

UNIVERSIDADE DE SÃO PAULO
INSTITUTO DE QUÍMICA
Programa de Pós-Graduação Mestrado Profissional
Tecnologia em Química e Bioquímica

MIKHAEL KIMITOSHI ABE

**ESTRATÉGIAS PARA DETERMINAÇÃO DE CIANETO
DISSOCIÁVEL POR ÁCIDO FORTE EM ÁGUAS POR
ANÁLISE EM FLUXO E CROMATOLOGRAFIA DE ÍONS**

Versão revisada da Dissertação defendida

São Paulo

Data do Depósito na SPG:

20/01/2021

MIKHAEL KIMITOSHI ABE

**ESTRATÉGIAS PARA DETERMINAÇÃO DE CIANETO
DISSOCIÁVEL POR ÁCIDO FORTE EM ÁGUAS POR
ANÁLISE EM FLUXO E CROMATOLOGRAFIA DE ÍONS**

*Dissertação apresentada ao Instituto de
Química da Universidade de São Paulo para
obtenção do Título de Mestre em Ciências,
Área de Concentração Tecnologia em Química
e Bioquímica*

Orientador: Prof. Dr. Jorge César Masini

Co-orientador: Msc. Eduardo Henrique Simões

São Paulo

2021

A138e Abe, Mikhael Kimitoshi
ESTRATÉGIAS PARA DETERMINAÇÃO DE CIANETO
DISSOCIÁVEL POR ÁCIDO FORTE EM ÁGUAS POR ANÁLISE EM
FLUXO E CROMATOGRÁFIA DE ÍONS / Mikhael Kimitoshi
Abe. - São Paulo, 2021.
108 p.

Mestrado Profissional - Instituto de Química da
Universidade de São Paulo. Departamento de Química
Fundamental.

Orientador: Masini, Jorge César

Coorientador: Simões, Eduardo Henrique

1. Cianeto. 2. Análise em fluxo. 3.
Cromatografia de Íons. 4. Difusão Gasosa. 5.
Análise de Águas. I. T. II. Masini, Jorge César,
orientador. III. Simões, Eduardo Henrique,
coorientador.

Dedico esta dissertação

Aos meus pais Lucia e Roberto pelo amor e esforço com os quais me presentearam com tudo de mais belo e afetuoso que a existência humana é capaz de proporcionar.

Ao meu querido “ermão” Yuri o qual quero tão bem.

À minha amada Patrícia cujo riso terno me inspira todos os dias.

Às matriarcas Neyde e Tiyoko(Olga) pelo exemplo de força e dedicação às famílias Caetano e Abe.

AGRADECIMENTOS

Agradeço ao Instituto de Química da Universidade de São Paulo através do meu querido orientador Prof. Dr. Jorge César Masini que, com muito compromisso e solidariedade, disponibilizaram suas respeitadas chancelas acadêmicas para um projeto de pesquisa profissional.

Aos meus colegas de Metrohm Brasil cujos esforços diários permitiram a realização e o financiamento de um projeto de pesquisa acadêmico-profissional como este, mesmo durante tempos desafiadores. Especial agradecimento aos meus gestores Rogério Telles, Sandro Barrionuevo e Eduardo Simões que abraçaram este projeto desde o início mesmo quando o ambiente externo mostrava-se desfavorável.

Aos membros do bloco Samby e Junior e do Samba dos Arcos pelos bons momentos de descontração proporcionados nos últimos anos.

Aos amigos do CCZ pelos mais de 20 anos de amizade.

Scientia vinces

RESUMO

Abe, M.K. - **Estratégias para determinação de cianeto dissociável por ácido forte em águas por análise em fluxo e cromatografia de íons**. 2021. 108p. Dissertação de Mestrado Profissional - Programa de Pós-Graduação de Tecnologia em Química e Bioquímica. Instituto de Química, Universidade de São Paulo, São Paulo.

O íon cianeto (CN^-) é um importante parâmetro de controle ambiental e de saúde devido ao seu potencial tóxico. Neste trabalho foram estudadas abordagens de análise em fluxo acoplada à cromatografia de íons com detecção amperométrica para a determinação do cianeto. Foram estudadas as interferências de ânions e metais comumente presentes em amostras de interesse ambiental e de saúde na quantificação de $70 \mu\text{g L}^{-1}$ de CN^- que é a concentração máxima permitida deste contaminante em água potável. Através da adaptação de um sistema de diálise convertido em sistema de difusão gasosa foi obtida uma recuperação média de $95 \pm 9\%$ de CN^- em amostras de água potável e água natural com biota fortificadas com 40 e $100 \mu\text{g L}^{-1}$ de CN^- . Os limites de detecção e quantificação do método foram experimentalmente estimados, com 95% de confiança, em $3,5 \mu\text{g L}^{-1}$ e $5,3 \mu\text{g L}^{-1}$, respectivamente. Os resultados demonstraram que o sistema em fluxo acoplado à separação cromatográfica com detecção amperométrica confere boa seletividade e robustez para determinação de cianeto dissociável por ácido forte (**SADCN**) em águas.

Palavras-chave: cianeto; análise em fluxo; cromatografia de íons; difusão gasosa; análises de águas

ABSTRACT

Abe, M.K. - **Strategies for strong acid dissociable cyanide determination in waters by flow analysis and ion chromatography**. 2021. 108p. Professional Master Thesis - Graduate Program Technology in Chemistry and Biochemistry. Instituto de Química, Universidade de São Paulo, São Paulo.

Cyanide (CN^-) is a parameter of interest for environmental and health controls due to its toxic potential. In this work, flow analysis approaches coupled with ion chromatography and amperometric detection were studied for cyanide determination. The effect of interfering anions commonly present in environmental samples were evaluated in the quantification of $70 \mu\text{g L}^{-1} \text{CN}^-$ which is maximum allowable concentration of this contaminant in drinking water. Using a dialysis system converted into a gas-diffusion system, a mean recovery of $95 \pm 9\%$ of CN^- was achieved in spiked samples of drinking and natural water. The limits of detection and quantification were experimentally estimated as $3.5 \mu\text{g L}^{-1}$ and $5.3 \mu\text{g L}^{-1}$, respectively. The results demonstrated that the flow-system coupled to chromatographic separation and amperometric detection provided good selectivity and robustness for strong acid dissociable cyanide (**SADCN**) determination in water samples.

Keywords: Cyanide; flow analysis; ion chromatography; gas-diffusion; water analysis

ÍNDICE

1. INTRODUÇÃO.....	20
1.1. O íon cianeto.....	20
1.2. Usos industriais.....	20
1.3. Toxicidade.....	20
1.4. Cianeto e Sociedade.....	21
1.5. Métodos para determinação de cianeto.....	22
1.6. Separação Cromatográfica de Cianeto.....	23
2. OBJETIVOS.....	25
2.1. Objetivo específico 1 – difusão gasosa.....	25
2.2. Objetivo específico 2 – comparação de metodologias.....	25
2.3. Objetivo específico 3 – avaliação de interferentes.....	25
3. MATERIAIS E MÉTODOS.....	26
3.1. Materiais e Equipamentos.....	26
3.2. Difusão Gasosa.....	28
3.3. Reagentes e soluções.....	29
3.4. Estudos de estratégias em fluxo.....	30
Abordagem 1.....	30
Abordagem 2.....	31
Abordagem 3.....	32
Abordagem 4.....	33
Abordagem 5.....	34
3.5. Figuras de Mérito.....	36
Linearidade.....	36
Limites de Detecção e Quantificação.....	37
Precisão.....	39
Exatidão.....	40
Robustez.....	40
3.6. Estudos de interferência aniônica.....	40
3.7. Estudos de interferência metálica.....	42
3.8. Avaliação de amostras.....	43

4. RESULTADOS E DISCUSSÃO	46
4.1. Sistemas em fluxo	46
Abordagem 1	46
Abordagem 2	47
Abordagem 3	48
Abordagem 4	48
Abordagem 5	49
4.2. Linearidade, Limites de Detecção e Limites de Quantificação	54
4.3. Precisão e exatidão	56
4.4. Robustez	58
4.5. Interferentes aniônicos	62
Haletos	64
Oxihalatos	66
Sulfeto	69
Tiocianato	74
Nitrito e Nitrato	76
Sulfato e Tiosulfato	78
Fosfato	79
4.6. Interferentes metálicos	80
Cobre	82
Zinco	83
Cádmio	84
Cobalto	85
Níquel	86
Ferro II e Ferro III	87
Alumínio, Chumbo e Cromo	88
4.7. Aplicação em amostras e comparação de métodos	91
5. CONCLUSÕES	99
6. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS	101
7. SÚMULA CURRICULAR	107

ÍNDICE DE FIGURAS

Figura 3-1: Válvula de injeção de 6 vias nas posições “Encher” (A) e “Injetar” (B) ...	26
Figura 3-2: Amostrador automático com Bomba Peristáltica e Válvula de Injeção ...	27
Figura 3-3: Cromatógrafo de Íons 930 Compact IC Flex.....	28
Figura 3-4: Célula de difusão gasosa.....	29
Figura 3-5: Diagrama do sistema da abordagem 1	31
Figura 3-6: Diagrama do sistema da abordagem 2	32
Figura 3-7: Diagrama do sistema da abordagem 3	33
Figura 3-8: Diagrama do sistema da abordagem 4	33
Figura 3-9: Diagrama do sistema da abordagem 5	34
Figura 3-10: Ilustração de curva analítica e intervalos de confiança com parâmetros utilizados para estimativa do limite de detecção (LD)	38
Figura 3-11: Ilustração de curva analítica e intervalos de confiança com parâmetros utilizados para estimativa do limite de quantificação (LQ).....	39
Figura 3-12: Lago ornamental com biota.....	44
Figura 4-1: Registro de corrente de 5 injeções consecutivas de padrão de CN^- $10 \mu\text{g L}^{-1}$	47
Figura 4-2: Registros de correntes para injeções de CN^- $500 \mu\text{g L}^{-1}$ obtidos na abordagem 3 e variando-se os tempos de transferência de 30 até 150 s.....	48
Figura 4-3: Teste de repetibilidade (n=8) do padrão de cianeto injetado na abordagem 5	50

Figura 4-4: Medidas de pH das soluções recolhidas no lado doador (A) e no lado receptor (B) do sistema de difusão gasosa na abordagem 5	50
Figura 4-5: Cromatogramas de padrão 70 µg L ⁻¹ de CN ⁻ obtidos na abordagem 5 e com diferentes intervalos de tempo decorridos desde a injeção da amostra na válvula 1 até a injeção na coluna cromatográfica	51
Figura 4-6: Áreas do pico de padrão 70 µg L ⁻¹ de CN ⁻ obtidos na abordagem 5 e com tempos total de acidificação, difusão, transferência e injeção de 90, 80, 70, 65, 60, 50 segundos respectivamente (esq.-dir.)	52
Figura 4-7: Sobreposição dos cromatogramas de calibração de cianeto	53
Figura 4-8: Sobreposição dos cromatogramas de calibração de cianeto	53
Figura 4-9: Curva analítica de cianeto para teste de linearidade	54
Figura 4-10: Resíduos da regressão linear da curva de calibração	55
Figura 4-11: Cromatogramas obtidos na avaliação de robustez variando-se a concentração de ácido sulfúrico (A: 1,0 mol L ⁻¹ ; B: 0,5 mol L ⁻¹ ; C: 0,2 mol L ⁻¹ ; D: 0,1 mol L ⁻¹ ; E: 0,01 mol L ⁻¹)	61
Figura 4-12: Áreas dos picos de CN ⁻ obtidas na avaliação de robustez variando-se a concentração de ácido sulfúrico (A: 1,0 mol L ⁻¹ ; B: 0,5 mol L ⁻¹ ; C: 0,2 mol L ⁻¹ ; D: 0,1 mol L ⁻¹ ; E: 0,01 mol L ⁻¹)	62
Figura 4-13: Sobreposição de cromatograma de padrão 70 µg L ⁻¹ de cianeto (laranja) e cromatograma de padrão teste C1 de 860 µg L ⁻¹ de sulfeto (azul) usando coluna Metrosep A Supp 10 – 100/2.0 com capacidade de 8,7 µmol (Cl ⁻)	70

Figura 4-14: Sobreposição de cromatograma de padrão 70 $\mu\text{g L}^{-1}$ de cianeto (laranja) e cromatograma de padrão teste C2 de 8,63 mg L^{-1} de sulfeto (azul) usando coluna Metrosep A Supp 10 – 150/2.0 com capacidade de 15 $\mu\text{mol (Cl}^{-}\text{)}$	71
Figura 4-15: Precipitados de Sulfeto de Bismuto (Bi_2S_3) em solução.....	72
Figura 4-16: Sobreposição de cromatogramas de padrão teste C3 de Sulfeto com uso de Nitrato de Bismuto (azul), sem uso Nitrato de Bismuto (cinza) e de padrão 70 $\mu\text{g L}^{-1}$ de cianeto utilizando coluna Metrosep A Supp 10 – 100/2.0 com capacidade de 8,7 $\mu\text{mol (Cl}^{-}\text{)}$	73
Figura 4-17: Concentrações determinadas de cianeto nas amostras teste de níquel e nos padrões de verificação entre as injeções.....	87
Figura 4-18: Medições de pH das amostras de água de torneira e água com biota .	93
Figura 4-19: Medições após ajuste de pH das amostras de água de torneira e água com biota.....	93
Figura 4-20: Cromatogramas sobrepostos de uma replicata de amostra de torneira (preta), água de torneira fortificada com 40 $\mu\text{g L}^{-1}$ de CN^{-} (vermelha) e água de torneira fortificada com 100 $\mu\text{g L}^{-1}$ de CN^{-} (verde).....	94
Figura 4-21: Cromatogramas sobrepostos de uma replicata de amostra com biota (preta), água com biota fortificada com 40 $\mu\text{g L}^{-1}$ de CN^{-} (vermelha) e água com biota fortificada com 100 $\mu\text{g L}^{-1}$ de CN^{-} (verde).....	95
Figura 4-22: Análises de amostras usando método 14403-2:2012. Água de torneira (T0); Água de torneira fortificada com 40 $\mu\text{g L}^{-1}$ de CN^{-} (T1); Água de torneira fortificada com 100 $\mu\text{g L}^{-1}$ de CN^{-} (T2); Água com biota (A0); Água com biota fortificada com 40	

$\mu\text{g L}^{-1}$ de CN^- (A1); Água com biota fortificada com $100 \mu\text{g L}^{-1}$ de CN^- (A2); Padrões controle de CN^- (10 ppb, 70 ppb e 130 ppb).....	96
----------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------	----

ÍNDICE DE EQUAÇÕES

Equação 1.1: Equilíbrio químico de dissociação de ácido cianídrico em solução	20
Equação 4.1: Reação de oxidação da prata e formação do ciano complexo de Ag^+	47
Equação 4.2: Reação de oxidação de prata na presença de haletos	64
Equação 4.3: Reação de oxidação da prata com formação do sal insolúvel Ag_2S ...	69
Equação 4.4: Equação de formação e decomposição de $\text{Cu}(\text{CN})_2$ em solução.....	83

ÍNDICE DE TABELAS

Tabela 1: Programa de tempos e comandos para abordagem 5	35
Tabela 2: Ânions mencionados na Portaria de Consolidação nº 5 para potabilidade de águas e suas concentrações máximas permitidas em mg L ⁻¹ e mol L ⁻¹ para estudo de interferência na determinação de cianeto.	41
Tabela 4: Concentrações de interferentes aniônicos avaliados	42
Tabela 5: Concentrações de interferentes metálicos avaliados	43
Tabela 6: Áreas dos picos de cianeto obtidas na abordagem 1 variando os tempos de transferência da solução aceptora para a válvula de injeção do cromatógrafo de íons	46
Tabela 7: Áreas dos picos de cianeto obtidas na abordagem 5	49
Tabela 8: Áreas dos picos de cianeto obtidas na abordagem 5	54
Tabela 9: Coeficientes e desvios das regressões linear e quadrática	55
Tabela 10: Limites de detecção e quantificação para cianeto estimados em diferentes intervalos de confiança.....	56
Tabela 11: Resultados obtidos no ensaio de repetibilidade para amostra sintética com 40 µg L ⁻¹ de CN ⁻	57
Tabela 12: Resultados obtidos no ensaio de repetibilidade para amostra sintética com 70 µg L ⁻¹ de CN ⁻	57
Tabela 13: Resultados obtidos no ensaio de repetibilidade para amostra sintética com 100 µg L ⁻¹ de CN ⁻	57

Tabela 14: Parâmetros cromatográficos e de fluxo usados para o estudo de robustez da metodologia.....	59
Tabela 15: Concentrações e recuperações de cianeto obtidas nas condições 1, 2 e 3 de avaliação de robustez	59
Tabela 16: Resultados do teste F aplicado às recuperações obtidas nas condições 1 e 2	60
Tabela 17: Resultados do teste F aplicado às recuperações obtidas nas condições 1 e 3	60
Tabela 18: Parâmetros de solução de acidificação alterados para estudos de robustez da metodologia.....	61
Tabela 19: Taxas de recuperação médias (n=3) de Cianeto em cada nível dos interferentes aniônicos avaliados	63
Tabela 20: Concentrações de fluoreto e concentrações determinadas de cianeto nas replicatas das amostras teste C1, C2 e C3	65
Tabela 21: Concentrações de haletos e concentrações determinadas de cianeto nas replicatas das amostras teste C1, C2 e C3	65
Tabela 22: Concentrações de haletos e concentrações determinadas de cianeto nas replicatas das amostras teste C3	66
Tabela 23: Concentrações de bromato e concentrações determinadas de cianeto nas replicatas das amostras teste C1, C2 e C3	67
Tabela 24: Concentrações de clorito e concentrações determinadas de cianeto nas replicatas das amostras teste C1, C2 e C3	68

Tabela 25: Concentrações de clorato e concentrações determinadas de cianeto nas replicatas das amostras teste C1, C2 e C3	68
Tabela 26: Recuperações médias (n=3) de Cianeto $70 \mu\text{g L}^{-1}$ na presença de Sulfeto em diferentes níveis	72
Tabela 27: Concentrações de sulfeto e concentrações determinadas de cianeto nas replicatas das amostras teste C1, C2 e C3 após uso de Bi^{3+} na solução ácida	74
Tabela 28: Concentrações de tiocianato e concentrações de cianeto nas replicatas das amostras teste C1, C2 e C3	75
Tabela 29: Concentrações de nitrato e concentrações determinadas de cianeto nas replicatas das amostras teste C1, C2 e C3	77
Tabela 30: Concentrações de nitrato e concentrações determinadas de cianeto nas replicatas das amostras teste C1, C2 e C3	77
Tabela 31: Concentrações de sulfato e concentrações determinadas de cianeto nas replicatas das amostras teste C1, C2 e C3	78
Tabela 32: Concentrações de tiosulfato e concentrações determinadas de cianeto nas replicatas das amostras teste C1, C2 e C3	79
Tabela 33: Concentrações de fosfato e concentrações determinadas de cianeto nas replicatas das amostras teste C1, C2 e C3	80
Tabela 34: Constante de estabilidade de alguns complexos metálicos de cianeto (Gerhardts, 2000)	81
Tabela 35: Taxas de recuperação médias (n=3) de Cianeto em cada nível dos interferentes metálicos avaliados	82

Tabela 36: Concentrações de Cobre e concentrações determinadas de cianeto nas replicatas das amostras teste C1, C2 e C3	83
Tabela 37: Concentrações de Zinco e concentrações determinadas de cianeto nas replicatas das amostras teste C1, C2 e C3	84
Tabela 38: Concentrações de Cádmio e concentrações determinadas de cianeto nas replicatas das amostras teste C1, C2 e C3	84
Tabela 39: Concentrações de Cobalto e concentrações determinadas de cianeto nas replicatas das amostras teste C1, C2 e C3	85
Tabela 40: Concentrações de Níquel e concentrações determinadas de cianeto nas replicatas das amostras teste C1, C2 e C3	86
Tabela 41: Concentrações de Ferro II e concentrações determinadas de cianeto nas replicatas das amostras teste C1, C2 e C3	88
Tabela 42: Concentrações de Ferro III e concentrações determinadas de cianeto nas replicatas das amostras teste C1, C2 e C3	88
Tabela 43: Concentrações de Alumínio e concentrações determinadas de cianeto nas replicatas das amostras teste C1, C2 e C3	89
Tabela 44: Concentrações de Chumbo e concentrações determinadas de cianeto nas replicatas das amostras teste C1, C2 e C3	89
Tabela 45: Concentrações de Cromo e concentrações determinadas de cianeto nas replicatas das amostras teste C1, C2 e C3	90
Tabela 46: Concentrações de cianeto determinadas nas amostras brutas e nas amostras fortificadas sem correção de pH	92

Tabela 47: Concentrações de cianeto determinadas nas amostras brutas e nas amostras fortificadas com correção de pH	97
Tabela 48: Concentrações de cianeto determinadas em injeções (n=3) de padrões de controle usando o método ISO 14403.....	98

SIGLAS E ABREVIATURAS

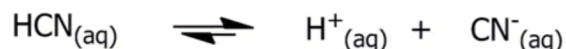
CN⁻	Íon cianeto
WAD	Dissociado por ácido fraco
SAD	Dissociado por ácido forte
PTFE	Polímero de Politetrafluoroetileno
Rec.	Recuperação da concentração adicionada ou esperada
DPR	Desvio padrão relativo em %
DR	Desvio relativo em %
C_{CN⁻}	Concentração de cianeto
<math>\bar{C}_{CN⁻}</math>	Concentração média de cianeto
C_{M⁺}	Concentração do metal de transição interferente
C_{A⁻}	Concentração do ânion interferente
s(x)	Estimativa do desvio do valor x
LD	Limite de detecção do método
LQ	Limite de quantificação do método

1. INTRODUÇÃO

1.1. O ÍON CIANETO

O ânion monovalente de cianeto consiste de um átomo de carbono ligado a um átomo de nitrogênio através de uma tripla ligação. Sua ocorrência pode ser natural ou decorrente de processos industriais (World Health Organisation, 2004).

