Universidade de São Paulo
Instituto de Química de São Carlos

Desenvolvimento de procedimentos analíticos limpos empregando multicomutação em sistemas de análises em fluxo para determinação fotométrica de cobalto e cádmio em águas

Aluna: Ticiane Silva Gondim

Orientador: Dr. Boaventura Freire dos Reis

São Carlos

2016

Ticiane Silva Gondim

Desenvolvimento de procedimentos analíticos limpos empregando multicomutação em sistemas de análises em fluxo para determinação fotométrica de cobalto e cádmio em águas

Tese apresentada ao Instituto de Química de São Carlos da Universidade de São Paulo como parte de requisitos para a obtenção do título de doutor em ciências.

Área de concentração: Química Analítica

Orientador: Prof. Dr. Boaventura Freire dos Reis

São Carlos

2016

AUTORIZO A DIULGAÇÃO TOTAL OU PARCIAL DESTE TRABALHO, POR QUALQUER MEIO CONVENCIONAL OU ELETRÔNICO, PARA FINS DE ESTUDO E PESQUISA, DESDE QUE CITADA A FONTE.

Aos meus pais, Otacílio e Adelaide, pelo carinho, amor e cuidados incondicionais em todos os momentos de minha vida.

Aos meus irmãos e sobrinhos pelos momentos de lazer e alegrias sempre que retornei ao lar.

Ao meu amor Marco Aurélio pelo incentivo, companheirismo, amor e alegrias.

A minha filha, minha razão de viver, pelos momentos de lazer, pelas alegrias e todo amor.

AGRADECIMENTOS

Agradeço a Deus pela oportunidade de continuar a viver e conquistar este sonho. A vida é cheia de mistérios que só Ele é capaz de entender. Tenho fé e esperança que Ele me guiará pelos melhores caminhos nos momentos mais difíceis de minha vida. Minha conquista é dedicada a Ele.

Agradeço a todos que participaram e colaboraram na realização deste trabalho. Este foi mais um sonho conquistado após muito suor, trabalho, dedicação e abnegação de momentos pessoais e familiares.

Agradeço a minha família que sempre acreditou que eu era capaz e nunca me deixou fraquejar. A meus pais, irmãos e sobrinhos pelas palavras de incentivo e amor e por perdoarem minha ausência nos momentos de alegrias e tristezas. Minha família é meu porto seguro. A meu marido Marco pelo carinho e apoio, por estar sempre presente, pelo amor e dedicação ao nosso lar e a nossa família. Sem você este sonho nunca teria se tornado realidade. Você foi e é um companheiro maravilhoso.

A minha amiga Lidiane Patricia (Lidi) por todo o carinho, ajuda e ouvidos durante esta tese.

Ao meu mestre, Boaventura, por todos os ensinamentos, pela paciência e dedicação. O senhor foi fundamental em meu crescimento profissional.

Aos professores Fábio Rocha, Francisco Krug, Elias Zagatto, Maria Fernanda pela disponibilidade do conhecimento.

Ao Centro de Energia Nuclear na Agricultura (CENA) por ter me recebido de portas abertas e pela formação acadêmica.

Ao Instituto de Química de São Carlos (IQSC) pela formação acadêmica,

apoio estudantil e a CAPES pela concessão da bolsa.

Aos funcionários do CENA e do IQSC pela disponibilidade e atenção durante minha permanência como aluna e execução deste trabalho.

Aos técnicos Valdemir, Iolanda e Fátima pela colaboração no desenvolvimento deste trabalho.

A técnica, amiga e um pouco mãe, Sheila Roberta, pelo apoio no desenvolvimento do trabalho, pelo carinho e por todos os puxões de orelha. Seu carinho é insubstituível.

Aos companheiros e colegas de laboratório pela amizade, troca de experiências e conselhos acadêmicos.

A todos, muito obrigada!

RESUMO

Esse trabalho tem como objetivo o desenvolvimento de procedimentos analíticos automáticos, empregando o processo de multicomutação em fluxo para determinação espectrofotométrica de cobalto e cádmio em amostras de águas. O trabalho envolveu o desenvolvimento dos módulos de análises para implementar os procedimentos analíticos baseados no processo de multicomutação, o sistema de detecção fotométrica empregando LED como fonte de radiação eletromagnética, o software para controle do módulo de análise e para efetuar aquisição de dados. O módulo de análise para determinação de cobalto foi desenvolvido, utilizando mini-bombas solenóide para o bombeamento das soluções. O procedimento analítico foi baseado na catálise do cobalto na reação de oxidação do Tiron pelo peróxido de hidrogênio e com o sistema de detecção espectrofotométrica com LED com emissão em 425 nm. Após os ajustes necessários do módulo de análise o sistema apresentou bom desempenho analítico. Para a determinação de cobalto em águas foram obtidas as seguintes características analíticas: desvio padrão relativo de 0,04 % ($n = 13$) para uma amostra com $0,5 \mu\text{g L}^{-1}$ de Co, faixa de resposta linear entre $0,13$ a $1,5 \mu\text{g L}^{-1}$ de Co ($R = 0,998$, $n = 3$), limite de detecção de $0,06 \mu\text{g L}^{-1}$, frequência analítica de 42 determinações por hora e geração de $1,5 \text{ mL}$ de resíduo por determinação. Recuperações entre 84 e 114 % foram obtidas com adição de Co (II) nas amostras de águas. O módulo de análise para determinação cádmio foi desenvolvido e otimizado utilizando duas mini-bombas peristálticas para bombeamento das soluções e esvaziamento do percurso, uma válvula solenoide de três vias e três válvulas solenoide de duas vias, uma cela de fluxo com longo caminho óptico (100 mm) e LED com emissão em 520 nm . O procedimento analítico para a determinação do cádmio foi baseado na formação do complexo pelo Cd (II) com o reagente ditizona em meio micelar com o surfactante Triton X100. O procedimento apresentou faixa de resposta linear de $15,0$ a $175,0 \mu\text{g L}^{-1}$ de Cd ($R = 0,997$; $n = 3$), limite de detecção de $12,5 \mu\text{g L}^{-1}$, desvio padrão relativo de 0,57 % ($n = 10$) para uma amostra de $30 \mu\text{g L}^{-1}$ e frequência analítica de 43 amostras por hora. Recuperações entre 84 e 112 % foram obtidas com adição de Cd (II) nas amostras de águas.

Palavras chave: análise por injeção em fluxo, multicomutação em análise em fluxo, fotometria, cobalto, cádmio, águas doce.

ABSTRACT

This work deals with the development of automatic analytical procedures, based on multicommutated flow analysis process for spectrophotometric determination of cobalt and cadmium in water samples. The work involved the development of the analytical modules and the photometric detector using LEDs as electromagnetic radiation sources. The software to control the flow analysis module and to perform data acquisition, were developed using Quick BASIC4.5 as programming language. The analysis module for cobalt determination, employed solenoid mini-pumps for solutions pumping. The procedure was based on the cobalt catalytic effect on the Tiron oxidation by hydrogen peroxide and the photometric detection at 425 nm. After the necessary adjustments of the flow analysis module, the system showed good analytical performance. The following analytical characteristics for determination of cobalt in water were obtained: a relative standard deviation of 0.04% ($n = 13$) for a standard solution $0.5 \mu\text{g L}^{-1}$ Co, a linear response ranging from 0.13 to $1.5 \mu\text{g L}^{-1}$ Co ($R = 0.998$, $n = 3$), a detection limit of $0.06 \mu\text{g L}^{-1}$, analytical frequency of 42 samples determination per hour and a waste generation of 1.5 mL per determination. Recoveries between 84 and 114% were obtained with the addition of Co (II) in water samples. The analytical module for determination of cadmium was developed, using two peristaltic mini-pumps and solenoid valves. The LED based photometer was furnished with a flow cell of long optical path (100 mm) and a LED with maximum emission at 520 nm. The flow analysis module was assembled with ability to perform a closed loop strategy, which was implemented to improve sensitivity. The analytical procedure for the determination of cadmium was based on reaction of Cd (II) with dithizone in a micelle medium with the surfactant Triton X-100. The procedure showed a linear response ranging from 15.0 to $175.0 \mu\text{g L}^{-1}$ Cd ($R = 0.997$; $n = 3$), detection limit of $12.5 \mu\text{g L}^{-1}$, RSD 0.57% ($n = 10$) for a sample of $30 \mu\text{g L}^{-1}$ and analytical frequency of 43 samples per hour. Recoveries between 84 and 112% were obtained with addition of Cd (II) in water samples.

Keywords: flow injection analysis, multicommutated flow analysis, photometry, cobalt, cadmium, waters.

LISTA DE FIGURAS

Figura 1 - Modelo de um sistema de multicomutação.....	17
Figura 2 - Representação do processo de multicomutação e amostragem binária...	18
Figura 3 - Principais sistemas da multicomutação baseados no uso de válvulas solenoide, multi-seringas e mini-bombas.	20
Figura 4 - Representação da mudança de fluxo no momento do acionamento de uma válvula solenoide de três vias.....	21
Figura 5 - A evolução do número de publicações com o emprego da multicomutação na literatura	24
Figura 6 - Representação de algumas das regiões UV-vis dos LEDs encontrados comercialmente.	26
Figura 7 - Reação catalítica do cobalto na reação Tiron-peróxido de hidrogênio em meio alcalino	34
Figura 8 - Diagrama do fotômetro..	41
Figura 9 - Espectro de absorção da oxidação do Tiron em meio alcalino (pH 10,5)..	42
Figura 10 - Diagrama do modulo de análise.	43
Figura 11 - Espectro de absorção do composto de cobalto.....	46
Figura 12 - Efeito da alcalinidade na formação do composto.....	48
Figura 13 - Estudo do efeito da concentração do peróxido de hidrogênio na formação do produto.	49
Figura 14 - Estudo do efeito da concentração do reagente Tiron.....	50
Figura 15- Estudo do efeito do meio de preparo do Tiron.	51
Figura 16 - Estudo do efeito do tempo na geração do sinal analítico.....	53
Figura 17 - Estudo do comprimento da bobina de reação Rc.	54
Figura 18 - Estudo do volume de amostra inserido.	56
Figura 19- Estudo do volume de inserção do peróxido.	57
Figura 20 - Estudo do volume de inserção do Tiron.	57
Figura 21 - Estudo dos ciclos de inserção de peróxido de hidrogênio..	59
Figura 22 - Espectro de absorção dos complexos ditizonato-metais.	70
Figura 23 - Diagrama do módulo de análise em fluxo empregado na determinação espectrofotométrica do cádmio..	74
Figura 24 - Acoplamento do LED e do fotodetector à cela de fluxo.....	75
Figura 25 -Espectro de absorção do complexo cádmio/ditizona em meio alcalino (pH > 12), contendo o surfactante Triton X 100.....	82
Figura 26 - Curvas analíticas obtidas com diferentes concentrações de Triton X100.	85
Figura 27 - Curvas analíticas obtidas a partir de variações nas concentrações do reagente ditizona.	86
Figura 28 - Tempo de inserção do reagente ditizona na zona reacional.	87
Figura 29 - Efeito do intervalo de tempo de circulação.	88
Figura 30 - Resultados referentes ao processamento de um conjunto de soluções padrão de cádmio nas concentrações de 15,0 - 175 $\mu\text{g L}^{-1}$	90

LISTA DE TABELAS

Tabela 1 - Parâmetros avaliados e os valores selecionados para o sistema proposto	59
Tabela 2 - Avaliação das potenciais espécies químicas interferentes	61
Tabela 3 - Resultados obtidos usando material certificado.	62
Tabela 4 - Análise de amostras de águas e valor de recuperação de Co.....	62
Tabela 5 - Comparação entres trabalhos da literatura.....	63
Tabela 6 - Sequência de acionamento das válvulas solenoide e das mini-bombas peristálticas no programa desenvolvido para determinação de cádmio no procedimento proposto neste trabalho.	78
Tabela 7 - Características analíticas obtidas a partir das curvas analíticas para o estudo do tempo de inserção de NaOH no sistema.	83
Tabela 8 - Características analíticas obtidas a partir das curvas analíticas para o estudo da concentração de NaOH no sistema.	84
Tabela 9 - Potenciais íons interferentes e os limites estabelecidos na determinação de Cádmio.	89
Tabela 10 - Parâmetros estudados e valores selecionados.	90
Tabela 11 - Resultados referentes à adição e recuperação.....	92
Tabela 12 - Recuperação de Cd(II) adicionado a amostras de águas com leitura em diferentes dias.	93
Tabela 13 - Comparação dos métodos espectrofotométricos para determinação de Cádmio.....	95

SUMÁRIO

1 INTRODUÇÃO	13
1.1 Química Limpa.....	13
1.2 Multicomutação	15
1.3 LED e fotometria	25
1.4 Objetivos.....	28
2 DETERMINAÇÃO DE COBALTO EM AMOSTRAS DE ÁGUAS.....	29
2.1 Introdução.....	29
2.2 Revisão da literatura.....	31
2.2.1 Métodos Analíticos para determinação de cobalto.....	31
2.2.2 Análise espectrofotométrica para cobalto	32
2.3 Parte Experimental	38
2.3.1 Reagentes e Soluções.....	38
2.3.2 Amostras	39
2.3.3 Equipamentos e acessórios	39
2.3.4 Descrição do fotômetro.....	40
2.3.5 Descrição do sistema de fluxo e desenvolvimento do programa.....	42
2.4 Resultados e Discussão.....	46
2.4.1Comentários gerais.....	46
2.4.2 Efeito da alcalinidade no desenvolvimento da reação.....	47
2.4.3 Efeito da concentração dos reagentes.....	49
2.4.4 Efeito da temperatura na formação do produto	51
2.4.5 Efeito do tempo de reação	52
2.4.6 Comprimento da bobina de reação.....	53
2.4.7 Estudo dos volumes das soluções.....	55
2.4.8 Estudo das potenciais espécies interferentes.....	60
2.4.9 Análise das amostras	61
3. DETERMINAÇÃO DE CÁDMIO EM AMOSTRAS DE ÁGUAS	64
3.1. Introdução	64
3.2 Revisão da literatura.....	66
3.2.1 Métodos Analíticos para a determinação de Cádmio	66
3.2.2 Determinação de cádmio por espectrofotometria.....	66
3.3 Parte Experimental	72
3.3.1 Reagentes e Soluções.....	72
3.3.2 Amostras	73
3.3.3 Equipamentos e acessórios	73
3.3.4 Princípio do método.....	75

3.3.5 Desenvolvimento do programa.....	77
3.4 Resultados e Discussão.....	81
3.4.1 Estimativa do valor máximo de absorção para o complexo formado.....	81
3.4.2 Estudo da alcalinidade do meio.....	82
3.4.3 Estudo da concentração dos reagentes.....	84
3.4.4 Estudo do tempo necessário para a formação do complexo	87
3.4.5 Estudo dos potenciais interferentes.....	89
3.4.6 Análise das amostras com teste de adição e recuperação.....	90
4 CONCLUSÕES.....	97
REFERÊNCIAS.....	99

1 INTRODUÇÃO

O conceito de “Química Limpa” surge atrelado à segurança tanto ambiental quanto humana nas análises químicas. Com o novo conceito inicia-se um questionamento das metodologias que produzem muitos resíduos, ou que utilizam grandes quantidades de produtos tóxicos nas análises químicas. Busca-se então possibilidades e mudanças para a nova realidade.

O conceito de “Química Limpa” associado ao processo de Análise em Fluxo tornar viável a adaptação de métodos analíticos clássicos para a atual necessidade da sociedade, incluindo rapidez na geração dos resultados, sensibilidade e redução na geração de resíduos tóxicos.

O processo de multicomutação em análise em fluxo (MCFA)¹ utiliza dispositivos comutadores (válvulas solenoide, mini-bombas solenoide), os quais podem inserir de forma controlada, pequenos volumes da amostra e da solução reagente no percurso analítico. Este princípio da multicomutação permite usar a quantidade de reagente estritamente necessária para o desenvolvimento da reação, possibilitando a minimização da geração de resíduos, parâmetro que faz parte das diretrizes de “Química Limpa” ou química verde.²

1.1 Química Limpa

A química participa cada vez mais do dia-a-dia da humanidade com inovações em produtos, novas tecnologias, aumento de produção de alimentos, a criação de novos medicamentos, monitoramento de contaminantes, dentre outros setores. As inovações ou criações podem, em alguns casos, ter o inconveniente de gerar poluentes tóxicos ao homem e ao meio ambiente. No mundo, vem crescendo a preocupação com o meio ambiente e com o excesso de poluição e degradação ambiental. Existem tendências da busca por metodologias mais limpas e menos tóxicas ao homem e ao meio ambiente. Neste contexto, os métodos de análise também devem seguir as novas tendências com desenvolvimento de métodos de análises cada vez mais sensíveis e menos poluentes.²

Algumas metodologias analíticas utilizam reagentes mais tóxicos do que o próprio analito investigado e em consequência, acabam gerando resíduos ainda mais poluentes.³ O volume de reagentes utilizados nas análises também é uma

preocupação. Pois, um maior consumo do reagente irá elevar o custo final da análise, além de aumentar a geração de resíduos finais. Tornando, em alguns casos, inviável a análise devido à dificuldade de tratar o resíduo gerado. Nesse contexto, cresce a busca por procedimentos de análise que utilizam pequenas quantidades de reagentes, reagentes menos tóxicos e com baixas produções de resíduos. Estes parâmetros tornaram-se tão importantes quanto as características analíticas das metodologias. Os impactos causados pelos novos métodos ao meio ambiente e aos seres humanos devem ser mínimos.⁴

O conceito de química limpa ou química verde (Green Chemistry) surgiu na década de 90 tendo como finalidade a segurança ambiental e humana. Para obter os fins desejados as metas propostas englobam a utilização de produtos químicos e metodologias analíticas que reduzem a contaminação ambiental, assim como também redução da geração dos resíduos. Para atingir este objetivo, surgem medidas que vão da substituição de reagentes nas metodologias analíticas, a redução do consumo de reagentes, o desenvolvimento de novos métodos de análises, a miniaturização da instrumentação usada, à redução do volume de efluente gerado, garantindo a qualidade do meio ambiente e a segurança dos seres humanos.² Em uma definição rápida, a Química Limpa poderia ser resumida como o uso da química de forma segura ao meio ambiente e aos seres humanos. O conceito de química limpa é definido como “O uso de técnicas e metodologias químicas que reduzem ou eliminam o uso ou geração de matérias-primas, produtos e subprodutos perigosos para a saúde humana ou para o ambiente”.³

A química limpa possui doze princípios básicos. Segundo esses princípios, evitar a produção de resíduos tóxicos é melhor do que tratá-los após serem gerados. Caso ocorra a produção dos resíduos tóxicos, estes devem ser minimizados, reciclados, tratados ou reutilizados. O monitoramento da geração dos compostos tóxicos em tempo real facilita o controle, o tratamento ou eliminação através de metodologias adequadas para cada composto.^{4,5}

No conceito de química limpa os procedimentos analíticos devem evitar ou reduzir o consumo de produtos tóxicos em seus métodos. Em muitos casos, a substituição dos reagentes nem sempre ocorre sem que a sensibilidade do método seja afetada. Uma possível solução veio em conjunto com a Análise em Fluxo, onde

é possível a miniaturização do módulo de análise e a redução do consumo de reagentes tóxicos.⁶

A miniaturização é caracterizada pelo uso de dispositivos portáteis, pequenos volumes de reagentes e gera uma menor quantidade de resíduos. A ferramenta da miniaturização possibilita implementar métodos clássicos das análises de uma maneira mais limpa e ambientalmente correta.⁶

A análise em fluxo permitiu, também, a adaptação de métodos clássicos de análises, antes considerados não adequados à química limpa. O processo de análise em fluxo pode ser empregado com diversas técnicas analíticas, possibilitando a adaptação de acordo com as necessidades das análises. Essa facilidade permite alcançar procedimentos baseados na química limpa, como reciclagem de solvente, reuso dos reagentes, pré-tratamento de resíduos em linha, pré-concentração de amostras e diluição em linha.⁵

A quantidade de resíduos e a toxicidade dos mesmos são importantes aspectos a serem considerados no desenvolvimento de novos métodos de análises. Os procedimentos analíticos baseados no processo de análise em fluxo permitem selecionar os volumes necessários para desenvolvimentos das reações envolvidas, produzindo menores quantidades de resíduos e reduzindo o custo da análise.⁶

Os procedimentos analíticos baseados nesse processo oferecem facilidade para manipulação automática das soluções utilizadas, reduzem a dependência do operador, minimiza possíveis acidentes e contaminações do analito e do analista.^{2,3,4,5,6}

A tendência observada nos procedimentos analíticos envolvendo química limpa e análise em fluxo inclui a automatização de procedimentos analíticos clássicos, substituindo compostos tóxicos, podendo melhorar os procedimentos de análise sem afetar os resultados. Em alguns casos, pode ocorrer uma melhora na sensibilidade dos métodos ao utilizar a miniaturização.⁶

1.2 Multicomutação

A análise química por injeção em fluxo contínuo (FIA) foi proposta em 1975 por Jaromir Ruzicka. Desde então, devido suas características como versatilidade, simplicidade de instrumentação, possibilidade de automatização com baixo custo de

implementação e manutenção dos equipamentos, é muito utilizada em diversos ramos da química analítica. O conceito básico deste processo é a automatização de procedimentos analíticos e compreende a inserção de uma alíquota da amostra em um fluido transportador que desloca para o sistema de detecção. A inserção dos reagentes pode ocorrer simultaneamente com a amostra ou durante o percurso analítico, assim como também, durante o percurso pode-se inserir outras etapas de processamento (pré-concentração, extração, diluição, catálise, entre outros).^{7,8}

Os sistemas FIA tem sido reconhecidos por sua versatilidade nas análises, capacidade de automatização e facilidade para processar um grande número de amostra de forma muito mais rápida. As condições de reação podem ser controladas por computador, facilitando modificações durante os experimentos e diminuindo o risco de contaminação do analista e do analito. Outro ponto importante na tentativa de minimizar riscos ao analista é a possibilidade das reações ocorrerem em ambiente fechado. Existem ainda como vantagens, o uso de pouca vidraria, baixo consumo de reagente, redução do volume de efluente gerado, baixo custo para a implementação e a possibilidade de construção do seu próprio módulo de análise. Analisando as vantagens da análise em fluxo junto ao conceito de química limpa, ficam claros os benefícios deste processo ao tentar cumprir as metas sugeridas pela química limpa.^{8,9}

No ano de 1994 Reis et al. propuseram uma modificação no processo de análise em fluxo contínuo, visando melhorar o processo de inserção de amostra e reagentes no percurso analítico. Os autores propuseram um sistema em que a inserção de amostra e reagente no fluido transportador eram controlados por válvulas solenoide. Neste sistema, as válvulas solenoide oferecem a vantagem de acionamento individual de cada canal, permitindo um maior controle da inserção das alíquotas das soluções no percurso analítico. Até o ano de 1994, os sistemas utilizados na Análise em Fluxo utilizavam sistemas de inserção com comutação solidária, após a inovação da forma de inserção de amostra e reagentes, abrindo novas portas na Análise em Fluxo.^{1,9}

Na multicomutação as variáveis que afetam a dispersão são as mesmas que em qualquer outro sistema de análise em fluxo, como comprimento do reator, volume de zona da amostra, intervalo de tempo para o desenvolvimento da reação,

concentração dos reagentes, temperatura, sequência de mistura das soluções dos reagentes, entre outros.¹⁰

O conceito básico de multicomutação pode ser resumido em uma figura exibida no artigo de Feres et al., (2008).¹⁰ Na Figura 1 o sistema é considerado simples com somente amostra, reagente e fluido transportador.

Figura 1 - Modelo de um sistema de multicomutação. **a**: sequência de inserção das soluções em serial; **b**: sequência de inserção das soluções por confluência. S = amostra; C = fluido transportador; R = reagente; B = bobina de reação; D = detector; P = sistema de impulsão e/ou aspiração das soluções; W = descarte; V_i = dispositivos para direcionamento das soluções (1,2 = três vias; 3-5 duas vias).

Fonte: FERES et al., 2008.¹⁰

O sistema é composto por válvulas solenoide e um sistema para aspiração das soluções e neste caso, se encontra depois do detector. Na Figura 1a tem-se uma configuração serial e na Figura 1b uma configuração por confluência. O sistema de multicomutação tem como característica a simplicidade, versatilidade e facilidade em manipulação das soluções através de automatização.¹⁰

A fim de demonstrar a nova estratégia para inserção de amostra e reagentes no percurso analítico, foi determinado ferro em plantas usando o método do tiocianato.¹⁰ O módulo de análise era composto por válvulas solenoide, controladas

por microcomputador através de um software escrito em QuickBASIC e uma bomba peristáltica para a impulsão dos fluidos. O sistema desenvolvido demonstrou ser eficiente, com baixo consumo de reagente e uma alta frequência analítica. Neste trabalho, foram apresentados novos conceitos como amostragem binária e multicomutação.¹

A multicomutação trouxe um novo conceito de inserção de amostra para a análise em fluxo, a amostragem binária. Nesse processo, pequenas alíquotas de amostra e das soluções de reagentes são inseridas de forma alternada no percurso analítico, permitindo uma maior interpenetração entre eles e melhorando o processo de mistura, como exemplificado na Figura 2.^{1,11,12,13}

Figura 2 - Representação do processo de multicomutação e amostragem binária. Onde I, II e III representam o número de inserções sequenciais.

