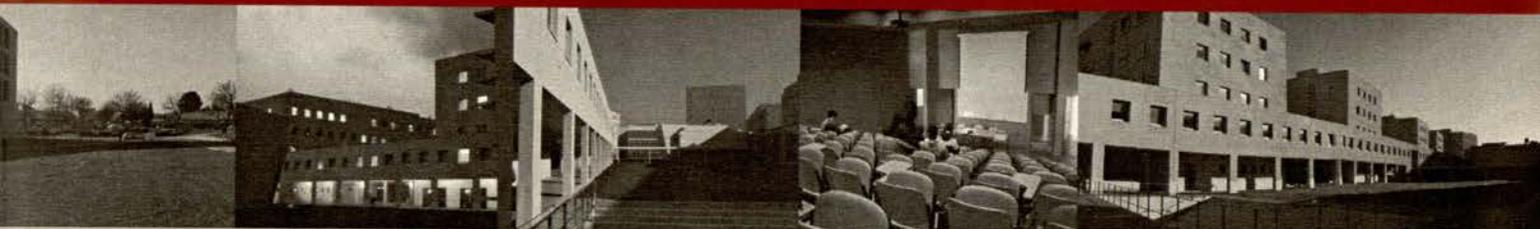




Universidade do Porto  
Faculdade de Engenharia

**FEUP**



Luisa Andreia Prazeres Reis

## Determinação Automática de Alumínio em Águas de consumo Humano

Relatório de estágio PRODEP 2004

Prodep III  
Estágio  
2003-2004  
27 LEQ

66(047.3)  
LEQ 2003/REII

Porto, 2004





Universidade do Porto

**FEUP** Faculdade de Engenharia

**Departamento de Engenharia Química**

Relatório de estágio PRODEP 2004



**PARALAB**

Equipamentos Industriais e de Laboratório, S. A.

# **DETERMINAÇÃO AUTOMÁTICA DE ALUMÍNIO EM ÁGUAS DE CONSUMO HUMANO**

**Autoria:**

Luísa Andreia Prazeres Reis

2004

66(047.3)/L69 2003/RECd

Universidade do Porto Faculdade de Engenharia Biblioteca	
Nº	91325 7
CDU	549(047.3)
Data	03/03/2007



*Este trabalho foi realizado no ano lectivo de  
2003/04, no Departamento de Engenharia Química  
– FEUP e na empresa Paralab, SA.*

*Departamento de Engenharia Química*  
*Faculdade de Engenharia do Porto*  
*Orientador de Estágio:* **Engenheiro Fernão D. Magalhães**

*PARALAB, SA*  
*Orientador de Estágio:* **Doutor José António M. Catita**

## **Agradecimentos**

Agradeço à PARALAB e ao Departamento de Engenharia Química da Faculdade de Engenharia da Universidade do Porto a oportunidade e facilidades concedidas na realização do estágio.

Ao Doutor José António Catita, orientador de estágio na PARALAB, pela motivação, conhecimento transmitido e pela permanente disponibilidade demonstrada ao longo do estágio.

Ao Engenheiro Fernão Magalhães, orientador académico na Faculdade de Engenharia, por todo o apoio prestado na realização do projecto e pela disponibilidade sempre demonstrada.

À Engenheira Raquel Silva pelo tempo que me dedicou e pela experiência partilhada sem a qual a realização do estágio seria mais dificultada.

A todos os restantes colaboradores da PARALAB pela disponibilidade que sempre mostraram que me receberam e integraram.

# Índice

<b>1. Introdução.....</b>	<b>1</b>
<b>2. Significado de Ocorrência.....</b>	<b>3</b>
<b>3. Reagentes Utilizados.....</b>	<b>7</b>
<b>4. Automatização e Determinação.....</b>	<b>8</b>
4.1. FIA.....	8
4.1.1. Equipamentos e Montagem.....	17
4.1.2. Optimização da Montagem.....	19
4.1.3. Estudo de Interferentes.....	21
4.1.4. Resultados.....	22
4.2. SIA.....	24
4.1.1. Equipamentos e Montagem.....	33
4.1.2. Optimização da Montagem.....	34
4.1.3. Resultados.....	35
<b>5. Estudo Económico Comparativo.....</b>	<b>36</b>
5.1. Custo de Reagentes.....	36
5.2. Volumes gastos por método de análise e método de calibração....	36
5.2.1. FIA.....	36
5.2.2. SIA.....	37
5.3. Custo das análises e calibrações.....	37
5.3.1. FIA.....	37
5.3.2. SIA.....	38
<b>6. Conclusões.....</b>	<b>39</b>
<b>7. Bibliografia.....</b>	<b>40</b>

## 1. Introdução

O desenvolvimento em áreas como a indústria e a agricultura é usualmente seguido pelo aumento de resíduos químicos no sistema hidrográfico. Por causa disso, o tratamento e monitorização desses resíduos tem que estar continuamente em desenvolvimento.

A monitorização da qualidade da água de forma contínua, ou semi-contínua, proporciona vantagens para três diferentes áreas: cientistas que desejam obter um melhor conhecimento dos processos biológicos e químicos que ocorrem nas águas naturais; agências de protecção ambiental que desejam identificar as características das descargas das águas residuais e rios com o objectivo de controlo de poluição; operadores de instalações de tratamento de águas que desejam aprender como operar as instalações com maior eficiência.

Uma técnica usual e facilmente usada para a determinação da qualidade das águas é a espectrofotometria/colorimetria. Esta técnica é largamente usada para a determinação de várias propriedades de qualidade da água. Propriedades físicas que podem ser determinadas espectrometricamente são a cor e a turbidez, e as propriedades químicas incluem os metais (dentro deles o alumínio), não-metais e constituintes orgânicos.

Embora a determinação destas propriedades por espectrofotometria seja relativamente fácil e rápida, a preparação das amostras consome algum tempo, pois é necessário o tempo para a mistura dos reagentes e formação dos complexos da amostra. Por outro lado, na rotina da monitorização da qualidade da água, são centenas de amostras que têm que ser analisadas.

Estas dificuldades podem ser ultrapassadas através de automatização de métodos clássicos da química analítica por análise por injeção em fluxo (FIA) ou análise por injeção sequencial (SIA). Usando estas técnicas, os reagentes e amostras não precisam de ser misturados manualmente; os reagentes são enviados por uma bomba para os tubos, onde, após a mistura, passam pelo detector que regista o sinal.

É, então, desejável desenvolver um método simples e barato para a determinação directa do alumínio ( $\text{Al}^{3+}$ ). O reagente mais sensível para a determinação do alumínio é o Eriochrome cianina R (ECR), foi introduzido pela

primeira vez na prática analítica por Eegriewe no ano de 1937 e tem sido largamente usado desde então [2]. O complexo formado é extremamente estável e obedece à lei de Lambert-Beer.