Sob a forma do ácido cianídrico, HCN, pode ser encontrado na atmosfera terrestre oriundo de processos vulcânicos e de queima de biomassa. Biologicamente, é encontrado em pelo menos duas mil espécies de plantas na forma de glicosídeos com funções imunológicas (Dasgupta & Ma, 2010) (Osbourn, 1996) (Logue & Jackson, 2017).



Equação 1.1: Equilíbrio químico de dissociação de ácido cianídrico em solução

1.2. USOS INDUSTRIAIS

Industrialmente, o cianeto sob a forma de sais ou complexos é utilizado em uma vasta gama de processos. No ano 2000 cerca de 6% da produção de HCN foi usada na mineração, cujo uso como agente lixiviante se fez presente em 90% da produção de metais preciosos como ouro e prata. Os 94% restantes estiveram distribuídos na produção de outros materiais sendo que metade dela foi consumida na produção dos precursores orgânicos do *Nylon* (Mudder & Botz, 2004) (Ray, et al., 2011).

1.3. TOXICIDADE

O cianeto é conhecidamente tóxico, sendo letal mesmo quando a exposição ocorre a baixas concentrações. Através de ligação com a enzima citocromo oxidase

mitocondrial, a respiração celular é inibida provocando morte por sufocamento. Os efeitos clínicos são observados em menos de um minuto após a inalação e em alguns minutos no caso de ingestão. (Zacharis, Tzanavaras, Voulgaropoulos, & Karlberg, 2008) (Han, et al., 2010) (Hamel, 2011). O caso do incêndio na boate Kiss ocorrido no Rio Grande do Sul em 2013, expôs para a população os perigos da inalação do HCN formado na combustão dos materiais sintéticos que faziam parte da estrutura do prédio (Ceretta, 2017).

O ácido cianídrico e outros compostos, que liberam cianeto livre, são altamente tóxicos para praticamente toda fauna e flora quando presentes em efluentes industriais, principalmente, da mineração (Donato, Madden-Hallett, Smith, & Gursansky, 2017).

1.4. CIANETO E SOCIEDADE

No Brasil, a portaria de Consolidação nº 5 do Ministério da Saúde (Portaria de Potabilidade) define valores máximos permitidos de $0,07 \text{ mg L}^{-1}$ ($70 \text{ } \mu\text{g L}^{-1}$) de cianeto para potabilidade de águas (Ministério da Saúde, 2017).

A diretiva 98/83/EC da Comissão Europeia para o meio ambiente estabeleceu limites de $0,05 \text{ mg L}^{-1}$ ($50 \text{ } \mu\text{g L}^{-1}$) e a agência de proteção ambiental dos Estados Unidos (*USEPA*) limita a $0,20 \text{ mg L}^{-1}$ ($200 \text{ } \mu\text{g L}^{-1}$) o teor de cianeto em água potável (*National Primary Drinking Water Regulations*, 2009; *Official Journal of the European Communities*, 1998).

Com relação aos efluentes, a resolução 430 do Conselho Nacional do Meio Ambiente, órgão vinculado ao Ministério do Meio Ambiente, define como valores padrão máximos de 1 mg L^{-1} ($1000 \text{ } \mu\text{g L}^{-1}$) de cianeto total e de $0,2 \text{ mg L}^{-1}$ ($200 \text{ } \mu\text{g L}^{-1}$)

¹) de cianeto livre (destilável por ácidos fracos) para o lançamento de efluentes. (CONAMA, 2011)

1.5. MÉTODOS PARA DETERMINAÇÃO DE CIANETO

Total cyanide is determined by distillation with a strong acid and a strong oxidizing agent to generate hydrogen cyanide gas that is captured in a pH 13 sodium hydroxide solution and then typically determined by a colorimetric method. Dissociable cyanides are metal cyanides readily converted to free cyanide with acetate buffer (pH 4.5–6.0). Amenable cyanide is the difference of total cyanide and total cyanide after alkaline chlorination at pH 11–12. During alkaline chlorination, free cyanide and a portion of dissociable cyanides are eliminated by oxidation to eventually yield bicarbonate and nitrogen gas [5]. The amount eliminated is measured by the difference in total cyanide determinations before and after chlorination. Free cyanide is not bound or complexed to other species in drinking water.

O cianeto pode ser determinado como **cianeto total**, **cianeto dissociado**, **cianeto suscetível à oxidação por cloração** (*amenable cyanide*) e **cianeto livre**.

Na determinação do cianeto total utiliza-se uma destilação com ácido e agente oxidante fortes para gerar o gás do ácido cianídrico que é então capturado em pH 13 em uma solução, tipicamente de hidróxido de sódio. O cianeto capturado é tipicamente determinado através de método colorimétrico. Os cianetos dissociados por ácidos fracos (*WAD*) são cianetos metálicos prontamente convertidos em cianeto livre em tampão de acetato (pH 4,5 – 6,0). O cianeto suscetível à oxidação por cloração corresponde a diferença entre o cianeto total e o cianeto total medido após cloração alcalina em pH 11-12. Os cianetos livres correspondem àqueles que não estão ligados ou complexados à outras espécies em água potável. (Christison & Rohrer, 2007)

Devido a sua alta toxicidade em baixas concentrações, diversas estratégias analíticas têm sido desenvolvidas para quantificar as concentrações destas espécies em águas e efluentes. Métodos oficiais incluem titulação, espectrometria, potenciometria, análise por injeção em fluxo com detecção amperométrica (Ma & Dasgupta, 2010), sendo os métodos mais comuns os espectrofotométricos (D. G. G. Themelis et al., 2009).

Trabalhos recentes têm explorado o uso de sensores baseados em nanopartículas de ouro (AuNP's) para a detecção de ânions em águas contaminadas aproveitando as promissoras seletividade e sensibilidade destes materiais. Adicionalmente, a vantagem de nanosensores reside na possibilidade de realizar medições simples e *in situ*. Entretanto, muitos sensores ainda apresentam problemas na presença de outros interferentes aniônicos que geralmente apresentam-se em concentrações relativamente mais elevadas. (Fang et al., 2017; Kim et al., 2010)

Em um contexto em que metodologias de estado-da-arte utilizando nanomateriais, por exemplo, ainda carecem de mão-de-obra especializada e instrumentações estabelecidas, o desenvolvimento de uma estratégia simples e robusta de preparo de amostra em fluxo, associada a uma técnica analítica robusta como a cromatografia líquida com detecção amperométrica, pode ser de grande interesse às agências reguladoras ambientais, bem como aos prestadores de serviços de análises químicas.

1.6. SEPARAÇÃO CROMATOGRÁFICA DE CIANETO

O primeiro trabalho descrevendo um método cromatográfico utilizando colunas de troca iônica seguida de detecção amperométrica foi descrito por Rocklin et al. em 1983. Neste trabalho foram demonstradas as vantagens do uso da separação cromatográfica na eliminação de interferências aniônicas presentes em amostras, em

especial sulfeto. Por sua vez, foram reportados problemas de perda de simetria do pico cromatográfico por conta da formação de complexos com dissociação lenta com metais como Cobre, Ouro, Níquel, Ferro e Cobalto. (Rocklin & Johnson, 1983).

1.7. DETECÇÃO AMPEROMÉTRICA EM FLUXO DE CIANETO

Desde a introdução de sistemas em fluxo para a determinação de cianeto, diversas abordagens foram descritas fornecendo dados quantitativos e qualitativos importantes a respeito de configurações instrumentais mais adequadas para as avaliações deste contaminante na presença de interferentes diversos e que, conhecidamente, colocavam-se como limitações para as metodologias empregadas.

Baker e Morrison observaram em 1955 que uma solução alcalina contendo cianeto produzia oxidação espontânea de prata e, fazendo a medição de corrente entre um ânodo de prata e um cátodo de platina foi possível quantificar cianeto usando uma célula em fluxo (Baker & Morrison, 1955).

Em 1980, nos trabalhos de Pilar e Kosta foram descritos sistemas de difusão gasosa para preparo da amostra antes da injeção na célula amperométrica, visando minimizar possíveis interferentes. (Heckemann et al., 2001; Pihlar et al., 1979; Pihlar & Kosta, 1980).

Liu et al. em 1990 acoplaram à detecção amperométrica um sofisticado sistema que incluía difusão gasosa, fotodissociação e cromatografia para contornar interferentes diversos observados em estudos anteriores. (Liu et al., 1990)

2. OBJETIVOS

Desenvolver e fazer ensaios de validação de metodologia automatizada (FIA-IC-PAD) para a determinação de cianeto dissociável por ácido forte (*SADCN*) usando análise em fluxo combinada com cromatografia de íons e detecção amperométrica. Para atingir esse objetivo geral, os objetivos específicos abaixo foram explorados:

2.1.OBJETIVO ESPECÍFICO 1 – DIFUSÃO GASOSA

Avaliar a estratégia da difusão gasosa em fluxo como preparação de amostra para a determinação dos cianetos dissociáveis por ácido forte (***SADCN***).

2.2.OBJETIVO ESPECÍFICO 2 – COMPARAÇÃO DE METODOLOGIAS

Avaliar a exatidão dos resultados obtidos no sistema em fluxo estudado, comparado-os com aqueles reportados através do uso de metodologias validadas empregadas em órgãos de fiscalização ambiental e/ou prestação de serviços analíticos por comparação na quantificação de cianeto em águas e/ou efluentes.

2.3.OBJETIVO ESPECÍFICO 3 – AVALIAÇÃO DE INTERFERENTES

Avaliar a seletividade frente a interferentes aniônicos e catiônicos presentes em amostras de águas e/ou águas naturais.

3. MATERIAIS E MÉTODOS

3.1. MATERIAIS E EQUIPAMENTOS

- Cromatógrafo de íons 930 Compact IC Flex (Metrohm) equipado com bomba de duplo pistão de ZrO_2 equipado com válvula injetora de 6 vias com acionamento automático para posição “encher” da alça de amostragem ou “injetar” (Figura 3-1), bomba peristáltica de duplo canal, compartimento termostaticado para coluna cromatográfica
- Amostrador automático 858 Professional Sample Processor com duplo canal de bomba peristáltica e válvula injetora de 6 vias (Figura 3-1)

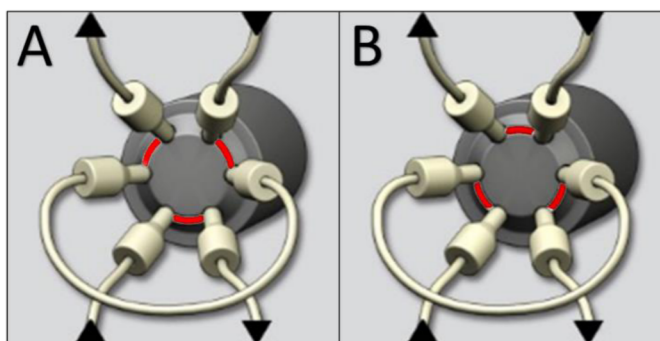


Figura 3-1: Válvula de injeção de 6 vias nas posições “Encher” (A) e “Injetar” (B)

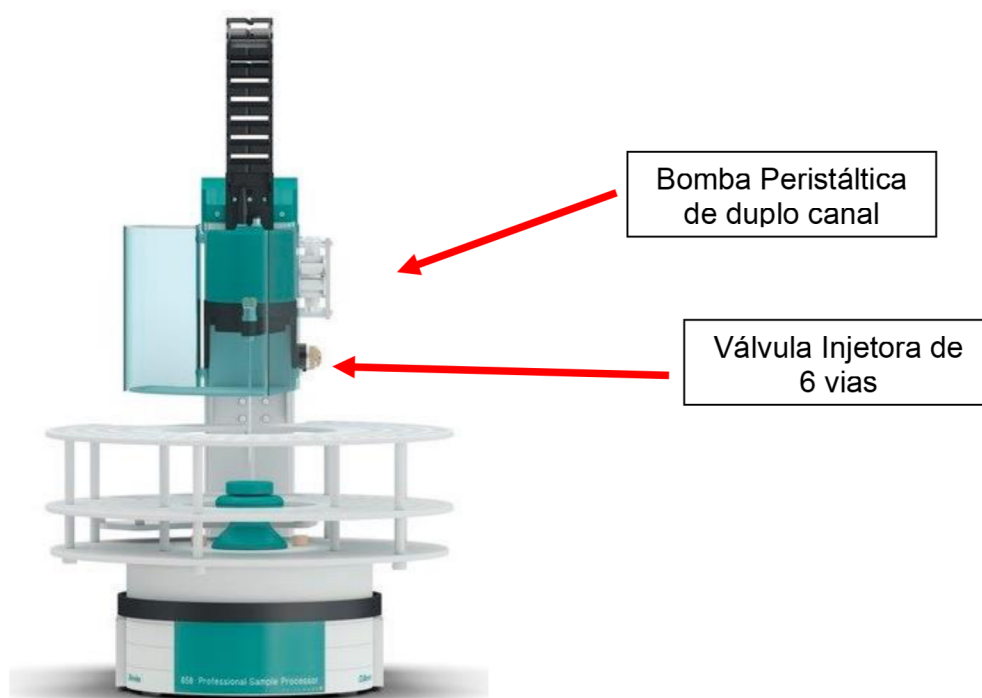


Figura 3-2: Amostrador automático com Bomba Peristáltica e Válvula de Injeção

- Detector amperométrico (Metrohm) termostatzado com capacidade de uso em modo potencial fixo (DC) e pulsado (PAD, flexIPAD®)
- Célula eletroquímica feita em PEEK (poli éter éter cetona) de geometria do tipo *wall-jet*, composta por um eletrodo de referência sólido Pd|PdO|OH⁻ (0,1 mol L⁻¹) (E = -0,038 V vs. Ag|AgCl|KCl (3 mol L⁻¹)), um eletrodo auxiliar de aço inox e um eletrodo de trabalho de prata (Ag) com 3 mm de diâmetro. Nesta célula foi usado um espaçador de 50 µm resultando num volume menor que 0,35 µL na célula amperométrica. Para todos os estudos descritos neste trabalho foi utilizado potencial fixo de 0,0 V.
- Coluna de troca aniônica Metrosep A Supp 10 (Metrohm) de 100 e 150 mm de comprimento e 2 mm de diâmetro interno com recheio de resina polimérica de

poliestireno e divinilbenzeno com tamanho de partícula de 4,6 μm ligadas a trocadores do tipo quaternário de amônio.

- Software de cromatografia MagIC Net 3.3® (Metrohm) instalado em um PC (Dell).
- Balança analítica Sartorius Cubis
- Micropipetas Socorex de volumes variados
- pHmetro 826 (Metrohm)



Figura 3-3: Cromatógrafo de Íons 930 Compact IC Flex

3.2. DIFUSÃO GASOSA

- Célula de difusão em fluxo (Figura 3-4) feita de material polimérico (Plexiglass®)
- Membrana hidrofóbica de PTFE da marca Sartorius com 47 mm de diâmetro.

- Tubos capilares de PTFE e PEEK com diâmetro interno de 0,5 mm

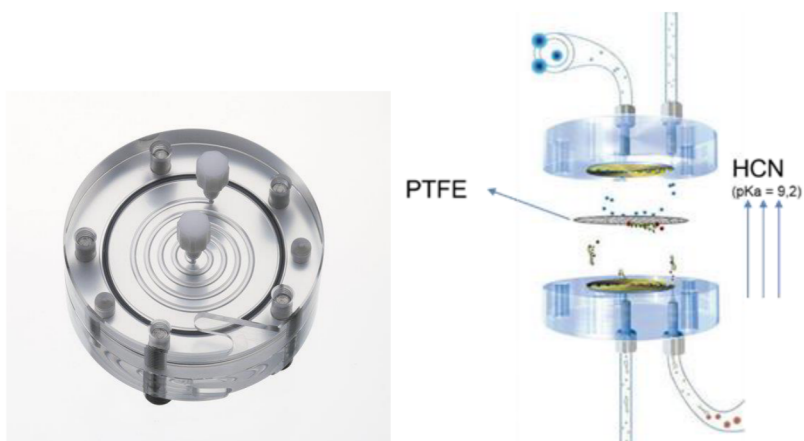


Figura 3-4: Célula de difusão gasosa

- Tubos de PVC (Tygon®) para bomba peristáltica com diâmetro interno de 0,76 mm e 400 mm de comprimento

3.3. REAGENTES E SOLUÇÕES

- Para o preparo de fase móvel para o cromatógrafo iônico e solução absorvedora da difusão gasosa pipetou-se 10 mL de solução concentrada comercial de Hidróxido de Sódio Suprapuro 30% (m m^{-1}) - CAS 1310-73-2 (Merck) e 35 μL de solução EDTA 0,2 mol L^{-1} .
- Para o preparo de padrões de cianeto e avaliação de interferentes foram usados padrões comerciais certificados das espécies de interesse na concentração de 1000 mg L^{-1} (Fluka) (QuimLab) ou soluções aquosas preparadas a partir dos respectivos sais hidrossolúveis
- Para realizar a acidificação em fluxo para geração de HCN foi utilizado Ácido Sulfúrico, 96% (Merck) na concentração de 1 mol L^{-1}
- Água deionizada Tipo I com alta resistividade (18,2 $\text{M}\Omega \text{cm}^{-1}$)
- Os padrões de calibração foram preparados em balão plástico de 100 mL por diluição volumétrica de um padrão estoque de concentração 10 mg L^{-1}

1. O padrão estoque, por sua vez, foi preparado em balão volumétrico plástico de 100 mL por diluição volumétrica de padrão estoque comercial da marca Sigma Aldrich de concentração 1000 mg L⁻¹.

3.4. ESTUDOS DE ESTRATÉGIAS EM FLUXO

Foram avaliadas 6 estratégias de configuração para realizar o estudo do sistema de difusão gasosa em fluxo seguida de separação cromatográfica e detecção amperométrica. Todas as estratégias tiveram em comum as seguintes etapas: 1- acidificação da amostra de estudo; 2 - Difusão em célula com membrana hidrofóbica; 3 - Transferência (por tempos variados) para alça de amostragem (*loop*) do cromatógrafo; 4 – Injeção no cromatógrafo; e 5- Detecção Amperométrica.

ABORDAGEM 1

A abordagem 1 (Figura 3-5) foi inspirada nos trabalhos descritos por Themelis et al. com modificações. (D. G. G. Themelis et al., 2009)

Nesta abordagem, na etapa de acidificação, foi empregado um padrão tipo “sanduíche” (Ácido/Amostra/Ácido). Durante 60 segundos, aproximadamente 3 mL de amostra foram bombeados por uma bomba peristáltica até uma válvula injetora (Injetor 1) de 6 portas e 2 vias (posição de enchimento) equipada com uma alça de amostragem de volume 200 µL. Após o carregamento da amostra na alça, a válvula foi acionada (posição injeção) de modo que uma solução ácida (H₂SO₄ 2,0 mol L⁻¹) bombeada por uma bomba peristáltica pudesse transportar a amostra até um capilar misturador de PEEK acoplado diretamente à célula de difusão. No lado receptor da célula de difusão, uma solução com composição idêntica à fase móvel, portanto alcalina, foi bombeada para absorção dos gases transferidos através da membrana de difusão. A solução receptora contida na célula de difusão foi bombeada por uma

bomba peristáltica e direcionada para uma segunda válvula injetora (Injetor 2) de modo a preencher uma segunda alça de volume 20 μL . Este volume, foi injetado na coluna cromatográfica e as injeções avaliadas. Na etapa de bombeamento da solução aceptora foram feitos estudos de otimização do tempo para obtenção do maior sinal analítico para o íon cianeto num padrão-teste de concentração 10 $\mu\text{g L}^{-1}$.