Fonte: ROCHA et al., 2002.¹²

A utilização da multicomutação e da amostragem binária possibilitou um melhor aproveitamento do tempo, a redução no consumo de reagentes, a minimização da geração de resíduos, a melhora na repetibilidade, o aumento da probabilidade de uma completa automação das etapas de análise, a miniaturização dos sistemas, tornando possível a portabilidade dos módulos de análises.⁴ Com um módulo de análise baseado nesse conceito, a reação inicia-se no momento de inserção da amostra no reagente, que é utilizado em pequenas alíquotas dentro do percurso analítico. A inserção sequencial de uma alíquota da amostra seguida de uma solução do reagente é denominada de ciclos de amostragem e pode ser repetido o número de vezes necessário para encher o percurso analítico. O volume inserido de cada componente é controlado pela vazão de bombeamento e pelo tempo de acionamento das válvulas, definido pelo operador através do software.^{1,13}

Em 1995, Martelli et al. publicaram um artigo para determinação de níquel, ferro e cromo em ligas de aço utilizando sistema de análise em fluxo com multicomutação. Neste trabalho houve o desafio de determinar mais de um analito, utilizando mais de uma solução de reagente em um mesmo módulo de análise. A determinação destes analitos de forma manual envolve extrações líquido-líquido com solventes orgânicos, processos morosos, com alto consumo de reagentes, alta geração de efluentes, maiores chances de contaminações e riscos ao analista. O sistema proposto por Martelli et al., (1995) foi composto por válvulas solenoide e o sistema escolhido para a impulsão das soluções foi a bomba peristáltica.¹⁴

Na terceira publicação da série de multicomutação, Araújo et al. (1995) abordaram a determinação de creatinina em urina, utilizando a reação cinética de Jaffé's, com abordagem de zona de amostragem em um único canal e parada de fluxo. Outros três trabalhos foram abordados nesta série de publicações sobre multicomutação. Oliveira et al. (1996) determinaram zinco e cobre, Kronka et al. (1996) determinaram amônia e fosfato e Vieira, et al. (1998) determinaram sulfato, todos em amostras de plantas.^{8,15,16,17}

O processo de multicomutação é caracterizado por flexibilidade e alta versatilidade ao utilizar dispositivos individuais para a inserção das soluções e da amostra. Esta estratégia permite um gerenciamento individual, simultâneo ou sequencial das soluções, além da facilidade de adicionar ou remover componentes de acordo com a necessidade da análise.^{8,10}

Os sistemas de propulsão de fluídos mais utilizados no processo de multicomutação são bomba peristáltica, mini-bombas solenoide e bomba de seringas.

Na Figura 3 são apresentados os principais componentes utilizados no processo de multicomutação.^{4,9}

Figura 3 - Principais sistemas da multicomutação baseados no uso de válvulas solenoide (3A, 3B), multi-seringas (3C, 3D) e mini-bombas (3E). D: Detector; W: Descarte; x,y: pontos de confluência.

Fonte: adaptada de MORALES-RUBIO et al., 2009.⁹

As multi-seringas, Figuras 3C e 3D, são consideradas como uma unidade de propulsão com distribuição multicanal, não se fazendo necessário o uso de tubos de bombeamento. O sistema de multi-seringas é composto por seringas, válvulas solenoide e um motor de passo para o controle das seringas. A vazão das soluções é controlada pelo conjunto: volume das seringas e velocidade com o qual o motor de passos movimenta os êmbolos das seringas. Esse sistema de propulsão tem como desvantagem a diminuição da frequência analítica, pois, necessita do completo preenchimento das seringas durante as análises. As maiores vantagens deste sistema de propulsão de inserção de soluções são a robustez, a versatilidade e a

possibilidade de trabalhar com soluções mais agressivas, como solventes orgânicos ou soluções com elevada acidez ou alcalinidade.⁹

Outro dispositivo utilizado para injeção de soluções no processo de multicomutação é a válvula solenoide, que permitem mudar a direção ou interromper o fluxo de uma solução, ou simplesmente trocar as soluções.^{9,11,13}

A propulsão dos fluidos com o uso das válvulas solenoide para controlar a inserção, pode ocorrer em modo de pressão positiva (utilizando a unidade de propulsão antes do conjunto de válvulas) ou por pressão negativa (quando a unidade de propulsão encontra-se após a unidade de detecção e ocorre aspiração das soluções).⁸

Nas válvulas solenoide, o acionamento das válvulas é feito por software, facilitando a mudança das condições de análise de acordo com cada procedimento analítico, sem alterar a configuração geral do sistema. O tempo de resposta das válvulas solenoide é da ordem de 100 ms, permitindo uma rápida troca da solução e uma vantagem sobre outros dispositivos de injeção.^{4,11,12} O software de controle utiliza programações consideradas simples e de fácil acesso, tornando a montagem do sistema simples e economicamente viável.¹³ Na Figura 4, pode-se observar a mudança de fluxo ao acionar a válvula solenoide de três vias.

Uma das vantagens do uso de válvulas solenoide é a redução da intervenção do analista no sistema, aumentando a reprodutibilidade das análises. A inserção das soluções com este tipo de dispositivo pode ocorrer de forma que várias soluções podem ser inseridas no percurso analítico utilizando diferentes canais de bombeamento (Fig. 3A) ou apenas um para todas as soluções (Fig. 3B).^{4,9,13}

Figura 4 - Representação da mudança de fluxo no momento do acionamento de uma válvula solenoide de três vias. A = comutação para saída de fluxo; B = comutação para entrada de fluxo. As linhas pontilhadas indicam o fluxo após a comutação com o acionamento da válvula.

Fonte: ROCHA, et al., 2002.¹²

Os sistemas que empregam a multi-impulsão têm em sua composição mini-bombas solenoide, Figura 3E, que servem para a inserção e propulsão dos fluidos

através do percurso analítico. Neste tipo de dispositivo, existe uma maior possibilidade de miniaturização, visto que a mini-bomba solenoide tem dimensão reduzida e um menor consumo de energia quando comparada com a bomba peristáltica. O acionamento da mini-bomba solenoide é realizado por pulsos elétricos controlados por computador.^{4,8,9,18}

As mini-bombas solenoide funcionam da seguinte forma: aplicando-se uma diferença de potencial de 12 V, a ação do campo magnético gerado causa uma expansão do diafragma interno, forçando a aspiração do líquido para o interior da mini-bomba. Quando a circulação da corrente elétrica é interrompida, o campo magnético deixa de existir, e uma mola tende a restaurar o estado inicial do diafragma. Nesta condição, a porta de entrada de fluido é bloqueada e a de saída é aberta, permitindo o escoamento para fora da mini-bomba. O bombeamento é estabelecido ligando e desligando cada mini-bomba sequencialmente. Segundo o fabricante, os intervalos de tempo ligada/desligada devem ser de 0,15 s. O volume de cada solução usada no procedimento analítico é definido pelo número de pulsos elétrico aplicado à mini-bomba selecionada. Portanto, o emprego de mini-bombas solenoide para propulsão de fluidos, requer recursos de eletrônica e de informática.

Uma das maiores vantagens deste sistema é a possibilidade de gerenciar individualmente as soluções com volumes reduzidos (10 a 250 μL por pulso), conferindo economia de reagentes e redução de efluente gerado. Outra vantagem deste sistema é a forma de mistura das soluções durante o percurso analítico, pois podem inserir pequenas alíquotas de cada solução, alternadamente e melhorar o sistema de mistura das soluções. A inserção do fluido ocorre de forma súbita e repetitiva, promovendo um fluxo pulsado que favorece a mistura das soluções. Com isso, reduz-se o comprimento das bobinas de reação, diminuindo a dispersão e aumentando a frequência analítica. O tempo de trabalho destes dispositivos é estimado em 20 milhões de atuações, correspondendo a 300 horas de trabalho contínuo.¹⁸

Santos et al. (2007) fizeram uma breve explanação das vantagens do uso de sistemas de micro-impulsão em diversas análises. Os componentes para a composição de sistemas de multi-impulsão demonstraram versatilidade, robustez e baixo custo, mostrando ser viável sua adaptação à implementação de metodologias

analíticas e automatização destas análises.¹⁸

Rocha et al. (2006) propuseram um sistema em fluxo multiuso em que o módulo de análise era construído com válvulas solenoide e mini-bombas solenoide. O sistema proposto foi demonstrado ao implementar diluição em linha controlada, etapas de calibração com um único padrão, adição de padrão, titulação e estratégias para aumentar o tempo de residência da amostra no percurso analítico. Os diferentes procedimentos foram implementados sem que fosse necessário modificar o módulo proposto. A possibilidade de controle individual das soluções de reagentes, resultou em um módulo de análise que permitiu implementar diferentes etapas, sem ser necessário modificações físicas, usando somente controle de software. Outra característica citada no artigo foi à facilidade de mistura entre reagentes e amostra, favorecida pelo fluxo pulsado das mini-bombas solenoide. A estratégia de inserção de pequenas alíquotas alternadas de amostra e de reagente no percurso analítico é conhecida por amostragem binária. Os autores demonstraram que o sistema de inserção individual de soluções, permite uma variedade de procedimentos sem ser preciso alterações no módulo de análise proposto.¹⁹

Atualmente, a multicomutação vem mostrando cada vez mais versatilidade ao ser usada em diferentes técnicas com diversas amostras, ocasionando um aumento no número de trabalhos propostos.^{9,11,13}

Na Figura 5, é mostrado um resumo gráfico das publicações desde o surgimento da multicomutação¹ até o ano de 2016. Os dados referentes ao número de publicações com o processo de análise em fluxo com multicomutação continuam em crescimento.

Figura 5 - A evolução do número de publicações com o emprego da multicomutação na literatura

Fonte: Autoria própria. Coleta de dados realizada no dia 17/08/2016 as 11:23 h. Base de dados: "Web of Science". Palavras chave: multicomutação.

Segundo Morales-Rubio et al. (2009) a multicomutação pode ser encontrada em diversas áreas como ambiental, alimentos, bebidas, farmácia, bioquímica e aplicações industriais, e com diferentes técnicas como amperometria, voltametria e potenciometria. Porém, a maior parcela de publicações ainda se encontra em métodos espectrofotométricos (94%) com aplicação em ambiental.⁹

As potencialidades da multicomutação são exploradas de acordo com a necessidade da análise em questão. Etapas de diluição, aumento do tempo de residência da zona de amostragem, titulações, pré-concentração e separação em linha, determinações sequenciais e determinações simultâneas são exemplos de possibilidade no processo de multicomutação para melhoria dos métodos analíticos clássicos e aumento da sensibilidade.^{10,12}

Com isso, surgem novas designações a etapas da multicomutação, como no caso do closed-loop que foi citado por Lapa et al. (1998) como um sistema proposto para implementar diluições sucessivas em um procedimento de determinação de cloreto.²⁰

Dutt e Mottola (1975; 1977) foram os pioneiros em trabalhos que empregavam a recirculação e reutilização do reagente em sistemas de análise em fluxo. O processo foi chamado de CFIA (Circulatory Flow Injection Analysis Method) e a definição geral deste tipo de sistema é do reagente ser reciclado para a maior e

melhor utilização durante as análises.^{21,22} A proposta do trabalho dos autores foi de determinar cromo (VI), utilizando a formação do complexo com a solução reagente de Fe(II)-1,10-fenantrolina. Os autores propuseram o processo de reciclagem da solução reagente pela regeneração da solução reagente de Fe(II)-1,10-fenantrolina com ácido oxálico.^{21,22} Nos anos seguintes, o sistema de CFIA foi reportado com quimiluminescência²³, espectrofotometria^{24,25} e potenciometria²⁶.

1.3 LED e fotometria

LED (do inglês *Light Emitting Diode*) é um dispositivo que apresenta emissão de radiação nas regiões do espectro eletromagnético do violeta ao infravermelho próximo. Os LED's são pequenos, podem ser adquiridos facilmente em comércio local com baixo custo, consome pouca energia para manter seu funcionamento, boa estabilidade de emissão, vida útil muito longa e possuem alta intensidade luminosa. Devido suas características, são muito utilizados comercialmente em lâmpadas. O uso dos dispositivos em outros equipamentos eletrônicos, como TV's e computadores vem crescendo nos últimos anos. Entretanto, esses dispositivos só se tornaram comercialmente disponíveis a partir da década de 60.^{9,27,28}

Apesar dos dispositivos apresentarem ampla faixa de emissão de radiação, do violeta ao infravermelho próximo, cada LED emite radiação em uma faixa estreita de comprimentos de onda, em geral a meia banda é em torno de 25 nm. Outro ponto positivo deste dispositivo é o seu tempo de vida útil ser muito maior (cerca de 100.000 horas de trabalho contínuo em geral, 6 anos em serviço contínuo para LED's comuns e 114 anos para alguns LED's de infravermelho) do que outras fontes luminosas.^{9,13,28,29}

Os LED's podem ser empregados na construção de fotômetros simples, baratos e de pequeno porte ao substituir a lâmpada de tungstênio, pois o LED dispensa o uso de dispositivos ópticos, tais como lentes, prismas e filtros para seleção do comprimento de onda específico do espectro para a detecção. A intensidade do feixe de luz emitida é cerca de cinco vezes maior do que um feixe de radiação de fonte convencional, quando passa por um monocromador, permitindo assim o uso de celas de longo caminho óptico nos sistemas de detecção. A alta estabilidade dos LED's também dispensa o uso de equipamentos caros para

estabilizar a fonte de radiação.^{9,13,28}

A Figura 6 mostra algumas regiões UV-vis de LED's comuns facilmente encontráveis em comércio. O espectro exibido na Figura 6 é a união da leitura de doze LED's.^{9,27,28}

Figura 6 - Representação de algumas das regiões UV-vis dos LEDs encontrados comercialmente.

Fonte: O'TOOLE, et I., 2008.²⁸

Devido a faixa de emissão estreita de cada LED, como exibido na Figura 6, se faz necessário medidas antecipadas para determinar o LED apropriado a ser usado na construção do fotômetro de acordo com o analito.⁹

As vantagens em substituir a lâmpada de tungstênio por LED em fotômetros simples, como a simplicidade, a robustez, a estabilidade, baixo custo, luz monocromática, compactos, baixo consumo de energia e baixa diferença de potencial elétrico para o funcionamento, além de reduzir o custo final do equipamento, fazem com que cresça o interesse por este tipo de dispositivo. Devido suas características, os LED's podem substituir dispositivos fotométricos em determinações de analitos com absorção em comprimentos de onda específicos. Todas estas vantagens fazem com que uso do LED venha crescendo e se tornando frequente em laboratórios de Química Analítica (especializados em Análise em Fluxo), pois, foi vislumbrado uma oportunidade de miniaturizar e reduzir os custos

dos módulos de análise ao utilizar o LED como fonte de radiação.^{9,28} A primeira publicação utilizando LED em fotômetro foi em 1970 por Barnes, como citado por Flaschka et al. em 1973 e Dasgupta et al. em 1993.^{29,30}

Um dos empecilhos para tornar os sistemas espectrofotométricos portáteis são os detectores. A substituição dos detectores baseados em fotomultiplicadoras por fotodiodos pode ajudar no processo de miniaturização dos sistemas de análise.^{13,28}

Os detectores utilizados em equipamentos com LED's são os fotodiodos ou fototransistores. Os fotodiodos são mais utilizados por apresentarem maior faixa de resposta linear para a radiação incidente e um menor tempo de resposta. Geralmente, conectam-se amplificadores de sinais para melhorar o desempenho do equipamento.^{27,31}

1.4 Objetivos

O presente trabalho teve como objetivo, o desenvolvimento de módulos de análise e procedimentos analíticos automáticos para a determinação de cobalto em amostras de águas de rios e lagos, e cádmio em amostras de águas de rios, torneira e minerais. Os módulos de análises desenvolvidos foram baseados no processo de multicomutação em análise em fluxo com detecção fotométrica, visando à redução do consumo de reagentes e a redução do volume de efluentes gerado.

2 DETERMINAÇÃO DE COBALTO EM AMOSTRAS DE ÁGUAS

2.1 Introdução

O cobalto é encontrado na crosta terrestre em baixas proporções em abundância, sempre em forma de minérios (cerca de 23 partes por milhão em peso), tais como lineíta (Co_3S_4), esmaltita (CoAs_2) e a cobaltita (CoAsS), os mais importantes economicamente. Os minérios de cobalto estão sempre associados a outros elementos, como níquel, cobre, manganês, arsênio e chumbo. A obtenção desse metal ocorre de forma secundária, sendo obtido como um subproduto do processo de extração dos outros metais aos quais está associado.^{32,33}

Após o processo de extração o metal Co tem sido utilizado em ligas metálicas, pigmentos, secante para tintas, em tratamento por intoxicação por cianeto (como complexo Co-EDTA) e em tratamento radioterápico de câncer (^{60}Co). Uma das mais importantes utilizações industriais do cobalto é a associação com ligas de aço, que podem suportar altas temperaturas e serem usadas em confecção de turbinas ou fabricação de ferramentas de corte (como na substituição do diamante em brocas escavadeiras). A proporção de uso para estes fins é de um terço do metal extraído.^{32,33,34}

Outro terço do metal produzido é destinado à fabricação de pigmentos. O uso do cobalto para este fim é encontrado em tintas com coloração azulada (o óxido de cobalto possui coloração azul), vidros com o tom azulado, no mascaramento da cor amarela (oriunda de contaminação de ferro) para obtenção da coloração branca na fabricação de cerâmica. Alguns compostos de cobalto também são utilizados como secante através do processo de oxidação.^{33,35}

As propriedades magnéticas deste metal são semelhantes às propriedades do ferro e do níquel, possibilitando a associação dos metais e formação de ligas magnéticas. Como exemplo, tem-se a fabricação de um forte ímã permanente através da associação de cobalto, níquel e alumínio. O ímã formado chega a ser 30 vezes mais forte do que os ímãs sem o cobalto em sua composição. A utilização do metal cobalto para este fim chega a um quinto da produção de cobalto anual.³³

O cobalto, em pequenas quantidades, é considerado importante para as plantas e os seres vivos. Nas plantas, o cobalto é um micronutriente essencial e deve ser controlado para inibir possíveis deficiências e contribuir para o crescimento

do vegetal.^{35,36}

Em meio aquático, o cobalto está entre os elementos essenciais, mas dependendo da concentração, pode se tornar tóxico para os peixes.^{35,37} Assim, o cobalto é considerado poluente do meio aquático, principalmente das águas de superfícies, tais como rios e lagos.³⁸ No Brasil, o CONAMA estabelece a concentração de $0,05 \text{ mgL}^{-1}$ e de $0,2 \text{ mgL}^{-1}$ de cobalto como limite máximo permitido para águas doces, Classe I e Classe III, respectivamente.³⁹

A importância do cobalto para as espécies vivas está na formação do complexo vitamínico B_{12} , presente em células humanas e animais, e é considerado essencial para a manutenção da saúde.^{32,34,40,41,42,43} Nos seres humanos, a deficiência da vitamina B_{12} pode ocasionar diferentes tipos de doenças, incluindo danos neurológicos e anemia.^{40,43}

O cobalto apresenta um limite de exposição aos seres vivos, no qual a deficiência ou o excesso podem trazer riscos à saúde e até a morte. Alguns autores têm apontado que em quantidades excessivas, o cobalto pode tornar-se perigoso para os seres humanos, causando vários tipos de doenças, como cardiopatias, vasodilatação, problemas neurológicos, alterações na tireóide e no pulmão.^{32,35,34,40,42,43,44} As principais fontes de exposição de cobalto aos seres humanos são por vias respiratória, dérmica ou por meio da dieta (água e alimentos contaminados).^{32,34,38,45} A absorção do cobalto pelo trato gastrointestinal e pela via respiratória é proporcional à solubilidade dos compostos de cobalto em meio biológico.³⁴ As indústrias são a principal fonte de contaminação ao lançar cobalto no ambiente, por volta de 30% para as indústrias de cerâmica e de tintas.^{38,45}

As legislações de controle para os valores permitidos de cobalto em alimentos, águas e ar são elaboradas de acordo com cada país. Nos Estados Unidos, os limites de consumo de cobalto considerados seguros a saúde humana são de $2 \text{ } \mu\text{gL}^{-1}$ para águas de consumo, $0,0004 \text{ } \mu\text{gm}^{-3}$ para o ar e 5 a $40 \text{ } \mu\text{gd}^{-1}$ para alimentos.³²

A CETESB (Companhia de Tecnologia de Saneamento Ambiental) no estado de São Paulo publicou no Diário Oficial do Estado um relatório estabelecendo valores orientadores para solos e águas subterrâneas para diferentes contaminantes. Os valores foram baseados na portaria 518 do Ministério da Saúde e

nos padrões de portabilidade do Guia da Organização Mundial de Saúde (OMS). Os valores considerados para intervenção são aqueles em que existem riscos potenciais à saúde humana. O máximo valor de cobalto permitido em solos, antes de ser necessário a intervenção, é de 90 mgkg^{-1} para solos industriais, 65 mgkg^{-1} para solos residenciais e 35 mgkg^{-1} para solos agrícolas (em peso seco). Em águas subterrâneas o valor estabelecido pelo CONAMA como limite para uma intervenção é de $5 \mu\text{gL}^{-1}$.^{39,46}

O cobalto apresenta duas zonas de exposição para a vida em que o excesso ou a falta deste elemento pode ocasionar prejuízos a saúde ou até mesmo a morte. Em função destes fatos, cresce a importância de procedimentos e técnicas analíticas com alta sensibilidade e baixos limites de detecção. Mas, por outro lado, não se deve esquecer que estes procedimentos e técnicas analíticas não devem ser ambientalmente prejudiciais, liberando resíduos em excesso ou prejudicando a saúde do analista.

2.2 Revisão da literatura

2.2.1 Métodos Analíticos para determinação de cobalto

A toxicidade do cobalto e a tendência de acumulação na cadeia alimentar torna fundamental o monitoramento deste elemento no solo, nas águas e nos alimentos. Por estas razões, surgem diversos procedimentos analíticos associados às mais variadas técnicas de detecção para atender os limites estabelecidos por órgãos legisladores da área da saúde e do meio ambiente, como exemplo temos cromatografia⁴⁷, eletroanalítica^{48,49}, espectrometria de absorção atômica com chama (FAAS)^{40,41,42,50,51}, espectrometria de absorção atômica com aquecimento eletrotérmico (ETAAS)⁵², espectrometria de absorção atômica com forno de grafite (GFAAS)⁵³, quimiluminescência^{54,55,56}, fluorescência de raios-X⁵⁷, procedimentos analíticos baseados em métodos espectrofotométricos^{44,45,58} entre outras^{59,60,61}.

Os novos procedimentos devem ser capazes de determinar traços de cobalto em amostras biológicas, solos, plantas, alimentos, águas, fertilizantes, além de atenderem aos requisitos da química limpa, como baixa geração de resíduos e redução de riscos ao analista e ao meio ambiente. A detecção fotométrica pode

alcançar esta finalidade ao ser associada a multicomutação por esta oferecer todos os recursos necessários.⁴¹

2.2.2 Análise espectrofotométrica para cobalto

Os procedimentos analíticos, de uma forma geral, produzem resíduos que devem passar por tratamento antes de ocorrer o descarte, sendo que este tratamento nem sempre é fácil, simples ou de custo reduzido. O consumo de reagentes é também um parâmetro a ser avaliado ao escolher ou propor um procedimento analítico ambientalmente sustentável. Esta condição tem sido alcançada através do desenvolvimento de procedimentos analíticos empregando análise por injeção sequencial (SIA)⁶², multicomutação (MCFA)^{63,64}, multisingas (MSFA)^{43,65} e outros processos envolvendo análise em fluxo.

A concentração de cobalto em águas é muito baixa e os procedimentos analíticos espectrofotométricos precisam de estratégias para melhorar a sensibilidade como pré-concentração^{40,41,44,45,52,58}, extração em ponto nuvem utilizando tensoativo^{36,51}, microextração dispersiva em fase líquida^{42,53}, entre outras técnicas. Estas estratégias mostram-se adequadas para a melhoria da sensibilidade. No entanto, necessitam de um processamento manual que envolve várias etapas trabalhosas, analistas qualificados, um alto consumo de tempo para a preparação da amostra antes da análise e também a geração de um grande volume de resíduos.^{36,40,42,44,45,51,53} Todos estes empecilhos, relacionados a procedimentos manuais, podem ser superados ao empregar sistemas de análise em fluxo.^{41,43,51,52,58}

Na literatura é visto diferentes metodologias para a determinação de cobalto, empregando espectrofotometria em conjunto com a análise em fluxo e em processos manuais.

