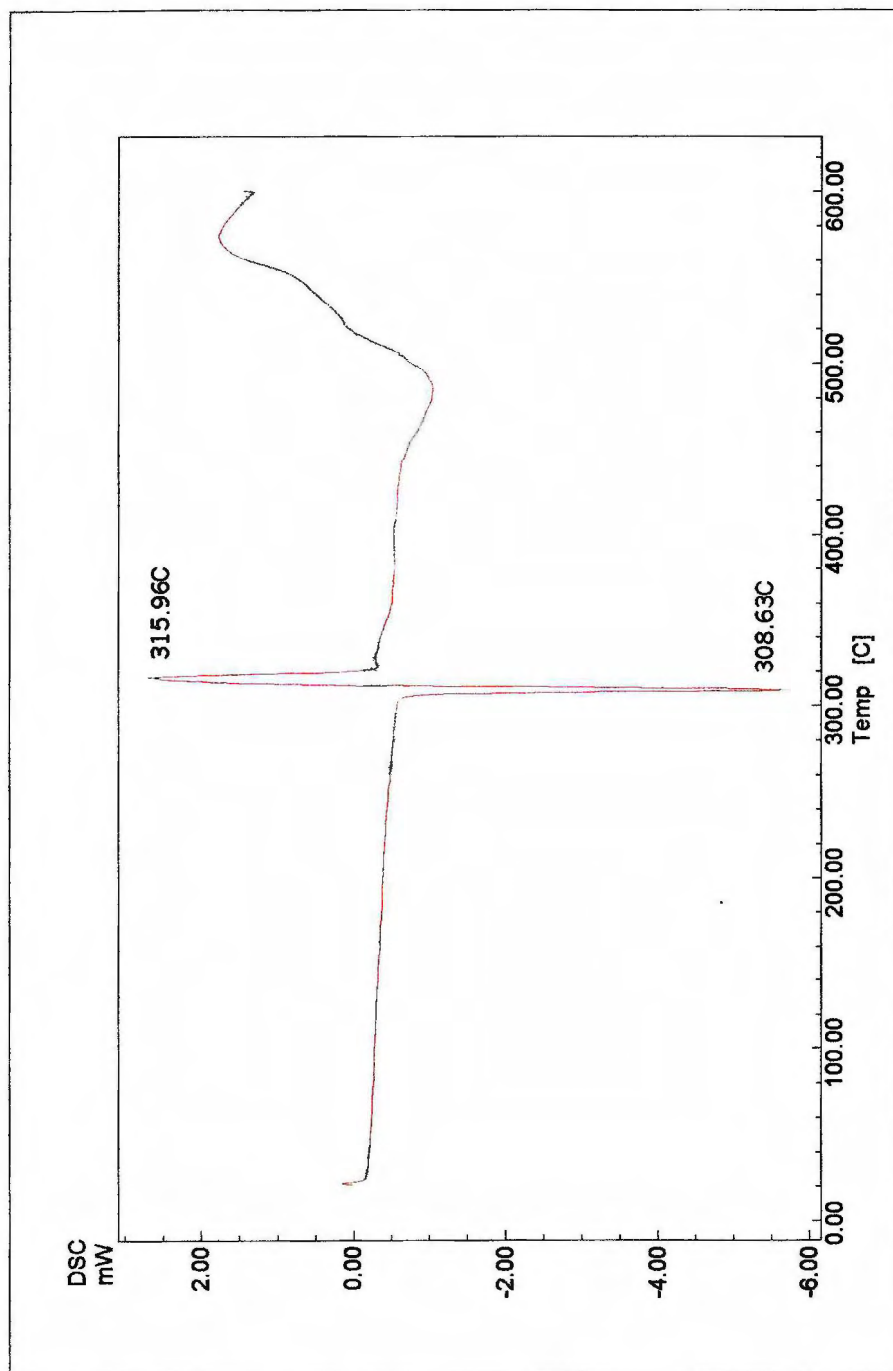


Figura 27 – Curva DSC do complexo Cu(II)/DPKBH em atmosfera de N₂, com vazão de 50 mL/minuto e razão de aquecimento e 10 °C/minuto, em cadinho de alumínio. Massa de Cu(II)/DPKBH = 3,176 mg.

$\Delta H = 35,52$ kJ/mol, que não é observado nas curvas TG/DTG, pois não ocorre perda de massa. No entanto, a partir de 229°C , a curva DSC mostra uma endoterma com temperatura de pico de $316,3^{\circ}\text{C}$, relativa à principal etapa de decomposição do DPKBH. Deve-se ressaltar que como verificado nos testes realizados durante a preparação do ligante DPKBH, o valor do ponto de fusão não foi novamente concordante com a literatura⁽¹⁰⁸⁾, mas foi concordante com o obtido anteriormente.

Em relação ao complexo Cu(II)/DPKBH, as curvas TG/DTG apresentadas na Figura 26, mostram que a substância é termicamente estável até 232°C , e se termodecompõe em três etapas até 500°C . As duas primeiras etapas do processo de decomposição são muito rápidas e ocorrem entre 232 e 350°C , com $\Delta m = 50,03$ %. A terceira etapa ocorre entre 350 e 480°C , com $\Delta m = 37,43$ %, restando apenas $12,5$ % da massa inicial.

Admitindo-se que a estequiometria do complexo Cu(II)/DPKBH é de 1:2 metal/ligante, como determinada nos estudos de espectrometria de massas com ionização por electrospray, calculou-se uma percentagem de resíduo referente a óxido de cobre(II) de $11,9$ %, que é bastante próxima à obtida experimentalmente.

Na Figura 27, curva DSC do complexo Cu(II)/DPKBH, observa-se um evento endotérmico seguido de outro exotérmico, caracterizados por picos muito finos, numa faixa de temperatura de 300 a 320°C , relativos ao final das duas primeiras etapas de perda de massa verificadas nas curvas TG/DTG, Figura 26. Estes eventos podem ser atribuídos à fusão do produto de decomposição a 300°C e ao provável processo de óxido-redução deste composto de cobre.

Observa-se, então, que o complexo Cu(II)/DPKBH sofre decomposição antes do processo de fusão, pois como visto na curva TG/DTG o complexo é termicamente estável somente até 232°C.

Assim, conclui-se através das curvas TG do ligante DPKBH, Figura 24, e do complexo Cu(II)/DPKBH, Figura 26, que ambos apresentam praticamente a mesma estabilidade térmica, pois sofrem processo de decomposição após 229 e 232°C, respectivamente.

VI.1.4 – Análise Elementar

A análise elementar é uma técnica instrumental capaz de fornecer a percentagem de elementos, tais como: hidrogênio, carbono, nitrogênio, enxofre e oxigênio, presentes em compostos orgânicos e inorgânicos.

No presente trabalho, utilizou-se a técnica com o intuito de verificar se o ligante DPKBH preparado apresentava um grau de pureza adequado e, juntamente com as outras técnicas de caracterização estrutural, auxiliar na identificação da estequiometria do complexo Cu(II)/DPKBH.

Com o aparelho utilizado, foi possível apenas obter as percentagens de carbono, hidrogênio e nitrogênio presentes no DPKBH e no complexo com Cu(II). Na Tabela II são apresentados os valores teóricos e obtidos experimentalmente (%) para o DPKBH e o complexo Cu(II)/DPKBH na razão 1:2 metal/ligante. As percentagens de oxigênio foram obtidas por diferença, tanto para o ligante DPKBH quanto para o complexo Cu(II)/DPKBH. No caso da percentagem de cobre, a

mesma foi obtida por cálculo do resíduo de óxido de cobre encontrado na análise térmica.

Tabela II - Percentagens dos elementos teórica e obtida por análise elementar do DPKBH e do complexo Cu(II)/DPKBH.

Elemento	DPKBH	
	% teórica	% encontrada
Carbono	71,51	71,31
Hidrogênio	4,67	4,95
Nitrogênio	18,53	18,55
Oxigênio	5,29	5,19*

Elemento	Cu(II)/DPKBH 1:2	
	% teórica	% encontrada
Carbono	64,90	64,64
Hidrogênio	3,93	3,96
Nitrogênio	16,82	16,73
Oxigênio	4,80	5,13*
Cobre	9,54	9,54**

* Obtido por diferença.

** Obtido por cálculo do resíduo de CuO da análise térmica.

De acordo com a Tabela II, verifica-se que os valores encontrados na análise elementar do DPKBH apresentam uma pequena variação, entre os valores teóricos e obtidos experimentalmente, de - 0,20 % para o carbono, de + 0,28 % para o hidrogênio e de - 0,10 % para o oxigênio, que podem ser considerados desprezíveis. No caso do nitrogênio, os valores encontrados foram praticamente

coincidentes com o teórico. Com isso, concluiu-se que o produto da síntese do ligante DPKBH foi obtido com uma quantidade de impurezas pequena.

No caso do complexo Cu(II)/DPKBH, para efeito de tratamento dos dados, consideraram-se os resultados anteriores obtidos por espectrometria de massas e análise térmica, com os quais pode-se atribuir a fórmula molecular $\text{Cu}^{\text{II}}(\text{C}_{18}\text{H}_{13}\text{N}_4\text{O})_2$ com massa molar igual a 666,21 g/mol. Assim, observa-se na Tabela II pequenas variações nos teores encontrados de - 0,26; - 0,03; - 0,09 e + 0,33 % para o carbono, hidrogênio, nitrogênio e oxigênio, respectivamente. No caso do cobre o valor obtido por análise térmica foi igual ao teórico.

Verifica-se, então, pelas pequenas diferenças obtidas experimentalmente, que o complexo Cu(II)/DPKBH é formado na razão 1:2 metal/ligante, como indicado pelas outras técnicas utilizadas.

VI.1.5 - Conclusão

Através dos resultados obtidos pelas técnicas instrumentais de análise para caracterização dos complexos de Cu(II) com DPKBH, conclui-se que Cu(II) forma complexos com o DPKBH na forma enólica, em uma razão de 1:2 metal/ligante, podendo-se atribuir a fórmula molecular $\text{Cu}(\text{C}_{18}\text{H}_{13}\text{N}_4\text{O})_2$ com massa molar igual a 666,21 g/mol.

As ligações do átomo metálico com o ligante DPKBH ocorrem através do oxigênio da carbonila, após a perda de um hidrogênio (amida I), pelo nitrogênio que está ligado ao carbono e este ligado às duas piridinas, e a um dos nitrogênios

das piridinas, obtendo-se, portanto uma estrutura octaédrica, conforme sugerido na Figura 28. Esta estrutura foi comprovada por difração de raios X.

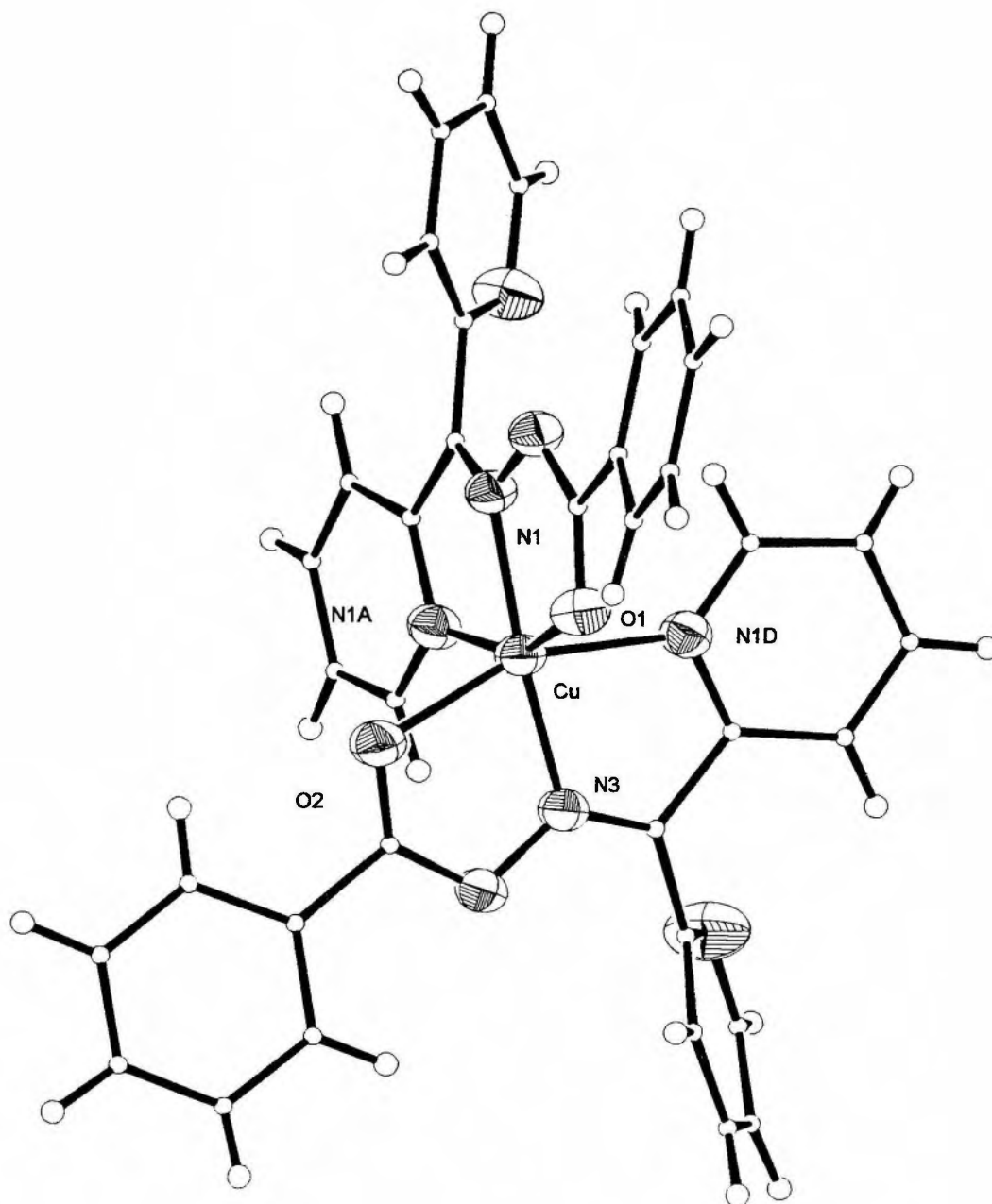


Figura 28 – Estrutura do complexo $\text{Cu}^{\text{II}}(\text{C}_{18}\text{H}_{13}\text{N}_4\text{O})_2$, obtida por difração de raios X.

VI.2 - DESENVOLVIMENTO DE MÉTODO PARA DETERMINAÇÃO ESPECTROFOTOMÉTRICA DE Cu(II)

VI.2.1 - Características Espectrais do Complexo Cu(DPKBH)₂

Com o intuito de verificar as características espectrais do ligante DPKBH e do complexo Cu(DPKBH)₂, foram registrados espectros de absorção na faixa de 190 a 550 nm, Figura 29.

O espectro de absorção do ligante DPKBH, Figura 29a, foi obtido a partir de uma solução 25,1 μM^* , preparada em 50% (v/v) água/etanol. Já o espectro do complexo Cu(DPKBH)₂, Figura 29b, foi registrado a partir de uma solução de Cu(II) 14,8 μM , DPKBH 103 μM em meio contendo acetato de amônio 104 μM e 50% (v/v) água/etanol.

Registraram-se, também, os espectros dos demais reagentes individualmente, para verificar a pureza e o comportamento dos mesmos na faixa de comprimentos de onda estudada.

Através da Figura 29 (b) verifica-se que o sistema Cu(II)/DPKBH apresenta uma banda com pico de máxima absorção em 384 nm, sendo que DPKBH, Figura 29 (a), etanol, acetato de amônio e cobre (espectros não apresentados) não absorvem neste comprimento de onda.

* Para efeito de simplificação será adotada a unidade μM ao invés de notação científica, para concentrações abaixo de 10^{-3} mol/L.

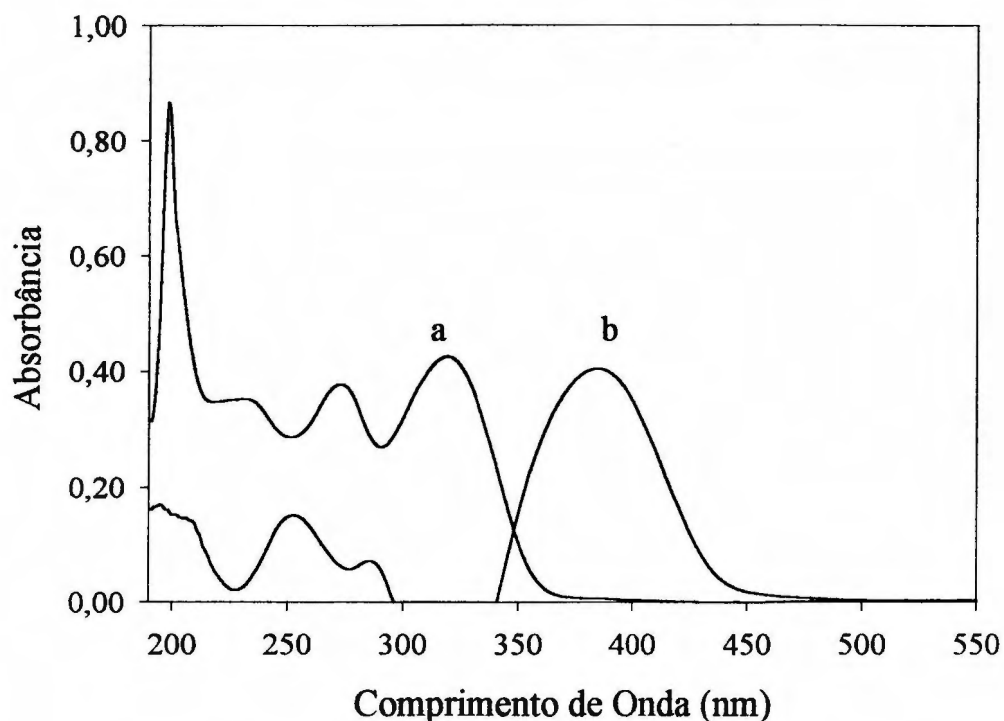


Figura 29 - Espectros de absorção: (a) DPKBH 25,1 μM vs. etanol/ água 50% (v/v); (b) complexo Cu(II)-DPKBH. Cu(II) = 14,8 μM ; DPKBH = 103 μM (em meio de NH_4Ac). Caminho óptico = 1 cm.

VI.2.2 - Otimização dos Parâmetros Analíticos

Para o desenvolvimento da metodologia analítica para a determinação espectrofotométrica de íons Cu(II), foram estudados vários parâmetros analíticos, tais como: influência do valor de pH, percentagem de etanol, razão ligante/metal e ordem de adição dos reagentes.

VI.2.2.1 - Influência do Valor de pH na Formação do Complexo $\text{Cu}(\text{DPKBH})_2$

Para se obter o valor de pH mais favorável para a complexação de íons $\text{Cu}(\text{II})$ com o ligante DPKBH , foi feito um estudo usando várias soluções tampão⁽¹³⁸⁾, tais como: ácido cloroacético/cloroacetato (pH = 2,2 e 3,0), ácido fórmico/formiato (pH = 3,5), ácido acético/acetato (pH = 4,1 e 5,0) e ácido succínico/succinato (pH = 5,5 e 6,0), além da solução de acetato de amônio 20% (pH = 7,0).

Devido à ionização ser reprimida pela presença de etanol e também à diminuição da constante dielétrica do meio, verificou-se uma variação no valor de pH da solução de medida em relação aos valores de pH das soluções-tampão puras que são preparadas em meio aquoso. A Tabela III mostra os valores de pH das soluções tampão em meio aquoso e os respectivos valores de pH aparentes das soluções de medida (meio aquo-etanólico).

A Figura 30 mostra os valores de absorvância em 384 nm, obtidos em função do tempo para verificar a estabilidade do complexo $\text{Cu}(\text{DPKBH})_2$, ajustando-se o meio com diversos tampões. Observa-se que a absorvância se manteve praticamente constante em todos os valores de pH estudados, com variações pequenas de 0,01 no valor de absorvância.

A formação do complexo $\text{Cu}(\text{DPKBH})_2$ mostrou ser mais favorável e com ótima estabilidade, por um período de 1 h conforme observado na Figura 30, quando se utiliza a solução tampão de ácido succínico $5,14 \times 10^{-3}$ mol/L / succinato $1,49 \times 10^{-3}$ mol/L (pH = 7,2 em meio contendo 50% (v/v) água/etanol). Assim,

decidiu-se ser este o valor de pH mais adequado para a complexação dos íons Cu(II) com o DPKBH.

Tabela III -Valores de pH real e aparente das soluções tampão em meio aquoso e aquo-etanólico 50% (v/v).

pH do tampão em meio aquoso	pH do tampão em meio aquo-etanólico
2,2	2,9
3,0	4,0
3,5	4,2
4,1	5,2
5,0	6,0
5,5	6,8
6,0	7,2
7,0 (NH ₄ Ac)	7,2

Para tirar dúvidas sobre a possível formação de complexos entre o Cu(II) e o tampão de ácido succínico/succinato, registrou-se um espectro no qual não se verificou absorção na região de máxima absorbância do complexo Cu(II)-DPKBH (espectro não apresentado).

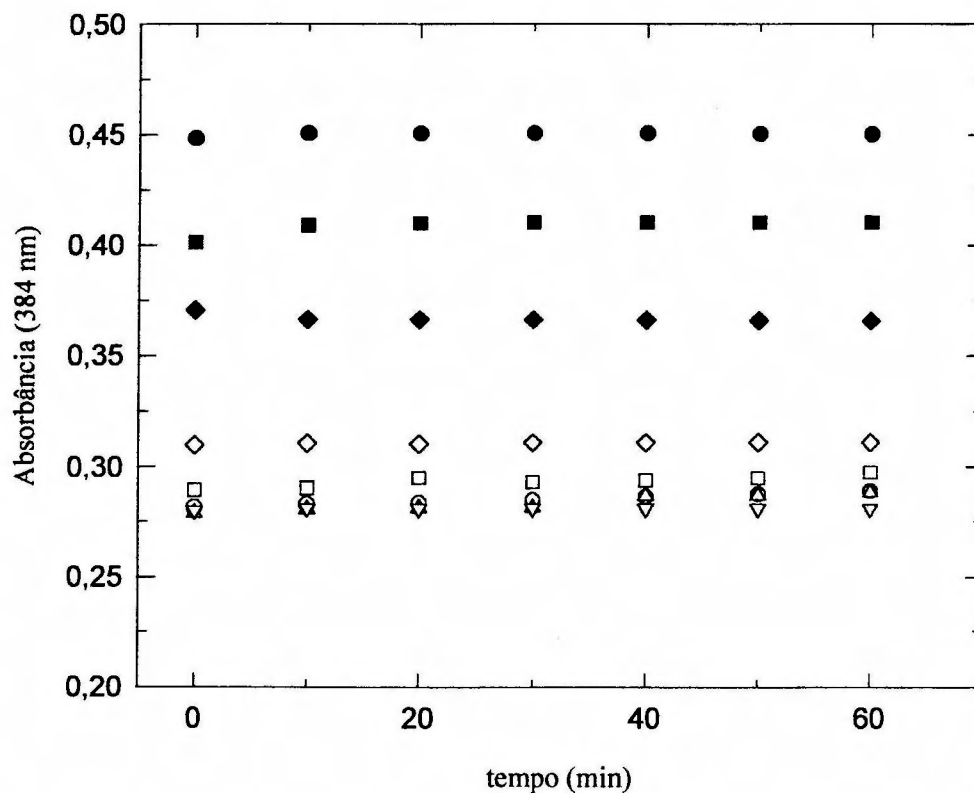


Figura 30 - Absorbâncias do complexo Cu(II)-DPKBH em função do tempo, para diferentes valores de pH. Cu(II) = 14,8 μ M; DPKBH = 103 μ M; EtOH = 50 % (v/v). O = 2,9; □ = 4,0; Δ = 4,2; ∇ = 5,2; ◇ = 6,0; ◆ = 6,8; ● = 7,2 e ■ = 7,2 (acetato).

VI.2.2.2 - Efeito da Percentagem de Etanol

Devido à baixa solubilidade do DPKBH em água⁽¹⁰⁸⁾, a reação com os íons Cu(II) foi feita em meio contendo etanol. Para estabelecer qual a razão de etanol mais adequada para o sistema Cu(II)/DPKBH, foi feito um estudo variando-se a percentagem de etanol na faixa de 10 a 60% (v/v), em relação ao volume total completado com água.

Prepararam-se, então, as soluções do complexo Cu(DPKBH)₂ em balões volumétricos de 25,00 mL, contendo Cu(II) 14,8 μM, DPKBH 103 μM, solução tampão ácido succínico 5,14x10⁻³ mol/L, succinato 1,49x10⁻² mol/L. Adicionou-se volume de etanol adequado para perfazer a percentagem a ser estudada.

Na Figura 31 são apresentados os espectros obtidos. Pode-se observar um deslocamento no pico de máxima absorção do complexo Cu(DPKBH)₂. O comprimento de onda de máxima absorção variou de 384 nm na percentagem de 60% (v/v) de etanol a 374 nm em 10% (v/v) de etanol.

Através da Figura 32, obtida para medidas de absorbância em 384 nm, para as diferentes percentagens de etanol, pode-se concluir que o valor de absorbância mais elevado é obtido em razões de 50% (v/v) água/etanol. Em percentagens menores, verificou-se uma diminuição gradativa da absorbância, provavelmente devido à baixa solubilidade do DPKBH em água. Em 60% (v/v) de etanol, observou-se também um decréscimo da absorbância, talvez provocado pela

diminuição excessiva da constante dielétrica do meio ou ainda à provável cristalização dos outros componentes da solução.

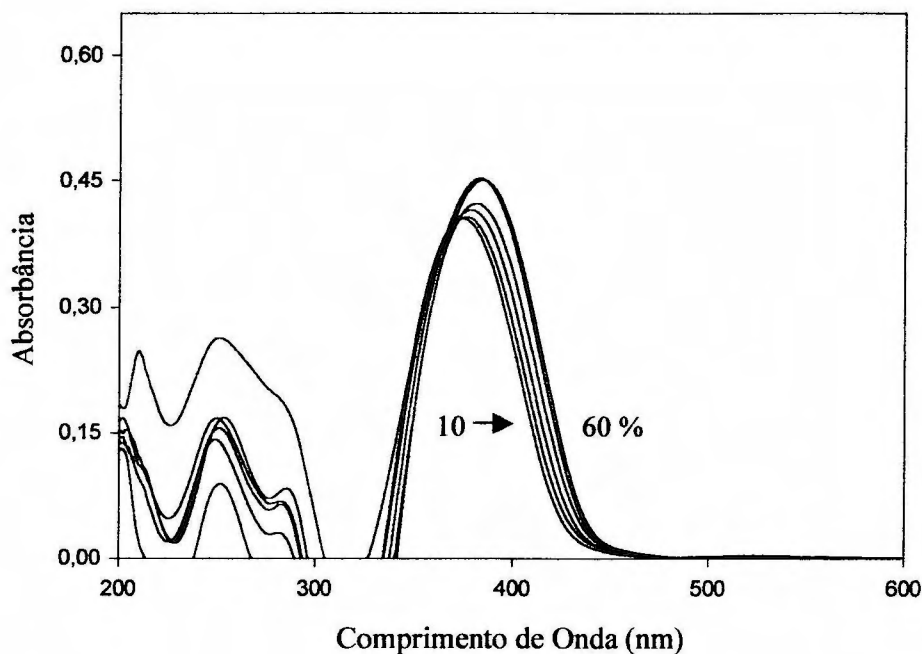


Figura 31 - Espectros de absorção do complexo $\text{Cu}(\text{DPKBH})_2$, em $\text{pH} = 7,2$, variando-se a percentagem de etanol de 10% a 60% (v/v).

$\text{Cu}(\text{II}) = 14,8 \mu\text{M}$; $\text{DPKBH} = 103 \mu\text{M}$ e $\text{pH} = 7,2$.

VI.2.2.3 - Estudo da Razão Ligante/Metal

Para estabelecer a melhor razão ligante/metal, soluções contendo $\text{Cu}(\text{II})$ $14,8 \mu\text{M}$ em meio aquo-etanólico 50% (v/v) e valor de pH ajustado em 7,2, com tampão de ácido succínico/succinato, foram preparadas com concentrações

crecentes de DPKBH. Variou-se a razão ligante:metal de 1:1 a 160:1. Os resultados obtidos são apresentados na Figura 33.

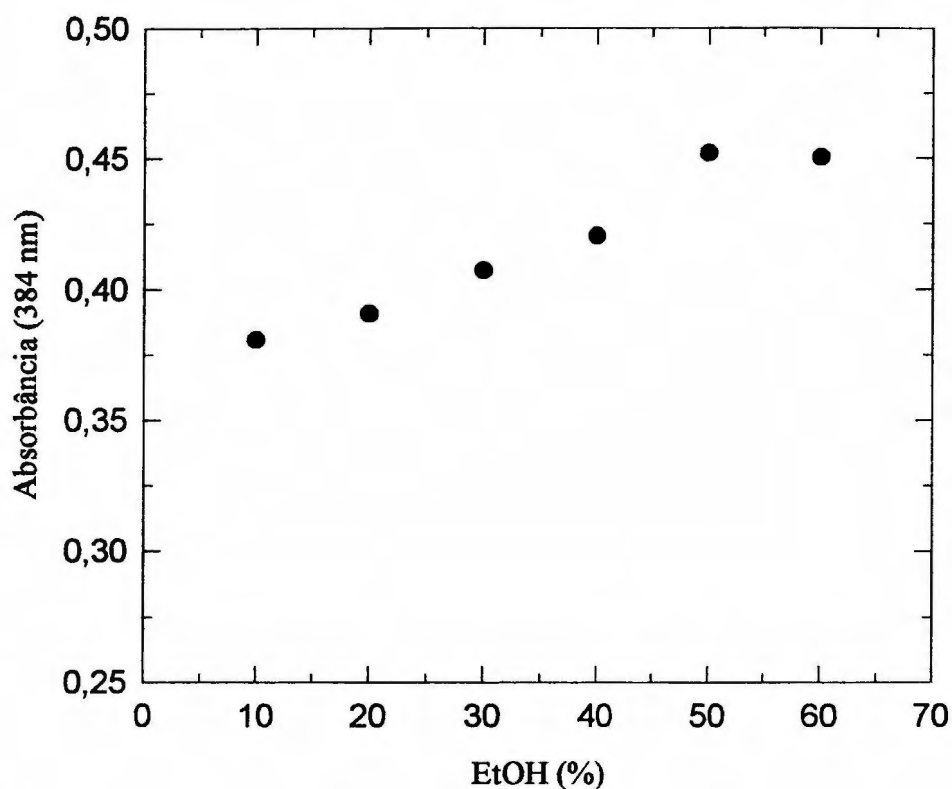


Figura 32 - Absorbância do complexo $\text{Cu}(\text{DPKBH})_2$ a 384 nm em função da percentagem de etanol. $\text{Cu}(\text{II}) = 14,8 \mu\text{M}$; $\text{DPKBH} = 103 \mu\text{M}$ e $\text{pH} = 7,2$.

Os resultados da Figura 33 mostram que os valores de absorbância do sistema $\text{Cu}(\text{II})/\text{DPKBH}$ acima de uma razão ligante/metal de 20:1 tornam-se praticamente constantes. A diferença, por exemplo, das razões 20:1 e 40:1 é de apenas 6,4%. Verifica-se, também, que acima de uma razão ligante/metal de 120:1,

há uma diminuição do valor de absorbância. Assim, adotou-se uma razão mínima de ligante/metálico de 20:1 como a mais adequada.

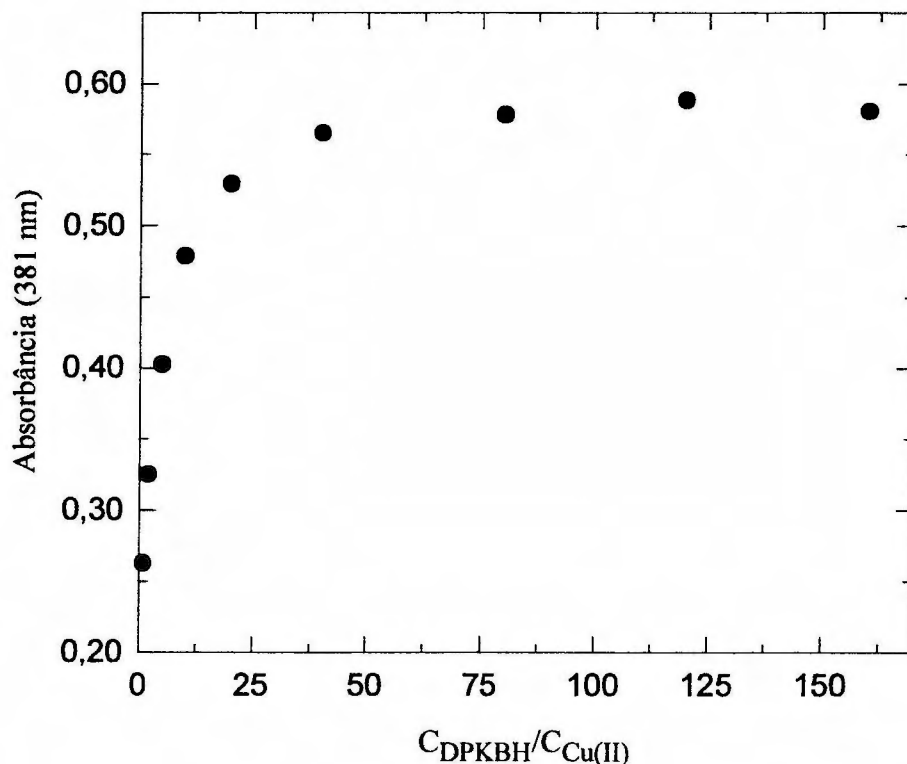


Figura 33 - Absorbância do complexo Cu(DPKBH)₂ em função da razão ligante/metálico. Cu(II) = 14,8 μM; EtOH 50% (v/v) e pH = 7,2.

Deve-se ressaltar que ocorreu um deslocamento no pico de máxima absorção do complexo Cu(DPKBH)₂ de 384 para 381 nm, ficando estável em razões de ligante/metálico acima de 20:1. Portanto, adotou-se o comprimento de onda de 381 nm.

VI.2.2.4 - Ordem de Adição dos Reagentes

A ordem usada para misturar todos os reagentes tem, freqüentemente, um efeito marcante na reação de um produto colorido e no processo de desenvolvimento da cor⁽¹⁴⁸⁾.

Assim, foi feito um estudo para estabelecer a melhor seqüência de adição dos reagentes utilizados no sistema Cu(II)/DPKBH. Das 24 possíveis ordens de adição, 17 foram avaliadas, uma vez que algumas poderiam comprometer a complexação.

Para a realização deste estudo foram preparadas soluções de medida, em balões volumétricos de 25,00 mL, adicionando-se conforme a ordem definida, 250 µL de solução de Cu(II) $1,481 \times 10^{-3}$ mol/L; 800 µL de solução etanólica de DPKBH 0,01028 mol/L; 1,25 mL de tampão ácido succínico/succinato e 11,7 mL de etanol para perfazer após a adição de água, a proporção 50% (v/v).

Foram, então, feitas várias medidas pontuais de absorvância do complexo Cu(DPKBH)₂ em 381 nm, alternando-se a ordem de adição dos reagentes. Na Tabela IV, pode-se observar os valores de absorvância obtidos para as 17 ordens avaliadas.

Os resultados da Tabela IV mostram que a ordem de adição: tampão, etanol, Cu(II), DPKBH apresentou o maior valor de absorvância (assinalado com *). Entretanto, efetuou-se uma série de cinco medidas de absorvância e, após aplicar-se o teste Q-90 %, concluiu-se que as mesmas não apresentaram boa repetibilidade.

Tabela IV - Valores de absorvância obtidos para medidas pontuais do sistema Cu(II)/DPKBH, alternando-se a ordem de adição dos reagentes ($C_{Cu(II)} = 14,8 \mu M$).

Ordem de adição	Absorvância em 381 nm
tampão, DPKBH, etanol, Cu(II)	0,5242
tampão, etanol, Cu(II), DPKBH	0,5284*
tampão, etanol, DPKBH, Cu(II)	0,5252
tampão, DPKBH, Cu(II), etanol	0,5253
Cu(II), etanol, DPKBH, tampão	0,5222
Cu(II), DPKBH, tampão, etanol	0,5230
Cu(II), etanol, tampão, DPKBH	0,5211
Cu(II), DPKBH, etanol, tampão	0,5222
DPKBH, etanol, Cu(II), tampão	0,5205
DPKBH, Cu(II), tampão, etanol	0,5247
DPKBH, tampão, etanol, Cu(II)	0,5269
DPKBH, Cu(II), etanol, tampão	0,5233
DPKBH, tampão, Cu(II), etanol	0,5201
etanol, tampão, DPKBH, Cu(II)	0,5230
etanol, tampão, Cu(II), DPKBH	0,5199
etanol, DPKBH, Cu(II), tampão	0,5174
etanol, DPKBH, tampão, Cu(II)	0,5149

* valor de maior absorvância

Então, várias séries de cinco medidas de absorvância foram feitas para as demais ordens de adição que apresentaram valores de absorvância mais elevados, em ordem decrescente. A que mostrou melhor repetibilidade foi: Cu(II), DPKBH,

tampão e etanol, e para as cinco medidas realizadas, após tratamento estatístico encontrou-se um valor de absorvância médio de $(0,5469 \pm 0,0007)$, para uma concentração de $\text{Cu(II)} = 16,5 \mu\text{M}$.

Uma curva de absorvância em função do tempo, Figura 34, foi obtida para um período de 2 horas, com o intuito de se verificar a estabilidade do complexo Cu(DPKBH)_2 . Os valores de absorvância não mostraram alteração significativa durante o período observado.

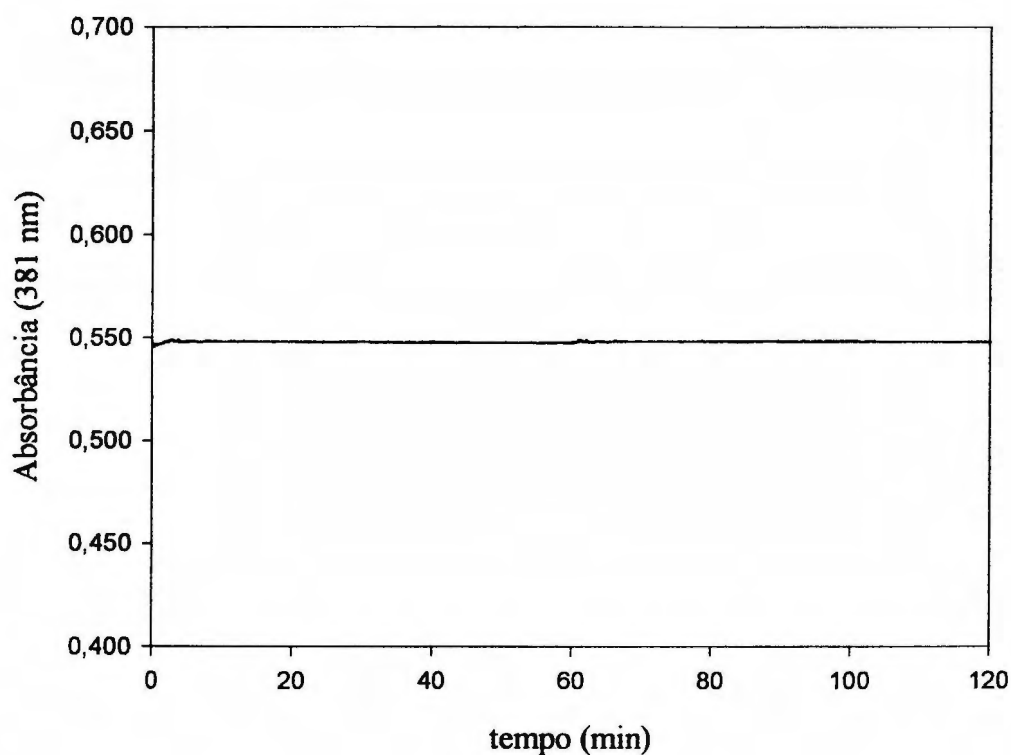


Figura 34 - Absorvância do complexo Cu(DPKBH)_2 em função do tempo.

$$C_{\text{Cu(II)}} = 16,5 \mu\text{M}; C_{\text{DPKBH}} = 340 \mu\text{M}; \text{EtOH } 50\% \text{ (v/v)}.$$

Assim, adotou-se a ordem de adição dos reagentes: Cu(II), DPKBH, tampão, etanol na preparação de futuras soluções de medida do sistema Cu(II)/DPKBH. Deve-se ressaltar que, por coincidência, esta ordem de adição definida neste estudo, foi a mesma utilizada em toda a fase inicial do trabalho.

VI.2.3 - Curva Analítica do Sistema Cu(II)/DPKBH

Considerando-se os parâmetros analíticos definidos anteriormente, tais como: comprimento de onda de máxima absorção do complexo Cu(DPKBH)₂ em 381 nm, ordem de adição dos reagentes (Cu(II), DPKBH, tampão, etanol, água), meio contendo 50% (v/v) água/etanol, pH ajustado em valor aparente igual a 7, com solução tampão ácido succínico 5,14x10⁻³ mol/L/ succinato 1,49x10⁻² mol/L, e razão mínima ligante/metálico de 20:1, construiu-se uma curva analítica para o sistema Cu(II)/DPKBH.

Várias medidas de absorvância do complexo Cu(DPKBH)₂ foram feitas a partir de 16 soluções contendo diferentes concentrações de Cu(II) entre 0,240 µM e 25,0 µM.

Para efeito de verificação da reprodutibilidade do sistema Cu(II)/DPKBH, obteve-se, em épocas distintas, a curva analítica sobrepondo-se os pontos para a construção da Figura 35.

Observa-se na Figura 35 uma ótima reprodutibilidade das medidas de absorvância feitas em duplicata, através da sobreposição dos pontos.