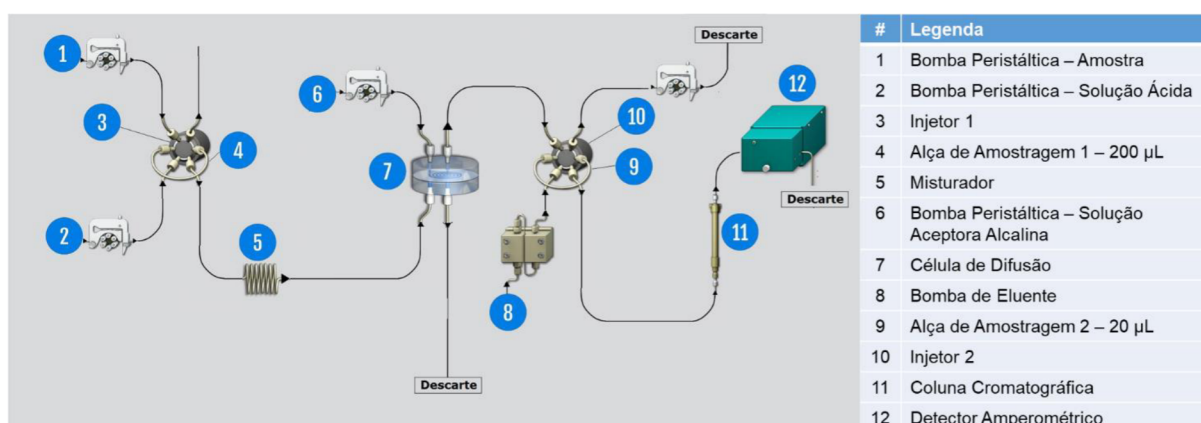


Figura 3-5: Diagrama do sistema da abordagem 1

ABORDAGEM 2

A abordagem 2 foi inspirada em sistemas comerciais de análise em fluxo sem as etapas de injeção e separação cromatográfica. (FIALab Instruments, 2020; Milosavljevic et al., 1995; Pihlar et al., 1979)

Nesta abordagem, amostra e solução ácida foram bombeadas para um misturador conectado diretamente no lado doador da célula de difusão gasosa. No lado receptor da célula de difusão, uma solução alcalina foi bombeada para recolher os gases ácidos que permearam a membrana de difusão. Nesta abordagem, o volume de amostra bombeado para a célula de difusão foi definido como o produto da vazão pelo tempo de bombeamento da bomba peristáltica. Por sua vez, a solução aceptora alcalina foi bombeada pela bomba de alta pressão do cromatógrafo de íons passando

pela célula de difusão e, por fim, no detector amperométrico. Através dessa configuração foi realizada uma avaliação direta e simples da eficiência de transferência dos gases pela membrana hidrofóbica na célula de difusão.

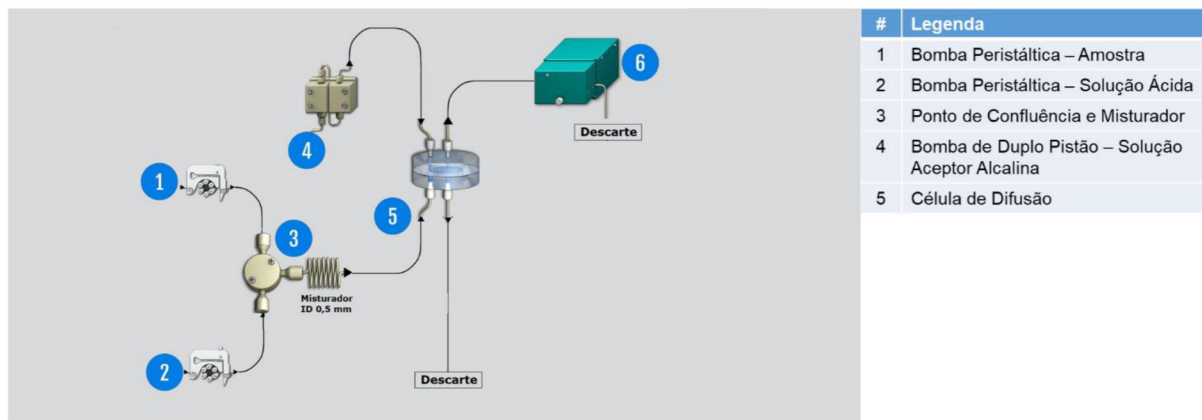


Figura 3-6: Diagrama do sistema da abordagem 2

Nesta abordagem as amostras foram bombeadas por 30 segundos em vazão de 0,3 mL/min totalizando um volume de amostra de aproximadamente 0,15 mL

ABORDAGEM 3

A abordagem 3 (Figura 3-7) foi uma modificação da abordagem 2.

Nesta abordagem, o volume de amostra levado até o ponto de confluência com a solução ácida no misturador foi definido por uma alça de amostragem (Injetor 1) de 200 μ L.

Por sua vez, a solução acceptora alcalina foi novamente bombeada pela bomba de alta pressão do cromatógrafo de íons passando pela célula de difusão e, por fim, no detector amperométrico.

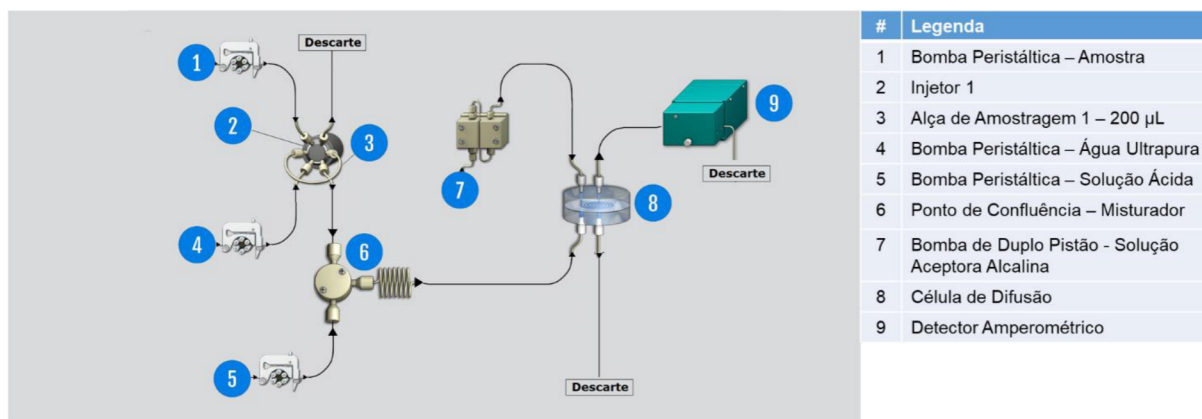


Figura 3-7: Diagrama do sistema da abordagem 3

ABORDAGEM 4

Na abordagem 4 foi adicionada uma coluna cromatográfica entre a célula de difusão e o detector amperométrico. Nesta abordagem a quantidade de cianeto recuperada através do sistema de difusão passaria diretamente para a coluna cromatográfica e, em seguida, no detector amperométrico.

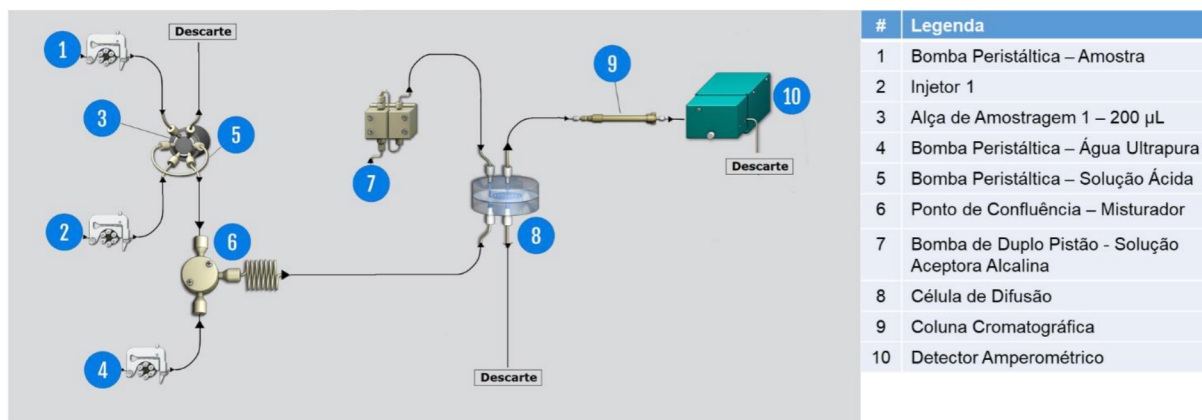


Figura 3-8: Diagrama do sistema da abordagem 4

ABORDAGEM 5

Na abordagem 5 foram incluídas no sistema uma bomba peristáltica e uma válvula injetora adicionais. Com esta abordagem, a quantidade de cianeto injetada na coluna cromatográfica foi limitada pelo volume de injeção da segunda alça de amostragem com 20 μL .

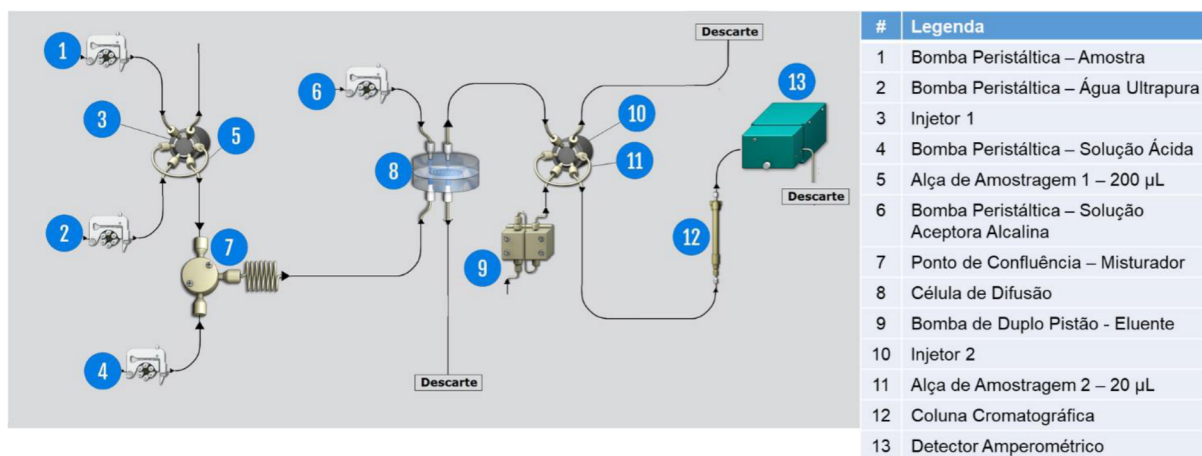


Figura 3-9: Diagrama do sistema da abordagem 5

Nesta abordagem, um volume aproximado de 3 mL de amostra foi bombeado para a alça de 200 μL (injetor 1) em vazão de 0,3 mL min^{-1} . Depois de 1 minuto, o injetor 1 mudou para posição de injeção, injetando o volume de amostra no percurso analítico, no qual é transportado por um fluxo de água a 0,3 mL min^{-1} até um ponto de confluência onde se mistura com uma solução de ácido sulfúrico 1 mol/L (pH<1) bombeada com uma vazão de 0,3 mL min^{-1} . A mistura de amostra e solução ácida foi passada por um capilar em espiral para homogeneização e chegou até a célula de difusão gasosa equipada com uma membrana hidrofóbica de PTFE. Na célula, o gás cianídrico (HCN) difundiu até uma solução aceptora alcalina (pH = 12,7) de composição idêntica à fase móvel. Esta solução aceptora foi então bombeada em vazão de 0,3 mL min^{-1} por intervalos variados de tempo até a válvula de injeção do

cromatógrafo. Foram usados capilares de 0,5 mm de diâmetro interno e mangueiras de 0,76 mm de diâmetro interno nas bombas peristálticas. A programação de acionamento de cada módulo e os tempos utilizados para cada comando estão descritos na Tabela 1. O tempo variável de bombeamento está representado pela letra T.

Tabela 1: Programa de tempos e comandos para abordagem 5

Tempo (segundos)	Módulo	Comando
0,0	Injetor 1	Encher
0,0	Detector	Iniciar Aquisição de Dados
60,0	Injetor 1	Injetar
60,0	Injetor 2	Encher
60 + T	Injetor 2	Injetar

Após a injeção no cromatógrafo, a solução acceptora passou pela coluna de separação até chegar ao detector amperométrico.

3.5. VALIDAÇÃO DE METODOLOGIA E FIGURAS DE MÉRITO

As estimativas das figuras de mérito da metodologia de estudo foram baseadas nas estimativas descritas por Ribeiro et al. e nas orientações do Instituto Nacional de Metrologia para validação de métodos analíticos (INMETRO, 2016; Ribeiro et al., 2008)

LINEARIDADE

A linearidade do método foi estimada através da análise gráfica da distribuição de resíduos e da comparação da soma dos resíduos quadráticos dos ajustes linear ($y_{i1} = a_0 + a_1 x$) e quadrático ($y_{i1} = a_0 + a_1 x + a_2 x^2$) dados pelas equações 1 e 2.

$$s_{y1} = \sqrt{\frac{\sum(y_i - \hat{y}_i)}{N - 2}} \quad (1)$$

$$s_{y2} = \sqrt{\frac{\sum(y_i - \hat{y}_i)}{N - 3}} \quad (2)$$

Onde s_{y1} é o desvio padrão calculado para o ajuste linear e s_{y2} é o desvio padrão para o ajuste quadrático. (Danzer & Currie, 1998)

A partir dos desvios s_{y1} e s_{y2} foram estimadas as diferenças entre as somas quadráticas dos dois ajustes conforme a equação 3.

$$\Delta S^2 = (N - 2) \times s_{y1} - (N - 3) \times s_{y2} \quad (3)$$

Onde ΔS^2 é a diferença entre as somas quadráticas dos ajustes e N é número dos padrões de calibração utilizados na construção da curva. A significância desta diferença foi estimada com relação a s_{y2}^2 empregando-se um teste F conforme as equações 4 e 5.

$$\frac{\Delta S^2}{s_{y1}^2} \leq F_{1,(N-3)} \text{ (Ajuste Linear é adequado)} \quad (4)$$

$$\frac{\Delta S^2}{s_{y1}^2} > F_{1,(N-3)} \text{ (Ajuste Quadrático é adequado)} \quad (5)$$

Onde $F_{1,n-3}$ é o ponto de distribuição F no nível de confiança escolhido com $f_1 = 1$ e $f_2 = N - 3$ graus de liberdade. Portanto, se $\Delta S^2/s_{y1}^2$ foi menor ou igual a $F_{1,n-3}$ considerou-se o ajuste linear adequado e se $\Delta S^2/s_{y1}^2$ foi maior a $F_{1,n-3}$ considerou-se o ajuste quadrático mais adequado.

LIMITES DE DETECÇÃO E QUANTIFICAÇÃO

Os limites de detecção (LD) e quantificação (LQ) foram calculados utilizando os parâmetros da curva analítica porque este leva em consideração o intervalo de confiança da regressão e pode ser considerado mais robusto que aqueles baseados em métodos visuais ou utilizando a relação de sinal-ruído. Para os cálculos do LD foram utilizadas as equações 6 e 7.

$$y_c = a_0 + S_y \times t \times \sqrt{\frac{1}{N} + 1 + \frac{\bar{x}^2}{\sum_{i=1}^n (x_i - \bar{x})^2}} \quad (6)$$

$$LD = 2 \times \frac{S_y \times t}{a_1} \times \sqrt{\frac{1}{N} + 1 + \frac{(y_c - \bar{y})^2}{a_1^2 \sum_{i=1}^n (x_i - \bar{x})^2}} \quad (7)$$

Onde y_c , também conhecido por y crítico, é o intercepto obtido no limite superior do intervalo de confiança ao redor da regressão. Este intervalo de confiança é

determinado pelo valor de t da distribuição de Student. O LD, por sua vez, é calculado a partir da projeção de y_c no limite inferior do intervalo de confiança Figura 3-10.

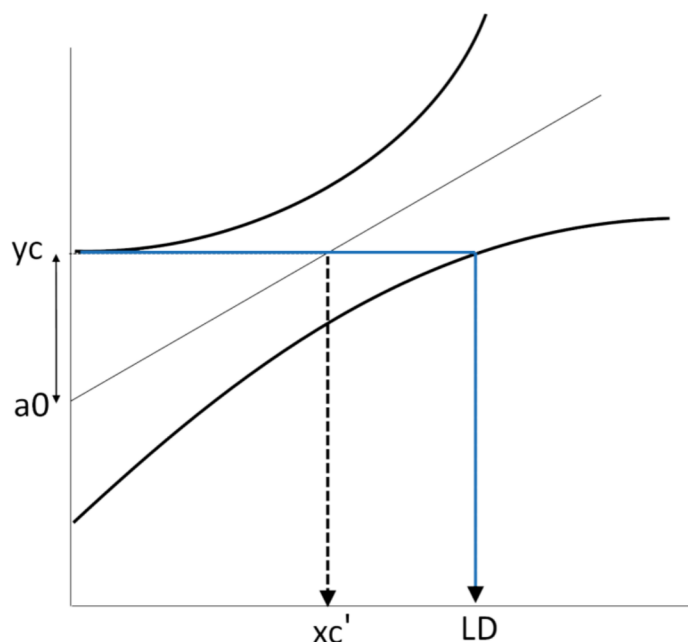


Figura 3-10: Ilustração de curva analítica e intervalos de confiança com parâmetros utilizados para estimativa do limite de detecção (LD)

Para os cálculos de LQ foram utilizadas as equações 8, 9 e 10.

$$x_c = \left(\frac{S_y \times t}{a_1} \right) \times \sqrt{\frac{1}{N} + 1 + \frac{\bar{x}^2}{\sum_{i=1}^n (x_i - \bar{x})^2}} \quad (8)$$

$$y_h = a_0 + 2 \times S_y \times t \times \sqrt{\frac{1}{N} + 1 + \frac{(x_c - \bar{x})^2}{\sum_{i=1}^n (x_i - \bar{x})^2}} \quad (9)$$

$$LQ = 2 \times \frac{S_y \times t}{a_1} \times \sqrt{\frac{1}{N} + 1 + \frac{(y_c - \bar{y})^2}{a_1^2 \sum_{i=1}^n (x_i - \bar{x})^2}} \quad (10)$$

Onde x_c é a concentração estimada no ponto em que o valor de a_0 intercepta a reta da regressão e y_h é o valor de y para a projeção de x_c no limite de controle superior do intervalo de confiança. O LQ, por sua vez, é calculado a partir da projeção de y_h no limite inferior do intervalo de confiança ao redor da regressão Figura 3-11.

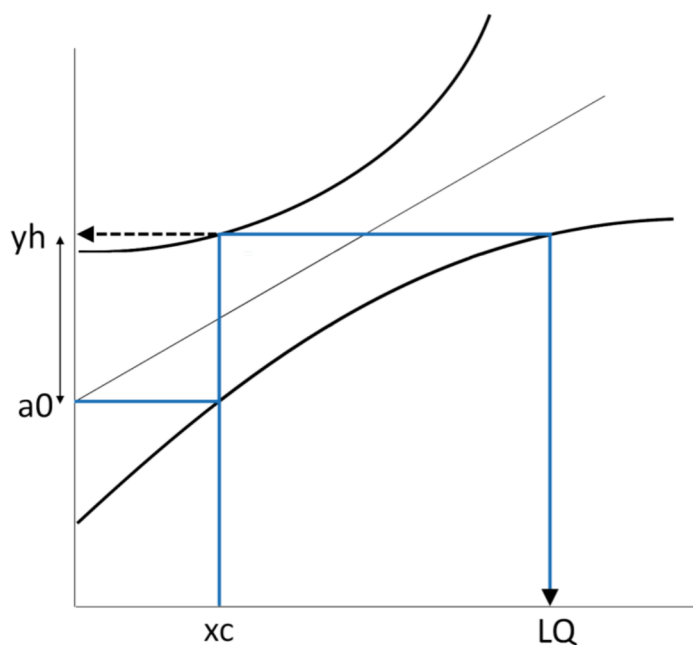


Figura 3-11: Ilustração de curva analítica e intervalos de confiança com parâmetros utilizados para estimativa do limite de quantificação (LQ)

PRECISÃO

A precisão, exatidão e robustez do método de estudo foram avaliadas de acordo com a orientação sobre validação de métodos analíticos do Instituto Nacional de Metrologia, Qualidade e Tecnologia (INMETRO, 2016). A precisão foi avaliada através de estudos de repetibilidade. Para tal, foram determinadas as concentrações de soluções padrão preparadas 6 vezes para os níveis de concentração de cianeto, 40, 70 e 100 $\mu\text{g L}^{-1}$, ou seja, concentrações em torno da máxima concentração de cianeto permitida em água potável conforme legislação vigente (Ministério da Saúde,

2017). Os coeficientes de variação (ou desvio padrão relativo) foram calculados para cada nível conforme a equação 11.

$$CV = DPR = \frac{DP}{C_{m\acute{e}dia}} \times 100 \quad (11)$$

Onde CV é o coeficiente de variação, DPR é o desvio padrão relativo, DP é o desvio padrão e $C_{m\acute{e}dia}$ é a concentração média determinada.

EXATIDÃO

A exatidão foi estimada através do cálculo do erro relativo, expresso em porcentagem, determinado pela equação 12.

$$ER = \frac{C_{medida} - C_{esperado}}{C_{esperado}} \times 100 \quad (12)$$

Onde ER é o erro relativo, C_{medida} é a concentração de cianeto determinada através do método e $C_{esperado}$ é a concentração de cianeto da solução preparada.