Em 1981 Otto et al. realizaram um estudo para determinar cobalto, manganês e níquel através da catálise dos metais na reação de Tiron e peróxido de hidrogênio. Os autores relatam que a determinação de cobalto por esta reação foi realizada, primeiramente por Bognár em 1961 com o monitoramento do produto formado em 440 nm.^{66,67}

Otto, Rentsch e Werner (1983) publicaram um novo trabalho em que

determinam cobalto e manganês através da catálise destes metais na reação do Tiron com o peróxido de hidrogênio, utilizando modelos matemáticos e espectrofotometria. Os autores utilizaram o método simplex para determinar as concentrações ótimas de Tiron e de peróxido em $10^{-4} - 10^{-3}$ e $4 \times 10^{-4} - 12 \times 10^{-4} \text{ mol L}^{-1}$, respectivamente. Entretanto, ao realizar os experimentos, os autores relatam que ocorre um aumento do sinal analítico referente ao branco com a concentração de Tiron em $10^{-3} \text{ mol L}^{-1}$, o que resulta em baixa reprodutibilidade e limites de detecção ruim. O experimento foi repetido, levando em consideração o branco nos cálculos do método simplex. O ótimo foi encontrado com as concentrações de $5,0 \times 10^{-4} \text{ mol L}^{-1}$ de Tiron e $5 \times 10^{-4} \text{ mol L}^{-1}$ de peróxido. Otto, Rentsch e Werner (1983), relatam que a relação absorvância-tempo não apresentou linearidade na faixa de $2,0 \times 10^{-9} - 1,2 \times 10^{-7} \text{ mol L}^{-1} \text{ Co(II)}$, sendo necessário o uso de modelos matemáticos quadráticos ou cúbicos. O melhor ajuste encontrado, segundo os autores, foi o modelo cúbico de $\Delta A = a_0 + a_1x + a_2x^2 + a_3x^3$, com $a_0 = 7,8 \times 10^{-2}$; $a_1 = 3,2 \times 10^{-1}$; $a_2 = -3,9 \times 10^{-2}$; $a_3 = 1,7 \times 10^{-3}$. Para evitar o uso da equação cúbica, os autores empregaram métodos integrais com $1/(A_\infty - A_t)^2$ vs. Co(II) , sendo: A_∞ e A_t em tempo infinito e após 8 min, respectivamente. A equação utilizada foi resumida como: $(A_\infty - A_t)^{-2} = 1,5 \times 10^7 [\text{Co(II)}] + 0,31$.⁶⁸

Segundo Otto, Rentsch e Werner (1983), a reação entre o cobalto, o Tiron e o peróxido de hidrogênio forma um complexo em pH 10,4 devido ao radical semiquinona formado em condições alcalinas. O pH do meio reacional foi mantido em 10,4 com o uso do tampão carbonato. No artigo, é relatado que a reação não sofre influência da temperatura, iniciando-se instantaneamente no momento de contato dos reagentes. O procedimento proposto por Otto, Rentsch e Werner (1983) apresentou um limite de detecção de $0,05 \mu\text{g L}^{-1}$ para o cobalto, $0,20 \mu\text{g L}^{-1}$ para o manganês e desvio padrão relativo de 5,6 % ($n = 18$).⁶⁸

Em 1983 Otto e Werner publicaram um artigo sobre o mecanismo de formação do complexo cobalto(II)-Tiron-peróxido. Nesse artigo, os autores relatam que a tentativa de estabilização do branco com a diminuição da concentração do Tiron pode causar instabilidade no reagente e a redução do efeito catalítico do cobalto na reação. O excesso de peróxido de hidrogênio no meio pode causar a oxidação do reagente Tiron. O uso do tampão borato também influencia na reação,

pois pode suprimir a complexação do metal. Após a substituição do tampão borato pelo tampão carbonato o autor conseguiu variar as concentrações de Tiron e do peróxido no experimento. Os autores citam o aumento da atividade catalítica do cobalto com o aumento do pH do meio, não citando até que valor foi testado. A reação encontrada pelo autor pode ser vista na Figura 7.⁶⁹

Figura 7 - Reação catalítica do cobalto na reação Tiron-peróxido de hidrogênio em meio alcalino

Fonte: OTTO, et al., 1983.⁶⁸

Ainda utilizando a catálise do cobalto na reação do Tiron com o peróxido de hidrogênio, Marcé Calull e Borrull (1987), sugeriram um procedimento classificado como cinético-termométrico para determinação de cobalto em vitaminas B₁₂ em colírio. Nesse estudo, os autores encontraram como melhor resposta do sinal, a faixa de pH de 10,5 - 11,0. O método apresentou um desvio padrão relativo de 2,1% para 8,1 µg L⁻¹ de Co(II) com n = 8 e curva analítica na faixa de 3 a 120 µg L⁻¹. A reação descrita nesta metodologia requer uma sequência de adição dos reagentes e da amostra, onde Tiron, cobalto e tampão são inseridos em uma cela termométrica para esperar a estabilização da reação. Após a inserção dos reagentes na cela termométrica, ocorre a adição do peróxido de hidrogênio e o início da formação do produto. Os autores relatam que outra sequência de adição dos reagentes não produziu bons resultados.⁷⁰

No ano de 2012, Rohilla e Gupta propuseram um procedimento manual para determinação de cobalto em amostras de águas de torneira e de rio, complexando o metal com vermelho de alizarina em presença do surfactante Triton X-100, e o complexo formado foi monitorado em 549 nm. Rohilla e Gupta (2012) realizaram

testes com os surfactantes CTAB, CPB, SLS, Triton X-100, Tween-80 e Tween-20 e concluíram que o complexo formado na reação do cobalto com o reagente vermelho de alizarina foi mais estável e rapidamente formado na presença do surfactante Triton X-100. O método proposto por Rohilla e Gupta apresentou linearidade na faixa de 293 – 4124 μgL^{-1} e não foi informado o limite de detecção.⁷¹

Um trabalho publicado por Wen et al. (2013), uniram a determinação espectrofotométrica com o método de pré-concentração por extração em ponto nuvem, para determinar cobalto em amostras de águas de torneira, residuais e de rio. No processo de extração Wen et al. (2013) o reagente PAN (1-(2-pyridylazo)-2-naphthol) foi utilizado como quelante na reação com o cobalto e a extração foi realizada com a combinação do Triton X-1114 e do octanol. O método proposto foi realizado manualmente e apresentou limite de detecção de 0,6 μgL^{-1} .⁷²

Um procedimento baseado no processo de extração com membrana C18, realizado manualmente, para a determinação de cobalto foi apresentado por Amin em 2014. O reagente escolhido para a complexação do metal foi o 5-(2-benzothiazolylazo)-8-hydroxyquinoline (BTAHQ), utilizado álcool isopentil como eluente na extração do complexo. O método mostrou linearidade de 10 a 380 μgL^{-1} , limite de detecção de 3,1 μgL^{-1} e foi aplicado em amostras de águas, solos, biológicas e farmaceuticas.⁴⁵

Gavrilenko et al. (2015) desenvolveram um sensor óptico colorimétrico, para a determinação de cobalto em águas potáveis empregando polimetacrilato. O estudo mostrou a interação do cobalto com o reagente PAN (1-(2-pyridylazo)-2-naphthol) após a imobilização em polimetacrilato. A determinação do cobalto foi feita após o sensor ser inserido manualmente na solução/amostra contendo cobalto por aproximadamente 5 minutos, e a seguir a absorbância foi monitorada em 620 nm. Segundo os autores, o sensor garantiu uma linearidade de 50 a 500 μgL^{-1} e um limite de detecção de 30 μgL^{-1} .⁴⁴

A análise por injeção em fluxo permite utilizar diferentes técnicas, com as mais variadas reações, para determinar espectrofotometricamente cobalto em diferentes matrizes. A associação da análise em fluxo com a espectrofotometria trouxe como benefício métodos sensíveis, com tempo de análise reduzido e baixa geração de resíduos, quando comparado a métodos manuais.

Lin et al. (1993) utilizaram um sistema de análise em fluxo para determinar Co(II) e Mn(II) em amostras de águas e vitamina B₁₂, empregando espectrofotometria. O método foi baseado na reação do luminol com o periodato de potássio e catalisado pelos metais. O módulo de análise continha uma cela de fluxo em espiral feita de tubo de PTFE e posicionada próximo ao fotodetector. O sistema apresentou uma frequência de amostragem de 70 amostras por hora e um limite de detecção de 0,01 µg L⁻¹ Co(II).⁵⁴

Taljaard e Staden (1998) utilizaram um sistema de análise por injeção sequencial, para determinar Co (II) e Ni (II) em amostras de águas e extratos de solo empregando a reação dos metais com 4-(2-piridilazo)resorcinol (PAR) em meio alcalino (pH 8,0). O sistema foi totalmente computadorizado, equipado com uma cela de fluxo de 10 mm de caminho óptico e as determinações foram realizadas em 510 nm. O procedimento proposto pelos autores apresentou limite de detecção de 200,0 µg L⁻¹ Co(II), frequência analítica de 11 amostras por hora e desvio padrão relativo de 1,2 %.³⁵

Rama, Medina e Díaz (2003) propuseram um sistema de análise em fluxo com pré-concentração em gota (BIS-FIA, bead-injection spectroscopy-flow analysis) para determinação de cobalto em amostras de águas, ligas de aço e amostras farmacêuticas com detecção espectrofotométrica. Os autores utilizaram a resina Dowex 50W (600 µL) para pré-concentrar o reagente cromogênico 1-(2-piridilazo)-2-naftol (PAN) na cela de fluxo. Ao entrar em contato com o reagente cromogênico, o cobalto formava um complexo de coloração verde na superfície da cela de fluxo. Com este sistema, Rama, Medina e Díaz (2003) conseguiram um limite de detecção de 19,0 µg L⁻¹ Co(II), uma faixa linear 50,0 - 2000,0 µg L⁻¹ Co(II), RSD de 4,2 % e frequência analítica de 13 amostras por hora.⁵⁸

A determinação de cobalto (II), cádmio (II), zinco (II), cobre (II), chumbo (II), ferro (III) e mercúrio (II) em amostras de urina, solos e água foi proposto por Staden e Taljaard (2004). O procedimento proposto utilizou um sistema de análise por injeção sequencial (SIA) com calibração multivariada e detecção em diferentes comprimentos de onda. O método foi baseado na formação dos ditizonatos metálicos em meio etanólico com leitura em 420 nm e os complexos eram extraídos

do meio aquoso ao passarem por uma membrana de Teflon. O sistema proposto pelos autores apresentou uma frequência de amostragem de 27 determinações por hora e linearidade de 1,0 a 20,0 mgL⁻¹ de Co (II).⁷³

Em 2014, Chen e Li propuseram um método para determinação de cobalto em águas utilizando meio micelar em um procedimento de análise em fluxo com determinação espectrofotométrica. A reação utilizada na determinação do cobalto envolveu os reagentes “salicyl fluorone” e “cetylpyridinium bromide” em meio alcalino com o complexo monitorado em 540 nm. A reação estudada e o módulo proposto apresentaram resposta linear na faixa de 3,0 a 40,0 µgL⁻¹ Co(II), limite de detecção de 0,1 µgL⁻¹ Co(II) e frequência analítica de 60 amostras por hora.⁷⁴

Em 1987 Isshiki e Nakayama determinaram ultra-traços de cobalto em amostras de água purificada e água do mar utilizando o efeito catalítico desse metal na reação de oxidação do Tiron pelo peróxido. O sistema escolhido para a determinação do elemento cobalto foi um sistema de análise em fluxo segmentado e como detecção um espectrofotômetro Shimadzu UV-240. O Tiron é oxidado em meio alcalino por um reagente oxidante, formando um produto de coloração amarela. A reação de oxidação do reagente Tiron pode ser acelerada quando na presença de um catalisador, como o cobalto (II), e forma um produto estável por horas e com absorbância máxima em aproximadamente 440 nm. O efeito da alcalinidade na reação foi estudado por Isshiki e Nakayama (1987), utilizando os tampões fosfato, borato, amônio e carbonato. Segundo os autores, o tampão fosfato prejudicou a reprodutibilidade dos sinais devido à instabilidade em pH 11, o tampão borato interferiu no efeito catalítico do cobalto na reação e o tampão amônio apresentou instabilidade nos sinais, enquanto que o tampão carbonato demonstrou bons resultados.⁷⁵ Os autores relatam que o limite de detecção encontrado para o procedimento realizado manualmente foi de 0,6 µgL⁻¹ Co(II), enquanto que para o sistema proposto por eles o limite de detecção foi calculado por meio da relação sinal ruído e o valor foi de 0,003 µgL⁻¹ Co(II). Os autores relatam nesse trabalho que para concentrações maiores que 0,5 µgL⁻¹ há uma curvatura no gráfico devido à reação catalítica não poder ser considerada como pseudo ordem zero para a concentração dos reagentes. O método apresentou uma taxa de amostragem de 40

amostras por hora e desvio padrão de 1% para $0,1 \mu\text{gL}^{-1}$.⁷⁵

2.3 Parte Experimental

2.3.1 Reagentes e Soluções

Todos os reagentes utilizados foram de grau analítico e todas as soluções foram preparadas com água purificada com condutividade elétrica menor que $0,1 \mu\text{Scm}^{-1}$. As soluções foram armazenadas em frascos de vidro âmbar, envoltas em papel alumínio e preparadas diariamente.

As soluções padrão de cobalto foram preparadas da mesma forma para todas as metodologias testadas. A solução estoque de 1000 mgL^{-1} de cobalto foi preparada dissolvendo 2,3848 g de $\text{CoSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$ (Merck) em 100 mL de água, adicionado 5,0 mL de ácido nítrico concentrado. Após a dissolução, o volume foi aferido para 500,0 mL. As soluções de trabalho foram preparadas por diluição a partir da solução estoque (1000 mgL^{-1}) com acidez de $0,25 \text{ molL}^{-1}$ em HCl. Todas as soluções padrão foram preparadas diariamente e estocadas em frasco âmbar.

A solução de hidróxido de sódio $0,5 \text{ molL}^{-1}$ usada como fluido transportador e preparada por diluição a partir da solução estoque de NaOH $10,0 \text{ molL}^{-1}$.

A solução estoque do reagente Tiron foi preparado na concentração de $5,0 \text{ mmolL}^{-1}$ (dissódico 4,5-dihidroxibenzeno 1,3-disulfonato, Sigma Aldrich) ao dissolver 0,157 g do reagente em 100 mL de água.

Uma solução estoque de Mn^{2+} na concentração de 1000 mgL^{-1} foi preparada, dissolvendo 0,791 g de MnO_2 (JMC) em 100 mL de água e adicionado 5 mL de ácido clorídrico concentrado. Após dissolução, o volume foi completado para 500 mL com água.

Uma solução de trabalho contendo $1,0 \text{ Tiron mmolL}^{-1}$ e $5,0 \text{ Mn}^{2+} \text{ mgL}^{-1}$ foi preparada por diluição da solução estoque de $5,0 \text{ mmolL}^{-1}$ de Tiron e com a adição de 250 μL da solução estoque de manganês. Esta solução também foi preparada diariamente e o volume utilizado para o dia foi de 25 mL.

A solução de $0,1 \text{ molL}^{-1}$ de pirofosfato de sódio ($\text{Na}_4\text{P}_2\text{O}_7 \cdot 10\text{H}_2\text{O}$) foi preparada dissolvendo 2,231 g de pirofosfato (Acros Organics) em 50 mL de água. Em seguida, o pH foi ajustado para 9,0 usando uma solução de HCl $0,1 \text{ molL}^{-1}$.

A solução estoque de peróxido de hidrogênio com concentração de 0,011

molL^{-1} foi preparada por diluição da solução concentrada 30 % (v/v) (Merck). Após preparada a solução estoque foi padronizada pela metodologia de permanganato de sódio, armazenada em frasco escuro e envolto em papel alumínio. A solução estoque pode ser utilizada por uma semana ao ser mantida refrigerada a 4°C. A solução de trabalho de peróxido de hidrogênio $0,75 \text{ mmolL}^{-1}$ foi preparada diariamente por diluição da solução estoque $0,011 \text{ molL}^{-1}$ padronizada.

A solução estoque de peróxido de hidrogênio foi padronizada utilizando o permanganato de potássio como padrão secundário. O permanganato foi previamente padronizado com o padrão primário oxalato de sódio anidro puro ($\text{Na}_2\text{C}_2\text{O}_4$). Para o preparo da solução de permanganato de potássio, foi dissolvida 3,2 g de KMnO_4 em 2,0 L de água e levado a ebulição por 30 minutos. Após esta etapa, a solução foi filtrada em cadinho de placa porosa e armazenada em frasco escuro, envolto em papel alumínio. O oxalato de sódio foi seco em estufa a 110 °C por 24 horas e resfriado em dessecador antes de ser utilizado. A massa de 0,1 g do reagente oxalato de sódio foi pesada no momento da padronização do permanganato, adicionado 100,0 mL de água e 0,6 mL de ácido sulfúrico concentrado.

2.3.2 Amostras

Amostras de águas do rio de Piracicaba e de lagos foram coletadas em frascos de polietileno. As amostras foram inicialmente filtradas usando uma membrana de acetato celulose com porosidade de 0,45 microns. Em seguida, as amostras filtradas foram acidificadas para $0,25 \text{ molL}^{-1}$ HCl utilizando ácido clorídrico concentrado.

2.3.3 Equipamentos e acessórios

Para o desenvolvimento do sistema de detecção e dos procedimentos analíticos foram empregados os seguintes equipamentos e acessórios: um microcomputador equipado com interface de controle e aquisição de dados PCL711; interface digital para acionamento das mini-bombas; fonte de corrente contínua estabilizada em 12 V e intensidade de corrente de 1 A para alimentar as mini-bombas e as válvulas solenoide; três válvulas solenoide de 3 vias, NReaserach

161T031; fonte de alimentação de corrente contínua regulada em -12 V e + 12 V, para alimentar o fotômetro; interface de potência para acionamento das válvulas solenoide e das mini-bombas; três mini-bombas solenoide Bio-Chen Valves (uma 120SP1240-5TV/12VDC 1211261 e duas 120SP1220-5TV/12VDC 1221215); acrílico para construção de componentes do módulo de análise; tubos de polietileno para construção de bobinas de reação e linhas de fluxo; amplificadores operacionais para montagem de interface com o sistema de transdução de sinal de resposta rápida e de baixo nível de ruído; LED de alto brilho e ângulo de emissão estreito ($< 25^\circ$), máximo de emissão em 425 nm; fotodiodo OPT301 (Burr-Brown); resistores diversos; capacitores diversos; placa de circuito impresso em fibra de vidro; cela de fluxo com caminho óptico de 100 mm.

2.3.4 Descrição do fotômetro

O sistema de detecção fotométrica compreende um fotodetector OPT301 (Texas Instruments) e um LED com emissão máxima de acordo com o produto formado e a análise desejada.

O fotômetro consiste de um LED com 5 mm ($\lambda = 425$ nm) e um fotodiodo, desenhado para ser acoplado em uma cela de fluxo com um caminho óptico de 100 mm. A cela de fluxo foi construída empregando um tubo de vidro de 1,2 mm, tendo guias de onda na entrada e na saída do feixe de radiação. O fotodetector e o LED foram acoplados à cela de fluxo, empregando uma geometria que maximiza o aproveitamento do feixe de radiação eletromagnética emitido pelo LED. A medição do comprimento de onda em espectrofotômetros baseados em LED's é feita em celas de quartzo ou vidro, com uma janela direcionada para o LED e outra voltada para o fotodetector.⁹ O sistema de detecção foi acondicionado em uma caixa de madeira para evitar interferência de luz externa. Na Figura 8 é mostrado a montagem do fotômetro.

Figura 8 - Diagrama do fotômetro. LED = diodo emissor de luz , $\lambda_{\max} = 425 \text{ nm}$; I_a e I_b = feixe de radiação eletromagnética emitida pelo LED e chegando ao fotodetector, respectivamente; gc = cilindros de vidro. 100 mm de comprimento e 1,2 mm de diâmetro; fc = corpo da cela de fluxo, tubo de vidro com 100 mm comprimento e 1,2 mm de diâmetro interno; Det = fotodetector, OPT301 (Burr-Brown); Si = sinal (mV); in e out = entrada e saída das soluções; Tr = transistor BC547.

Fonte: Dias et al., 2014.⁷⁷

O feixe de radiação (I_a) é emitido pelo diodo emissor de luz (LED) e recolhido pelo cilindro de vidro (gc) que funciona como uma guia de onda. O feixe de radiação do LED é transmitido para dentro da célula de fluxo (fc). Na outra extremidade da célula de fluxo, o feixe de radiação (I_b) é recebido por outro guia de onda (gc₂) e transmitido para a janela de observação do fotodetector (Det), gerando uma diferença de potencial elétrico (mV). O sinal gerado (mV) pelo fotodetector tem uma relação linear com a intensidade do feixe de radiação (I_b) recebido.

Ao ser inserido dentro da cela de fluxo uma solução que não absorve a radiação do feixe emitido inicialmente (I_a) não haverá variação de sinal, pois, o feixe transmitido através da cela (I_b) tem intensidade praticamente igual ao feixe emitido inicialmente (I_a). Quando a solução inserida absorve a radiação, ocorre uma redução do feixe de radiação transmitido através da cela (I_b) e consequentemente ocorrerá uma variação na diferença de potencial elétrico gerado (mV).

Esta característica é explorada no trabalho em curso para obter a absorção, considerando-se que o composto monitorado absorve a radiação seguindo a lei Bouguer-Lambert-Beer's.⁷⁶

2.3.5 Descrição do sistema de fluxo e desenvolvimento do programa

O método é baseado na catalise do Co (II) durante a oxidação do Tiron pelo peróxido de hidrogênio em meio alcalino, formando um composto colorido que pode ser detectado em 425 nm, como exibido na Figura 9.⁷⁵

Figura 9 - Espectro de absorção da oxidação do Tiron em meio alcalino (pH 10,5). (1) Espectro da solução sem cobalto (II). (2) Espectro da solução contendo 100 pgL^{-1} de cobalto(II).

Fonte: ISSHIKI et al., 1987.⁷⁵

A fim de satisfazer as condições necessárias para o desenvolvimento da reação, a amostra e três soluções de reagentes devem ser manuseadas. O módulo de análise mostrado na Figura 10 foi baseado no processo de multicomutação em análise em fluxo (MCFA) e projetado para atender as necessidades da reação e o manuseio das soluções.

Figura 10 - Diagrama do modulo de análise: P_1 , P_2 e P_3 = mini-bombas solenoide; L = alça de amostragem, 50 cm comprimento e 0,8 mm de diâmetro interno; R_c = bobina de reação, 40 de comprimento e 0,8 mm de diâmetro interno; x e y = confluência de três vias, construídas em acrílico; V_1 , V_2 e V_3 = válvulas solenoide de três vias; R_1 , R_2 e R_3 = soluções de pirofosfato de sódio, Tiron e peróxido de hidrogênio, respectivamente; S e C_s = amostra e solução transportadora, respectivamente; Det = fotômetro, $\lambda = 425$ nm; W = descarte.

Fonte: Autoria Própria.

Inicialmente, o sistema de fluxo mostrado na Figura 10 encontra-se na condição de espera e nenhuma solução flui através do percurso analítico. Ao iniciar o programa de controle, as válvulas solenoide e as mini-bombas solenoide são ligado/desligado seguindo o padrão do tempo de comutação, como representado na parte inferior da Figura 10.

Ao iniciar o programa, o microcomputador pergunta se o processo de calibração deve ser realizado. Se a resposta for positiva, o microcomputador acionará mini-bomba P_2 (Figura 10) ligando e desligando sequencialmente 20 vezes para preencher a célula de fluxo do fotômetro (Figura 8) com o fluido transportador. Em seguida, a intensidade da emissão do LED deve ser aumentada até o sinal gerado pelo fotômetro (sinal completo, F_s), atingir o valor de 2000 mV. Depois disso, a célula de fluxo deve ser preenchida com duas soluções coloridas, as quais foram

previamente preparadas utilizando soluções de Co (II) com concentrações de 10,0 e 20,0 mgL⁻¹. Estas soluções foram preparadas misturando volumes apropriados das soluções de Co (II) de 10,0 e 20,0 mgL⁻¹ com 2,0 mL de uma solução Tiron (5,0 mmolL⁻¹) e 2,0 mL de uma solução de peróxido de hidrogênio (0,01 molL⁻¹). Os sinais gerados pelo fotômetro usando estas soluções são identificados como medições de radiação difusa (Sm₁, Sm₂). As medições da radiação difusa e o valor da escala completa (Fs) foram salvos para serem utilizados no cálculo da absorvância. O processo de calibração foi efetuado uma vez ao dia, vinte minutos depois de fotômetro ser ligado. Após ser realizada a calibração do fotômetro, iniciam-se as etapas de amostragem e reação.

Na etapa de amostragem (St₁) a mini-bomba P₁ é acionada três vezes em conjunto com as válvulas solenoide V₁, V₂ e V₃, sequencialmente. Sob esta condição, uma alíquota da amostra e uma alíquota de cada solução reagente (R₁, R₂) são inseridas sequencialmente através das válvulas solenoide V₁, V₂ e V₃ em direção à alça de amostragem (L). Este processo é denominado como ciclo de amostragem e pode ser repetido até o preenchimento da alça de amostragem (L) com a mistura de amostra e dos reagentes R₁ e R₂.

Em seguida, inicia-se a fase St₂ ao acionar as mini-bombas P₂ e P₃. Durante esta etapa, todas as válvulas solenoide e a mini-bomba solenoide P₁ são mantidas desligadas. Nesta condição, a zona de amostra e as soluções dos reagentes são deslocadas da alça de amostragem (L) para a bobina de reação (Rc), sofrendo um encontro com a solução reagente peróxido de hidrogênio (R₃), inserido pela mini-bomba P₃, através da confluência (y). Este evento é repetido várias vezes a fim de assegurar deslocamento completo da amostra da alça de amostragem (L) para a bobina de reação (Rc).

A reação de oxidação do reagente Tiron, catalisada pelo Co (II), ocorre durante o deslocamento até o fotodetector (Det). O sinal gerado pela diferença do feixe de radiação emitido pelo LED, recebido pelo fotodetector, é convertido para digital e armazenado com formato ASCII para posterior tratamento matemático. Ao finalizar a etapa de leitura, a bobina de reação já estava limpa e pronta para a próxima determinação.

A leitura do sinal foi realizada com a zona de reação parada e o software é

instruído para detectar o valor máximo do sinal analítico e exibi-lo na tela do microcomputador, facilitando assim o monitoramento da reação. As medições relacionadas com solução padrão de Co (II) foram usadas para obter a curva analítica, enquanto aqueles relacionados com as amostras foram utilizadas para calcular a concentração do analito.

O desenvolvimento do procedimento analítico compreendeu ensaios envolvendo o número de ciclos de amostragem, o tempo para o desenvolvimento da reação e o estudo da concentração dos reagentes.

O software foi desenvolvido em função das características do procedimento analítico, empregando como linguagem de programação o Quick BASIC. O programa foi desenvolvido para controlar o acionamento das válvulas solenoide, das mini-bombas solenoide e realizar a aquisição do sinal analítico.