Utilizando-se parâmetros de regressão linear verifica-se ótima linearidade com coeficiente de correlação $r^2 = 0,9998$, e coeficientes linear e angular iguais a $(-1,29 \pm 1,53) \times 10^{-3}$ e $(3,68 \pm 0,01) \times 10^4$, respectivamente, os quais permitem inferir a seguinte equação para cálculo da concentração analítica de Cu(II), a partir da absorbância medida:

$$A_{\text{Cu(DPKBH)}_2} = -1,29 \times 10^{-3} + 3,68 \times 10^4 \cdot C_{\text{Cu(II)}} \quad (\text{eq. 1})$$

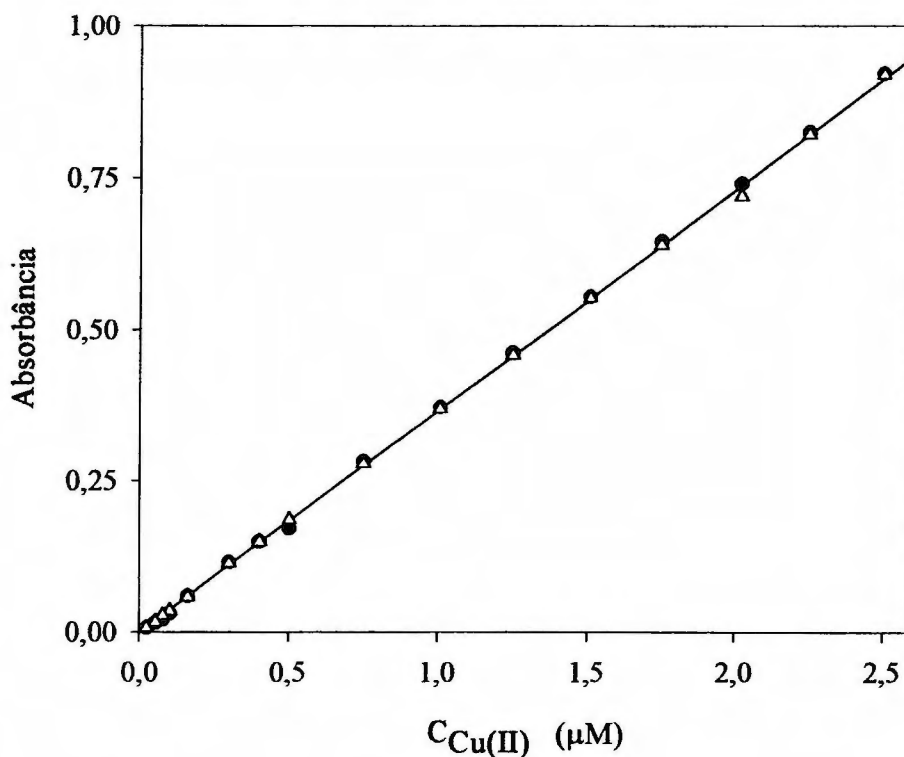


Figura 35 - Curva analítica do sistema Cu(II)/DPKBH em 381 nm. $C_{\text{DPKBH}} = 503 \mu\text{M}$, etanol = 50% (v/v) e pH 7,2. Caminho ótico = 1 cm.

Assim, o valor de absorvidade molar do complexo Cu(DPKBH)_2 em 381 nm é de $3,68 \times 10^4 \text{ L} \cdot \text{mol}^{-1} \cdot \text{cm}^{-1}$.

VI.2.3.1 - Limite de Determinação (Quantificação)

Para estabelecer o limite de determinação e verificar a reprodutibilidade do sistema Cu(II)/DPKBH em valores de absorbância mais baixos, foram feitas duas séries de 10 medidas para as concentrações de Cu(II), da curva analítica, que apresentaram valores de absorbância próximos ao limite de detecção do aparelho. Na Tabela V são apresentados os valores de absorbância obtidos para o complexo Cu(DPKBH)₂ nas concentrações de Cu(II) de 0,528 µM e 0,240 µM.

Foi feito o devido tratamento estatístico⁽¹⁴⁹⁾ dos resultados sendo que nenhum dos dados foi rejeitado. Obteve-se, para a concentração de Cu(II) de 0,528 µM, uma média dos valores de absorbância e respectivo desvio padrão de (0,0165 ± 0,0005). Já para a concentração de Cu(II) de 0,240 µM encontrou-se uma média e respectivo desvio padrão de (0,0067 ± 0,0006). Todos os valores foram calculados para limites de confiança da média de 95%.

Conclui-se, então, que a metodologia analítica para a determinação de Cu(II), utilizando-se o ligante DPKBH em meio aquo-etanólico 50% (V/V) pode ser aplicada em amostras contendo no mínimo 0,240 µM ou 15,2 µg/L de Cu(II).

VI.2.4 - Estudo de Interferentes

Neste estudo foi avaliada a possível interferência de 34 principais íons que podem ser encontrados em águas, sedimentos e outras amostras naturais. Foi

feita uma série de nove medidas de absorvância de um dos pontos da curva analítica com concentração de Cu(II) de 10,1 μM e, após tratamento estatístico, resultou em um valor de absorvância de $0,3731 \pm 0,0032$.

Tabela V - Valores de absorvância obtidos para as séries de 10 medidas do complexo $\text{Cu}(\text{DPKBH})_2$, nas concentrações de Cu(II) de 0,528 μM e 0,240 μM (valores obtidos aleatoriamente e organizados em ordem crescente).

Cu(II) 0,528 μM	Cu(II) 0,240 μM
0,0152	0,0054
0,0158	0,0054
0,0158	0,0062
0,0163	0,0064
0,0167	0,0067
0,0168	0,0070
0,0170	0,0072
0,0170	0,0072
0,0173	0,0077
0,0173	0,0078
$\mu = 0,0165 \pm 0,0005$	$\mu = 0,0067 \pm 0,0006$

Considerou-se uma faixa de flutuação permitida entre as medidas de até três vezes o desvio padrão da média⁽¹⁴⁹⁾, ou seja, valores de absorvância entre

0,3635 e 0,3827. Valores acima ou abaixo deste intervalo foram considerados como resultantes de interferência ao método.

Em seguida, analisou-se o efeito da presença dos diversos íons em concentrações 1; 10; 100; 1.000 e 10.000 vezes maiores que a de Cu(II) presente. As soluções de medida foram preparadas com a adição do respectivo volume da solução contendo o íon a ser estudado, antes da adição de Cu(II).

Na Tabela VI, encontram-se os limites de tolerância dos diversos íons estudados, para o sistema Cu(II)/DPKBH. Já na Tabela VII é mostrado o grau de interferência (%) para os íons estudados, com a respectiva razão de concentração Cu(II):íon, em que os mesmos interferem no sistema de Cu(II)/DPKBH.

Tabela VI - Limite de tolerância dos 34 principais íons, encontrados em águas, sedimentos e outras amostras naturais, no sistema Cu(II)/DPKBH.

Limite de Tolerância	Íons estudados
Não Interfere < 10.000	Na ⁺ , NO ₃ ⁻ , Br ⁻ , Cl ⁻ , K ⁺ , Ac ⁻ , NH ₄ ⁺ , SCN ⁻ , Mg ²⁺
< 1.000	I ⁻ , F ⁻ , Prop ⁻
< 100	CO ₃ ²⁻ , Ba ²⁺ , Ca ²⁺ , Al ³⁺ , Cr ³⁺ , HCO ₃ ⁻ , AsO ₂ ⁻ , NO ₂ ⁻ , Ox ²⁻
< 10	Mn ²⁺ , HPO ₄ ²⁻ , For ⁻ , SO ₄ ²⁻
< 1	Co ²⁺ , Cd ²⁺ , Zn ²⁺ , Pb ²⁺ , Hg ²⁺ , Ni ²⁺ , Fe ²⁺ , Fe ³⁺ , SO ₃ ²⁻

Obs.: Prop⁻ (H₃CCH₂COO⁻); Ox²⁻ (C₂O₄²⁻); For⁻ (HCOO⁻) e Ac⁻ (H₃CCOO⁻)

Tabela VII - Grau de interferência (%) de cada íon estudado, no sistema Cu(II)/DPKBH.

Razão				
Cu(II) : íon	íon	%	íon	%
1 : 1	Ni ²⁺	41,4	Fe ²⁺	77,2
	Zn ²⁺	84,6	Co ²⁺	39,7
	Fe ³⁺	28,7	Cd ²⁺	44,8
	Hg ²⁺	9,75	Pb ²⁺	11,1
	SO ₃ ²⁻	4,15		
1 : 10	Mn ²⁺	14,9	HPO ₄ ⁻	1,41
	For ⁻	0,94	SO ₄ ²⁻	0,31
1 : 100	Ba ²⁺	42,0	Cr ³⁺	59,2
	Al ³⁺	31,8	Ca ²⁺	2,35
	CO ₃ ²⁻	- 0,9	HCO ₃ ⁻	1,78
	Ox ²⁻	- 27,6	AsO ₂ ⁻	1,05
	NO ₂ ⁻	3,06		
1 : 1000	I ⁻	14,9	Prop ⁻	-14,4
	F ⁻	- 0,60		
1 : 10000	NO ₃ ⁻	NI	Na ⁺	NI
	Br ⁻	NI	Cl ⁻	NI
	K ⁺	NI	Ac ⁻	NI
	NH ₄ ⁺	-10,92	SCN ⁻	-31,1
	Mg ²⁺	- 5,28		

Obs.: NI - não interfere

Como se observa na Tabela VI, a maioria dos metais de transição avaliados interfere no método já na razão de 1:1, por também formarem complexos com o DPKBH⁽¹⁰⁸⁾. Esta interferência ocorreu de forma positiva, ou seja, aumentando o valor de absorvância. Verificou-se, também, que com exceção dos íons Pb^{2+} , Hg^{2+} e SO_3^{2-} , ocorreu um pequeno deslocamento no pico de máxima absorção, fixado em 381 nm.

Para uma razão de 1:10 Cu(II)/íon, os íons Mn^{2+} provocaram um aumento no valor de absorvância de 14,9 %, pois este também complexa com o DPKBH. Já a interferência causada pelos íons HPO_4^{2-} , F^- e SO_4^{2-} foi pequena.

No caso dos íons Ox^{2-} verificou-se uma diminuição no valor de absorvância de 27,6 % quando presente em concentrações maiores que 100 vezes a de Cu(II). Esta diminuição pode ser devida à formação de complexos dos íons Cu^{2+} com o oxalato ($K_1 = 6,9 \times 10^4$ e $K_2 = 2,35 \times 10^4$). Já para os íons CO_3^{2-} , Ca^{2+} , HCO_3^- , AsO_2^- e NO_2^- , observou-se um pequeno aumento no valor de absorvância. O mesmo foi verificado para os íons Al^{3+} , Ba^{2+} e Cr^{3+} , mas com um grande aumento no valor de absorvância. No caso dos íons Cr^{3+} pode ser devido à formação de complexos com o excesso de DPKBH em solução. Já as soluções com os íons Al^{3+} e Ba^{2+} ficaram turvas, provavelmente devido a problemas de solubilidade, visto que as soluções contêm 50% de etanol, causando uma diminuição na constante dielétrica do meio⁽¹⁵⁰⁾, favorecendo a cristalização dos sais.

Em uma razão de 1:1000 Cu(II):íon os íons Prop^- provocaram interferência de - 14,4 %. Esta diminuição no valor de absorvância, deve-se talvez

à competição dos íons propionato com o DPKBH na complexação dos íons Cu(II) ⁽¹⁵¹⁾.

Já para concentrações 10.000 vezes maiores que a de Cu(II) , verificou-se que os íons Mg^{2+} , NH_4^+ e SCN^- provocaram uma queda no valor de absorvância de - 5,28; -10,9 e - 31,1 %, respectivamente. No caso dos demais íons estudados, o valor de absorvância ficou dentro da faixa de flutuação permitida, portanto estes não provocam interferência.

VI.2.5 - Determinação de Cu(II) em Amostras de Aguardente

Após todas as condições do método espectrofotométrico do sistema Cu(II)/DPKBH em meio aquo-etanólico estarem definidas, foram feitas determinações de cobre em amostras de aguardente, para efeito de avaliação preliminar.

A aguardente é um produto obtido da cana-de-açúcar, sendo que sua destilação pode ser feita em alambiques de cobre ou aço inoxidável. Estudos recentes⁽¹⁵²⁾, mostraram que a utilização de alambiques de cobre pode exercer um papel importante sobre a qualidade sensorial das aguardentes, indicando ser estes melhores que os alambiques de aço inoxidável. Entretanto, apesar de o cobre estar associado a algumas características organolépticas das aguardentes, deve-se considerar o teor máximo de íons Cu(II) de 5 mg.L^{-1} ou $78,7 \text{ } \mu\text{M}$ estabelecido pela legislação brasileira⁽¹⁵³⁾.

Assim, torna-se necessário o controle da concentração de íons Cu(II) durante o processo de produção das aguardentes. Este controle normalmente é feito pelo método de referência via espectrometria de absorção atômica com chama⁽³³⁾, utilizando-se a técnica de adição de padrão⁽¹³⁶⁾. Entretanto, esta técnica é dispendiosa, principalmente para as pequenas destilarias.

Então, como a concentração de cobre encontrada nas aguardentes está dentro da faixa de concentração do método espectrofotométrico aqui desenvolvido e, também, por ser a técnica espectrofotométrica mais acessível e menos dispendiosa, foram feitas determinações de Cu(II) em quatro amostras de aguardente pelo método espectrofotométrico e, para efeito de comparação, via espectrometria de absorção atômica com chama.

O primeiro passo adotado foi obter os espectros de absorção das amostras de aguardente, para verificar se as mesmas absorviam no comprimento de onda de máxima absorção do complexo Cu(DPKBH)₂ (381 nm), já que uma das aguardentes, que era envelhecida em barris de madeira, apresentava coloração amarelada, ou seja, a mesma do complexo Cu(DPKBH)₂.

Das quatro aguardentes analisadas, três eram incolores e não absorveram em 381 nm. Entretanto, a aguardente amarelada apresentou um valor de absorbância em torno de 0,330 com uma diluição de 50%, sendo assim necessário compensar este valor no branco.

Para análise da aguardente amarelada, designada aqui por A, decidiu-se adotar a técnica de adição de padrão. Para isso, quatro alíquotas de 1,00 mL da aguardente A foram transferidas para balões volumétricos de 10,00 mL, nos quais

adicionou-se um padrão de Cu(II) para cada balão em concentrações crescentes de 10,10; 12,50; 17,50 e 20,20 μM . Em seguida, juntou-se 69 μL de solução de DPKBH $1,46 \times 10^{-2}$ mol/L, 100 μL de solução tampão ácido succínico/succinato e 4,60 mL de etanol necessários para perfazer uma percentagem de 50% (v/v) (teor alcoólico da aguardente igual a 41° GL). Cabe mencionar que se usou este fator de diluição baseando-se em testes preliminares.

Tentando-se eliminar a interferência causada pela coloração da aguardente A, utilizou-se como branco uma solução preparada com uma alíquota de 1,00 mL da aguardente, 100 μL de solução tampão ácido succínico/succinato e 4,60 mL de etanol, para um balão volumétrico de 10,00 mL. Não se incluiu o DPKBH na solução de branco, pois o mesmo iria reagir com os íons Cu(II) presentes na aguardente e anular o sinal das medidas a serem efetuadas.

Sabe-se que no comprimento de onda de máxima absorção do complexo $\text{Cu}(\text{DPKBH})_2$, o ligante DPKBH praticamente não absorve, conforme mostrado na Figura 29. Entretanto, como o mesmo está em alta concentração, acaba deformando a banda do complexo, o que pode provocar erro nas leituras dos valores de absorbância em 381 nm. Para contornar este problema, registrou-se o espectro de uma solução de DPKBH, 50% (v/v) em etanol, na mesma concentração utilizada nas amostras, contra etanol 50% (v/v). Subtraiu-se este espectro dos quatro espectros da aguardente A com adição de padrão, obtendo-se então as bandas do complexo $\text{Cu}(\text{DPKBH})_2$ sem interferências do ligante.

Através da Figura 36 torna-se mais fácil compreender a técnica utilizada. São apresentados os espectros sobrepostos da aguardente A em 50% (v/v)

de etanol, do DPKBH (503 μM) e do complexo $\text{Cu}(\text{DPKBH})_2$ obtido para a amostra de aguardente A com a adição de padrão de $\text{Cu}(\text{II})$ igual a 17,50 μM . Já na Figura 37, tem-se o espectro do complexo obtido após a subtrao do espectro do ligante DPKBH.

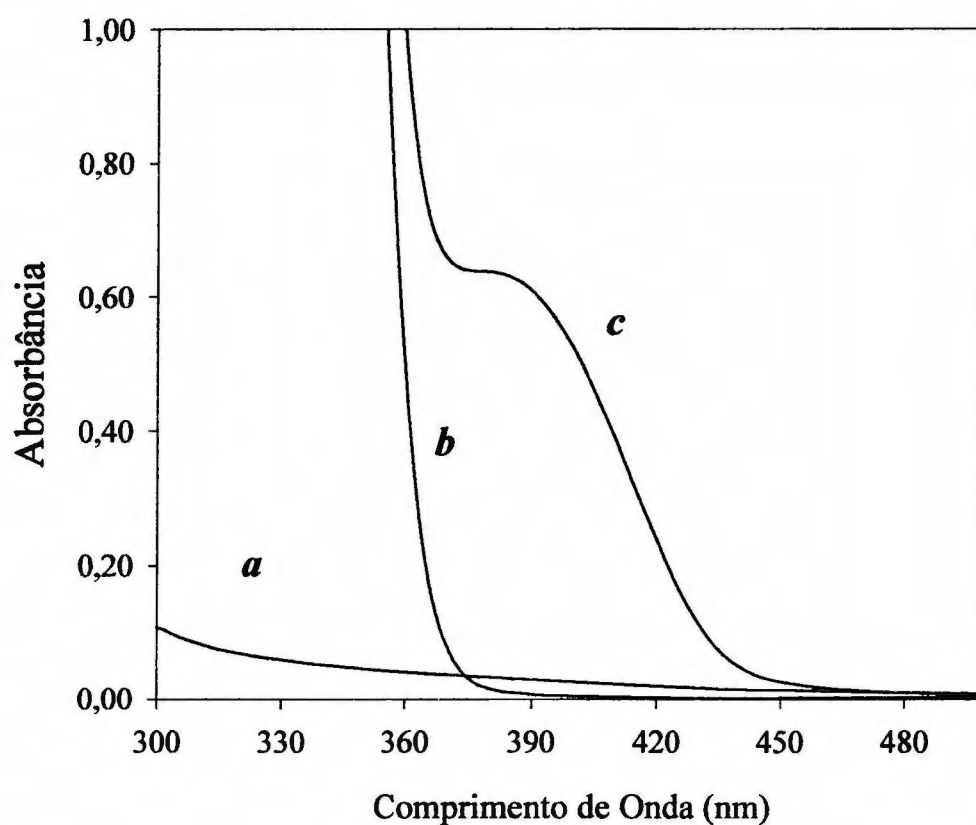


Figura 36 - Espectros de absoro de: (a) amostra de aguardente A considerando o fator de diluio; (b) soluço de DPKBH 503 μM e (c) complexo $\text{Cu}(\text{DPKBH})_2$ para a amostra de aguardente A com a adio de padrão de $\text{Cu}(\text{II})$ de 17,50 μM .

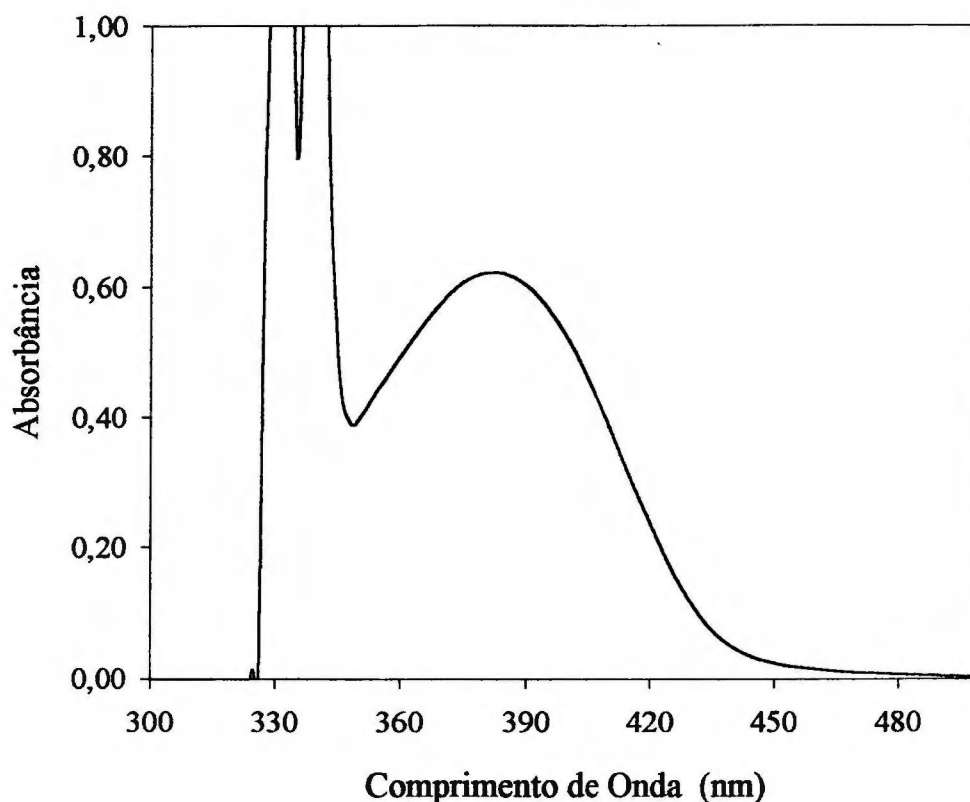


Figura 37 - Espectros de absorção do complexo $\text{Cu}(\text{DPKBH})_2$ para a amostra de aguardente A com a adição de padrão de $\text{Cu}(\text{II})$ de $17,50 \mu\text{M}$, após subtração do espectro da solução de DPKBH $503 \mu\text{M}$.

Com os valores de absorbância obtidos para as quatro amostras da aguardente A, após a subtração do espectro da solução de DPKBH, construiu-se um gráfico, Figura 30, com os valores de absorbância em função da concentração de

Cu(II) dos padrões adicionados. Por extrapolação, foi possível encontrar a concentração de Cu(II) de 49,14 μM existente na aguardente A.

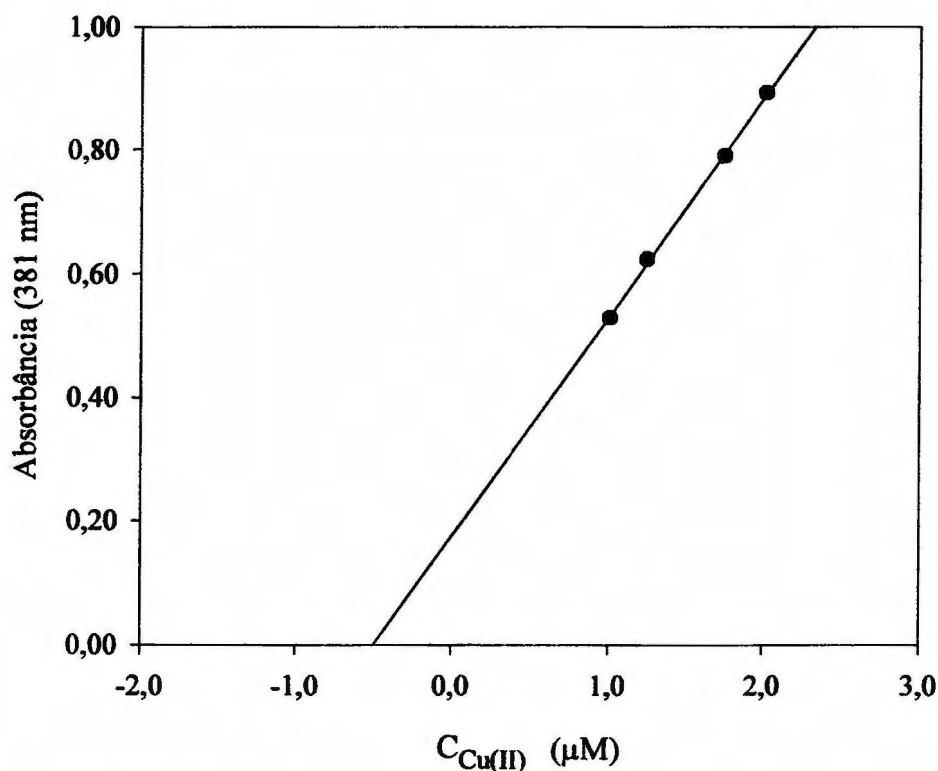


Figura 38 - Curva analítica da aguardente A, com adição de padrões de Cu(II) de 10,10 μM , 12,50 μM , 17,50 μM e 20,20 μM . Coeficiente de correlação $r^2 = 0,999$.

No caso das outras três aguardentes incolores, designadas aqui como aguardentes B, C e D, as mesmas foram analisadas da seguinte forma: quatro alíquotas de 25,00 mL de cada aguardente foram transferidas para balões volumétricos de 50,00 mL, seguidas da adição de 1,7 mL de solução de DPKBH

$1,46 \times 10^{-2}$ mol/L, 2,5 mL de solução tampão ácido succínico/succinato e 15,25 mL de etanol, no caso da amostra B e 15,00 mL para as amostras C e D, necessários para perfazer uma percentagem de 50% (v/v), pois a aguardente B apresentava um teor alcoólico de 39° GL e a aguardente C e D 40° GL.

Medidas pontuais dos valores de absorvância foram feitas para as três séries de quatro alíquotas das aguardentes B, C e D. O valor de concentração de íons Cu(II) presente em cada aguardente, foi calculado a partir da Equação 1 (página 102).

Para as amostras de aguardentes B e C determinou-se que a concentração presente é de $37,2 \pm 0,2 \mu\text{M}$ e $20,4 \pm 0,2 \mu\text{M}$, respectivamente. Já no caso da amostra D, os valores de absorvância registrados foram próximos ao limite de determinação do método, pois a amostra original de aguardente foi diluída em 50% (v/v).

Provavelmente a aguardente D é destilada em alambiques de aço inox, para que a concentração de cobre presente seja tão pequena.

Assim, para a determinação de íons Cu(II) na aguardente D, utilizou-se também a técnica de adição de padrão para quatro alíquotas de 25,00 mL da mesma, adicionando-se concentrações crescentes de Cu(II) de 10,10; 12,50; 17,50 e 20,20 μM .

Com os valores de absorvância registrados, construiu-se um gráfico, Figura 39, em função da concentração de Cu(II) dos padrões adicionados obtendo-se com isso, uma concentração de Cu(II) de 1,74 μM na aguardente D.

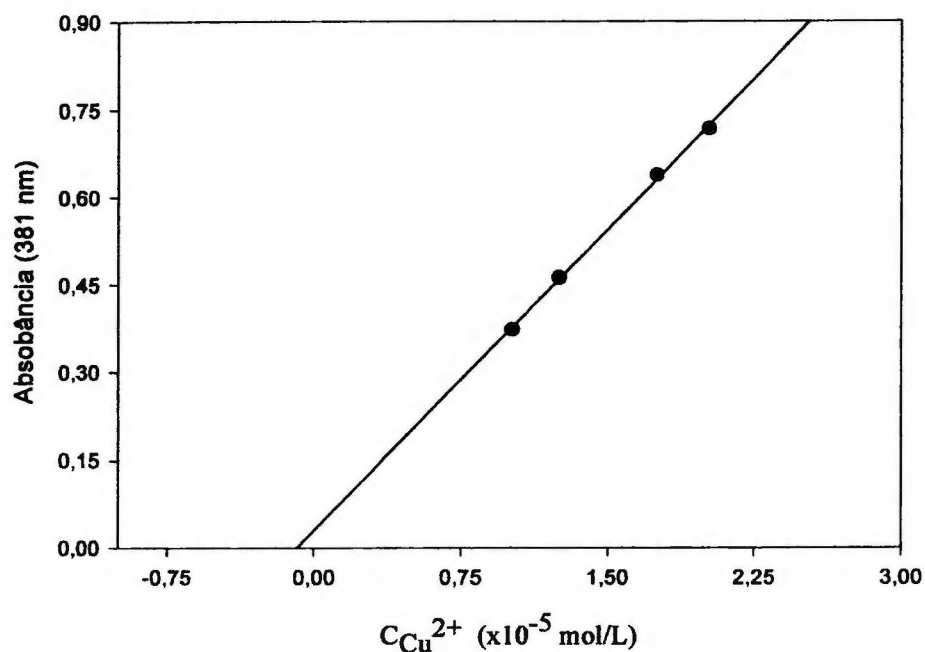


Figura 39 - Curva analítica da aguardente D, com adição de padrões de Cu(II) de 10,10; 12,50; 17,50 e 20,20 μM . Coeficiente de correlação $r^2 = 0,998$

Para efeito de comparação dos resultados obtidos pelo método aqui proposto, foram feitas determinações de Cu(II) nas aguardentes A, B, C e D por espectrometria de absorção atômica com chama (F.A.A.S.), utilizando-se a técnica de adição de padrão⁽¹³⁶⁾ para se eliminar a interferência de transporte provocada pela presença de etanol nas amostras.

Assim, quatro alíquotas de 25,00 mL de cada aguardente foram transferidas para balões volumétricos de 50,00 mL, nos quais para cada série numerada de 0 a 3, adicionou-se solução padrão de Cu(II) resultando 14,81; 32,57 e 63,67 μM , nos balões 1, 2 e 3, respectivamente.

As leituras de absorvância foram feitas em 324,7 nm, e com os valores obtidos construiu-se as respectivas curvas analíticas das aguardentes A, B, C e D, Figura 40.

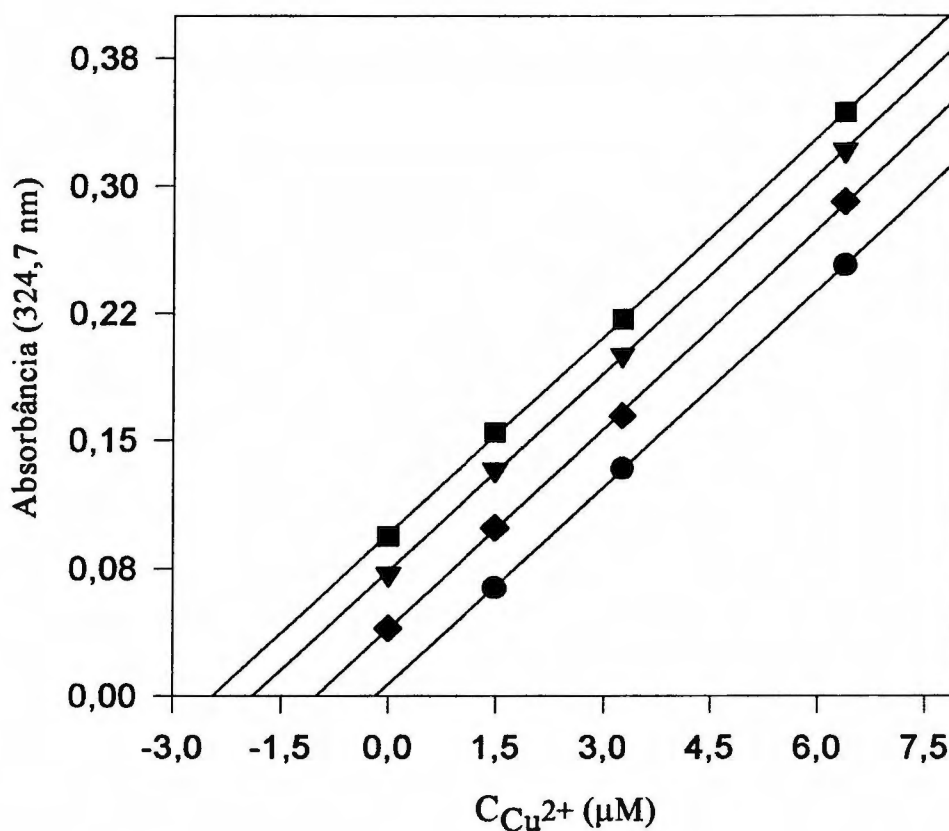


Figura 40 - Curvas analíticas das aguardentes A (■), B (▼), C (◆) e D (●), com adição de padrão de Cu(II) 14,81; 32,57 e 63,67 μM obtidas via espectrometria de absorção atômica com chama (F.A.A.S.).

Na Tabela VIII são apresentadas as concentrações de Cu(II) obtidas via espectrometria de absorção atômica nas aguardentes A, B, C e D e também, as encontradas pelo método espectrofotométrico do sistema Cu(II)/DPKBH, para efeito de comparação.

Tabela VIII - Concentrações de íons Cu(II) determinadas nas amostras de aguardente A, B, C e D, utilizando-se as técnicas de espectrometria de absorção atômica com chama, por adição de padrão, e espectrofotométrica do sistema Cu(II)/DPKBH.

Aguardente	$C_{\text{Cu(II)}} - \text{E.A.A.}$ (μM)	$C_{\text{Cu(II)}} - \text{DPKBH}$ (μM)	Erro Relativo (%)
A	$49,1 \pm 0,30$	$49,1 \pm 0,19^{**}$	0,0
B	$37,7 \pm 0,23$	$37,2 \pm 0,21^*$	-1,3
C	$20,4 \pm 0,20$	$20,4 \pm 0,23^*$	0,0
D	$1,76 \pm 0,01$	$1,74 \pm 0,01^{**}$	-1,2

* método direto

** adição de padrão

Comparando-se os resultados da Tabela VIII, conclui-se que não há diferença significativa entre as concentrações de Cu(II) obtidas para as quatro amostras de aguardente analisadas pelos dois métodos utilizados. No caso das aguardentes A e C, a concentração de Cu(II) encontrada pelo método espectrofotométrico foi idêntica à obtida via espectrometria de absorção atômica com chama.

Com isso, o método aqui proposto mostra-se bastante exato, podendo ser aplicado facilmente a amostras de aguardente ou outros destilados.

Finalmente, cabe salientar que as quatro aguardentes analisadas estão dentro das especificações, com relação à presença de íons Cu(II)⁽¹⁵³⁾.

VI.3 – ADAPTAÇÃO DO MÉTODO ESPECTROFOTOMÉTRICO Cu(II)/DPKBH DE CONDIÇÕES ESTÁTICAS PARA INJEÇÃO EM FLUXO

A adaptação de um método analítico de condições estacionárias para um sistema por injeção em fluxo tem como principais vantagens a redução no consumo de reagentes e amostra, o ganho na velocidade analítica e menor geração de resíduos, fatores de extrema importância para laboratórios de rotina e análises químicas.

Assim, para a adaptação do método espectrofotométrico Cu(II)/DPKBH, propõe-se a utilização do sistema de análise por injeção em fluxo, conforme a configuração mostrada na Figura 41.

Inicialmente, o diagrama de análise por injeção em fluxo de duas linhas foi construído utilizando-se uma bomba peristáltica para propulsão das soluções, com tubos de fluoroelastômero (Viton®) de 1,00 mm de diâmetro interno (d.i.); um injetor comutador⁽¹⁵⁴⁾ construído em acrílico, para inserção das amostras; um sistema de confluência⁽¹⁵⁵⁾ em "T" construído também em acrílico. Já as bobinas de mistura (20 cm) e reação (70 cm), alça de amostragem de 70 µL e demais tubulações do sistema foram confeccionadas com tubos de polietileno de 1,00 mm (d.i.).

Com o intuito de diminuir a dispersão do sistema de análise por injeção em fluxo, utilizaram-se tubos de Viton de 0,50 mm (d.i.) e de polietileno de 0,55 mm de diâmetro interno (d.i.) no canal da solução reagente-DPKBH até a

confluência em “T”. Assim, tem-se uma diminuição na vazão final do sistema em 25% e, conseqüentemente, uma menor dispersão na zona de amostra.

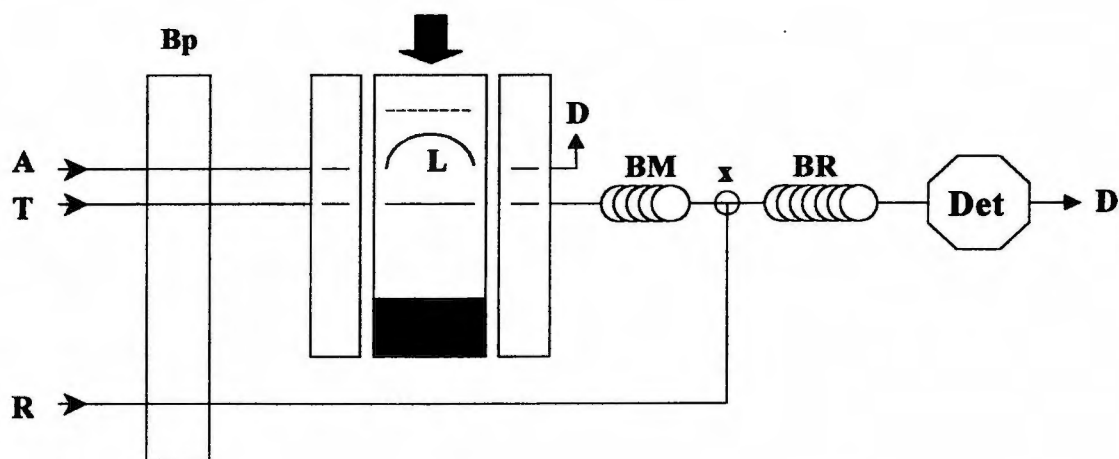


Figura 41 - Diagrama de fluxo proposto para a utilização no método espectrofotométrico Cu(II)/DPKBH. Os três retângulos indicam o injetor comutador e área sombreada indica a posição alternativa do mesmo. **Bp** – bomba peristáltica, **L** – alça de amostragem; **A** – solução amostra; **T** – solução transportadora da amostra (tampão ácido succínico/succinato); **R** - solução de DPKBH; **BM** - bobina de mistura da amostra; **BR** - bobina de reação; **x** – ponto de confluência; **Det** - detector espectrofotométrico ajustado em 381 nm e **D** - descarte.

Todos os materiais utilizados foram previamente avaliados, deixando-os mergulhados nas soluções a serem usadas por 10 h. Após este período registraram-se os espectros das soluções e comparou-se com o espectro das soluções iniciais. Caso se observassem alterações no espectro ou nas características iniciais do material, o uso do mesmo não seria recomendado. Isso aconteceu com os tubos

de Tygon® que ficaram amarelados e rígidos, quando mergulhados na solução etanólica de DPKBH.

O passo seguinte foi tentar ajustar a linha base do sistema. Para tal utilizou-se como solução transportadora da amostra uma solução tampão de ácido succínico (0,0514 mol/L)/succinato (0,149 mol/L), e uma solução reagente de DPKBH $2,15 \times 10^{-3}$ mol/L preparada em 100% etanol. Como amostra usou-se água deionizada.

Nestes testes, encontrou-se dificuldade em ajustar adequadamente a linha base, devido à mistura incompleta da solução aquosa (solução transportadora e amostra) com o etanol da solução reagente. Com isso formaram-se zonas de diferentes índices de refração frente ao detector espectrofotométrico. Observou-se também a presença constante de bolhas no sistema, provocadas pela diferença de solubilidade dos gases das soluções aquosa e etanólica.

Este fenômeno de formação de gradientes de concentração com diferentes índices de refração é chamado de efeito *Schlieren*.

ROCHA e NÓBREGA⁽¹⁵⁶⁾ publicaram recentemente uma revisão, na qual apresentam vários aspectos relacionados com o efeito *Schlieren* e suas perturbações em sistemas de análise por injeção em fluxo.

O efeito *Schlieren* pode influenciar de duas formas os resultados obtidos em sistemas FIA⁽¹⁵⁶⁾. O primeiro caso é quando se tem um reagente com composição distinta daquela do transportador, e este é introduzido por confluência. Observa-se, então, problemas de oscilação da linha base quando as condições de mistura são inadequadas^(157,158,159,160).

A segunda maneira é quando as soluções das amostras apresentam características físico-químicas distintas daquelas da solução transportadora; verifica-se que tanto a forma quanto a altura dos sinais podem ser alterados⁽¹⁶¹⁾. Como conseqüência, perturbações devidas às diferenças de índice de refração podem comprometer a precisão e a exatidão⁽¹⁶²⁾, bem como piorar o limite de detecção^(158,162) de um método.

Portanto, no presente trabalho, pode-se atribuir aos dois tipos de efeito *Schlieren* as perturbações causadas na linha base.

No caso, a solução transportadora-tampão de ácido succínico/succinato, que foi preparada em meio aquoso com concentrações elevadas do ácido e do sal presentes em solução, somada à diferença de densidade e viscosidade da solução reagente-DPKBH, preparada em etanol absoluto, torna-se impossível a obtenção de uma linha base estável para o sistema de análise em fluxo Cu(II)/DPKBH, devido à formação de gradientes de concentração com diferentes índices de refração.

Para solucionar o problema, após vários testes, decidiu-se preparar ambas as soluções em 50% (v/v) de etanol, mantendo-se, assim, a condição ideal para a formação do complexo $\text{Cu}(\text{DPKBH})_2$ estabelecida anteriormente em condições estacionárias. Diminuíram-se, também as concentrações de ácido succínico e succinato de potássio da solução transportadora tampão para $2,6 \times 10^{-3}$ e $7,5 \times 10^{-3}$ mol/L, respectivamente, sem que esta perdesse sua capacidade tamponante, frente à solução de Cu(II), mantida em $\text{pH} \cong 3,1$.

Como os registros da absorvância em função do tempo e do valor de altura de pico são feitos pelo software do espectrofotômetro U-3000, observa-se variação significativa da linha base. Isso provavelmente não ocorreria se estivéssemos utilizando um registrador do tipo x-t. Assim, alterou-se a abertura de fenda do espectrofotômetro de 2,0 para 4,0 nm, com o intuito de diminuir a razão sinal/ruído⁽¹⁶³⁾, obtendo-se uma melhora significativa da linha base, com variação de apenas $\pm 0,001$ no valor de absorvância.

Após o ajuste da linha base, tentou-se obter o sinal da reação entre os íons Cu(II) e o agente quelante DPKBH, injetando-se uma alíquota de amostra contendo íons Cu(II) no sistema de análise em fluxo. Para tal, preparou-se uma solução contendo íons Cu(II) 50 μM .