ROBUSTEZ

A robustez foi avaliada variando-se alguns parâmetros do método como a vazão de fase móvel, vazão de soluções pelas bombas peristálticas e concentração da solução de acidificação de amostra

3.6. ESTUDOS DE INTERFERÊNCIA ANIÔNICA

Para avaliação de possíveis interferentes aniônicos foram estudadas duas categorias de ânions comumente presentes em amostras aquosas de interesse ambiental e de saúde pública (Tabela 2).

Tabela 2: Ânions mencionados na Portaria de Consolidação nº 5 para potabilidade de águas e suas concentrações máximas permitidas em mg L⁻¹ e mol L⁻¹ para estudo de interferência na determinação de cianeto.

	Concentrações Máximas Permitidas	
	(mg L ⁻¹)	(mol L ⁻¹)
Cianeto	0,07	2,69 x 10 ⁻⁶
Fluoreto	1,5	7,89 x 10 ⁻⁵
Nitrato	10	1,61 x 10 ⁻⁴
Nitrito	1	2,17 x 10 ⁻⁵
Bromato	0,01	7,82 x 10 ⁻⁸
Clorito	1	1,20 x 10 ⁻⁵
Cloreto	250	7,05 x 10 ⁻³
Sulfato	250	2,60 x 10 ⁻³
Sulfeto	0,1	3,12 x 10 ⁻⁶
Fosfato	1	1,05 x 10 ⁻⁵
Brometo	1	1,25 x 10 ⁻⁵
Clorato	1	8,16 x 10 ⁻⁶
Tiosulfato	1	8,92 x 10 ⁻⁶
Tiocianato	1	1,72 x 10 ⁻⁵

Para cada interferente foram estudados seus efeitos sobre o sinal obtido para cianeto, individualmente, em três níveis de concentração (em mol L⁻¹), denominados C₁, C₂ e C₃. Em cada nível, a concentração do interferente presente foi 10, 100 e 1000 vezes maior que a concentração máxima (em mol L⁻¹) permitida do íon cianeto em água potável, segundo a Portaria de Consolidação nº 5 do Ministério da Saúde (Ministério da Saúde, 2017). Para os ânions não mencionados na dita legislação, foi definida uma concentração de referência arbitrária de 1 mg L⁻¹.

Utilizando balões volumétricos de 10 mL, os padrões de teste foram preparados por diluição volumétrica a partir de padrões comerciais de concentração 1000 mg L⁻¹ ou a partir de soluções preparadas no laboratório utilizando sais solúveis de sódio ou potássio.

Como as concentrações de interferentes foram definidas como múltiplos da concentração molar, cada interferente teve sua concentração em mg L^{-1} calculada para fins de conhecimento e comparação (Tabela 3).

Tabela 3: Concentrações de interferentes aniônicos avaliados

	C1		C2		C3	
	mol L^{-1}	mg L^{-1}	mol L^{-1}	mg L^{-1}	mol L^{-1}	mg L^{-1}
Fluoreto		0,51		5,11		51,11
Nitrato		1,67		16,68		166,82
Nitrito		1,24		12,38		123,78
Bromato		3,44		34,41		344,08
Clorito		2,25		22,45		224,50
Cloreto		0,95		9,54		95,37
Sulfato	$2,69 \times 10^{-5}$	2,58	$2,69 \times 10^{-4}$	25,85	$2,69 \times 10^{-3}$	258,45
Sulfeto		0,86		8,63		86,28
Brometo		2,15		21,50		214,96
Clorato		3,30		32,97		329,69
Tiosulfato		3,02		30,17		301,65
Tiocianato		1,56		15,63		156,26
Fosfato		2,55		25,55		255,49

Cada amostra teste de interferente foi injetada em triplicata e os resultados de recuperação de cianeto avaliados. Para quantificar o cianeto nas amostras teste, curvas analíticas foram construídas com 5 níveis de concentração: 10, 40, 70, 100, 130 $\mu\text{g L}^{-1}$.

3.7. ESTUDOS DE INTERFERÊNCIA METÁLICA

No estudo descrito por Themelis et al. (2009) foram estudadas as interferências dos metais numa razão de massa de 1:100 a partir de uma solução de referência de 100 $\mu\text{g L}^{-1}$ de cianeto. Portanto, foram estudados os efeitos destes metais em concentrações equivalentes a 10.000 $\mu\text{g L}^{-1}$ ou 10 mg L^{-1} na quantificação de cianeto (D. G. G. Themelis et al., 2009).

Neste trabalho, analogamente ao estudo dos ânions, as concentrações das interferências metálicas foram escolhidas com base nos limites mencionados na portaria de potabilidade de águas vigente. (Ministério da Saúde, 2017)

Tabela 4: Concentrações de interferentes metálicos avaliados

	C1		C2		C3	
	mol L ⁻¹	mg L ⁻¹	mol L ⁻¹	mg L ⁻¹	mol L ⁻¹	mg L ⁻¹
Ferro		1,50		15,02		150,24
Cobre		1,71		17,10		170,95
Zinco		1,76		17,59		175,89
Níquel		1,58		15,79		157,90
Cromo	2,69X 10 ⁻⁵	1,40	2,69X 10 ⁻⁴	13,99	2,69X 10 ⁻³	139,88
Chumbo		5,57		55,74		557,42
Bário		3,69		36,94		369,44
Cadmio		3,02		30,24		302,41
Alumínio		0,73		7,26		72,6
Cobalto		1,59		15,85		158,54

3.8. AVALIAÇÃO DE AMOSTRAS

Para a comparação do sistema estudado com método normatizado foram produzidas amostras sintéticas através da fortificação (40 e 100 µg L⁻¹) de duas amostras reais. A primeira amostra foi de água de torneira coletada no dia 24/11/2020 no escritório da Metrohm Brasil localizada no bairro de Perdizes em São Paulo. A segunda amostra foi coletada na mesma data no lago ornamental com biota (Figura 3-12), localizado também na sede da Metrohm Brasil.



Figura 3-12: Lago ornamental com biota

As amostras foram analisadas utilizando o método de estudo e em laboratório terceiro utilizando metodologia ISO 14403-2:2012. (International Organization for Standardization, 2012)

O método ISO 14403-2:2012 está baseado em um sistema injeção em fluxo (FIA) e de análise contínua em fluxo (CFA). Numa primeira etapa, os ciano-complexos são decompostos em uma serpentina de vidro, quartzo ou PTFE através da irradiação por luz UV em pH 3,8. O HCN formado pode ser destilado à 125 °C em linha ou difundido através membrana hidrofóbica entre 30-40 °C. Em ambos os casos o cianeto é absorvido numa solução de hidróxido de sódio. Por fim, o cianeto é determinado fotométricamente após reação com cloramina-T seguido de uma reação com os

ácidos piridino-4-carboxílico e 1,3-dimetilbarbitúrico. Estas reações produzem uma coloração vermelha cuja absorção é proporcional à concentração de cianeto.

4. RESULTADOS E DISCUSSÃO

4.1. SISTEMAS EM FLUXO

As diversas abordagens estudadas neste trabalho forneceram dados quantitativos e qualitativos importantes a respeito da configuração mais adequada para as avaliações posteriores com interferentes iônicos diversos e que, conhecidamente, podiam colocar-se como limitações da metodologia analítica utilizada.

ABORDAGEM 1

Na abordagem 1, as áreas obtidas indicaram que um tempo de transferência de 50s foi adequado para obtenção do melhor rendimento.

Tabela 5: Áreas dos picos de cianeto obtidas na abordagem 1 variando os tempos de transferência da solução acceptora para a válvula de injeção do cromatógrafo de íons

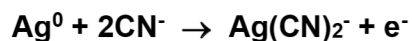
Registro	Tempo de Transferência (s)	Área do Pico (nA x min)
2018-03-13 09:47:21 UTC-3	30	1,668
2018-03-13 09:55:09 UTC-3	50	1,719
2018-03-13 10:11:45 UTC-3	70	0,231
2018-03-13 10:20:13 UTC-3	90	0,214

Entretanto, tentativas subseqüentes de empregar esta configuração demonstraram pouca estabilidade na resposta analítica e a repetibilidade não foi satisfatória. Esta observação demandou estudos do comportamento do sistema usando outras estratégias. Neste sentido, o “padrão sanduíche” não mostrou-se eficiente para fazer a acidificação necessária para liberação do gás HCN para sua subseqüente difusão, pois as porções centrais da zona de amostra podem não ter se misturado suficientemente com o ácido

ABORDAGEM 2

A abordagem 2 foi, comparativamente, mais simples que a abordagem 1. Entretanto, nesta abordagem foi possível estudar o comportamento do sistema de difusão gasosa seguida da detecção amperométrica. No registro de corrente obtido na abordagem 2 (Figura 4-1) foi possível observar 5 picos correspondentes aos 5 intervalos de bombeamento de amostra indicando, portanto, que a difusão gasosa do ácido cianídrico ocorreu para o lado acceptor alcalino.

Na presença do CN^- , o eletrodo de prata submetido ao potencial de 0,0 V vs. Pd|PdO|OH $^-$ (0,1 mol L $^{-1}$) sofre oxidação de acordo com a Equação 4.1, gerando a corrente proporcional à concentração de CN^- :



Equação 4.1: Reação de oxidação da prata e formação do ciano complexo de Ag^+

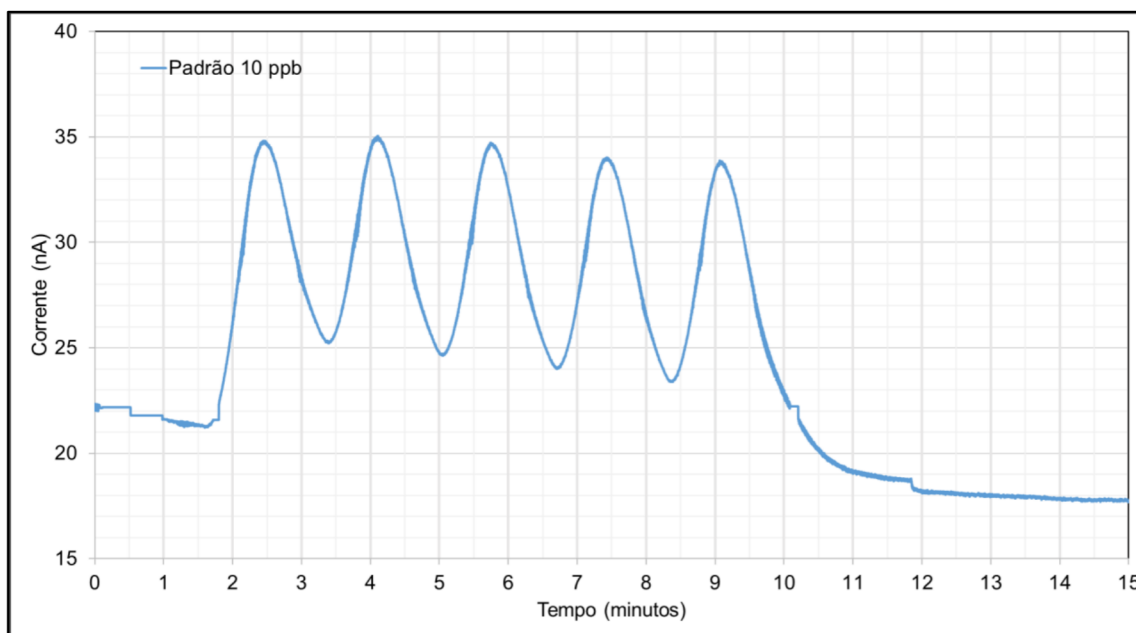


Figura 4-1: Registro de corrente de 5 injeções consecutivas de padrão de CN^- 10 $\mu\text{g L}^{-1}$

ABORDAGEM 3

Na abordagem 3 foi incluída uma válvula de injeção para limitar a quantidade de amostra injetada na célula de difusão. Com esta abordagem e variando-se o tempo (segundos) para início da aquisição de dados de corrente foi possível determinar o tempo necessário para que o cianeto coletado no lado acceptor da célula de difusão produzisse o maior sinal de corrente. No tempo de 90s obteve-se a máxima resposta analítica (Figura 4-3).

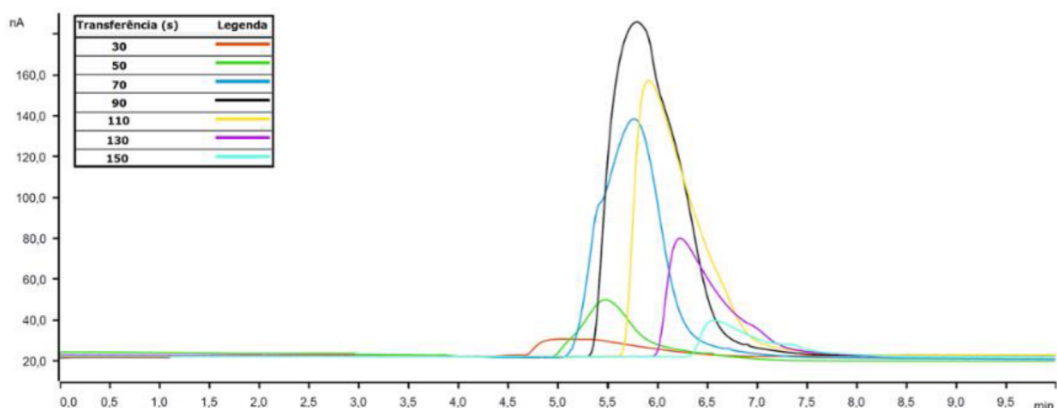


Figura 4-2: Registros de correntes para injeções de CN^- $500 \mu\text{g L}^{-1}$ obtidos na abordagem 3 e variando-se os tempos de transferência de 30 até 150 s

ABORDAGEM 4

A abordagem 4 não permitiu a realização de testes qualitativos ou quantitativos. O principal problema foi a pressão em excesso exercida na membrana quando colocada entre a coluna e a bomba cromatográfica. Como resultado desta pressão, a membrana de PTFE acabava se rompendo e misturando as soluções dos lados doador e acceptor da célula de difusão.

ABORDAGEM 5

Na abordagem 5 foram obtidos os melhores resultados. Esta abordagem foi muito similar à abordagem 1 com a diferença de que um volume definido de amostra foi bombeado em confluência com fluxo de solução ácida. O fornecimento de uma quantidade constante de ácido a todos os elementos de fluído da zona de amostra garantiu a conversão quantitativa e reproduzível do CN^- em HCN (Figura 4-4). Também ficou evidente que um fluxo contínuo de soluções garante estabilidade ao sistema. A bomba peristáltica bombeando continuamente água para o lado acceptor melhorou muito a repetibilidade em comparação com a abordagem 1 onde o bombeamento intermitente resultou em variações. A integridade da membrana também pôde ser atestada através de uma medição do pH dos descartes coletados do lado doador e do lado acceptor da célula de difusão (Figura 4-5). Apesar de uma variação observada na corrente de fundo, para um padrão teste de CN^- na concentração de $10 \mu\text{g L}^{-1}$ foi obtida uma área média de pico de $0,180 \pm 0,02 \text{ nA} \times \text{min}$ para oito injeções realizadas em sequência. O pico de cianeto eluiu no tempo de 5,3 minutos.

Tabela 6: Áreas dos picos de cianeto obtidas na abordagem 5

Registro	Replicata	Área do Pico de CN^- (nA) x min
2018-03-15 15:19:08 UTC-3	1	0,160
2018-03-15 15:27:18 UTC-3	2	0,213
2018-03-15 15:35:29 UTC-3	3	0,167
2018-03-15 15:43:39 UTC-3	4	0,175
2018-03-15 15:51:48 UTC-3	5	0,164
2018-03-15 15:59:59 UTC-3	6	0,190
2018-03-15 16:08:08 UTC-3	7	0,165
2018-03-15 16:16:18 UTC-3	8	0,204

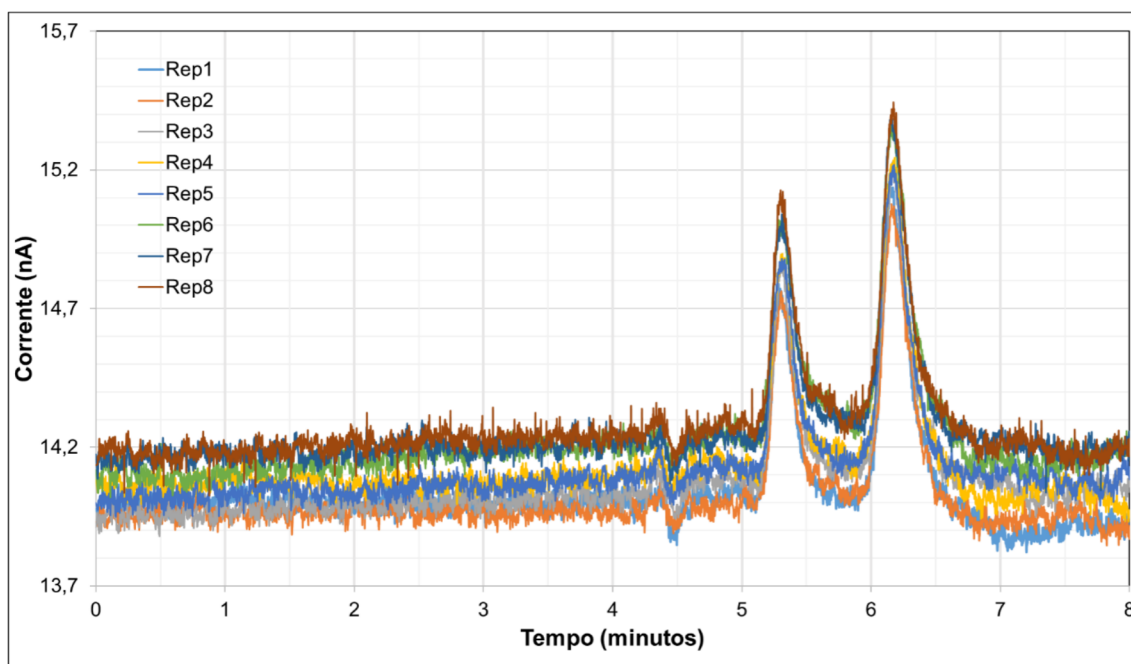


Figura 4-3: Teste de repetibilidade (n=8) do padrão de cianeto injetado na abordagem 5

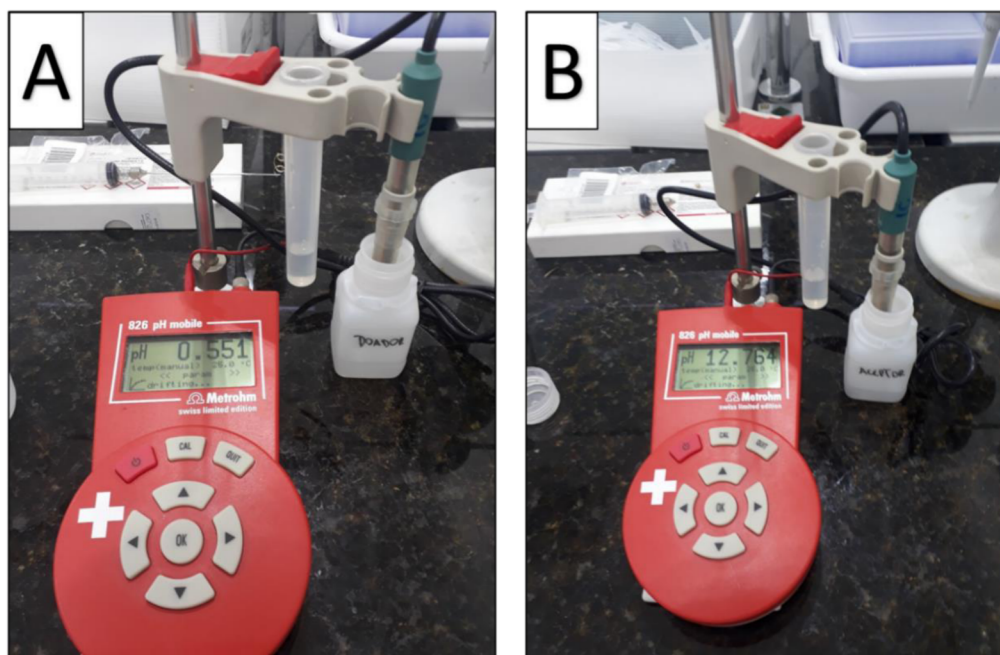


Figura 4-4: Medidas de pH das soluções recolhidas no lado doador (A) e no lado receptor (B) do sistema de difusão gasosa na abordagem 5

Uma vez estabelecida a condição de estabilidade do sinal analítico, foi realizado um estudo para determinar o tempo ótimo de transferência da amostra após a injeção na válvula 1 (Figuras 4-6 e 4-7) até a injeção no cromatógrafo (válvula 2). Nesse intervalo de tempo estão incluídos os processos de acidificação (produção de HCN), difusão gasosa, reconversão de HCN a CN^- na solução aceptora, preenchimento da alça de amostragem da válvula de injeção do cromatógrafo e injeção (válvula 2). Esse estudo permitiu obter o tempo necessário para que a porção da zona de amostra mais concentrada em CN^- fosse injetada no cromatógrafo, fornecendo a maior detectabilidade da metodologia.