A variação do acionamento das mini-bombas era realizada por software, quando este era inicializado. Era permitida a atualização das variáveis de controle no painel de entrada para facilitar a alteração necessária durante o desenvolvimento de procedimento analítico. As variáveis são: número de ciclos de amostragem; número de replicatas; tempo de repouso para completar o desenvolvimento da reação; tempo de leitura do sinal analítico; ciclos de acionamento das mini-bombas P_2 e P_3 ; ciclos de acionamento da mini-bomba P_1 e das válvulas solenoide que controlam a inserção da amostra e das soluções de Tiron e peróxido de hidrogênio. Os volumes das soluções dos reagentes e da amostra foram obtidos considerando o número de vezes do acionamento de cada mini-bomba.

2.4 Resultados e Discussão

2.4.1 Comentários gerais

O reagente Tiron é lentamente oxidado pelo peróxido de hidrogênio em meio alcalino, formando um produto de coloração verde. O cobalto age como catalisador da reação de oxidação do Tiron quando o meio está alcalino. O espectro de absorção do produto da reação Co-Tiron- H_2O_2 em tampão pirofosfato foi medido usando um espectrofotômetro UV-Vis USB 4000 (Ocean Optics, Dunedin, FL, EUA) equipado com uma cela de quartzo com 1,0 cm de comprimento de caminho óptico e pode ser visto na Figura 11. Analisando o espectro do produto formado, podemos observar que a absorção máxima é em torno de 425 nm. Com base neste resultado, um diodo emissor de luz com emissão máxima em 425 nm e banda de ≈ 25 nm foi selecionado para ser utilizado como fonte de radiação. A banda do LED selecionado é mais estreita do que o espectro de absorção do composto a ser monitorizado, permitindo aproveitar o máximo do feixe de radiação.

Figura 11 - Espectro de absorção do composto de cobalto. Os registros *a* e *b* correspondem às soluções do branco e a $0,3 \mu\text{L}^{-1}$ Co (II), respectivamente.

Fonte: Autoria Própria

Normalmente, quando o LED é usado como fonte de radiação na detecção fotométrica, a absorbância é calculada considerando a medição no escuro.^{74,77,78} Trabalhos recentes, usando uma cela de fluxo com geometria idêntica à utilizada no presente trabalho, demonstraram que há uma melhor adequação à lei Bouguer-Lambert-Beer quando o sinal da leitura no escuro é substituído pela leitura da

radiação difusa.^{77,78}, o que foi feito utilizando a equação mostrada abaixo.

$$\text{Abs} = \log[(F_s - S_m)/(S_i - S_m)] = kcx.$$

Onde: Abs = absorvância; F_s = sinal (mV) gerado pelo fotodetector ao preencher a cela de fluxo com a solução transportadora; S_i = sinal (mV) gerado pelo fotodetector ao preencher a cela de fluxo com uma solução que absorva a luz; S_m = medida residual (mV).

Os sinais de F_s e S_m foram conseguidos na etapa de calibração do fotômetro, como descrito no tópico **2.3.5**. Os valores dos sinais de S_{m1} e S_{m2} obtidos durante a calibração do fotômetro foram 42,98 e 43,40 mV. Uma vez que estas medidas são praticamente iguais (média = 43,19 mV), podemos considerar que os valores não possuem relação com a concentração do analito, portanto, seria atribuída à radiação difusa.^{77,78} A diferença entre os valores medidos em S_{m2} e S_{m1} pode ser atribuída ao ruído eletrônico, e sendo assim, o valor de S_m foi tomando como a média das medições entre S_{m1} e S_{m2} .

A etapa de calibração foi realizada 20 minutos depois de ligar o fotômetro. Foram realizados ensaios para verificar a variação dos valores de S_m e pode-se afirmar que não houve variação significativa deste valor (S_m), mantendo em 2000 mV a leitura de escala cheia (F_s). Assim, a medição residual foi realizada uma vez por semana.

2.4.2 Efeito da alcalinidade no desenvolvimento da reação

A alcalinidade pode influenciar o desenvolvimento da reação, então foram realizados estudos variando o pH da solução tampão pirofosfato de 7,6 a 13,0, utilizando uma solução de hidróxido de sódio $0,5 \text{ molL}^{-1}$. Os resultados são apresentados na Figura 12.

Figura 12 - Efeito da alcalinidade na formação do composto. Os registros A e B são referentes a solução padrão de Co e o branco, ambos com pH 7,6, respectivamente; C e D são referentes ao branco em pH 9,0 e em pH 13,0, respectivamente; E e F são referentes a solução padrão de Co em pH 9,0 e pH 13,0, respectivamente.

Fonte: Autoria própria.

As condições operacionais utilizadas neste experimento foram: solução padrão $0,3 \mu\text{g L}^{-1}$ Co (II), soluções de $1,0 \text{ mmol L}^{-1}$ Tiron e $0,5 \text{ mmol L}^{-1}$ peróxido de hidrogênio. Os experimentos foram realizados manualmente utilizando 1,0 mL de amostra, 0,5 mL de solução reagente de Tiron e 0,2 mL de solução reagente de peróxido de hidrogênio. O pH foi ajustado utilizando uma solução de $0,5 \text{ mol L}^{-1}$ NaOH.

Analisando os espectros exibidos na Figura 12, observamos que o pH do meio reacional exerce forte influência no desenvolvimento da reação. Os resultados encontrados neste trabalho são concordantes com os da literatura. Segundo Otto, Rentsch e Werner (1983) e Gomes et al. (2012), ocorre uma melhora na sensibilidade dos métodos ao aumentar a alcalinidade do meio.^{68,79} Otto, Rentsch e Werner (1983) sugerem que a melhora na sensibilidade é devido um aumento na atividade catalítica do cobalto com o aumento da alcalinidade.⁶⁸

Utilizando as medidas realizadas com as soluções em pH 9,0 como referência, observa-se um aumento de 42% no sinal analítico em condições mais

alcalinas (pH 13,0). Sendo assim, a solução de $0,75 \text{ molL}^{-1}$ de NaOH foi selecionada para o ajuste da alcalinidade do meio reacional.

2.4.3 Efeito da concentração dos reagentes

A fim de avaliar o efeito da concentração de peróxido de hidrogênio na reação, foi realizado o estudo variando a concentração da solução de peróxido de hidrogênio de $0,25$ a $1,00 \text{ mmolL}^{-1}$. Todas as outras soluções foram mantidas nas concentrações: $1,00 \text{ mmolL}^{-1}$ Tiron, $0,10 \text{ molL}^{-1}$ pirofosfato e $0,75 \text{ molL}^{-1}$ de hidróxido de sódio. Uma solução de $5,00 \text{ } \mu\text{gL}^{-1}$ Co (II) e a solução do branco foram usadas como modelo para observação de variações.

Ao analisar os resultados relacionados com a solução do branco não foi observada variação significativa nos sinais analíticos, enquanto que para os resultados obtidos usando a solução padrão de Co (II) foi observado um aumento em torno de 20% no sinal analítico para a concentração de $0,75 \text{ mmolL}^{-1}$ da solução de peróxido de hidrogênio, Figura 13.

Figura 13 - Estudo do efeito da concentração do peróxido de hidrogênio na formação do produto.

Fonte: Autoria própria.

Maiores concentrações da solução de peróxido de hidrogênio liberavam o gás oxigênio dentro da cela de fluxo provocando distorção no sinal analítico e diminuindo a precisão das medidas. Assim, a solução de peróxido de hidrogênio na concentração de $0,75 \text{ mmol L}^{-1}$ foi selecionada para os próximos estudos.

Para avaliar o efeito da concentração das soluções do reagente Tiron foram variados as concentrações das soluções de $0,5$ a $5,0 \text{ mmol L}^{-1}$ de Tiron. As concentrações de $0,75 \text{ mmol L}^{-1}$ peróxido de hidrogênio, $0,1 \text{ mol L}^{-1}$ pirofosfato e $0,75 \text{ mol L}^{-1}$ de hidróxido de sódio foram mantidas durante o experimento.

Os resultados mostram um aumento no sinal em torno de 5% quando a concentração do reagente Tiron varia de $0,5$ a $2,0 \text{ mmol L}^{-1}$, seguindo de uma diminuição por volta de 15% para maiores concentrações, como exibido na Figura 14. Baseado nestes resultados foi selecionado a concentração de $1,0 \text{ mmol L}^{-1}$ para prosseguir com os experimentos.

Figura 14 - Estudo do efeito da concentração do reagente Tiron.

Fonte: Autoria própria.

O meio de preparo da solução do reagente Tiron também foi testado. Soluções com concentração de $1,0 \text{ mmol L}^{-1}$ de Tiron foram preparadas em meio aquoso e em meio alcalino de $0,75 \text{ mol L}^{-1}$ de NaOH. Na Figura 15, observa-se que com o aumento do pH não há diferença significativa entre o sinal do branco e das

soluções de referência do cobalto (Figura 15, curva A). Talvez tenha ocorrido a degradação do Tiron quando em meio alcalino, impossibilitando sua reação com o peróxido e a formação do produto desejado.

Figura 15 - Estudo do efeito do meio de preparo do Tiron.

Fonte: Autoria própria.

2.4.4 Efeito da temperatura na formação do produto

A temperatura pode influenciar a reação catalítica ao aumentar ou diminuir a velocidade de formação do composto. O efeito da catálise do cobalto na reação de oxidação do Tiron é citado em literatura como susceptível a variação de temperatura.⁷⁹ Gomes et al. (2012) relatam que a temperatura do meio reacional pode aumentar o valor do sinal analítico. Os autores citam que na temperatura de 60° C foi obtido um acréscimo de 20% no sinal máximo.⁷⁹

Em temperaturas mais elevadas existe a tendência natural da liberação de pequenas bolhas de oxigênio que ficam retidas na cela de fluxo. Neste experimento, os resultados obtidos em temperaturas superiores a 25° C mostraram este feito. Entretanto, devido à presença da solução de peróxido de hidrogênio o efeito do acúmulo de bolhas na cela de fluxo foi mais acentuado que o usual. Assim, neste trabalho todos os experimentos foram realizados em temperatura de 25 °C.

2.4.5 Efeito do tempo de reação

As reações cinéticas são dependentes do tempo para o completo desenvolvimento da reação. Em métodos cinéticos em sistemas de análise em fluxo, são utilizados ferramentas para aumentar o tempo de residência da zona da amostra e ocorrer o desenvolvimento da reação. Uma das técnicas empregadas é a parada da zona da amostra na cela de fluxo, que permite um aumento da sensibilidade sem que ocorra um aumento da dispersão da amostra no percurso analítico. O tempo de parada de fluxo tem como desvantagem uma redução na frequência analítica.

No presente trabalho, foi explorado o efeito catalítico do cobalto na reação de oxidação do Tiron como uma ferramenta para determinação do cobalto. Assim, foi necessária a avaliação do intervalo de tempo para o desenvolvimento da reação.

Os ensaios foram realizados utilizando as condições operacionais estabelecidas nas seções anteriores e processando as amostras do branco e da solução padrão de $0,5 \mu\text{g L}^{-1}$ Co (II). O bombeamento foi interrompido após a aplicação de 15 ciclos (liga/desliga) nas mini-bombas P_2 e P_3 (Fig. 10), para ocorrer a mistura da amostra com a solução de peróxido de hidrogênio e deslocar para bobina reacional (R_c). Após os intervalos de tempo pré-definidos, as mini-bombas foram acionadas novamente para deslocar o produto formado da bobina de reação (R_c) para o fotômetro. Os resultados referentes aos tempos de parada de fluxo são exibidos na Figura 16.

Figura 16 - Estudo do efeito do tempo na geração do sinal analítico. Curves A e B correspondem ao branco e a solução padrão de $0,5 \mu\text{g L}^{-1}$ Co (II), respectivamente.

Fonte: Autoria própria.

As condições operacionais para este estudo foram: bobina de amostragem com comprimento de 50 cm e volume de 250 μL ; Soluções de Tiron, pirofosfato de sódio ($\text{pH} = 13$) e peróxido de hidrogênio com concentrações de $1,0 \text{ mmol L}^{-1}$, $0,1 \text{ mmol L}^{-1}$ e $0,75 \text{ mmol L}^{-1}$, respectivamente.

Analizando o gráfico exibido na Figura 16, observa-se que ambos os sinais aumentam com o aumento do tempo de parada de fluxo, com tendência a valor constante para tempos maiores que 125 s. Nos primeiros 50 s, a curva relacionada à solução de cobalto mostra um maior aumento do que a observada para a solução do branco, devido ao efeito catalítico do cobalto na reação.

Maiores valores da diferença entre as curvas do padrão e do branco são observados no intervalo de tempo de 45 a 60 s. Utilizando esta diferença como parâmetro de medida, o intervalo de tempo de 45 s foi selecionado a fim de alcançar a melhor resposta de sinal analítico, sem sacrificar a frequência de amostragem.

2.4.6 Comprimento da bobina de reação

No sistema em fluxo proposto neste trabalho foi construído com duas bobinas de reação, L e Rc. A bobina L é equivalente a uma de alça de amostragem, mantida em 50 cm de comprimento (volume interno de 250 μL) para todos os experimentos.

A alça de amostragem (L) foi utilizada para que em um primeiro momento, ocorresse a mistura da amostra com a solução do reagente Tiron e a solução de pirofosfato de sódio, utilizada como solução inibidora de interferentes.

A bobina Rc foi chamada de bobina de reação e foi utilizada para o ajuste do pH e inserção da solução do reagente peróxido de hidrogênio. Nesta bobina (Rc) ocorria a oxidação da solução do reagente Tiron e a formação do produto ao qual era realizado a leitura.

Neste experimento, foram realizados testes com a bobina de reação (Rc) com comprimentos de 40 e 85 cm. As condições experimentais utilizadas foram: $1,0 \text{ mmolL}^{-1}$ de Tiron; $0,75 \text{ mmolL}^{-1}$ peróxido de hidrogênio; $0,1 \text{ molL}^{-1}$ pirofosfato; $0,75 \text{ molL}^{-1}$ NaOH.

Figura 17 - Estudo do comprimento da bobina de reação Rc. Curvas A e B correspondem às bobinas de 40 e 80 cm, respectivamente.

Fonte: Autoria própria.

Ao analisar estas curvas, observa-se que o aumento na sensibilidade ao duplicar o comprimento da bobina não é significativo, portanto, não se justifica o uso de uma bobina maior.

Conforme indicado na parte experimental, as alíquotas de hidróxido de sódio e de peróxido de hidrogênio eram inseridas na zona de amostra através das

confluências (x) e (y), respectivamente. A inserção dos reagentes com a pulsação das mini-bombas facilitou a mistura, contribuindo para a formação do produto e para o uso da bobina de reação R_c de menor volume.

2.4.7 Estudo dos volumes das soluções

Os resultados discutidos nas seções anteriores foram alcançados inserindo no percurso analítico pequenas alíquotas de solução da amostra em conjunto com pequenas alíquotas das soluções de Tiron, pirofosfato e hidróxido de sódio.

Com o intuito de avaliar o efeito de pequenas frações de volume da amostra na magnitude do sinal analítico, um conjunto de ensaios foi realizado variando de um a três vezes o número de acionamento da mini-bomba P_1 para inserir a solução da amostra na bobina de amostragem (L). Este conjunto de ensaios foi realizado, mantendo as outras condições operacionais como definidos anteriormente, 10 ciclos de amostragem e 12 ciclos de acionamento aplicados às mini-bombas P_2 e P_3 na etapa de leitura de sinal. As concentrações utilizadas para as soluções neste experimento foram: $1,0 \text{ mmolL}^{-1}$ de Tiron; $0,75 \text{ mmolL}^{-1}$ de peróxido de hidrogênio; $0,1 \text{ molL}^{-1}$ de pirofosfato; e $0,75 \text{ molL}^{-1}$ NaOH.

Os resultados obtidos com a variação do volume da amostra influenciam o desenvolvimento da reação, pois o cobalto é o agente catalisador da oxidação do Tiron. Os sinais analíticos em absorbância encontrados, aplicando um e dois pulsos para a inserção do branco e da solução padrão $1,5 \text{ } \mu\text{gL}^{-1}$ Co (II), foram 0,071 e 0,097 para o branco e 0,479 e 0,494 para a solução de cobalto. Analisando estes dados, a diferença entre eles não é significativa. O valor da absorbância encontrado para o padrão de $1,5 \text{ } \mu\text{gL}^{-1}$ Co (II) ao ser aplicado três pulsos na mini-bomba P_1 foi de 0,399, indicando assim um decréscimo de 20 %. A redução do sinal analítico, quando foram aplicados três pulsos na minibomba para inserção da amostra pode ser resultado de dois fatores em conjunto: a diluição e a ausência de reagente suficiente para o desenvolvimento da reação.

Figura 18 - Estudo do volume de amostra inserido.

Fonte: Autoria própria.

Os ensaios para a seleção dos volumes das soluções de Tiron e peróxido de hidrogênio foram realizados seguindo uma estratégia similar a descrita para a amostra no parágrafo anterior. A influência da solução do peróxido na magnitude do sinal analítico é mostrada na Figura 19. Observa-se a mesma tendência encontrada no estudo do volume da amostra. Como no estudo do volume da amostra, há um decaimento na magnitude do sinal analítico com o aumento do volume de peróxido em três pulsos da mini-bomba P_3 .

Figura 19 - Estudo do volume de inserção do peróxido.

Fonte: Autoria própria.

A mesma tendência de diminuição da magnitude do sinal analítico com o aumento do número de pulsos das soluções, como observado nos estudos referentes ao volume da solução de amostra e ao volume da solução do reagente peróxido, é observado no estudo da influência do volume da solução de Tiron no desenvolvimento da reação, Figura 20.

Figura 20 - Estudo do volume de inserção do Tiron.

Fonte: Autoria própria.

Baseado nos resultados apresentados e discutidos nos itens precedentes foi definido que para cada ciclo de amostragem seria constituído por um pulso de cada solução de reagente (P_1 e P_3) e dois pulsos da solução da amostra (P_1) aplicados às mini-bombas.

Os resultados apresentados anteriormente foram alcançados aplicando 10 ciclos de amostragem e 12 pulsos das mini-bombas P_2 e P_3 , para inserção da solução de peróxido de hidrogênio e deslocamento da zona de amostra da bobina de amostragem (L) para a bobina reacional (R_c).

No processo de amostragem ocorreu a inserção de alíquotas das soluções de amostra, Tiron e pirofosfato de sódio na bobina (L). Ensaios posteriores mostraram que os 10 ciclos para a etapa de amostragem foram suficientes para o preenchimento da bobina de amostragem (L).

Para a etapa da adição da solução de peróxido de hidrogênio, foram obtidos melhores resultados aplicando 15 pulsos nas mini-bombas P_2 e P_3 . Na Figura 21 pode-se observar que há um aumento dos sinais até 15 pulsos, ocorrendo redução para valores mais altos. A leitura do sinal era realizada com a zona da amostra parada na cela, então a partir de 15 pulsos, a parte mais concentrada da zona da amostra já tinha passado pela cela de fluxo. Em vista disso, para dar continuidade ao trabalho, foram escolhidos 15 pulsos para as mini-bombas P_2 e P_3 .

Figura 21 - Estudo dos ciclos de inserção de peróxido de hidrogênio. A – Solução padrão de cobalto de $0,5 \mu\text{gL}^{-1}$; B – solução do branco.

Fonte: Autoria própria.

Todos os ensaios discutidos nas seções anteriores foram realizados com o intuito de selecionar a melhor condição operacional. Os resultados foram resumidos na Tabela 1 e foram empregados para processar as amostras de águas.

Tabela 1- Parâmetros avaliados e os valores selecionados para o sistema proposto

Parâmetros	Faixa de estudo	Valor selecionado
Solução de pirofosfato (molL^{-1})	0,1 – 0,2	0,1
Alcalinidade do meio reacional (pH)	7,6 – 13,0	13,0
Solução de H_2O_2 (mmolL^{-1})	0,25 – 1,00	0,75
Solução de Tiron (mmolL^{-1})	0,5 – 5,0	1,0
Intervalo de tempo para o desenvolvimento da reação (s)	1 – 180	45
Volume da amostra (μL) [*]	29, 58, 87	58
Volume da solução de Tiron (μL) [*]	29, 58, 87	29
Volume da solução de H_2O_2 (μL) [*]	28, 56, 84	28
Comprimento de onda (nm)	380 – 700	425
Ciclos de amostragem	1 – 15	10
Etapas de leitura (pulsos)	1 – 20	15

^{*} Volume adicionado por ciclo de amostragem.

Com o intuito de avaliar o desempenho do procedimento e do módulo de análise proposto, um conjunto de soluções padrão de Co (II) foi processado, utilizando os parâmetros descritos na Tabela 1 e os sinais gerados mostraram uma resposta linear de 0,13 - 1,50 $\mu\text{g L}^{-1}$ Co (II) ($R^2 = 0,998$)

Nas condições estabelecidas, o procedimento proposto apresentou um desvio padrão relativo de 0,04% ($n = 13$) para uma amostra com 0,5 $\mu\text{g L}^{-1}$ de Co, limite de detecção de 0,06 $\mu\text{g L}^{-1}$ de Co(II) ($n = 10$) e frequência analítica de 42 determinações por hora.

2.4.8 Estudo das potenciais espécies interferentes

A reação de oxidação do Tiron pelo peróxido de hidrogênio pode ser catalisada por outros íons como o Al (III), Ca (II), Cr (III), Cr (IV), Cu (II), Fe (II), Fe (III), Mg (II), Mn (II), Ni (II), Pb (II), V (V) e Zn (II).⁷⁹ Estudos preliminares foram realizados para avaliar o efeito destas espécies químicas na reação e se causam ou não interferência. Os testes foram realizados usando duas soluções padrão de cobalto de 0,25 $\mu\text{g L}^{-1}$, uma com a espécie interferente e a outra sem. O critério de avaliação da interferência foi a variação de $\pm 5 \%$ no valor do sinal analítico ao analisar a solução contendo a espécie interferente.

Ao analisar a Tabela 2, observa-se que algumas espécies afetaram desfavoravelmente o valor do sinal analítico e são consideradas interferentes. Com a intenção de superar a interferência, as soluções de trietanolamina, 8-hidroxiquinolina, pirofosfato de sódio e KSCN foram testadas como possíveis soluções mascarantes. Os resultados mostraram que apenas a solução de pirofosfato foi efetiva para mascarar os interferentes, com exceção do manganês. De acordo com Gomes et al. (2012) a interferência causada pelo manganês, pode ser reduzida a níveis aceitáveis adicionando um excesso de Mn (II) na solução de pirofosfato de sódio.⁷⁹ No presente trabalho, este recurso foi adotado adicionado 5,0 mg L^{-1} Mn (II) à solução de Tiron. Os ensaios foram repetidos utilizando as soluções padrão de cobalto descrito anteriormente, com e sem os interferentes, e os resultados são exibidos na Tabela 2.

Tabela 2 - Avaliação das potenciais espécies químicas interferentes

Espécie química	Sinal* Co (μgL^{-1})	Sinal* Co+Xi** (μgL^{-1})	Sinal* variação (%)	Limite de tolerância (mgL^{-1})
Zn (II)	0,1991	0,1970	1,0	10,0
Cr (VI)	0,2183	0,2180	0,0	0,1
Cr (III)	0,2246	0,2193	2,3	0,1
Al (III)	0,2246	0,2260	0,6	50,0
Ni (II)	0,2227	0,2328	4,5	1,0
V (V)	0,2227	0,2248	0,9	1,0
Cu (II)	0,2327	0,2412	3,6	1,0
Pb (II)	0,2327	0,2389	2,7	10,0
Mo (II)	0,5007	0,4937	1,4	100,0
Ca (II)	0,5007	0,4770	4,7	60,0
Mg (II)	0,5007	0,5187	3,6	10,0
Mn (II)	0,5274	0,5352	1,5	1,0
Fe (III)	0,5274	0,5355	1,5	10,0

*Absorbância; **Potencial espécie interferente.

A coluna da direita mostra o limite de tolerância ao utilizar como critério a variação de $\pm 5\%$ no sinal analítico, tal como descrito acima. Todos os valores testados para os interferentes são mais elevados do que os normalmente encontrados em águas doces.

2.4.9 Análise das amostras

Depois de realizada a otimização do sistema e do procedimento proposto, foram processadas amostras de águas para avaliar a exatidão. O primeiro conjunto de amostras foi composto de três amostras de referência e os resultados são apresentados na Tabela 3.

Tabela 3 - Resultados obtidos usando material certificado.

Amostra	Valor certificado (μgL^{-1})	Procedimento proposto (μgL^{-1})
TM-24.2*	0,46	$0,47 \pm 0,01$
NIST – 1640**	0,49	$0,49 \pm 0,01$
NIST – 1643d**	0,49	$0,51 \pm 0,02$

* TM-24.2: National Water Research Institute. Environment Canada.

** NIST: Nacional Institute of Standards and Technology.

Aplicando o teste-*t* pareado para um nível de confiança de 95 % e dois graus de liberdade foi obtido um valor de 2,67. O valor teórico é 4,30, portanto a comparação dos valores de *t* indica que não há diferença significativa entre os resultados obtidos com o procedimento analítico proposto.

O segundo conjunto de amostras era composto por nove amostras de águas de rio, os quais foram analisados aplicando a metodologia da adição e recuperação e os resultados são mostrados na Tabela 4.

Tabela 4 - Análise de amostras de águas e valor de recuperação de Co (II).