Logo nos primeiros testes, deparou-se com o segundo tipo de influência do efeito *Schlieren*, no qual a amostra aquosa contendo íons Cu(II) é inserida no fluxo transportador-tampão que conflui com a solução reagente-DPKBH, ambas preparadas em 50% (v/v) de etanol. As diferentes propriedades físico-químicas, tais como densidade⁽¹⁵⁸⁾ e viscosidade^(164,165,166) destas soluções, em comparação à amostra aquosa, dificultaram a obtenção de uma mistura homogênea, ampliando a magnitude do efeito *Schlieren*.

Para comprovação do efeito *Schlieren*, provocado pela injeção da amostra aquosa no sistema de análise em fluxo com soluções preparadas em 50% (V/V) de etanol, fez-se um teste injetando-se no sistema três tipos de soluções diferentes: água deionizada, mistura água e etanol absoluto 50 % (v/v) e uma solução padrão de Cu(II) 88 μM preparada em 50 % (v/v) de etanol. Então,

registrou-se um fiograma, Figura 42, tendo-se como parâmetros: vazão total de 3,2 mL/min; volume de amostra de 200 μ L e comprimento das bobinas de mistura de 15 cm e de reação com 30 cm.

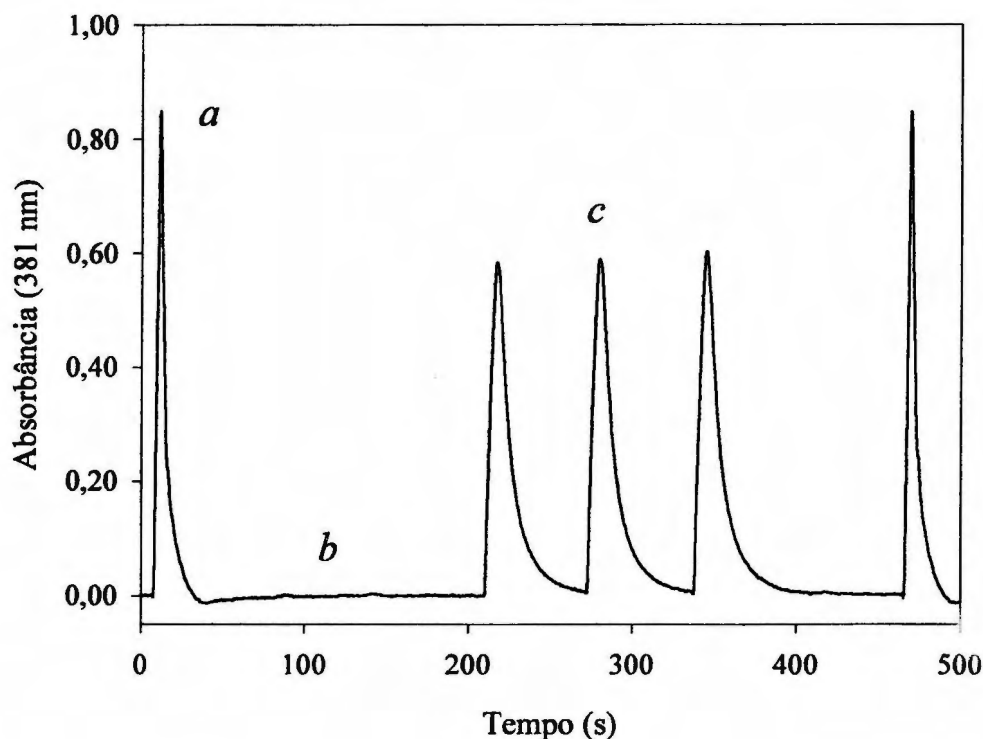


Figura 42 - Fiograma obtido pela injeção de duas alíquotas de (a) água desionizada (0 a 50 e de 450 a 500 segundos), (b) três alíquotas de mistura água e etanol 50 % (V/V) (50 a 200 segundos (2) e 400 a 450 segundos (1)), e (c) três alíquotas de solução padrão de Cu(II) 88 μ M (200 a 400 segundos).

Na Figura 42 observa-se o efeito provocado pela diferença de índices de refração, quando se injeta uma amostra aquosa e outras aquo-etanólicas nos

fluxos do transportador-tampão e reagente-DPKBH, ambos preparados em 50 % (v/v) de etanol.

Os dois maiores picos, registrados no fiagrama (Figura 42), são referentes a injeções de duas alíquotas de água desionizada, sendo uma entre 0 e 50 s e outra entre 450 e 500 s. A mistura incompleta das soluções transportadora-tampão e reagente-DPKBH, com cada alíquota de água desionizada injetada, proporcionou a formação de zonas de diferentes índices de refração, causando uma perturbação na linha base provocando sinais na forma de picos.

Quando se injetaram alíquotas de mistura água e etanol 50 % (v/v), não se observou alteração da linha base, pois o índice de refração das alíquotas era aproximadamente o mesmo dos fluxos do transportador e do reagente. Já quando foram injetadas alíquotas da solução padrão de Cu(II) 88 μ M preparada, também, em 50 % (V/V) de etanol, obtiveram-se os sinais analíticos (200 a 400 s – Figura 34) referentes à reação dos íons Cu(II) com o agente complexante DPKBH.

Isso indica, então, que o efeito *Schlieren* no sistema de análise em fluxo Cu(II)/DPKBH é provocado pela mistura incompleta da amostra aquosa com os fluxos contendo 50 % de etanol.

Geralmente, as perturbações causadas por zonas de diferentes índices de refração tornam-se menos intensas à medida que as condições de mistura são melhoradas, sendo dificilmente observadas em sistemas com dispersão elevada^(156,167). Assim, as diferenças de índices de refração podem ser reduzidas alterando-se os componentes utilizados para efetuar a mistura entre a solução

transportadora, amostra e reagente. Entretanto, essas alterações podem afetar o processo de dispersão da amostra⁽¹⁵⁶⁾.

Melhores resultados são encontrados quando se usam, no sistema, componentes que favoreçam a difusão radial, pois permitem obter uma mistura mais adequada, com reduzida dispersão longitudinal. Isto pode ser conseguido pela utilização de reatores que promovam a contínua mudança da direção do fluxo, gerando situações de turbulência local⁽¹⁵⁶⁾.

Encontram-se na literatura alguns tipos de reatores com o intuito de favorecer a difusão radial, preenchidos com materiais inertes tais como polímeros⁽¹⁶⁰⁾ ou esferas de vidro^(168,169) e reatores tubulares helicoidais com diâmetro reduzido^(170,171).

No caso de reatores preenchidos com esferas de vidro, os mesmos não podem ser avaliados no presente trabalho, pois tanto o reagente DPKBH quanto o complexo $\text{Cu}(\text{DPKBH})_2$ adsorvem em vidro, comprometendo as medidas do sistema por análise de injeção em fluxo. Com relação aos reatores helicoidais com diâmetro reduzido, os reatores até o momento utilizados já são construídos de forma que os tubos são enrolados em um cilindro com 7 mm de diâmetro externo, gerando uma espiral com 10 mm de diâmetro externo. Caso se reduza ainda mais o cilindro central da espiral, corre-se o risco de o tubo de polietileno de 1,00 mm de diâmetro interno se dobrar, impedindo a passagem das soluções (aumento da pressão hidrodinâmica).

Outro dispositivo que também poderia ser utilizado para obtenção de uma mistura mais eficiente das soluções do transportador-tampão e reagente-

DPKBH, ambas em 50 % (v/v) de etanol, com a amostra aquosa, seria uma câmara de mistura⁽¹⁵⁹⁾. Entretanto, o uso de câmaras de mistura representa uma forma de diluição em sistemas FIA^(170,172), sendo menores os sinais obtidos e mais largos na forma de bandas, comprometendo a sensibilidade das medidas e diminuindo a frequência de amostragem.

Assim, foram avaliados reatores construídos com tubos de polietileno de 1,0 mm de d.i., preenchidos com pedaços de teflon de aproximadamente 0,5 mm de diâmetro. Avaliou-se, também, a eficiência de mistura de um reator construído em acrílico na forma de "zigue-zague", Figura 43, o qual é formado por várias confluências em série.

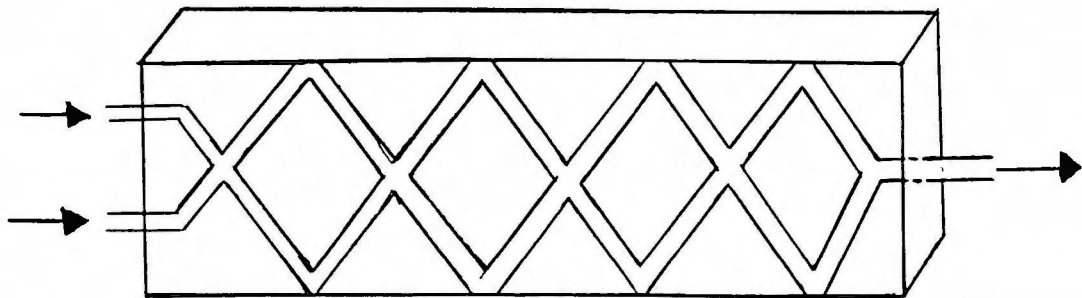


Figura 43 - Reator construído em acrílico com confluências múltiplas na forma de "zigue-zague". Diâmetro interno de 1 mm.

Para realização dos testes, utilizou-se o esquema do sistema da análise por injeção em fluxo proposto na Figura 41, utilizando-se um volume de amostra de

150 μL e uma bobina de mistura de 40 cm, alterando-se a bobina de reação conforme os tipos de reatores estudados.

No caso dos fluxos das soluções transportadora-tampão de ácido succínico/succinato e reagente-DPKBH, ambas preparadas em 50 % (v/v) de etanol, fez-se a substituição das mesmas por apenas uma mistura de água-etanol 50 % (v/v), pois o efeito *Schlieren* é provocado pela diferença de índices de refração da solução aquosa da amostra injetada e dos fluxos que contém 50 % de etanol. Isso foi comprovado pela injeção de um volume de água deionizada nos dois tipos de fluxo e comparando-se as alturas de pico obtidas. Tais alturas mostraram-se similares.

Na Tabela IX encontram-se os valores de altura de pico e dos coeficientes de dispersão obtidos para cada tipo de reator de reação avaliado.

A determinação do coeficiente de dispersão foi feita utilizando-se o corante azul de bromotimol como solução amostra, e solução de tetraborato de sódio 0,01 mol/L como solução transportadora e reagente. O detector espectrofotométrico foi ajustado em 620 nm. O cálculo do coeficiente de dispersão (D_S^{\max})⁽¹⁷³⁾ foi feito a partir da seguinte equação:

$$D_S^{\max} = A_S^0 / A_S^{\max} \quad (\text{eq. 2})$$

onde,

D_S^{\max} = coeficiente de dispersão do ponto de máximo;

A_S^0 = absorvância medida em ausência de dispersão e

A_S^{\max} = absorvância no ponto máximo da amostra.

Os resultados da Tabela IX mostram que a utilização de um reator construído com um tubo de polietileno de 1,0 mm de diâmetro interno e 8 cm de comprimento preenchido com pedaços de Teflon®, proporcionou, em relação ao “sistema normal”, uma redução de aproximadamente 34 % no valor de altura de pico, sem alteração significativa do valor de coeficiente de dispersão⁽¹⁷³⁾. Entretanto, o sinal registrado do branco, ou seja, da alíquota de água injetada, ainda é muito alto.

Tabela IX - Valores de altura de pico devido ao efeito *Schlieren* e de coeficientes de dispersão obtidos para cada tipo de reator.

Tipo de Reator	Altura de Pico (absorbância)	Coefficiente de Dispersão(D)
Espiral 30 cm (sistema normal)	0,8778	3,2
Tubo de 1,0 mm d.i. de 8 cm de comprimento preenchido com pedaços de teflon	0,5784	3,3
Tubo de 1,0 mm d.i. de 12 cm de comprimento preenchido com pedaços de teflon + bobina em espiral de 160 cm	0,2734	6,5
Peça de acrílico em zigue-zague + bobina em espiral de 160 cm	0,0769	7,6
Peça de acrílico em zigue-zague + bobina em espiral de 110 cm + bobina em espiral de 90 cm com rotação invertida	0,0832	6,3

No caso do segundo tipo de reator avaliado, acoplou-se uma bobina na forma de espiral de 160 cm de comprimento a um outro reator construído com um tubo de polietileno de 1,0 mm (d.i.), e 12 cm de comprimento preenchido com pedaços de Teflon®. Neste teste, obteve-se uma redução ainda maior no valor de altura de pico do branco, porém o valor do coeficiente de dispersão dobrou. Isso poderia levar a uma sensibilidade menor das medidas e, também, à diminuição na frequência de amostragem, pois os sinais obtidos seriam menores e mais largos na forma de bandas.

Já para o reator construído em acrílico na forma de “zigue-zague”, composto por várias confluências em série, acoplado a uma bobina em espiral de 160 cm, obteve-se a maior queda no valor de altura de pico do branco. Mas como no caso anterior, o valor do coeficiente de dispersão também foi elevado.

Um valor de altura de pico similar de 0,0832 foi verificado para o reator em “zigue-zague”, acoplado a duas bobinas em espiral de 110 e 90 cm, sendo que a segunda tinha a rotação invertida em relação à primeira. Neste caso o valor de coeficiente de dispersão foi um pouco menor em comparação ao teste anterior, mesmo tendo-se um comprimento total das bobinas em espiral maior. Isto se deve à inversão de rotação do fluxo, gerando uma turbulência local mais acentuada, tendo-se uma intensidade maior de transferência de massa radial com a dispersão menor da solução.

Portanto, nenhum dos reatores avaliados conseguiu eliminar completamente o sinal do branco (água), por não se obter uma mistura eficiente das soluções aquosa e aquo-etanólicas 50% (v/v). Para tal, seria necessário aumentar o

tamanho dos reatores de reação tendo como consequência uma dispersão maior da zona de amostra, e diminuições da sensibilidade do sistema e frequência de amostragem.

Assim, conclui-se ser necessária a pré-diluição da amostra aquosa em etanol absoluto, na razão 50% (v/v), antes de se injetar a mesma no sistema de análise em fluxo. Como apresentado na Figura 42, quando se injetou a solução amostra de Cu(II) 88 μ M, pré-diluída em etanol 50% (v/v), obteve-se apenas o sinal da reação entre os íons Cu(II) e o agente complexante DPKBH, pois o índice de refração das alíquotas da amostra era aproximadamente o mesmo dos fluxos do transportador-tampão e do reagente.

Então, com o objetivo de se fazer a pré-diluição da amostra em fluxo, propôs-se uma mudança na configuração do esquema de análise por injeção em fluxo, Figura 44.

O sistema de pré-diluição, Figura 44, é composto por dois canais, um para a amostra aquosa (A) e outro para o etanol absoluto (EA), que bombeiam as duas soluções com mesma vazão para uma câmara de mistura, onde ocorre a mistura gerando uma solução 50 % (v/v) aquo-etanólica.

Devido à diferença de solubilidade dos gases em uma solução aquosa em comparação ao etanol, tem-se a formação de grande quantidade de microbolhas na tubulação, após a mistura das soluções. Então, acrescentou-se ao sistema um degaseificador, construído em acrílico, composto por uma membrana permeável a gases, que por pressão reduzida, gerada através da própria bomba peristáltica, retiraria as microbolhas da tubulação antes da passagem da solução amostra pela

alça de amostragem a ser inserida no percurso analítico do sistema por injeção em fluxo.

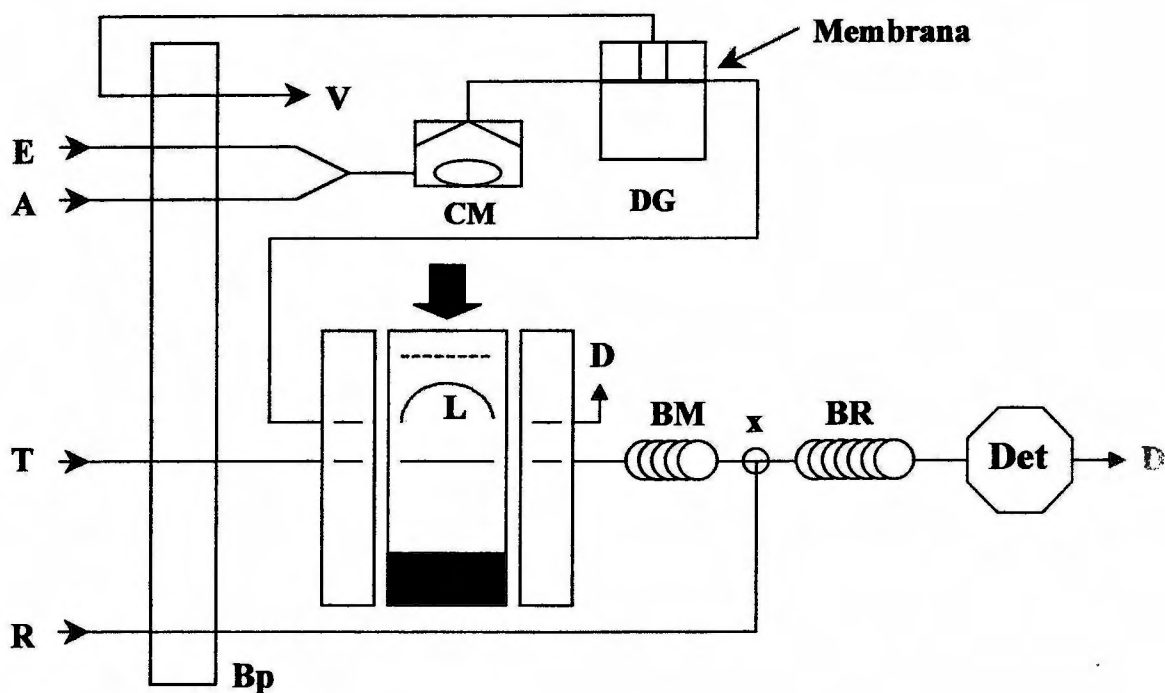


Figura 44 - Esquema do sistema em fluxo com pré-diluição da amostra aquosa com etanol absoluto na proporção de 50 % (v/v). E - canal do etanol absoluto (0,55 mm de d.i.); A - canal da amostra aquosa (0,55 mm de d.i.); V - vácuo; CM - câmara de mistura; DG - desgaseificador. Demais legendas iguais às da Figura 41.

Foram avaliadas várias membranas a fim de se determinar qual apresentava maior eficiência e durabilidade. Na Tabela X são apresentados os diferentes tipos de membranas utilizadas e suas respectivas eficiência e durabilidade.

A partir da Tabela X tem-se que a membrana que apresentou melhor eficiência foi a Zeflour, com uma durabilidade aproximada de 20 minutos, mantendo a mesma eficiência inicial. Após isso, verificou-se uma saturação da membrana, não eliminando mais as microbolhas da solução. No caso da fita de Teflon® a eficiência foi ótima, mas devido à presença do etanol na mistura, observou-se a decomposição da membrana. Já as demais membranas não mostraram boa eficiência e durabilidade, como foi o caso da membrana PTFE-Fluoropore (FHLP) que não retirava por completo as microbolhas da solução.

Tabela X - Tipos de membranas avaliadas no desgaseificador do sistema de pré-diluição da amostra aquosa com etanol absoluto.

Tipos de Membranas	Eficiência	Durabilidade
Teflon®	ótima	3 minutos
PTFE-Fluoropore (FGLP)	baixa	-
PTFE-Fluoropore (FHLP)	média	30 minutos
PTFE-Fluoropore (FALP)	média	10 minutos
Millex-FGS	baixa	-
Zeflour	ótima	20 minutos
MF-Millipore (HA)	baixa	-

Portanto, conclui-se que o uso da membrana Zeflour não seria viável, devido à sua baixa durabilidade, o que acarretaria na necessidade de trocas constantes. Outro agravante do uso do sistema de pré-diluição sugerido seria o

tempo de lavagem da câmara de mistura a cada nova troca de solução amostra contendo íons Cu(II), o que levaria a uma menor frequência de amostragem.

Resolveu-se, então, fazer a pré-diluição da amostra com etanol, na proporção de 50% (v/v) em balão volumétrico, antes de sua injeção no sistema FIA, com isso eliminam-se os problemas relacionados às bolhas geradas pela diferença de solubilidade dos gases entre a amostra aquosa e o etanol.

VI.3.1 - Determinação dos Parâmetros Instrumentais de Dispersão

Tendo-se como base o esquema de injeção em fluxo proposto inicialmente, Figura 41, e as concentrações das soluções transportadora-tampão de ácido succínico $2,57 \times 10^{-3}$ mol/L - succinato $7,46 \times 10^{-3}$ mol/L e reagente DPKBH $2,3 \times 10^{-3}$ mol/L, ambas preparadas em 50% de etanol (v/v), foram feitos estudos para avaliar quais os melhores parâmetros instrumentais de dispersão para a adaptação do método espectrofotométrico para determinação de Cu(II), de condições estacionárias para injeção em fluxo.

VI.3.1.1 - Diâmetro Interno dos Tubos e Vazão

O primeiro parâmetro estudado foi o diâmetro interno dos tubos a serem utilizados no sistema de análise por injeção em fluxo. Simultaneamente, variou-se a velocidade de fluxo, para verificar a influência na dispersão da amostra.

O sistema utilizado neste estudo foi construído com uma bobina de mistura de 40 cm, bobina de reação de 70 cm e uma alça de amostragem de 100 μL . Utilizou-se uma solução padrão de Cu(II) 60 μM preparada com 50 % de etanol (v/v) como solução amostra.

Foram registrados diagramas variando-se o diâmetro interno do canal do transportador-tampão e do percurso analítico, mantendo-se constante o diâmetro interno do canal do reagente DPKBH em 0,55 mm. Alterou-se, também, a rotação da bomba peristáltica, ou seja, a vazão das soluções, para cada diâmetro de tubo utilizado, com o intuito de verificar qual fluxo resultaria no melhor sinal.

A Figura 45 mostra os valores de altura de pico (em absorbância) obtidos para os diferentes fluxos alcançados com a variação dos diâmetros internos dos tubos de polietileno avaliados.

Na Tabela XI, têm-se os máximos valores de altura de pico obtidos para cada tubulação utilizada, e os respectivos valores de coeficiente de dispersão.

Deve-se ressaltar que os estudos não foram realizados com a mesma vazão, pois esta se limita à vazão máxima proporcionada pelo próprio diâmetro interno dos tubos, bem como a velocidade máxima de rotação da bomba peristáltica.

Observa-se na Figura 45 que a maior altura de pico foi obtida quando se usou a tubulação de 0,7 mm (d.i.), no canal do transportador-tampão e no percurso analítico. Já através da Tabela XI, tem-se que para este diâmetro interno e uma altura de pico de 0,3846, a vazão era de 3,8 mL/minuto, com um coeficiente de dispersão de 4,89. Assim, decidiu-se utilizar a tubulação de 0,7 mm (d.i.) para a

linha do transportador-tampão e percurso analítico, com uma rotação da bomba peristáltica de 85 rpm, ou seja, um fluxo de 3,8 mL/min.

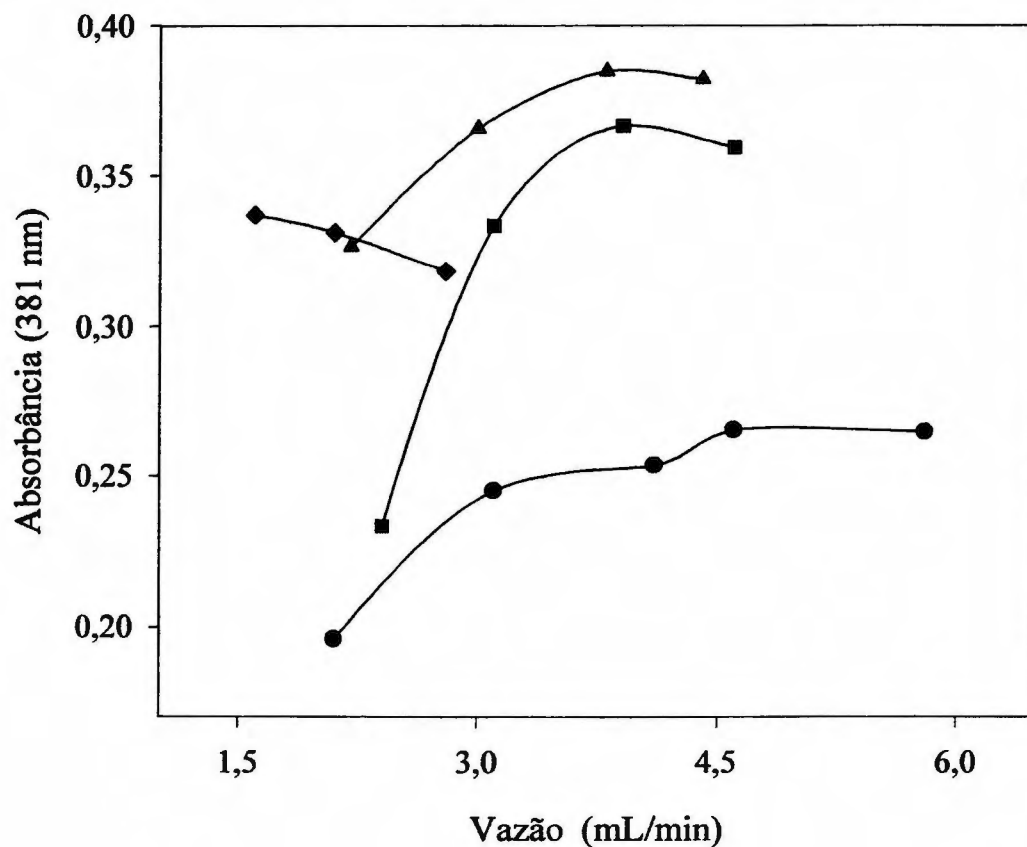


Figura 45 - Valores de altura de pico (em absorbância) obtidos utilizando no canal do transportador-tampão e do percurso analítico, tubos de diâmetro interno de 0,55 mm (◆); 0,7 mm (▲); 0,8 mm (■) e 1 mm (●), variando-se o fluxo do sistema até rotação máxima da bomba peristáltica (100 rpm).

Tabela XI - Valores máximos de altura de pico (média de 3 picos) obtidos para cada tubulação e vazão avaliados e os respectivos valores de coeficiente de dispersão.

Diâmetro Interno da Tubulação (mm)	Altura de Pico (absorbância)	Vazão (mL/min)	Coefficiente de Dispersão
0,55	0,3371	1,6	4,42
0,70	0,3846	3,8	4,89
0,80	0,3665	3,9	5,08
1,00	0,2654	4,6	5,56

VI.3.1.2 - Volume de Amostra Injetado

O segundo parâmetro avaliado foi o volume de amostra e sua influência no sinal analítico. Variou-se o volume de amostra de 100 a 350 μL , mantendo-se os demais parâmetros fixos.

Na Figura 46 são apresentadas as alturas de pico (média de 3 picos), obtida para os diferentes volumes de amostra de Cu(II) 60 μM , em 50% (v/v) de etanol, injetados. Observa-se que com o aumento do volume de amostra injetado tem-se também um aumento no sinal analítico. Decidiu-se utilizar um volume de amostra de 300 μL , o que corresponde a apenas 150 μL da amostra original contendo íons Cu(II) , pois a mesma está diluída em 50 % de etanol (v/v).

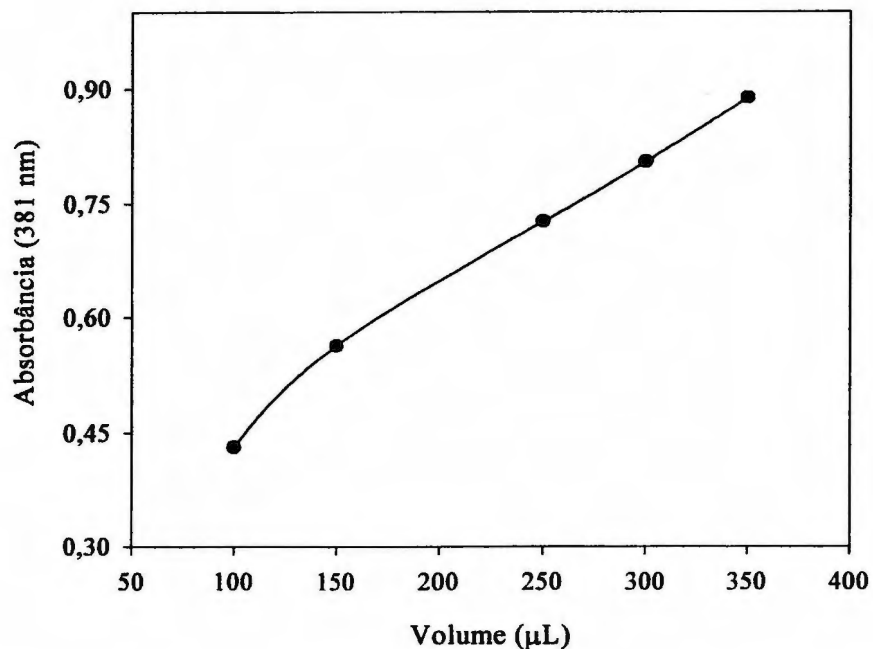


Figura 46 - Influência do volume de amostra de Cu(II) 60 µM (em 50 % (v/v) de etanol) injetado no sinal analítico do sistema de análise em fluxo. Vazão de 3,8 mL/min, bobina de mistura de 40 cm e bobina de reação de 70 cm (média de 3 picos).

VI.3.1.3 - Bobina de Mistura

A fim de avaliar qual a influência do comprimento da bobina de mistura no sinal analítico, foi feito um estudo variando-se de 10 a 50 cm o comprimento da bobina, tendo-se como base um volume de amostra de Cu(II) 60 µM (50% de etanol) injetado de 300 µL, bobina de reação de 70 cm e uma rotação da bomba peristáltica de 85 rpm (vazão = 3,8 mL/min).

A Figura 47 mostra que, com o aumento do comprimento da bobina de mistura, tem-se uma queda no valor de absorbância, ou seja, uma altura de pico menor. Isto é devido à maior dispersão da zona de amostra, com o aumento do comprimento da bobina de mistura, diminuindo a sensibilidade do sistema. Portanto, conclui-se que o comprimento ideal da bobina de mistura é de 20 cm para o volume injetado de 300 μL , por esta apresentar maior sensibilidade do sistema de análise por injeção em fluxo, quando comparada às outras avaliadas.

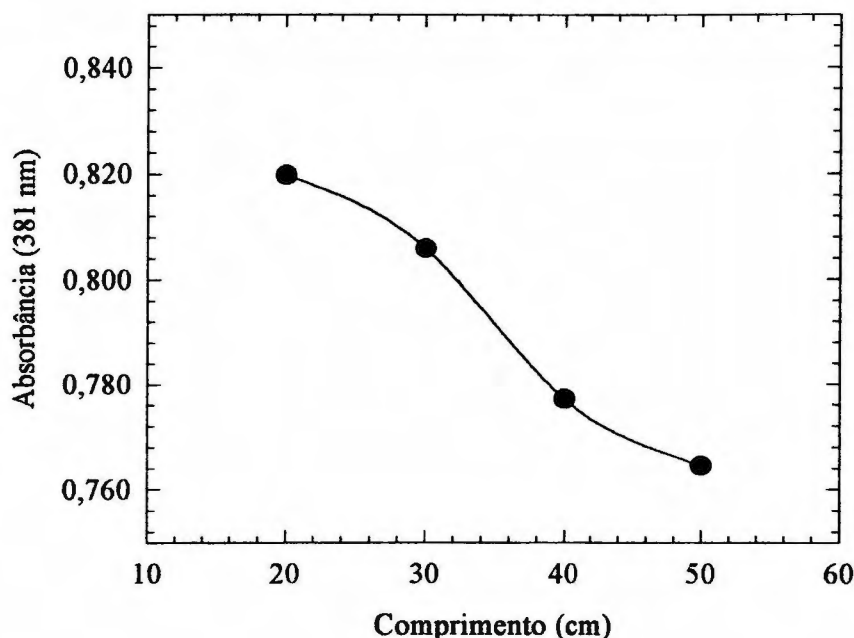


Figura 47 - Avaliação do comprimento ideal de bobina de mistura do sistema de análise em fluxo Cu(II)/DPKBH. Alturas de pico (média de 3 picos) obtidas com a injeção de 300 μL de uma solução padrão de Cu^{2+} 60 μM (50% v/v de etanol). Bobina de reação de 70 cm e vazão de 3,8 mL/min.

No caso da bobina de mistura de 10 cm, os valores de altura de pico não foram reprodutíveis. Por este motivo, os mesmos não foram representados na Figura 47.

Como o volume de amostra injetado no sistema de análise em fluxo é 300 μL , o que corresponde a uma alça de amostragem com 78 cm, considerando o diâmetro interno do tubo utilizado de 0,7mm⁽¹⁷²⁾, pensou-se, a princípio, que uma bobina de mistura de apenas 20 cm, não seria suficiente para que houvesse uma interpenetrabilidade total da solução tampão em toda a região da amostra. Com isso, o valor de pH = 3,1 da amostra injetada não seria perfeitamente ajustado em aproximadamente 7,2 pela ação do tampão, o que não seria uma condição ideal para ocorrer a reação dos íons Cu(II) com o DPKBH.

Assim, resolveu-se fazer um teste acrescentando um outro canal de 0,55 mm de fluxo de tampão, que confluiria com o do reagente DPKBH antes deste confluir com a amostra, conforme mostra a Figura 48. Assim, ter-se-ia o reagente tamponado no momento da reação.

Então, foram registrados novos fiagramas considerando esta alteração na configuração do sistema de análise em fluxo e o aumento do fluxo final de 3,8 mL/min para 4,8 mL/min. Entretanto, não se verificou alteração significativa na altura de pico. Variou-se também a vazão do sistema, mas observou-se apenas uma diminuição da altura de pico para velocidade menor.

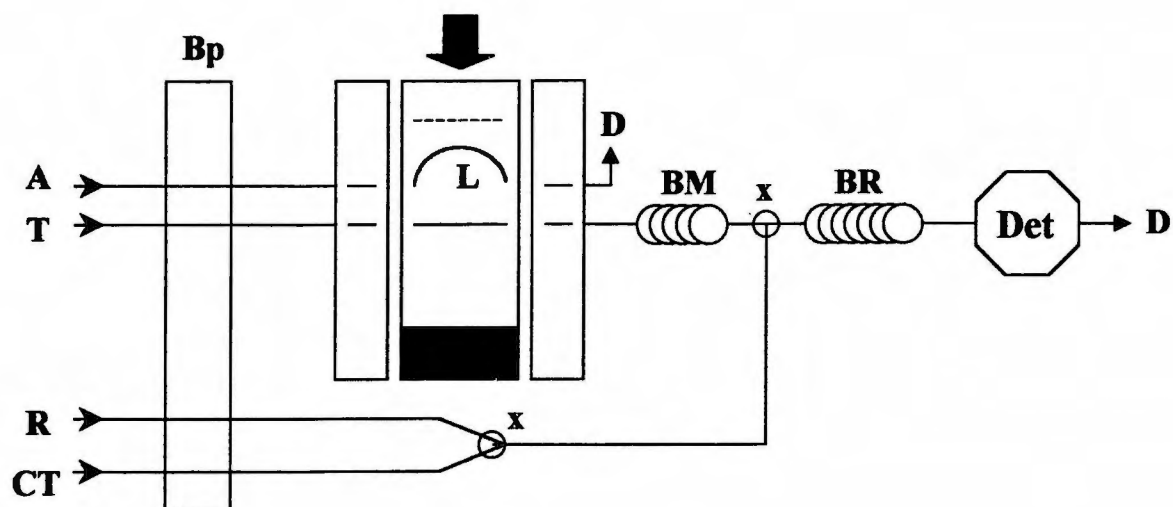


Figura 48 - Esquema do sistema de injeção em fluxo proposto para a utilização no método espectrofotométrico Cu(II)/DPKBH, com canal adicional do tampão ácido succínico-succinato (CT). As demais legendas são iguais às da Figura 41.

VI.3.1.4 - Bobina de Reação

O próximo estudo realizado foi o do comprimento ideal da bobina de reação no sistema de análise em fluxo Cu(II)/DPKBH. Mantendo-se os parâmetros anteriores, e utilizando-se a bobina de mistura de 20 cm, variou-se o comprimento das bobinas de reação de 50 a 110 cm.

A Figura 49 apresenta os pontos obtidos para os valores médios de altura de pico, em absorvância, de três injeções de 300 μL de solução de Cu(II) 60 μM (50 % v/v de etanol), usando-se as diferentes bobinas de reação avaliadas.

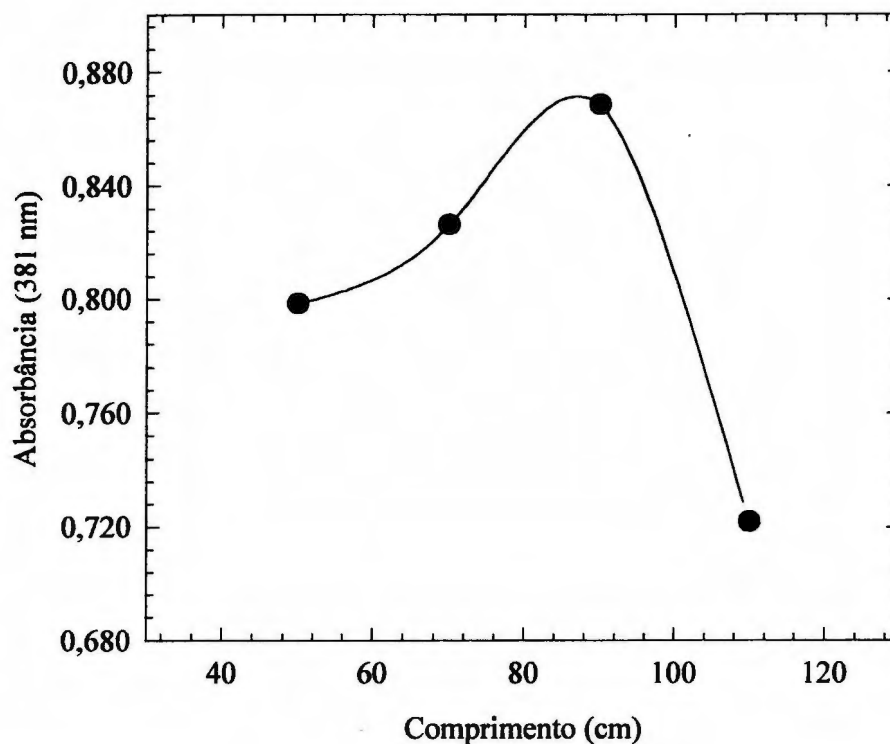


Figura 49 - Avaliação do comprimento ideal da bobina de reação do sistema de análise em fluxo Cu(II)/DPKBH. Alturas de pico (média de 3 picos), obtidas com a injeção de 300 μL de uma solução padrão de Cu^{2+} 60 μM (50% de etanol V/V) Bobina de mistura de 20 cm e vazão de 3,8 mL/minuto.

Observam-se valores crescentes de altura de pico para as bobinas de reação de 50, 70 e 90 cm, e um decréscimo no valor de altura de pico para a bobina de reação de 110 cm. Considerando que a cinética de reação entre os íons Cu(II) e o reagente DPKBH é praticamente instantânea, bem como o complexo formado apresentar ótima estabilidade (Figura 34), tem-se que o aumento inicial no valor de altura de pico é provocado pelas melhores condições de mistura dos reagentes,

favorecendo a ocorrência da reação. Já na situação do sistema em fluxo com a bobina de reação de 110 cm, o decréscimo observado é devido a dispersão mais acentuada do produto da reação, gerando um sinal analítico menor.

Desta forma, conclui-se que o comprimento ideal da bobina de reação para o sistema de análise em fluxo Cu(II)/DPKBH é de 90 cm.

VI.3.1.5 - Determinação do Coeficiente de Dispersão

Estando definidos todos os parâmetros instrumentais de dispersão que poderiam influenciar no sinal analítico do sistema FIA, tais como: tubulação com diâmetro interno de 0,7 mm para o canal do transportador-tampão e percurso analítico e 0,55 mm para o canal do reagente DPKBH; vazão final do sistema de 3,8 mL/min; volume de amostra de 300 μ L e comprimento da bobina de mistura de 20 cm e bobina de reação com 90 cm, determinou-se o coeficiente de dispersão do sistema, utilizando-se uma solução de azul de bromotimol e tetraborato de sódio, como descrito anteriormente.

O valor do coeficiente de dispersão de $D_s^{\text{máx}} = 2,19$, calculado através da Equação 2, indica que o sistema de análise em fluxo Cu(II)/DPKBH apresenta uma dispersão limitada^(172,173), ou seja, a concentração original da amostra *S* injetada sofre uma dispersão de 54,3%.

O uso de tubos de polietileno de diâmetro interno reduzido (0,7 mm no percurso analítico) e um volume de amostra de 300 μ L contribuíram para a obtenção de baixo valor de dispersão da amostra⁽¹⁷⁴⁾, pois considerando-se o

comprimento total do percurso analítico de 203 cm, resultante da soma de todas as etapas percorridas pela amostra antes de chegar ao detector (alça de amostragem, bobina de mistura da amostra com o transportador-tampão, confluência com o reagente, bobina de reação e conexão de entrada da cubeta), o volume de 300 μL injetado ocupa 78 cm do percurso analítico, ou seja, 38,4% do sistema.

Este pequeno valor de diluição aproximado de 1:1 da amostra com o reagente e o fluxo transportador-tampão mostrou-se bastante oportuno, já que, para minimização do efeito *Schlieren* no sistema FIA, é necessária uma etapa de pré-diluição da amostra em 50 % de etanol (V/V). Com isso, a amostra chega ao detector com 1/4 de sua concentração original, o que pode ser considerado como um “valor de coeficiente de dispersão média ($D = 4$)”, obtendo-se, ainda, uma boa sensibilidade do sistema de análise em fluxo.

Calculou-se, ainda, a taxa de amostragem do sistema que resultou em 120 determinações/hora.

VI.3.1.6 - Curva Analítica do Sistema de Análise em Fluxo Cu(II) / DPKBH

O próximo passo foi obter a curva analítica do sistema, para definir a faixa de análise do método espectrofotométrico para a determinação de cobre envolvendo análise por injeção em fluxo.