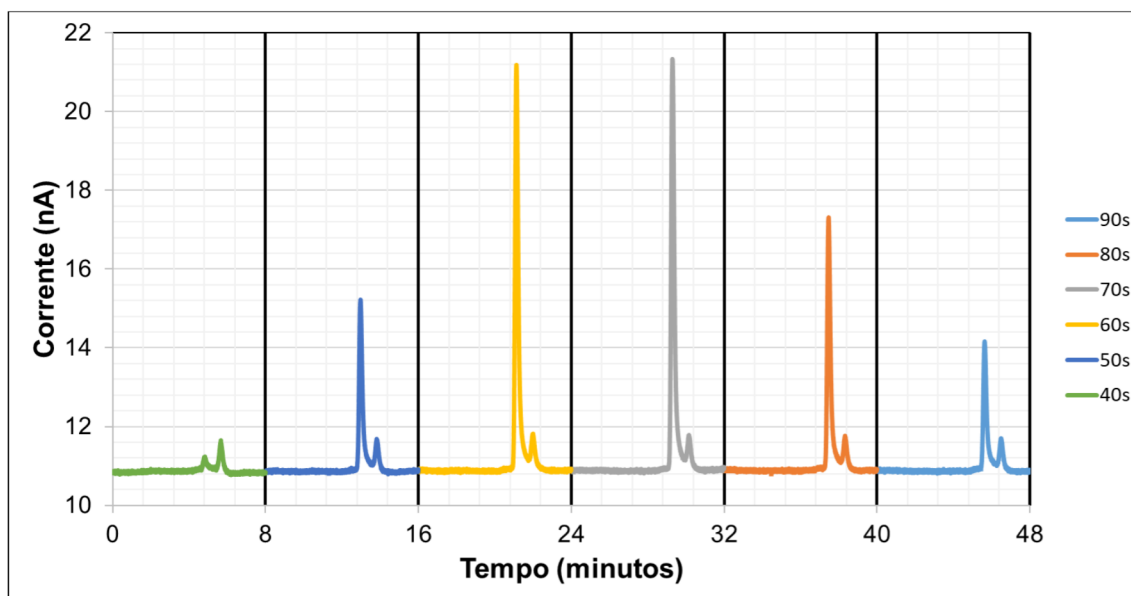


Figura 4-5: Cromatogramas de padrão $70 \mu\text{g L}^{-1}$ de CN^- obtidos na abordagem 5 e com diferentes intervalos de tempo decorridos desde a injeção da amostra na válvula 1 até a injeção na coluna cromatográfica

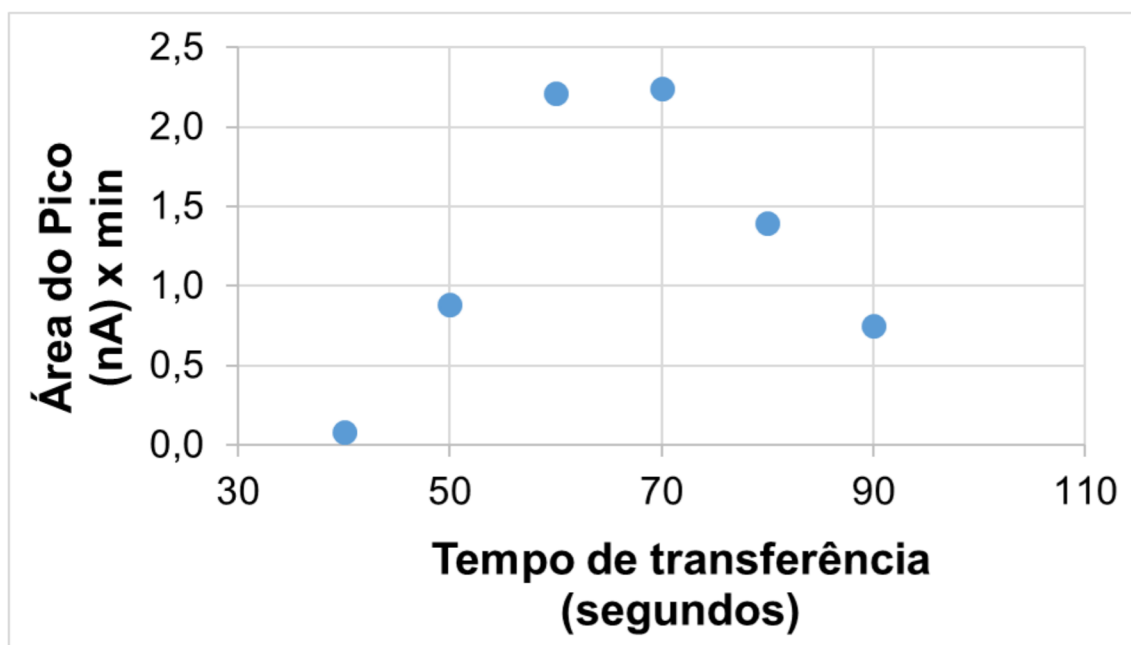


Figura 4-6: Áreas do pico de padrão $70 \mu\text{g L}^{-1}$ de CN^- obtidos na abordagem 5 e com tempos total de acidificação, difusão, transferência e injeção de 90, 80, 70, 65, 60, 50 segundos respectivamente (esq.-dir.)

Após a otimização (tempo de transferência de 65 s), foi construída uma curva analítica de cianeto nas concentrações de 10 a $130 \mu\text{g L}^{-1}$ (Figura 4-8) cuja equação da reta foi dada por: Área do Pico (nA x min) = $0,0341 \times [\text{CN}^-] (\mu\text{g L}^{-1}) + 0,0004$ com coeficiente de correlação linear igual a 0,9996.

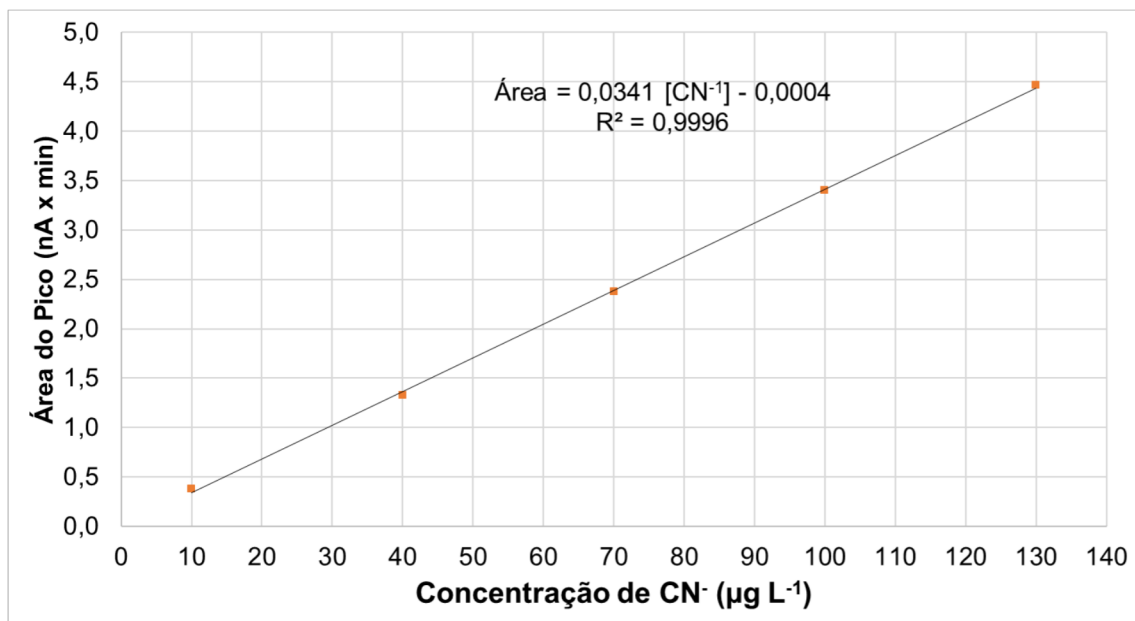


Figura 4-7: Sobreposição dos cromatogramas de calibração de cianeto

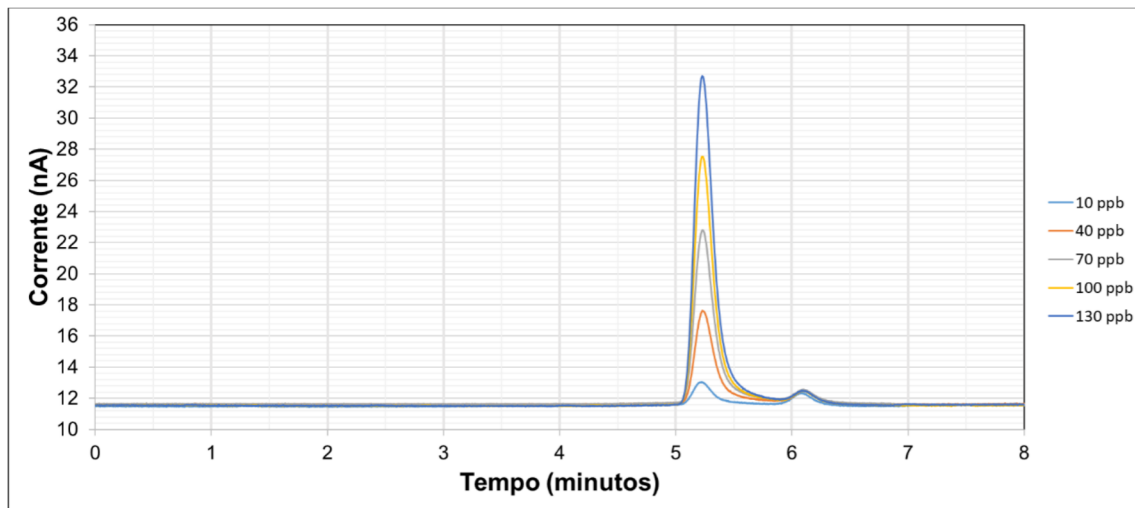


Figura 4-8: Sobreposição dos cromatogramas de calibração de cianeto

4.2. LINEARIDADE, LIMITES DE DETECÇÃO E LIMITES DE QUANTIFICAÇÃO

Foram injetadas triplicatas de 7 padrões de cianeto em concentrações entre 10 a 130 $\mu\text{g L}^{-1}$ cujas áreas estão mostradas na Tabela 7 e cuja equação da regressão linear e coeficiente de correlação estão mostrados na Figura 4-9.

Tabela 7: Áreas dos picos de cianeto obtidas na abordagem 5

Concentração ($\mu\text{g L}^{-1}$)	Área do Pico (nA x min)	Concentração ($\mu\text{g L}^{-1}$)	Área do Pico (nA x min)
10	0,421	85	3,029
10	0,338	85	2,986
10	0,324	85	2,984
25	0,815	100	3,54
25	0,831	100	3,512
25	0,825	100	3,457
40	1,386	115	4,101
40	1,383	115	4,046
40	1,374	115	4,029
55	1,913	130	4,611
55	1,885	130	4,576
55	1,887	130	4,536
70	2,488		
70	2,444		
70	2,432		

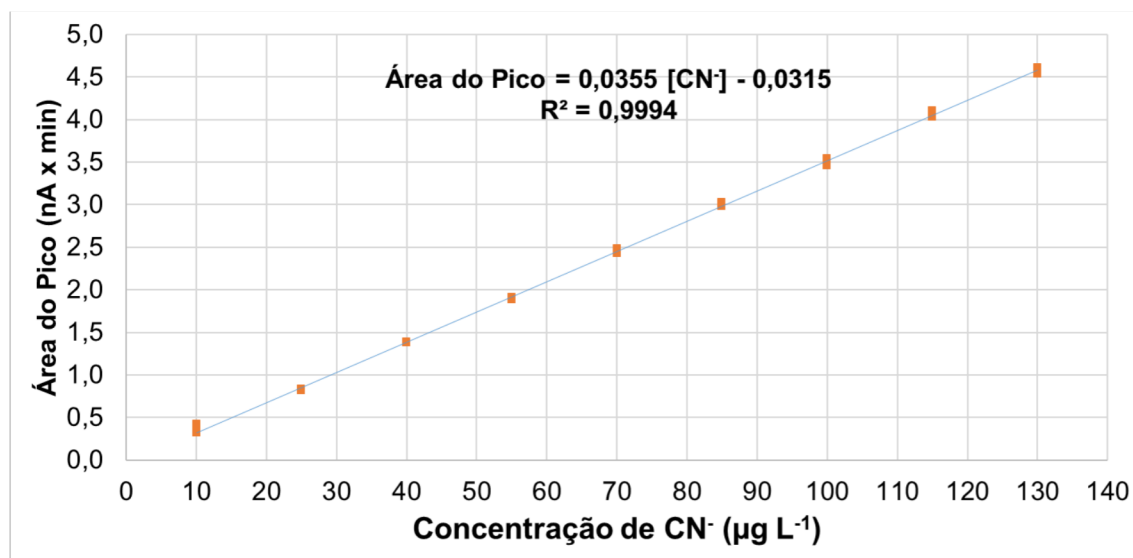


Figura 4-9: Curva analítica de cianeto para teste de linearidade

A análise da distribuição gráfica dos resíduos obtidos a partir da regressão linear demonstraram homocedastidade e uma distribuição normal (Figura 4-10).

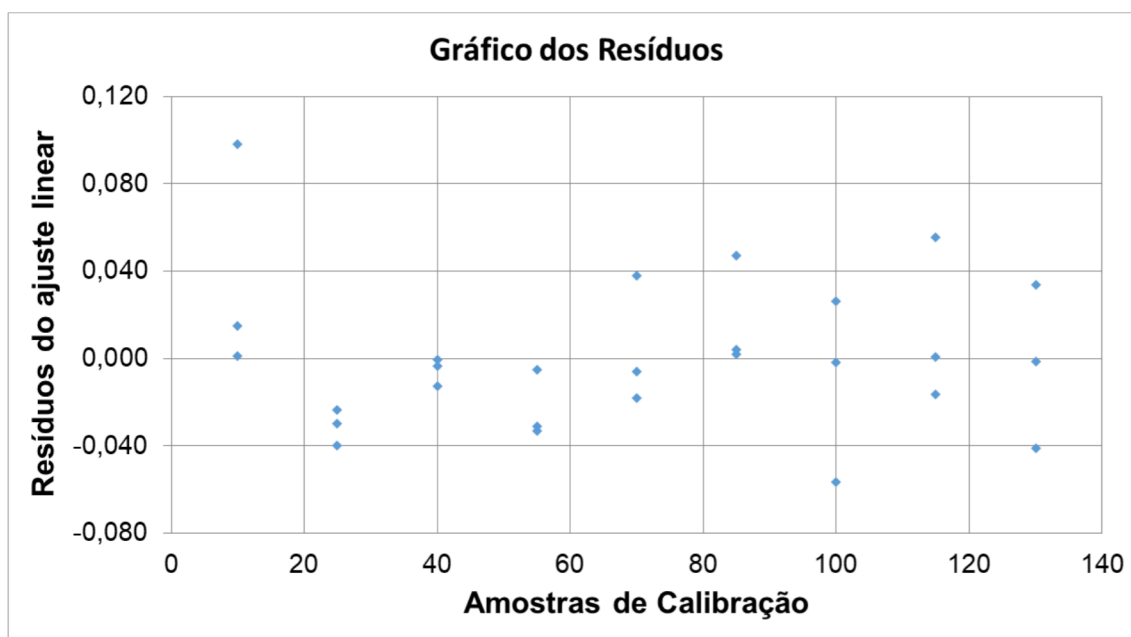


Figura 4-10: Resíduos da regressão linear da curva de calibração

A partir das concentrações e áreas dos picos de cianeto nos padrões, foram obtidos os coeficientes das regressões linear e quadrática. A comparação da soma dos desvios quadráticos (S_{y2}) e lineares (S_{y1}) da regressão realizada através do teste F (equações 4 e 5) demonstrou que o ajuste linear foi adequado para a faixa de estudo. Adicionalmente, a contribuição do coeficiente quadrático da regressão foi pequena conforme mostrado nos resultados agrupados na Tabela 8.

Tabela 8: Coeficientes e desvios das regressões linear e quadrática

Regressão	Coeficientes			Desvios	
	a0	a1	a2	r ²	Sy _i
Linear	-0,0315	0,0355	-	0,9994	0,0342
Quadrática	-0,0153	0,0348	0,0000	-	0,0349

Os limites de detecção e quantificação estimados a partir dos coeficientes da regressão linear em diferentes intervalos de confiança foram agrupados na Tabela 9.

Tabela 9: Limites de detecção e quantificação para cianeto estimados em diferentes intervalos de confiança

	Limite de Detecção $\mu\text{g L}^{-1}$			Limite de Quantificação $\mu\text{g L}^{-1}$		
	95%	99%	99,9%	95%	99%	99,9%
Cianeto	3,5	5,1	7,1	5,3	7,7	10,7

4.3. PRECISÃO E EXATIDÃO

Para ensaios de repetibilidade, a orientação sobre validação de métodos analíticos do INMETRO (2016) sugere limites máximos para o desvio padrão relativo (DPR) de 21% para medições da ordem de $10 \mu\text{g L}^{-1}$ e de 15% para medições da ordem de $100 \mu\text{g L}^{-1}$. Estes limites estão baseados nos requisitos de desempenho de métodos analíticos da AOAC (AOAC International, 2016; INMETRO, 2016).

Os resultados de repetibilidade obtidos para os 3 níveis de concentração avaliados foram agrupados nas Tabela 10, Tabela 11 e Tabela 12.

Tabela 10: Resultados obtidos no ensaio de repetibilidade para amostra sintética com 40 µg L⁻¹ de CN⁻

	Valor medido µg L ⁻¹	Valor esperado µg L ⁻¹	Recup. %	Resíduo absoluto µg L ⁻¹	DR %
	39,9	40,0	100	-0,1	-0,3
	39,5	40,0	99	-0,5	-1,3
	38,5	40,0	96	-1,5	-3,8
	38,9	40,0	97	-1,1	-2,8
	39,9	40,0	100	-0,1	-0,3
	39,7	40,0	99	-0,3	-0,7
Média	39,4	40,0	99	-0,6	-1,5
DPR	1,5%				

Tabela 11: Resultados obtidos no ensaio de repetibilidade para amostra sintética com 70 µg L⁻¹ de CN⁻

	Valor medido µg L ⁻¹	Valor esperado µg L ⁻¹	Recup. %	Resíduo absoluto µg L ⁻¹	DR %
	70,0	70,0	100	0	0,0
	70,0	70,0	100	0	0,0
	70,2	70,0	100	0,2	0,3
	71,3	70,0	102	1,3	1,9
	70,0	70,0	100	0	0,0
	69,5	70,0	99	-0,5	-0,7
Média	70,2	70,0	100	0,2	0,2
DPR	0,9%				

Tabela 12: Resultados obtidos no ensaio de repetibilidade para amostra sintética com 100 µg L⁻¹ de CN⁻

	Valor medido µg L ⁻¹	Valor esperado µg L ⁻¹	Recup. %	Resíduo absoluto µg L ⁻¹	DR %
	102,1	100,0	102	2,1	2,1
	102,1	100,0	102	2,1	2,1
	102,2	100,0	102	2,2	2,2
	102,5	100,0	103	2,5	2,5
	101,2	100,0	101	1,2	1,2
	102,5	100,0	103	2,5	2,5
Média	39,4	40,0	102	2,1	2,1
DPR	0,7%				

Os desvios padrões relativos (DPR) para os três níveis de estudo ficaram muito abaixo dos limites máximos sugeridos pelas orientações do INMETRO. O desvio padrão relativo médio de 1,0% demonstrou que, em termos da repetibilidade, o método apresentou uma ótima precisão. No mesmo documento, está sugerida uma faixa de aceitação entre 80-110% na recuperação média obtida para concentrações da ordem de $100 \mu\text{g L}^{-1}$ e 60-115% para concentrações da ordem de $10 \mu\text{g L}^{-1}$. A recuperação média global obtida para os níveis estudados foi de 100% com um desvio relativo médio de 0,3%. Estes resultados demonstraram que o método possui também uma boa exatidão. (INMETRO, 2016)

4.4. ROBUSTEZ

Segundo o artigo 61 da Resolução da Diretoria Colegiada - RDC nº 166, de 24 de julho de 2017 publicada pela ANVISA, a robustez do método vai indicar a capacidade do mesmo em resistir a pequenas e deliberadas variações das condições analíticas (ANVISA, 2017).

Para métodos de cromatografia líquida, são propostas variações de pH da fase móvel, composição da fase móvel, diferentes lotes ou fabricantes de colunas, temperatura e/ou fluxo de fase móvel. Já para preparo das amostras, são propostas avaliações de estabilidade das soluções analíticas, tempo de extração e compatibilidade de filtros.