Com o corante eriocrome cianine R, as soluções diluídas de alumínio tamponadas a um pH de 6 produzem um complexo vermelho alaranjado que exibe um máximo de absorção a 535 nm. A intensidade da cor desenvolvida é influenciada pela concentração de alumínio, tempo de reação, temperatura, pH, alcalinidade, e concentração de outros íons na amostra [3].

As interferências mais significativas nos métodos espectrofotométricos para a determinação do alumínio em amostras de águas naturais são causadas pelos fluoretos, fosfatos e ferro. Muitos cátions de metais pesados também podem formar complexos corados com o reagente cromogénico referido, mas para gerar alguma absorção de luz significativa, teriam que estar presentes em concentrações superiores a  $0.1 \mu\text{M}$ , o que raramente acontece em águas naturais. O ferro interfere formando complexos corados com a maioria dos reagentes cromogénicos usados para o alumínio. Isto conduz a erros positivos, na medida em que os complexos de ferro também absorvem no mesmo comprimento de onda do alumínio. Vários reagentes mascarantes foram propostos para o ferro, sendo o ácido ascórbico um dos melhores reagentes para o efeito. O ácido ascórbico suprime a interferência do ferro até  $5 \text{ mg Fe l}^{-1}$  usando o método Eriocrome cianina R. Os fluoretos interferem formando complexos com o alumínio tão estáveis, que a formação do complexo de alumínio com o reagente cromogénico é impedida. Usando o método ECR, a interferência de  $\text{F}^-$  reduz a sensibilidade em menos de 10%, para concentrações até  $0.5 \text{ mg F l}^{-1}$ . Para concentrações superiores em  $\text{F}^-$ , a interferência aumenta significativamente. Os fosfatos apresentam um mecanismo de interferência semelhante ao dos fluoretos, mas como menos intensidade. O método ECR mostra interferência a partir de  $10 \text{ mg l}^{-1}$  de fosfato [4].

Outros reagentes cromogénicos foram estudados para a determinação espectrofotométrica do alumínio na água: pirocatecol violeta [4 - 8], cromo azurol [7] ou *aluminon* [4]; mas sem mostrarem vantagens em relação ao método ECR [2].

## 2. Significado de Ocorrência

O Alumínio (Al) é o segundo elemento no Grupo IIIA da tabela periódica, tem um número atômico de 13, uma massa atômica de 26,98 e uma valência de 3. É o metal mais abundante na Terra, constituindo cerca de 8% da crosta terrestre e em combinação com sílica e oxigênio, forma feldspatos, micas e minerais argilosos. O alumínio é principalmente minado como bauxite, um mineral contendo cerca de 40-60% de óxido de alumínio (alumina), e também pode ser encontrado como um constituinte normal do solo, plantas e tecidos animais. O alumínio e os seus derivados são usados para permutadores de calor, peças aeronáuticas, materiais de construção, contentores, etc. [3]

Os coagulantes baseados em alumínio tais como o sulfato de alumínio ( $\text{Al}_2(\text{SO}_4)_3$ ), mais conhecido por alúmen, ou o cloreto de polialumínio (PACl), são comumente usados em tratamentos de águas de consumo humano para melhorar a remoção de partículas, colóides, e substâncias dissolvidas por processos de coagulação. O tratamento de águas superficiais com sulfato de alumínio é praticado há mais de cem anos por todo o mundo. O uso de alúmen como coagulante para tratamento de águas geralmente leva a maiores concentrações de alumínio em águas tratadas do que em águas brutas.

Normalmente, a porção de alumínio adicionada à água bruta não é removida durante o tratamento e permanece como alumínio residual na água tratada. A ocorrência de alumínio na água tratada tem sido considerada há muitos anos como um aspecto indesejável da prática de tratamento. Existe uma considerável preocupação por todo o mundo acerca dos níveis de alumínio encontrados nas águas brutas e nas águas tratadas para consumo humano, que surgiu principalmente por duas razões. Primeiro, porque as chuvas ácidas provocam um aumento dos níveis de alumínio nas águas doces. Elevadas concentrações de alumínio nas águas tratadas origina um aumento da turvação, redução de eficiência de desinfecção, e pode precipitar como  $\text{Al}(\text{OH})_3$  durante o percurso da distribuição. Em segundo, existe a possibilidade de uma associação entre o alumínio e doenças neuropatológicas tais como demência pré-senil e a doença de Alzheimer.

O uso de qualquer coagulante contendo alumínio pode aumentar ou diminuir a concentração de alumínio nas águas tratadas dependendo da formação de outras espécies na fonte de água e das condições de tratamento. Contudo, para muitos abastecimentos de água, particularmente onde o alumínio é usado como coagulante, o alumínio total aumenta depois do tratamento. O alumínio total é a soma das frações não solúveis, em suspensão ou coloidais, e das formas monoméricas. A Figura 2.1 mostra as várias frações do alumínio:

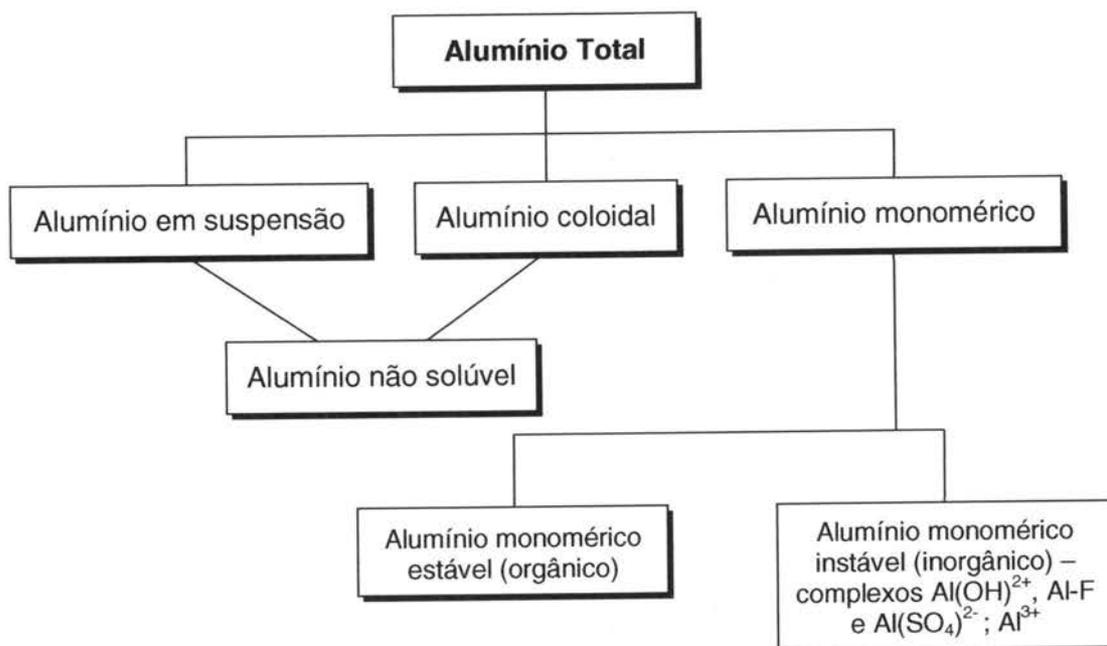


Figura 2.1 – Diagrama de blocos mostrando as várias frações de alumínio <sup>[9]</sup>