Amostra	Valor encontrado sem adição	Valor encontrado após adição ($0,30 \mu\text{gL}^{-1}$)	Recup.%	Valor encontrado após adição ($0,15 \mu\text{gL}^{-1}$)	Recup.%
1	-	$0,31 \pm 0,00$	114	$0,07 \pm 0,01$	92
2	-	$0,33 \pm 0,01$	99	$0,19 \pm 0,01$	108
3	-	$0,54 \pm 0,02$	96	$0,40 \pm 0,01$	101
4	-	$0,39 \pm 0,02$	106	$0,24 \pm 0,01$	111
5	-	$0,25 \pm 0,01$	104	$0,10 \pm 0,00$	111
6	-	$0,26 \pm 0,01$	87	$0,14 \pm 0,01$	91
7	-	$0,20 \pm 0,01$	87	$0,06 \pm 0,01$	84
8	-	$0,36 \pm 0,00$	101	$0,20 \pm 0,00$	90
9	-	$0,31 \pm 0,01$	84	$0,19 \pm 0,00$	90

- ausência de sinal.

Analisando os resultados apresentados na Tabela 4, observa-se que para ambas as concentrações de cobalto adicionadas, as recuperações estão dentro do intervalo aceitável para amostras diluídas. Estes resultados provam a eficácia do processo proposto.

Com o intuito de comparar o desempenho dos procedimentos analíticos propostos com outras obras publicadas para determinação de cobalto em água, os principais parâmetros normalmente utilizados para este fim foram resumidos na Tabela 5.

Tabela 5 - Comparação entres trabalhos da literatura

Parâmetro	Procedimento proposto	Ref. [41]	Ref. [58]	Ref. [50]***	Ref. [74]
Técnica de detecção	Fotometria com LED	FAAS	UV-Vis	FAAS	UV-Vis
Faixa linear ($\mu\text{g L}^{-1}$)	0,13 – 1,50	1,0 - 80,0	50 - 2000	1,25 - 220,0 0,39 - 80,0	3,0 - 30,0
Coeficiente (r)	0,998	0,998	0,999	0,9848	0,999
r.s.d %	0,04	4,7	4,16	-	9,1
Limite de detecção ($\mu\text{g L}^{-1}$)	0,06	0,75	19,0	1,25 0,39	0,1
Resíduo (mL)*	1,5	22,4	-	9,5 28,9	8,0
Frequência analítica (h^{-1})**	42	11	13	51 18	60

*Consumo por determinação, ** Determinação h^{-1} , *** Este trabalho apresentou duas curvas analíticas.

Analisando esses dados, observa-se que o procedimento proposto tem o menor limite de detecção e o menor volume de resíduos gerados por determinação. Os outros parâmetros, com exceção da frequência analítica para as referências 74 e 50, são favoráveis no procedimento proposto.

3. DETERMINAÇÃO DE CÁDMIO EM AMOSTRAS DE ÁGUAS

3.1. Introdução

O cádmio foi descoberto acidentalmente na Alemanha em 1817 por Strohmeyer, durante o processo de aquecimento de carbonato de zinco. Na natureza, o metal cádmio ocorre naturalmente em quantidades traço (2 a 3 partes por mil), associado a minérios de zinco, chumbo e cobres, carvão, combustíveis fósseis e xisto. A obtenção do cádmio é feita através da purificação do zinco, ou extração do cádmio dos compostos que contenham zinco.^{32,33,80}

A liberação desse metal no meio ambiente pode ocorrer de forma natural ou através da atividade humana. Uma grande fonte de contaminação desse metal é devido a resíduos industriais, a lixiviação de aterros, queima de combustíveis fósseis e incineração de lixo municipais.³² Os sais desse metal são relativamente solúveis em água facilitando sua mobilidade e contaminação de alimentos, águas e solo. A presença desse metal pode ser confirmada em qualquer matriz, solo, rochas, carvão e fertilizantes, variando somente as concentrações existentes.^{33,80}

A maior parte do cádmio produzido é utilizada em processos industriais como revestimento protetor do aço contra corrosão (35%). O cádmio também é utilizado em reatores nucleares, em equipamentos eletrônicos, pigmentos e em baterias Ni/Cd.^{32,33} Durante o século 19, Van Gogh utilizou um pigmento contendo cádmio para obter a coloração amarela em seus quadros, como no quadro “Vaso com doze girassóis”, e ainda hoje o composto CdS é usado como pigmento em tintas amarelas.³³ A aplicação industrial desse metal como pigmento iniciou no fim do século 19 e início do século 20. Também no século 20, teve início o uso desse metal em baterias de níquel-cádmio e como material de revestimento de proteção à corrosão de aço.^{33,80}

Cádmio não é considerado um metal essencial ou necessário aos seres humanos, sendo classificado como tóxico, bioacumulativo e cancerígeno. A exposição prolongada desse metal, pode levar a sérios problemas de saúde, como dores musculares e de cabeça, vômito, distúrbios sensoriais, lesão hepática, convulsões, insuficiência renal, acúmulo de ácido úrico nas articulações (gota), osteoporose, pneumonia, bronquite, edemas pulmonares, distúrbios psicológicos e em grandes quantidades no organismo, pode ocasionar coma e a morte.³² Existem

estudos sobre a exposição de cádmio e o aumento do risco de câncer de pulmão em seres humanos, mas os estudos ainda são inconclusivos. Em animais, já é comprovado um aumento de câncer de pulmão, devido à inalação em longo prazo de cádmio. Baseado nesses dados, a EPA (*Environmental Protection Agency, United State of America*) classificou o cádmio como um provável carcinógeno humano.^{32,81} O cádmio pode entrar no corpo humano através de contaminação de alimentos, águas, cosméticos, produtos farmacêuticos, fumaça de cigarros ou até mesmo através do ar pela liberação desse metal pelas indústrias. A quantidade de cádmio presente nos corpos dos fumantes é duas vezes maior do que nos não fumantes. Entretanto, a maior contaminação desse metal ainda se deve por ingestão de águas e alimentos contaminados, por descartes industriais ou por fertilizantes fosfatados.⁸²

Em 1995 a U.S. *Environmental Protection Agency* citou o cádmio como o sétimo na lista das vinte substâncias mais tóxicas, estabelecendo o limite de 0,05 mgL⁻¹ para águas de consumo humano.³² De acordo com a legislação Europeia, o descarte industrial de cádmio no meio ambiente varia entre 0,2 e 0,5 mgL⁻¹.⁸³ No Brasil, o CONAMA (2005) estabelece o limite mínimo de 1,0 µgL⁻¹ para águas de consumo humano, após desinfecção ou tratamento simplificado, 10,0 µgL⁻¹ para consumo humano após tratamento convencional ou avançado, e 200,0 µgL⁻¹ para efluentes.³⁹ Assim, devido à toxicidade desse metal, torna-se essencial o monitoramento frequente de cádmio no meio ambiente. Para isso, é necessário o desenvolvimento de metodologias analíticas para determinação desta espécie química em concentração na ordem de µgL⁻¹.

3.2 Revisão da literatura

3.2.1 Métodos Analíticos para a determinação de Cádmio

A alta toxicidade do cádmio tem contribuído para o desenvolvimento de novos métodos de análises e detecção desse metal em variadas matrizes. Apesar da baixa concentração desse metal na maioria das matrizes, o metal é bioacumulativo e muito prejudicial ao meio ambiente e aos homens. Portanto, sua determinação é muito importante. Em geral, os métodos não têm sensibilidade suficiente para determinação direta, sendo necessária empregar etapas de pré-concentração, tais como extração com solventes orgânicos, extração com resina iônica e precipitação. A extração com solvente orgânico executada manualmente é muito trabalhosa, demorada, envolvem riscos para o analista e aumenta o risco de contaminação da análise durante a manipulação. Devido a essas desvantagens, surge a necessidade de metodologias que sejam suficientemente sensíveis para alcançar os limites estabelecidos pelas agências reguladoras. Além disso, devem oferecer segurança para o operador e menos ricos de contaminação do meio ambiente. Neste sentido, procedimento analítico sem o uso de uma etapa de pré-concentração com solvente orgânico seria bem-vindo.

Existem hoje diversos métodos para a determinação de cádmio em diversas matrizes e empregando diferentes técnicas de detecção. Dentre elas podemos citar as seguintes: voltametria^{84,85,86}, espectrofotometria de absorção atômica com chama (AAS)^{87,88,89,90}, ICPAES⁹¹, ICPOES^{92,93}, métodos eletroquímicos^{94,95,96}, espectrometria de absorção atômica com chama (FAAS)^{97,98,99,100}, entre outras.

Os métodos espectrofotométricos UV-Vis ainda representam uma alternativa interessante devido seu baixo custo e simples implementação, quando comparada com métodos baseados em outras técnicas de detecção.⁶²

3.2.2 Determinação de cádmio por espectrofotometria

Os métodos espectrofotométricos têm sido muito empregados na determinação de cádmio, sendo mais utilizados os métodos que usam os reagentes ditizona, 4-(2-piridilazo)resorcinol (PAR) e verde de malaquita.

Em 1952 Wadelin e Mellon publicaram o artigo de determinação do cádmio por método espectrofotométrico, baseado na reação de formação do complexo

cádmio-1,10-fenantrolina. O método proposto conseguiu determinar concentrações acima de $9,0 \text{ mgL}^{-1}$ de cádmio.¹⁰¹

No ano de 1979 Akaiwa, Kawamoto e Yoshimatsu propuseram um método de extração do cádmio em amostras de zinco metálico, complexando o cádmio com ditizona e fenantrolina. O complexo foi extraído manualmente com o solvente orgânico clorofórmio e a absorção máxima acompanhada em 505 nm.¹⁰²

Em 1980 Idriss e colaboradores determinaram cádmio e prata usando os reagentes fenantrolina e Eosin (2,4,5,7-tetrabromofluoresceína). O método foi proposto para determinação em meio aquoso e orgânico, usando extração com os solventes orgânicos clorofórmio e nitrobenzeno. No trabalho de Idriss e colaboradores (1980) a leitura do complexo cádmio-fenantrolina-eosin foi feita em 510 nm em meio aquoso e em 555 nm em meio orgânico. Para a determinação de cádmio a curva analítica obtida apresentou resposta linear até $4,45 \times 10^{-5} \text{ molL}^{-1}$ no meio aquoso e $1,08 \times 10^{-5} \text{ molL}^{-1}$ no solvente orgânico.¹⁰³

O reagente fenantrolina foi utilizado na determinação do cádmio em associação com outros reagentes, como com o azul de timol pelos autores Mathew et al., (1993). O método foi desenvolvido para a determinação de cádmio após a extração com clorofórmio do complexo formado cádmio-1,10-fenantrolina-azul de timol. Segundo os autores, o complexo foi estável por 20 h e com absorção máxima em 410 nm. O método pode ser aplicado em amostras de água do mar, soldas, sais de zinco e amostras de Índio.¹⁰⁴

Outro reagente muito utilizado para determinação espectrofotométrica de cádmio é o verde de malaquita (MG, malachite green). A reação entre o reagente MG e o cádmio foi explorada em 1988 por Garcia, Navarro e Cordoba em um sistema de análise em fluxo para determinação do analito em amostras de resíduos da produção do zinco. Os autores compararam o método em batelada com o método em fluxo, chegando as faixas de linearidades de $40 - 2000 \text{ } \mu\text{gL}^{-1}$ e $100 - 3000 \text{ } \mu\text{g mL}^{-1}$, respectivamente.¹⁰⁵

Em 1995 Gomes Neto et al. publicaram dois artigos em que era abordada a reação do MG na determinação do cádmio por análise em fluxo. No primeiro artigo, os autores utilizaram a pré-concentração em linha para determinar cádmio em amostras de alimentos e plantas. A resina utilizada na pré-concentração foi a AG1-

X8 (200-400 mesh) e o autor conseguiu com o sistema proposto um limite de detecção de $0,11 \mu\text{gL}^{-1}$ e frequência analítica de 25 determinações por hora. No segundo artigo, o autor pré-concentrou o cádmio com a resina Chelex-100 (50 - 100 mesh) para a determinação do metal em amostras de fertilizantes. Desta vez, o método proposto apresentou um limite de detecção de $2,0 \mu\text{gL}^{-1}$ e frequência analítica de 60 determinações por hora.¹⁰⁶

Em 2000 Gomes Neto et al. publicaram um novo artigo abordando a mesma reação. Nesta nova publicação, o foco do trabalho foi à deposição eletrolítica dos interferentes cobre e chumbo e a extração em fase sólida do cádmio. Amostras de água e vegetais foram escolhidas como matrizes de interesse. A nova estratégia permitiu um limite de detecção de $0,23 \mu\text{gL}^{-1}$ e uma frequência analítica de 20 determinações por hora.¹⁰⁷

A aplicação do reagente 1-(2-piridilazo)-resorcinol (PAR) foi citada em 1985 por Qi e Zhu ao determinarem cádmio em amostras de águas residuais. O método proposto era manual, em batelada, e os autores obtiveram uma faixa linear com concentrações abaixo de $800 \mu\text{gL}^{-1}$. O método proposto envolvia a complexação com o reagente PAR e o surfactante CTMAB e Peregál-O.¹⁰⁸

Em 1992 Chakravarty e Mishra também utilizaram a reação do metal com o reagente PAR para a determinação desse elemento em amostras de águas residuais e cinzas de carvão. Também, foi utilizado o reagente *N*-hidroxi-*N,N'*-difetilbenzamidina (HDPBA) para a formação do complexo, que foi extraído com clorofórmio apresentou absorvância máxima em 520 nm e limite de detecção de $50 \mu\text{gL}^{-1}$.¹⁰⁹

No ano de 2002, Hashem determinou por espectrofotometria cádmio e mercúrio com a reação de complexação do PAR. O autor propôs um método não extrativo em batelada com o reagente PAR solubilizado em etanol, e a reação acontecendo em meio etanólico 50 % (v/v).¹¹⁰

Em 1979, Watanabe e Ohmori, conseguiram determinar cádmio em amostras de zinco metálico ao complexar o cádmio com o reagente Cadion. O complexo foi lido em dois comprimentos de onda, 477 nm e 566 nm, e a diferença de absorvância entre eles foi escolhida como sinal analítico.¹¹¹

O reagente Cadion tem sido usado na determinação de cádmio em amostras

de águas residuais e solos. Chung-Gin e colaboradores (1980) utilizaram o surfactante Triton X100 como agente solubilizante do reagente Cadion para o método proposto. O complexo formado foi monitorado em 480 nm, sem a necessidade de previa extração, utilizando o mascaramento com formalina. O método proposto apresentou uma faixa de resposta linear até $0,32 \mu\text{g mL}^{-1}$.¹¹²

No ano de 1988 Qiu e colaboradores conseguiram determinar cádmio em amostras de solo com a reação de complexação do analito com o reagente Cadion na presença de um surfactante. O complexo formado em meio alcalino ($\text{pH} > 9,3$), apresentou máximo de absorção em 520 nm. A faixa linear de trabalho do método foi até $0,16 \mu\text{g mL}^{-1}$. Nesse artigo, os autores optaram por concentrar o cádmio e separar os íons interferentes através da extração com isobutil-metil-cetona. Os procedimentos propostos para determinação de cádmio com a complexação com Cadion, e citados anteriormente, foram todos desenvolvidos de forma manual.¹¹³

Outros reagentes são utilizados na determinação espectrofotométrica de metais, como: 1-(2-piridilazo)-2-naftol (PAN)¹¹⁴, 4-(2-thiazolylazo)resorcinol¹¹⁵, 5-Br-PADAP^{116,117,118}, *N*-etil-3-carbazolecarbaxaldeido-3-thiosemicarbazone(ECCT)¹¹⁹, 2-[2-(4-dimetilamino-fenil)vinil]-1-etil-quinolinium iodeto (vermelho de quinaldina)¹²⁰, 1,2-dihydroxyanthraquinone-3-sulphonic acid sodium salt (Vermelho de Alizarina)⁸¹, Benzildithiosemicarbazone¹²¹, *p,p'*-dinitro-sym-diphenylcarbaid¹²², meso-tetra(4-trimethylammoniumphenyl)porphyrin (TAPP)¹²³, 5,7-dibromo-8-hydroxyquinoline (DBHQ)¹²⁴.

Observa-se que existe uma grande variedade de métodos para a determinação de cádmio em diferentes matrizes e com diferentes reagentes. No entanto, o método baseado na reação de complexação com ditizona é considerado um clássico. A reação do cádmio com o reagente ditizona é citada na literatura desde 1952, onde o autor utilizou solvente orgânico para dissolver o reagente.¹²⁵

Em 1979 Akaiwa, Kawamoto e Yoshimatsu agregaram à ditizona outro reagente, anteriormente utilizado para a determinação espectrofotométrica do cádmio, a fenantrolina. Na reação, ocorre à extração do complexo cádmio-ditizona-fenantrolina com o solvente orgânico clorofórmio e o monitoramento for realizado em 505 nm.¹⁰²

A ditizona é um reagente orgânico muito utilizado para determinações

colorimétricas de metais, como zinco, cádmio, mercúrio, cobre, chumbo, entre outros. O reagente é solúvel em cetonas, alcoóis, hidrocarbonetos, clorofórmio e tetracloreto de carbono. A solubilidade desse reagente em água só ocorre em condições alcalinas, sendo praticamente insolúvel em $\text{pH} < 7$. Em 1994, Paradkar e Williams propuseram a solubilização da ditizona utilizando meio micelar com o surfactante Triton X100. O método se baseou na complexação dos metais Cu, Hg, Zn, Pb e Cd com o reagente em diferentes faixas de pH, de acordo com cada metal. Os autores realizaram os experimentos em batelada para o desenvolvimento do método e obtiveram uma resposta linear de $0,07 - 0,71 \mu\text{g mL}^{-1}$ para o Cd(II).¹²⁶

Figura 22 - Espectro de absorção dos complexos ditizonato-metais. A: em 5% (m/v) Triton X100. B: em clorofórmio.

Fonte: Paradkar (1994).¹²⁶

Mais recentemente, Nezio, Palomeque e Band (2005) propuseram um sistema automatizado para a determinação de cádmio em amostras de águas, sem a etapa de extração com solvente orgânico. O sistema de análise em fluxo foi proposto com pré-concentração do analito e preparação “on-line” do reagente. A ditizona era solubilizado em linha pelo surfactante Triton X100, direcionado para uma bobina de reação, local em que a amostra chegava com o pH já ajustado para que ocorresse a reação. A pré-concentração da amostra era feita com a resina Dowex 1-X10 (50-100 mesh) e a amostra com acidez de $0,2 \text{ mol L}^{-1}$ HCl, passando durante 2 minutos pela resina. Após este tempo, os íons de cádmio eram eluídos com NaOH e direcionado para a bobina de reação, onde ocorria a mistura com o reagente ditizona. O complexo formado foi monitorado em 544 nm. O método proposto

apresentou um limite de detecção de $5,4 \mu\text{gL}^{-1}$ e frequência analítica de 11,4 determinações por hora.⁸²

No ano de 2006, foram publicados dois artigos envolvendo o reagente ditizona e a determinação de cádmio. Na publicação dos autores Hernandez e Mansilla (2006), a ditizona foi novamente preparada em Triton X100. Dessa vez, o reagente não foi preparado em linha. Os autores propuseram um método em batelada para a determinação de mercúrio, chumbo e cádmio por espectrofotometria para amostras de águas de rio. A diferenciação dos complexos formados foi feita através do ajuste do pH e leitura em diferentes comprimentos de onda. Para o cádmio a faixa linear foi de 0 - $0,6 \text{ mgL}^{-1}$.¹²⁷

Os autores Nezio, Palomeque e Band (2006) propuseram um novo sistema em fluxo para a determinação de zinco, cobre, cádmio, chumbo e mercúrio em amostras de águas com o reagente ditizona. Mais uma vez, os autores fizeram o preparo do reagente em linha, solubilização com Triton X100 em meio ácido e pré-concentração com a resina Dowex 1-X10. A diferenciação dos analitos foi feita por diferença de pH e eluição da etapa de concentração na coluna. Segundo os autores, para o cádmio o pH ideal na formação do complexo é acima de 13 e a absorbância foi monitorada em 544 nm. A faixa linear do sistema proposto foi de 0,1 - $2,0 \text{ mgL}^{-1}$, limite de detecção foi de $5,4 \mu\text{gL}^{-1}$ e frequência analítica de 11,4 determinações por hora para o cádmio.¹²⁸

No ano de 2015, houve uma nova publicação utilizando ditizona e o surfactante Triton X100. Santos, Mesquita e Rangel (2015) determinaram cádmio e chumbo em águas usando a complexação com ditizona, preparada em Triton X100. Novamente, a diferenciação dos analitos foi feita através do ajuste de pH do meio, com o complexo do cádmio sendo formado em pH acima de 13. A absorção do complexo foi monitorada em 550 nm. Os autores reportaram que foram obtidos limite de detecção de $34 \mu\text{gL}^{-1}$, limite de quantificação de $115 \mu\text{gL}^{-1}$ e frequência analítica de 55 determinações por hora.⁶²

3.3 Parte Experimental

3.3.1 Reagentes e Soluções

Todos os reagentes utilizados foram de grau analítico e as soluções foram preparadas com água purificada com condutividade elétrica menor que $0,10 \mu\text{Scm}^{-1}$ (Milli-Q). As soluções foram preparadas diariamente em quantidades adequadas para o uso do dia.

A solução estoque de 1000 mgL^{-1} de cádmio foi preparada dissolvendo uma ampola de Titrisol de 1000 mg em água, adicionando 10,00 mL de ácido nítrico concentrado e aferido o volume para 1000,00 mL. As soluções padrão de cádmio para trabalho diário foram preparadas no dia por diluição da solução estoque (1000 mgL^{-1}) para concentrações de $0,00 - 175,00 \mu\text{gL}^{-1}$ de Cd com concentrações ácidas de $0,014 \text{ molL}^{-1}$ com HNO_3 . Seguiu-se o mesmo protocolo de preparo dos padrões de cádmio para todas as metodologias testadas.

A solução de 5% (m/v) de Triton X100 foi preparada dissolvendo 5,00 g do reagente em água, levado a agitação com barra magnética durante 10 minutos e o volume completado para 100,00mL.

A solução de trabalho do reagente ditizona (Difeniltiocarbazona) foi preparada diariamente na concentração de 0,01% (m/v), dissolvendo a massa de 0,01 g em uma solução 5% (m/v) de Triton X100. A solução foi mantida em banho ultrassônico durante 15 minutos e em seguida agitada em sistema de agitação magnético durante mais 10 minutos. Em seguida, a solução foi filtrada com papel de filtro Whatman No. 41, armazenada em frasco âmbar e o frasco foi envolvido em papel alumínio.

A solução de $1,00 \text{ molL}^{-1}$ de hidróxido de sódio (NaOH), usada como fluido transportador, foi preparada por diluição a partir de uma solução estoque de $10,00 \text{ molL}^{-1}$.

Para a avaliação dos potenciais interferentes presentes nas amostras de águas, foram preparadas soluções contendo de $0,50$ a $50,00 \text{ mgL}^{-1}$. Em cada solução de potencial interferente a ser avaliado, foram preparadas soluções contendo concentrações variadas dos interferentes com a adição de $60 \mu\text{gL}^{-1}$ de Cd(II) em cada análise. Como referência, foi utilizado uma solução padrão de $60 \mu\text{gL}^{-1}$ de Cd(II) sem a adição dos interferentes. As espécies previamente conhecidas

como majoritárias em amostras de águas, como Na, K, Ca, Mg, Cl, foram avaliadas em concentrações superiores as citadas anteriormente. Foram preparadas soluções contendo de 50,00 a 500,00 mgL⁻¹ com a adição de 60,00 µg⁻¹ Cd(II) para a análise desses interferentes.

3.3.2 Amostras

As amostras de águas de rio e de torneira foram filtradas com membranas de acetato celulose (0,45 µm, Millipore) e em seguida acidificadas para 0,014 molL⁻¹ pela adição de HNO₃ 5,00 molL⁻¹. Amostras de águas minerais foram adquiridas em comércio local e acidificadas para 0,014 molL⁻¹ com HNO₃ 5,00 molL⁻¹.

3.3.3 Equipamentos e acessórios

O sistema de detecção e o módulo de análise foram confeccionados no laboratório de Química Analítica do CENA/USP.

Um microcomputador equipado com interface de controle e aquisição de dados PCL711 foi utilizado para controlar o módulo de análise e efetuar a aquisição de dados. O software foi escrito em linguagem *Quick BASIC 4.5*.

Para a construção do módulo de análise foram utilizados os seguintes dispositivos: interface digital de potência para acionamento das mini-bombas; fonte de corrente contínua estabilizada em 12 V e intensidade de corrente de 1 A para alimentar as válvulas solenoide; quatro válvulas solenoide de duas vias, uma válvula solenoide de três vias; duas minibombas peristálticas; fonte de alimentação de corrente contínua regulada em -12 V e + 12 V, para alimentar o fotômetro; interface de potência para acionamento das válvulas solenoide; acrílico para construção de componentes do módulo de análise; tubos de polietileno para construção de bobinas de reação e linhas de fluxo; amplificadores operacionais para montagem de interface com o sistema de transdução de sinal de resposta rápida e de baixo nível de ruído; LED de alto brilho e ângulo de emissão estreito (< 25°), máximo de emissão em 520 nm; fotodiodo OPT301(Texas Instruments); resistores diversos; capacitores diversos; placa de circuito impresso em fibra de vidro; cela de fluxo com caminho óptico de 100 mm.

O módulo de análise foi projetado para trabalhar no regime de malha fechada,

para implementar o procedimento para determinação fotométrica de cádmio, empregando o processo de multicomutação em análise em fluxo (MCFA). Na Figura 23 é mostrado o diagrama do módulo de análise.