Como o método de estudo combina técnicas de preparo de amostras em fluxo e um sistema cromatográfico, a avaliação da robustez deu-se na variação de dois parâmetros de fluxo, um cromatográfico e outro do preparo de amostra, conforme mostrado na Tabela 13.

Tabela 13: Parâmetros cromatográficos e de fluxo usados para o estudo de robustez da metodologia

	Fluxo Fase Móvel mL min ⁻¹	Fluxo Soluções mL min ⁻¹
Condição 1	0,25	0,30
Condição 2	0,30	0,30
Condição 3	0,25	0,20

Foram realizadas injeções de 6 padrões em 3 níveis de concentração para cada uma das condições avaliadas e os resultados estão mostrados na Tabela 14.

Tabela 14: Concentrações e recuperações de cianeto obtidas nas condições 1, 2 e 3 de avaliação de robustez

	Condição 1		Condição 2		Condição 3	
	CN ⁻ µg L ⁻¹	Recup. %	CN ⁻ µg L ⁻¹	Recup. %	CN ⁻ µg L ⁻¹	Recup. %
Nível 1 (40 µg L ⁻¹)	39,9	100%	41,8	105%	38,7	97%
	39,5	99%	42,3	106%	39,1	98%
	38,5	96%	38,6	97%	40,2	101%
	38,9	97%	38,7	97%	38	95%
	39,9	100%	39,6	99%	39,6	99%
	39,7	99%	38,9	97%	39,1	98%
Nível 2 (70 µg L ⁻¹)	70	100%	67,2	96%	66,7	95%
	70	100%	67,1	96%	69,5	99%
	70,2	100%	67,4	96%	70,9	101%
	71,3	102%	66,5	95%	70,9	101%
	70	100%	67,3	96%	70,8	101%
	69,5	99%	66,2	95%	71,3	102%
Nível 3 (100 µg L ⁻¹)	102,1	102%	94	94%	102,7	103%
	102,1	102%	96,7	97%	102,8	103%
	102,2	102%	97,5	98%	104,3	104%
	102,5	103%	96,8	97%	101,4	101%
	101,2	101%	92,5	93%	*	-
	102,5	103%	92,7	93%	*	-

*Resultados descartados por problemas na injeção

Os resultados da Condição 1 foram obtidos a partir dos testes de precisão/exatidão.

As comparações das diferentes condições realizadas através do teste F demonstraram que não houve diferença significativa nos resultados obtidos nas

condições 2 e 3 quando comparadas com a condição 1, dado que em ambos os casos o valor de F calculado foi menor que o valor de F crítico (Tabela 15 e Tabela 16)

Tabela 15: Resultados do teste F aplicado às recuperações obtidas nas condições 1 e 2

Teste F – Duas amostras para variância		
	<i>Condição 1</i>	<i>Condição 2</i>
Média das Recuperações/100	1,00	0,97
Variância	0,0003	0,0012
Observações	18	18
graus de liberdade	17	17
F calculado	0,273	
P(F<=f) uni-caudal	0,005	
F crítico uni-caudal	0,440	

Tabela 16: Resultados do teste F aplicado às recuperações obtidas nas condições 1 e 3

Teste F – Duas amostras para variância		
	<i>Condição 1</i>	<i>Condição 3</i>
Média das Recuperações/100	1,00	1,00
Variância	0,0003	0,0008
Observações	18	16
graus de liberdade	17	15
F calculado	0,422	
P(F<=f) uni-caudal	0,045	
F crítico uni-caudal	0,433	

Além dos parâmetros de fluxo, foram também variadas as concentrações do ácido sulfúrico na solução de acidificação. As concentrações usadas estão descritas na Tabela 17.

Tabela 17: Parâmetros de solução de acidificação alterados para estudos de robustez da metodologia

	Concentração de H ₂ SO ₄ mol L ⁻¹
Condição A	1,0
Condição B	0,5
Condição C	0,2
Condição D	0,1
Condição E	0,01

Em cada condição avaliada, um padrão teste de concentração 70 µg L⁻¹ foi injetado em triplicata. Os cromatogramas obtidos em cada uma das condições estão mostrados na Figura 4-11 e as áreas médias estão mostradas na Figura 4-12.

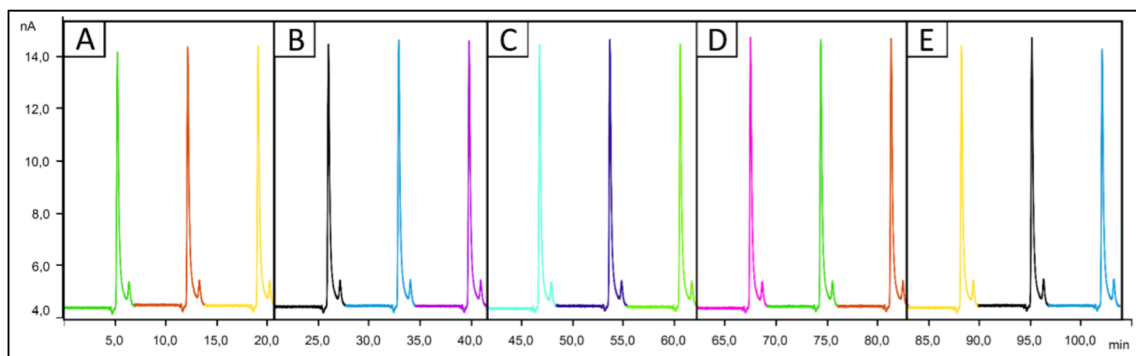


Figura 4-11: Cromatogramas obtidos na avaliação de robustez variando-se a concentração de ácido sulfúrico (A: 1,0 mol L⁻¹; B: 0,5 mol L⁻¹; C: 0,2 mol L⁻¹; D: 0,1 mol L⁻¹; E: 0,01 mol L⁻¹)

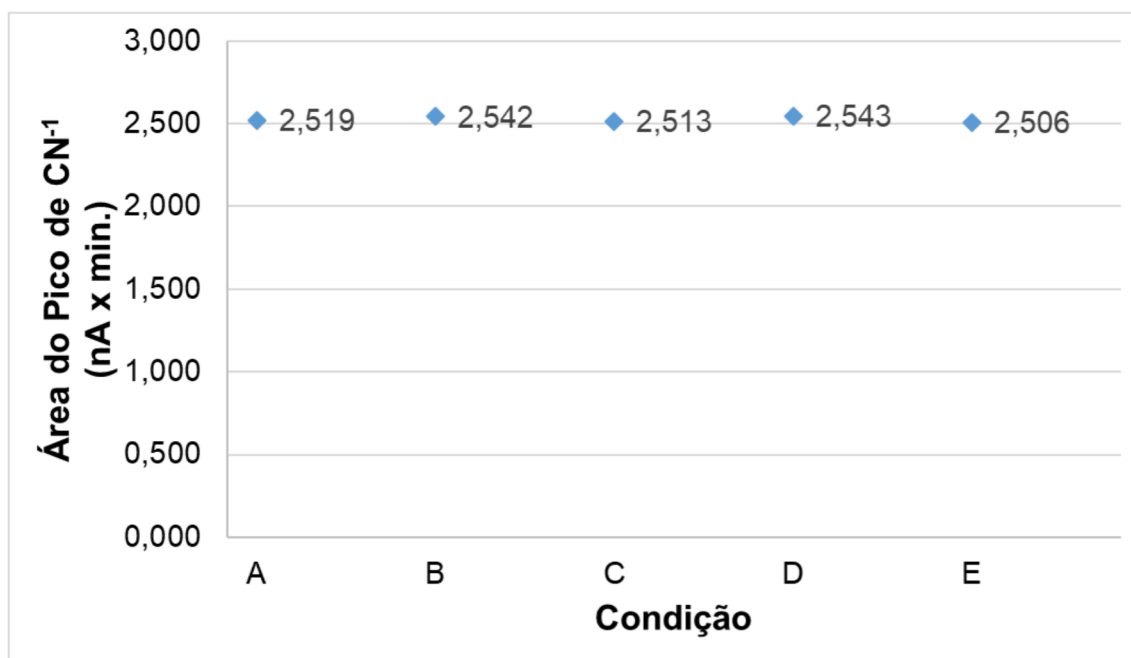


Figura 4-12: Áreas dos picos de CN⁻ obtidas na avaliação de robustez variando-se a concentração de ácido sulfúrico (A: 1,0 mol L⁻¹; B: 0,5 mol L⁻¹; C: 0,2 mol L⁻¹; D: 0,1 mol L⁻¹; E: 0,01 mol L⁻¹)

Os resultados qualitativos e quantitativos não demonstraram diferenças significativas no sinal de cianeto obtido em solução padrão de 70 µg L⁻¹ nas condições avaliadas, mesmo com uma redução da ordem de 100 vezes na concentração de ácido, o que significa aumentar o pH da solução em 2 unidades. Este resultado indicou que o método possui robustez frente a variações na acidificação de amostra.

Entretanto, isto não significa de imediato que uma redução na concentração de ácido seria indicada uma vez que a seletividade do método poderia ser afetada em meios menos ácidos e a avaliação não foi estendida para amostras reais com outros interferentes.

4.5. INTERFERENTES ANIÔNICOS

A interferência aniônica na determinação amperométrica de cianeto foi amplamente estudada e descrita na literatura. Diversas estratégias foram descritas

para reduzir estas interferências através de precipitação ou oxidação seletiva destes íons. (Ma & Dasgupta, 2010)

Para os padrões teste no nível C1, com interferentes em concentração $2,69 \times 10^{-5}$ mol L⁻¹, a recuperação média de 70 µg L⁻¹ de cianeto foi de 98,5%. Para o nível C2, com interferentes em concentração $2,69 \times 10^{-4}$ mol L⁻¹, a recuperação média obtida foi de 98,0% e para o nível C3, com interferentes em concentração $2,69 \times 10^{-3}$ mol L⁻¹, a recuperação média foi de 96,4%. Nestes resultados não foi contabilizada a recuperação medida na presença do íon sulfeto uma vez que a interferência deste íon ficou evidenciada pelo resultado cromatográfico que está discutido mais adiante. As recuperações médias calculadas foram agrupadas na Tabela 18.

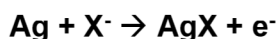
Tabela 18: Taxas de recuperação médias (n=3) de Cianeto em cada nível dos interferentes aniônicos avaliados

Interferente	C1	C2	C3
	Recuperação média de 70 µg L ⁻¹ de Cianeto %		
Fluoreto	100,7	95,6	99,6
Nitrato	104,3	97,4	97,4
Nitrito	100,4	96,3	97,9
Bromato	95,1	96,8	93,1
Clorito	95,3	95,7	79,2
Cloreto	95,6	96,7	93,1
Sulfato	95,4	95,8	95,9
Sulfeto (sem BiNO ₃)	661,7	7952,3	81659,6
Sulfeto (com BiNO ₃)	103,6	100,6	104,9
Brometo	103,6	106,1	98,9
Clorato	97,0	93,3	94,3
Tiosulfato	93,6	100,5	101,6
Fosfato	100,4	101,4	100,7

As recuperações obtidas no nível de concentração estudado estão dentro da faixa de 80-110% sugerida pelo INMETRO no seu manual de orientações para validação de método analíticos. (INMETRO, 2016)

HALETOS

Os primeiros trabalhos empregando a detecção amperométrica para a determinação de cianeto já reportavam interferências na detecção deste íon na presença de haletos (X^{-1}). Rocklin et al. (1983) mencionando os trabalhos de Pilar et al. (1979) descreveram a reação dos haletos com a prata do eletrodo de trabalho produzindo um sinal de corrente (Equação 4.2). A consequência dessa interação na medição direta foi um aumento da recuperação para cianeto na presença destes íons.



Equação 4.2: Reação de oxidação de prata na presença de haletos

Adicionalmente, alguns trabalhos sugerem que amostras com altos teores de cloretos podem levar a formação de microfilmes de cloreto de prata na superfície do eletrodo resultando em baixa repetitividade (Kumar Meher et al., 2018).

A interferência de haletos não se resume apenas a detecção amperométrica. Em medidas diretas com uso de eletrodos de íon seletivo foi observada a interferência de brometo, além de iodeto, sulfeto, tiosulfato e tiocianato (Christison & Rohrer, 2007). Alguns trabalhos reportaram baixa seletividade também em sensores colorimétricos na presença do íon fluoreto (Kim et al., 2010).

Rocklin et al. (1983) descreveram a vantagem do uso da cromatografia, uma vez que o emprego desta técnica permite a separação seletiva de interferentes variando-se a composição de fase móvel (eluente) ou seletividade da fase estacionária (coluna).

Themelis et al. (2009) estudaram diversos interferentes aniônicos usando sistemas em fluxo e reportaram recuperação para $100 \mu\text{g L}^{-1}$ de cianeto na presença de $10000 \mu\text{g L}^{-1}$ de fluoreto e brometo de 98,8% e 102,3%, respectivamente. A

interferência de cloreto não foi estudada uma vez que a etapa de acidificação no sistema em fluxo descrito foi feita utilizando ácido clorídrico $1,0 \text{ mol L}^{-1}$, desta forma uma possível interferência do ânion cloreto estaria no erro sistemático (D. G. Themelis et al., 2009).

Utilizando o sistema em fluxo estudado e descrito neste trabalho, a concentração média global de cianeto obtida na presença dos haletos foi de $69,7 \pm 1,4 \text{ } \mu\text{g L}^{-1}$ o que representa uma recuperação média global de 99,6 % com um desvio relativo de -0,2%. Os resultados obtidos em cada nível para cada haleto foram agrupados nas Tabela 19,

Tabela 20 e Tabela 21.

Tabela 19: Concentrações de fluoreto e concentrações determinadas de cianeto nas replicatas das amostras teste C1, C2 e C3

	C_{A^-} mg L^{-1}	C_{CN^-} $\mu\text{g L}^{-1}$	\bar{C}_{CN^-} $\mu\text{g L}^{-1}$	$s(C_{CN^-})$ $\mu\text{g L}^{-1}$	DPR %	Rec. %	DR %
Fluoreto C1	0,51	68,6 70,9 72,0	70,5	$\pm 1,7$	2,5	100,7	0,71
Fluoreto C2	5,11	74,1 70,4 70,2	71,6	$\pm 2,2$	3,1	102,2	2,3
Fluoreto C3	51,11	69,9 70,2 69,0	69,7	$\pm 0,6$	0,90	99,6	-0,4
Média		70,6	70,6	$\pm 1,5$	2,1	100,8	0,86

Tabela 20: Concentrações de haletos e concentrações determinadas de cianeto nas replicatas das amostras teste C1, C2 e C3

	C_{A^-} mg L^{-1}	C_{CN^-} $\mu\text{g L}^{-1}$	\bar{C}_{CN^-} $\mu\text{g L}^{-1}$	$s(C_{CN^-})$ $\mu\text{g L}^{-1}$	DPR %	Rec. %	DR %
Cloreto C1	0,95	66,5 66,5 67,7	66,9	$\pm 0,7$	1,0	95,6	-4,4
Cloreto C2	9,54	67,5 67,8 67,8	67,7	$\pm 0,2$	0,26	96,7	-3,3
Cloreto C3	95,37	63,5 65,6	65,2	$\pm 1,5$	2,3	93,1	-6,9

		66,4					
Média	-	66,6	66,6	±0,8	1,2	95,1	-4,9
Tabela 21: Concentrações de haletos e concentrações determinadas de cianeto nas replicatas das amostras teste C3							
	C_{A^-} mg L ⁻¹	C_{CN^-} µg L ⁻¹	\bar{C}_{CN^-} µg L ⁻¹	$s(C_{CN^-})$ µg L ⁻¹	DPR %	Rec. %	DR %
Brometo C1	2,15	70,9 72,5 74,2	72,5	±1,7	2,3	103,6	3,6
Brometo C2	21,50	75,1 73,9 73,8	74,3	±0,7	1,0	106,1	6,1
Brometo C3	214,96	72,8 67,9 67,0	69,2	±3,1	4,5	98,9	-1,1
Média	-	72,0	72,0	±1,8	2,6	102,9	2,9

Os resultados demonstraram que o método proposto apresentou boa seletividade a cianeto na presença dos haletos mesmo em concentrações muito superiores às esperadas em amostras de água potável ou de efluentes. (Instituto Federal do Amazonas, 2015)

OXIHALETOS

Oxihaleto são ânions considerados subprodutos de processos de desinfecção de águas utilizando compostos clorados ou ozônio. Dentre estes, podem ser formados hipoclorito (ClO^-), clorito (ClO_2^-), clorato (ClO_3^-) e bromato (BrO_3^-). Por conta de seus potenciais tóxicos, são comuns a presença e interesse na quantificação destes íons para fins de controles ambientais e sanitários em água potável (Hautman & Bolyard, 1992; World Health Organization, 1993).

Em 1955, Baker et al. reportaram severa interferência do íon hipoclorito (ClO^-) em certo nível de concentração resultando numa diminuição drástica do sinal analítico de corrente produzida na presença de cianeto usando sensores eletroquímicos (Baker & Morrison, 1955).

Em solução de hipoclorito, o clorito está presente em equilíbrio sendo intermediário da decomposição do hipoclorito em clorato e, possivelmente, perclorato. (World Health Organization, 2016).

Desta forma, quando Baker et al. descreveram os efeitos do hipoclorito na determinação amperométrica de cianeto, é possível que a interferência fosse efetivamente ocasionada pela presença dos íons clorito, clorato e/ou cloreto.

Os resultados descritos e agrupados nas Tabela 22, Tabela 23 e Tabela 24 confirmam as observações de Baker et. al. uma vez que na presença de oxihalos houve interferência negativa significativa na quantificação de cianeto.

Tabela 22: Concentrações de bromato e concentrações determinadas de cianeto nas replicatas das amostras teste C1, C2 e C3

	C_{A^-} mg L ⁻¹	C_{CN^-} µg L ⁻¹	\bar{C}_{CN^-} µg L ⁻¹	$s(C_{CN^-})$ µg L ⁻¹	DPR %	Rec. %	DR %
Bromato C1	3,44	66,6 66,4 66,8	66,6	±0,2	0,30	95,1	-4,9
Bromato C2	34,41	68,3 67,0 67,9	67,7	±0,7	1,0	96,8	-3,2
Bromato C3	344,08	63,4 64,0 68,1	65,2	±2,6	3,9	93,1	-6,9
Média	-	66,5	66,5	±1,1	1,7	95,0	-5,0

Tabela 23: Concentrações de clorito e concentrações determinadas de cianeto nas replicatas das amostras teste C1, C2 e C3

	C_{X^-} mg L ⁻¹	C_{CN^-} µg L ⁻¹	\bar{C}_{CN^-} µg L ⁻¹	$s(C_{CN^-})$ µg L ⁻¹	DPR %	Rec. %	DR %
Clorito C1	2,25	66,4 67,0 66,7	66,7	±0,3	0,45	95,3	-4,7
Clorito C2	22,45	68,2 66,3 66,5	67,0	±1,0	1,5	95,7	-4,3
Clorito C3	224,50	52,3 57,2 56,8	55,4	±2,7	4,9	79,2	-20,8
Média	-	63,0	63,0	±1,3	2,3	90,1	-9,9

Tabela 24: Concentrações de clorato e concentrações determinadas de cianeto nas replicatas das amostras teste C1, C2 e C3

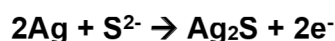
	C_{X^-} mg L ⁻¹	C_{CN^-} µg L ⁻¹	\bar{C}_{CN^-} µg L ⁻¹	$s(C_{CN^-})$ µg L ⁻¹	DPR %	Rec. %	DR %
Clorato C1	3,30	66,6 71,6 65,5	67,9	±3,3	4,8	97,0	-3,0
Clorato C2	32,97	65,4 65,5 64,9	65,3	±0,4	0,54	93,3	-6,7
Clorato C3	329,69	63,9 54,7 69,4	62,7	±7,4	11,9	89,5	-10,5
Média	-	65,3	65,3	±3,7	5,7	93,3	-6,7

Ainda assim, a recuperação global média de 70 µg L⁻¹ de cianeto na presença dos oxihalatos foi de 92,8%. Esse resultado pôde ser considerado satisfatório uma vez que as concentrações estudadas estão muito acima das quantidades permitidas destes íons em água potável (Ministério da Saúde, 2017; *National Primary Drinking Water Regulations*, 2009).

Adicionalmente, uma vez no meio ambiente estes íons degradam-se rapidamente para formarem cloreto e brometo cujos baixos graus de interferência foram discutidos anteriormente.

SULFETO

Assim como haletos e oxihaleto, a interferência na determinação amperométrica de cianeto pela presença do íon sulfeto (S^{2-}) resulta do efeito similar dos íons CN^- e S^{2-} na resposta do eletrodo de Prata (Rocklin & Johnson, 1983). A oxidação da prata no eletrodo de trabalho, com a concomitante formação do precipitado de Ag_2S , produz 2 elétrons gerando uma corrente (Equação 4.3) proporcional à concentração de S^{2-} .