O alumínio em águas de consumo humano pode existir numa forma mononuclear como alumínio livre ( $\text{Al}^{3+}$ ) ou pode ser complexado por outros constituintes dissolvidos inorgânicos (como  $\text{OH}^-$ ,  $\text{F}^-$ ,  $\text{SO}_4^{2-}$ ). O presente trabalho estuda apenas a determinação do alumínio livre e dissolvido (alumínio monomérico instável).

A presença de alumínio na água para abastecimentos domésticos é devida à adição de sais de alumínio no decurso da coagulação e floculação no tratamento, ou é causada por um valor de pH baixo ( $\text{pH}=5.5\pm 0.5$ ) de águas superficiais ou subterrâneas.

Tem havido a preocupação sobre o uso de sais de alumínio como coagulantes no tratamento de água potável, uma vez que elevadas concentrações de alumínio na água tratada pode resultar numa variedade de problemas no abastecimento de água. Os problemas de abastecimento de água associados ao aumento da concentração de alumínio na água tratada incluem a formação de um precipitado de alumínio no sistema de distribuição que pode aumentar a turvação e o número de queixas sobre a qualidade da água. A floculação do alumínio no sistema também pode interferir com o processo de desinfecção por envolvimento e protecção dos microorganismos. Outro problema atribuído ao aumento da concentração de alumínio é a deposição de produtos de hidrólise de alumínio nas paredes dos canos, diminuindo assim a capacidade de carga.

A presença de alumínio nas águas de consumo humano tem levantado discussões sobre possíveis efeitos na saúde, por causa de relação suspeita com a doença de Alzheimer ou encefalopatia por diálise. Vários estudos indicaram que animais expostos a alumínio, sobre condições controladas, demonstraram uma correlação entre doenças neuropatológicas e o alumínio. Também ficou demonstrado que doentes de diálise renal sofreram demência quando o dialisado continha concentrações de alumínio de 80 µg/L e que a sua remoção, antes da diálise, diminuiu os sintomas de demência nos pacientes. Doentes de diálise expostos a valores elevados de alumínio podem exibir encefalopatia por diálise e/ou doenças de mineralização dos ossos tais como osteodistrofia por diálise. Contudo, a biodisponibilidade das espécies de alumínio nos humanos não é conhecida e assim não se podem tirar conclusões definitivas destes estudos. Por outro lado sabe-se que, baseado em estudos de toxicidade, formas de  $\text{Al}(\text{OH})_3$  carregadas positivamente, são muito mais tóxicas para o ambiente marinho do que para os complexos orgânicos.

### Regulamentação relativa à concentração do alumínio em águas de consumo humano

Demonstrado já o perigo que elevadas concentrações de alumínio podem constituir para os humanos e não só, foi necessário padronizar valores máximos de alumínio nas águas tratadas. O objectivo desta norma é assegurar a remoção de material coagulado a montante do sistema de distribuição. A Tabela 2.1 mostra os limites adoptados por alguns países para o alumínio nas águas de consumo humano:

Tabela 2.1 – Normas internacionais de qualidade de água para o alumínio em águas de consumo humano <sup>[9-11]</sup>

Organização/ País	Níveis Recomendados (mg/L)	Valor máximo (mg/L)
WHO <sup>1</sup>	0.2	-----
USEPA <sup>2</sup>	0.05	0.2
AWWA <sup>3</sup>	-----	0.2
Finlândia	-----	0.2
Suiça	0.05	0.5
CEE <sup>4</sup>	0.05	0.2
UE <sup>5</sup>	-----	0.2

<sup>1</sup> World Health Organization, <sup>2</sup> United States Environmental Protection Agency, <sup>3</sup> American Waste Water Association, <sup>4</sup> Comunidade Económica Europeia [10], <sup>5</sup> União Europeia [11]

À excepção do valor de concentração máximo do alumínio estabelecido pela União Europeia, todos os valores indicados na tabela são indicativos e não normativos.

Estes valores não são baseados na importância do alumínio para a saúde, mas proporcionam um bom compromisso entre o uso de sais de alumínio e a eficácia do tratamento da água distribuída.

### 3. Reagentes Utilizados

a. *Solução Padrão de Alumínio*

b. *Solução de ácido ascórbico*: Dissolver 0.1 g de ácido ascórbico em água e perfazer até 100 mL.

c. *Reagente tampão*: Dissolver 136 g de acetato de sódio,  $\text{NaC}_2\text{H}_3\text{O}_2 \cdot 3\text{H}_2\text{O}$ , em água, adicionar 40 mL 1N e diluir até 1 L.

d. *Solução corada de stock*: Dissolver 150 mg de eriocrome cianina R em cerca de 50 mL de água. Ajustar o PH de cerca de 9 até 2.9 com 1 + 1 de ácido acético. Diluir com água até 100 mL.

e. *Solução corada de trabalho*: Diluir 10 ml da solução de stock até 100 mL num balão volumétrico.

Os reagentes usados foram adaptados do *Standards Methods for the Examination of Water and Wastewater* [3].

## 4. Automatização e Determinação

### 4.1. FIA

A sempre crescente necessidade de análises em vários tipos de controlo analítico tais como a indústria, indústria farmacêutica, agricultura, análises clínicas e outros, deu origem ao desenvolvimento de um largo número de diferentes instrumentos para análises automáticas. Os desenvolvimentos neste campo foram ainda mais estimulados pelas adicionais vantagens da automação, tais como o aumento na precisão, a diminuição do custo de cada ensaio, e a satisfatória confiança do equipamento automatizado [12].

A análise por injeção em fluxo (FIA, do inglês *flow injection analysis*) foi proposta em 1975 por Růžička e Hansen [12]. Na altura, tinha sido estimado que o mercado para instrumentos automatizados para análise química, iria adquirir uma taxa de crescimento anual de 15%, em comparação com o crescimento de 9% de outros tipos de instrumentação analítica. Os numerosos instrumentos fabricados e direccionados para análise de um largo número de amostras podiam ser divididos em dois grupos: analisadores discretos e os analisadores em fluxo contínuo.