Figura 23 - Diagrama do módulo de análise em fluxo empregado na determinação espectrofotométrica do cádmio. V_1 , V_2 e V_3 = válvulas solenoide de duas vias; V_4 = válvula solenoide de três vias; Pp_1 e Pp_2 = mini-bombas peristálticas, vazão nominal $12,0 \text{ mLmin}^{-1}$; x e y = confluências deacrílico; B_1 , B_2 , B_3 e B_4 = Linhas de fluxo em tubo de polietileno com 0,8 mm de diâmetro interno, comprimentos de 12, 30, 19, 18 cm, respectivamente; Det = fotômetro de LED; Ca = câmara de mistura e saídas de bolhas; W = resíduos; S = amostra; R_1 = solução reagente de NaOH $1,0 \text{ molL}^{-1}$; R_2 = solução reagente de ditizona 0,01% (m/v) em Triton X100 5% (m/v).

Fonte: Autoria própria.

O sistema de detecção foi construído com um fotodetector OPT301 (Texas Instruments) e um LED com emissão máxima em 520 nm. A cela de fluxo foi construída artesanalmente com vidro borossilicato, comprimento de 100 mm, diâmetro interno de 1,2 mm e o volume foi estimado em 113 μL . O acoplamento do fotodetector, do LED e da cela de fluxo foi arranjado de forma que alcançasse o máximo de aproveitamento do feixe de radiação eletromagnética emitido pelo LED. O conjunto, cela, fotômetro e LED foi denominado de sistema de detecção e é mostrado na Figura 24.

Figura 24 - Acoplamento do LED e do fotodetector à cela de fluxo. LED = diodo emissor de luz, $\lambda = 520 \text{ nm}$; cv = cilindros de vidro, 100 mm de comprimento e 1,2 mm de diâmetro; Tv = corpo da cela de fluxo, tubo de vidro; I_1 e I_2 = feixes de radiação eletromagnética emitida pelo LED e chegando ao fotodetector, respectivamente; Det = fotodetector, Opt301 (burr-brown).

Fonte: Dias et al., 2014.⁷⁷

O sistema de detecção foi acondicionado em uma caixa metálica para evitar interferência de luz externa. A entrada dos tubos de polietileno e dos fios foi realizada por meio de perfurações na lateral da caixa.

3.3.4 Princípio do método

O desenvolvimento do módulo de análise foi baseado no processo de multicomutação em análise em fluxo (MCFA) e projetado para automatizar o procedimento de determinação fotométrica de cádmio em águas de rios e de represas, resíduos e fertilizantes. O módulo de análise foi desenvolvido pensando na reação do cádmio com o reagente cromogênico ditizona, na presença do surfactante Triton X100, Figura 23.

A difeniltiocarbazona ($C_{13}H_{12}N_4S$), também conhecida como ditizona, apresenta coloração verde escuro e é muito utilizada em determinações espectrofotométricas de metais. O reagente ditizona é conhecido por sua utilização em métodos de extração, devido sua facilidade de solubilização em solventes orgânicos e dentre eles, clorofórmio, benzeno e tetracloreto de carbono. Em meio aquoso, a ditizona é solúvel em condições alcalinas, mas é praticamente insolúvel em $pH < 7$. A reação da ditizona com íons metálicos gera um complexo colorido com características apolares, facilitando o processo de extração empregando solventes apolares. Entretanto, os processos de extração são considerados demorados e envolvem riscos para o analista devido usarem solventes tóxicos.

Uma possibilidade de solubilização do reagente ditizona é substituir os solventes orgânicos por micelas aquosas (surfactante), facilitando assim sua solubilização em água. Essa substituição permitiria eliminar a extração morosa, o solvente orgânico e o risco ambiental. O uso do reagente ditizona solubilizado em meios micelares pode ser utilizado em análise espectrofotométrica de metais, como cádmio, zinco, cobre e chumbo.¹²⁹

Um surfactante é uma molécula anfifílica, possui uma cadeia hidrofílica e outra hidrofóbica, e devido a essa característica é capaz de modificar a tensão superficial de líquidos. Geralmente, a parte hidrofóbica é composta por uma longa cadeia de hidrocarbonetos, entre 8-18 átomos.¹²⁶ Ao serem solubilizados em água, podem se organizar em micelas e solubilizarem solutos orgânicos. Para que ocorram as micelas, é necessária uma concentração mínima conhecida como *concentração micelar crítica*.¹²⁹ Essa propriedade de solubilização de compostos orgânicos em água através de micelas vem sendo muito utilizada na substituição de métodos que utilizem solventes orgânicos.^{62,82,126,127,128} Dentre as vantagens do uso de meio micelar estão a baixa toxicidade dos surfactantes, opticamente transparentes e estáveis. Entretanto, a estabilidade do composto orgânico ditizona em meio micelar é menor do que em solvente orgânico, diminuindo o tempo de vida útil do reagente.⁸²

A ditizona é solúvel quando em presença de meios micelares, como o Triton X100. Ao entrar em contato com íons metálicos, a ditizona forma complexo primário com cádmio, zinco, chumbo, cobre e mercúrio, ou complexo secundário com cobre, prata, ouro e paládio. A reação de formação do complexo ditizonato pode ser vista a

seguir:

Onde:

M^{n+} = íon metálico de carga n^+

$nHDz^-$ = ditizona

Em literatura é citado a formação do complexo entre o cádmio e o reagente ditizona em meio micelar com máximo de absorção em 550 nm, enquanto que o reagente é citado com dois picos de absorção um 450 nm e outro em 600 nm.^{62,82,126}

3.3.5 Desenvolvimento do programa

Para o desenvolvimento do software, utilizamos como base as características do procedimento analítico baseado na reação cádmio-ditizona em meio micelar. A linguagem de programação utilizada para desenvolvimento do software foi o *Quick BASIC 4.5*. Todo o módulo de análise foi controlado via software, permitindo o controle do acionamento das válvulas solenoide e das mini-bombas peristálticas, assim como a leitura do sinal analítico. As variáveis de controle eram atualizadas inicialmente, facilitando os estudos e modificação durante o desenvolvimento do procedimento analítico.

As variáveis otimizadas foram: tempo para inserção do volume de amostra; número de replicatas; tempo de circulação para homogeneização da zona de amostragem; tempo para inserção do volume do reagente ditizona; tempo para inserção do volume do reagente hidróxido de sódio; tempo de leitura do sinal analítico. Os principais parâmetros podem ser vistos na Tabela 6.

Conforme mostrado na Tabela 6, a inserção de amostra e dos reagentes era feita acionando a mini-bomba Pp_1 e as válvulas V_1 , V_2 , V_3 e V_4 . A inserção da amostra acontecia ao acionar a mini-bomba Pp_1 em conjunto com as válvulas V_1 e V_4 , logo após, era acionado a mini-bomba Pp_2 para retirada do excesso de amostra da câmara Ca. Em seguida, era iniciado a sequência de adição dos reagentes com o acionamento da mini-bomba Pp_1 e das válvulas V_2 e V_4 , para o NaOH, e V_3 e V_4 para a inserção da ditizona. Após essa etapa, somente a mini-bomba Pp_1 era acionada para que ocorresse a homogeneização das soluções no percurso analítico. Nesta condição, toda a zona de amostragem circula em circuito fechado para que ocorra o

ajuste da alcalinidade do meio e a formação do complexo Cd-Ditizona. A otimização do volume das alíquotas de amostra e reagentes foi realizado variando o tempo de abertura das válvulas solenoide e de acionamento da mini-bomba Pp_1 .

Tabela 6 - Sequência de acionamento das válvulas solenoide e das mini-bombas peristálticas no programa desenvolvido para determinação de cádmio no procedimento proposto neste trabalho.

Etapas	Pp_1	Pp_2	V_1	V_2	V_3	V_4
Inserção Amostra	1	0	1	0	0	1
Inserção NaOH	1	0	0	1	0	1
Inserção Ditizona	1	0	0	0	1	1
Circula zona de amostra	1	0	0	0	0	0
Leitura do sinal analítico	0	0	0	0	0	0
Esvazia percurso	0	1	0	0	0	0

Os números 1 e 0 representam o acionamento das mini-bombas e válvulas solenoide ligadas e desligadas respectivamente.

Em seguida, todas as válvulas e as mini-bombas eram desligadas para a leitura do sinal analítico. Após a leitura, a mini-bomba Pp_2 era acionada e todo o percurso era seco. Entre as replicatas, era adicionada uma etapa de lavagem do sistema com acionamento da mini-bomba Pp_1 e das válvulas V_2 e V_4 . Após a lavagem, ocorre uma nova etapa de secagem do sistema com o acionamento da mini-bomba Pp_2 . Ao finalizar a etapa de limpeza, o sistema já estava limpo e pronto para a próxima determinação.

A etapa de calibração do fotômetro foi realizada utilizando a solução de hidróxido de sódio $1,0 \text{ molL}^{-1}$. Para esta etapa, foram acionadas as válvulas solenoide V_2 e V_4 , e a mini-bomba peristáltica Pp_1 durante 15 segundos e assim ocorria a lavagem e o completo preenchimento da cela de fluxo. O sinal gerado pelo fotômetro (mV) era convertido para digital pela interface PCL711. O computador salvava a leitura, que seria usada para calcular a absorbância. Outra medida necessária para os cálculos de absorbância é o sinal residual da radiação difusa. Este valor foi obtido preenchendo a cela de fluxo com soluções obtidas pela reação de complexação da ditizona (0,01%, m/v) em meio micelar de Triton X100 (5,0%, m/v) com as concentrações de 750, 500 e 250 mgL^{-1} de cádmio, tendo como resultado soluções de coloração intensa devido a formação do complexo. Com estas

soluções foram realizadas leituras. Foi verificado que o sinal gerado pelo fotodetector era reduzido para um valor muito baixo (≈ 40 mV) e não havia variação na magnitude dos sinais para as três soluções. Então, admite-se que a radiação incidente na cela de fluxo que se propagou através das soluções foi completamente absorvida nos três casos. O sinal gerado neste experimento foi atribuído à radiação difusa, a qual não incide sobre a amostra na cela de fluxo. Esta leitura tem sido chamada de sinal residual e foi salva pelo software e usado para calcular a absorbância.^{77,78}

No módulo proposto, a amostra é inserida para encher o percurso analítico e a cela de fluxo, acionado as válvulas solenoide V_1 e V_4 e a mini-bomba peristáltica Pp_1 . Em seguida, é acionada a mini-bomba peristáltica Pp_2 para retirada do excesso de amostra presente na câmara (Ca). Após esta etapa são mantidas ligadas a mini-bomba peristáltica Pp_1 e a válvulas solenoide V_4 e as válvulas solenoide V_3 e solenoide V_2 são ligadas sequencialmente para inserir as alíquotas das soluções do reagente cromogênico o do hidróxido de sódio. A mini-bomba Pp_1 é mantida ligada, assim a solução da amostra e reagentes é bombeada em circuito fechado através da cela de fluxo. Este arranjo permite um monitoramento contínuo do sinal gerado em função desenvolvimento da reação.

A formação do complexo entre ditizona e cádmio pode ocorrer de meio neutro a fortemente alcalino (pH 6 – 14), sendo que a reação é seletiva em meio com pH acima de 12.¹²⁶ No presente estudo, o ajuste da alcalinidade do meio foi realizado ao acionar as válvulas solenóide V_2 e V_4 , em conjunto com a mini-bomba peristáltica Pp_1 .

A reação tem início ao inserir as alíquotas das soluções de hidróxido de sódio e de ditizona no percurso analítico, acionando as válvulas V_2 , V_3 e V_4 em conjunto com a mini-bomba peristáltica Pp_1 . A reação é rápida, portanto não é necessário estabelecer um tempo de repouso para seu desenvolvimento.

Este módulo de análise emprega o conceito de “loop” fechado, logo, inicialmente o percurso analítico e a cela de fluxo estão cheios com a solução da amostra. As alíquotas das soluções dos reagentes e do tampão são inseridas, em sequência em um ponto do percurso analítico (V_4). O processo de circulação da zona da amostra, gerado pela bomba peristáltica Pp_1 , produz a homogeneização das

soluções e para isso são necessários alguns ciclos de recirculação. Enquanto isso ocorre o sinal gerado é lido e mostrado no vídeo do computador, permitindo um acompanhamento em tempo real.

Após serem realizados os estudos necessários para a otimização do sistema proposto, foi processado um conjunto de amostras de águas de rio, minerais e de torneira.

3.4 Resultados e Discussão

O volume da amostra foi mantido constante durante os experimentos e era o volume do percurso analítico, pois o propósito era trabalhar na condição de volume infinito. Nessa condição, o volume da amostra medido era de 940 μL .

3.4.1 Estimativa do valor máximo de absorção para o complexo formado

Inicialmente, foi necessária uma varredura do espectro para verificar o comprimento de onda máximo na absorção do complexo formado em meio micelar. Conforme pode ser observado na Figura 25, o complexo formado apresentou absorção máxima em torno de 505 nm, enquanto que o sinal do branco apresentou absorção máxima em 477 nm. O LED utilizado no fotômetro deveria estar o mais próximo possível do comprimento de onda de máxima absorção do complexo formado.

No módulo proposto para a determinação de cádmio, o LED utilizado apresentava emissão em 520 nm. Este dispositivo foi escolhido por ser o dispositivo disponível em nosso laboratório mais próximo do máximo do complexo cádmio-ditizona.

O espectro de absorção do complexo formado entre o metal e o reagente cromogênico ditizona, em meio fortemente alcalino e na presença do surfactante Triton X100, pode ser visto na Figura 25.

Figura 25 - Espectro de absorção do complexo cádmio/ditizona em meio alcalino ($\text{pH} > 12$), contendo o surfactante Triton X 100

Fonte: Autoria própria.

Nesse estudo, foi coletado o complexo formado na saída do módulo de análise e realizado a leitura imediatamente. As concentrações utilizadas foram ditizona 0,01% (m/v) em Triton X100 5% (m/v), NaOH $1,0 \text{ molL}^{-1}$, cádmio $200,0 \mu\text{gL}^{-1}$ em meio ácido (HNO_3 $0,014 \text{ molL}^{-1}$).

3.4.2 Estudo da alcalinidade do meio

A variação do volume de NaOH pode influenciar diretamente a formação do complexo Cd-Ditizona e a seletividade do método. De acordo com a literatura a reação de formação do complexo pode ocorrer em meio alcalino, tornando-se mais seletiva para o cádmio em $\text{pH} > 13$. Para esse estudo foram avaliados o tempo de inserção de NaOH e a concentração ideal desse reagente na zona de amostragem.⁶²

O efeito da variação do volume de NaOH na sensibilidade do método pode ser visto na Tabela 7.

Tabela 7 - Características analíticas obtidas a partir das curvas analíticas para o estudo do tempo de inserção de NaOH no sistema.

Tempo de acionamento da válvula de NaOH (s)	Coefficiente angular	Coefficiente linear	R ²
0,15	0,0014	0,0635	0,9706
0,50	0,0017	0,0498	0,9722
1,00	0,0015	0,0577	0,9742
2,00	0,0015	0,0614	0,9926

* Foram utilizadas as concentrações 0,01 % (m/v), 7,5 % (m/v) e 1,0 molL⁻¹, Ditizona, Triton X100 e NaOH, respectivamente. Desvio máximo = Abs ± 0,02.

O volume de NaOH foi variado acionando a mini-bomba peristáltica Pp₁ e as válvulas solenoide V₂ e V₄ pelos tempos de 0,15 a 2,00 segundos. De acordo com os resultados obtidos, não houve variação significativa na sensibilidade ao aumentar o volume de hidróxido de sódio na zona de amostra. De acordo com o fabricante, o tempo mínimo para abertura das válvulas é de 0,15 s, sendo assim, escolheu-se o tempo de 0,20 s para prosseguimento dos estudos para não correr o risco de trabalhar dentro do limite fornecido pelo fabricante. Neste intervalo de tempo era inserido um volume de 42 µL da solução de hidróxido de sódio. Após essa otimização foi realizado a medida do pH do meio reacional com o tempo 0,20 s, usando uma solução de hidróxido de sódio com concentração de 1,0 molL⁻¹. Nessa condição, a alcalinidade do meio reacional apresentava pH > 13, o que justifica a variação não significativa do sinal analítico com o aumento da concentração de hidróxido no meio reacional.

Neste método, a alcalinidade é um importante parâmetro de seletividade, pois, em meio fortemente alcalino somente o cádmio reage com a ditizona para formar o complexo ditizonato.⁶² Sendo assim, o efeito da alcalinidade na sensibilidade do método foi testado empregando as concentrações em 0,5; 1,0; 1,5 e 2,0 molL⁻¹ de hidróxido de sódio e os resultados são mostrados na Tabela 8.

Tabela 8 - Características analíticas obtidas a partir das curvas analíticas para o estudo da concentração de NaOH no sistema.

Concentração de NaOH (molL ⁻¹)	Coeficiente angular	Coeficiente linear	R ²
0,50	0,0017	0,1837	0,9997
1,00	0,0024	0,1985	0,9995
1,50	0,0029	0,1855	0,9998

* Foram utilizadas as concentrações 0,01 % (m/v), 7,5 % (m/v), Ditizona e Triton X100, respectivamente. Desvio máximo = Abs $\pm$ 0,02.

A concentração de 2,0 molL⁻¹ de hidróxido de sódio tornou-se inviável para trabalho, devido a viscosidade da solução interferir no bombeamento. A solução 1,0 molL⁻¹ de hidróxido de sódio foi escolhida para prosseguir com os estudos. Analisando o valor do pH na solução coletada na saída do módulo de análise, observou-se que o valor do pH medido estava acima de 13 com esta solução. Sendo assim, a solução de 1,0 molL⁻¹ de hidróxido de sódio atende os requisitos quanto à alcalinidade do meio reacional e foi selecionada.

3.4.3 Estudo da concentração dos reagentes

Outro parâmetro investigado no desenvolvimento do método foi a concentração da solução do reagente Triton X100, pois poderia influenciar na solubilização do reagente ditizona e também dificultar o funcionamento ao gerar bolhas dentro do percurso. Sendo assim, iniciou-se os estudos da concentração do Triton X100 variando a concentração de 2,5 a 10 % (m/v). A concentração do reagente Ditizona foi mantida durante esse estudo em 0,01 % (m/v).

Observado visualmente durante o preparo das soluções de Triton X100 com o reagente Ditizona, houve maior dificuldade de solubilização da ditizona na concentração de 2,5 % (m/v) do reagente Triton X100. Observou-se também que nas concentrações de 7,5 e 10 % (m/v) de Triton X100 ocorreu à maior formação de bolhas no percurso analítico, interferindo assim no desvio padrão das leituras do sinal analítico.

Ao analisar a Figura 26 pode-se observar que não houve diferença significativa de sinal analítico entre as curvas relacionadas às concentrações de 7,5 a 10 % (m/v) de Triton X100. Sendo assim, conclui-se que não há motivos para o uso do reagente Triton X100 mais concentrado do que 5 % (m/v), a qual foi

selecionada.

Figura 26 - Curvas analíticas obtidas com diferentes concentrações de Triton X100.

Fonte: Autoria própria.

A maior dificuldade de trabalhar com o reagente Triton X100 em sistemas FIA, é a formação de bolhas dentro do módulo de análise. Para contornar este problema, foi selecionada a menor concentração possível do reagente, que permitisse uma boa solubilização da ditizona e uma melhor curva analítica com maior sensibilidade. Outro ajuste necessário para minimização de bolhas no percurso foi o ajuste da largura (diâmetro) da câmara (Figura 23), visto que um diâmetro menor facilitaria o acúmulo de bolhas (espuma) durante a passagem da zona da amostra.

Após a escolha da concentração de Triton X100, foi realizado o estudo da concentração de ditizona. Foi utilizada a concentração de Triton X100 de 5,0 % (m/v) para o preparo das soluções. A concentração de ditizona foi variada de 0,005 a 0,1 % (m/v). Para este estudo, foram utilizados soluções padrões com concentração na faixa de 0 – 60 µg/L⁻¹ Cd(II) e os resultados são mostrados na Figura 27.

Figura 27 - Curvas analíticas obtidas a partir de variações nas concentrações do reagente ditizona.

Fonte: Autoria própria.

Analisando as curvas da Figura 27, observa-se que a concentração de 0,01 % (m/v) da Ditizona apresenta melhores valores de sensibilidade, sem um aumento significativo do sinal analítico do branco. Outro fator considerado na escolha da concentração de Ditizona foi o tempo de degradação da mesma, pois em concentrações abaixo de 0,01 % (m/v) observou-se que o reagente havia sofrido degradação após 4 horas de trabalho. Em concentrações maiores que 0,01 % (m/v), foi observado após a filtração que não houve a completa solubilização do reagente na solução de Triton X100. Sendo assim, a concentração de 0,01 % (m/v) foi escolhida para dar continuidade aos estudos.

O estudo do volume de ditizona utilizado na reação de complexação para determinação de cádmio pode ser visto na Figura 28. O volume do reagente foi variado com a mudança de tempo de abertura das válvulas V_3 e V_4 durante o acionamento da mini-bomba peristáltica Pp_1 . Na discussão dos resultados utilizaremos a variável tempo de inserção de ditizona. Conforme visto na Figura 28, o tempo de inserção foi variado de 0,15 a 2,0 segundos. Obteve-se uma maior diferença entre o sinal analítico do padrão $60 \mu\text{gL}^{-1}$ e o branco entre os tempos de 0,25 e 0,50 segundos (diferença entre sinal analítico $60 \mu\text{gL}^{-1}$ - branco = 0,1326 para tempo de 0,25 s; diferença entre sinal analítico $60 \mu\text{gL}^{-1}$ - branco = 0,1359 para

tempo de 0,50 s). As alíquotas da solução de ditizona inseridas nestes intervalos de tempo tinham os seguintes volumes: 52,5 e 105 μL para 0,25 e 0,50 s, respectivamente.

Figura 28 - Tempo de inserção do reagente ditizona na zona reacional.

Fonte: Autoria própria.

Na Figura 28 observamos que no intervalo de tempo de 0,15 s a quantidade de reagente (31,5 μL) não é suficiente para o desenvolvimento da reação. Após o tempo de 0,50 segundo, que corresponde a 105 μL da solução de ditizona, observamos um aumento do sinal analítico do branco, o que é justificável por um excesso de reagente no meio reacional, visto que a ditizona apresenta coloração esverdeada e banda de absorção próxima ao do complexo formado com cádmio. Em vista disso, o intervalo de tempo de 0,50 s foi selecionado.

3.4.4 Estudo do tempo necessário para a formação do complexo

A reação de complexação do cádmio com a ditizona ocorre instantaneamente. Contudo, o módulo de análise desenvolvido neste trabalho, requer um tempo para a homogeneização da zona da amostra com as alíquotas das soluções de ditizona e de hidróxido de sódio. E sendo assim, foi realizado a otimização do tempo de mistura, inserindo um comando de circulação de 40 s para funcionamento contínuo da minibomba peristáltica Pp₁. Durante esse tempo, a minibomba Pp₁ fazia a

circulação da zona de amostra por todo o percurso analítico, enquanto as válvulas solenoide permaneciam desligadas. Durante o tempo de circulação da amostra no percurso analítico, o sinal gerado pelo fotômetro era apresentado com função do tempo na tela do terminal de vídeo, conforme mostra o registro da Figura 29.

Figura 29 - Efeito do intervalo de tempo de circulação. A – solução de cádmio com concentração de $60 \mu\text{gL}^{-1}$; B – solução do branco.

Fonte: Autoria própria.

As condições operacionais para este estudo foram: Concentração de ditizona 0,01 % (m/v), solução de Triton X100 em 5 % (m/v); solução de NaOH $1,0 \text{ molL}^{-1}$.

Analisando-se os registros da Figura 29, observa-se que no primeiro instante foi gerado um sinal com pico bem definido. Em seguida, o registro ainda apresenta ondulações e tende para um valor constante com aumento do tempo de circulação da amostra. O pico de maior magnitude corresponde à primeira passagem do reagente pelo detector, o qual apresenta absorção de radiação. A tendência para um valor constante indica a distribuição homogênea dos reagentes em toda extensão do percurso analítico. Neste caso, a cela de fluxo deve ser considerada como parte do percurso analítico, pois, seu volume interno é em torno $110 \mu\text{L}$. O volume interno do percurso analítico era no total de $940 \mu\text{L}$ e a vazão de bombeamento de $200 \mu\text{Ls}^{-1}$, portanto, em princípio, uma volta completa da zona da amostra no percurso analítico, durava um intervalo de tempo de 5 s. Analisando os primeiros registros, podemos deduzir que em 5 voltas (circulação), a distribuição do reagente na zona da amostra tendia a condição de equilíbrio, isto é, ausência de gradiente de

concentração. A aquisição de dados foi programada para tomada de dados em intervalos de 0,20 s. Nessa condição, em 25 s foram coletadas 125 leituras, portanto, o registro da Figura 29 é uma boa representação do perfil de distribuição do reagente na zona da amostra. Baseado nestes resultados, foi selecionado o intervalo de 30 s, como garantia de que será alcançado boa condição de mistura.

3.4.5 Estudo dos potenciais interferentes

Segundo a literatura, o método da ditizona em meio micelar para determinação de cádmio é praticamente livre de interferentes devido à alta alcalinidade que o meio reacional requer. O método mostra-se promissor para determinação de cádmio em amostras de águas e em outras matrizes menos complexas. Mesmo assim, neste trabalho estudou-se a possibilidade de interferência dos íons mais comuns em amostras de águas. Os valores testados foram muito superiores aos normalmente encontrados em amostras de águas, ou aos que são permitidos segundo o CONAMA. Os resultados podem ser vistos na Tabela 9.^{62,82,128}

Tabela 9 - Potenciais íons interferentes e os limites estabelecidos na determinação de Cádmio.