Tendo-se como base os parâmetros definidos anteriormente, obteve-se a curva analítica do sistema de análise em fluxo Cu(II)/DPKBH. Para tal, prepararam soluções de referência de Cu(II) por diluição, a partir de uma solução

estoque de Cu(II) 0,07403 mol/L, nas concentrações de 2,481 a 59,95 μ M diluídos em 50 % de etanol (v/v). Prepararam-se ainda duas amostras de aguardente, ajustando a percentagem de etanol das mesmas de 40% para 50% (V/V), a fim de se poder determinar a concentração de Cu(II) presente nestas amostras reais.

A Figura 50 mostra o fiagrama obtido após a injeção em triplicata de cada padrão aquo-etanólico de Cu(II) e as injeções das amostras reais de aguardente. Já a Figura 51 mostra a curva analítica do sistema FIA/Cu(II)/DPKBH/etanol, construída com os valores médios de altura de pico.

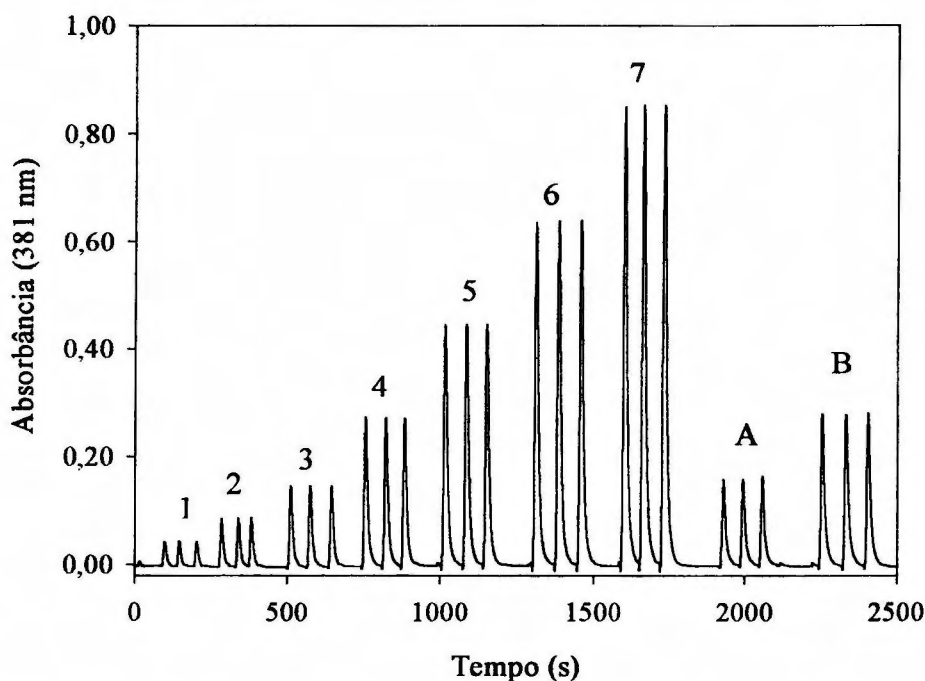


Figura 50 - Fiagrama obtido pela injeção de 7 soluções de referência aquo-etanólicas de Cu(II) nas concentrações de 2,481, 5,022, 9,265, 17,02, 30,04, 44,97 e 59,95 μ M, respectivamente e as injeções das amostras reais de aguardente A e B (em triplicata).

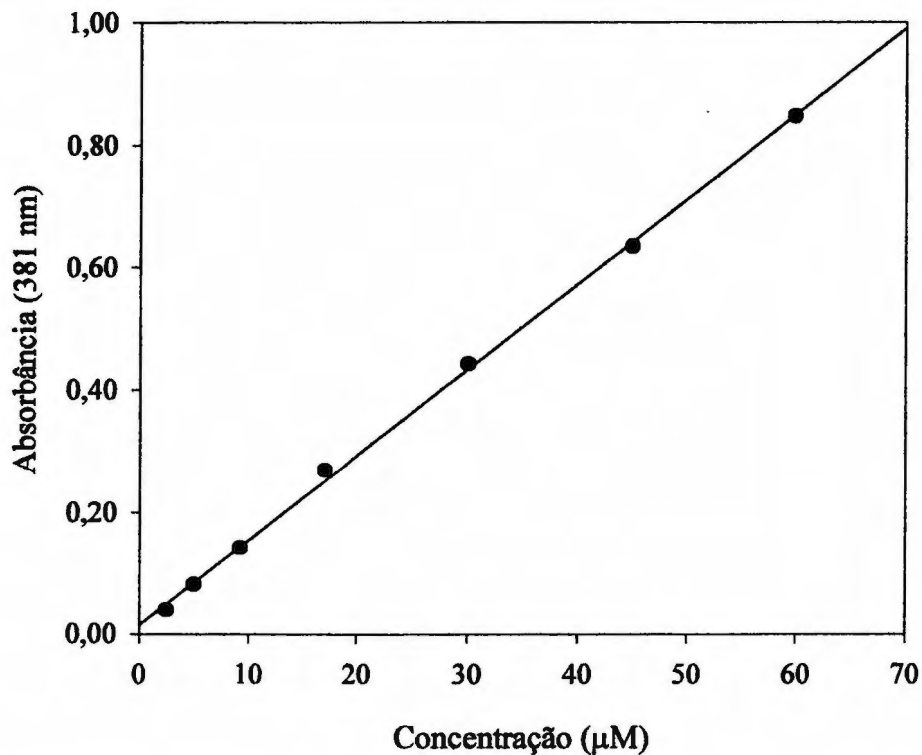


Figura 51 - Curva analítica do sistema de análise por injeção em fluxo Cu(II)/DPKBH.

Assim, a partir da curva analítica obtida na Figura 51, e através de parâmetros de regressão linear, pode-se verificar a boa linearidade, com coeficiente de correlação $r^2 = 0,999$, e coeficientes linear e angular iguais a $(0,0150 \pm 0,006)$ e $(1,39 \pm 0,019) \times 10^4$, respectivamente. A equação para cálculo da concentração analítica de Cu(II), será:

$$A = 0,0150 + 1,39 \times 10^4 C_{\text{Cu(II)}} \quad (\text{eq. 3})$$

onde A representa o valor de altura de pico em unidade de absorbância.

A partir da equação anterior, pode-se calcular o valor de concentração de Cu(II) presente nas duas amostras reais de aguardente injetadas no sistema de análise em fluxo, substituindo-se os valores de altura de pico médios (em absorbância) de 0,1568 para a aguardente A e 0,2754 para a aguardente B, obtidos na Figura 51 após a injeção das 7 soluções de referência de Cu(II).

Para efeito de comparação dos resultados obtidos pelo método aqui proposto, foram realizadas determinações de Cu(II) por espectrometria de absorção atômica com chama (F.A.A.S), utilizando-se a técnica de adição de padrão⁽¹³⁶⁾, para se eliminar o efeito de matriz provocado pela presença de etanol nas amostras.

Então, quatro alíquotas de 25,00 mL de cada aguardente foram transferidas para balões volumétricos de 50,00 mL, nos quais para cada série enumerada de 0 a 3, adicionou-se padrões de Cu(II) de 14,80; 32,55 e 63,60 μM , nos balões 1, 2 e 3, respectivamente. As leituras de absorbância foram feitas em 324,7 nm e, com os valores obtidos, construíram-se as respectivas curvas analíticas das aguardentes A e B, Figura 52.

Os resultados da concentração de Cu(II) obtidos para os dois métodos são apresentados na Tabela XII.

Comparando-se os resultados da Tabela XII, conclui-se que para a amostra A, a concentração de Cu(II) encontrada pelo método espectrofotométrico DPKBH-FIA apresentou uma diferença de - 1,4 %, em relação à concentração de Cu(II) obtida por espectrometria de absorção atômica com chama. No caso da amostra de aguardente B, encontrou-se uma diferença de apenas 1,1% entre as concentrações de Cu(II) obtidas pelos dois métodos utilizados.

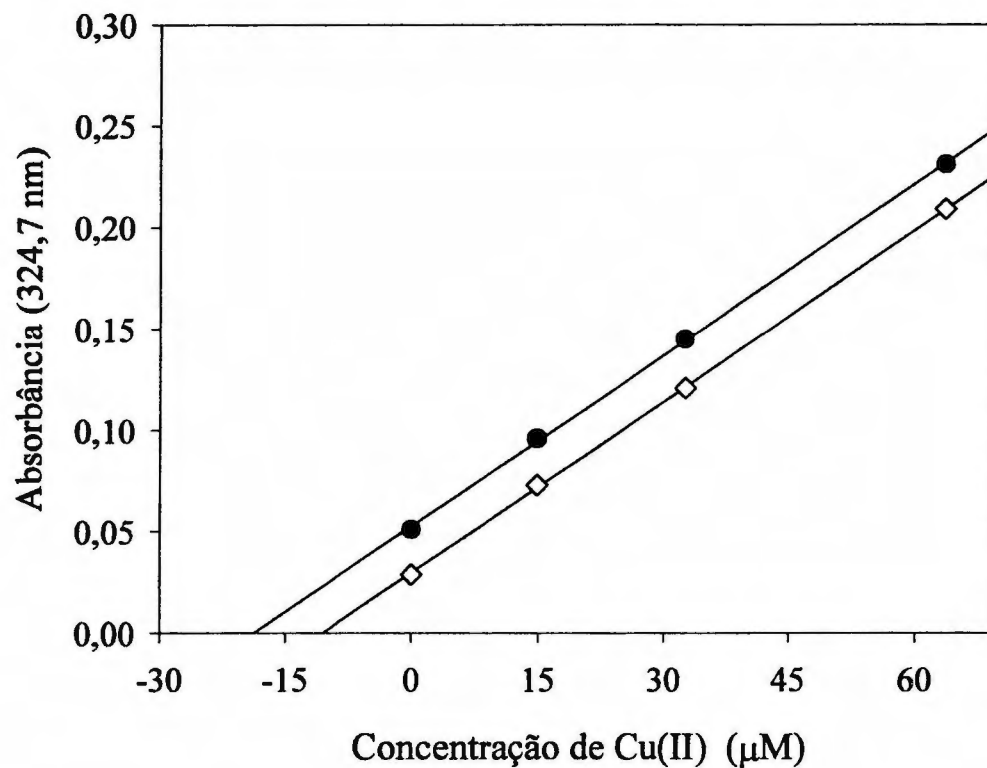


Figura 52 - Curvas analíticas com adição de padrão de Cu(II), para as aguardentes A (◇ - $r^2 = 0,998$) e B (● - $r^2 = 0,999$), obtidas por espectrometria de absorção atômica com chama.

Tabela XII - Concentração de Cu(II) obtida para as duas amostras de aguardente, pelas técnicas de espectrometria de absorção atômica com chama e espectrofotométrica envolvendo análise por injeção em fluxo. (considerar fator de diluição de 2,0012 para a amostra analisada por FIA, a partir do resultado obtido com a equação 3, e de 2 por F.A.A.S.).

Aguardente	E.A.A. $C_{\text{Cu(II)}} (\mu\text{M})$	DPKBH - FIA $C_{\text{Cu(II)}} (\mu\text{M})$	Erro Relativo (%)
A	$21,2 \pm 0,50$	$20,9 \pm 0,47$	- 1,4
B	$37,4 \pm 0,33$	$37,8 \pm 0,13$	1,1

Finalmente, cabe salientar que as duas aguardentes analisadas estão dentro das especificações, com relação à presença de íons Cu(II)⁽¹⁵³⁾.

VI.4 – DESENVOLVIMENTO DE MÉTODOS PARA DETERMINAÇÃO DE Fe(II) E Fe(III)

Com o intuito de determinar íons Cu(II), Fe(II) e Fe(III) presentes em uma mesma amostra e, ainda, fazer a especiação do ferro, foram feitos estudos para se desenvolver, em separado, métodos para a determinação de íons Fe(II) e Fe(III) com a di-2-piridil cetona benzoilhidrazona (DPKBH). Para tal, considerou-se que os respectivos complexos apresentam bandas de absorção em diferentes regiões do espectro⁽²⁾.

VI.4.1 – Características Espectrais e Otimização dos Parâmetros Analíticos

Tendo como base as condições experimentais estabelecidas para o método espectrofotométrico Cu(II)/DPKBH, em processo estático, foram verificadas as características espectrais das soluções utilizadas no método dos íons Fe(II) e Fe(III), e dos complexos Fe(II)/DPKBH e Fe(III)/DPKBH.

As soluções para medida de absorbância foram preparadas em meio contendo 50 % de etanol (v/v), valor de pH ajustado em 7,2 com solução tampão ácido succínico $5,14 \times 10^{-3}$ mol/L - succinato de potássio $1,49 \times 10^{-2}$ mol/L (concentrações finais), razão metal/ligante mínima de 1:20, ou seja, concentração de DPKBH 502 μ M e ordem de adição dos reagentes M^{n+} , DPKBH, tampão, etanol e água.

Na Figura 53 são apresentados os espectros de absorção dos íons Fe(II) e Fe(III), em presença da solução tampão ácido succínico/succinato, etanol e

água, contra tampão, etanol e água como branco. Observa-se no espectro *a* que os íons Fe(II) praticamente não absorvem em presença do tampão, na faixa de comprimento de onda estudado. Já os íons Fe(III), espectro *b*, absorvem com maior intensidade a partir de 250 nm, decaindo até 560 nm. Os íons Fe(II) formam complexos fracos com o succinato, em temperaturas mais elevadas (37 °C), apresentando constante de estabilidade⁽¹⁷⁵⁾ igual a $2,51 \times 10^1 \text{ mol}^{-1}/\text{L}^{-1}$ ($\mu = 0,15$). Já os íons Fe(III) formam complexos mais estáveis, com valor de constante de estabilidade⁽¹⁷⁶⁾ igual a $7,59 \times 10^6 \text{ mol}^{-1}/\text{L}^{-1}$ ($\mu = 0,5$).

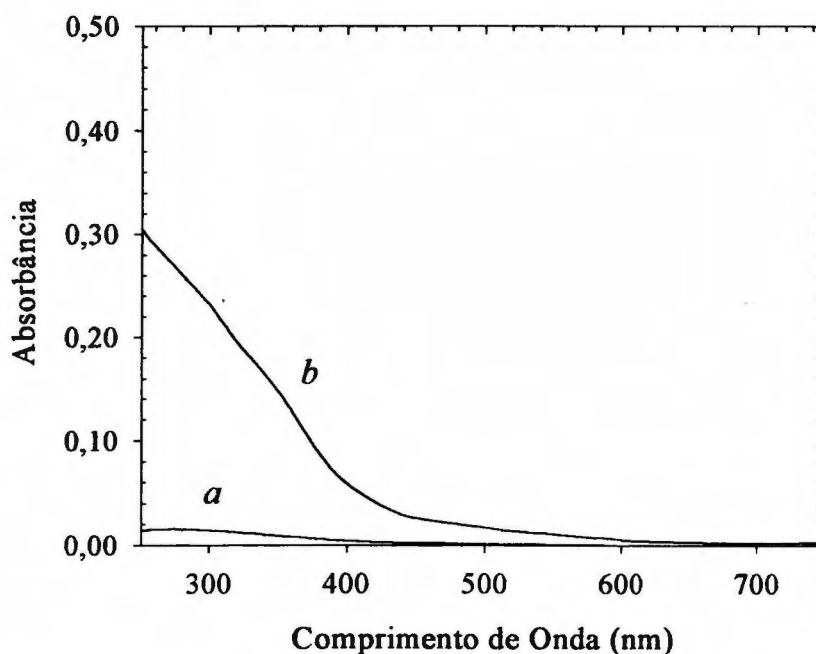


FIGURA 53 - Espectros de absorção de (a) Fe(II) 25,0 μM e (b) Fe(III) 73,1 μM em presença de solução tampão ácido succínico $5,14 \times 10^{-3} \text{ mol/L}$ – succinato de potássio $1,49 \times 10^{-2} \text{ mol/L}$, etanol e água 50% (v/v), contra tampão, etanol e água.

A Figura 54 mostra o espectro de absorção do complexo Fe(II)/DPKBH (*a*), que apresenta duas bandas em diferentes regiões com máximos de absorção em 362 nm e 658 nm, e o do complexo Fe(III)/DPKBH (*b*) com apenas uma banda com pico de máxima absorção em 362 nm.

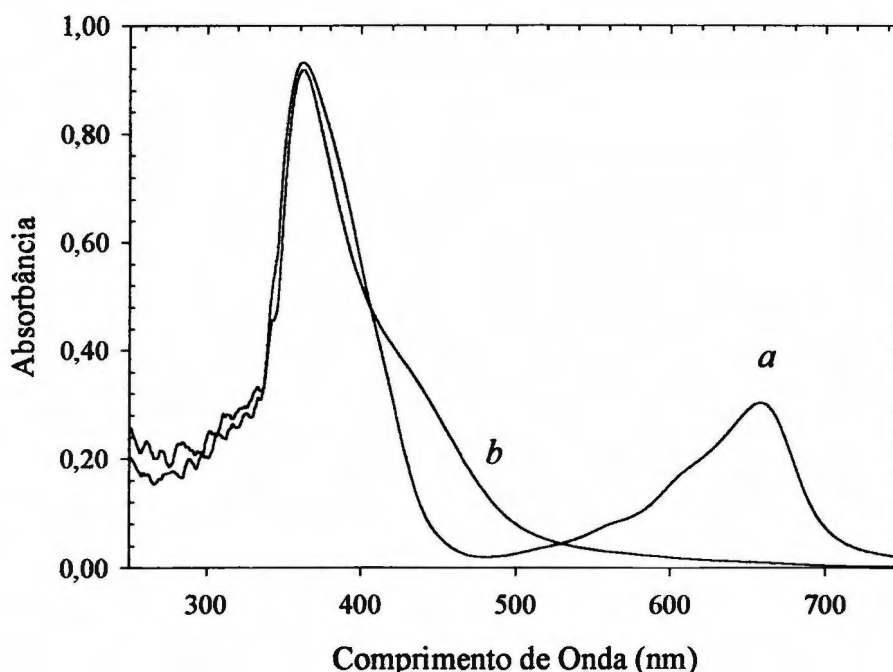


FIGURA 54 - Características espectrais dos complexos: (*a*) Complexo Fe(II)/DPKBH. Fe(II) = 25,0 μ M; (*b*) Complexo Fe(III)/DPKBH. Fe(III) = 73,1 μ M. Em ambos, DPKBH = 502 μ M, tampão ácido succínico/succinato (pH = 7,2) e meio contendo 50 % de etanol (v/v).

Para obtenção do espectro do complexo Fe(II)/DPKBH, utilizou-se solução preparada com a mesma ordem de adição estabelecida anteriormente para o cobre, ou seja: íon metálico, DPKBH, tampão, etanol e água. Já para obtenção do

espectro do complexo Fe(III)/DPKBH, foi necessário utilizar outra ordem de adição, pois ao adicionar a solução tampão à mistura Fe(III)-DPKBH, observou-se a hidrólise dos íons Fe(III). Assim, foi necessário fazer um estudo para estabelecer a ordem de adição mais adequada para este sistema.

VI.4.1.1 – Ordem de Adição dos Reagentes

No presente estudo, foram avaliadas seis diferentes ordens de adição dos reagentes. Na Tabela XIII, são apresentadas as ordens de adição avaliadas e as características das soluções.

Devido ao elevado valor de pH para a presença de íons Fe(III) em solução, favorecido ainda por ordens de adição que comprometem a complexação pelo agente quelante DPKBH, tem-se a hidrólise do Fe(III) em quatro das seis ordens de adição avaliadas. Apenas em duas delas não se observou hidrólise, ficando a solução límpida com a coloração característica do complexo formado.

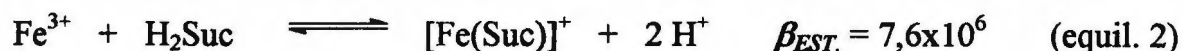
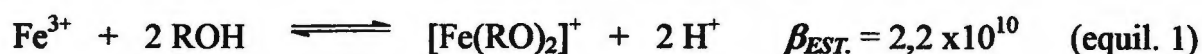
A ordem de adição Fe(III), DPKBH, etanol, água e tampão foi a utilizada para obtenção do espectro do complexo Fe(III)/DPKBH apresentado na Figura 54-*a*, e que se mostrou mais favorável para a complexação dos íons Fe(III) com DPKBH. Já para a segunda ordem não se observou hidrólise, a adição do tampão de ácido succínico/succinato logo em seguida aos íons Fe(III) favoreceu a formação do complexo $[\text{Fe}(\text{C}_4\text{H}_4\text{O}_4)]^+$, pois resultou em um espectro semelhante ao apresentado na Figura 53-*b*.

TABELA XIII - Ordens de adição avaliadas para o sistema Fe(III)/DPKBH/tampão ácido succínico/succinato. Condições: Fe(III) = 11,23 μM , DPKBH = 502 μM , etanol 50% (V/V).

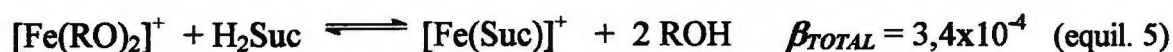
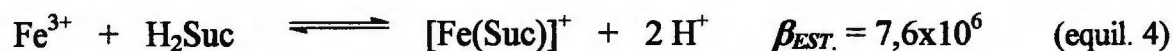
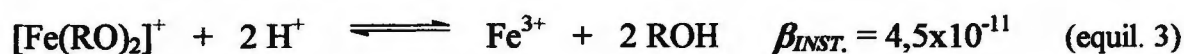
Ordem de Adição	Resultado
Fe(III), DPKBH, tampão, etanol e água*	Hidrólise do Fe(III)
Fe(III), DPKBH, tampão, água e etanol	Hidrólise do Fe(III)
Fe(III), DPKBH, etanol, água e tampão	Solução límpida
Fe(III), tampão, DPKBH, etanol e água	Hidrólise do Fe(III)
Fe(III), tampão, etanol, DPKBH e água	Hidrólise do Fe(III)
Fe(III), tampão, etanol, água e DPKBH	Solução límpida

* ordem original utilizada nas determinações de cobre

Assumindo-se, de uma forma simplificada, que a molécula do ligante DPKBH ($\text{C}_{18}\text{H}_{14}\text{N}_4\text{O}_2$) seja ROH, e do ácido succínico ($\text{C}_4\text{H}_6\text{O}_4$) como H_2Suc , podem-se considerar os seguintes equilíbrios:



Considerando as constantes de estabilidade dos complexos de Fe(III) com DPKBH⁽¹¹⁰⁾ e com succinato⁽¹⁷⁶⁾ e os equilíbrios 1 e 2, pode-se avaliar o comportamento do íon Fe^{3+} coordenado com o DPKBH, na presença do succinato:



O valor da constante total calculada, equil. 5, mostra que o deslocamento do DPKBH coordenado com os íons Fe^{3+} pelo succinato não é favorável.

Na Figura 55 são apresentados três espectros de absorção do complexo Fe(III)/DPKBH. Os espectros 1 e 2 foram obtidos utilizando-se a ordem de adição Fe(III), tampão, etanol, água e DPKBH, e tempos de medida iguais a 1 e 20 min, após a mistura. O terceiro espectro foi obtido usando-se a ordem de adição Fe(III), DPKBH, etanol, água e tampão.

Observa-se que a ordem de adição dos reagentes compromete a formação do complexo Fe(III)/DPKBH, visto que há uma competição entre os íons succinato e o agente quelante DPKBH. Quando se adiciona o tampão ácido succínico/succinato antes do DPKBH e se forma o complexo $[\text{Fe}(\text{Suc})]^+$, o ligante DPKBH não consegue deslocar o succinato, para formar o complexo $[\text{Fe}(\text{RO})_2]^+$, como pode ser verificado na Figura 55, espectros 1 e 2. Outro fator importante a ser considerado é o valor de pH elevado que afeta a permanência de íons Fe(III) em solução. Observou-se que, com o passar do tempo, ocorre a hidrólise do mesmo, ficando as soluções turvas.

VI.4.1.2 – Estabilidade dos complexos Fe(III)/DPKBH e Fe(II)/DPKBH

Para estabelecer qual o intervalo de tempo em que se deve efetuar as medidas de absorvância com segurança, antes que ocorra a hidrólise do complexo Fe(III)/DPKBH, foi feito um estudo para verificar a estabilidade do mesmo, Figura 56. Em seguida, avaliou-se a nova ordem de adição e a estabilidade em função do tempo para o complexo Fe(II)/DPKBH, Figura 57.

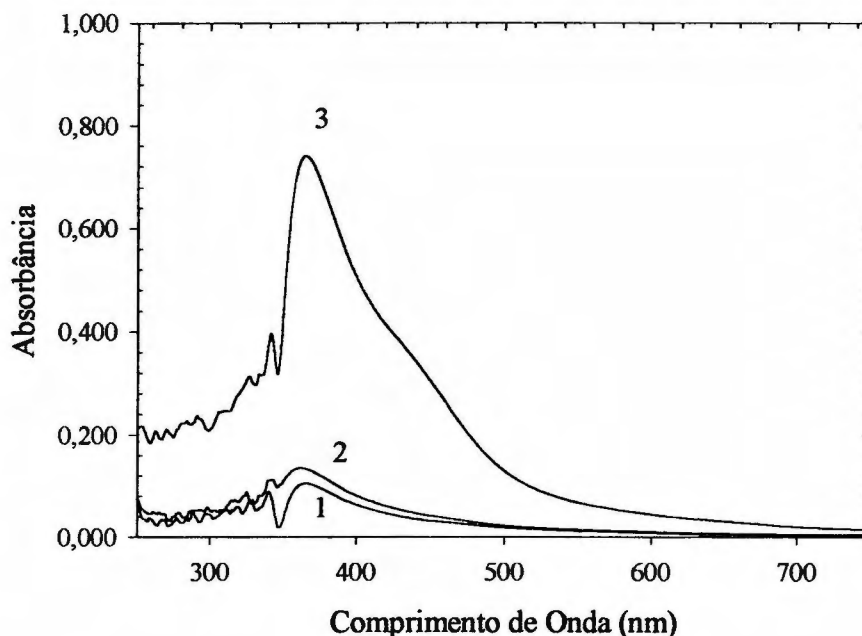


FIGURA 55 – Espectros de absorção do complexo Fe(III)/DPKBH, com as seguintes ordens de adição: (1) e (2) Fe(III), tampão, etanol, água e DPKBH, com registro dos espectros após 1 e 20 min, respectivamente ; (3) Fe(III), DPKBH, etanol, água e tampão, após 1 min da mistura. Condições: Fe(III) = 53,05 μ M, DPKBH = 502 μ M, etanol 50 % (v/v) e pH = 7,2.

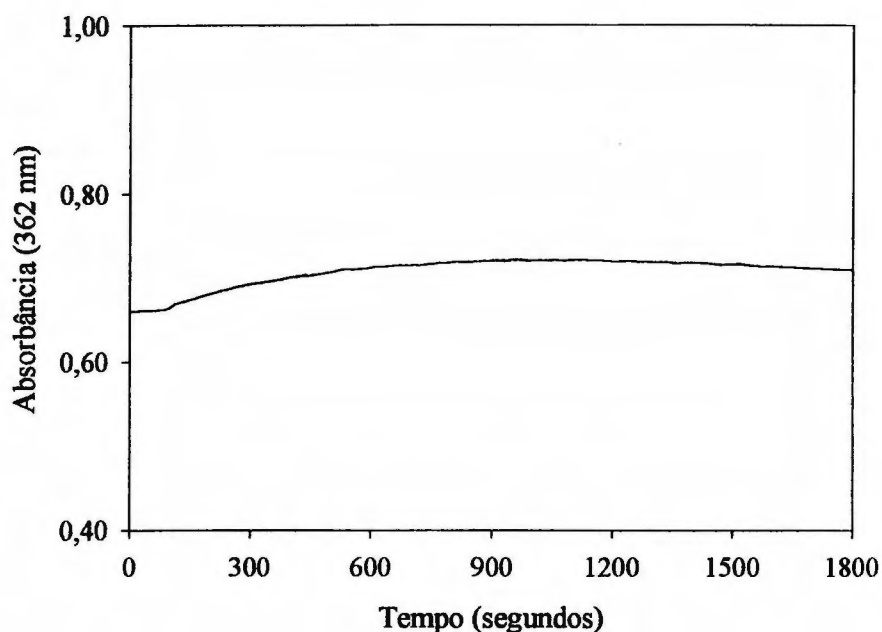


FIGURA 56 – Absorbância do complexo Fe(III)/DPKBH em função do tempo, utilizando-se a ordem de adição Fe(III), DPKBH, etanol, água e tampão. Condições: Fe(III) = 53,05 μ M, DPKBH = 502 μ M, etanol 50 % (v/v) e pH = 7,2.

Observa-se, na Figura 56, que os valores de absorbância não apresentam alteração significativa dentro de um intervalo inicial de 180 s. Após isso, verifica-se um aumento da absorbância em torno de 8 % do valor inicial, com patamar em 600 a 1100 s, e uma pequena diminuição no valor de absorbância após 1100 s.

Este aumento de absorbância deve-se à hidrólise dos íons Fe(III), mesmo estando este complexado com o DPKBH, e não ao deslocamento do equilíbrio pela complexação com succinato, pois as soluções também ficaram turvas com o passar do tempo, provocando espalhamento da radiação. O mesmo fato foi

observado para as soluções nas quais utilizou-se a ordem de adição dos espectros 1 e 2 da Figura 55.

Assim, conclui-se que as medidas de absorvância do complexo Fe(III)/DPKBH devem ser feitas nos primeiros 3 min após a mistura dos reagentes, para que o erro provocado pela hidrólise seja desprezível.

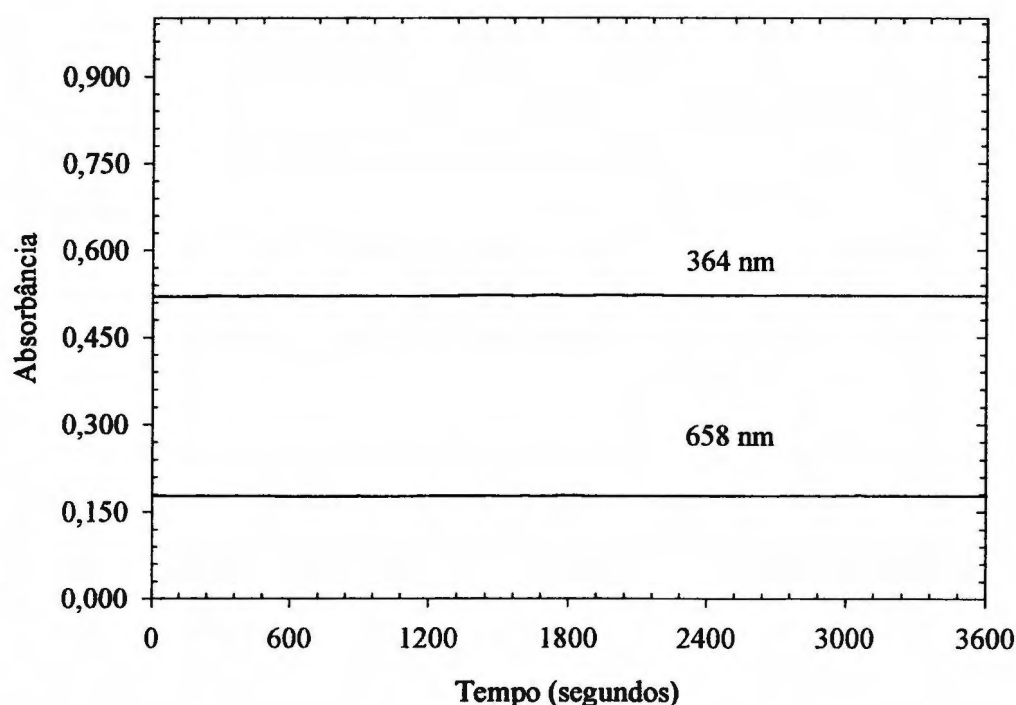


FIGURA 57 - Absorvância do complexo Fe(II)/DPKBH em função do tempo, monitorada em 364 e 658 nm, utilizando-se a ordem de adição Fe(II), DPKBH, etanol, água e tampão. $C_{\text{Fe(II)}} = 14,97 \mu\text{M}$. $C_{\text{DPKBH}} = 502 \mu\text{M}$.

No caso do complexo Fe(II)/DPKBH, Figura 57, observa-se excelente estabilidade durante o tempo monitorado de 60 min. Além disso, não se observou

hidrólise dos íons Fe(II) ficando a solução límpida. Entretanto, ocorreu um deslocamento de pico de máxima absorção de 362 nm para 364 nm, acompanhado de um pequeno aumento no valor de absorbância registrado, quando comparado ao espectro obtido com a ordem de adição anterior.

Conclui-se, portanto, que a ordem de adição: M^{n+} , DPKBH, etanol, água e tampão é adequada para a preparação das soluções de medida dos sistemas Fe(III)/DPKBH e Fe(II)/DPKBH.

VI.4.1.3 – Razão Ligante/Metal

Com o intuito de verificar se a concentração mínima de DPKBH de 502 μM , utilizada no método de determinação de íons Cu(II), é suficiente para complexar os íons Fe(II) e Fe(III), foi feito um estudo da razão ligante/metal para os complexos de Fe(II)/DPKBH e Fe(III)/DPKBH.

Para avaliar o sistema Fe(II)/DPKBH, prepararam-se soluções contendo 14,97 μM de íons Fe(II). Já para o sistema Fe(III)/DPKBH prepararam-se soluções contendo 40,05 μM . Ambos os sistemas continham etanol 50% (v/v) e pH 7,2, ajustado com tampão de ácido succínico/succinato. Concentrações crescentes de DPKBH foram utilizadas, variando-se a razão ligante/metal de 5:1 a 33,5:1 para os íons Fe(II) e de 5:1 a 30:1 para os íons Fe(III). Os resultados obtidos são apresentados nas Figuras 58 e 59.

Os resultados da Figura 58 mostram que o valor de absorbância do complexo Fe(II)/DPKBH praticamente não variou, tanto em 364 nm quanto em

658 nm, em todas as razões estudadas. O mesmo pode ser observado na Figura 59 para o sistema Fe(III)/DPKBH.

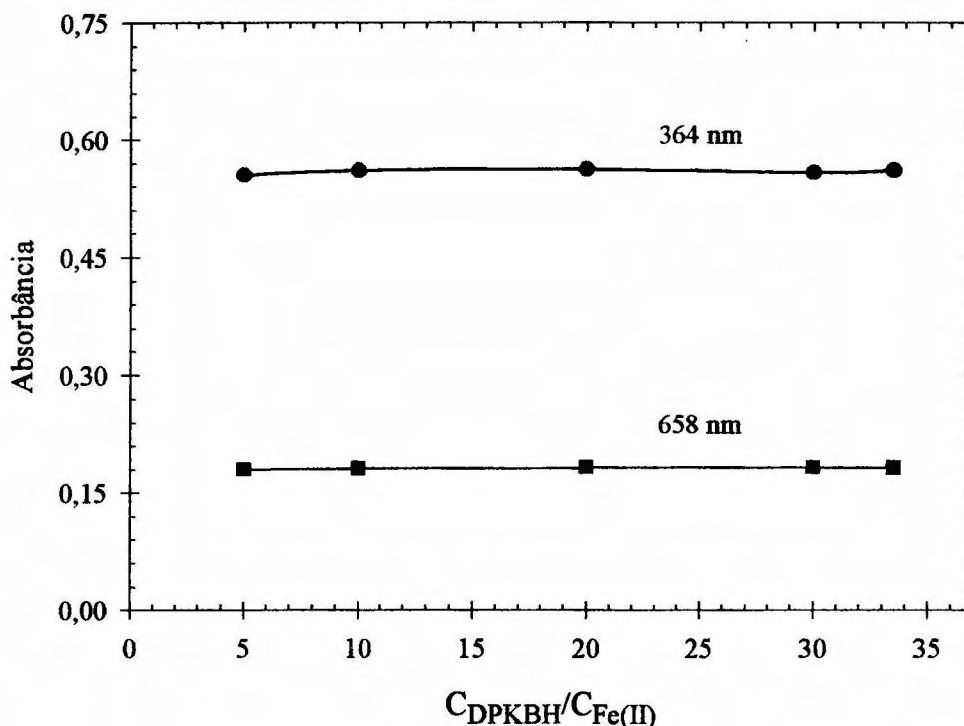


FIGURA 58 - Absorbância do complexo Fe(II)/DPKBH em função da razão ligante/metal. $C_{Fe(II)} = 14,97 \mu\text{M}$; EtOH 50 % (v/v) e pH = 7,2 ($\text{HSuc}^-/\text{Suc}^{2-}$) em 364 e 658 nm.

Assim, conclui-se que a concentração de DPKBH de 502 μM adotada como ideal para o sistema Cu(II)/DPKBH, pode ser, também, usada com segurança para os sistemas Fe(II)/DPKBH e Fe(III)/DPKBH, visto que, com uma projeção de absorbância em torno de 0,8, ter-se-ia um valor de concentração de íons Fe(II) de

25 μM e de 72 μM para os íons Fe(III) , para as quais resultariam razões ligante/metal mínimas de 20:1 e 7:1, respectivamente, para as curvas analíticas.

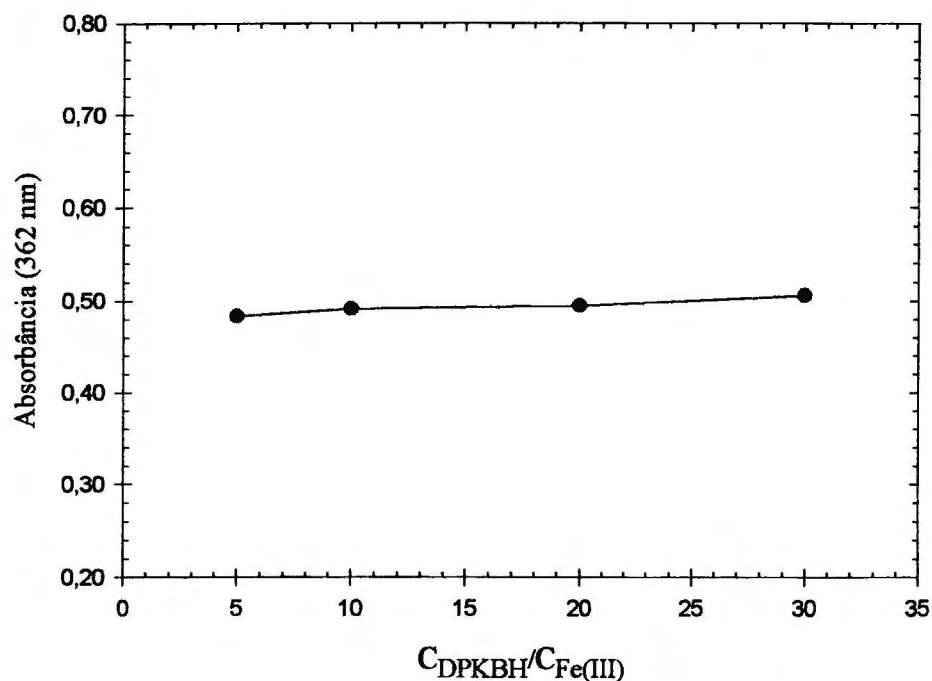


FIGURA 59 - Absorbância do complexo Fe(III)/DPKBH em função da razão ligante/metal. $C_{\text{Fe(III)}} = 40,05 \mu\text{M}$; EtOH 50 % (v/v) e pH = 7,2 ($\text{HSuc}^-/\text{Suc}^{2-}$).

VI.4.2 – Curvas Analíticas dos Sistemas Fe(II)/DPKBH , Fe(III)/DPKBH e Cu(II)/DPKBH de Soluções Puras

Após estarem todos os parâmetros analíticos otimizados, tais como: concentração de DPKBH 502 μM , valor de pH aparente 7,2, ajustado com solução tampão ácido succínico $5,14 \times 10^{-3} \text{ mol/L}$ - succinato de potássio $1,49 \times 10^{-2} \text{ mol/L}$,

meio contendo 50 % (v/v) de etanol e ordem de adição dos reagentes M^{n+} , DPKBH, etanol, água e tampão, construíram-se as curvas analíticas para os sistemas Fe(II)/DPKBH, Fe(III)/DPKBH e Cu(II)/DPKBH.

VI.4.2.1 – Curva Analítica do Sistema Fe(II)/DPKBH

A curva analítica do sistema Fe(II)/DPKBH foi feita preparando-se doze soluções de referência de Fe(II) em balões volumétricos de 25,00 mL, adicionando-se volumes variados da solução estoque de Fe(II); 860 μ L de solução etanólica de DPKBH $1,463 \times 10^{-2}$ mol/L; 11,70 mL de etanol para perfazer a razão de 1:1 (v/v), água desionizada e 1,25 mL de solução tampão de ácido succínico/succinato, ajustando-se o volume do balão volumétrico com água deionizada. Após a homogeneização, registrou-se o espectro na faixa de 250 a 750 nm em um período de 1 minuto. A Figura 60 mostra os valores de absorvância *versus* concentração de Fe(II).