Nos analisadores descontínuos (robôs), cada amostra é colocada num recipiente individual e permanece, pelo menos, o tempo do procedimento analítico. Este tempo pode compreender adições discretas de tampões e reagentes, diluições, aquecimentos, etc. a predeterminados pontos do ciclo analítico, até que a amostra tratada chegue à célula colorimétrica ou outro qualquer detector. Até esse ponto, o carácter individual de cada amostra é estritamente preservado.

Outro tipo de sistema é o analisador *stop-flow*, e é pelo seu conceito e construção parecido com o analisador *batch*. Neste sistema, ambas as amostras e reagentes são rapidamente misturados por injeção para uma câmara de mistura da qual a mistura reaccional é forçada a entrar numa célula de absorção. O fluxo é abruptamente parado e a absorvância da solução é medida, antes de a célula ser lavada.

Nos analisadores de fluxo contínuo, as amostras são sucessivamente aspiradas dos seus recipientes individuais para um tubo, através do qual se movem, até a análise estar completa. As amostras tornam-se parte de uma corrente que continuamente se move, para o qual, a determinados pontos reagentes são adicionados a caudais constantes. A corrente finalmente passa através da célula do espectrofotómetro, ou outro aparelho de medição, onde a medição quantitativa é executada e o sinal continuamente gravado. O movimento de todos os líquidos dentro dos tubos dos analisadores de fluxo contínuo é controlado por uma bomba peristáltica que também é responsável pela aspiração das amostras. É a versatilidade dos analisadores de fluxo contínuo a responsável do seu largo uso: as amostras podem ser separadas para múltiplas análises, e a corrente transportadora pode ser dialisada, extraída, filtrada, aquecida, decantada e até destilada. A maior desvantagem deste conceito, é que cada amostra está sujeita a contaminação da amostra precedente. Além do mais, a contaminação aumenta à medida que a velocidade de amostragem aumenta por causa do curto espaço de tempo entre amostras. Foi, contudo, a introdução de correntes de ar segmentado por Skeggs em 1957 que tornou análise de fluxo contínuo praticável [12].

Em FIA é sugerido que um pequeno volume de amostra é injectado rapidamente numa corrente transportadora de reagente, em fluxo turbulento, Deste modo, no ponto de injeção, a solução de reagente será empurrada e formar-se-á uma zona de amostra que será, então, processada e levada até à célula do detector. A praticabilidade desta ideia dependerá dos seguintes factores [12]:

- a) Reprodutibilidade do volume da amostra e da velocidade de injeção;
- b) Reprodutibilidade do movimento da amostra dentro dos tubos do analisador, e grau de perturbação reprodutível proveniente do percurso e adição de mais reagentes a jusante;
- c) Suficiente e reprodutível mistura de cada amostra com o reagente contido na corrente transportadora.

O conceito de tempo de residência (período de tempo compreendido entre a injeção e a detecção), o qual constitui um dos parâmetros que caracterizam os sistemas FIA, permite avaliar o ritmo analítico dos mesmos. Para o desenho e construção de montagens FIA é necessário seguir seis regras [13]:

- 1<sup>a</sup>. A diminuição do caudal de escoamento no percurso tubular conduz a uma diminuição na dispersão da amostra;
- 2<sup>a</sup>. Em percursos tubulares longos, acomodando um grande número de estados de mistura, obtêm-se gradientes de concentração simétricos;
- 3<sup>a</sup>. As montagens de fluxo contínuo, além das indicações do tamanho dos percursos tubulares e do diâmetro e do caudal de escoamentos de cada canal, deverão ser complementadas com a indicação de tempo de residência;
- 4<sup>a</sup>. A dispersão limitada da amostra é obtida através da injeção de um volume reduzido num escoamento com um caudal mínimo, o qual flui através de um percurso tubular o mais curto possível e com 0.4 mm de diâmetro interno;
- 5<sup>a</sup>. Num percurso tubular, a dispersão da zona da amostra aumenta com o caudal de escoamento e com a raiz quadrada da distância percorrida ou do tempo de residência.
- 6<sup>a</sup>. A dispersão da amostra, causada pelo escoamento, deverá ser sempre mantida o mais baixa possível, recorrendo a isso a percursos tubulares curtos e com uniformidade de diâmetro. A diluição de amostras muito concentradas é melhor conseguida através da injeção de volumes reduzidos destas.

Estas regras decorrem da interpretação da influência de variáveis hidrodinâmicas como a velocidade de escoamento dos líquidos, o comprimento e a geometria dos percursos tubulares e o volume de injeção, sobre o tempo de residência, dispersão da amostra, perfil dos sinais analíticos e ritmo analítico das montagens.

Um marco importante na evolução do FIA foi a introdução, em 1979, do modo de paragem de fluxo [14], segundo o qual o escoamento é parado aquando da passagem pelo detector da zona da amostra previamente dispersa

no reagente, registando-se a variação do sinal analítico que ocorre no decorrer das reacções analíticas. A combinação da paragem do escoamento com o princípio das zonas coalescentes [15] permitia a realização de determinações de cinética enzimática com as vantagens inerentes aos métodos de fluxo contínuo. Desde logo, o escoamento não necessitava de ser constante, mas apenas reproduzível de determinação em determinação.

Embora no início da década de 80 ainda se debatesse a viabilidade da realização de determinações na ausência de equilíbrio químico as potencialidades da técnica FIA tinham já sido demonstradas em quase 100 artigos científicos provenientes de diferentes grupos de investigação de diversos países do Mundo tais como a Dinamarca, o Brasil, o Reino Unido, a Holanda e a Suécia. Apesar da sua juventude, os conceitos associados de reprodutibilidade e de controlo de dispersão estavam já muito fundamentados pelas aplicações da técnica nas áreas da química clínica, dos produtos farmacêuticos, da agricultura e do ambiente. Adicionalmente, tinha-se demonstrado a sua versatilidade de adaptação às infra-estruturas laboratoriais através da facilidade com que se acoplava a diversas técnicas instrumentais como a espectrofotometria de UV/VIS e de absorção atómica, a potenciometria, a voltametria, a amperometria, a condumetria, e a fluorimetria. As diferentes montagens FIA eram classificadas de acordo com a dispersão da amostra em montagens de pequena, média e grande dispersão e o seu coeficiente foi proposto por J. Růžicka e E. H. Hansen [16].