Equação 4.3: Reação de oxidação da prata com formação do sal insolúvel Ag_2S

Alguns estudos onde uma separação cromatográfica foi empregada, mencionam o uso de colunas com alta capacidade para que a resolução entre estes dois componentes possa garantir uma integração de picos confiável e robusta (Christison & Rohrer, 2007). A principal desvantagem neste tipo de abordagem é que os tempos de análise foram de 25 minutos, enquanto os resultados obtidos no presente trabalho demonstraram ser possível fazer a eluição de cianeto em pouco menos de 8 minutos.

O uso das condições cromatográficas diferentes para separar este interferente de cianeto não se mostraram eficazes utilizando-se colunas cromatográficas de diferentes capacidades de troca iônica. Já na amostra teste C1 de Sulfeto foi observada interferência cromatográfica, com coeluição, em coluna de 100 mm do tipo *microbore* com capacidade de 8,7 $\mu\text{mol Cl}^-$. Na sobreposição dos cromatogramas (Figura 4-13) foi possível observar um pico correspondente ao sulfeto em

aproximadamente 5,0 minutos. O cianeto eluindo em aproximadamente 5,2 minutos acabou tendo sua integração impossibilitada.

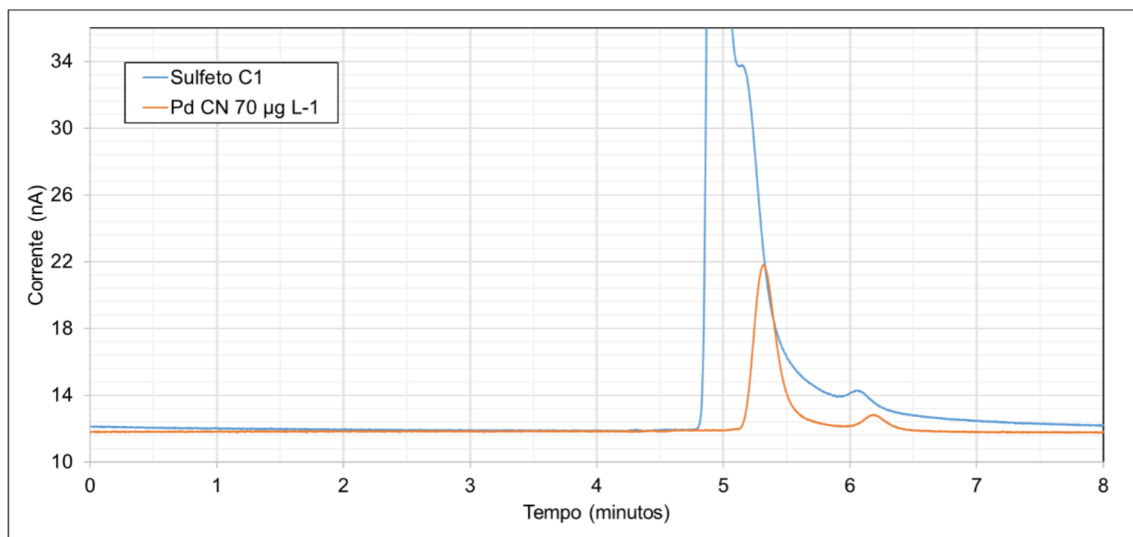


Figura 4-13: Sobreposição de cromatograma de padrão 70 µg L⁻¹ de cianeto (laranja) e cromatograma de padrão teste C1 de 860 µg L⁻¹ de sulfeto (azul) usando coluna Metrosep A Supp 10 – 100/2.0 com capacidade de 8,7 µmol (Cl⁻)

A coeluição persistiu mesmo utilizando-se uma coluna de 150 mm de comprimento do tipo *microbore* e com capacidade de 15 µmol Cl⁻. Na sobreposição de cromatogramas (Figura 4-14) foi possível observar um pico correspondente ao sulfeto eluindo em cerca de 3,2 minutos. Este pico acabou interferindo na integração do pico de cianeto que elui em aproximadamente 4,0 minutos.

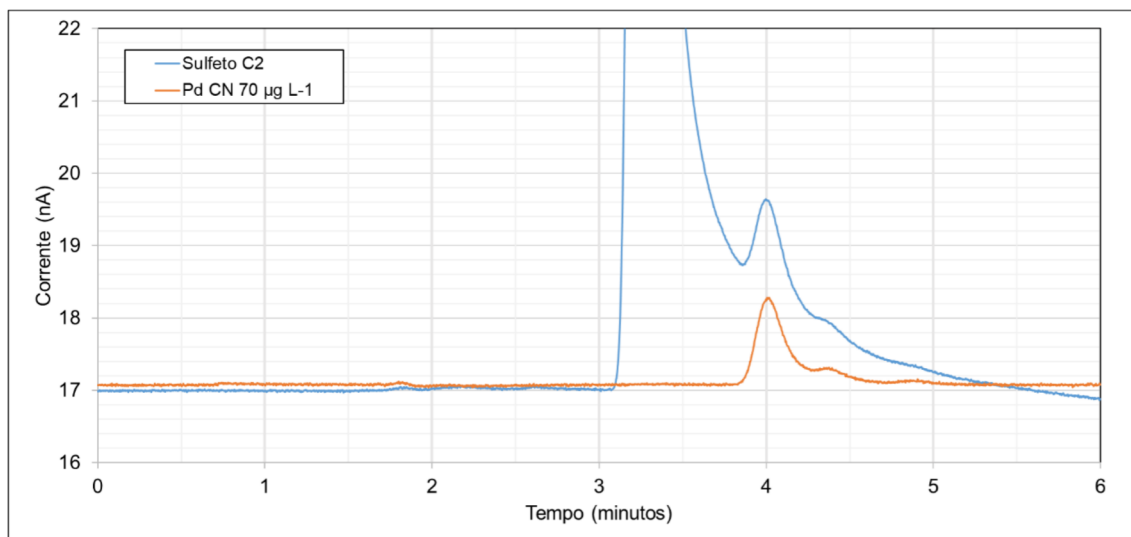


Figura 4-14: Sobreposição de cromatograma de padrão 70 µg L⁻¹ de cianeto (laranja) e cromatograma de padrão teste C2 de 8,63 mg L⁻¹ de sulfeto (azul) usando coluna Metrosep A Supp 10 – 150/2.0 com capacidade de 15 µmol (Cl⁻)

Outros trabalhos mencionam a estratégia de precipitação de sulfeto através do uso de carbonato ou acetato de chumbo seguido de filtração. (D. G. Themelis et al., 2009)

Entretanto, sob o ponto de vista operacional, uma solução em fluxo seria mais vantajosa. Além de que os efluentes produzidos possuem uma toxicidade considerável.

Com a finalidade de reduzir a toxicidade dos resíduos da análise, Weinberg et al. e Solujic et al. (1999 e 2005) utilizaram o nitrato de bismuto para remoção de sulfeto em soluções com concentração até 50 mg L⁻¹ (Solujic et al., 1999; Weinberg et al., 2005). Em um teste qualitativo misturando padrão de sulfeto 1000 mg L⁻¹ com solução ácida de nitrato de bismuto, obteve-se um precipitado de coloração escura, possivelmente o sal insolúvel de sulfeto de bismuto (Bi₂S₃) (Figura 4-15).

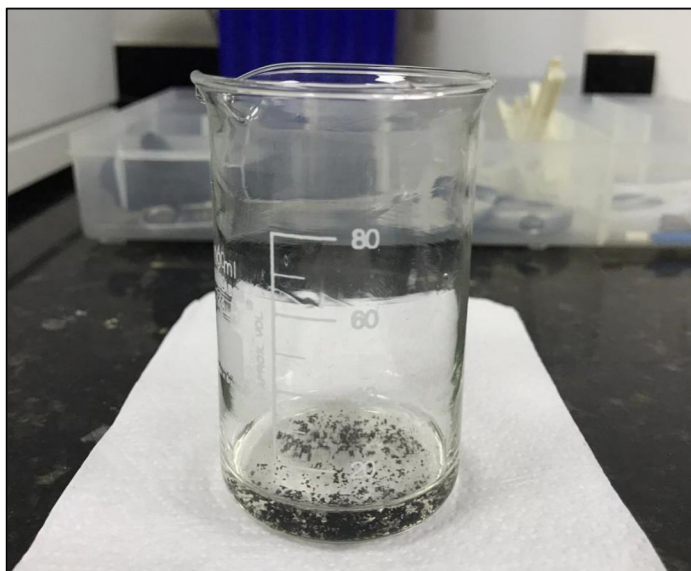


Figura 4-15: Precipitados de Sulfeto de Bismuto (Bi_2S_3) em solução

Para avaliar uma precipitação seletiva de sulfeto utilizando o aparato em fluxo, 152 mg de nitrato de bismuto foram dissolvidos em 1 L de solução 1 mol L^{-1} de ácido sulfúrico utilizada para acidificar a amostra em fluxo. Esta solução foi agitada até completa dissolução do sal.

A consequência da estratégia utilizando nitrato de bismuto na solução de acidificação foram as melhorias nos resultados quantitativos descritos na Tabela 25 e qualitativos observados nos cromatogramas mostrados na Figura 4-16.

Tabela 25: Recuperações médias (n=3) de Cianeto $70 \mu\text{g L}^{-1}$ na presença de Sulfeto em diferentes níveis

Interferente	C1	C2	C3
	Recuperação média de $70 \mu\text{g L}^{-1}$ de Cianeto %		
Sulfeto (sem Bi^{3+})	662%	7952%	81660%
Sulfeto (com Bi^{3+})	100,7%	100,7%	105,0%

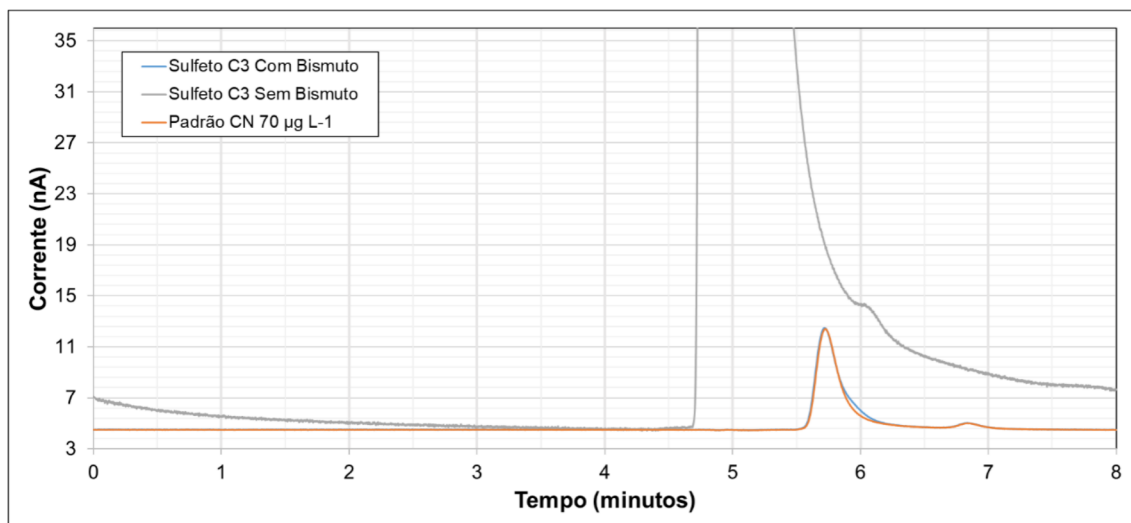


Figura 4-16: Sobreposição de cromatogramas de padrão teste C3 de Sulfeto com uso de Nitrato de Bismuto (azul), sem uso Nitrato de Bismuto (cinza) e de padrão $70 \mu\text{g L}^{-1}$ de cianeto utilizando coluna Metrosep A Supp 10 – 100/2.0 com capacidade de $8,7 \mu\text{mol (Cl}^{-})$

A interferência de sulfeto que aumentava o sinal analítico no tempo de retenção de cianeto em todos os níveis, com o uso de Bismuto na solução ácida, resultou em baixos desvios relativos, demonstrando ser uma estratégia bastante eficiente para aumentar a seletividade do método estudado neste trabalho e confirmando a eficácia desta estratégia (Tabela 26). Isto mesmo no nível de interferente da amostra teste C3. Adicionalmente, a estratégia permitiu que uma coluna de menor capacidade ($8,7 \mu\text{mol Cl}^{-}$) e com eluição mais rápida pudesse ser utilizada para determinar o cianeto.

Por sua vez, o Bismuto tem sido estudado para diversas outras aplicações graças ao seu potencial tóxico menor que de outros metais pesados como o próprio Chumbo, tradicionalmente utilizado com a finalidade de remoção seletiva de sulfeto por precipitação (Mohan, 2010). Esta característica torna o método proposto mais seguro para o meio ambiente e para os possíveis usuários desta abordagem.

Tabela 26: Concentrações de sulfeto e concentrações determinadas de cianeto nas replicatas das amostras teste C1, C2 e C3 após uso de Bi^{3+} na solução ácida

	C_{A^-} mg L ⁻¹	C_{CN^-} µg L ⁻¹	\bar{C}_{CN^-} µg L ⁻¹	$s(C_{CN^-})$ µg L ⁻¹	DPR %	Rec. %	DR %
Sulfeto C1	0,86	70,7 71,3 69,4	70,5	±1,0	1,4	100,7	0,7
Sulfeto C2	8,63	71,2 70,2 70,0	70,5	±0,6	0,91	100,7	0,7
Sulfeto C3	86,28	73,9 73,3 73,2	73,5	±0,4	0,52	105,0	5,0
Média	-	71,5	71,5	±0,7	0,9	102,1	2,1

Os resultados cromatográficos e de recuperação do cianeto em presença de sulfeto obtidos com a adição de Bismuto (Bi^{3+}) na solução de acidificação demonstraram assim que a precipitação foi seletiva e eficiente na remoção do sulfeto como interferente. Adicionalmente, graças aos volumes pequenos de amostra que efetivamente entram no sistema, não foi observado acúmulo de precipitados de Bi_2S_3 e que poderiam entupir capilares e mangueiras.

TIOCIANATO

O íon tiocianato (SCN^-) é considerado um interferente comum em diversos métodos para a quantificação de cianeto. Este íon é encontrado comumente em fluídos biológicos porque, quando no organismo e na presença de enxofre, o cianeto é metabolizado a tiocianato pela enzima rodanase mitocondrial. A presença de tiocianato no meio amostral também pode aumentar o resultado de cianeto artificialmente por sua decomposição em baixos pHs. (do Nascimento & Bohrer, 1998; Jackson & Logue, 2017).

Drochioiu et al. (2002) reportaram uma interferência estequiométrica positiva do tiocianato em determinações colorimétricas de cianeto usando Ninidrina (2,2-

Dihydroxyindane-1,3-dione) (Drochioiu, 2002). Heckemann et al., estudando diversas configurações em sistemas em fluxo, observaram que, quando na presença de fenantrolina ou sob radiação UV, o íon tiocianato pode também sofrer degradação levando a formação de cianeto (Heckemann et al., 2001). Os resultados mostrados na Tabela 27 não indicaram qualquer interferência significativa de tiocianato utilizando o método proposto.

Tabela 27: Concentrações de tiocianato e concentrações de cianeto nas replicatas das amostras teste C1, C2 e C3

	C_{A^-} mg L ⁻¹	C_{CN^-} µg L ⁻¹	\bar{C}_{CN^-} µg L ⁻¹	$s(C_{CN^-})$ µg L ⁻¹	DPR %	Rec. %	DR %
Tiocianato C1	1,71	71,8 69,8 70,3	70,6	±1,0	1,5	100,9	0,9
Tiocianato C2	17,10	68,5 69,4 69,1	69,0	±0,5	0,66	98,6	-1,4
Tiocianato C3	170,95	69,1 68,7 68,0	68,6	±0,6	0,81	98,0	-2,0
Média	-	69,4	69,4	±0,7	1,0	99,2	-0,8

Apesar de o tiocianato ser uma fonte potencial de cianeto em meios aquosos, o resultado obtido confirma os resultados já observados por Rocha et al. que também estudaram sistemas de difusão gasosa acoplados a detecção espectrofotométrica e não detectaram interferência de até 100 mg L⁻¹ de tiocianato na quantificação de cianeto em concentrações entre 25 e 50 µg L⁻¹ (Frizzarin & Rocha, 2013).

Faz-se necessário mencionar que as análises feitas neste trabalho foram sempre realizadas imediatamente após o preparo das amostras de teste avaliadas. Isto significa que potenciais promotores da degradação de tiocianato como radiação e exposição a microrganismos não foram significativas. Mesmo assim, foi possível

observar que o meio ácido da solução doadora não promoveu uma degradação mesmo em concentrações significativamente mais altas de tiocianato.

NITRITO E NITRATO

Diversos trabalhos estudaram e descreveram possíveis interferências dos íons nitrito (NO_2^-) e nitrato (NO_3^-) na determinação de cianeto. Ao estudar sistemas cromatográficos com detecção amperométrica e por condutividade para determinar cianeto e outros ânions, Rocklin et al. (1983) não observaram qualquer sinal de corrente destes ânions utilizando condições de detecção similares às descritas neste trabalho. Kuban et al. (1992) reportaram que desvios relativos menores que 5% foram observadas na determinação espectrofotométrica de cianeto na presença destes e outros íons em concentrações de até 1000 mg L^{-1} .

Por outro lado, alguns trabalhos indicam que nitrito e nitrato podem ser potenciais precursores de cianeto em águas e efluentes. Carr et al. (1997) descreveram uma série de possíveis reações destes íons com diversos hidrocarbonetos formando cianeto após passarem por sistemas de destilação ácida a quente normalmente usados para preparar as amostras para determinação de cianeto total. Estas observações foram reforçadas no trabalho de Weinberg et al. (2005) em que foi descrito efeito semelhante em estações de tratamento de efluentes em que as concentrações de cianeto total tiveram contribuição da presença de nitrito e cloro (Carr et al., 1997; Weinberg et al., 2005).

Os resultados obtidos para cianeto na presença de nitrito e nitrato estão apresentados na Tabela 28 e Tabela 29.

Tabela 28: Concentrações de nitrato e concentrações determinadas de cianeto nas replicatas das amostras teste C1, C2 e C3

	C_{A^-} mg L ⁻¹	C_{CN^-} µg L ⁻¹	\bar{C}_{CN^-} µg L ⁻¹	$s(C_{CN^-})$ µg L ⁻¹	DPR %	Rec. %	DR %
Nitrito C1	1,24	70,6 70,5 69,7	70,3	±0,5	0,70	100,4	0,4
Nitrito C2	12,38	67,2 66,6 68,5	67,4	±1,0	1,4	96,3	-3,7
Nitrito C3	123,78	68,5 68,6 68,6	68,6	±0,1	0,08	98,0	-2,0
Média	-	68,8	68,8	±0,5	0,7	98,2	-1,8

Tabela 29: Concentrações de nitrato e concentrações determinadas de cianeto nas replicatas das amostras teste C1, C2 e C3

	C_{A^-} mg L ⁻¹	C_{CN^-} µg L ⁻¹	\bar{C}_{CN^-} µg L ⁻¹	$s(C_{CN^-})$ µg L ⁻¹	DPR %	Rec. %	DR %
Nitrato C1	1,67	68,8 70,1 80,0	73,0	±6,1	8,4	104,2	4,2
Nitrato C2	16,68	71,0 70,3 70,0	70,4	±0,5	0,73	100,6	0,6
Nitrato C3	166,82	67,6 68,0 68,9	68,2	±0,7	1,0	97,4	-2,6
Média	-	70,5	70,5	±2,4	3,4	100,7	0,7

As respectivas concentrações e recuperações médias globais de $69,6 \pm 1,5 \mu\text{g L}^{-1}$ e 99,5% não indicaram uma significativa tendência positiva nas concentrações de cianeto determinadas na presença destes ânions. Estes resultados, de alguma maneira, reforçaram as conclusões de Carr et al. (1997) de que a cromatografia de íons como método direto para determinação de cianeto pode, em partes, resolver problemas relacionados a potencial interferência positiva de nitrito e nitrato uma vez que utilizariam de preparos de amostras mais brandas. Cabe, entretanto, ressaltar que as avaliações em amostras reais de águas e efluentes melhor comprovam a

seletividade do método descrito neste trabalho para a determinação de cianeto na presença de nitrito e nitrato.

SULFATO E TIOSSULFATO

Em 1992 Kuban et al. reportaram interferências menores que 5% no sinal analítico de 100 $\mu\text{g L}^{-1}$ de cianeto na presença de sulfato (SO_4^{2-}) e tiosulfato ($\text{S}_2\text{O}_3^{2-}$). Heckemann et al., em 2001, também reportaram boa recuperação de 200 $\mu\text{g L}^{-1}$ cianeto na presença de concentrações de 100 e 1000 mg L^{-1} de tiosulfato. (Heckemann et al., 2001; Kubáň, 1992). O íon tiosulfato pode produzir corrente em condições similares à detecção amperométrica de cianeto. Isto poderia significar uma potencial interferência. Os resultados obtidos nos níveis de interferentes avaliados estão dispostos nas Tabela 30 e Tabela 31.