Nos resultados da Figura 60, tem-se a faixa de concentração ótima da curva analítica do sistema Fe(II)/DPKBH de 0,75 μ M a 26 μ M de Fe(II), com coeficientes de correlação (r^2) das retas de 0,9998 e 0,9999 para a curva em 364 nm (■) e em 658 nm (●), respectivamente. Com os parâmetros de regressão linear, as seguintes equações podem ser atribuídas para o cálculo da concentração analítica de Fe(II), através do valor de absorvância medido:

$$A_{(364 \text{ nm})} = - 2,988 \times 10^{-3} + 3,586 \times 10^4 \cdot C_{\text{Fe(II)}} \quad (\text{eq. 4})$$

$$A_{(658 \text{ nm})} = - 3,000 \times 10^{-3} + 1,173 \times 10^4 \cdot C_{\text{Fe(II)}} \quad (\text{eq. 5})$$

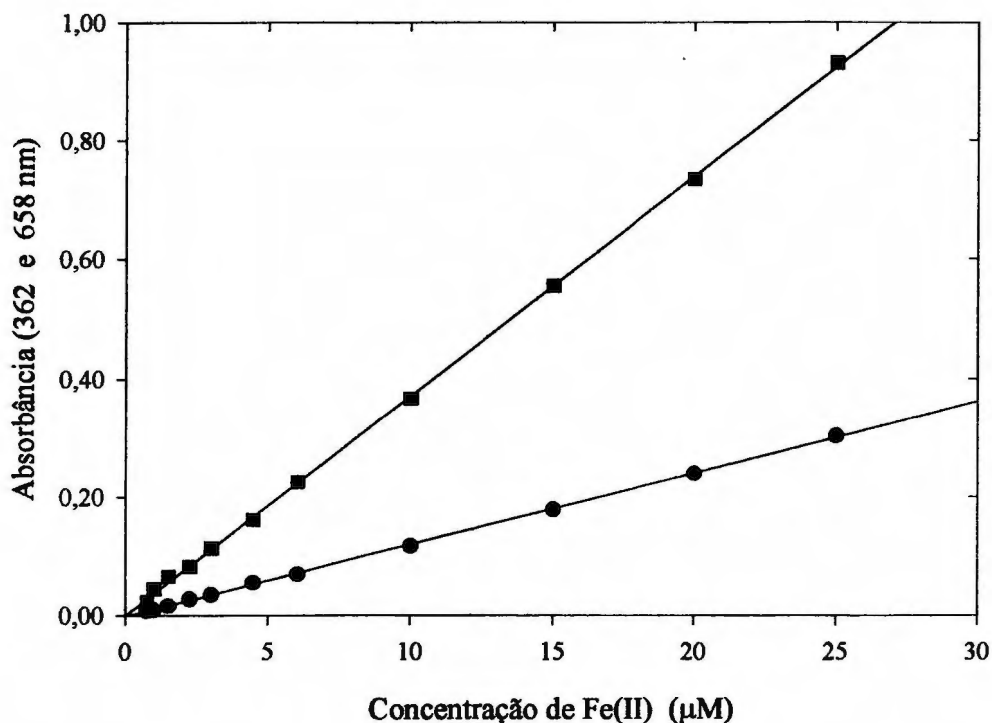


FIGURA 60 - Curvas analíticas do sistema Fe(II)/DPKBH, (■) 364 nm e (●) 658 nm. $C_{\text{DPKBH}} = 502 \mu\text{M}$; etanol 50% (v/v); pH = 7,2 (ajustado com tampão ácido succínico/succinato). Caminho óptico de 1 cm.

VI.4.2.2 – Curva Analítica do Sistema Fe(III)/DPKBH

Para construção da curva analítica do sistema Fe(III)/DPKBH, foram preparadas soluções de referência de Fe(III) por diluição da solução estoque $1,326 \times 10^{-2} \text{ mol/L}$, em balões volumétricos de 25,00 mL, adicionando-se, segundo a ordem de adição dos reagentes definida anteriormente, volumes variados da solução

estoque de Fe(III); 860 μL de solução etanólica de DPKBH $1,463 \times 10^{-2}$ mol/L; 11,70 mL de etanol para perfazer a razão de 1:1 (v/v), água e 1,25 mL de solução tampão de ácido succínico/succinato. Todas as leituras do valor de absorvância foram feitas em 362 nm no intervalo de 1 min após a homogeneização. Os resultados são apresentados na Figura 61.

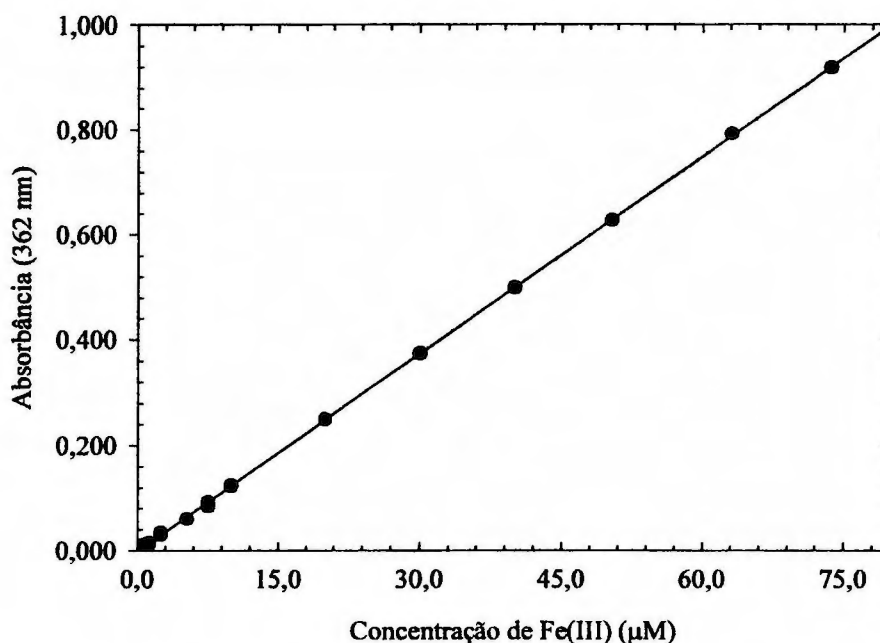


FIGURA 61 - Curva Analítica do sistema Fe(III)/DPKBH. $C_{\text{DPKBH}} = 502 \mu\text{M}$; etanol 50% (v/v); pH = 7,2 (ajustado com tampão ácido succínico/succinato). Caminho óptico de 1 cm.

Observa-se na Figura 61, a ótima linearidade da curva analítica do sistema Fe(III)/DPKBH, dentro da faixa utilizada de concentração de $0,706 \mu\text{M}$ a $75 \mu\text{M}$. Por parâmetros de regressão linear, o coeficiente de correlação (r^2) da reta é

0,9999, e os coeficientes linear e angular são $(-1,48 \pm 0,95) \times 10^{-3}$ e $(1,25 \pm 0,003) \times 10^4$, respectivamente. Assim, a equação para cálculo da concentração analítica de Fe(III) em amostras desconhecidas, pelo valor de absorbância (A), será:

$$A_{(362 \text{ nm})} = -1,48 \times 10^{-3} + 1,25 \times 10^4 \cdot C_{\text{Fe(III)}} \quad (\text{eq. 6})$$

VI.4.2.3- Curva Analítica do Sistema Cu(II)/DPKBH

Considerando que a ordem de adição dos reagentes obtida anteriormente para o sistema Cu(II)/DPKBH foi alterada, em função da necessidade de se evitar a hidrólise dos íons Fe(III), foi necessário refazer a curva analítica do sistema Cu(II)/DPKBH.

Previamente, verificou-se a estabilidade e repetibilidade das medidas efetuadas utilizando-se a ordem de adição M^{n+} , DPKBH, etanol, água e tampão. Observou-se que, para o período de 60 min, o valor de absorbância praticamente não se alterou, sendo o comportamento semelhante ao verificado anteriormente na Figura 34. Entretanto, notou-se uma diminuição no valor de absorbância.

Assim, para obtenção da curva analítica do sistema Cu(II)/DPKBH, prepararam-se soluções de referência de Cu(II) e os respectivos valores de absorbância *versus* concentração estão registrados na Figura 62. Nesta Figura, tem-se a faixa de concentração ótima da curva analítica do sistema Cu(II)/DPKBH de 0,24 μM a 25 μM de Cu(II). O coeficiente de correlação (r^2) da reta é de 1,000, e os coeficientes linear e angular são $(1,05 \pm 0,74) \times 10^{-3}$ e $(3,77 \pm 0,006) \times 10^4$,

respectivamente. A equação para a determinação analítica da concentração de Cu(II), através da absorbância, será:

$$A_{(381 \text{ nm})} = 1,05 \times 10^{-3} + 3,77 \times 10^4 \cdot C_{\text{Cu(II)}} \quad (\text{eq. 7})$$

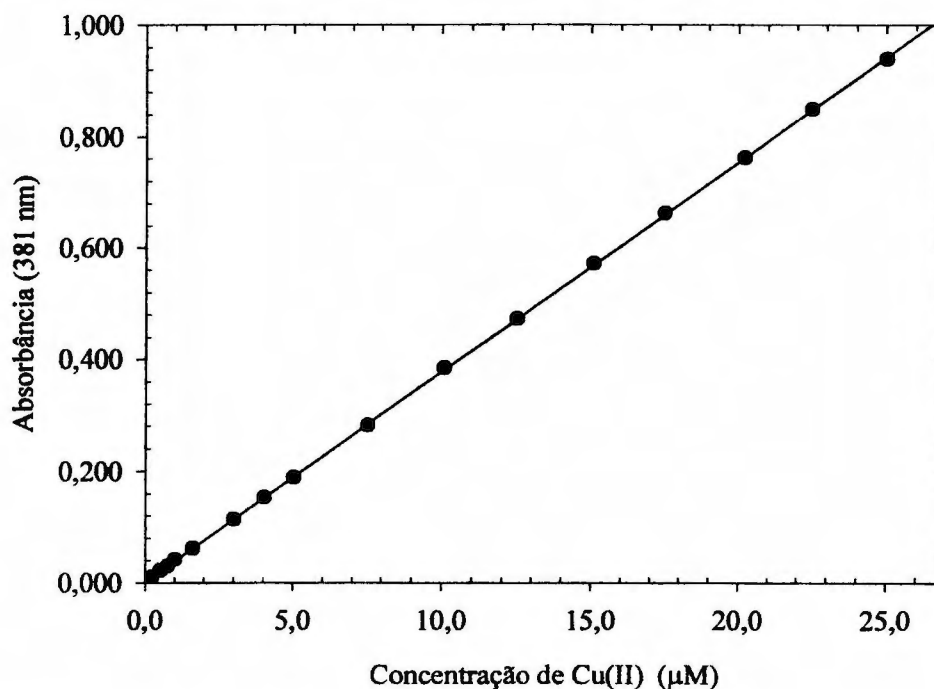


FIGURA 62 - Curva Analítica do sistema Cu(II)/DPKBH. $C_{\text{DPKBH}} = 502 \mu\text{M}$; etanol 50% (v/v); pH = 7,2 (ajustado com tampão ácido succínico/succinato). Ordem de adição: Cu(II), DPKBH, etanol, água e tampão. Caminho óptico de 1 cm.

VI.4.3 – Faixas de Análise e Absortividades Molares dos Complexos Envolvidos

Finalmente, para efeito de comparação, na Tabela XIV são apresentadas as absortividades molares dos complexos Fe(II)/DPKBH, Fe(III)/DPKBH e Cu(II)/DPKBH, em soluções puras, e as faixas de concentração adequadas para utilização dos métodos propostos e condições experimentais aqui estabelecidas.

TABELA XIV - Absortividades molares dos complexos Fe(II)/DPKBH, Fe(III)/DPKBH e Cu(II)/DPKBH, e as faixas de concentração para aplicação dos métodos.

	Fe(II)/DPKBH		Fe(III)/DPKBH	Cu(II)/DPKBH
	364 nm	658 nm	362 nm	381 nm
Absortividade Molar (L. mol ⁻¹ .cm ⁻¹)	3,586x10 ⁴	1,173x10 ⁴	1,250x10 ⁴	3,768x10 ⁴
Faixa de Concentração (μM)	0,75 a	26	0,71 a 75	0,24 a 25

VL5 - ESTUDO DA ADIÇÃO DE REAGENTES MASCARANTES PARA ÍONS Cu(II) E Fe(II) E Fe(III)

O conceito de reagente mascarante e de mascarante de uma reação foi introduzido na Química pelo Professor Fritz Feigl⁽¹⁷⁷⁾, definindo-os como o reagente responsável pela diminuição da concentração de um íon dado em solução, pela formação de um sal complexo, e a substância que compõe este reagente, respectivamente. Desta forma, e sem ter que recorrer às separações físicas, Feigl podia fazer testes altamente seletivos ou mesmo específicos⁽¹⁷⁸⁾.

Considerando estes preceitos, foram feitos estudos para se estabelecer quais os reagentes mascarantes mais adequados a serem utilizados na determinação de Cu(II) na presença de Fe(II) e Fe(III), e de Fe(II) e Ferro total na presença de Cu(II).

VL5.1 - Estudo da Adição de Reagente Mascarante para Íons Cu(II) e Redutor de Íons Fe(III) a Fe(II)

Inicialmente, com o intuito de mascarar íons Cu(II), avaliou-se a possibilidade do uso de ácido ascórbico (A.As.), que reduziria os íons Cu(II) a Cu(I) e este provavelmente não complexaria com o ligante DPKBH. Simultaneamente, o A.As. reduziria os íons Fe(III) a Fe(II), podendo-se realizar a determinação de ferro total nas amostras de interesse.

Para estabelecer um valor de concentração adequada de ácido ascórbico, prepararam-se soluções de medida, fixando-se o valor de concentração de íons Cu(II) mais elevado da curva analítica, 25,00 μM , adicionando-se concentrações crescentes de ácido ascórbico (A.As.) nas razões $C_{\text{A.As.}}:C_{\text{Cu(II)}}$ iguais a 600; 1200; 2400 e 5000 vezes. A concentração de DPKBH utilizada foi de 502 μM e o valor de pH ajustado com solução tampão ácido succínico $5,14 \times 10^{-3}$ mol/L – succinato de potássio $1,49 \times 10^{-2}$ mol/L e a ordem de adição dos reagentes foi Cu(II), A.As., DPKBH, etanol, água e tampão. Os espectros registrados são apresentados na Figura 63.

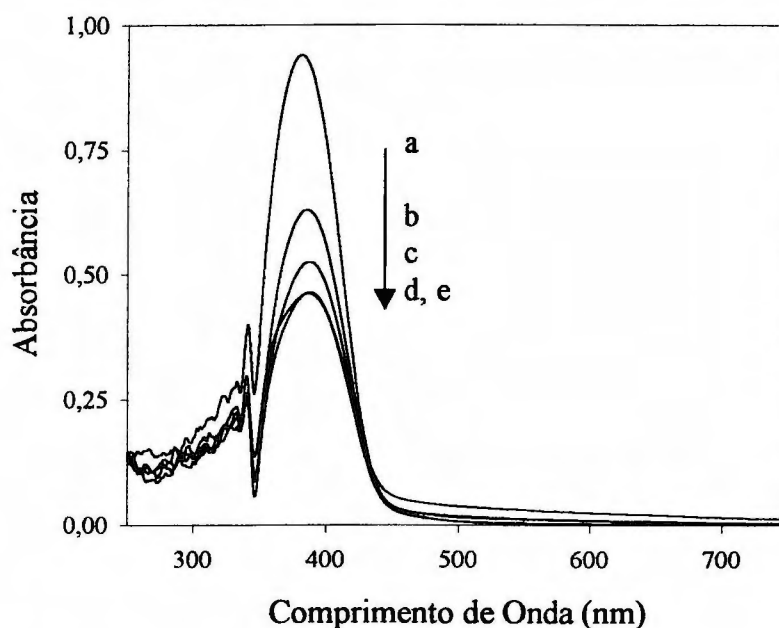
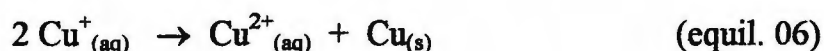


FIGURA 63 – Espectros de absorção do complexo $\text{Cu}(\text{DPKBH})_2$: (a) sem adição de A.As., e com a adição de A.As. em razões crescentes $\text{Cu(II)}:\text{A.As.}$ de: (b) 1:600; (c) 1:1200; (d) 1:2400 e (e) 1:5000. $C_{\text{Cu(II)}} = 25,00 \mu\text{M}$, $C_{\text{DPKBH}} = 502 \mu\text{M}$ e o valor de $\text{pH} = 7,2$.

Observa-se na Figura 63 que mesmo utilizando uma razão $C_{\text{Cu(II)}}:C_{\text{A.As.}}$ igual a 1:5000, não foi possível mascarar os íons Cu(II) em sua forma reduzida Cu(I). Isto provavelmente se deve ao fato de que os íons Cu(I) não são estáveis em solução aquosa, pois sofrem uma reação de desproporcionamento⁽¹⁷⁹⁾, na qual o número de oxidação é simultaneamente elevado e diminuído:



Considerando os potenciais $E^\circ (\text{Cu}^+/\text{Cu}) = 0,52 \text{ V}$ e $E^\circ (\text{Cu}^{2+}/\text{Cu}^+) = 0,16 \text{ V}$, pode-se verificar que a reação é espontânea, pois $E^\circ = 0,52 \text{ V} - 0,16 \text{ V} = 0,36 \text{ V}$. Também pode-se verificar a posição do equilíbrio de uma maneira mais quantitativa, empregando-se a relação $E^\circ = (RT/nF) \ln K$ na forma:

$$0,36\text{V} = \frac{0,059\text{V}}{n} \log K \quad (\text{eq. 08})$$

como n se refere a um elétron transferido na reação, $K = 1,3 \times 10^6$.

Com isso, pode-se explicar porque não é possível suprimir por completo a banda do complexo $\text{Cu}(\text{DPKBH})_2$, pois parte dos íons Cu(I) formado pela ação do A.As. volta a se oxidar a íons Cu(II) reagindo com o DPKBH presente no meio.

Então, foram feitos testes com alguns agentes complexantes para estabilizar íons Cu(I) em solução, após a redução de íons Cu(II) a Cu(I) com A.As., tais como: tiocianato (SCN^-), cloreto (Cl^-) e tiouréia (H_2NCSNH_2). Para avaliação dos agentes complexantes, prepararam-se as soluções de medida com os mesmos

parâmetros utilizados anteriormente, variando-se as concentrações adicionadas de ácido ascórbico e tiocianato, cloreto ou tiouréia.

No estudo com A.As. e tiocianato, observou-se que em razões de concentração de Cu(II):SCN⁻:A.As. de 1:1500:1500 foi possível mascarar completamente os íons Cu(II), para que se possa determinar ferro total em um comprimento de onda de 364 nm. Entretanto, ao se registrar espectros de absorção do complexo Fe(II)/(DPKBH) observaram-se alterações nos mesmos, tanto de solução originária de sal de Fe(II), quanto de Fe(III) reduzido a Fe(II) pelo A.As..

A Figura 64 mostra que ocorreu um deslocamento do pico de máxima absorção do complexo Fe(II)/DPKBH preparado a partir de uma solução de Fe(II), além de uma diminuição dos valores de absorbância. Já para o complexo de Fe(II)/DPKBH preparado a partir de uma solução de Fe(III), tem-se uma diminuição mais acentuada nos valores de absorbância em comparação ao espectro obtido com solução de Fe(II). Uma possível explicação pode ser a formação de íons complexos do tipo $[\text{Fe}^{\text{III}}(\text{SCN})_n]^m$, onde n representa o número de ligantes SCN⁻ e m a carga do íon complexo.

Deve-se ressaltar que foram feitos testes no intuito de verificar se a concentração de ácido ascórbico era suficiente para garantir a redução dos íons Cu(II) a Cu(I), bem como dos íons Fe(III) a Fe(II) presentes em uma mesma amostra.

No caso do estudo com A.As. e cloreto, somente foi possível mascarar completamente os íons Cu(II) em razões mínimas de concentração de Cu(II):Cl⁻:A.As. de 1:10000:1500. Este elevado valor de concentração de íons cloreto

provoca uma diminuição de 41% no valor de absorbância do complexo Fe(II)/(DPKBH), provavelmente devido à formação de íons complexos entre os íons ferro e íons cloreto ou a problemas de solubilização no meio aquo-etanólico. Portanto, conclui-se que o uso de íons Cl^- não é adequado para o sistema proposto.

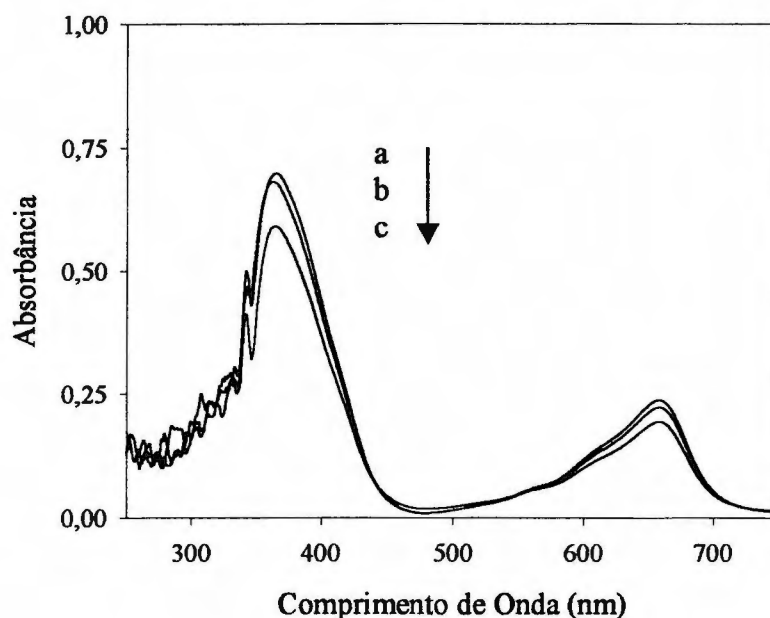


FIGURA 64 – Espectros de absorção do complexo Fe(II)/DPKBH: (a) solução preparada a partir de sal de Fe(II) 20,01 μM , sem a adição de A.As. e SCN^- ; (b) com a adição de A.As. 0,0375 mol/L e SCN^- 0,0375 mol/L; (c) solução preparada a partir de sal de Fe(III) 20,01 μM e a adição de A.As. 0,0375 mol/L e SCN^- 0,0375 mol/L.

Já no estudo realizado para avaliar o uso de tiouréia como agente complexante para íons Cu(I), após a redução de Cu(II) com A.A., observou-se que para razões de concentração de Cu(II): H_2NCSNH_2 :A.As. de 1:500:1500 foi possível mascarar completamente os íons Cu(II), Figura 65.

A adição de razões de tiouréia 500 vezes e de A.As. 1500 vezes maiores, em relação à concentração de Cu(II) mais elevada da curva analítica, corresponde aos valores de 0,0125 mol/L e 0,0375 mol/L, respectivamente.

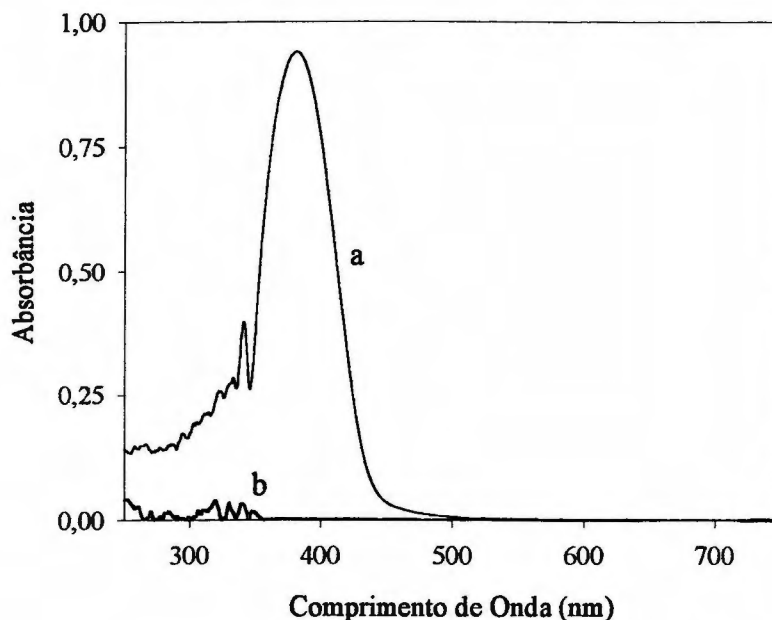


FIGURA 65 – Espectros de absorção do complexo $\text{Cu}(\text{DPKBH})_2$: (a) sem a adição de A.As. e tiouréia; (b) com a adição de A.As. e tiouréia nas razões $C_{\text{Cu(II)}}:C_{\text{tiouréia}}:C_{\text{A.As.}}$ 1:500:1500. Concentração de Cu(II) igual a 25,00 μM ; concentração de DPKBH 502 μM e o valor de pH = 7,2.

Para verificar se essas concentrações definidas de A.As. e tiouréia provocam alguma interferência sobre o complexo Fe(II)/DPKBH, registraram-se espectros de absorção de soluções preparadas a partir de sais de Fe(II) e Fe(III). Em ambos os casos, não se observaram alterações tanto na forma dos espectros quanto

nos valores de absorvância do complexo Fe(II)/DPKBH. Portanto, conclui-se que para mascarar Cu(II) 25,00 μM e reduzir Fe(III) a Fe(II), deve-se ter um meio contendo no mínimo 500 vezes mais tiouréia e 1500 vezes mais ácido ascórbico .

VI.5.2 - Estudo da Adição de Reagente Mascarante para íons Fe(II) e Fe(III)

Tem-se na literatura⁽¹⁸⁰⁾ que fluoreto forma complexos incolores e estáveis com os íons Fe(III) ($\beta_6 = 7,9 \times 10^{22} \text{ mol}^{-6}/\text{L}^{-6}$, meio etanólico). Desta forma, foram feitos estudos para estabelecer qual o valor de concentração adequada para se mascarar íons Fe(III) com a adição de fluoreto.

Tendo como base o valor de concentração de Fe(III) mais elevado da curva analítica, 75,30 μM , registraram-se espectros do complexo Fe(III)/DPKBH sem a adição de fluoreto, e após a adição de fluoreto em razões crescentes $C_{\text{Fe(III)}}:C_{\text{fluoreto}}$ iguais a 1:100; 1:175; 1:350 e 1:400. As soluções de medida foram preparadas em meio contendo 50% de etanol (V/V), concentração de DPKBH 502 μM e o valor de pH ajustado em 7,2 com solução tampão HSuc⁻/Suc²⁻. A ordem de adição utilizada foi íons Fe(III), fluoreto, DPKBH, etanol, água e tampão. Os espectros obtidos são apresentados na Figura 66.

Observa-se na Figura 66 que é possível mascarar íons Fe(III), pela adição de uma concentração de fluoreto 400 vezes maior que a de Fe(III) presente, o que pode ser comprovado pelo desaparecimento da banda do complexo Fe(III)/DPKBH. Assim, conclui-se que a razão mínima $C_{\text{Fe(III)}}:C_{\text{fluoreto}}$ igual a 1:400 é adequada para se mascarar Fe(III), na determinação de Cu(II) com DPKBH.

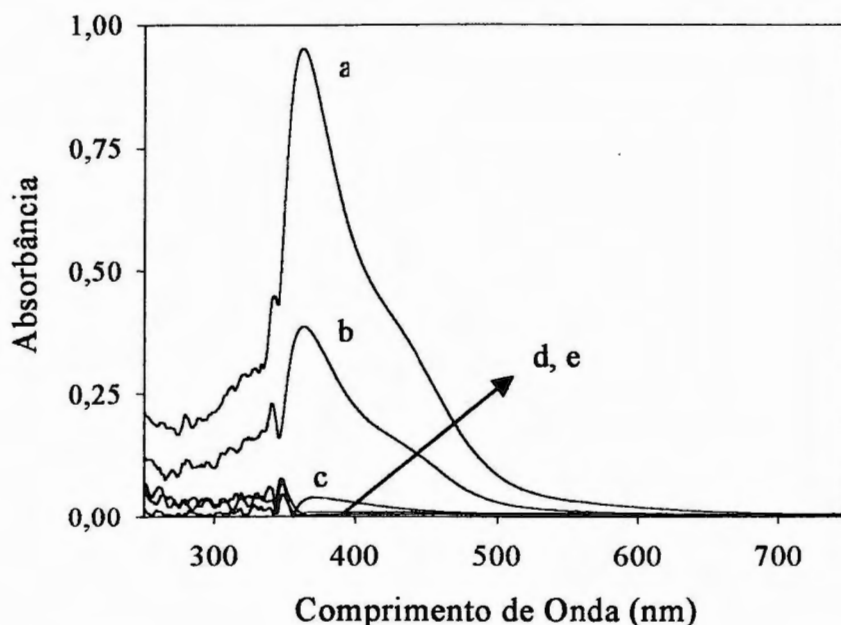


FIGURA 66 – Espectros de absorção do complexo Fe(III)/(DPKBH)₂: (a) sem adição de F⁻, e com a adição de F⁻ em razões crescentes C_{Fe(III)}:C_{fluoreto} de: (b) 1:100; (c) 1:175; (d) 1:350 e (e) 1:400. C_{Fe(III)} = 75,30 μM, C_{DPKBH} = 502 μM e o valor de pH = 7,2.

No caso dos íons Fe(II), tem-se que a presença de oxigênio dissolvido no meio provoca a oxidação de íons Fe(II) a íons Fe(III), que é favorecida termodinamicamente e cineticamente pela adição de uma elevada concentração de íons fluoreto⁽¹⁸¹⁾, que pode provocar uma diminuição do potencial redox do sistema Fe(III)/Fe(II), cujo potencial pode ser expresso pela equação de Nernst:

$$E = E^{\circ}_{\text{Fe}^{3+}/\text{Fe}^{2+}} + 0,059 \log \frac{[\text{Fe}^{3+}]}{[\text{Fe}^{2+}]} \quad (\text{eq. 09})$$

onde $E^{\circ}_{\text{Fe}^{3+}/\text{Fe}^{2+}} = 0,77 \text{ V}$, em meio aquoso a 25°C⁽¹⁶³⁾.

Os valores de potencial redox dependem essencialmente das concentrações de Fe^{2+} e Fe^{3+} livres, e estas são função única das reações e do meio em que estão presentes⁽¹⁸¹⁾.

Considerando-se esses fatores, avaliou-se qual seria a concentração de fluoreto a ser adicionada, que favoreceria a oxidação pelo oxigênio dos íons Fe(II) a Fe(III) . Da mesma forma que nos estudos anteriores, teve-se como base a maior concentração de Fe(II) da curva analítica, $26,20 \mu\text{M}$, e registraram-se espectros do complexo Fe(II)/DPKBH sem a adição de fluoreto, e após a adição de fluoreto em razões crescentes até $C_{\text{Fe(II)}}:C_{\text{fluoreto}}$ igual a 1:3500, pois acima deste valor a solução ficava turva.

Observou-se, entretanto, que mesmo com uma concentração elevada de fluoreto em relação à concentração de íons Fe(II) , não foi possível mascará-los totalmente, tendo-se uma redução no valor de absorvância do espectro do complexo Fe(II)/DPKBH de 95 % em 364 nm e de 97 % em 658 nm.

Assim, resolveu-se utilizar um agente oxidante, tal como o peróxido de hidrogênio, para acelerar o processo de oxidação dos íons Fe(II) a Fe(III) . Testes realizados mostraram que uma concentração de H_2O_2 5 vezes maior que a de Fe(II) , juntamente com uma concentração de fluoreto 1150 vezes maior que a de Fe(II) , foi suficiente para mascarar completamente os íons Fe(II) na forma do complexo $[\text{FeF}_6]^{3-}$. A adição de uma razão de fluoreto de 1150 vezes corresponde ao valor de $0,0313 \text{ mol/L}$, ou uma concentração 400 vezes mais que a concentração de Fe(III) mais elevada da curva analítica.

A Figura 67 mostra os espectros obtidos com uma solução pura do complexo Fe(II)/DPKBH; com a adição de fluoreto 1150 vezes maior que a concentração de Fe(II) e a mistura de H₂O₂ e fluoreto nas razões C_{Fe(II)}:C_{H₂O₂}:C_{F⁻} de 1:5:1150.

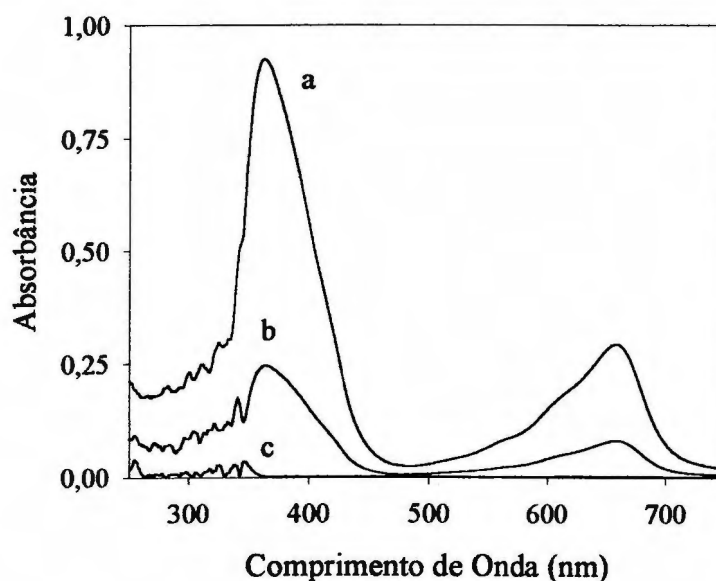


FIGURA 67 – Espectros de absorção do complexo Fe(II)/DPKBH: (a) sem a adição de F⁻; (b) com a adição de F⁻ 1150 vezes a concentração de Fe(II) e (c) com a adição de H₂O₂ e F⁻ nas razões C_{Fe(II)}:C_{H₂O₂}:C_{F⁻} de 1:5:1150. C_{Fe(II)} = 26,20 μM, C_{DPKBH} = 502 μM e valor de pH = 7,2.

VI.5.2.1 - Influência da Concentração de Fluoreto e H₂O₂ Frente a Íons Cu(II)

Com o intuito de verificar se a adição de íons F⁻ e H₂O₂ para mascarar Fe(II) e Fe(III) provocam alguma alteração no espectro de absorção do complexo

$\text{Cu}(\text{DPKBH})_2$, foram registrados espectros do complexo $\text{Cu}(\text{DPKBH})_2$. Prepararam-se soluções de medida contendo $\text{Cu}(\text{II})$ $25,00 \mu\text{M}$ e DPKBH $502 \mu\text{M}$, com e sem a adição de fluoreto e H_2O_2 nas concentrações de $0,0313 \text{ mol/L}$ e $140 \mu\text{M}$, respectivamente, para efeito de comparação. A Figura 68 mostra os espectros obtidos para as duas soluções.

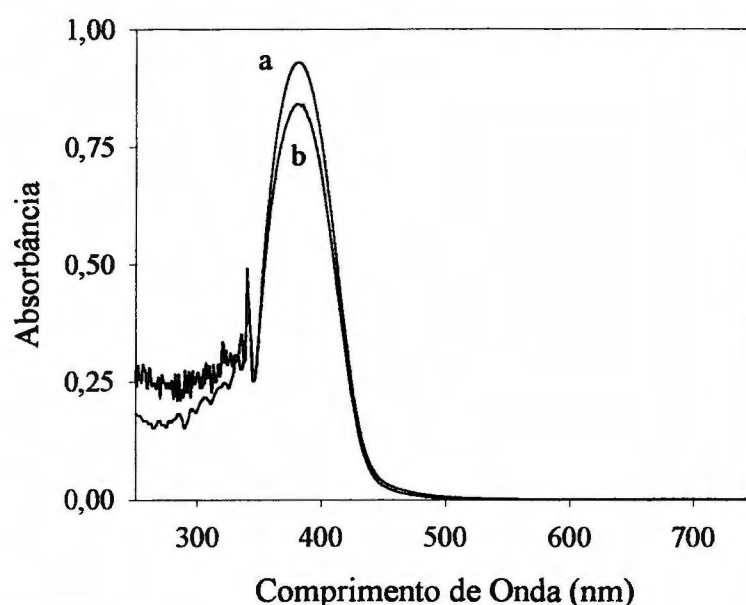


FIGURA 68 – Espectros de absorção do complexo $\text{Cu}(\text{DPKBH})_2$: (a) sem a adição de F^- e H_2O_2 e (b) com a adição de F^- $0,0313 \text{ mol/L}$ e H_2O_2 $140 \mu\text{M}$. $C_{\text{Cu}(\text{II})} = 25,00 \mu\text{M}$, $C_{\text{DPKBH}} = 502 \mu\text{M}$, meio aquo-etanólico 50% (V/V) e valor de $\text{pH} = 7,2$.

Pode-se observar na Figura 68, uma diminuição de 9,54 % no valor de absorbância do complexo $\text{Cu}(\text{DPKBH})_2$ na presença de fluoreto e H_2O_2 , em comparação à solução pura. Reportando-se ao estudo de interferentes, apresentado

no item VI.2.4, observa-se que o grau de interferência dos íons fluoreto no sistema Cu(II)/DPKBH ocorre na razão Cu(II):íon igual a 1:1000, com queda no valor de absorvância de - 0,60%. Para os espectros registrados na Figura 68, tem-se que a razão $C_{\text{Cu(II)}}:C_{\text{F}^-}$ é de 1:1252 vezes, a razão $C_{\text{DPKBH}}:C_{\text{F}^-}$ é de 62 vezes e, ainda, uma razão $C_{\text{Cu(II)}}:C_{\text{H}_2\text{O}_2}$ de 1:5,6.

Uma possível explicação para a diminuição mais acentuada do valor de absorvância do complexo $\text{Cu}(\text{DPKBH})_2$, talvez seja o aumento da concentração de fluoreto, que pode favorecer a formação de complexos entre os íons Cu(II) e F^- e, ainda, a presença de H_2O_2 no meio.

Para verificar se esta diminuição no valor de absorvância era constante para alguns valores de concentração de íons Cu(II), foram registrados espectros dos complexos $\text{Cu}(\text{DPKBH})_2$, em triplicata. Em todas as concentrações de Cu(II) estudadas, os valores de absorvância mostraram boa repetibilidade.

VI.5.3 -Curvas Analíticas dos Sistemas Cu(II)/DPKBH, Fe(II)/DPKBH/FeTotal

Com o intuito de se evitar interferências provocadas pela adição de reagentes mascarantes, nos valores de absorvância dos complexos formados, como observado no caso do complexo $\text{Cu}(\text{DPKBH})_2$, a curva analítica do sistema Cu(II)/DPKBH foi refeita. Também se construiu uma nova curva analítica do sistema Fe(II)/DPKBH para a determinação de ferro total. Esta foi obtida a partir de soluções de Fe(III) reduzido a Fe(II) pelo A.As., na presença de tiouréia.

A partir dos parâmetros analíticos otimizados anteriormente, tais como concentração de DPKBH mínima de 502 μM ; valor de pH aparente 7,2, ajustado com solução tampão $\text{HSuc}^-/\text{Suc}^{2-}$ e meio contendo 50% (v/v) de etanol, construíram-se as curvas analíticas dos sistemas Cu(II)/DPKBH , $\text{Fe(II)/DPKBH/FeTotal}$, apresentadas nas Figuras 69 e 70, respectivamente.

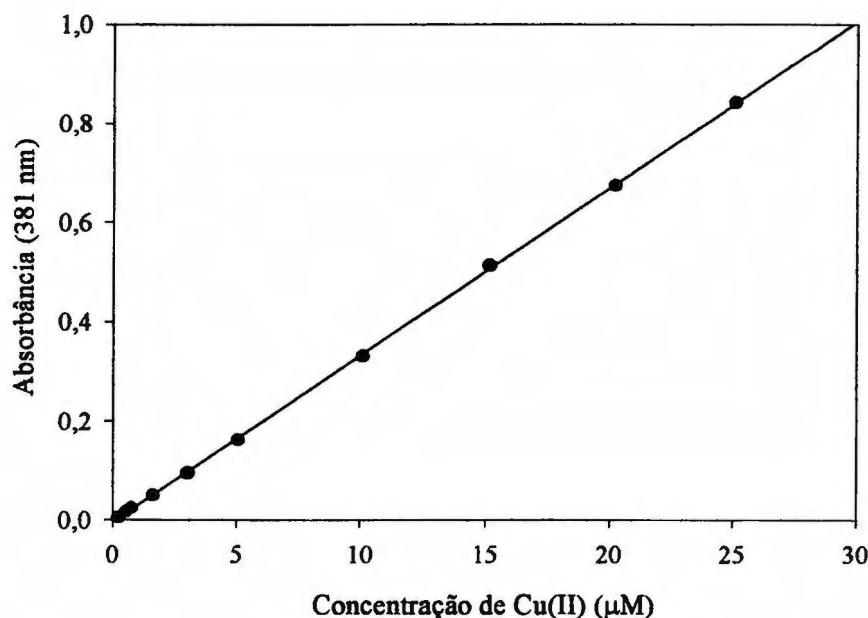


Figura 69 – Curva analítica do sistema Cu(II)/DPKBH , com a adição de fluoreto 0,0313 mol/L e H_2O_2 140 μM . $C_{\text{DPKBH}} = 502 \mu\text{M}$; etanol 50% (v/v); pH = 7,2 ($\text{HSuc}^-/\text{Suc}^{2-}$). Caminho óptico de 1 cm.

Em ambos os casos a ordem de adição dos reagentes utilizada foi M^{n+} , reagente mascarante, DPKBH, etanol, água e tampão $\text{HSuc}^-/\text{Suc}^{2-}$. No caso da curva

analítica do sistema Cu(II)/DPKBH, foram adicionados volumes de solução de fluoreto e de peróxido de hidrogênio que resultassem em concentrações finais de 0,0313 mol/L e 140 μ M, respectivamente. Já para a curva analítica construída para a determinação de ferro total, adicionaram-se volumes de solução de A.As. e de tiouréia que resultaram em concentrações finais de 0,0375 mol/L e de 0,0125 mol/L, respectivamente.

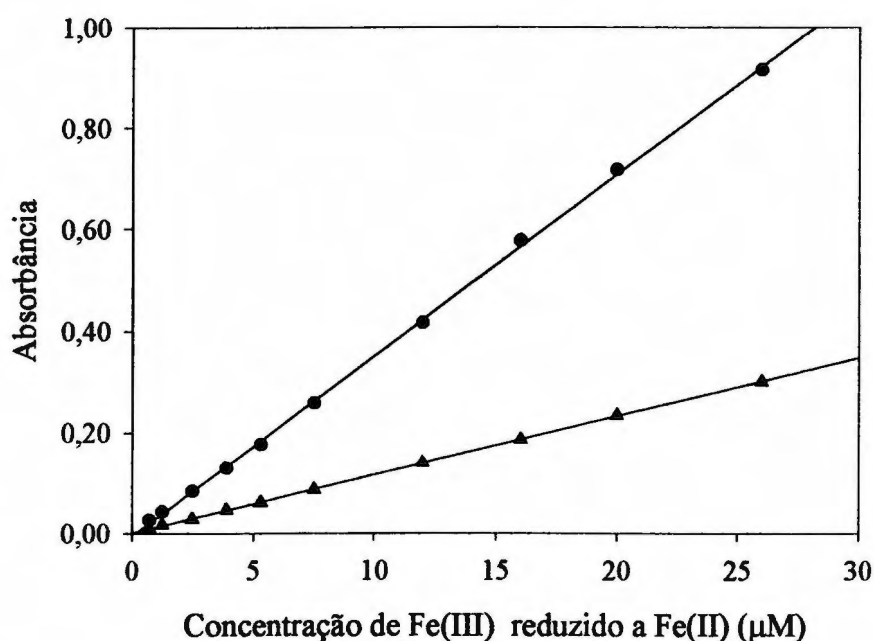


Figura 70 – Curvas analíticas do sistema Fe(II)/DPKBH/FeTotal em (●) 364 nm e (▲) 658 nm, com a adição de A.As. 0,0375 mol/L e tiouréia 0,0125 mol/L. $C_{DPKBH} = 502$ mM; etanol 50% (v/v); pH = 7,2 ($HSuc^-/Suc^2-$). Caminho óptico de 10 mm.