A dispersão é dada pelo símbolo  $D$ , representando a razão entre a concentração inicial da amostra  $C^0$  e a concentração no detector  $C$ , e apresenta, como é evidente, um valor superior a um. Há dois processos que contribuem para a dispersão. O primeiro é o fluxo laminar gerado por queda de pressão em tubos abertos, o qual causa um perfil de fluxo parabólico onde a amostra perto das paredes está estacionária e a amostra no centro move-se a duas vezes a velocidade média. Quanto mais comprido for o tubo por onde a amostra passa, mais dispersa esta fica. Na ausência de difusão, a amostra será encontrada ao longo de todo o comprimento do tubo. A outra fonte de dispersão é a difusão, que pode actuar de duas maneiras: primeiro, a difusão ao longo do comprimento do tubo actua de modo a diluir e dispersar a amostra; segundo, a difusão na direcção radial actua de modo a relaxar o perfil

parabólico. A Figura 4.1 mostra o perfil da dispersão ao longo de um tubo. A amostra é injectada com uma concentração  $C_0$ , e a porção da amostra no centro do tubo move-se para jusante mais rapidamente, enquanto que a amostra na parede do tubo está estacionária. A difusão actua de modo a relaxar o perfil de concentração numa função gaussiana. A dispersão causa um aumento na área do pico e uma diminuição na sua altura [17].

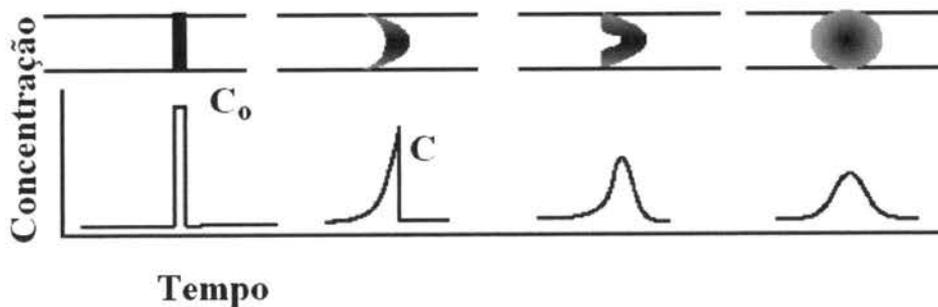


Figura 4.1 – Perfil de dispersão ao longo de um tubo [17]

A dispersão é muito importante a elevados caudais, em colunas longas, e para pequenos volumes de amostras. Nestes casos, o perfil de fluxo parabólico é muito importante. Se uma amostra é para ser misturada com reagente, é desejável uma elevada dispersão. Uma dispersão de dois corresponde a uma diluição da amostra por um igual volume de solvente. Noutros casos, é desejável uma pequena dispersão. Por exemplo, amostras podem ser sequencialmente injectadas para um espectrofotómetro ICP, gerando um conjunto de vários picos. Neste caso, o sistema é projectado para manter  $D < 3$  [17].

Como limitações da técnica FIA apontava-se uma perda potencial de sensibilidade decorrente do facto das medidas analíticas se realizarem antes de se atingir o equilíbrio e o carácter semi-empírico na concepção e construção das montagens. Este sentimento prevalecia sobretudo pelos esforços diversos para teorizar os fenómenos inerentes à técnica, particularmente em relação ao conhecimento da dispersão e ao seu controlo, através de modelos determinísticos de difícil aplicação [18]. Posteriormente, veio a demonstrar-se que a sensibilidade pode ser diminuída ou aumentada consoante as

necessidades e os objectivos, alargando-se ainda mais a aplicabilidade da técnica relativamente às concentrações das espécies a determinar.

Durante a década de 80, a técnica FIA assumiu um crescente protagonismo no seio da química analítica. No início da década aposta-se fortemente na miniaturização e compactação das montagens divulgando conceitos como o *microFIA* – sistemas em que os reactores são impressos em bloco de material plástico e, as funções de injeção e detecção são miniaturizadas; e os sistemas denominados prosaicamente de *máquina de escrever* – sistemas em que o conjunto dos componentes (propulsor, injector, reactores e detector) são compactados num volume equivalente a uma máquina de escrever. Valoriza-se a exploração dos gradientes de concentração com propósitos de calibração simplificada, varrimento espectral de diferentes gradientes, determinações cinéticas, e métodos de interpenetração de gradientes de duas zonas [19,20]. Distinguem-se sistemas com determinações homogéneas baseados em reacções de complexação, oxidação-redução, catalíticas ou enzimáticas; dos sistemas heterogéneos, os quais se baseiam em técnicas com a difusão de gases, a diálise, a precipitação, o uso de resinas de troca iónica ou de enzimas imobilizadas [21]. O sentimento dominante é o de que ainda há muito por explorar e desenvolver uma vez que o objectivo de uma nova abordagem analítica não é apenas fazer melhor, mas também fazer de maneira diferente.

O número de publicações em todo o mundo eleva-se a dois milhares no fim da década de reflectindo o crescimento significativo na utilização desta técnica. A definição de FIA é também revista e actualizada com a publicação da segunda edição da monografia de Růžička e Hansen [18]. De acordo com estes autores, a técnica FIA consiste na recolha de informação de um gradiente de concentração numa zona bem definida de fluido, que decorre da intercalação da amostra e da sua dispersão num transportador, não segmentado, em movimento contínuo (Tabela 4.1). A técnica FIA não tem limites na sua aplicação e utilidade a não ser a própria imaginação e capacidade inventiva do investigador ou químico analítico, deixando em aberto para a presente década uma vastidão de possibilidades a explorar.

Tabela 4.1 – Evolução de análise por injeção em fluxo

<b>Autores</b>	<b>Ano</b>	<b>Definição</b>	<b>Ref.</b>
Růžička e Hansen	1975	Análise em fluxo contínuo baseada na injeção da amostra, através de um septo, num escoamento líquido não segmentado, com elevado caudal.	12
Růžička e Hansen	1978	Análise em fluxo contínuo baseada na exploração dos perfis de concentração que se formam quando um volume de amostra é intercalado num escoamento de líquido não segmentado e transportado em direcção ao detector.	13
Růžička e Hansen	1981	Técnica de microquímica, automática e capaz de atingir um ritmo analítico de pelo menos 100 determinações por hora.	33
Růžička	1982	Injeção de uma zona definida de uma amostra líquida num escoamento não segmentado, o qual transporta a zona de amostra em direcção ao detector onde, um valor de absorvência, potencial de eléctrodo ou outro parâmetro físico é registado de forma contínua variando com a passagem da zona de amostra pela célula de fluxo.	34
Stewart	1983	Sistema de medida cinético no qual a mistura dos componentes habitualmente não é completa e cujos perfis de concentração axiais e radiais são funções dependentes do tempo.	35
Mottola	1986	Abordagem do processamento da amostra e/ou reagente num fluxo contínuo a qual evita a segmentação e permite o controlo da dispersão.	36
Horvai e Pungor	1987	Análise em fluxo não segmentado, num reactor tubular, linear ou enrolado, cuja introdução da amostra é feita por um sistema injector.	37
Růžička e Hansen	1988	Recolha de informação de um gradiente de concentração, numa zona bem definida de fluido, que decorre da intercalação da amostra e da sua dispersão num transportador, não segmentado, em movimento contínuo.	18
Fang	1992	Técnica de fluxo contínuo, não cromatográfica, efectuada por manipulação reprodutível de zonas de amostra e reagentes num escoamento líquido, sob condições de ausência de equilíbrio termodinâmico.	38
Van der Linden	1994	Sistema de fluxo contínuo não segmentado com injeção da amostra e/ou reagente.	24