Íon testado	Limite de tolerância (mgL ⁻¹)
Cu ²⁺	0,50
Pb ²⁺	1,00
Mg ²⁺	50,00
Ca ²⁺	50,00
Ni ²⁺	0,25
Fe ²⁺	0,50
Na ⁺	300,00
K ⁺	500,00
F ⁻	2,50
Cl ⁻	300,00
NO ₃ ⁻	300,00
SO ₄ ²⁻	50,00
Zn ²⁺	0,50
PO ₄ ³⁻	250,00
Al ³⁺	50,00
Mn ²⁺	1,00
V ⁵⁺	1,00

* Variação < 5%

** Adição de 60 µgL⁻¹ de Cd(II).

Os resultados apresentados na Tabela 9 confirmam o relatado na literatura sobre a interferência destes íons na reação de ditizona com cádmio.^{62,82,128} De acordo com nossos resultados, não houve interferência significativa dos íons estudados.

3.4.6 Análise das amostras com teste de adição e recuperação

Após a otimização dos parâmetros operacionais do módulo de análise e as concentrações dos reagentes, os valores estudados e os selecionados são mostrados na Tabela 10.

Tabela 10 - Parâmetros estudados e valores selecionados.

Variável	Faixa estudada	Valores selecionados
Concentração de Triton X100 (%) (m/v)	2,50 – 10,00	5,0
Concentração de Ditizona (%) (m/v)	0,005 – 0,10	0,01
Concentração de NaOH (molL ⁻¹)	0,50 – 1,50	1,0
Tempo de inserção de NaOH (s)	0,15 – 2,00	0,20
Tempo de inserção de Ditizona (s)	0,15 – 2,00	0,37
Tempo de mistura (circulação) (s)	0 – 80	30

Utilizando os valores apresentados na Tabela 10, foi processado um conjunto de soluções padrão de cádmio e os resultados são mostrado na Figura 30.

Figura 30 - Resultados referentes ao processamento de um conjunto de soluções padrão de cádmio nas concentrações de 15,0 - 175 µgL⁻¹.

Fonte: Autoria própria.

Tomando os valores máximos das leituras como parâmetro de medida, foi obtida a curva analítica mostrada na Figura 30. A partir dos resultados obtidos operando o módulo de análise com as condições estabelecidas na Tabela 10 obtiveram-se as seguintes figuras de mérito: resposta linear na faixa de concentrações de cádmio entre 15,0 e 175,0 μgL^{-1} ($R^2 = 0,997$, $n = 3$); limite de detecção 12,5 μgL^{-1} Cd ($n = 15$); desvio padrão relativo de 0,57% ($n = 10$) para uma amostra com 30 μgL^{-1} Cd; taxa de amostragem de 43 determinações por hora.

Um conjunto de amostras de águas foi processado para avaliar a exatidão utilizando o método de adição e recuperação. As amostras de 1 a 9 são águas minerais, de 10 a 12 são águas de rio e de 13 a 15 são águas de torneira. O teste de adição e recuperação foi realizado usando uma micropipeta para adição do padrão de Cd (II) as amostras. Os resultados podem ser vistos na Tabela 11.

Tabela 11 - Resultados referentes à adição e recuperação

Amostra	Cd(II) adicionado ($\mu\text{g L}^{-1}$)	Cd (II) recuperado ($\mu\text{g L}^{-1}$)		Recuperação (%)	
		Método proposto	Método de referência (ICP-OES)	Método proposto	Método de referência (ICPOES)
1-10	0	ns	ns	-	-
1	30	33,36 $\pm$ 0,01	31,50 $\pm$ 0,18	111,20	105,00
	60	59,02 $\pm$ 0,02	58,97 $\pm$ 0,31	98,37	98,28
2	30	25,33 $\pm$ 0,02	24,83 $\pm$ 1,31	84,43	82,77
	60	61,50 $\pm$ 0,02	52,93 $\pm$ 2,29	102,50	88,22
3	30	31,70 $\pm$ 0,01	28,09 $\pm$ 0,15	105,67	93,63
	60	60,05 $\pm$ 0,02	56,16 $\pm$ 0,54	100,08	93,60
4	45	44,30 $\pm$ 0,01	43,91 $\pm$ 0,49	98,44	97,71
	100	95,76 $\pm$ 0,02	103,16 $\pm$ 0,72	95,76	103,16
5	45	48,50 $\pm$ 0,02	45,70 $\pm$ 0,41	107,78	101,56
	100	112,45 $\pm$ 0,01	109,16 $\pm$ 0,45	112,45	106,16
6	45	46,58 $\pm$ 0,02	44,09 $\pm$ 0,58	103,51	97,98
	100	106,60 $\pm$ 0,01	106,80 $\pm$ 0,18	106,60	106,80
7	45	49,90 $\pm$ 0,03	46,60 $\pm$ 0,12	110,90	103,56
	100	94,00 $\pm$ 0,01	112,79 $\pm$ 0,1	94,00	112,79
8	45	46,18 $\pm$ 0,03	45,03 $\pm$ 0,66	102,63	100,07
	100	98,13 $\pm$ 0,01	103,31 $\pm$ 0,45	98,13	103,31
9	45	39,62 $\pm$ 0,02	45,25 $\pm$ 0,61	88,04	100,56
	100	92,05 $\pm$ 0,01	107,54 $\pm$ 0,86	92,05	107,54
10	45	43,86 $\pm$ 0,03	43,52 $\pm$ 0,18	97,43	96,71
	100	98,14 $\pm$ 0,01	99,82 $\pm$ 0,18	98,14	99,82
11	45	46,28 $\pm$ 0,02	44,08 $\pm$ 0,31	102,84	97,96
	100	99,48 $\pm$ 0,03	103,90 $\pm$ 1,31	99,48	103,90
12	45	41,95 $\pm$ 0,01	43,67 $\pm$ 0,29	93,23	97,04
	100	102,55 $\pm$ 0,01	103,40 $\pm$ 0,15	102,55	103,40
13	45	48,56 $\pm$ 0,02	44,45 $\pm$ 0,54	107,91	98,78
	100	98,60 $\pm$ 0,01	101,89 $\pm$ 0,18	98,60	101,89
14	45	37,84 $\pm$ 0,02	43,30 $\pm$ 0,14	84,09	96,22
	100	88,24 $\pm$ 0,03	102,77 $\pm$ 0,31	88,24	102,77
15	45	48,26 $\pm$ 0,03	44,56 $\pm$ 0,54	107,27	99,02
	100	90,12 $\pm$ 0,01	103,47 $\pm$ 0,18	90,12	103,47

Valores correspondentes à média e desvio padrão para n = 3; ns: ausência de sinal.

Inicialmente, as amostras foram analisadas empregando o procedimento proposto e o método de referência, nos dois casos não foi observado sinal que indicasse a presença de cádmio, pelo menos ao nível de concentração do limite de

detecção do procedimento proposto. Os resultados do teste de adição e recuperação mostram uma faixa de recuperação entre 84 e 112 %. Esta faixa de recuperação aceitável para amostras nesta faixa de concentração, estando de acordo com o entendimento neste sentido encontrado na literatura.¹³⁰

A fim de verificar a robustez global do sistema proposto, pois a qualidade dos resultados ao longo do tempo depende do processo químico envolvido e da estabilidade da instrumentação empregada. Neste caso, a instrumentação é constituída de protótipos experimentais, portanto passível de falhas. As amostras relacionadas na Tabela 12 com adição de padrão foram processadas em três dias distintos e observa-se que não há diferenças significativas entre os resultados, o que pode ser considerado uma prova inequívoca da robustez global do sistema proposto.

Tabela 12 - Recuperação de Cd(II) adicionado a amostras de águas com leitura em diferentes dias.

Amostra	Cd (II) adicionado ($\mu\text{g L}^{-1}$)	Cd(II) recuperado			
		Método proposto ($\mu\text{g L}^{-1}$)			Método de Referência ICPOES
		1º dia	5º dia	7º dia	1º dia
4	45	44,30 $\pm$ 0,01	42,48 $\pm$ 0,02	39,18 $\pm$ 0,01	43,91 $\pm$ 0,49
	100	95,76 $\pm$ 0,02	95,57 $\pm$ 0,02	82,43 $\pm$ 0,02	103,16 $\pm$ 0,72
5	45	48,50 $\pm$ 0,02	51,33 $\pm$ 0,02	42,30 $\pm$ 0,01	45,70 $\pm$ 0,41
	100	112,45 $\pm$ 0,01	98,29 $\pm$ 0,02	103,15 $\pm$ 0,01	109,16 $\pm$ 0,45
6	45	46,58 $\pm$ 0,02	46,24 $\pm$ 0,02	38,32 $\pm$ 0,02	44,09 $\pm$ 0,58
	100	106,60 $\pm$ 0,01	104,21 $\pm$ 0,01	101,32 $\pm$ 0,03	106,80 $\pm$ 0,18
7	45	49,90 $\pm$ 0,03	38,19 $\pm$ 0,01	56,10 $\pm$ 0,02	46,60 $\pm$ 0,12
	100	94,00 $\pm$ 0,01	94,33 $\pm$ 0,02	93,00 $\pm$ 0,02	112,79 $\pm$ 0,10
9	45	39,62 $\pm$ 0,01	32,73 $\pm$ 0,02	46,56 $\pm$ 0,01	45,25 $\pm$ 0,61
	100	92,05 $\pm$ 0,01	83,27 $\pm$ 0,02	81,08 $\pm$ 0,02	107,54 $\pm$ 0,86

A exatidão do método proposto foi verificada ao comparar os resultados obtidos com as amostras de águas com o método proposto e o método de referência, ICPOES. O teste estatístico utilizado para averiguação dos resultados foi o *test-t* pareado, com intervalo de confiança de 95 % e $n = 30$. O valor de t tabelado para estas condições é de $t = 1,70$, enquanto que o valor encontrado com o t

calculado foi de $t_{cal} = 1,54$. Sendo assim, de acordo com os testes estatísticos, não há diferença entre os resultados encontrados no método proposto e no método de referência.

Na Tabela 13 foram apresentados dados referentes a trabalhos realizados manualmente (em batelada) e com procedimentos de análise em fluxo com variados sistemas, com e sem etapas de pré-concentração.

Tabela 13 - Comparação dos métodos espectrofotométricos para determinação de Cádmio.

Procedimento	Pré-concentração	Faixa linear (μgL^{-1})	LD (μgL^{-1})	Frequência analítica (h^{-1})	Matriz	Referência
Batelada	+	0 - 1600	50,0	-	Água, carvão e cinzas.	[109]
Batelada	+	1000 - 10000	-	-	Vegetais, amostras medicinais e ambientais.	[121]
Batelada	+	0 - $2,5 \times 10^{-3}$	$1,0 \times 10^{-5}$	-	Águas e alimentos	[131]
Batelada	+	0 - 12000	$1,5 \times 10^{-3}$	-	Águas e alimentos	[119]
Batelada	+	5540 - 19580	810,0	-	Águas	[132]
Batelada	+	8 - 120	2,5	-	Cosméticos	[133]
Batelada	-	71 - 714	-	-	-	[126]
Batelada	-	420 - 9200	21,0	-	Amostras sintéticas.	[110]
Batelada	-	100 - 40000	30,0	-	Águas, amostras biológicas e solos.	[81]
FIA	+	10 - 100	2,0	60	Fertilizantes	[106]
FIA	+	6 - 300	5,4	11	Águas de superfície e potável	[82]
FIA	-	1000 - 20000	-	27	Água de torneira	[73]
FIA	-	1120 - 11200	240,0	-	Água mineral e amostras farmacêuticas	[120]
FIA	-	500 - 10000	34,0	55	Água de porto	[62]
FIA (Closed-loop)	-	15 - 175	12,5	43	Águas de rio, torneira e minerais.	*

+ existência de uma etapa de pré-concentração; - ausência de uma etapa de pré-concentração; LD = limite de detecção; FIA = análise em fluxo; * Trabalho proposto;

Nos procedimentos envolvendo análise em fluxo, sem etapas de pré-concentração, o procedimento proposto demonstrou ter como vantagem menor limite de detecção. Em relação aos sistemas de análise em fluxo com etapas de pré-concentração, o limite de detecção do procedimento proposto é próximo ao da referência [82] e 5 vezes menor que o da referência [106].

4 CONCLUSÕES

Os resultados obtidos com os módulos propostos neste trabalho para a determinação de cobalto e cádmio em águas demonstraram ser eficientes, respondendo ao objetivo do trabalho e atende os princípios de química verde.

Os métodos propostos apresentam vantagens em relação às metodologias convencionais. Os sistemas propostos demonstraram ser robustos e facilmente adaptáveis, alterando a forma física ou o software de controle, facilitando a mudança das condições de análise de acordo com a necessidade ou a manutenção das peças dos módulos.

No método proposto para a determinação do cobalto em águas, a forma como as alíquotas das soluções foram inseridas permitiu uma maior interpenetração entre amostra e reagentes, possibilitando uma melhora no processo de mistura, redução do tempo de parada para ocorrência da reação e aumento da frequência analítica. O procedimento analítico desenvolvido para determinação de cobalto apresentou limite de detecção de $0,06 \mu\text{gL}^{-1}$.

No método para a determinação de cádmio em amostras de águas, foi proposto um procedimento não extrativo e sem o uso de solventes clorados na solubilização do reagente ditizona, estando assim de acordo com os princípios da química verde. A alcalinidade elevada demonstrou ser essencial no método proposto, contribuindo para a seletividade do método. O procedimento analítico desenvolvido para determinação de cádmio apresentou limite de detecção de $12,5 \mu\text{gL}^{-1}$.

Os resultados obtidos com os métodos propostos na determinação de cobalto e cádmio em amostras de águas demonstraram ser concordantes com os resultados obtidos com amostras certificadas e pelo método de referencia, respectivamente, não demonstrando diferença significativa ao ser aplicado o *teste-t* pareado.

O fotômetro empregado foi desenvolvido com recursos para trabalhar com cela de fluxo de longo caminho óptico (100 mm), usando fotodiodo de alto desempenho como transdutor de sinal e LED de alta intensidade como fonte de radiação eletromagnética. O software de controle dos dispositivos e de aquisição de dados foi desenvolvido de acordo com a necessidade do procedimento, adequando-se facilmente às modificações necessárias durante a mudança das matrizes.

Por fim, os módulos de análises e o fotômetro foram desenvolvidos de forma que fossem uma unidade compacta e de dimensões reduzidas, quando comparadas a sistemas usuais, apresentou baixo custo e alto desempenho.

REFERÊNCIAS

1. REIS, B. F.; GINÉ, M. F.; ZAGATTO, E. A. G.; LIMA, J. L. F. C.; LAPA, R. A. S. Multicommutation in flow analysis. Part 1. Binary sampling: concepts, instrumentation and spectrophotometric determination of iron in plant digests. **Analytica Chimica Acta**, v. 293, p. 129-138, 1994.
2. ARMENTA, S.; GARRIGUES, S.; GUARDIA, M. DE LA. Green analytical chemistry. **Trends in Analytical Chemistry**, v. 27, n. 6, p. 497-510, 2008.
3. ANASTAS, P.T. Green chemistry and the role of analytical methodology development. **Critical Reviews in Analytical Chemistry**, v. 29, n. 3, p. 167, 1999.
4. ROCHA, F. R. P.; NÓBREGA, J. A.; FATIBELLO-FILHO, O. Flow analysis strategies to greener analytical chemistry. **Green chemistry**, v. 3, p. 216-220, 2001.
5. GUARDIA, M. An integrated approach of analytical chemistry. **Journal of the Brazilian Chemical Society**, v. 10, n. 6, p. 429-437, 1999.
6. MELCHERT, W. R.; REIS, B. F.; ROCHA, F. R. P. Green chemistry and the evolution of flow analysis. A review. **Analytica Chimica Acta**, v. 714, p. 8-9, 2012.
7. RUZICKA, J.; HANSEN, E. H. Flow injection analyses: Part I. A new concept of fast continuous flow analysis. **Analytica Chimica Acta**, v. 78, p. 145-157, 1975.
8. KRONKA, E. A. M.; REIS, B. F.; KORN, M.; BERGAMIN FILHO, H. Multicommutation in flow analysis. Part 5: Binary sampling for sequential spectrophotometric determination of ammonium and phosphate in plant digests. **Analytica Chimica Acta**, v. 334, p. 287-293, 1996.
9. MORALES-RUBIO, A.; REIS, B. F.; GUARDIA, M. Multi-commutation in spectrometry. **Trends in Analytical Chemistry**, v. 28, n. 7, p. 903-913, 2009.
10. FERES, M. A.; FORTES, P. R.; ZAGATTO, E. A. G.; SANTOS, J. L. M.; LIMA, J. L. F. C. Multi-commutation in flow analysis: Recent developments and applications. **Analytica Chimica Acta**, v. 618, n. 1, p. 1-17, 2008.

11. ZAGATTO, E. A. G.; REIS, B. F.; OLIVEIRA, C. C.; SARTINI, R. P.; ARRUDA, M. A. Z. Evolution of the commutation concept associated with the development of flow analysis. **Analytica Chimica Acta**, v. 400, p. 249–256, 1999.
12. ROCHA, F. R. P.; REIS, B. F.; ZAGATTO, E. A. G.; LIMA, J. L. F. C.; LAPA, R. A. S.; SANTOS, J. L. M. Multicommution in flow analysis: concepts, applications and trends. **Analytica Chimica Acta**, v. 468, p. 119-131, 2002.
13. ICARDO, M. C.; MATEO, J. V. G.; CLATAYUD, J. M. Multicommution as a powerful new analytical tool. **Trends in Analytical Chemistry**, v. 21, n. 5, p. 366-378, 2002.
14. MARTELLI, P. B.; REIS, B. F.; KRONKA, E. A. M.; BERGAMIN FILHO, H.; KORN, M.; ZAGATTO, E. A. G.; LIMA, J. L. F. C.; ARAÚJO, A. N. multicommution in flow analysis. Part 2. Binary sampling for spectrophotometric determination of nickel, iron and chromium in steel alloys. **Analytica Chimica Acta**, v. 308, p. 397-405, 1995.
15. ARAÚJO, A. N.; LIMA, J. L. F. C.; REIS, B. F.; ZAGATTO, E. A. G. Multicommution in flow analysis. Part 3. Spectrophotometric kinetic determination of creatinine in urine exploiting a novel zone sampling approach. **Analytica Chimica Acta**, v. 310, p. 447-452, 1995.
16. OLIVEIRA, C. C.; SARTINI, R. P.; REIS, B. F.; ZAGATTO, E. A. G. Multicommution in flow analysis. Part 4. Computer-assisted splitting for spectrophotometric determination of copper and zinc in plants. **Analytica Chimica Acta**, v. 332, p. 173-178, 1996.
17. VIEIRA, J. A.; REIS, B. F.; KRONKA, E. A. M.; PAIM, A. P.; GINÉ, M. F. Multicommution in flow analysis. Part 6. Binary sampling for wide concentration range turbidimetric determination of sulphate in plant digests. **Analytica Chimica Acta**, v. 366, p. 251-255, 1998.
18. SANTOS, J. L. M.; RIBEIRO, M. F. T.; DIAS, A. C. B.; LIMA, J. L. F. C.; ZAGATTO, E. A. G. Multi-pumping flow systems: The potential of simplicity. **Analytica Chimica Acta**, v. 600, p. 21-28, 2007.
19. ROCHA, F. R. P.; INFANTE, C. M. C.; MELCHERT, W. R. A multi-purpose flow system based on multi-commutation. **Spectroscopy Letters**, v. 39, p. 651-668. 2006.

20. LAPA, R. A. S.; LIMA, J. L. F. C.; REIS, B. F.; SANTOS, J. L. M. Continuous sample recirculation in an opened-loop multicommutated flow system. **Analytica Chimica Acta**, v. 377, p. 103-110, 1998.
21. DUTT, V. V. S. E.; MOTTOLA, H. A. Novel approach to reaction-rate based determinations by use of transient redox effects. **Analytical Chemistry**, v. 47, n. 2, p. 357-359, 1975.
22. DUTT, V. V. S. E.; SCHEELER, D.; MOTTOLA, H. A. Repetitive determinations of iron(III) in closed flow-through systems by series reactions. **Analytica Chimica Acta**, v. 94, p.289-296, 1977.
23. ISHII, M.; YAMADA, M.; SUZUKI, S. Cyclic FIA for determination of free cyanide. **Bunseki Kagaku**, v. 36, n. 5, p. 316-319, 1987.
24. ZENKI, M.; NAKAKITA, Y.; KOMATSU, A.; YOKOYAMA, T. Closed-loop flow-injection analysis for the determination of a strong acid and base using an acetate buffer solution and Methyl Orange. **Bunseki Kagaku**, v. 49, p. 121-124, 2000.
25. ZENKI, M.; IWADOU, Y.; YOKOYAMA, T. Flow-injection analysis of copper(II) with PAR in the presence of EDTA. **Analytical Sciences**, v. 18, p. 1077-1079, 2002.
26. OHURA, H.; IMATO, T.; KAMEDA, K.; YAMASAKI, S. Potentiometric determination of bromate using an Fe(III)-Fe(II) potential buffer by circulatory flow-injection analysis. **Analytical Sciences**, v. 20, p. 513-518, 2004.
27. ARAÚJO, M. C. U.; SANTOS, S. R. B.; SILVA, E. A.; VÉRAS, G.; LIMA, J. L. F. C.; LAPA, R. A. S. Um fotômetro de fluxo para análises clínicas a base de um diodo emissor de luz bicolor. **Química Nova**, v. 20, n. 2, p. 137-145, 1997.
28. O'TOOLE, M.; DIAMOND, D. Absorbance based light emitting diode optical sensors and sensing devices. **Sensors**, v. 8, p. 2453-2479, 2008.
29. DASGUPTA, P. K.; BELLAMY, H. S.; LIU, H.; LOPEZ, J. L.; LOREE, E. L.; MORRIS, K.; PETERSEN, K.; MIR, K. A. Light emitting diode based flow-through optical absorption detectors. **Talanta**, v. 40, n. 1, p. 53-74, 1993.

30. FLASCHKA, H.; MCKEITHAN, C.; PASCHAL, D. Design and constrution of cells for long-path photometers. **Microchemical Journal**, v. 18, n. 5, p. 152-154, 1973.

31. SKOOG, D. A.; WEST, D. M.; HOLLER, F. J.; CROUCH, S. R. **Fundamentos de química analítica**. Tradução de Marco Tadeu Grassi. 8. ed. São Paulo: Cengage Learning, 2013. 999 p.

32. UNITED STATES ENVIRONMENTAL PROTECTION AGENCY (EPA). Office of Water 4601. **National primary drinking water regulations: Cadmium**. Washington, 1995. EPA 811-F-95-002 c-T

33. LEE, J. D. **Química Inorgânica não tão concisa**. Tradução de Henrique E. Toma, Koiti Araki e Reginaldo C. Rocha. 5 ed. São Paulo. Edgard Blücher, 1999. p. 425-435.

34. ALVES, A. N. L.; ROSA, H. V. D. Exposição ocupacional ao cobalto: aspectos toxicológicos. **Revista Brasileira de Ciências Farmacêuticas**, v. 39, n. 2, p. 129-139, 2003.

35. TALJAARD, R. E.; STADEN, J. F. van. Simultaneous determination of cobalt(II) and Ni(II) in water and soil samples with sequential injection analysis. **Analytica Chimica Acta**, v. 366, p. 177-186. 1998.

36. DENG, J.; HUANG, K.; HU, L. A. C.; JU, S.; XIAO, N. Cloud point extraction and simultaneous spectrophotometric determination of V(V), Co(II) and Cu(II) ions in water samples by 5-Br-PADAP using partial least squares regression. **Journal of Radioanalytical and Nuclear Chemistry**, v. 300, p. 835-842, 2014.

37. JIANG, H.; QIN, Y.; HU, B. Dispersive liquid phase microextraction (DLPME) combined with graphite furnace atomic absorption spectrometry (GFAAS) for determination of trace Co and Ni in environmental water and rice samples. **Talanta**, v. 74, p. 1160-1165, 2008.

38. ARAIN, M. B.; KAZI, T.G.; JAMALI, M. K.; JALBANI, N.; AFRIDI, H.I.; SHAH, A. Total dissolved and bioavailable elements in water and sediment samples and their accumulation in *Oreochromis mossambicus* of polluted Manchar Lake. **Chemosphere**, v. 70, n. 10, p. 1845-1856, 2008.

39. BRASIL. Conselho Nacional do Meio Ambiente. CONAMA. Resolução nº 357 de 17 de março de 2005. **Diário Oficial da União**, Brasília, 18 de março de 2005. Seção 2, p.7.
40. CADORE, S.; GOI, R. D.; BACCAN, N. Flame atomic absorption determination of cobalt in water after extraction of its morpholinedithiocarbamate complex. **Journal of the Brazilian Chemical Society**, v. 16, n. 5, p. 957-962, 2005.
41. CHAMJANGALI, M. A.; SHARIF-RAZAVIAN, L.; BAHARAMIAN, B.; BAGHERIAN, G. Synthesis and application of a functionalized polystyrene resin for on-line preconcentration and determination of cobalt(II) in water samples by flow injection/FAAS. **Journal of the Brazilian Chemical Society**, v. 21, n. 3, p. 525-532, 2010.
42. MIRZAEI, M.; AMIRTAIMOURY, N. Temperature-induced aggregation ionic liquid dispersive liquid-liquid microextraction method for separation trace amount of cobalt ion. **Journal of Analytical Chemistry**, v. 69, n. 6, p. 503-508, 2014.
43. CHAPARRO, L.; FERRER, L.; LEAL, L.; CERDÀ, V. A multisyringe flow-based system for kinetic–catalytic determination of cobalt(II). **Talanta**, v. 133, p.94-99, 2015.
44. GAVRILENKO, N.A.; SARANCHINA, N.V.; GAVRILENKO, M.A. A colorimetric sensor based on a polymethacrylate matrix with immobilized 1-(2-pyridylazo)-2-naphthol for the determination of cobalt. **Journal of Analytical Chemistry**, v. 70, n. 12, p. 1475-1479, 2015.
45. AMIN, A.S. Study on the solid phase extraction and spectrophotometric determination of cobalt with 5-(2-benzothiazolylazo)-8-hydroxyquinoline. **Arabian Journal of Chemistry**, v. 7, n. 5, p. 715-721, 2014.
46. BRASIL. Companhia de Tecnologia de Saneamento Ambiental. CETESB. Resolução nº 045/2014/E/C/I de 21 de fevereiro de 2014. **Diário Oficial do Estado**, São Paulo, 20 de fevereiro de 2014. Anexo único, p. 3.
47. RODRÍGUEZ, V. G.; ROMERO, J. M. C.; SOLÍS, J. M. F.; IGLESIAS, J. P.; LAGO, M. S. Simultaneous Determination of Copper, Cobalt and Nickel by Hplc and Solvent Extraction With Diethyldithiocarbamic Acid as Reagent. **Analytical Letters**, v. 27, p. 1399-1406, 1994.