Na Figura 69, observa-se que a faixa ótima de concentração de Cu(II), da curva analítica do sistema Cu(II)/DPKBH, não sofreu alteração mantendo-se em

0,24 μM a 25 μM . Por meio de parâmetros de regressão linear, tem-se um coeficiente de correlação (r^2) da reta igual a 0,9999; os coeficientes linear e angular iguais $(-3,92 \pm 1,65) \times 10^{-3}$ e $(3,37 \pm 0,014) \times 10^4$, respectivamente, e a equação para a determinação analítica da concentração de Cu(II), através da absorbância, será:

$$A_{(381\text{nm})} = -3,92 \times 10^{-3} + 3,37 \times 10^4 \cdot C_{\text{Cu(II)}} \quad (\text{eq. 10})$$

Já para a curva analítica do sistema Fe(II)/DPKBH/FeTotal, Figura 70, observou-se também, que a faixa ótima de concentração de Fe(II) se manteve em 0,75 μM a 26 μM . Através de parâmetros de regressão linear, tem-se um coeficiente de correlação (r^2) das retas de 0,9999 e 0,9996 e os coeficientes linear e angular de $(-4,93 \pm 3,34) \times 10^{-3}$ e $(3,57 \pm 0,027) \times 10^4$, e $(9,64 \pm 4,1) \times 10^{-3}$ e $(1,16 \pm 0,003) \times 10^4$, para as curvas em 364 nm e em 658 nm, respectivamente. As equações para o cálculo da concentração analítica de ferro total, considerando-se o valor de absorbância medido nos dois comprimentos de onda, serão:

$$A_{(364\text{nm})} = -4,93 \times 10^{-3} + 3,57 \times 10^4 \cdot C_{\text{Fe(II)}} \quad (\text{eq. 11})$$

$$A_{(658\text{nm})} = 9,64 \times 10^{-4} + 1,16 \times 10^4 \cdot C_{\text{Fe(II)}} \quad (\text{eq. 12})$$

VI.5.3.1 - Determinação de íons Cu(II), Fe(II) e Fe(III) em Amostras Sintéticas

Como forma de avaliação preliminar do método aqui proposto, foram feitas determinações de íons Cu(II), Fe(II) e Fe(III) em amostras sintéticas. Para tal, levou-se em consideração os parâmetros analíticos definidos anteriormente, tais

como concentração de DPKBH de 502 μM ; valor de pH aparente 7,2, ajustado com solução tampão $\text{HSuc}^-/\text{Suc}^{2-}$; meio contendo 50% (V/V) de etanol e ordem de adição M^{n+} , reagente mascarante, DPKBH, etanol, água e tampão $\text{HSuc}^-/\text{Suc}^{2-}$.

Para se realizar as determinações dos três íons metálicos, o seguinte procedimento foi adotado:

- Com uma alíquota da solução da amostra, prepara-se a solução de medida sem a adição de reagentes mascarantes e registra-se o espectro. Com o valor de absorvância anotado em 658 nm, calcula-se a concentração de íons Fe(II) presente na amostra através da equação 04 (curva analítica do Fe(II)/DPKBH);
- A partir de uma segunda alíquota da amostra, prepara-se a solução de medida com a adição de peróxido de hidrogênio e fluoreto, nas concentrações finais de $1,4 \times 10^{-4}$ mol/L e 0,0313 mol/L, respectivamente. Registra-se o espectro de absorção do complexo Cu(DPKBH)_2 e com o valor de absorvância em 381 nm, calcula-se a concentração de íons Cu(II) utilizando-se a equação 10;
- Utilizando-se uma terceira alíquota da amostra, prepara-se a solução de medida com a adição de ácido ascórbico 0,0375 mol/l e tiouréia 0,0125 mol/L, para se registrar o espectro do complexo Fe(II)/DPKBH . A concentração de ferro total é determinada através de cálculos e os valores de absorvância em 364 nm ou em 658 nm, empregando as equações 11 e 12, respectivamente. Por diferença, pode-se calcular a concentração de Fe(III) presente na amostra, descontando-se o valor de concentração de Fe(II) calculado a partir do primeiro espectro.

Então, prepararam-se seis amostras sintéticas contendo concentrações variadas de íons Fe(II) , Fe(III) e Cu(II) . Foram feitos testes de recuperação para os

três íons metálicos, a partir de alíquotas das amostras recém preparadas, utilizando o procedimento descrito. Os resultados obtidos são apresentados na Tabela XV.

Tabela XV – Determinação de íons Cu(II), Fe(II) e Fe(III) em amostras sintéticas, utilizando a metodologia proposta, em condições estacionárias. Concentrações em μM .

Amostra	Cu(II)	Fe(II)	Fe(III)	Fe(total)
1 - Adicionado	10,10	7,218 ⁽¹⁾	20,05 ⁽²⁾	27,27*
recuperado	10,05	7,238 ⁽³⁾	19,85**	27,09 ⁽⁴⁾
Erro (%)	-0,50	+0,28	-0,99	-0,66
2 - Adicionado	15,10	---	25,03	25,03
recuperado	15,40	---	25,06	25,06
Erro (%)	+2,0	---	+0,12	+0,12
3 - Adicionado	12,50	15,02	---	15,02
recuperado	12,57	14,78	---	14,78
Erro (%)	+0,56	-1,6	---	-1,6
4 - Adicionado	---	15,02	10,02	25,04
recuperado	---	14,82	9,820	24,64
Erro (%)	---	-1,3	-2,0	-1,6
5 - Adicionado	0,7706	1,505	7,532	9,037
recuperado	0,7996	1,539	7,586	9,125
Erro (%)	+3,6	+2,2	+0,72	+0,96
6 - Adicionado	22,50	25,00	5,304	30,30
recuperado	22,85	24,71	5,300	30,01
Erro (%)	+1,5	-1,2	-0,08	-0,96

* (1) + (2)

** (4) - (3)

Observa-se na Tabela XV que os valores de concentração recuperados de Cu(II), Fe(II) e Fe(III) são próximos aos valores teóricos adicionados, não havendo, portanto, diferença significativa para um nível de confiança de 95%. Com isso, conclui-se que o método proposto pode ser aplicado em amostras naturais, sendo possível fazer a especiação entre íons Fe(II) e Fe(III) e a determinação de íons Cu(II).

VI.6 – ADAPTAÇÃO DOS MÉTODOS ESPECTROFOTOMÉTRICOS Cu(II)/Fe(II)/Fe(III)/DPKBH DE CONDIÇÕES ESTACIONÁRIAS PARA INJEÇÃO EM FLUXO EMPREGANDO MULTI- COMUTAÇÃO E AMOSTRAGEM BINÁRIA

Conceitualmente, o processo de análise por injeção em fluxo consiste na inserção de uma alíquota da solução da amostra em um fluxo transportador⁽¹⁸²⁾. Ao longo dos 26 anos de desenvolvimento, os dispositivos (injetores) empregados para introduzir a amostra no percurso analítico possuem uma relação estreita com a evolução dessa técnica nos vários ramos da química analítica⁽¹⁸³⁾.

REIS e BERGAMIN⁽¹⁸⁴⁾ apresentaram em 1993 um artigo de revisão, de forma cronológica, sobre a evolução dos injetores empregados em sistemas de análise química por injeção em fluxo. Pertencem à classe de injetores que têm duas posições de repouso a *Rotary valve*, o injetor comutador e as válvulas de 4, 6 e 8 vias. Esses dispositivos apresentam estruturas físicas distintas e operam sobre o

conceito de comutação solidária. Os diagramas de fluxo são elaborados em função desta característica⁽¹⁸³⁾.

As válvulas solenóides de três vias são dispositivos discretos que têm sido utilizados como constituintes de injetores que não exigem deslocamento mecânico externo⁽¹⁸⁵⁾. Ao contrário dos dispositivos que possuem posições de repouso, onde todas as seções são comutadas simultaneamente, cada válvula solenóide age como um comutador individual. Esta característica permitiu que REIS et al.⁽¹⁸⁶⁾ introduzissem a multicomutação e amostragem binária como um novo conceito de manipulação e inserção das soluções da amostra e dos reagentes no percurso analítico, em sistemas de análise em fluxo⁽¹⁸³⁾.

Além das vantagens oferecidas pela adaptação de um método analítico de condições estacionárias para um sistema de análise por injeção em fluxo, como mencionado anteriormente, encontram-se na literatura alguns trabalhos relatando a determinação multielementar⁽¹⁸⁷⁾. Deve permitir, também, uma simultaneidade instrumental na especiação de ferro dentre outros íons.

Portanto, o objetivo desta etapa do trabalho foi adaptar o método espectrofotométrico para determinação de íons Cu(II), Fe(II) e Fe(III) com DPKBH, de condições estacionárias para análise em fluxo, empregando multicomutação e amostragem binária.

Considerando que o complexo Fe(II)/DPKBH apresenta duas bandas em diferentes regiões do espectro, com máximos de absorção em 364 nm e 658 nm, e que os complexos Cu(DPKBH)₂ e Fe^{III}(DPKBH)₂ apresentam apenas uma banda, com máximos de absorção em 381 nm e 362 nm, respectivamente, há a necessidade

do uso de um espectrofotômetro de varredura do tipo arranjo linear de diodos, para se efetuar a determinação dos íons em diferentes comprimentos de onda simultaneamente. Entretanto, a aquisição de um espectrofotômetro de varredura torna-se bastante dispendiosa.

Em Química Analítica, o uso de fotômetros a base de LEDs tem-se mostrado bastante eficaz, principalmente considerando o baixo custo requerido na montagem do mesmo, e a versatilidade de combinar mais de um LED para se efetuar determinações em diferentes comprimentos de onda. Este tipo de detectores é resultante da combinação de LEDs com fotodiodos em instrumentos simples, nos quais mede-se a absorbância direta, desde que o circuito eletrônico inclua um amplificador logarítmico⁽¹⁸⁸⁾.

A radiação emitida por LEDs tem uma banda espectral limitada de aproximadamente 20 a 70 nm, e é uma fonte de luz de alta estabilidade e durabilidade. O interesse especial por LEDs, está no fato de que os mesmos cobrem a faixa do espectro eletromagnético compreendida da região do visível ao infravermelho próximo (470 nm a 1300 nm), o que possibilita diversas aplicações analíticas⁽¹⁸⁹⁾.

O primeiro trabalho empregando um fotodetector baseado em LED, foi proposto por Barnes em 1970, como descrito por FLASCHKA et al.⁽¹⁹⁰⁾. Em 1978 BETTERIDGE et al.⁽¹⁹¹⁾ descreveu o primeiro fotômetro deste tipo a ser utilizado em análise química por injeção em fluxo. Desde então, diversos trabalhos envolvendo análise em fluxo têm sido publicados, com diferentes aplicações, dependendo da coloração da luz emitida. Por exemplo, pode-se citar alguns

trabalhos em diferentes comprimentos de onda com LEDs de coloração azul (465 nm)⁽¹⁹²⁾, verde (565nm)^(191,193,194,195,196,197), amarelo (595 nm)^(196,197,198), laranja (605-620 nm)⁽¹⁹⁹⁾, vermelho (630-660 nm)^(183,191,193,196,197,200,201) e no infravermelho próximo (820 nm)^(202,203).

Assim, sugeriu-se a utilização de um fotômetro construído a base de LED vermelho, como fonte de radiação, e fotodiodo de silício como detector, para monitorar a determinação de íons Fe(II) e ferro total em 658 nm. Também usou-se um espectrofotômetro de pequeno porte para monitorar determinação de íons Cu(II) em 381 nm, como descrito no item V.2.1.1.

VI.6.1 – Estudo dos Parâmetros Analíticos

Conceitualmente, no processo de análise por injeção em fluxo empregando multicomutação e amostragem binária, a introdução da amostra e reagentes no percurso analítico é feita por aspiração, utilizando-se apenas um canal da bomba peristáltica^(204,205). A adição de volumes de amostra e reagentes é controlada pelo temporizador do microcomputador, que aciona as válvulas solenóides de forma alternada, com tempos pequenos da ordem de 0,1 a 0,8 s, e as soluções são aspiradas. O volume adicionado é posteriormente calculado pelo tempo de abertura da válvula e o fluxo do sistema, gerado pela velocidade de rotação da bomba peristáltica. O uso de dispositivos eletrônicos para o controle de tempo de abertura das válvulas evita erros relativos ao tempo de amostragem⁽²⁰⁶⁾.

No presente trabalho, o reagente cromogênico DPKBH apresenta baixa solubilidade em água, sendo necessário o uso de meio contendo o solvente orgânico etanol, na proporção 1:1 água/etanol 50% (v/v). Como mostrado no item

VI.3, não foi possível desenvolver um sistema capaz de eliminar as bolhas de ar, geradas pela mistura da amostra aquosa com o reagente DPKBH em meio etanólico. O problema foi resolvido preparando-se todas as soluções em 50 % (v/v) de etanol. Assim, prepararam-se, também, todas as soluções a serem utilizadas no sistema de análise em fluxo, empregando multicomutação e amostragem binária, em 50 % (v/v) de etanol.

Entretanto, observou-se que utilizando apenas um canal da bomba peristáltica para aspiração das soluções ocorria a formação de grande quantidade de micro-bolhas de ar no percurso analítico, mesmo usando-se todas as soluções preparadas em 50 % (v/v) e posterior desaeramento com N_2 .

O problema foi solucionado invertendo-se o sistema, através do bombeamento de todas as soluções por canais independentes da bomba peristáltica. Com isso, as válvulas que estiverem desligadas estarão reciclando as soluções correspondentes para o frasco de origem, evitando o consumo excessivo de reagentes e amostra.

Considerando-se que os íons Fe(III) reagem com os íons succinato, presentes na solução tampão e, após a formação do complexo $[Fe(H_4C_4O_4)]^+$, o deslocamento dos íons Fe(III) pelo DPKBH é lento, como mostrado na Figura 55, não foi possível utilizar a solução tampão de $HSuc^-/Suc^{2-}$ como solução transportadora da amostra.

Então, resolveu-se utilizar a própria amostra como solução transportadora, já que se pretende aplicar o método em amostras de água, que podem ser coletadas em grande volume. No caso de outras amostras, como as de

sedimento, ter-se-á que fazer a diluição com etanol para 50% (v/v), dobrando o volume inicial.

Em seguida, foram feitos estudos para estabelecer as concentrações ótimas das soluções envolvidas no sistema. Para tal, foi necessário fixar os seguintes parâmetros analíticos: tempo de entrada da amostra = 0,4 s, tempo de entrada do reagente = 0,2 s, tempo de entrada do tampão = 0,2 s, número de ciclos do reagente e tampão = 4, tempo de entrada do mascarante 1 = 0,2 s, tempo de entrada do mascarante 2 = 0,2 s, número de ciclos do mascarante 1 = 14, número de ciclos do mascarante 2 = 14, bobina de mistura do mascarante 1 (B_1) de 50 cm, bobina de mistura do mascarante 2 (B_2) de 50 cm e bobina de reação (B_3) de 70 cm. A vazão em todos os canais da bomba peristáltica foi de 2,5 mL/min.

Então, inicialmente avaliou-se o sinal analítico, ou seja, altura de pico observada, para a reação do DPKBH com soluções padrão de íons Cu(II) 60 μ M e Fe(II) 50 μ M, na presença de solução tampão ácido succínico/succinato, sem a adição de agentes mascarantes.

Com isso, foi possível estabelecer as concentrações ótimas do reagente DPKBH (R) em $2,3 \times 10^{-3}$ mol/L e da solução tampão ácido succínico 0,0377 mol/L – succinato 0,0978 mol/L (Bt) . Estas concentrações das espécies formadoras da solução tampão foram suficientes para tamponar a fração ocupada pela zona de reação amostra/reagente-DPKBH/tampão, em pH = 7,2. O valor de pH da solução amostra foi ajustado em 2.

Nesta mesma etapa, através de recursos de programação, foi avaliado o aumento na magnitude do sinal com o aumento do ganho analógico do sistema

com conseqüente melhora na resolução analógico/digital⁽¹⁸³⁾. Variou-se o ganho analógico dos fotômetros em 0; 1; 2 e 3, observando-se alterações no sinal do branco, sem que este aumento provocasse efeito relevante no limite de detecção, calculado como sendo 3 vezes o valor do desvio padrão. Concluiu-se que para o fotômetro à base de LED deve-se utilizar um ganho analógico 1, pois acima deste, a magnitude do sinal do branco é significativa. Já para o detector espectrofotométrico ajustado em 381 nm, obtiveram-se resultados satisfatórios com um ganho analógico 3. Com este valor de ganho analógico pode-se melhorar o limite de determinação do método.

Para determinar os valores de concentração ótima dos reagentes que compõem as soluções mascarantes, partiu-se do princípio que as amostras poderiam conter até 80 μM de íons Cu(II), Fe(II) ou Fe(III). Para definir as concentrações dos reagentes mascarantes, consideraram-se ótimos os valores que produziram uma redução do sinal analítico, gerado pela reação do íon metálico com o reagente DPKBH, na presença do tampão $\text{HSuc}^-/\text{Suc}^{2-}$, a um valor de altura de pico o mais próximo possível da linha base. A linha base foi obtida usando-se uma mistura água/etanol 50 % (V/V).

Para avaliar as concentrações do reagente mascarante MR_1 para íons Fe(II) e Fe(III) na determinação de íons Cu(II), preparou-se uma solução contendo íons Fe(II) 40 μM e Fe(III) 40 μM . Então, foram feitos testes de mascaramento com soluções contendo fluoreto 0,065; 0,075; 0,087 e 0,095 mol/L e peróxido de hidrogênio 0,030; 0,040; 0,053 e 0,065 mol/L, respectivamente. Observou-se que utilizando uma mistura de íons fluoreto 0,087 mol/L e de peróxido de hidrogênio

0,053 mol/L foi possível suprimir quase que completamente o sinal analítico da reação dos íons ferro com o DPKBH.

Deve-se ressaltar que não foi possível preparar soluções de fluoreto de sódio acima de uma concentração de 0,095 mol/L, devido à baixa solubilidade do sal em meio contendo 50% (v/v) água/etanol.

Já para se estabelecer as concentrações ideais do reagente mascarante MR_2 para íons $Cu(II)$ e redutora de íons $Fe(III)$ a $Fe(II)$, prepararam-se soluções contendo tiouréia 0,02; 0,03; 0,04 e 0,05 mol/L e ácido ascórbico 0,08; 0,11; 0,16 e 0,16 mol/L, respectivamente. Verificou-se que foi possível suprimir completamente o sinal analítico da reação dos íons $Cu(II)$ com o DPKBH, e garantir a redução de íons $Fe(III)$ a $Fe(II)$, utilizando-se uma mistura de tiouréia 0,03 mol/L e ácido ascórbico 0,11 mol/L.

Observou-se, também, que utilizando concentrações de tiouréia acima de 0,04 mol/L, tem-se alterações significativas da linha base do fotômetro à base de LED, no qual é registrado o sinal para íons $Fe(II)$.

Assim, uma vez definidos os valores de concentração das soluções, os parâmetros relativos à vazão, aos tempos de acionamento de cada válvula para adição dos reagentes ou do volume de amostra da zona de reação, o número de ciclos para os mascarantes e para o reagente DPKBH e tampão $HSuc^-/Suc^{2-}$, além do comprimento das duas bobinas de mistura e bobina de reação foram estudados. A Tabela XVI mostra a faixa de valores estudada para cada parâmetro analítico, bem como o valor considerado como ideal para o sistema proposto.

Através dos valores selecionados para cada parâmetro analítico, apresentados na Tabela XVI, pode-se calcular o consumo de reagentes para cada determinação.

Tabela XVI – Alguns parâmetros analíticos estudados para o sistema de análise em fluxo, empregando multicomutação e amostragem binária, para determinação de íons Cu(II), Fe(II) e Fe(III).

Parâmetro Analítico	Faixa Estudada	Valor Selecionado
Vazão do sistema (mL/min)	2,0 – 3,2	2,7
Tempo de entrada da amostra (s)	0,2 – 0,6	0,3
Tempo de entrada do reagente (s)	0,2 – 0,6	0,3
Tempo de entrada do tampão (s)	0,2 – 0,5	0,3
Tempo de entrada do mascarante 1 (s)	0,2 – 0,5	0,3
Tempo de entrada do mascarante 2 (s)	0,2 – 0,5	0,2
Número de ciclos do reagente e tampão (ciclos)	3 – 7	5
Número de ciclos do mascarante 1 (ciclos)	12 – 22	20
Número de ciclos do mascarante 2 (ciclos)	12 – 25	16
Comprimento da bobina de mistura do mascarante 1 (cm)	30 – 70	60
Comprimento da bobina de mistura do mascarante 2 (cm)	30 – 70	40
Comprimento da bobina de reação (cm)	50 – 110	90

Considerando uma vazão do sistema de 2,7 mL/minuto e 5 ciclos de acionamento das válvulas do reagente DPKBH (V_5) e da solução tampão $\text{HSuc}^-/\text{Suc}^{2-}$ (V_6), por 0,3 s cada, tem-se um consumo do reagente DPKBH de 67,5 μL ou 47 μg por determinação. Para a solução tampão $\text{HSuc}^-/\text{Suc}^{2-}$ insere-se no sistema um volume de 67,5 μL contendo 298 μg de ácido succínico e 766 μg de succinato, por determinação. Considerando-se, também, que o volume de amostra presente na

zona de reação é de 67,5 μL , tem-se uma razão de diluição de 1:3, a qual pode ser aplicada para a determinação de íons Fe(II).

A solução mascarante fluoreto/ H_2O_2 (MR_1) foi inserida através da válvula V_3 com tempo de acionamento total de 6 segundos, correspondendo ao volume de 270 μL e um consumo de 986 μg de fluoreto e 1,62 μL de uma solução de H_2O_2 30 % (v/v), por determinação. O fator de diluição da amostra que compreende apenas a zona de reação é inicialmente de 1:2, durante o processo de mascaramento e, posteriormente, com a adição da solução reagente DPKBH e da solução tampão é de 1:6. Esse fator pode ser aplicado na determinação de Cu(II).

No caso da solução mascarante tiouréia/ácido ascórbico (MR_2) o volume inserido no sistema, através da válvula V_4 , foi de 144 μL , correspondendo a um consumo de 329 μg de tiouréia e 2,79 mg de ácido ascórbico por determinação. Neste caso, o fator de diluição da amostra na zona de reação foi de 1:1,7, na fase de mascaramento e de 1:5,1, com a adição da solução reagente DPKBH e da solução tampão. Esse fator pode ser aplicado na determinação de ferro total.

Assim, estando todos os parâmetros analíticos definidos, registrou-se um fiograma de uma amostra contendo íons Cu(II) 25 μM , Fe(II) 25 μM e Fe(III) 30 μM , Figura 71. Para o registro dos sinais analíticos na tela do microcomputador, o programa desenvolvido cria uma divisão na tela, e na parte superior lêem-se os sinais gerados para o complexo Fe(II)/DPKBH, no fotômetro à base de LED no comprimento de onda de 660 nm. Já na parte inferior, lêem-se os sinais gerados para o complexo Cu(II)/DPKBH, no espectrofotômetro ajustado em 381 nm. A Figura 71 mostra o aspecto da tela gerada pelo programa desenvolvido.

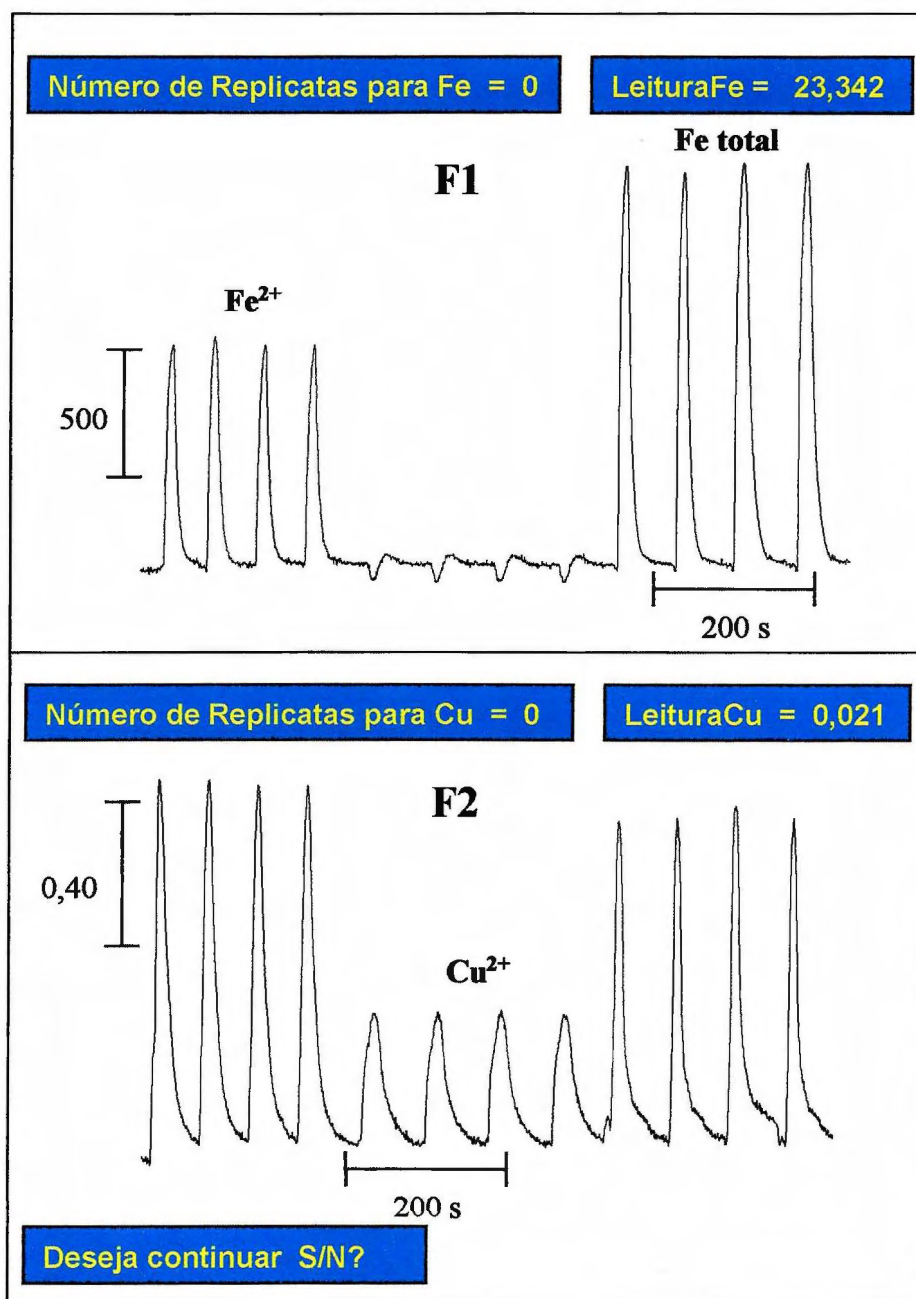


Figura 71 – Fiagramas obtidos de uma solução contendo íons Cu(II) 25 μM , Fe(II) 25 μM e Fe(III) 30 μM , com o sistema de análise em fluxo empregando multicomutação e amostragem binária. F1 = fotômetro a base de LED vermelho (660nm); leitura em intensidade. F2 = espectrofotômetro ajustado em 381 nm; leitura em absorbância.

Observa-se na Figura 71, que no fotômetro 1, tem-se inicialmente uma seqüência de quatro picos referentes ao sinal dos íons Fe(II), registrados em 660 nm. Neste mesmo intervalo de tempo, verifica-se no fotômetro 2 quatro picos bastante intensos referentes à soma dos sinais produzidos pela reação dos íons Cu(II), Fe(II) e Fe(III) com o DPKBH.

Na próxima seqüência de quatro picos, observa-se apenas pequenas alterações provocadas na linha base por diferença de índice de refração, no fotômetro 1 que registra os sinais em 660 nm, já que os íons Fe(II) e Fe(III) são mascarados previamente e o complexo $\text{Cu}(\text{DPKBH})_2$ não absorve nesse comprimento de onda. No fotômetro 2, ajustado em 381 nm, tem-se os sinais produzidos pela reação do DPKBH apenas com os íons Cu(II).

Já os últimos quatro picos observados são referentes à reação do DPKBH com os íons Fe(II) e os íons Fe(III) reduzidos previamente a Fe(II). Em ambos os fotômetros são registrados os sinais analíticos para ferro total, pois o complexo Fe(II)/DPKBH absorve nos dois comprimentos de onda monitorados. Neste caso os íons Cu(II) são previamente mascarados.

VI.6.2 – Curvas Analíticas dos Sistemas de Análise em Fluxo

Tendo-se todos os parâmetros analíticos definidos, tais como: leitura do fotômetro à base de LED com ganho analógico 1; leitura do espectrofotômetro com ganho analógico 3; concentrações ótimas do reagente DPKBH $2,3 \times 10^{-3}$ mol/L; da solução tampão ácido succínico 0,0377 mol/L – succinato 0,0978 mol/L; solução

mascarante 1 contendo íons fluoreto 0,087 mol/L e peróxido de hidrogênio 0,053 mol/L; solução mascarante 2 contendo tiouréia 0,03 mol/L e ácido ascórbico 0,11 mol/L; vazão do sistema de 2,7 mL/min; tempo de entrada da amostra de 0,3 s; tempo de entrada do reagente de 0,3 s; tempo de entrada do tampão de 0,3 s; tempo de entrada do mascarante 1 de 0,3 s; tempo de entrada do mascarante 2 de 0,2 s; número de ciclos do reagente e tampão de 5 ciclos ; número de ciclos do mascarante 1 de 20 ciclos; número de ciclos do mascarante 2 de 16 ciclos; comprimento da bobina de mistura do mascarante 1 de 60 cm; comprimento da bobina de mistura do mascarante 2 de 40 cm; comprimento da bobina de reação de 90 cm e tempo de leitura de 55 s, construíram-se as curvas analíticas para a determinação de íons Fe(II), Cu(II) e ferro total, para posterior determinação por diferença da concentração de íons Fe(III).

VI.6.2.1 – Curva Analítica para o Sistema Fe(II)/DPKBH

Para definir a faixa de análise do método espectrofotométrico em fluxo, empregando multicomutação e amostragem binária para a determinação de Fe(II), fez-se uma curva analítica a partir de soluções de referência de Fe(II) recém preparadas, por diluição de uma solução estoque de Fe(II) 0,01467 mol/L, nas concentrações de 3,00 a 50,0 μM diluídos em 50 % de etanol (v/v).

A Figura 72 A apresenta os sinais analíticos obtidos para as soluções de referência de Fe(II) contendo 0,0; 2,994; 6,979; 15,03; 29,89 e 49,64 μM .

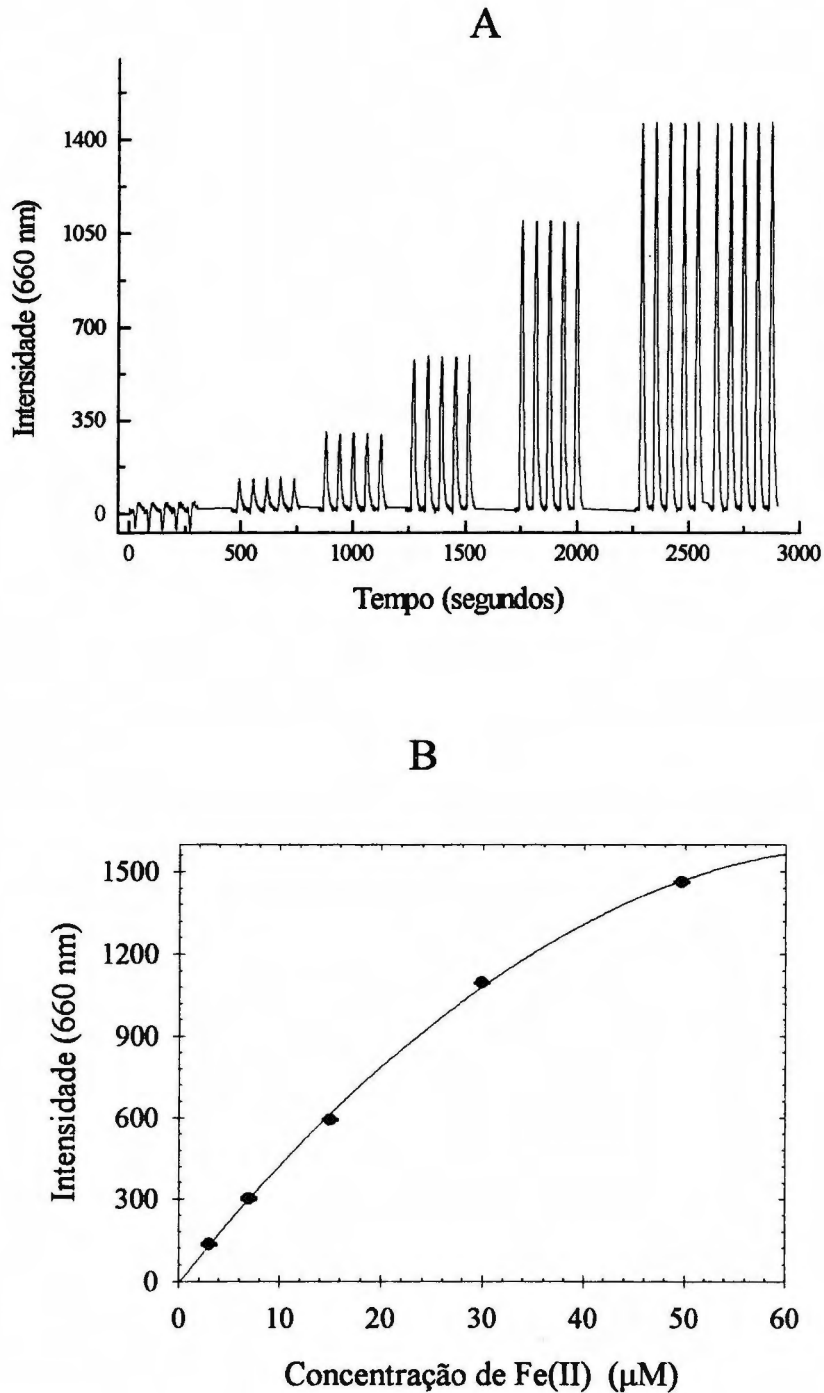


Figura 72 – Sistema Fe(II)/DPKBH empregando multicomutação e amostragem binária. A = sinais analíticos obtidos para as soluções de referência de Fe(II) contendo 0,0; 2,994; 6,979; 15,03; 29,89 e 49,64 μM , respectivamente. B = curva analítica construída com os valores de intensidade *versus* concentração.

Através da série de picos mais intensos, os quais se referem à solução de referência contendo íons Fe(II) 49,64 µM, pode-se estimar o coeficiente de variação para a determinação de íons Fe(II) em 0,3 % (n=10). Já a Figura 72 B mostra a curva analítica do sistema Fe(II)/DPKBH, construída com os valores de intensidade *versus* concentração, com os respectivos desvios padrão da média das cinco leituras efetuadas.

Aplicando-se parâmetros de regressão, concluiu-se que a regressão polinomial de ordem 2 se adequa melhor ao sistema proposto, apresentando coeficiente de correlação $r^2 = 0,9993$, podendo-se inferir a seguinte equação para a determinação analítica de concentração de Fe(II):

$$y = - 8,835 + 46,51x - 0,3380x^2 \quad (\text{eq. 13})$$

onde y representa a intensidade do pico registrada em 660 nm, e x a concentração de íons Fe(II) calculada.

VI.6.2.2 – Curva Analítica para o Sistema Cu(II)/DPKBH

A faixa de análise do método espectrofotométrico em fluxo, empregando multicomutação e amostragem binária, para a determinação de Cu(II), foi definida construindo-se a curva analítica do sistema, a partir dos sinais analíticos gerados pelas soluções de referência de Cu(II), preparadas por diluição de uma

solução estoque de Cu(II) 0,07530 mol/L em água/etanol 50 % (v/v), nas concentrações de 4,955; 9,974; 19,94; 39,88; 59,95 e 79,72 μM .

Observa-se na Figura 73A os sinais analíticos obtidos para as soluções padrão de Cu(II), em séries de quatro injeções. Considerando a série de picos mais intensos, os quais se referem ao padrão contendo íons Cu(II) 79,72 μM , estimou-se o coeficiente de variação para a determinação de íons Cu(II) em 1,4 % (n=10).

Já na Figura 73 B, tem-se a curva analítica do sistema Cu(II)/DPKBH obtida através dos valores de absorvância *versus* concentração. Aplicando-se parâmetros de regressão polinomial de ordem 2, a curva analítica do sistema Cu(II)/DPKBH apresenta bom coeficiente de correlação $r^2 = 0,9987$, podendo-se inferir a seguinte equação para a determinação analítica de concentração de Cu(II):

$$y = - 1,794 \times 10^{-3} + 0,0204x - 7,246 \times 10^{-5}x^2 \quad (\text{eq. 14})$$

onde y representa o valor de altura de pico, em absorvância, registrado em 381 nm, e x a concentração de íons Cu(II) calculada.

VI. 6.2.3 – Curva Analítica para o Sistema FeTotal/DPKBH

A determinação de ferro total utilizando o método espectrofotométrico em fluxo, empregando multicomutação e amostragem binária, consiste em uma etapa prévia de redução dos íons Fe(III) a Fe(II) pelo A.A.. Considerando-se este fator, construiu-se uma curva analítica do sistema, a partir de soluções de referência

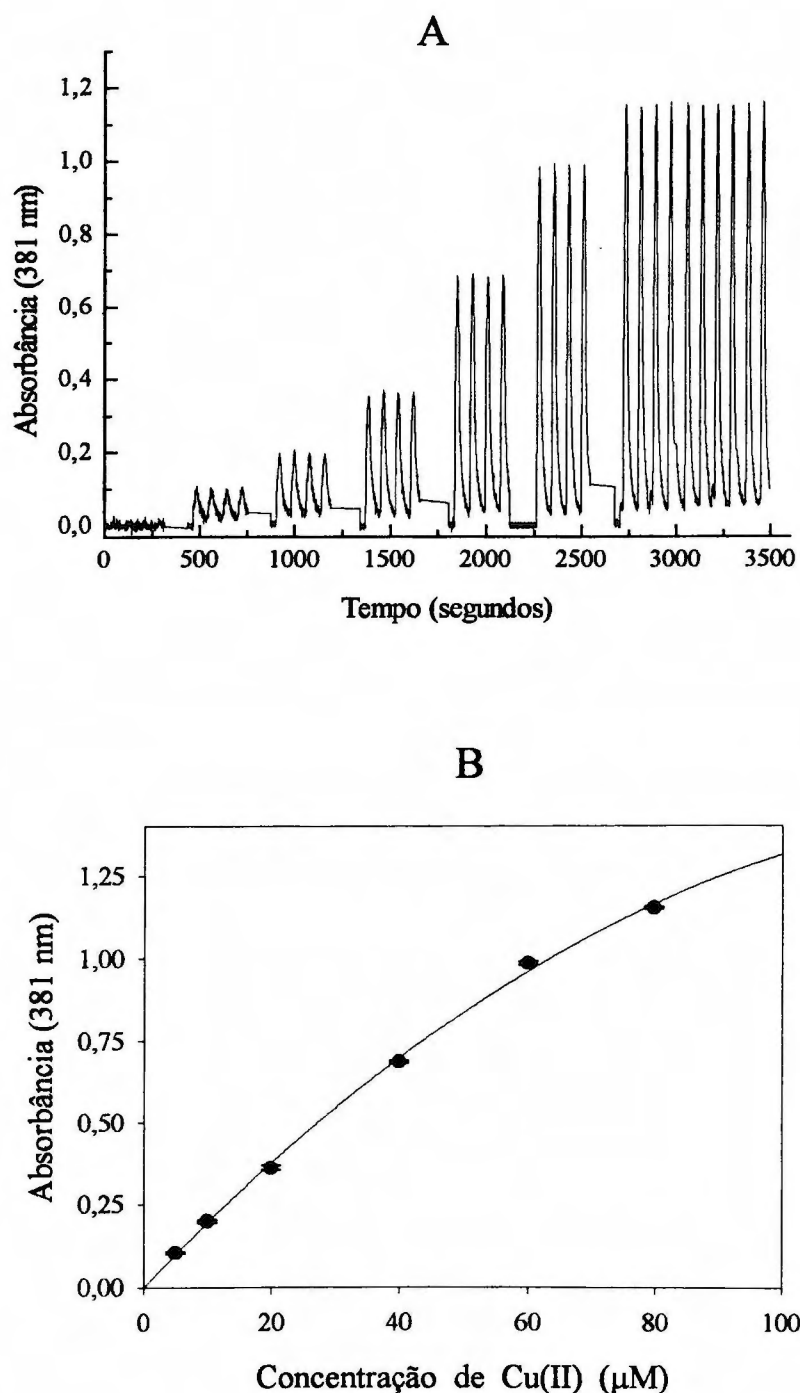


Figura 73 – Sistema Cu(II)/DPKBH empregando multicomutação e amostragem binária. A = sinais analíticos obtidos para as soluções de referência de Cu(II) contendo 0,0; 4,955; 9,974; 19,94; 39,88; 59,95 e 79,72 μM , respectivamente. B = curva analítica construída com os valores de absorbância *versus* concentração.

de Fe(III) recém-preparadas, por diluição com água/etanol 50 % (v/v) de uma solução estoque de Fe(III) 0,01326 mol/L, nas concentrações de 3,987; 5,980; 7,972; 11,95; 19,91; 39,77; 59,69 e 79,29 μM .