Todo o processo evolutivo descrito até aqui não foi sempre pacífico e os adeptos desta técnica tiveram algumas vezes de se confrontar com críticas menos positivas e opiniões pouco claras na sua intenção. Assim mesmo, os anos 90 permitiram a consolidação e afirmação do FIA como instrumento analítico de estudo e versatilização de processos químicos [22]. Em meados desta década, a *International Union of Pure and Applied Chemistry* (IUPAC) recomendou o agrupamento da análise por injeção em fluxo e da cromatografia líquida na mesma categoria, classificada como método de análise em fluxo com amostragem intermitente e aspiração da amostra. Este aspecto tinha sido salientado por Růžicka e Christian em 1990 [23] ao sugerirem a aproximação, em termos teóricos, dos conceitos associados ao FIA e à cromatografia líquida. Segundo estes autores, o facto de ambas as técnicas pressuporem a intercalação de um segmento de amostra num escoamento líquido não segmentado permite a partilha de muitos dos postulados teóricos desenvolvidos para cada uma das técnicas, nomeadamente no que diz respeito aos diferentes modelos matemáticos de caracterização da dispersão e à derivatização química *post* coluna.

Com a vulgarização da utilização dos computadores, quer na recolha e tratamento de dados, quer no controlo das montagens estabelecidas [24], e com o surgimento de conceitos como a análise em fluxo monossegmentado (MCFA), a recolocação do detector (*multi-site detection*) e a técnica de sanduíche, continuam a alargar-se os horizontes da análise por injeção em fluxo [22,25]. Não obstante estes progressos, as montagens FIA poderão ainda ser melhoradas em alguns pontos. Assim, a preparação de reagentes e/ou padrões em linha, e o desenvolvimento da capacidade, por parte destas montagens. De detecção e de compensação de falhas poderão ser alvo de estudos futuros.

Em conclusão, pode referir-se que os sistemas analíticos baseados na técnica FIA são geralmente simples e dotados de uma enorme capacidade de adaptação a diversos propósitos analíticos. Os custos económicos associados a estas montagens estão significativamente diminuídos, fruto do recurso a equipamento barato e da economia dos reagentes características destes sistemas [26]. O facto de a sua implantação traduzir uma redução da

participação humana nos processos analíticos contribui para a redução dos custos além de favorecer uma componente essencial destes sistemas que é a sua elevada reprodutibilidade. Os ritmos analíticos conseguidos são habitualmente elevados, sempre superiores aos conseguidos pelos métodos discretos e muitas vezes maiores que os conseguidos por outras propostas de automatização [26]. Por último, são passíveis de ser acoplados à maioria dos sistemas de separação ou detecção melhorando os processos de tratamento e análise dos diferentes tipos de amostras [27], possibilitando a monitorização em linha de processos industriais [28] e a monitorização *in situ* de parâmetros indicadores de qualidade ambiental [29].

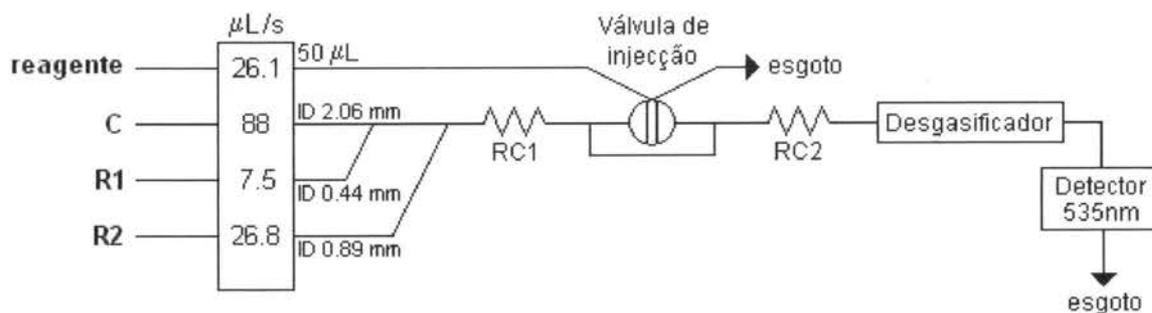
O interesse que esta técnica tem suscitado, desde que foi proposta em 1975, tem vindo a aumentar progressivamente. Efectivamente, o ritmo de publicações que lhe são dedicadas é muito elevado (mais de duas publicações por dia) e foi editada uma revista (*Journal of Flow Injection Analysis*) inteiramente subordinada a este tema. De igual modo, foram editadas 3 monografias de índole geral [18,30,31] e uma dedicada a um sistema de detecção (espectrofotometria de absorção atómica) [32], e foi criado um congresso mundial (*Internacional Conference on Flow Analysis*), o qual se tem realizado regularmente desde 1979.

#### 4.1.1. Equipamento e Montagem

O equipamento do sistema FIA (ver Figura 4.2) é constituído por uma bomba peristáltica Ismatec modelo ISM827, que propulsiona as correntes de reagentes e amostra, ou padrões, através de tubos Tygon® de vários diâmetros, consoante o caudal a debitar. Neste sistema, a corrente transportadora (C) é de amostra, ou padrão, onde é misturado o agente mascarante de ferro (R1) e, através de outra junção, é misturado o tampão (R2). A corrente passa através de um solenóide que comuta por um período de tempo de dois segundos, de modo a injectar o reagente cromogénico. A corrente passa ainda por dois reactores em serpentina para o desenvolvimento completo da cor e por um desgasificador, de modo a retirar quaisquer bolhas de ar que possam estar presentes na corrente, e assim não produzir picos de ar.

A absorvência é medida por um detector fotométrico, que incorpora um LED verde de modo a medir a um comprimento de onda de 535 nm, com um percurso óptico de 3 cm. A aquisição de dados e controlo da aparelhagem foi adquirida usando uma placa de interface (modelo 6023) e terminadora (modelo TBX-68) da *National Instruments*. O sinal analógico é então transmitido para um computador onde é lido através de um programa construído em *LABview*.