Tabela 30: Concentrações de sulfato e concentrações determinadas de cianeto nas replicatas das amostras teste C1, C2 e C3

	C_{A^-} mg L^{-1}	C_{CN^-} $\mu\text{g L}^{-1}$	\bar{C}_{CN^-} $\mu\text{g L}^{-1}$	$s(C_{CN^-})$ $\mu\text{g L}^{-1}$	DPR %	Rec. %	DR %
Sulfato C1	2,58	66,2 66,8 67,4	66,8	$\pm 0,6$	0,90	95,4	-4,6
Sulfato C2	25,85	67,0 67,7 66,6	67,1	$\pm 0,6$	0,83	95,9	-4,1
Sulfato C3	258,45	67,5 67,7 66,3	67,2	$\pm 0,8$	1,1	96,0	-4,0
Média	-	67,0	67,0	$\pm 0,6$	1,0	95,7	-4,3

Tabela 31: Concentrações de tiosulfato e concentrações determinadas de cianeto nas replicatas das amostras teste C1, C2 e C3

	C_{A^-} mg L ⁻¹	C_{CN^-} µg L ⁻¹	\bar{C}_{CN^-} µg L ⁻¹	$s(C_{CN^-})$ µg L ⁻¹	DPR %	Rec. %	DR %
Tiosulfato C1	3,02	63,0 63,9 69,8	65,6	±3,7	5,6	93,7	-6,3
Tiosulfato C2	30,17	71,5 70,3 69,3	70,4	±1,1	1,6	100,5	0,5
Tiosulfato C3	301,65	69,7 71,8 71,9	71,1	±1,2	1,7	101,6	1,6
Média	-	69,0	69,0	±2,0	3,0	98,6	-1,4

A concentração média e recuperação média global de cianeto obtidas na presença de sulfato e tiosulfato foram de $68,0 \pm 1,3 \mu\text{g L}^{-1}$ e 97,2%, respectivamente, indicando que a abordagem utilizada foi seletiva até mesmo na presença do íon tiosulfato.

FOSFATO

No trabalho pioneiro de Baker et al. (1955) foi reportado certo grau de interferência ocasionada pela presença de quantidades de fosfato em medidas diretas de corrente produzida por eletrodos de prata na presença de cianeto. Nos estudos de Themelis et al. (2009) foi demonstrada uma recuperação de 98,3% de $100 \mu\text{g L}^{-1}$ de cianeto na presença do íon fosfato numa razão de concentração em massa de 100:1 (D. G. Themelis et al., 2009). Os resultados obtidos neste estudo corroboram os resultados numéricos reportados por Themelis et al com boas taxas de recuperação de $70 \mu\text{g L}^{-1}$ de CN^- em presença de diferentes concentrações de fosfato. (Tabela 32).

Tabela 32: Concentrações de fosfato e concentrações determinadas de cianeto nas replicatas das amostras teste C1, C2 e C3

	C_{A^-} mg L ⁻¹	C_{CN^-} µg L ⁻¹	\bar{C}_{CN^-} µg L ⁻¹	$s(C_{CN^-})$ µg L ⁻¹	DPR %	Rec. %	DR %
Fosfato C1	2,55	70,6 69,7 70,7	70,3	±0,6	0,78	100,5	0,5
Fosfato C2	25,55	70,8 70,3 71,9	71,0	±0,8	1,2	101,4	1,4
Fosfato C3	255,49	70,2 70,6 70,6	70,5	±0,2	0,33	100,7	0,7
Média	-	70,6	70,6	±0,5	0,8	100,9	0,9

4.6. INTERFERENTES METÁLICOS

Quase todos os íons metálicos formam complexos com cianeto em diferentes condições (Beck, 1987). A estabilidade desses complexos varia (Tabela 33) de modo que alguns complexos são lábeis podendo ser facilmente dissociados através da acidificação do meio ($\text{pH} < 4$). Os complexos como $\text{Zn}(\text{CN})_4^{2-}$, $\text{Cd}(\text{CN})_4^{2-}$, $\text{Cu}(\text{CN})_4^{3-}$ são comumente denominados “WAD” da sigla, em inglês, para *weekly acid dissociated*.

Em decorrência da facilidade com que podem liberar cianeto no ambiente, estes complexos iônicos são normalmente considerados mais tóxicos do que o cianeto não lábil formado em complexos mais estáveis como $\text{Ni}(\text{CN})_4^{2-}$, $\text{Fe}(\text{CN})_6^{4-}$, $\text{Fe}(\text{CN})_6^{3-}$ e $\text{Co}(\text{CN})_6^{3-}$ (Vallejo-Pecharromán & Luque de Castro, 2002).

Entretanto, complexos férricos e ferrosos de cianeto podem ser foto dissociados, o que lhes confere um potencial tóxico muito mais alto se forem consideradas condições de pH, exposição e temperatura encontradas em águas superficiais ou de irrigação, por exemplo (Yu et al., 2011).

Tabela 33: Constante de estabilidade de alguns complexos metálicos de cianeto
(Gerhardts, 2000)

Complexo	log K (25°C)
$[\text{Co}(\text{CN})_6]^{3-}$	64,0
$[\text{Fe}(\text{CN})_6]^{3-}$	43,6
$[\text{Pd}(\text{CN})_6]^{3-}$	42,4
$[\text{Pt}(\text{CN})_6]^{3-}$	40,0
$[\text{Hg}(\text{CN})_6]^{3-}$	39,0
$[\text{Au}(\text{CN})_6]^{3-}$	37,0
$[\text{Fe}(\text{CN})_6]^{4-}$	35,4
$[\text{Ni}(\text{CN})_4]^{2-}$	30,2
$[\text{Cu}(\text{CN})_4]^{3-}$	23,1
$[\text{Ag}(\text{CN})_2]^-$	20,5
$[\text{Zn}(\text{CN})_4]^{2-}$	19,6
$[\text{Cd}(\text{CN})_4]^{2-}$	17,9

Os resultados obtidos confirmaram observações já reportadas em outros trabalhos onde as taxas de recuperação do íon cianeto na presença de certos metais tais como Cobalto, Ferro e Níquel foram relativamente mais baixas do que na presença de outros metais como Cobre, Zinco ou Cádmiio (Tabela 34). Isto indica que os complexos de cianeto formado com àqueles metais não puderam ser dissociados no baixo pH à qual a amostra foi submetida na etapa de acidificação.

Tabela 34: Taxas de recuperação médias (n=3) de Cianeto em cada nível dos interferentes metálicos avaliados

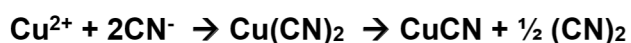
Interferente	C1	C2	C3
	Recuperação média de 70 µg L ⁻¹ de Cianeto %		
Cobre	88,3	80,7	90,0
Zinco	98,7	100,1	100,4
Cobalto	11,4	10,7	22,1
Alumínio	92,0	112,9	99,7
Cádmio	96,4	93,7	96,0
Ferro II	93,1	70,4	66,6
Ferro III	83,0	70,4	64,6
Bário	100,0	98,1	100,1
Chumbo	93,7	101,1	96,3
Níquel	7,3	5,7	13,7
Cromo	98,9	99,3	98,9

COBRE

Themelis et al. reportaram em 2009 recuperação de 100,6% para 100 µg L⁻¹ de cianeto em presença de concentração 100 vezes maior (10 mg L⁻¹) de cobre (II) usando um sistema de difusão gasosa. Nascimento et al. obtiveram uma recuperação de 73% para 1 mol L⁻¹ (26,02 g L⁻¹) de cianeto em presença equimolar de íons cobre.

Os resultados obtidos de recuperação para cianeto na presença de íons Cu²⁺ estão agrupados na Tabela 35, demonstrando uma condição intermediária aos dois casos mencionados anteriormente. Em princípio, não se verificou uma relação direta na redução da recuperação com o aumento da concentração de íons Cu²⁺ no meio uma vez que a recuperação maior foi obtida no nível C3 do interferente e o menor no nível C2.

No nível C2 foi observada a formação de precipitado de coloração marrom, possivelmente o complexo Cu(CN)₂ que se decompõe em cianeto cuproso, Cu(CN), e cianogênio, segundo a Equação 4.4 descrita em 1967 por Buch e Longo (Longo & Buch, 1967)



Equação 4.4: Equação de formação e decomposição de $\text{Cu}(\text{CN})_2$ em solução

Em contrapartida, nos níveis C1 e C3 a formação de precipitados foi menos pronunciada.

Tabela 35: Concentrações de Cobre e concentrações determinadas de cianeto nas replicatas das amostras teste C1, C2 e C3

	C_{M^+} mg L ⁻¹	C_{CN^-} µg L ⁻¹	\bar{C}_{CN^-} µg L ⁻¹	$s(C_{CN^-})$ µg L ⁻¹	DPR %	Rec. %	DR %
Cobre C1	1,71	62,5 61,2 61,7	61,8	±0,7	1,1	88,3	-11,7
Cobre C2	17,10	56,1 57,4 55,9	56,5	±0,8	1,4	80,7	-19,3
Cobre C3	170,95	63,8 63,3 61,8	63,0	±1,0	1,7	90,0	-10,0
Média	-	60,4	60,4	±0,8	1,4	86,3	-13,67

ZINCO

Assim como o cobre, o zinco está no grupo dos metais que formam os chamados “WAD” (*weekly acid dissociable*). Os resultados obtidos e mostrados na Tabela 36 demonstraram que a presença do íon Zn^{2+} interfere muito pouco na recuperação do cianeto. Mesmo quando este metal encontra-se em concentrações relativas altas. Os resultados obtidos confirmaram outras observações encontradas na literatura.

Milosavljevic et al. publicaram em 1995 um extenso estudo sobre a determinação de cianeto através da avaliação das recuperações obtidas em soluções dos complexos metálicos de cianeto, injetadas através de um sistema de difusão gasosa, seguido de determinação amperométrica. Neste trabalho, as recuperações

de cianeto foram de 100,9% a partir de uma solução 2 mg L⁻¹ de [Zn(CN)₄]²⁻ e de 102,3% numa solução 0,2 mg L⁻¹ do mesmo complexo (Milosavljevic et al., 1995).

Tabela 36: Concentrações de Zinco e concentrações determinadas de cianeto nas replicatas das amostras teste C1, C2 e C3

	C_{M^+} mg L ⁻¹	C_{CN^-} µg L ⁻¹	\bar{C}_{CN^-} µg L ⁻¹	$s(C_{CN^-})$ µg L ⁻¹	DPR %	Rec. %	DR %
Zinco C1	1,76	68,6 69,0 69,6	69,1	±0,5	0,7	98,7	-1,3
Zinco C2	17,59	73,6 70,1 66,6	70,1	±3,5	5,0	100,1	0,1
Zinco C3	175,89	70,6 71,2 69,1	70,3	±1,1	1,5	100,4	0,4
Média	-	69,8	69,8	±1,7	2,4	99,7	-0,24

CÁDMIO

Os resultados mostrados na Tabela 37 reproduziram o comportamento observado anteriormente para o zinco. Foram igualmente obtidas boas taxas de recuperação de cianeto mesmo na presença de concentrações relativamente altas de Cd²⁺. As observações confirmaram o que foi reportado em outros trabalhos como de Milosavljevic et al. e Themelis et al. que também descrevem condições similares às deste trabalho. (Milosavljevic et al., 1995; D. G. Themelis et al., 2009)

Tabela 37: Concentrações de Cádmio e concentrações determinadas de cianeto nas replicatas das amostras teste C1, C2 e C3

	C_{M^+} mg L ⁻¹	C_{CN^-} µg L ⁻¹	\bar{C}_{CN^-} µg L ⁻¹	$s(C_{CN^-})$ µg L ⁻¹	DPR %	Rec. %	DR %
Cádmio C1	3,02	67,6 67,5 67,4	67,5	±0,1	0,1	96,4	-3,6
Cádmio C2	30,24	66,6 65,7 64,5	65,6	±1,1	1,6	93,7	-6,3
Cádmio C3	302,41	68,3 68,3 65,1	67,2	±1,8	2,7	96,0	-4,0
Média	-	66,8	66,8	±1,0	1,5	95,4	-4,62

COBALTO

O cobalto é conhecido por formar complexos de alta estabilidade com cianeto sob diversas condições.

Para preparar as amostras teste deste estudo foi utilizado um sal de cobalto no estado de oxidação 2+. Entretanto, segundo Gagnon et al. (2014), em meio alcalino os complexos de cianeto e Co(II) são facilmente oxidados a complexos de cianeto e Co(III). Durante o preparo das soluções foi observada a formação de uma coloração azulada indicando a presença do complexo cianocobaltato.

Os resultados mostrados na Tabela 38 demonstraram que a acidificação em fluxo não foi capaz de liberar gás cianídrico e as taxas de recuperação foram menores que 25% em todos os níveis avaliados confirmando as observações de estudos anteriores encontrados na literatura.

Tabela 38: Concentrações de Cobalto e concentrações determinadas de cianeto nas replicatas das amostras teste C1, C2 e C3

	C_{M^+} mg L ⁻¹	C_{CN^-} µg L ⁻¹	\bar{C}_{CN^-} µg L ⁻¹	$s(C_{CN^-})$ µg L ⁻¹	DPR %	Rec. %	DR %
Cobalto C1	1,59	8,1 8,0 7,9	8,0	±0,1	1,3	11,4	-88,6
Cobalto C2	15,85	7,9 7,5 7,2	7,5	±0,4	4,7	10,8	-89,3
Cobalto C3	158,54	15,7 15,4 15,4	15,5	±0,2	1,1	22,1	-77,9
Média	-	10,3	10,3	±0,2	2,3	14,8	-85,24

Cabe ressaltar, entretanto, que as concentrações de cobalto estudadas neste trabalho estão muito acima daquelas encontradas em amostras reais de efluentes e águas para consumo. (Savazzi, 2013)

NÍQUEL

O níquel também forma complexos estáveis com cianeto, mas com constante de estabilidade menor que ferro e cobalto, por exemplo. No experimento de difusão gasosa descrito por Milosavljevic et al. em 1995, a recuperação de cianeto obtida a partir do complexo $[\text{Ni}(\text{CN})_4]^{2-}$ foi de 105,8% para o nível de concentração de $0,20 \mu\text{g L}^{-1}$ e de 97,3% para o nível de $2,00 \mu\text{g L}^{-1}$ (Milosavljevic et al., 1995)

No entanto, os resultados obtidos e mostrados na Tabela 39 não reproduziram os encontrados da literatura e sugeriram que, nas condições usadas, a recuperação de cianeto em presença de níquel foi mais afetada do que em presença de cobalto. A recuperação média abaixo de 10% indicou que outros tipos de interações podem desfavorecer a liberação do cianeto do complexo com níquel.

Tabela 39: Concentrações de Níquel e concentrações determinadas de cianeto nas replicatas das amostras teste C1, C2 e C3

	C_{M^+} mg L ⁻¹	C_{CN^-} μg L ⁻¹	\bar{C}_{CN^-} μg L ⁻¹	$s(C_{CN^-})$ μg L ⁻¹	DPR %	Rec. %	DR %
Níquel C1	1,58	5,1 5,1 5,1	5,1	±0,0	0,0	7,3	-92,7
Níquel C2	15,79	4,3 3,9 3,7	4,0	±0,3	7,6	5,7	-94,3
Níquel C3	157,90	9,6 9,6 9,7	9,6	±0,1	0,6	13,8	-86,3
Média	-	6,2	6,2	±0,1	2,7	8,9	-91,10

Somou-se às baixas recuperações a observação de um efeito imediato, persistente e irreversível, de redução na capacidade de difusão da membrana de PTFE. As concentrações de cianeto determinadas em padrões de verificação injetados entre cada amostra teste apresentou uma queda de 28% na concentração esperada (Figura 4-17). Tal efeito não foi observado para outros interferentes, mesmo

aqueles com constantes de estabilidade maiores como cobalto ou ferro. Foi formulada a hipótese de algum tipo de interação persistente do material da membrana a este metal. Entretanto, nenhuma referência utilizada neste estudo menciona tal efeito.

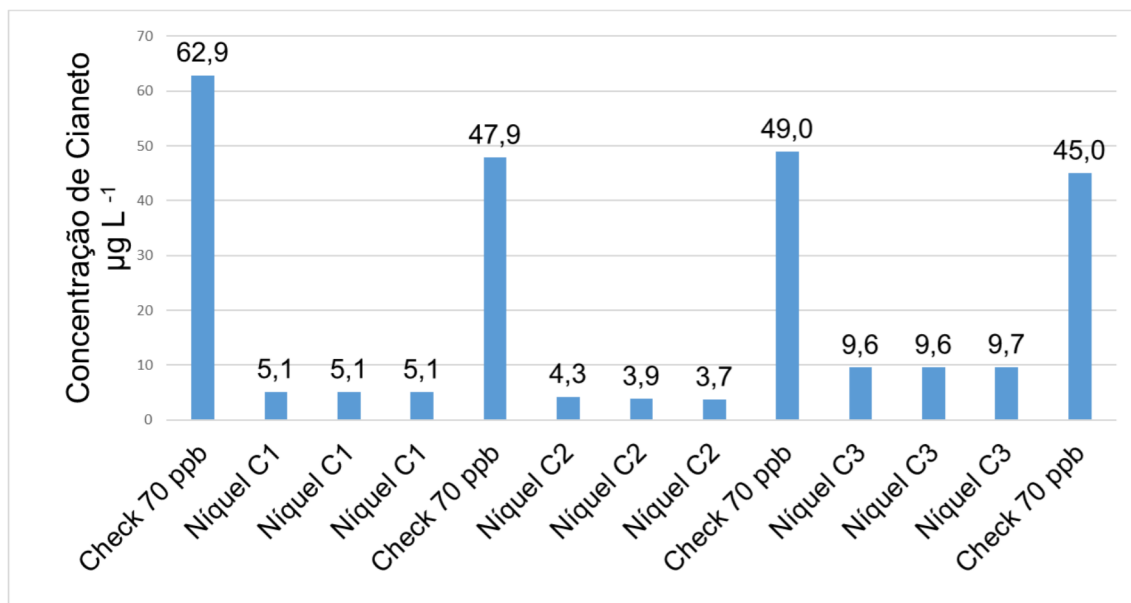


Figura 4-17: Concentrações determinadas de cianeto nas amostras teste de níquel e nos padrões de verificação entre as injeções

FERRO II E FERRO III

Dentre todos os complexos metálicos com cianeto, os complexos férricos e, ferrosos de cianeto são os mais conhecidos por sua estabilidade tendo sido utilizados como pigmento conhecido por azul da Prússia.

Rocklin et al. em 1983 não detectaram qualquer concentração de cianeto livre fazendo injeções diretas de $[\text{Fe}(\text{CN})_6]^{3-}$ em cromatógrafo acoplado com detector eletroquímico em condições similares às utilizadas neste trabalho. Themelis et al. em 2009 utilizaram um sistema de difusão gasosa em fluxo combinado com reações com ninidrina para obter recuperações de cianeto de 101,2% em presença de Fe^{3+} e de 99,2% em presença de Fe^{2+} (Rocklin & Johnson, 1983; D. G. Themelis et al., 2009).

Nos testes conduzidos neste estudo, todas as amostras teste contendo os interferentes e cianeto foram analisadas imediatamente após seu preparo. Portanto, as diferenças observadas com relação aos resultados encontrados na literatura podem ser oriundos da influência da cinética de formação destes complexos.

Tabela 40: Concentrações de Ferro II e concentrações determinadas de cianeto nas replicatas das amostras teste C1, C2 e C3

	C_{M^+} mg L ⁻¹	C_{CN^-} µg L ⁻¹	\bar{C}_{CN^-} µg L ⁻¹	$s(C_{CN^-})$ µg L ⁻¹	DPR %	Rec. %	DR %
Ferro II C1	1,50	66,0 65,3 64,4	65,2	±0,8	1,2	93,2	-6,9
Ferro II C2	15,02	59,4 58,9 58,1	58,8	±0,7	1,1	84,0	-16,0
Ferro II C3	150,24	47,3 46,5 46,1	46,6	±0,6	1,3	66,6	-33,4
Média	-	56,9	56,9	±0,7	1,2	81,3	-18,76

Tabela 41: Concentrações de Ferro III e concentrações determinadas de cianeto nas replicatas das amostras teste C1, C2 e C3

	C_{M^+} mg L ⁻¹	C_{CN^-} µg L ⁻¹	\bar{C}_{CN^-} µg L ⁻¹	$s(C_{CN^-})$ µg L ⁻¹	DPR %	Rec. %	DR %
Ferro III C1	1,50	58,8 57,6 57,8	58,1	±0,6	1,1	83,0	-17,0
Ferro III C2	15,02	49,7 49,1 49,0	49,3	±0,4	0,8	70,4	-29,6
Ferro III C3	150,24	46,0 44,8 44,8	45,2	±0,7	1,5	64,6	-35,4
Média	-	50,8	50,9	±0,6	1,1	72,6	-27,33

ALUMÍNIO, CHUMBO E CROMO