A Figura 74 A apresenta os sinais analíticos obtidos para as soluções de referência de Fe(III) reduzidos a Fe(II). Por meio da série de picos mais intensos, os quais se referem ao padrão contendo íons Fe(III) 79,29 μM , pode-se estimar o coeficiente de variação para a determinação de ferro total em 1,7 % (n=10).

No caso da Figura 74 B, tem-se a curva analítica do sistema FeTotal/DPKBH, construída com os valores de intensidade *versus* concentração, obtidos na Figura 74 A. Aplicando-se parâmetros de regressão, concluiu-se que a regressão polinomial de ordem 3 se adequa melhor ao sistema proposto, apresentando coeficiente de correlação $r^2 = 0,9985$, podendo-se inferir a seguinte equação para a determinação analítica de concentração de FeTotal:

$$y = 14,83 + 51,38x - 0,5441x^2 + 2,514x10^{-3}x^3 \quad (\text{eq. 15})$$

onde y representa a intensidade do pico registrada em 660 nm, e x a concentração de FeTotal calculada.

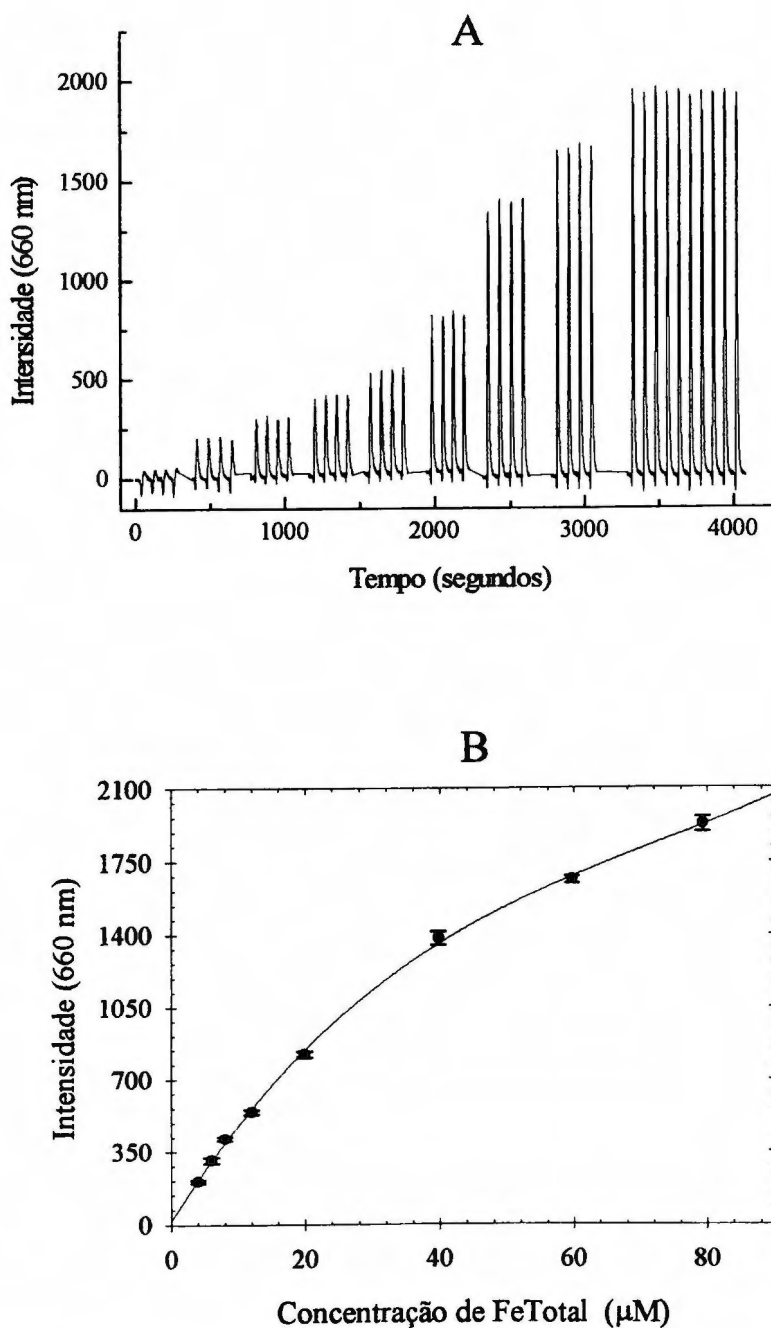


Figura 74 – Sistema FeTotal/DPKBH empregando multicomutação e amostragem binária. A = sinais analíticos obtidos para as soluções de referência de Fe(III) contendo 0,0; 3,987; 5,980; 7,972; 11,95; 19,91; 39,77; 59,69 e 79,29 μM , respectivamente. B = curva analítica construída com os valores de intensidade *versus* concentração.

VI.6.3 – Determinação de Íons Cu(II), Fe(II) e Fe(III) em Amostras Sintéticas

Para avaliar o método proposto no presente trabalho foram feitas determinações de Cu(II), Fe(II) e Fe(III) em amostras sintéticas. Assim, prepararam-se nove amostras sintéticas contendo concentrações variadas de Cu(II), Fe(II) e Fe(III), em meio de água/etanol 50 % (v/v). O resultados obtidos encontram-se na Tabela XVII.

Como dito anteriormente, a concentração de íons Fe(III) foi encontrada por subtração da concentração de Fe(II) do valor de concentração de ferro total determinado na terceira etapa do sistema.

Observa-se na Tabela XVII que os resultados obtidos utilizando-se o sistema de análise em fluxo, empregando multicomutação e amostragem binária, foram bastante próximos aos valores teóricos das amostras sintéticas contendo Cu(II), Fe(II) e Fe(III), comprovando um ótimo nível de recuperação.

VI.6.4 – Conclusões

O método proposto pode ser usado para a determinação sequencial de íons Fe(II), Cu(II) e Fe(III), em amostras contendo de 3 a 50 μM de íons Fe(II), de 5 a 80 μM de íons Cu(II) e de 4 a 80 μM de ferro total ou Fe(III).

Tabela XVII – Determinação de Cu(II), Fe(II) e Fe(III) em amostras sintéticas utilizando a metodologia proposta. Concentrações em μM .

Amostra	Cu(II)	Fe(II)	Fe(III)	Fe(total)
1 - Adicionado	50,00	35,06 ⁽¹⁾	14,95 ⁽²⁾	50,01*
recuperado	50,06	34,52 ⁽³⁾	15,21**	49,73 ⁽⁴⁾
Erro (%)	+0,12	-1,5	-1,7	-0,56
2 - Adicionado	15,06	24,88	54,83	79,71
recuperado	15,09	25,74	52,92	78,66
Erro (%)	+0,20	+3,5	-3,6	-1,3
3 - Adicionado	35,09	49,96	4,990	54,95
recuperado	35,47	49,65	4,740	54,39
Erro (%)	+1,1	-0,62	-5,0	+1,1
4 - Adicionado	4,950	5,936	59,67	65,61
recuperado	5,298	6,085	58,93	65,01
Erro (%)	+7,0	+2,5	-1,2	-0,91
5 - Adicionado	74,70	-	39,89	39,89
recuperado	74,88	-	41,20	41,20
Erro (%)	+0,24	-	+3,3	+3,3
6 - Adicionado	20,03	64,83	-	64,83
recuperado	20,51	64,28	-	64,74
Erro (%)	+2,4	-0,84	-	-0,14
7 - Adicionado	-	35,07	19,92	54,99
recuperado	-	35,71	18,97	54,68
Erro (%)	-	+1,8	- 4,8	-0,56
8 - Adicionado	24,90	24,90	30,11	55,01
recuperado	24,47	25,08	31,17	56,25
Erro (%)	-1,7	+0,72	+3,4	+2,3
9 - Adicionado	39,90	34,98	15,03	50,01
recuperado	39,24	35,44	14,83	50,27
Erro (%)	-1,7	+1,3	-1,3	+0,52
* (1) + (2)		** (4) - (3)		

O processo de amostragem binária proporcionou uma redução significativa do consumo de reagentes. Deve-se ressaltar que, no presente trabalho, a amostragem binária foi utilizada para a adição intermitente de volumes dos mascarantes, da solução tampão e do reagente cromogênico DPKBH no fluxo da amostra, a qual foi usada como solução transportadora.

A Tabela XVIII apresenta uma comparação do método em fluxo empregando multicomutação e amostragem binária, com o método desenvolvido em condições estacionárias.

Tabela XVIII – Comparação do consumo de reagentes, utilizando os métodos para determinação de íons Cu(II), Fe(II) e Fe(III), em condições estacionárias e em fluxo empregando multicomutação e amostragem binária.

Reagente	Método em Condições Estacionárias (balão de 25,00 mL)	Método em Fluxo (vazão de 2,7 mL/min.)
DPKHB	3,79 mg	47,0 µg
HSuc ⁻	15,9 mg	298 µg
Succinato (Suc ²⁻)	43,2 mg	766 µg
Ac. Ascórbico	165 mg	2,79 mg
Tiouréia	23,8 mg	329 µg
H ₂ O ₂ [*]	0,38 µL	1,62 µL
Fluoreto	31,5 mg	986 µg

* solução de H₂O₂ 30 % (v/v)

Observa-se na Tabela XVIII que o método em fluxo proporciona uma grande economia de reagentes, pois utilizando o processo de amostragem binária não se tem um fluxo constante de reagentes. A única exceção foi o consumo de peróxido de hidrogênio, que foi menor para o método em condições estacionárias. Uma possível explicação talvez seja a ordem de adição dos reagentes, pois ao se adicionar o agente oxidante para Fe(II) e Fe(III), sobre o pequeno volume da alíquota da solução amostra contida no balão de 25,00 mL, ainda não se tem uma diluição significativa. Com isso, tem-se o contato direto entre as soluções, favorecendo a oxidação de Fe(II) a Fe(III) pelo H_2O_2 .

As principais características do sistema proposto, além do pequeno consumo de reagentes, são: baixo custo, versatilidade, robustez e eficiência na determinação de multicomponentes em uma mesma amostra, incluindo a especiação de íons ferro. Outras características são coeficientes de variação de 0,3 % para Fe(II), 1,4 % para Cu(II) e 1,7 % para FeTotal-Fe(III), respectivamente ($n = 10$). O sistema apresenta uma frequência de amostragem de 20 determinações sequenciais de Fe(II), Cu(II) e FeTotal por hora.

VI.7 – DETERMINAÇÃO DE Cu(II), Fe(II) E Fe(III) EM AMOSTRAS DE ÁGUA E SEDIMENTO DO RESERVATÓRIO DE GUARAPIRANGA

Como mencionado anteriormente, o Reservatório de Guarapiranga encontra-se em avançado estado de eutrofização, devido ao lançamento de cargas poluidoras advindas de seus formadores e tributários. Como consequência, têm-se observado constantes florações de algas as quais, devido aos metabólitos que produzem, podem apresentar riscos à saúde pública.

Além dos íons fosfato e compostos nitrogenados, alguns nutrientes podem agir como fator limitante de crescimento do fitoplâncton, como é o caso dos íons ferro, preferencialmente em seu estado reduzido, como íons Fe(II)⁽²⁾. Para combater o crescimento excessivo de algas no reservatório, são feitas aplicações de sulfato de cobre como algicida.

Assim, foram coletadas amostras de água e sedimento a fim de se determinar de íons Cu(II), Fe(II) e Fe(III) nas amostras de água e de Cu(II) e ferro total nas amostras de sedimento do Reservatório de Guarapiranga.

A Tabela XIX mostra os valores dos parâmetros registrados nas campanhas realizadas, nos cinco pontos amostrais selecionados. Observa-se, em todos os pontos, que na segunda coleta a profundidade do reservatório foi menor que na primeira, devido à pequena quantidade de chuvas registradas na sub-bacia do Guarapiranga durante os meses de janeiro, fevereiro e março de 2000. Na coluna

Tabela XIX – Pontos de coleta no Reservatório de Guarapiranga, e os parâmetros registrados para cada amostra de água e sedimento coletadas.

Amostra N°	PONTOS DE COLETA		SEDIMENTO				ÁGUA			
	1° Coleta GPS – II	2° Coleta GPS – II	Profundidade (metros)		pEh (mV)	O ₂ Dissolvido (mg/L)	Condu- tividade µS/cm	pH	Temp (°C)	
	1° Col.	2° Col.	1° Col.	2° Col.	1° Col.	2° Col.				
19,18	S 23°40'315" W 46°43'605"	S 23°40'320" W 46°43'615"	12,0	10,5	- 170	- 132	6,50	19,18	7,18	23,9
GU – 102	S 23°41'471" W 46°43'718"	S 23°41'480" W 46°43'735"	9,0	7,0	- 132	- 80,0	6,70	19,37	7,19	24,1
GU – 103	S 23°41'890" W 46°44'690"	S 23°41'880" W 46°44'670"	4,0	3,0	- 136	- 145	5,60	23,30	7,11	24,9
GU – 104	S 23°42'606" W 46°43'487"	S 23°42'651" W 46°43'474"	10,0	8,0	- 150	- 310	6,00	19,29	7,01	23,6
GU – 105	S 23°42'841" W 46°44'873"	S 23°42'822" W 46°44'874"	7,5	4,5	- 161	- 115	7,10	18,66	7,16	24,2

referente ao sedimento, verifica-se valores de potencial redox negativo em todos os pontos amostrados, significando que o ambiente encontra-se em anaerobiose, ou seja, um ambiente redutor. No caso dos parâmetros registrados para as amostras de água, não se observaram grandes alterações entre todos os pontos de coleta, com maior variação no ponto GU-103 para oxigênio dissolvido e condutividade.

No ponto GU-101 foi coletada, também, uma amostra de água de fundo, utilizando um coletor de profundidade (Garrafa de Van Dorn). Os parâmetros registrados foram: temperatura da água de 22,5 °C; valor de pH igual a 7,05; condutividade de 19,55 $\mu\text{S}/\text{cm}$ e oxigênio dissolvido 5,5 mg/L.

No caso específico das amostras de água, devido à manutenção do ICP-OES, além de problemas com o fotodetector à base de LED, não foi possível realizar as determinações de Cu(II), Fe(II) e Fe(III) nas amostras de água logo após a coleta. Apesar de o *Standard Methods for the Examination of Water and Wastewater*⁽³³⁾ indicar que, com os todos os procedimentos adotados descritos no item V.2.2, as amostras seriam estáveis para a determinação de metais durante o período de 6 meses, as mesmas apresentaram sinais de deterioração já no mês de junho, não sendo possível realizar as determinações com estas amostras de água.

Devido a problemas internos, a SABESP não nos autorizou fazer novas coletas de água. Com isso, não foi possível cumprir o propósito de avaliar e aplicar os métodos propostos em amostras de água do reservatório de Guarapiranga.

Considerando, então, apenas as amostras de sedimento do reservatório de Guarapiranga, prepararam-se por diluição em 50% de etanol (v/v) as amostras de sedimento previamente solubilizadas (item V.2.2), para se efetuar a determinação de

Cu(II) e ferro total utilizando-se os métodos espectrofotométricos em condições estacionárias e em fluxo, empregando multicomutação e amostragem binária. Para efeito de comparação, foram feitas determinações de Cu(II) e ferro total utilizando-se o método de referência de ICP-OES. Os resultados obtidos são apresentados na Tabela XX.

Observa-se na Tabela XX que as concentrações de Cu(II) obtidas utilizando o método espectrofotométrico, em condições estacionárias, foram maiores que as concentrações encontradas usando o método padrão de ICP-OES. Uma provável explicação talvez seja a presença de alumínio, no sedimento do Reservatório de Guarapiranga⁽¹²⁴⁾, em concentrações superiores às de ferro. Desta forma, os íons alumínio podem reagir com o DPKBH, absorvendo no mesmo comprimento de onda do complexo Cu(DPKBH)₂. A adição de concentrações maiores de fluoreto para mascarar os íons Al³⁺, provocou o turvamento das soluções de medida.

Outra dificuldade encontrada foi ajustar o valor de pH em 7,2 das soluções de medida, visto que as amostras solubilizadas com HNO₃ apresentavam valores de pH próximos de 0. Com isso, foi necessária a adição de NaOH para se elevar o valor de pH, já que a adição de elevadas concentrações do tampão succínico/succinato poderiam favorecer a complexação dos íons Fe(III) e Cu(II) pelos íons succinato.

Observa-se também na Tabela XX que as concentrações de íons Cu(II) obtidas utilizando o método espectrofotométrico em fluxo, empregando

TABELA XX – Determinação de cobre e ferro total em amostras de sedimento do Reservatório de Guarapiranga, pelos métodos espectrofotométrico, método em fluxo espectrofotométrico e método de referência de ICP-OES. Valores em µg/g.

PONTO DE COLETA	Método Espectrofotométrico		Método em Fluxo – Espectrofotométrico		Método - ICP-OES	
	Cu(II)*	Ferro Total*	Cu(II) *	Ferro Total*	Cu(II)	Ferro Total
1ª Coleta						
GU – 101	2667±17 (7)	55872±19 (-0,2)	2454±25 (-2)	55843±143 (-0,3)	2500±6	55991±647
GU – 102	662±5 (16)	58700±270 (-2)	567±12 (-1)	58780±127 (-1,4)	573±2	59612±388
GU – 103	554±5 (30)	67614±183 (-0,1)	438±7 (3)	67566±193 (-0,1)	427±2	67667±722
GU – 104	1665±29 (12)	74348±160 (-3)	1508±11 (2)	74388±162 (-3)	1480±5	76296±2752
GU – 105	460±20 (21)	59504±148 (-2)	426±9 (12)	59463±147 (-2)	381±3	60593±638
2ª Coleta						
GU – 101	1235±7 (19)	59344±52 (-1)	1065±30 (3)	59421±82 (-1)	1034±3	59784±306
GU – 102	1583±10 (8)	60829±728 (-1)	1463±27 (1)	60373±118 (-2)	1473±4	61621±188
GU – 103	278±2 (40)	64997±862 (-1)	202±5 (2)	66063±143 (1)	199±1	65738±516
GU – 104	503±7 (14)	65477±758 (-0,4)	437±3 (-1)	65331±130 (-1)	443±1	65752±621
GU – 105	488±9 (18)	57843±6 (-1)	512±15 (24)	57753±118 (-1)	414±0,1	58374±542

(*) erro percentual relativo ao valor obtido por ICP-OES.

multicomutação e amostragem binária, não apresentaram variações significativas, em comparação ao método padrão de ICP-OES, para níveis de confiança de 95% da média. Neste caso, adotou-se a técnica de adição de analíto para elevar a concentração de íons Cu(II) nas soluções de medida e, com isso, eliminar a interferência dos íons Al³⁺. Uma exceção foi a amostra GU-105 da segunda coleta.

No caso das determinações de ferro total nas amostras de sedimento, verifica-se na Tabela XX que os valores de concentração de ferro total apresentaram boa concordância entre si, considerando os três métodos utilizados, não se observando variações significativas para níveis de confiança de 95% da média.

Deve-se ressaltar que, para as determinações de ferro total usando os métodos espectrofotométricos em condições estacionárias e em fluxo, as medidas foram realizadas em 658 nm e 660 nm, respectivamente. Nestes valores de comprimento de onda, não se verifica a interferência de outros íons que poderiam estar presentes na amostra e complexar com o DPKBH.

Ainda com os valores da Tabela XX (método espectrofotométrico em fluxo), construíram-se os gráficos apresentados nas Figuras 75 e 76, para se efetuar uma comparação entre os valores de concentração de íons Cu(II) e ferro total, respectivamente, presentes em cada ponto amostrado, bem como as variações ocorridas para intervalo de tempo de outubro de 1998 a março de 2000.

Observa-se na Figura 75 uma variação significativa da concentração de cobre nos pontos GU-101, GU-102, GU-103 e GU-104, comparando-se os valores obtidos para as duas coletas. Nos pontos GU-101, GU-103 e GU-104 verificam-se diminuições de 56,6, 45,6 e 71%, respectivamente, nos valores de

concentração de cobre encontrados no sedimento da primeira coleta. Já no ponto GU-102 observa-se um aumento de 158% no valor de concentração de cobre presente no sedimento da segunda coleta em comparação à primeira. No caso do ponto GU-105 não se observa variação significativa.

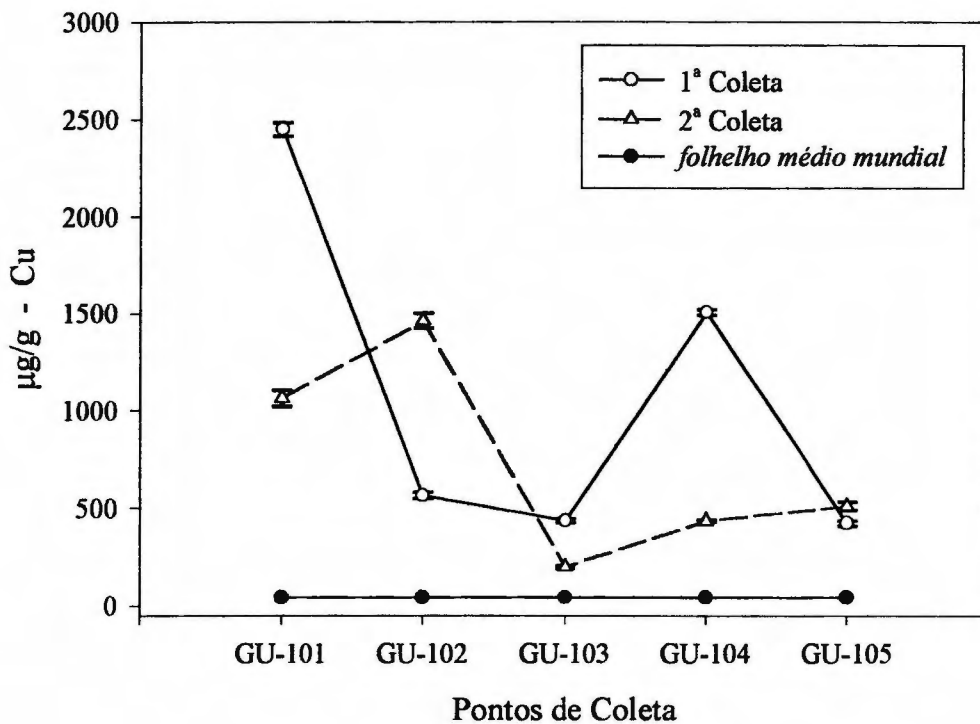


Figura 75 – Variação sazonal da concentração de cobre ($\mu\text{g/g}$) presente no sedimento do Reservatório de Guarapiranga, em cinco pontos amostrados, em comparação ao valor do *folhelho médio mundial*⁽²⁰⁷⁾. Primeira coleta em outubro de 1998 e segunda coleta em março de 2000.

Esta diminuição nos valores de concentração de cobre nos pontos GU-101, GU-103 e GU-104 se deve a uma política mais racional de aplicação de

algicidas adotada pela SABESP, a partir de 1996, como observado na Figura 3. Segundo informação pessoal de funcionários da SABESP, nos últimos dois anos, as aplicações de sulfato de cobre têm sido feitas em pontos mais distantes do ponto de captação de água (GU-101). Isto provavelmente explica o aumento verificado na concentração de cobre no ponto GU-102 na segunda coleta.

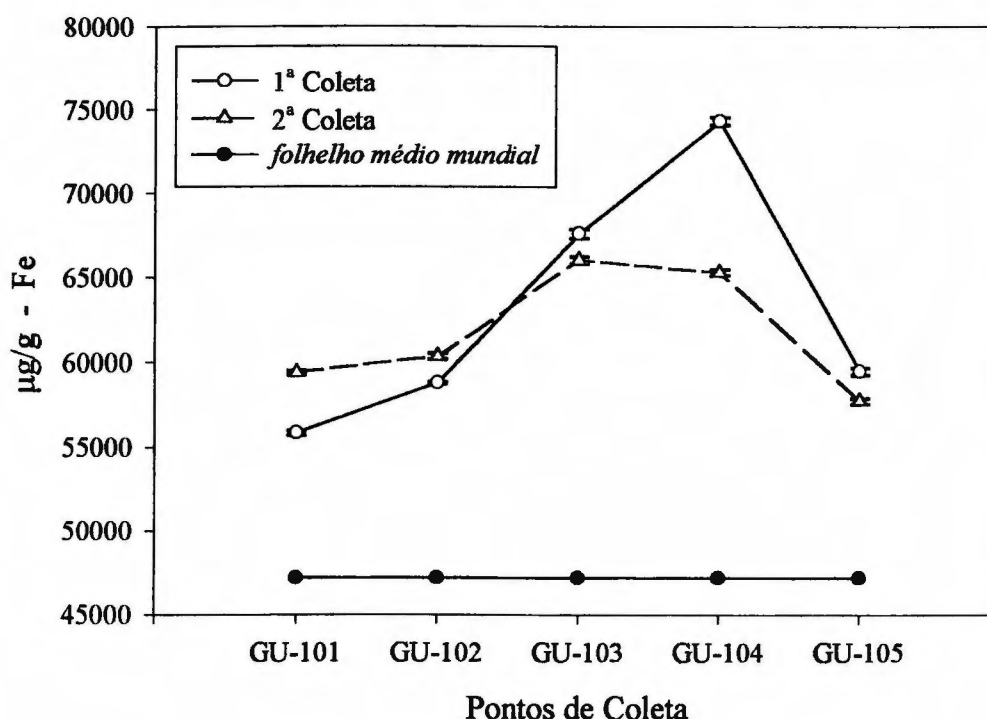


Figura 76 – Variação sazonal da concentração de ferro ($\mu\text{g/g}$) presente no sedimento do Reservatório de Guarapiranga, em cinco pontos amostrados, em comparação ao valor do *folhelho médio mundial*⁽²⁰⁷⁾. Primeira coleta em outubro/1998 e segunda coleta em março/2000.

Mesmo verificando essa diminuição no valor de concentração de cobre na maioria dos pontos coletados, todos estão muito acima do *folhelho médio mundial*⁽²⁰⁷⁾, o qual indica que sedimentos de lagos e represas devem apresentar uma concentração média de cobre de 45 µg/g.

Comparando-se os resultados obtidos para cobre com o valor do *folhelho médio mundial*, tem-se que a menor variação observada foi para o ponto GU-103 (2ª. coleta), no qual a concentração de cobre está aproximadamente 5 vezes acima do valor do *folhelho médio mundial*. Os demais valores apresentam-se ainda mais elevados, na faixa de 10, 24 e 33 vezes acima dos valores do *folhelho médio mundial*, ocorrendo, ainda, o caso do ponto GU-101 (1ª. coleta) onde foi encontrada uma concentração de cobre 54 vezes acima do valor recomendado. Isso demonstra claramente o preocupante grau de impactação ambiental observado para cobre no sedimento do Reservatório de Guarapiranga.

No caso das concentrações de ferro, verifica-se na Figura 76 que não há variação significativa entre todos os pontos amostrados, bem como entre as duas coletas efetuadas. A maior alteração observada foi no ponto GU-104, no qual ocorreu uma diminuição da concentração de ferro de 12% entre a primeira e a segunda coleta.

Comparando-se esses dados com o valor de 47200 µg/g do *folhelho médio mundial*⁽²⁰⁷⁾, verifica-se que todos os valores de concentração de ferro encontrados no sedimento do Reservatório de Guarapiranga estão ligeiramente acima do valor indicado. O ponto de coleta GU-104 foi o que apresentou concentração de ferro mais elevada em relação à indicada pelo *folhelho médio*

mundial, 57,6 %, e o ponto que apresentou concentração de ferro mais próxima ao valor recomendado foi o GU-101, 15,5%. Ambos os resultados foram obtidos na primeira coleta.

Deve-se ressaltar que o método de solubilização da amostra, EPA 3051, se refere a um processo de solubilização parcial, para a determinação dos metais potencialmente disponíveis, ou seja, aqueles metais que não pertencem à matriz de sílica original, e foram adicionados a esta por fontes antrópicas. Portanto, os valores aqui encontrados se referem a concentrações de ferro e cobre advindas de fontes externas do reservatório. No caso do ferro as prováveis fontes antrópicas são os efluentes industriais de empresas do tipo metal/mecânica lançados nos formadores do reservatório. Já as concentrações elevadas de cobre são provenientes da aplicação de sulfato de cobre como algicida no Reservatório de Guarapiranga, para impedir a proliferação excessiva de algas, principalmente nos períodos de estiagem.

A partir dos resultados obtidos, é possível concluir que o sedimento do Reservatório de Guarapiranga está severamente impactado em relação a cobre e ligeiramente impactado em relação a ferro.

Finalmente, através dos subsídios oferecidos pelos dados aqui apresentados, recomenda-se a necessidade de construção de estações de tratamento de esgoto, nas cidades que lançam seus efluentes domésticos e industriais nos rios e córregos que formam o reservatório. Além disso, deve haver por parte do poder público, uma fiscalização mais rígida que faça cumprir a Lei de Uso e Ocupação do Solo, a fim de evitar ocupações ilegais em regiões de mananciais. Caso isso não

ocorra, em breve toda a população da grande São Paulo irá sofrer com a falta de água potável, mesmo possuindo grandes reservatórios, que no entanto estarão poluídos.

VII – CONSIDERAÇÕES FINAIS

Inicialmente, os estudos realizados para a caracterização estrutural do complexo Cu/DPKBH mostraram que o DPKBH reage com os íons Cu(II) em sua forma enólica, na razão de 2:1 ligante/metálico, apresentando estrutura octaédrica, fórmula molecular $\text{Cu}(\text{C}_{18}\text{H}_{13}\text{N}_4\text{O})_2$ e massa molar igual a 666,21 g/mol.

Os métodos espectrofotométricos desenvolvidos em condições estacionárias e em fluxo, para determinação de íons Cu(II), apresentaram ótima sensibilidade e reprodutibilidade das curvas analíticas. Os resultados obtidos na determinação de íons Cu(II) em amostras de aguardente mostraram-se concordantes com os encontrados utilizando a técnica referência de espectrometria de absorção atômica com chama.

Já no desenvolvimento do método espectrofotométrico para determinação de íons Cu(II), Fe(II) e Fe(III), observou-se que a di-2-piridil cetona benzoilhidrazona forma complexos de diferentes estabilidades e absorvidades molares. Frente a diferentes agentes mascarantes foi possível determinar a concentração daqueles íons em soluções puras (desenvolvimento do método) e em amostras de sedimento do reservatório de Guarapiranga

A adaptação desses métodos desenvolvidos em condições estacionárias para injeção em fluxo, empregando multicomutação e amostragem binária, proporcionou diversas vantagens como por exemplo a determinação sequencial de íons Cu(II), Fe(II) e Fe(III), baixo consumo de reagentes e frequência de análise de 20 determinações por hora.

Para efeito de comparação, na Tabela XXI encontram-se as faixas de aplicação dos métodos desenvolvidos e de referência da literatura para os íons

Cu(II). Já na Tabela XXII são apresentadas as faixas relativas aos métodos desenvolvidos e de referência da literatura para íons ferro.

Tabela XXI - Faixas de aplicação para determinação de íons Cu(II) com DPKBH em condições estacionárias, em fluxo e em fluxo com multicomutação, e os métodos de referência da literatura⁽³³⁾.

DPKBH	DPKBH em Fluxo	DPKBH/Fluxo/ Multicomutação	E.A.A.	Neo- cuproina	Bato- cuproina
15,2 µg/L a	158 µg/L a	318 µg/L a	200 µg/L a	40,0 µg/L a	1,00 mg/L a
1,59 mg/L	3,81 mg/L	5,08 mg/L	10,0 mg/L	0,200 mg/L	10,0 mg/L

Tabela XXII- Faixas de aplicação para determinação de íons Fe(II) e Fe(III) com DPKBH em condições estacionárias e em fluxo com multicomutação, e os métodos de referência da literatura⁽³³⁾.

	DPKBH	DPKBH/Fluxo/ Multicomutação	E.A.A. (ferro total)	1,10-fenantrolina
Fe(II)	41,9 µg/L a	167 µg/L a	300 µg/L a	50,0 µg/L a
	1,45 mg/L	2,79 mg/L	10,0 mg/L	0,200 mg/L
Fe(III)	39,6 µg/L a	223 µg/L a	300 µg/L a	---
	4,19 mg/L	4,47 mg/L	10,0 mg/L	

Observa-se na Tabela XXI que o método espectrofotométrico para determinação de íons Cu(II), em condições estacionárias, é o que apresenta o menor limite de determinação. Já os métodos em fluxo possuem faixas de análise próximas à do método de referência de espectrometria de absorção atômica.

Na Tabela XXII verifica-se que os métodos espectrofotométricos para determinação de íons Fe(II) e Fe(III), em condições estacionárias, possuem limites de determinação menores que os métodos de referência, bem como faixas de análise mais amplas. No caso do método em fluxo, empregando multicomutação e amostragem binária, tem-se uma sensibilidade melhor que o método de espectrometria de absorção atômica.

Finalmente, deve-se ressaltar que a principal vantagem dos métodos aqui propostos é a possibilidade de se realizar a especiação dos íons ferro, podendo ser simultâneo para uma amostra que não contenha íons interferentes, em condições estacionárias ou seqüencial em fluxo, para amostras contendo outras espécies químicas como por exemplo os íons Cu(II).

VIII – PERSPECTIVAS FUTURAS

Em função da impossibilidade de se aplicar os métodos aqui propostos em amostras de águas do Reservatório Guarapiranga, pretende-se fazer contatos com outros órgãos como a CETESB, para se viabilizar a coleta de amostras, não só no Reservatório de Guarapiranga, como também na Represa Billings.

Considerando que as amostras de água apresentam baixas concentrações de íons Cu(II), Fe(III) e principalmente Fe(II), poderão ser feitos estudos com colunas de pré-concentração, com DPKBH adsorvido em C18 ou sílica ou, ainda, o uso de resinas de troca iônica. Assim será possível melhorar o limite de determinação do método em fluxo, podendo-se realizar determinações de Cu(II), Fe(II) e Fe(III) até em amostras de água do mar. Outra possibilidade, é a determinação de diversos íons metálicos por espectrometria de absorção atômica com chama (F.A.A.S), após uma etapa de pré-concentração em que o DPKBH seja utilizado.

Além das amostras de água e sedimento, os métodos propostos deverão ser aplicados em outros tipos de amostras, tais como sangue, medicamentos ou alimentos. Para tal, será necessário estudar quais os métodos de pré-tratamento das amostras mais adequados de forma a não alterar as características iniciais em relação às espécies que se deseja determinar.

Outra ramificação do presente trabalho poderá ser a determinação multielementar em uma mesma amostra, ou seja, o desenvolvimento de sistema capaz de determinar não somente Cu(II), Fe(II) ou Fe(III), mas outros elementos como Al^{3+} , Zn^{2+} , Ni^{2+} e Mn^{2+} , com o uso de agentes mascarantes adequados para cada caso.

IX - GLOSSÁRIO

β_{est} .	constante de estabilidade
ϵ	absortividade molar
δ	deformação angular
λ	comprimento de onda
ν	deformação axial
5-Br-PADAT	5-[(5-bromo-2-piridil)azo]-2,4-diaminotolueno
5-diBr-PADAT	5-[(3,5-dibromo-2-piridil)azo]-2,4-diaminotolueno
5-Cl-PADAB	4-[(5-cloro-2-piridil)azo]-1,3-diaminobenzeno
A	absorbância
A.As.	ácido ascórbico
C	concentração analítica
CDHU	Companhia de Desenvolvimento Habitacional e Urbano
CETESB	Companhia de Tecnologia de Saneamento Ambiental
CG/MS	cromatografia gasosa acoplada à espectrometria de massas
d.i.	diâmetro interno
DAEE	Departamento de Águas, Esgoto e Energia
DMF	dimetilfurano
DPKBH	di-2-piridil cetona benzoilhidrazona
DSC	calorimetria exploratória diferencial
DTG	termogravimetria diferencial
Eh	potencial redox
EPA	Environmental Protection Agency
ES/MS	espectrometria de massas com ionização por electrospray

ETA	estação de tratamento de água
F	forte
f	fraco
FAAS	espectrometria de absorção atômica com chama
FIA	análise por injeção em fluxo
GFAAS	espectrometria de absorção atômica com forno de grafite
ICP-OES	espectrometria de emissão óptica com plasma induzido
K	constante de ionização
LED	light emitting diode (diodo emissor de luz)
M	médio
RMSP	Região Metropolitana de São Paulo
SABESP	Companhia de Saneamento Básico de São Paulo
TG	termogravimetria
UV	ultravioleta
V	volts
v/v	volume por volume

X – REFERÊNCIAS

1. H. Sandstead, *Am. J. Clin Nutr*, **35**, 809-814 (1982)
2. S. O. Pehkonen, Y. Erel e M. R. Hoffmann, *Environ. Sci. Technol.*, **26(9)**, 1731 (1992)
3. R.R. Sayers - "Copper and Health", 3^o ed., Copper and Brass Assoc., New York (1951)
4. P. Boer - "O Cobre e sua Industrialização", Editora Lep S.A., São Paulo (1960) 12
5. J.M. Huheey - "Inorganic Chemistry - Principles of Structure and Reactivity", Harper & Row Publishers, New York (1975) 737
6. S.M. Prada - "Desenvolvimento de método para determinação de sulfato em água do mar e efluentes industriais", Dissertação de Mestrado apresentada no IQ-USP (1995)
7. K.E. Falk, H.C. Freeman, T. Jansson, B.G. Malmström e T. Vänngard - *J. Am. Chem. Soc.*, **89**, 6071 (1967)
8. F.C. Buchholtz - *Repertorium Pharm.*, **2**, 253 (1816)
9. W. Meissner - *Ann. Chim. Phys.*, **4**, 106 (1817)
10. A. Sarzeau - *J. Pharm. Sci. Accessoires*, **16**, 505 (1830)
11. L. Fredericq - *Arch. Zool. Exptl. Gen.*, **7**, 535-583 (1878)
12. A.H. Church - *Phil. Trans. Roy. Soc.*, **159**, 627-636 (1869)
13. M.B. Guerithault - *Compt. Rend. Acad. Sci.*, **171**, 196-198 (1920)
14. National Academy of Sciences. National Research Council Publ. N^o 598, 21 (1958)

15. E.J. Underwood - "Trace Elements in Human and Animal Nutrition", 2^oed., Academic Press, New York (1962) 48-99
16. R. Lobinski e Z. Marczenko - *Critical Reviews in Analytical Chemistry*, **23(1)**, 55 (1992)
17. S.L. Sachdev e P.W. West - *Anal. Chim. Acta*, **44**, 301-307 (1969)
18. S. Tokalioglu, S. Kartal e L. Elci - *Anal. Chim. Acta*, **413**, 33-40 (2000)
19. A. Ali, H. Shen, X. Gu, G.M. Xu, Y.X. Ye e X.F. Yin - *Lab. Rob. Autom.*, **12**, 97-103 (2000)
20. S.L.C. Ferreira, J.R. Ferreira, A.F. Dantas, V.A. Lemos, N.M.L. Araujo e A.C. Spinola-Costa - *Talanta*, **50**, 1253-1259 (2000)
21. O.E. Parra, R.A. Romero - *At. Spectrosc.*, **8**, 105-108 (1987)
22. M.M. Silva, M. Goreti, R. Vale e E.B. Caramão - *Talanta*, **50**, 1035-1043 (1999)
23. F. Freese, H.J. Jasper e G. Den Boef - *Talanta*, **17**, 945-953 (1970)
24. U. Hannema, S. Prakash e G. Den Boef - *Anal. Chim. Acta*, **49**, 557-566 (1970)
25. M. Mascini e A. Liberti - *Anal. Chim. Acta*, **53**, 202-206 (1971)
26. R. Stepak - *Anal. Chim. Acta*, **203**, 79-83 (1987)
27. A. Walcarius e J. Bessiere - *Electroanalysis*, **9**, 707-713 (1997)
28. B.W. Budesinsky - *Talanta*, **23**, 211-215 (1976)
29. G.V. Alexander - *Anal. Chem.*, **34**, 951-953 (1962)
30. D.G. Kaiser e W.W. Mainke - *Anal. Biochem.*, **6**, 77-81 (1963)
31. H.J. Bowen - *J. Appl. Radiation Isotopes*, **4**, 214-220 (1959)

32. Y.S. Fung e H.S. Tung – *J. Microcolumn Sep.*, **12**, 337-344 (2000)
33. A. D. Eaton, L. S. Clesceri e A. E. Greenberg, “Standard Methods for the Examination of Water and Wastewater”, 19th ed., American Public Health Association, Washington (1995) 3-63, 3-67
34. G.F. Smith e W.H. McCurdy, *Anal. Chem.*, **24**, 371 (1952)
35. A.R. Gahler - *Anal. Chem.*, **26**, 577 (1954)
36. G.F. Smith e D.H. Wilkins – *Anal. Chem.*, **25**, 510 (1953)
37. D. Blair e H. Diehl – *Talanta*, **7**, 163 (1961)
38. C.J. Gubler, M.E. Lahey, H. Ashenbrucker, G.E. Cartwright e M.M. Wintrobe - *J. Biol. Chem.*, **196**, 209-220 (1952)
39. R.E. Peterson e M.E. Bollier - *Anal. Chem.*, **27**, 1195-1197 (1955)
40. A. Eden e H.H. Green - *Biochem. J.*, **34**, 1202-1208 (1940)
41. W.D. McFarlane - *Biochem. J.*, **26**, 1022-1033 (1932)
42. LeR. G. Borchard e J.P. Butler - *Anal. Chem.*, **29**, 414-419 (1957)
43. E.B. Sandell - “Colorimetric Determination of Traces of Metals”, 3^oed., Wiley Interscience, New York (1959)
44. W.J. Maytum, N.P. Goldstein, W.F. McGuckin e C.A. Owen Jr. - *Proc. Staff Meetings Mayo Clinic*, **36**, 641-660 (1961)
45. A.J. Giorgio, G.E. Cartwright e M.M. Wintrobe - *Am. J. Clin. Pathol.*, **41**, 22-26 (1964)
46. H.A. Liebhafsky e E.H. Winslow - *J. Am. Chem. Soc.*, **59**, 1966-1971 (1937)
47. J. Hoste - *Anal. Chim. Acta*, **4**, 23-37 (1950)