O sistema FIA óptimo é mostrado na Figura 4.2. Os caudais são de 88  $\mu\text{L/s}$  para a corrente transportadora, de 7.5  $\mu\text{L/s}$  para R1, de 26.8  $\mu\text{L/s}$  R2, e de 26.1  $\mu\text{L/s}$  para o reagente corado. Os caudais estão em proporção com as quantidades em volume referidas pelo *Standards Methods for the Examination of Water and Wastewater* [3]. Os diâmetros internos dos tubos são de 0.44 mm para R1, 0.89 mm para R2 e 2.06 mm para C. É injectado 50  $\mu\text{l}$  de reagente corado. Os volumes dos reactores são de 601  $\mu\text{l}$  (RC1) e 570  $\mu\text{l}$  (RC2) e são feitos de tubos PTFE 0.75 ID.



**Figura 4.2** – Sistema FIA óptimo para determinação do alumínio (III) pelo método ECR: C, corrente transportadora; R1, ácido ascórbico; R2, tampão; RC1 e RC2, reactores em serpentina.

#### 4.1.2. Optimização da Montagem

Uma abordagem para a monitorização contínua da qualidade da água usando análise por injeção em fluxo é o recurso a um sistema de injeção do reagente. Isto tem a vantagem de minimizar o consumo de reagente, usando como corrente transportadora a água de análise, a qual existe em grande quantidade e é económica [6].

Várias variáveis foram seleccionadas como as mais importantes para a optimização, tais como o número de reactores, o volume (tempo de injeção) do reagente corado, os caudais das correntes (velocidade de rotação da bomba) e a concentração do eriocromo cianina R.

- O tempo de injeção do reagente variou entre dois a 3 segundos, o que corresponde a volumes de 50 e 80  $\mu\text{L}$ , respectivamente;
- O número de reactores variou entre um, dois e três, o que corresponde a um volume de 601, 1171 e 1791  $\mu\text{l}$ , respectivamente;
- A velocidade de rotação da bomba variou entre 30 a 45 rot/min;
- A concentração do reagente variou entre 0.6 e 1.2 g/L.

Verificou-se, então, que o sistema responde melhor quando é usada a solução de reagente mais concentrada, mas com um tempo de injeção mais curto (menor volume injectado). Como a cinética da reacção é lenta, os resultados obtidos foram melhores quando se usaram dois reactores, porque deste modo aumentou-se o tempo de residência, e consequentemente a intensidade da cor a ser medida, e para reactores maiores (usando 3 reactores) o efeito diluição/difusão iria se sobrepor à cinética da reacção originando calibrações não lineares. Quanto ao caudal, optou-se por um intermédio, uma vez que ao usar um caudal baixo, a diluição da corrente aumentaria (e com ela a dispersão), o que produziria resultados abaixo dos esperados; por outro lado, caudais elevados implicam um aumento da velocidade, diminuindo o tempo de residência, o que originaria uma diminuição de sensibilidade do método, principalmente para concentrações mais elevadas, uma vez que não houve tempo suficiente para o desenvolvimento de cor.

As condições ótimas para este sistema estão apresentadas na Tabela 4.2.

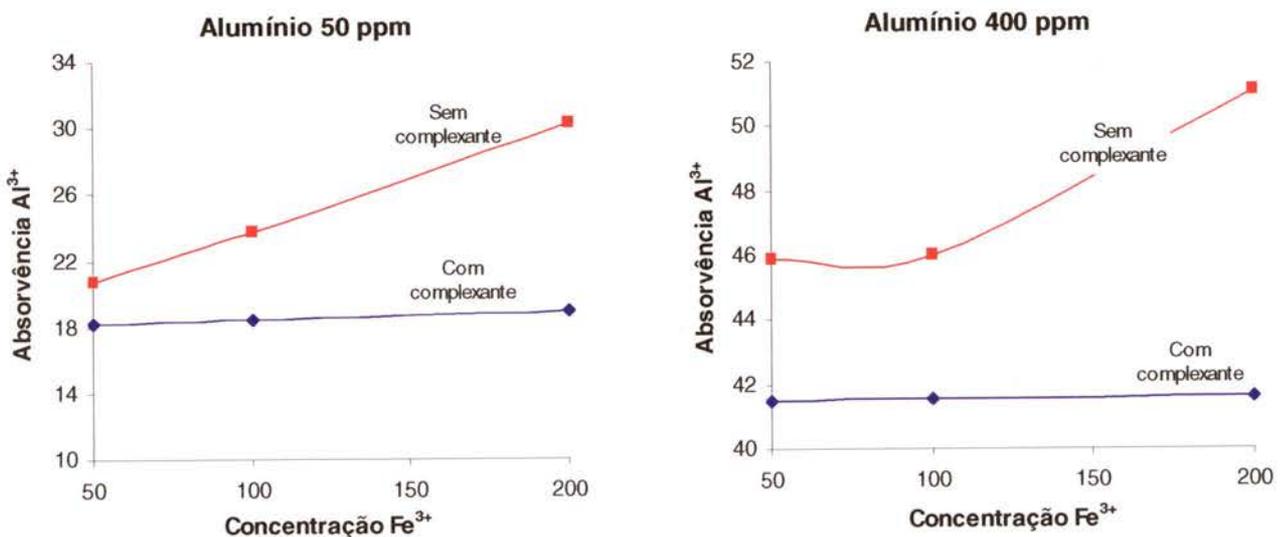
**Tabela 4.2 – Condições ótimas do sistema**

<b>Variável</b>	<b>Condição óptima</b>
Tempo de injeção (s)	2
Volume de reactores em serpentinas ( $\mu\text{L}$ )	1171
Caudal da bomba ( $\text{rot min}^{-1}$ )	35
Concentração do reagente ( $\text{g L}^{-1}$ )	1.2

#### 4.1.3. Estudo de Interferentes

Potenciais interferências na determinação do alumínio por reagentes cromogênicos foram descritos por Royset [4,8]. A interferência mais significativa na maioria das águas potáveis e tratadas é o ferro (III), que é a espécie de ferro predominante nas águas superficiais [6].