48. VUKOMANOVIC, D. V.; PAGE, J. A.; VANLOON, G. W. Voltammetric Reduction of Nickel and Cobalt Dimethylglyoximate. **Analytical Chemistry**, v. 68, p. 829-833, 1996.
49. LOCATELLI, C.; FAGIOLI, F.; GARAI, T. Peak resolution in the determination of cobalt and nickel by differential pulse and alternating current adsorption voltammetry. **Analytical Chemistry**, v. 63, n. 1, p. 1409-1413, 1991.
50. LEMOS, V.A.; SANTOS, J. S.; NUNES, L.S.; CARVALHO, M.B.; BALIZA, P.X.; YAMAKI, R.T. Amberlite XAD-2 functionalized with Nitroso R salt: synthesis and application in an online system for preconcentration of cobalt. **Analytica Chimica Acta**, v. 494, p. 87-95, 2003.
51. LEMOS, V. A.; FRANÇA, R. S.; MOREIRA, B.O. Cloud point extraction for Co and Ni determination in water samples by flame atomic absorption spectrometry. **Separation and Purification Technology**, v. 54, p. 349-354, 2007.
52. BENKHEDDA, K.; INFANTE, H.G.; IVANOVA, E.; ADAMS, F. Ultratrace determination of cobalt in natural waters by electrothermal atomic absorption spectrometry using flow-injection on-line sorption preconcentration in a knotted reactor precoated with 1-phenyl-3-methyl-benzoylpyrazol-5-one. **Journal of Analytical Atomic Spectrometry**, v. 15, p. 429-434, 2000.
53. SOROURADDIN, S.M.; NOURI, S. Simultaneous temperature-assisted dispersive liquid-liquid microextraction of cobalt, copper, nickel and zinc ions from high-volume water samples and determination by graphite furnace atomic absorption spectrometry. **Analytical Methods**, v. 8, p. 1396-14034, 2016.
54. LIN, Q.; GUIRAÚM, A.; ESCOBAR, R. Flow-injection chemiluminescence determination of cobalt(II) and manganese(II). **Analytica Chimica Acta**, v. 283, p. 379-385, 1993.
55. LI, B.; WANG, D.; LV, J.; ZHANG, Z. Chemometrics-assisted simultaneous determination of cobalt(II) and chromium(III) with flow-injection chemiluminescence method. **Spectrochimica Acta Part A**, v. 65, n. 1, p. 67-72, 2006.

56. VASILIOU, E. G.; MAKAROVSKA, Y. M.; PNEUMATIKOS, I. A.; LOLIS, N. V.; KALOGERATOS, E. A.; PAPADAKIS, E. K.; GEORGIOU, C. A. Hydrogen peroxide assessment in exhaled breath condensate: condensing equipment-rapid flow injection chemiluminescence method. **Journal of the Brazilian Chemical Society**, v. 18, n. 5, p.1040-1047, 2007.
57. MENEGÁRIO, A. A.; PELLEGRINOTTI, D. C. ; GINÉ, M. F. ; NASCIMENTO FILHO, V. F. . On-line preconcentration flow system for multi-elemental analysis by X-ray fluorescence spectrometry. **Spectrochimica Acta. Part B, Atomic Spectroscopy**, v. 58-B, p. 543-549, 2003.
58. RAMA, M. J. R.; MEDINA, A. R.; DIAZ, A. M. New contributions to the field of bead-injection spectroscopy–flow-injection analysis: determination of cobalt. **Analytical and Bioanalytical Chemistry**, v. 376, p. 527–533, 2003.
59. STRELOW, F. W. E. Separation of cadmium from uranium, cobalt, nickel, manganese, zinc, copper, titanium, and other elements by cation exchange chromatography. **Analytical Chemistry**, v. 32, n. 3, p. 363-365, 1960.
60. KARIPCIN, F.; KABALCILAR, E. Spectroscopic and thermal studies on solid complexes of 4-(2-pyridylazo)resorcinol with some transition metals. **Acta Chimica Slovenica**, v. 54, n.2, p.242-247, 2007.
61. HAN, Q.; HUO, Y.; YANG, N.; YANG, X.; HAO, T. Determination of cobalt in water by thermal lens spectrometry with cloud point extraction. **Analytical Letters**, v. 48, p.2096-2106, 2015.
62. SANTOS, I. C.; MESQUITA, R. B. R.; RANGEL, A. O. S. S. Screening of cadmium and lead in potentially contaminated waters using a spectrophotometric sequential injection lab-on-valve methodology. **Talanta**, v. 143, p. 359-365, 2015.
63. CRISPINO, C. C.; REIS, B.F. Development of an automatic photometric titration procedure to determine olive oil acidity employing a miniaturized multicommuted flow-batch setup. **Analytical Methods**, v. 6, p. 302-307, 2014.
64. VIEIRA, G. P.; CRISPINO, C. C.; PERDIGÃO, S. R. W.; REIS, B.F. An environmentally friendly photometric procedure for ammonium determination in rainwater employing a multicommutation approach. **Analytical Methods**, v. 5, p. 489-495, 2013.

65. DANCHANA, K.; MAYA, F.; WILAIRAT, P.; URAISIN, K.; CERDA, V. Spectrophotometric determination of bromide in water using the multisyringe flow injection analysis technique coupled to a gas-diffusion unit. **Analytical Methods**, v. 7, p. 4202-4208, 2015.
66. OTTO, M.; STACH, J.; KIRMSE, R.; WERNER, G. The Tiron Radical as indicator substance in catalytic determination of trace metals. **Talanta**, v. 28, p. 345-347, 1981.
67. BOGNAR, J.; JELLINEK, O. Detection of submicro quantities of cobalt with use of reaction Tiron-hydrogen peroxide and Tiron-2.7-dihydroxynaphthalene-hydrogen peroxide, respectively. **Acta chimica Academiae Scientiarum Hungaricae**, v. 29, p. 21, 1961.
68. OTTO, M.; RENTSCH, J.; WERNER, G. Optimized spectrophotometric determination of trace cobalt and manganese by their catalysis of the Tiron-hydrogen peroxide reaction. **Analytica Chimica Acta**, v. 147, p. 267-275. 1983.
69. OTTO, M.; WERNER, G. Mechanistic studies for modelling the metal ion-catalyzed Tiron-hydrogen peroxide indicator reaction. **Analytica Chimica Acta**, v. 147, p. 255-265. 1983.
70. MARCÉ, R. M.; CALULL, M.; BORRULL, F. A sensitive kinetic-thermometric method for Co(II) determination based on the Tiron-hydrogen peroxide reaction. **Thermochimica Acta**, v. 117, p. 89-95, 1987.
71. ROHILLA, R.; GUPTA, U. Simultaneous determination of cobalt (II) and nickel (II) by first order derivative spectrophotometry in micellar media. **E-Journal Chemistry**, v. 9, n. 3, p. 1357-1363, 2012.
72. WEN, X.; HE, L. SHI, C. DENG, Q.; WANG, J.; ZHAO, X. Application of rapid cloud point extraction method for trace cobalt analysis coupled with spectrophotometric determination. **Spectrochimica Acta Part A: Molecular and Biomolecular Spectroscopy**, v. 115, p. 452-456, 2013.
73. STADEN, J. F. van.; TALJAARD, R. E. Determination of lead(II), copper(II), zinc(II), cobalt(II), cadmium(II), iron(II), mercury(II) using sequential injection extractions. **Talanta**, v. 64, p. 1203-1212, 2004.

74. CHEN, Z.; LI, H. A method of high sensitivity and in situ determination of trace cobalt(II) in water samples with salicyl fluorone. **Water Science & Technology**, v. 70, n. 7, p. 1182-1187, 2014.
75. ISSHIKI, K.; NAKAYAMA, E. Determination of ultratrace amounts of cobalt by catalysis of the Tiron-hydrogen peroxide reaction with an improved continuous-flow analysis system. **Talanta**, v. 34, n. 2, p. 277-281, 1987.
76. BOTEV, I. A new conception of Bouguer-Labert-Beer's law. **Frezenius' Journal of Analytical Chemistry**, v. 297, p. 419, 1979.
77. DIAS, T. R.; BRASIL, M. A.S., FERES, M. A.; REIS, B.F. A flow cell with a new design to improve the utilization of the radiation emitted by LED and employed as a radiation source for photometric detection. **Sensors and Actuators B**, v. 198, p. 448-454, 2014.
78. DIAS, T.R.; ROHWEDDER, J.J. R.; BRASIL, M.A.S.; REIS, B.F. Development of a high sensitivity photometric procedure for the determination of vanadium in mineral and fresh waters employing a downsized multicommutated flow analysis approach. **Analytical Methods**, v. 6, n.1, p. 667-974, 2014.
79. GOMES, T. F.; VIDA, A. C. F.; SASAKI, M. K.; SILVA, C. R.; BARROS, V. A. F.; ZAGATTO, E. A. G. A flow system with zone merging and zone trapping in the main reactor applied to spectrophotometric catalytic determination of cobalt in grasses. **Talanta**, v. 102, p. 53-58, 2012.
80. FERREIRA, S. L. C.; ANDRADE, J. B. A.; KORN, M. G. A.; PEREIRA, M., G.; LEMOS, V. A.; SANTOS, W. N. L.; RODRIGUES, F. M.; SOUZA, A. S.; FERREIRA, H. S.; SILVA, E. G. P. Review of procedures involving separation and preconcentration for the determination of cadmium using spectrometric techniques. **Journal of Hazardous Materials**, v. 145, n. 3, p. 358-367, 2007.
81. ULLAH, M. R.; HAQUE, M. E. Spectrophotometric determination of toxic elements (cadmium) in aqueous media. **Journal of Chemical Engineering**, v. 25, n. 1, p. 1-11, 2010.
82. NEZIO, M. S. D.; PALOMEQUE, M. E.; BAND, B. S. F. Automated flow-injection method for cadmium determination with pré-concentration and reagent preparation on-line. **Química Nova**, v. 28, n. 1, p. 145-148, 2005.

83. EUR- Lex. European Economic Community. EEC. Diretriz n ° 83/513/EEC de 26 de setembro de 1983. Anexo 1, p. 6. Disponível em: <http://eur-lex.europa.eu/legal-content/EN/TXT/?uri=CELEX%3A31983L0513>. Acesso em 23 set. 2016.
84. LEZI, N.; ECONOMOU, A.; DIMOVASILIS, P. A.; TRIKALITIS, P. N.; PRODROMIDIS, M. I. Disposable screen-printed sensors modified with bismuth precursor compounds for the rapid voltammetric screening of trace Pb(II) and Cd(II). **Analytical Chimica Acta**, v. 728, p. 1–8, 2012.
85. MAHESAR, S. A.; SHERAZI, S. T.; NIAZ, A.; BHANGER, M. I.; UDDIN, S.; RAUF, A. Simultaneous assessment of zinc, cadmium, lead and copper in poultry feeds by differential pulse anodic stripping voltammetry. **Food Chemistry and Toxicology**, v. 48, p. 2357-2360, 2010.
86. TARLEY, C. R. T.; SANTOS, V. S.; BAETA, B. E. L.; PEREIRA, A. C.; KUBOTA, L. T. Simultaneous determination of zinc, cadmium and lead in environmental water samples by potentiometric stripping analysis (PSA) using multiwalled carbon nanotube electrode. **Journal of Hazardous Materials**, v. 169, p. 256–262, 2009.
87. CORREIA, P. R. M.; OLIVEIRA, E.; OLIVEIRA, P. V. Simultaneous determination of Cd and Pb in food stuffs by electrothermal atomic absorption spectrometry. **Analytica Chimica Acta**, v. 405, n. 1, p. 205-211, 2000.
88. EFENDIOGLU, A.; YAGAN A. S. C. I., M.; BATI, B. Preconcentration of Cu(II), Cd(II) and Pb(II) on Amberlite XAD-4 resin functionalized with N, N'-bis(o-vanillinidene)-ethylenediamine and their determination by FAAS in water samples. **Analytical Sciences**, v. 26, n. 12, p. 1283-1288, 2010.
89. EZODDIN, M.; SHEMIRANI, F.; ABDI, KH.; SAGHEZCHI, M. K.; JAMALI, M. R. Application of modified nano-alumina as a solid phase extraction sorbent for the preconcentration of Cd and Pb in water and herbal samples prior to flame atomic absorption spectrometry determination. **Journal of Hazardous Materials**, v. 178, n. 1, p. 900-905, 2010.
90. TUFEKCI, M.; BULUT, V.; ELVAN, H.; OZDES, D.; SOYLAK, M.; DURAN, C. Determination of Pb(II), Zn(II), Cd(II), and Co(II) ions by flame atomic absorption spectrometry in food and water samples after preconcentration by coprecipitation with Mo(VI)-diethyldithiocarbamate. **Environmental Monitoring and Assessment**, v. 185, p. 1107-1115, 2013.

91. KUMAR, B. N.; RAMANA, D. K. V.; HARINATH, Y.; SESHIAIAH, K.; WANG, M. C. Separation and preconcentration of Cd(II), Cu(II), Ni(II), and Pb(II) in water and food samples using Amberlite XAD-2 functionalized with 3-(2-nitrophenyl)-1H-1,2,4-triazole-5(4H)-thione and determination by inductively coupled plasma-atomic emission spectrometry. **Journal of Agricultural and Food Chemistry**, v. 59, n. 20, p. 11352–11358, 2011.

92. MASSADEH, A.; GHARIBEH, A.; OMARI, K.; AL-MOMANI, I.; ALOMARY, A.; TUMAH, H. Simultaneous determination of Cd, Pb, Cu, Zn, and Se in human blood of Jordanian smokers by ICP-OES. **Biological Trace Element Research**, v. 133, p. 1–11, 2010.

93. ZHU, Y.; CHIBA, K. Determination of cadmium in food samples by ID-ICP-MS with solid phase extraction for eliminating spectral-interferences. **Talanta**, v. 90, p. 57–62, 2012.

94. BUI, M. P.; LI, C. A.; HAN, K. N.; PHAM, X. H.; SEONG, G. H. Electrochemical determination of cadmium and lead on pristine single-walled carbon nanotube electrodes. **Analytical Sciences**, v. 28, n. 7, p. 699-704, 2012.

95. LU, M.; TOGHILL, K. E.; COMPTON, R. G. Simultaneous detection of trace cadmium(II) and lead(II) using an unmodified edge plane pyrolytic graphite electrode. **Electroanalysis**, v. 23, p. 1089–1094, 2011.

96. NAGLES, E.; ARANCIBA, V.; RIOS, R. Determination of lead and cadmium in the presence of quercetin-50-sulfonic acid by adsorptive stripping voltammetry with a hanging mercury drop electrode and a nafion-coated mercury film electrode. **International Journal of Electrochemical Science**, v. 7, p. 4545–4558, 2012.

97. MELO, M. H. A.; FERREIRA, S. L. C.; SANTELLI, R. E. Determination of cadmium by FAAS after on-line enrichment using a mini column packed with Amberlite XAD-2 loaded with TAM. **Microchemical Journal**, v. 65, p. 59-65, 2000.

98. ANTHEMIDIS, A. N.; ZACHARIADIS, G. A.; FARASTELIS, C. G.; STRATIS, J. A. On-line liquid–liquid extraction system using a new phase separator for flame atomic absorption spectrometric determination of ultra-trace cadmium in natural waters. **Talanta**, v. 62, n. 3, p. 437-443, 2004.

99. SABERMAHANI, F.; TAHER, M. A. Determination of trace amounts of cadmium and copper by atomic absorption spectrometry after simultaneous extraction and preconcentration using a new water-soluble polyacrylic acid/alumina sorbent. **Microchimica Acta**, v. 159, p. 117–123, 2007.
100. MIRANDA, C. E.S.; REIS, B. F.; KRUG, F. J. A flow injection system with four ion exchange resin columns for cadmium pre-concentration and determination by flame AAS. **Journal of the Brazilian Chemical Society**, v. 6, p. 387-392, 1995.
101. WADELIN, C.; MELLON, M. G. Spectrophotometric study of cadmium-1,10-phenanthroline system. **Analytical Chemistry**, v. 24, p. 894-896, 1952.
102. AKAIWA, H.; KAWAMOTO, H.; YOSHIMATSU, E. Spectrophotometric determination of cadmium(ii) with dithizone and 1,10-phenanthroline. **Bulletin of the Chemical Society of Japan**, v. 52, n. 12, p. 3718-3720, 1979.
103. IDRIS, K. A.; SELEIM, M. M.; ABU-BAKR, M. S. Ternary complexes in the spectrophotometric determination of trace amounts of silver(I) and cadmium(II). **Journal of Chemical Sciences- Indian Academy of Sciences**, v. 89, n. 6, p. 519-523, 1980.
104. MATHEW, L.; RAO, T. P. IYER, C. S. P.; DAMODARAN, A. D. Liquid-liquid extraction and spectrophotometric determination of cadmium with 1,10-phenanthroline and thymol blue. **Microchimica Acta**, v. 111, p. 231-237, 1993.
105. GARCIA, I. L.; NAVARRO, P.; CORDOBA, M. H. Manual and FIA methods for the determination of cadmium with malachite green and iodide. **Talanta**, v. 35, n. 11, p. 885-889, 1988.
106. GOMES NETO, J. A.; BERGAMIN FILHO, H.; SARTINI, R. P.; ZAGATTO, E. A. G. Determination of cadmium in foodstuffs and plant materials by flow-injection spectrophotometry including ion exchange. **Analytica Chimica Acta**, v. 306, p. 343-349, 1995.
107. GOMES NETO, J. A.; OLIVEIRA, A. P.; FRESCHI, G. P. G.; DAKUZAKU, C. S.; MORAES, M. Minimization of lead and copper interferences on spectrophotometric determination of cadmium using electrolytic deposition and ion-exchange in multi-commutation flow system. **Talanta**, v. 53, n. 3, p. 497-503, 2000.

108. QI, W.B.; ZHU, L. Z. Spectrophotometric determination of trace amounts of cadmium and zinc in waste water with 4-(2-pyridylazo)-resorcinol and mixed ionic and non-ionic surfactants. **Talanta**, v. 32, n. 10, p. 1013-1015, 1985.
109. CHAKRAVARTY, S.; MISHRA, R. K. Extraction-spectrophotometric determination of cadmium with N-hydroxy-N,N'-diphenylbenzamidine and 4-(2-pyridylazo)-resorcinol. **Analytical Sciences**, v. 8, n. 5, p. 609-612, 1992.
110. HASHEM, E. Spectrophotometric studies on the simultaneous determination of cadmium and mercury with 4-(2-pyridylazo)-resorcinol. **Spectrochimica ActaPart A**, v. 58, p. 1401-1410, 2002.
111. WATANABE, H.; OHMORI, H. Dual-wavelength spectrophotometric determination of cadmium with cation. **Talanta**, v. 26, p. 959-961, 1979.
112. CHUNG-GIN, H.; CHAO-SHENG, H.; JI-HONG, J. Spectrophotometric determination of micro amounts of cadmium in waste wter with cation and triton X-100. **Talanta**, v. 27, n. 8, p. 676-678, 1980.
113. QIU, X. C.; ZHU, Y. Q.; YAN, J. P. Use of a cadmium – new cation- emulsifier op complex for the spectrophotometric determination of available cadmium in acidic soils. **Analyst**, v. 113, p. 1329-1331, 1988.
114. SHIBATA, S. Solvent extraction and spectrophotometric determination of metals with 1-(2-pyridylazo)-2-naphthol. **Analytica Chimica Acta**, v. 25, p. 348-359, 1961.
115. GHASEMI, J.; HASHEMI, B. Surfactant-mediated complex formation for determination of traces amounts of zinc, cadmium, and lead with 4-(2-thiazolylazo)resorcinol and chemometric methods. **Environmental Moniting nd Assessment**, v. 183, p. 57-63, 2011.
116. NONOVA, D.; STOYANOV, K. Extraction-spectrophotometric determination of traces of copper(II), zinc(II), cadmium(II) and mercury(II) with 2-(5-Bromo-2-pyridylazo)-5-diethylaminophenol. **Mikrochimica Acta**, v. 1, p. 143-152, 1984.
117. SALIM, R.; SHRAYDEH, B. Spectrophotometric determination of cadmium(II) using 2-(5-Bromo-2-pyridylazo)-5-diethylaminophenol. **Microchemical Journal**, v. 34, p. 251-253, 1986.

118. YI, S. A study of the spectrophotometric determination of traces of cadmium(II) and copper(II) with 2-(5-Bromo-2-pyridylazo)-5-diethylaminophenol in the presence of polyglycol octylphenyl ether. **Microchemical Journal**, v. 36, p. 386-390, 1987.
119. KODURU, J. R.; LEE, K. D. Evaluation of thiosemicarbazone derivative as chelating agent for the simultaneous removal and trace determination of Cd(II) and Pb(II) in food and water samples. **Food Chemistry**, v. 150, p. 1-8, 2014.
120. SKRLÍKOVÁ, J.; ANDRUCH, V.; SKLENÁROVÁ, H.; SOLICH, P.; BALOGH, I. S.; BILLES, F. A novel non-extractive sequential injection procedure for determination of cadmium. **Analytical Letters**, v. 44, p. 431-445, 2011.
121. REDDY, S. A.; REDDY, K. J.; LAKSHMINARAYA, S.; PRIYA, D. L.; RAO, Y. S.; REDDY, A. V. Extractive spectrophotometric determination of trace amounts of cadmium(II) in medicinal leaves and environmental samples using benzildithiosemicarbazone (BDTSC). **Journal of Hazardous Materials**, v. 152, p. 903-909, 2008.
122. BULGARIU, L.; BULGARIU, D.; SARGHIE, I. Spectrophotometric determination of cadmium(II) using p,p'-Dinitro-SYM-diphenylcarbrazid in aqueous solution. **Analytical Letters**, v. 38, p. 2365-2375, 2005.
123. YUANQIAN, L.; JINGMEI, H.; JINGGUO, Y. BO, Z.; YUANQING, H. Multi-component analysis by flow injection-diode array detection-spectrophotometry using partial least squares calibration model for simultaneous determination of zinc, cadmium and lead. **Analytica Chimica Acta**, v. 461, p. 181-188, 2002.
124. AHMED, M. J.; CHOWDHURY, M. T. I. A simple spectrophotometric method for the determination of cadmium in industrial, environmental, biological and soil samples using 5,7-dibromo-8-hydroxyquinoline. **Analytical Sciences**, v. 20, n. 6, p. 987-990, 2004.
125. SILVERMAN, L.; TREGO, K. Determination of small amounts of cadmium in lead by a one-colour dithizone method. **Micro-Determination of Molecular Weight**, v. 77, p. 143-148, 1952.
126. PARADKAR, R. P.; WILLIAMS, R. R. Micellar colorimetric determination dithizone metal chelates. **Analytical Chemistry**, v. 66, n. 17, p. 2752-2756, 1994.

127. HERNÁNDEZ, C. J.; MANSILLA, G. C. Solubilizacion de La ditizona y SUS complejos de mercurio, plomo y cádmio em médio micelar y su aplicación em El análisis espectrofotométrico. **Revista de La Facultad de Ciencias de La UNI**, v. 10, n. 1, p. 23-27, 2006.
128. NEZIO, M. S. D.; PALOMEQUE, M. E.; BAND, B. S. F. A multi-element flow injection system for heavy metals determination. **Analytical Letters**, v. 39, p. 1211-1228, 2006.
129. HARRIS, D. C. **Análise química quantitativa**. Tradução de José Alberto Portela Bonapace e Oswaldo Esteves Barcia. 6. ed. Rio de Janeiro: LTC – Livros Técnicos e Científicos, 2005. 543 p., 638 p.
130. OLIVEIRA, S. R.; GOMES NETO, J. A.; NÓBREGA, J. A.; JONES, B. T. Determination of macro- and micronutrients in plant leaves by high-resolution continuum source flame atomic absorption spectrometry combining instrumental and sample preparation strategies. **Spectrochimica Acta, Part B**. v. 65, p. 316-320, 2010.
131. WEN, X.; DENG, Q.; GUO, J.; YANG, S. Ultra-sensitive determination of cadmium in rice and water by UV-vis spectrophotometry after single drop microextraction. **Spectrochimica Acta Part A**, v. 79, p. 508-512, 2011.
132. MOHAMED, G. G.; EL-BINDARY, A. A.; RIZK, M. S.; DIAB, M. A.; EL-SONBATI, A. Z.; SDEK, M. S. H. Extractive spectrophotometric method for determination of cadmium(II) in different water sources. **Journal of Molecular Liquids**, v. 212, p. 517-523, 2015.
133. ALTUNAY, N.; GÜRKAN, R. Determination of low levels of Cd(II) in cosmetic products by spectrophotometry after separation/preconcentration with cloud point extraction. **Analytical Methods**, v. 8, n. 12, p. 2673-2683, 2016.