48. F. Tang, S. Zhang, J. Chem e X. Wu - *Huaxue Shiji*, **5(4)**, 225-8, 246 (1983);
Chem. Abstracts - 168541v, **99** (1983)
49. J. Gao, Y. Huang e F. Hui - *Lanzhov Daxue Xuebao, Ziran Kexueban*, **20(3)**,
86-91 (1984); *Chem. Abstracts* - 55243m, **102** (1985)
50. K. Yang - *Yejin Fenxi*, **7(4)**, 28-30 (1987); *Chem. Abstracts* - 66062x, **109**
(1988)
51. H. Zhou e S. Jin - *Lanzhou Daxue Xuebao, Ziran Kexueban*, **27(3)**, 64-8
(1991); *Chem. Abstracts*, 15544j, **118** (1993)
52. X. When e J. Liu - *Yankuang Ceshi*, **12(4)**, 313-14 (1993); *Chem. Abstracts* -
288987u, **120** (1994)
53. M. Thakur e M.K. Deb – *Talanta*, **49**, 561-569 (1999)
54. V.K. Reddy, S.M. Reddy, P.R. Reddy e T.S. Reddy – *J. Anal. Chem.*, **55**, 435-
439 (2000)
55. S. Nohut, S. Karaboecek, S. Guener e Y. Goek – *J. Pharm. Biomed. Anal.*, **20**,
309-314 (1999)
56. N. Chimpalee, D. Chimpalee, S. Lohwithee, L. Nakwatchara e D.T. Burns –
Anal. Chim. Acta, **329**, 315-318 (1996)
57. A.P. Argekar e A.K. Shetty – *Anal. Sci.*, **12**, 255-258 (1996)
58. N. Chimpalee, D. Chimpalee, S. Srithawepoon, T. Patjarut, D. Thorburn-Burns
– *Anal. Chim. Acta*, **304**, 97-100 (1995)
59. A.T. Haj-Hussein – *Talanta*, **43**, 1909-1914 (1996)
60. N. Chimpalee, D. Chimpalee, S. Lohwithee, L. Nakwatchara e D.T. Burns –
Anal. Chim. Acta, **331**, 253-256 (1996)

61. C.C. Oliveira, R.P. Santini, B.F. Reis, E.A.G. Zagatto – *Anal. Chim. Acta*, **332**, 173-178 (1996)
62. T. Blanco, N. Maniasso, M. Fernanda-Gine e A.O. Jacintho – *Analyst*, **123**, 191-193 (1998)
63. E. Merian, “Metals and their Compounds in the Environmental”, VCH, New York (1990) 946-1126
64. J. P. Riley e R. Chester, “Introduction to Marine Chemistry”, Academic Press, New York (1971) 228
65. E. M Hulburt, I. Rodman, *Limnol. Oceanogr.*, **8**, 263 (1963)
66. J.H. Martin, R. M. Gordon e S.E. Fitzwater, *Limnol. Oceanogr.* **36(8)**, 1793 (1991)
67. J. H. Martin, S. E. Fitzwater, *Nature*, **331**, 341 (1988)
68. J. H. Martin, R. M. Gordon, S. E. Fitzwater e W.W. Broenkow, *Deep Sea Res. PartA – Ocean. Res. Pap.*, **36**, 99 (1989)
69. A. S. Gissen, *VRP's Newsletter*, Copper: The Malignant Mineral, 17/06/97, [<http://www.vrp.com/copp.htm>]
70. D.D. Ebbing, “Química Geral”, volume 2, Livros Técnicos e Científicos Editora S.A., Rio de Janeiro (1998) 418
71. Wisconsin DNR, Bureau Drinking Water and Grounwater, Iron in drinking water, 01/09/97, [<http://www.dnr.state.wi.us/eq/wq/dw/iron.htm>]
72. UCLA – Student Health Services, Iron Deficiency Anemia Handout, 01/09/97, [<http://www.saonet.ucla.edu/health/healthed/HANDOUTS/iron.htm>]

73. P. Atkins e L. Jones, "Chemical Principles – The Quest for Insight", W.H. Freeman and Co., New York (1998) 756
74. S. Oga e A. C. Basile, "Medicamentos e suas Interações", Atheneu, São Paulo (1994) 176-177
75. M. C. da C. Areias, "Estudos sobre a Formação de Complexos de Fe(II) e Fe(III) com di-2-piridil cetona saliciloilhidrazona (DPKSH) e sua Aplicação no Desenvolvimento de Métodos Analíticos", Tese de Doutorado, IQ-USP, São Paulo (1998) 14
76. N.H. Furnam, "Standard Methods of Chemical Analysis", 6^a ed., D. Van Nostrand Inc., USA (1975) 61
77. N.I. Ward, "Trace Elements In: F.W. Fifield, P.J. Haines (eds.), Environmental Analytical Chemistry", 5ed., Chapman & Hall, London (1995) 320-350
78. S. Krekler, W. Frenzel e G. Schulze – *Anal. Chim. Acta*, **296**, 115-117 (1994)
79. G.R. Cass e G.J. McRae – *Environ. Sci. Technol.*, **17**, 129-139 (1983)
80. J. Kochana, K. Madej e A. Parczewski – *Fresenius J. Anal. Chem.*, **343**, 54-57 (1992)
81. C.D. Kennedy – *Analyst*, **115**, 1067-1071 (1990)
82. L.E. Leon e D.T. Sawyer – *Anal. Chem.*, **53**, 706-709 (1981)
83. W. Qin, Z.J. Zhang e F.C. Wang – *Fresenius J. Anal. Chem.*, **360**, 130-132 (1998)
84. Yap Skorobogatyi, O.M. Zaverukha. P.Z. Zagniinaya, V.K. Zinchuk e A.V. Guzii – *J. Anal. Chem.*, **53**, 1108-1109 (1998)
85. E.W. Baumann – *Analyst*, **117**, 913-916 (1992)

86. S. Schaeffer, P. Gareil, C. Dezael e D. Richard – *J. Chromatogr.,-A*, **740**, 151-157 (1996)
87. S. Pozdniakova, A. Padarauskas e G. Schwedt – *Anal. Chim. Acta*, **351**, 41-48 (1997)
88. J.F. Andrade, “Estudos Espectrofotométricos e Aproveitamento Analítico das Reações do Íon Azoteto com Cobre(II) e Ferro(III). Formação de Complexos e Equilíbrios”, Tese de Doutorado, IQ-USP, São Paulo (1981)
89. S. O. Pehkonen, *Analyst*, **120**, 2655 (1995)
90. T. C. J. Ovenston e C. A. Parker, *Anal. Chim. Acta*, **3**, 277 (1949)
91. J. A. Corbett, *Analyst*, **75**, 475 (1950)
92. H. S. Frank e R. L. Oswalt, *J. Am. Chem. Soc.*, **69**, 1321 (1947)
93. M.L. Moss e M. G. Mellon, *Ind. Eng. Chem.*, **14**, 862 (1942)
94. W. Fresenius, K. E. Quentin, W. Schneider, “A Practical Guide to Physico-Chemical, Chemical and Microbiological Water Examination and Quality Assurance”, Berlim (1987) 305
95. D.H. Caldwell e R.B. Adams – *J. Amer. Water Works Assoc.*, **38**, 727 (1946)
96. H. E. Jr. Harvey, *Anal. Chem.*, **27(1)**, 26 (1955)
97. California Institute of Technology, *Environmental Engineering Science*, **143(5)**, 1 (1993)
98. J.P. Mehling – *Ind. Eng. Chem.*, **9(4)**, 162 (1937)
99. L. Lorber – *Biochem. Z.*, **181**, 391 (1927)
100. H.W. Swank e M.G. Mellon, *Ind. Eng. Chem.*, **10(1)**, 7 (1938)
101. E. Danilczuk, P. Kita e Z. Orylski, *Chem. Anal.*, **29(3)**, 355 (1984)

102. X. X. Gu e T. Z. Zhou, *Anal. Lett.*, **29(3)**, 463 (1996)
103. J. Flock e K. H. Koch, *Fresenius, J. Chem.*, **346(6-9)**, 667 (1993)
104. T. Takaoka, T. Taya e M. Otomo, *Talanta*, **39(1)**, 77 (1992)
105. S. Blain e P. Treguer, *Anal. Chim. Acta*, **308(1-3)**, 425 (1995)
106. B. Dziechciarzyk e S. Bistrón, *Chem. Anal.*, **36(3)**, 571 (1991)
107. N. A. Zatar, A. Z. Abu-Zuhri, M. A. Al-Nuri, F. M. Maahmoud, A. A. Abu-Obaid, *Spectroscopy Letters*, **22(9)**, 1203 (1989)
108. M. Garcia-Vargas, M. Belizón, M. P. Hernández-Artiga, C. Martinez e J. A. Pérez-Bustamante, *Appl. Spectrosc.*, **40(7)**, 1058 (1986)
109. T. Nakanishi e M. Otomo – *Microchem. J.*, **33**, 172-178 (1986)
110. M.E.V. Suárez-Iha, S.O. Pehkonen e M.R. Hoffmann – *Environ. Sci. Technol.*, **28**, 2080-2086 (1994)
111. T. Yamane e E. Goto, *Anal. Sci.*, **5(6)**, 783 (1989)
112. T. P. Lynch, N. J. Kernoghan e J. N. Wilson, *Analyst*, **109(7)**, 843 (1984)
113. A.T. Faizullah e A. Townshend – *Anal. Chim. Acta*, **167**, 225-231 (1985)
114. R.M. Liu, D.J. Liu e A.L. Sun – *Analyst*, **117**, 1767-1770 (1992)
115. M. Novic, J. Zupan, N. Zafran e B. Pihlar – *Anal. Chim. Acta*, **348**, 101-111 (1997)
116. S. Blain e P. Treguer – *Anal. Chim. Acta*, **308**, 425-432 (1995)
117. A.C. Lopes da Conceição, M.T. Tena, M.M. Correia dos Santos, M.L. Simões Gonçalves e M.D. Luque de Castro – *Anal. Chim. Acta*, **343**, 191-197 (1997)

118. SABESP – Companhia de Saneamento Básico de São Paulo, “Relatório da qualidade da água dos mananciais da RMSB”, APQ (Relatório Interno) (1997)
119. CETESB – “Relatório de Qualidade de Água para Consumo Humano no Estado de São Paulo - 1990”, CETESB, São Paulo, Relatório técnico (1991)
120. CETESB – “Relatório de Qualidade das Águas Interiores do Estado de São Paulo – 1996”, CETESB, São Paulo, Série Relatórios (1998) 80
121. SABESP - Companhia de Saneamento Básico de São Paulo, “Relatório hidrometeorológico”, APHH, janeiro (Relatório Interno) (1998)
122. CETESB – “Legislação básica. Poluição Ambiental Estadual e Federal”, CETESB, São Paulo (1982)
123. CONAMA, Resolução CONAMA nº20, 18 de junho de 1986: Publicada no D.O.U. de 30/07/86. *In*: Resolução CONAMA 1984-1986, Brasília, SEMA, p. 72-89 (1986)
124. E. Patella, “Caracterização Biogeoquímica dos Estoques de Metais Pesados Contaminantes e Nutrientes de Testemunhos de Sedimentos e Particulados do Guarapiranga”, Dissertação de Mestrado, Escola de Engenharia de São Carlos – USP (1998) 8-13
125. Consórcio CNEC e JNS – “Diagnóstico Ambiental PI.6 – PDPA – Plano de Desenvolvimento de Proteção Ambiental da Bacia do Guarapiranga – Programa de Saneamento Ambiental da Bacia do Guarapiranga”, Secretaria de Recursos Hídricos, Saneamento e Obras do Estado de São Paulo, vol. II, Rev. I:102 – 145 (1997)

126. H. Kleerekoper, "Estudo Limnológico da Represa de Santo Amaro em São Paulo", In: Ver. Botânica – Faculdade de Filosofia e Ciência da USP, vol. 17(2), 11-151 (1939)
127. P.A. Zagatto, M.A. Aragão, M. do C. Carvalho e R. C. R. de Souza, "Manual de Orientação em Casos de Florações de Algas Tóxicas: Um problema Ambiental e de Saúde Pública", CETESB, Série Manuais – 14, São Paulo (1997) 9
128. J. F. Elder e A. J. Horne, *Environmental Management*, 2(1), 17-30 (1978)
129. P. R. Hawkins e D. J. Griffiths, *Water Res.*, 21(4), 475-480 (1987)
130. W. W. Carmichael, "The Toxins of Cyanobacteria", *Scientific American*, janeiro, 78-86 (1994)
131. P. A. Zagatto e M. A. Aragão, "Avaliação Ecotoxicológica do Reservatório do Guarapiranga, SP, com ênfase ao Problema de Algas Tóxicas e Algicidas", CETESB, São Paulo (1995) 6
132. D. W. Connell e G. J. Miller, "Chemistry and Ecotoxicology of Pollution", Wiley-Interscience Series of Texts and Monographs., R.L. Metcalf e W. Stumm (eds.), John Willey & Sons Inc., New York (1984)
133. R. W. Winner, *Water Res.*, 19(4), 449-455 (1985).
134. D. N. Riemer e S. J. Toth, *J. Amer. Water Works Assn.*, 62, 195-197 (1970)
135. SEMA – Secretaria Especial do Meio Ambiente, "Seminário Sobre Poluição por Metais Pesados", 1, Brasília, nov. 1979 (1980)
136. G.H. Jeffery, J. Bassett, J. Mendham e R.C. Denney, "VOGEL – Análise Química Quantitativa", 5ªed., Guanabara Koogan, Rio de Janeiro, (1992) 418

137. J. Lichtig, M. Rocha, R.G.Z. Táboas e S. Röpke, *Quím. Nova*, **21(5)**, 659 (1998)
138. D.D. Perrin e B. Dempsey, "Buffers for pH an Metal Ion Control", Chapman na Hall, London (1974)
139. M. C. B. Moraes, C. L. do Lago, Resumos da 21^a Reunião Anual da Sociedade Brasileira de Química, Poços de Caldas – Mg (1998) QA – 044
140. R. N. Fernandes, "Desenvolvimento de Método Analítico Baseado na Técnica de Retenção da Zona de Amostra Empregando Multicomutação e Amostragem Binária", Tese de Doutorado, CENA-USP, Piracicaba (1999) 11
141. R.M. Silverstein, G.C. Bassler, T.C. Morrill, "Spectrometric Identification of Organic Compounds", 5a. ed., John Wiley & Sons Inc., New York (1991).
142. L.J. Bellamy, "Infrared Spectroscopy", John Wiley & Sons Inc., New York (1972) 257
143. D.A. Skoog, F.J. Holler e T.A. Nieman, "Principles of Instrumental Analysis", 5a. ed., Saunders College Publishing, Philadelphia (1998) 798
144. J. T. Watson, Introduction to Mass Spectroscopy, 3a. ed., Lippincott-Raven, New York (1997).
145. C.E.C.A. Hop e R. Bakhtiar, *J. Chem. Educ.*, **73**, A162 (1996)
146. R.B. Cole, "Electrospray Ionization Mass Spectrometry – Fundamental Instrumentation and Applications", John Wiley and Sons, New York (1997)
147. A.R.S. Ross, M.G. Ikonomou, J.A. Jeffrey Thompson, K.J. Orians, *Anal. Chem.*, **70**, 2225-2235 (1998)
148. G. F. Kirkbright, *Talanta*, **13**, 1 (1996)

149. J. C. Miller e J. N. Miller, "Estadística para Química Analítica", 2ª ed., Addison-Wesley, Delaware (1993) 33
150. D.R. Lide (ed.), "CRC Handbook of Chemistry and Physics", CRC Press Inc., 73rd, Flórida (1992) 8-49
151. S. Kotrlý e L. Sucha, "Handbook of Chemical Equilibria in Analytical Chemistry", Ellis Horwood Limited, Chichester (1985) 155
152. R. F. Nascimento, D. R. Cardoso, J. B. Farias, B. S. Lima e D. W. Franco, "Livro de Resumos do IX ENQA", Campus USP – São Carlos (1997) 64
153. Ministério da Agricultura, Complementação de Padrões de Identidade e Qualidade para Destilados Alcoólicos, Brasília, Portaria nº 371, Doc. De 18/09/74
154. H. Bergamin Fº, E. A. G. Zagatto, F.J. Krug e B. F. Reis, *Anal. Chim. Acta*, **101**, 17-23 (1978)
155. H. Bergamin Fº, B. F. Reis e E. A. G. Zagatto, *Anal. Chim. Acta*, **97**, 427-431 (1978)
156. F. R. P. Rocha e J. A. Nóbrega – *Quím. Nova*, **19(6)**, 636-640 (1996)
157. C. J. Patton e S. R. Crouch - *Anal. Chim. Acta*, **179**, 189 (1986)
158. J. F. Tyson e A. B. Marsden - *Anal. Chim. Acta*, **214**, 447 (1988)
159. A. O. Jacintho, I. A. Rufini e R. F. Antonio – *Quím. Nova*, **12**, 5 (1989)
160. C. Silfwerbrand-Lindh, L. Nord, L. C. Danielsson e F. Ingman - *Anal. Chim. Acta*, **160**, 11 (1984)
161. G. Ham - *Anal. Proc.*, **18**, 69 (1981)

162. T. Yamane e M. Saito - *Talanta*, **39**, 215 (1992)
163. D. A. Skoog, D.M. West, F. J. Holler, "Fundamentals of Analytical Chemistry", 7^a ed., Saunders College Publishing, Philadelphia (1996) 536
164. D. Betteridge e J. Ruzicka - *Talanta*, **23**, 409, (1976)
165. G. D. Clark, J. M. Hungerford e G. D. Christian - *Anal. Chem.*, **61**, 973 (1989)
166. T. L. Spinks, G. E. Pacey e I. Fábian - *Anal. Chim. Acta*, **254**, 209 (1991)
167. E. A. G. Zagatto, B. F. Reis, M. Martinelli, F. J. Krug, H. Bergamin F^o. e M. F. Giné - *Anal. Chim. Acta*, **198**, 153 (1987)
168. J. H. M. Van Den Berg, R. S. Deelder e H. G. M. Egberink - *Anal. Chim. Acta*, **114**, 91 (1980)
169. J. M. Reijn, W. E. Van der Linden e H. Poppe - *Anal. Chim. Acta*, **123**, 229 (1981)
170. B. Kalberg e G. E. Pacey, "Flow Injection Analysis. A Pratical Guide", Elsevier, Amsterdam (1989)
171. R. Tijssen - *Anal. Chim. Acta*, **114**, 71 (1980)
172. J. Ruzicka e E. H. Hansen, "Flow Injection Analysis", John Wiley & Sons, New York (1988) 23
173. J. Ruzicka, E. H. Hansen e H. Mosbaek - *Anal. Chim. Acta*, **92**, 235 (1977)
174. J. Ruzicka, E. H. Hansen - *Anal. Chim. Acta*, **99**, 37 (1978)
175. J. N. Cape, D. H. Cook e D. R. Williams - *J. Chem. Soc. Dalton*, 1849 (1974)
176. S. Ramamoorthy e P. G. Mannig - *J. Inorg. Nucl. Chem.*, **35**, 1571 (1973)
177. F. Feigl - *Ind. Eng. Chem.*, **8**, 401 (1936)

178. D.D. Perrin, "Masking and Demasking of Chemical Reactions", *Chemical Analysis – Monographs*, volume 33, Wiley Interscience, New York (1970) 1
179. D.F. Shriver, P.W. Atkins e C.H. Langford, "Inorganic Chemistry", 2^a ed., Oxford University Press, Oxford (1998) 295
180. L.G. Sillén, "Stability Constants of Metal-Ion Complexes", 25^a ed., Chemical Society, London (1971) 156
181. L.H.S.A. Terra, "Desenvolvimento de Métodos Espectrofotométricos para Determinação de Níquel (II) na Ausência e Presença de Ferro (II/III)", Tese de Doutorado, IQ-USP, São Paulo (1997)
182. J. Ruzicka e E. H. Hansen, *Anal. Chim. Acta*, **78**, 145-157 (1975)
183. R. N. Fernandes, "Desenvolvimento de Método Analítico Baseado na Técnica de Retenção da Zona de Amostra Empregando Multicomutação e Amostragem Binária", Tese de Doutorado, CENA-USP, Piracicaba (1999) 11
184. B. F. Reis e H. Bergamin Filho, *Quím. Nova*, **16**(6), 570-573 (1993)
185. C. L. Farias e C. Pasquini, *Quím. Nova*, **14**, 216 (1992)
186. B. F. Reis, M. F. Giné e E. A. G. Zagatto, *Anal. Chim. Acta*, **293**, 129-135 (1994)
187. J.W.B. Stewart e J. Ruzicka, *Anal. Chim. Acta*, **82**, 137-144 (1976)
188. P.C. Hauser, T.W.T. Rupasinghe e C.C. McClure, *Analyst*, **120**, 2635-2640 (1995)
189. P.K. Dasgupta, H.S. Bellamy, H.L. Lopez, E.L. Loree, K. Morris, K. Petersen e K.A. Mir, *Talanta*, **40**, 53-74 (1993)
190. H. Flaschka, C. McKeithan e R.M. Barnes, *Anal. Lett.*, **6**, 585 (1973)

191. D. Betteridge, E.L. Dagless, B. Fields e N.F. Graves, *Analyst*, **103**, 897-908 (1978)
192. P.C. Hauser e D.W.L. Chiang, *Talanta*, **40**, 1193-1200 (1993)
193. M. Trojanowicz, W. Augustyniak e A. Hulanicki, *Mikrochim. Acta*, **II**, 17 (1984)
194. G.J. Schmidt e R.P.W. Scott, *Analyst*, **109**, 997 (1984)
195. J.R. Clinch, P.J. Worsfold e H. Casey, *Anal. Chim. Acta*, **200**, 523 (1987)
196. M. Trojanowicz e J. Szpunar-Lobinska, *Anal. Chim. Acta*, **230**, 125 (1990)
197. J. Huang, H. Liu, A. Tan, J. Xu e X. Zhao, *Talanta*, **39**, 589 (1992)
198. M. Trojanowicz, J. Szpunar-Lobinska e Z. Michalski, *Mikrochim. Acta*, **I**, 159 (1991)
199. D.J. Hooley e R.E. Dessy, *Anal. Chem.*, **55**, 313 (1983)
200. C. Pasquini, *Anal. Chem.*, **58**, 2346-2348 (1986)
201. J.R. Clinch, P.J. Worsfold e H. Casey, *Anal. Chim. Acta*, **197**, 43 (1987)
202. K.S. Johnson, C.L. Beehler e C.M. Sakamoto-Arnold, *Anal. Chim. Acta*, **179**, 245 (1986)
203. P.C. Hauser, S.S. Tan, T.J. Cardwell, R.W. Cattrall e I.C. Hamilton, *Analyst*, **113**, 151 (1988)
204. B.F. Reis, M.F. Giné, E.A.G. Zagatto, J.L.F.C. Lima e R.A. Lapa, *Anal. Chim. Acta*, **293**, 129-138 (1994)
205. P.B. Martelli, B.F. Reis, E.A.M. Kronka, H. Bergamin F°, M. Korn, E.A.G. Zagatto, J.L.F.C. Lima e A.N. Araujo, *Anal. Chim. Acta*, **308**, 397-405 (1995)

206. M.F. Giné, B.F. Reis, E.A.G. Zagatto, F.J. Krug e A.O. Jacintho, *Anal. Chim.*

Acta, **155**, 131 (1983)

207. K.K. Turekian e K.H. Wedepohl – *Ged. Soc. Am. Bull.*, **72**, 175-192 (1961)

APÊNDICE

Programa escrito na linguagem QuickBasic 4.5 para efetuar o controle e aquisição de dados do sistema de análise em fluxo, empregando multicomutação e amostragem binária, para determinação seqüencial de íons Fe(II), Cu(II) e Fe(III)/FeTotal.

```

DECLARE SUB DeterminaCobre ( )
DECLARE SUB DeterminaFerroTotal ( )
DECLARE SUB LeConversor ( )
DECLARE SUB EntradaVariaveis ( )
DECLARE SUB LerArquivo ( )
DECLARE SUB Ferro ( )
DECLARE SUB Cobre ( )
DECLARE SUB DeterminaFerro2 ( )
DECLARE SUB LinhaBase ( )

```

```

DIM SHARED Replicata, TempoLeitura, LeituraMedia, NumeroCiclos3, nkl
DIM SHARED LeituraMediafe, LeituraMediafe1
DIM SHARED TempoAmostra, TempoReagente, NumeroCiclos1, NumeroCiclos2, inicio
DIM SHARED v1, v2, v3, v4, v5, v6, V7, V8, nome$, nome2$, ajust$, desj$
DIM SHARED port%, padroes$, Controle$
DIM SHARED portasaida1, portasaida2, portaentrada1, portaentrada2
DIM SHARED AnalogLSB, AnalogMSB, multiplex, trig, ganhoanalog
DIM SHARED Dado(0 TO 10000), Leituracu(0 TO 10000), Leiturafe(0 TO 10000), Arquivo$, jj,
hj, ff, fc
DIM SHARED Tempofe(0 TO 10000), Tempocu(0 TO 10000), TempoMascarante1,
TempoMascarante2, TempoTampao

```

SCREEN 12

```

v1 = &H1: v2 = &H2: v3 = &H4: v4 = &H8
v5 = &H10: v6 = &H20: V7 = &H40: V8 = &H80
' DEFINIÇÃO DOS ENDEREÇOS DA PCL-711 O DOS BITES PARA ACIONAR AS
VÁLVULAS

```

```

port% = &H220 'Endereço inicial da placa PCL-711
portasaida1 = port% + 13
portasaida2 = port% + 14
portaentrada1 = port% + 6
portaentrada2 = port% + 7
AnalogLSB = port% + 4
AnalogMSB = port% + 5
multiplex = port% + 10 'SCAN CHANNEL
trig = port% + 12 'Software A/D trigger
ganhoanalog = port% + 9

```

CLS

LINE (2, 2)-(630, 460), 1, B


```

LINE (4, 4)-(628, 458), 3, B
PAINT (10, 20), 8, 3
OUT portasaida1, 0

```

EntradaVariáveis

```

CLS
LINE (2, 2)-(630, 460), 1, B
LINE (4, 4)-(628, 458), 3, B
PAINT (10, 20), 8, 3

```

LerArquivo

```

CLS
LINE (2, 2)-(630, 460), 1, B
LINE (4, 4)-(628, 458), 3, B
PAINT (10, 20), 8, 3

```

```

SOUND 600, 4
SOUND 700, 4

```

```

LOCATE 2, 6
INPUT " Deseja gerar arquivo: S/N "; Arquivo$
IF UCASE$(Arquivo$) = "S" THEN

```

```

LOCATE 4, 6
INPUT "Nome do arquivo para ferro"; nome2$
LOCATE 6, 6
INPUT "Nome do arquivo para cobre"; nome$
END IF

```

```

BEEP
SLEEP 1

```

```

LOCATE 2, 6
INPUT "Deseja ajustar linha base dos fotometros: S/N"; ajust$
IF UCASE$(ajust$) = "S" THEN LinhaBase

```

```

CLS
LINE (2, 2)-(630, 460), 1, B
LINE (4, 4)-(628, 458), 3, B
PAINT (10, 20), 8, 3

```

```

LOCATE 10, 6
PRINT "Pressione uma tecla quando estiver pronta para comecar"
DO WHILE INKEY$ = ""
LOOP

```

```

CLS
LINE (2, 2)-(630, 460), 1, B
LINE (4, 4)-(628, 458), 3, B
PAINT (10, 20), 8, 3

```

```

hj = 0

```

```

jj = 0
ff = 0
fc = 0
tinicio = TIMER
repete:

DeterminaFerro2
DeterminaCobre
DeterminaFerroTotal

LOCATE 28, 4
INPUT " Deseja continuar: S/N "; desj$
IF UCASE$(desj$) = "S" THEN

LOCATE 28, 4
PRINT "Troque a amostra e pressione uma tecla "
OUT portasaida1, v1
DO WHILE INKEY$ = ""
LOOP
SLEEP 10

LOCATE 28, 4
PRINT "Lavando com a nova amostra          "
OUT portasaida1, 0
DO WHILE INKEY$ = ""
LOOP
SLEEP 10

LOCATE 28, 4
PRINT " Pressione uma tecla para lavar o outro canal "
OUT portasaida1, v2
DO WHILE INKEY$ = ""
LOOP
SLEEP 10

LOCATE 28, 4
PRINT "Lavando canal do ferro total          "
DO WHILE INKEY$ = ""
LOOP

LOCATE 28, 4
PRINT "Pressione uma tecla para reiniciar      "
OUT portasaida1, 0
DO WHILE INKEY$ = ""
LOOP
END IF
IF UCASE$(desj$) = "S" THEN GOTO repete
END

SUB Cobre

OUT ganhoanalog, 3 ' Programa o ganho

```

OUT multiplex, 0 ' Selecciona o canal 0 para o fotometro do cobre

LeConversor

Leituracu(hj) = .003356 * LeituraMedia

IF hj >= 4 THEN

movel = Leituracu(hj) + 2 *Leituracu(hj -1) + 3 *Leituracu(hj -2) + 2 *Leituracu(hj -3) +
Leituracu(hj - 4)

movel = INT(1000 * movel / 9)

movel = movel / 1000

Leituracu(jj) = movel

Tempocu(jj) = TIMER - inicio

IF UCASE\$(Arquivo\$) = "S" THEN

CLOSE #1

dir\$ = "c:\FIA"

CHDIR dir\$

OPEN nome\$ + ".dat" FOR APPEND AS #1 'Abre o arquivo p/entrada

PRINT #1, Tempocu(jj);

PRINT #1, Leituracu(jj);

PRINT #1,

CLOSE #1

END IF

END IF

IF jj >= 1 THEN

LOCATE 15, 60

PRINT "Leitura ="; Leituracu(jj)

x1 = 4 + Tempocu(jj) * .15

x0 = 4 + Tempocu(jj - 1) * .15

y1 = Leituracu(jj) * 90

y0 = Leituracu(jj - 1) * 90

LINE (x0, 420 - y0)-(x1, 420 - y1), 14

END IF

IF hj >= 4 THEN jj = jj + 1

hj = hj + 1

END SUB

SUB DeterminaCobre

contador = 0

DO UNTIL contador = Replicata

LOCATE 15, 4

PRINT "Replicatas a serem executadas = "; Replicata - contador

FOR zw = 1 TO NumeroCiclos1

```

tx = TIMER
OUT portasaida1, v1 + v3
WHILE (TIMER - tx) < TempoMascarante1
Cobre
Ferro
WEND

```

```

tx = TIMER
OUT portasaida1, 0
WHILE (TIMER - tx) < TempoAmostra
Cobre
Ferro
WEND
NEXT
SLEEP 1.5

```

```

FOR yw = 1 TO NumeroCiclos3

```

```

tx = TIMER
OUT portasaida1, v6 + v1
WHILE (TIMER - tx) < TempoReagente
Cobre
Ferro
WEND

```

```

tx = TIMER
OUT portasaida1, v5 + v1
WHILE (TIMER - tx) < TempoTampao
Cobre
Ferro
WEND

```

```

tx = TIMER
OUT portasaida1, 0
WHILE (TIMER - tx) < TempoAmostra
Cobre
Ferro
WEND
NEXT

```

```

tx = TIMER
OUT portasaida1, 0
WHILE (TIMER - tx) < TempoLeitura
Cobre
Ferro
WEND
contador = contador + 1
LOOP

```

```

END SUB

```

```

SUB DeterminaFerro2

```

```

contador = 0

```

```
DO UNTIL contador = Replicata
LOCATE 15, 4
PRINT " Replicatas a serem executadas = "; Replicata - contador
```

```
FOR yw = 1 TO NumeroCiclos3
```

```
tx = TIMER
OUT portasaida1, v6 + v1
WHILE (TIMER - tx) < TempoReagente
Cobre
Ferro
WEND
```

```
tx = TIMER
OUT portasaida1, v5 + v1
WHILE (TIMER - tx) < TempoTampao
Cobre
Ferro
WEND
```

```
tx = TIMER
OUT portasaida1, 0
WHILE (TIMER - tx) < TempoAmostra
Cobre
Ferro
WEND
NEXT
```

```
tx = TIMER
OUT portasaida1, 0
WHILE (TIMER - tx) < TempoLeitura
Cobre
Ferro
WEND
contador = contador + 1
LOOP
```

```
END SUB
```

```
SUB DeterminaFerroTotal
```

```
contador = 0
DO UNTIL contador = Replicata
LOCATE 2, 4
PRINT " Replicatas a serem executadas = "; Replicata - contador
```

```
FOR yt = 1 TO NumeroCiclos2
```

```
tx = TIMER
OUT portasaida1, v1 + v2 + v4
WHILE (TIMER - tx) < TempoMascarante2
Cobre
Ferro
WEND
```

```
tx = TIMER
```

```

OUT portasaida1, v2
WHILE (TIMER - tx) < TempoAmostra
Cobre
Ferro
WEND
NEXT
SLEEP 1

FOR yw = 1 TO NumeroCiclos3

tx = TIMER
OUT portasaida1, v1 + v2 + v6
WHILE (TIMER - tx) < TempoReagente
Cobre
Ferro
WEND

tx = TIMER
OUT portasaida1, v1 + v2 + v5
WHILE (TIMER - tx) < TempoTampao
Cobre
Ferro
WEND

tx = TIMER
OUT portasaida1, v2
WHILE (TIMER - tx) < TempoAmostra
Cobre
Ferro
WEND
NEXT

tx = TIMER
OUT portasaida1, v2
WHILE (TIMER - tx) < TempoLeitura
Cobre
Ferro
WEND
contador = contador + 1
LOOP

END SUB

SUB EntradaVariaveis

Inicio:
CLOSE #1
OPEN "Controle.dat" FOR OUTPUT AS #1

LOCATE 5, 4
INPUT " Tempo do Mascaraente1 = "; TempoM1
IF TempoM1 = 0 THEN
TempoMascaraente1 = TempoMascaraente1
ELSE
TempoMascaraente1 = TempoM1

```

```
END IF
WRITE #1, TempoMascarante1

LOCATE 7, 4
INPUT " Tempo do Mascarante2 = "; TempoM2
IF TempoM2 = 0 THEN
TempoMascarante2 = TempoMascarante2
ELSE
TempoMascarante2 = TempoM2
END IF
WRITE #1, TempoMascarante2

LOCATE 9, 4
INPUT " Tempo da amostra = "; TempoA
IF TempoA = 0 THEN
TempoAmostra = TempoAmostra
ELSE
TempoAmostra = TempoA
END IF
WRITE #1, TempoAmostra

LOCATE 11, 4
INPUT " Numero de Ciclos do Mascarante1 = "; NumCiclos1
IF NumCiclos1 = 0 THEN
NumeroCiclos1 = NumeroCiclos1
ELSE
NumeroCiclos1 = NumCiclos1
END IF
WRITE #1, NumeroCiclos1
LOCATE 13, 4
INPUT " Numero de Ciclos do Mascarante2 = "; NumCiclos2
IF NumCiclos2 = 0 THEN
NumeroCiclos2 = NumeroCiclos2
ELSE
NumeroCiclos2 = NumCiclos2
END IF
WRITE #1, NumeroCiclos2

LOCATE 15, 4
INPUT " Tempo do reagente = "; TempoR
IF TempoR = 0 THEN
TempoReagente = TempoReagente
ELSE
TempoReagente = TempoR
END IF
WRITE #1, TempoReagente

LOCATE 17, 4
INPUT " Tempo de leitura = "; TempoL
IF TempoL = 0 THEN
TempoLeitura = TempoLeitura
ELSE
TempoLeitura = TempoL
END IF
WRITE #1, TempoLeitura
```

```

LOCATE 19, 4
INPUT " Numero de replicata = "; Replc
IF Replc = 0 THEN
Replicata = Replicata
ELSE
Replicata = Replc
END IF
WRITE #1, Replicata

```

```

LOCATE 21, 4
INPUT " Numero de Ciclos do Reagente = "; NumCiclos3
IF NumCiclos3 = 0 THEN
NumeroCiclos3 = NumeroCiclos3
ELSE
NumeroCiclos3 = NumCiclos3
END IF
WRITE #1, NumeroCiclos3

```

```

LOCATE 23, 4
INPUT " Tempo do Tampao = "; TempoT
IF TempoT = 0 THEN
TempoTampao = TempoTampao
ELSE
TempoTampao = TempoT
END IF
WRITE #1, TempoTampao

```

```

CLOSE #1
SOUND 600, 4
SOUND 700, 4

```

```

LOCATE 25, 4
INPUT " Deseja corrigir S/N "; deseja$
IF UCASE$(deseja$) = "S" THEN GOTO Inicio

```

END SUB

SUB Ferro

```

OUT ganhoanalog, 1 ' Programa o ganho
OUT multiplex, 3 ' Selecciona o canal 3 para o fotometro do ferro2

```

LeConversor

```

Leiturafe(fc) = -1 * LeituraMedia
IF fc >= 4 THEN
movel = Leiturafe(fc) + 2 *Leiturafe(fc - 1) + 3 *Leiturafe(fc - 2) + 2 *Leiturafe(fc - 3) +
Leiturafe(fc - 4)
movel = INT(1000 * movel / 9)
movel = movel / 1000
Leiturafe(ff) = movel

```


Tempofe(ff) = TIMER - tinicio

IF UCASE\$(Arquivo\$) = "S" THEN

CLOSE #1

dir\$ = "c:\FIA"

CHDIR dir\$

OPEN nome2\$ + ".dat" FOR APPEND AS #1 'Abre o arquivo p/entrada

PRINT #1, Tempofe(ff);

PRINT #1, Leiturafe(ff);

PRINT #1,

CLOSE #1

END IF

END IF

IF ff >= 1 THEN

LOCATE 2, 60

PRINT "Leitura ="; Leiturafe(ff)

w1 = 4 + Tempofe(ff) * .15

w0 = 4 + Tempofe(ff - 1) * .15

z1 = Leiturafe(ff) * .09

z0 = Leiturafe(ff - 1) * .09

LINE (w0, 200 - z0)-(w1, 200 - z1), 15

END IF

IF fc >= 4 THEN ff = ff + 1

fc = fc + 1

END SUB

SUB LeConversor

nkl = 1

soma = 0

OUT trig, 1

FOR nkl = 1 TO 1500

MSB = 10

WHILE MSB = 10

MSB = INP(AnalogMSB)

MSB = MSB AND &H10

WEND

LSB = INP(AnalogLSB)

' Le o byte menos significativo

MSB = INP(AnalogMSB)

' Le o byte mais significativo

MSB = MSB AND &HF

' Filtra o digito espurio

Digital = MSB * 256 + LSB

Digital = Digital - 2048

' Subtrai a valor corespondente a zero

soma = Digital + soma

NEXT

LeituraMedia = INT(soma * 100 / nkl)

LeituraMedia = LeituraMedia / 100

END SUB

SUB LerArquivo

CLS

DIM cont(0 TO 20)

LOCATE 3, 4

PRINT "ULTIMAS VARIÁVEIS EMPREGADAS"

CLOSE #1

OPEN "Controle.dat" FOR INPUT AS #1

DO WHILE NOT EOF(1) AND i <= 10

INPUT #1, cont(i)

i = i + 1

LOOP

n = i

FOR i = 0 TO n

IF i = 0 THEN

TempoMascarante1 = cont(i)

LOCATE 5, 4

PRINT " Tempo do Mascarante1 = "; TempoMascarante1

ELSEIF i = 1 THEN

TempoMascarante2 = cont(i)

LOCATE 7, 4

PRINT " Tempo do Mascarante2 = "; TempoMascarante2

ELSEIF i = 2 THEN

TempoAmostra = cont(i)

LOCATE 9, 4

PRINT " Tempo da amostra = "; TempoAmostra

ELSEIF i = 3 THEN

NumeroCiclos1 = cont(i)

LOCATE 11, 4

PRINT " Numero de Ciclos do Mascarante1 = "; NumeroCiclos1

ELSEIF i = 4 THEN

NumeroCiclos2 = cont(i)

LOCATE 13, 4

PRINT " Numero de Ciclos do Mascarante2 = "; NumeroCiclos2

ELSEIF i = 5 THEN

TempoReagente = cont(i)

LOCATE 15, 4

PRINT " Tempo do reagente = "; TempoReagente

ELSEIF i = 6 THEN

TempoLeitura = cont(i)

LOCATE 17, 4

PRINT " Tempo de leitura = "; TempoLeitura

```

ELSEIF i = 7 THEN
  Replicata = cont(i)
  LOCATE 19, 4
  PRINT " Numero de replicata = "; Replicata

ELSEIF i = 8 THEN
  NumeroCiclos3 = cont(i)
  LOCATE 21, 4
  PRINT " Numero de Ciclos do Reagente = "; NumeroCiclos3

ELSEIF i = 9 THEN
  TempoTampao = cont(i)
  LOCATE 23, 4
  PRINT " Tempo do Tampao = "; TempoTampao

END IF
NEXT

LOCATE 25, 4
INPUT " Deseja corrigir S/N "; deseja$
IF UCASE$(deseja$) = "S" THEN EntradaVariaveis

END SUB

SUB LinhaBase

  LOCATE 4, 6
  PRINT "Ajusta linha base do fotometro do cobre"
  OUT ganhoanalog, 3 'Programa o ganho
  OUT multiplex, 0 'Seleciona o canal 0 para o fotometro do cobre
  LOCATE 6, 6
  PRINT "Pressione uma tecla quando estiver pronto"

  WHILE (INKEY$) = ""
  LeConversor
  LOCATE 8, 6
  PRINT "Leituracu = "; .003356 * LeituraMedia
  WEND

  LOCATE 12, 6
  PRINT "Ajusta linha base do fotometro do ferro"
  OUT ganhoanalog, 1 'Programa o ganho
  OUT multiplex, 3 'Seleciona o canal 3 para o fotometro do ferro2

  LOCATE 14, 6
  PRINT "Pressione uma tecla quando estiver pronto"

  WHILE (INKEY$) = ""
  LeConversor
  LOCATE 16, 6
  PRINT "Leiturnafe = "; -1 * LeituraMedia
  WEND

END SUB

```