Neste trabalho o agente mascarante usado foi o ácido ascórbico, necessário para eliminar a interferência do ferro (III). A interferência do ferro (III) foi estudada, analisando amostras com e sem ácido ascórbico. Foram, então, adicionadas quantidades de ferro (III) até 200  $\mu\text{g/L}$ , uma vez que é a concentração máxima estipulada por lei [11], e lida a absorvância das amostras. Os resultados estão registados nas figuras abaixo:



**Figura 4.3** – Valores lidos de absorvância do alumínio (III), com e sem agente complexante, vs. concentração do Ferro (III)

Verificou-se que, para valores de alumínio de 50 ppb, a concentração lida aumenta, no máximo, cerca de 12%, quando a concentração de ferro é de 200 ppb. Por outro lado, sem o agente complexante ácido ascórbico, este valor pode aumentar cerca de 70%, como se mostra no primeiro gráfico de 4.3. Para valores de alumínio de 400 ppb, o ferro praticamente não interfere, sendo que a absorvância lida pode aumentar no máximo 3%. Sem agente complexante, este valor pode aumentar cerca de 25%.

4.1.4. Resultados

Sensibilidade

Os gráficos da calibração são mostrados nas figuras seguintes 4.4 e 4.5. Verificou-se que há linearidade dos 50 aos 400  $\mu\text{g/L}$ , mas é dentro da gama 50-300 que apresenta melhores resultados, com um coeficiente de correlação de 0.994.

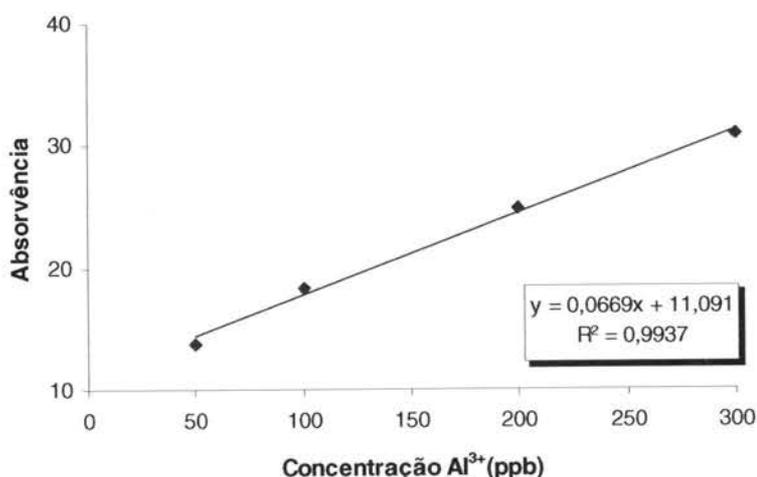


Figura 4.4 – Curva de calibração Absorvência vs. Concentração alumínio (III) na gama 50-300 ppb

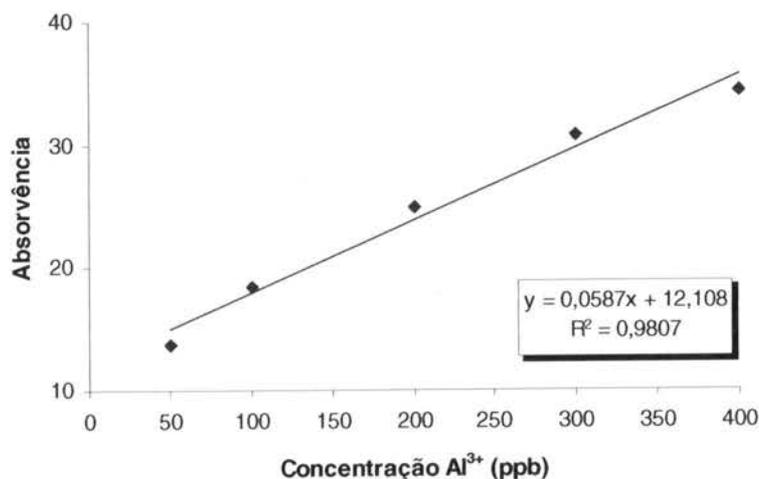


Figura 4.5 – Curva de calibração Absorvência vs. Concentração alumínio (III) na gama 50-400 ppb

## Reprodutibilidade

O método apresenta um coeficiente de variação entre os 1-2% para concentrações do alumínio entre o 50-400 µg/L. Os valores dos limites de confiança e coeficiente da variação para cada padrão estão apresentados na tabela seguinte:

Tabela 4.3 – Avaliação da qualidade dos resultados fornecidos pelo método

<b>Padrão (ppb)</b>	<b>Limites de confiança a 95%</b>	<b>Concentração (ppb)</b>	<b>Coeficiente de Variação %</b>
<b>50</b>	13.806 ± 0.333	50 ± 1.2	1.207
<b>100</b>	18.362 ± 0.502	100 ± 2.7	1.367
<b>200</b>	24.883 ± 0.696	200 ± 5.6	1.399
<b>300</b>	30.794 ± 1.297	300 ± 12.6	2.106
<b>400</b>	34.301 ± 0.375	400 ± 4.4	0.547

#### 4.2. SIA

Embora o FIA seja uma técnica laboratorial bem sucedida e uma versátil ferramenta para melhorar o campo da análise instrumental, a sua aplicação ao controlo de processos, ainda que crescendo, tem sido dificultada pelo uso de complexos esquemas de fluxo, que necessitam do uso de bombas multi-canais e esquemas de tubagem. Estes instrumentos funcionam bem no laboratório, mas não são inteiramente aceites no ambiente industrial. Consequentemente, foi iniciado um programa de pesquisa no Centro para Processos Químicos Analíticos da Universidade de Washington, dedicado ao desenvolvimento e estudo de um sistema de injeção de fluxo *single-line* com injeção dupla e fluxo por pulsos. Mais recentemente, foi mostrado que o caudal constante, que tem sido considerado o alicerce de ambas as técnicas de injeção de fluxo e cromatografia, pode ser substituído por fluxo sinusoidal com injeção sincronizada, e deste modo abrindo a possibilidade do uso de uma bomba de seringa e parafuso excêntrico, que é mais adequada para aplicações industriais [39].

As consequências conceptuais destes desenvolvimentos técnicos são interessantes, como a substituição de fluxo constante por uma variável programada de fluxo que leva à reconsideração do papel do transporte de fluxo num sistema de injeção em fluxo [39].

O uso de um padrão de fluxo, em vez de fluxo constante e monótono, necessita de sincronização da injeção da zona da amostra com o início de cada ciclo de fluxo. Sendo assim, é necessário conceber uma configuração do sistema que permita injeção da zona de amostra, adição de reagente, mistura, medida e ejeção da mistura reaccional por uma combinação de avanços e reversões do fluxo. Estes passos podem ter diferentes extensões, durações e velocidade, desde que sigam sempre o mesmo padrão. Existem claramente muitas combinações possíveis da extensão e número dos passos, mas se o padrão for estritamente reproduzível em cada ciclo de medição, a dispersão da zona da amostra, sendo composta por várias variâncias individuais, será sempre a mesma, assim como o tempo de reacção. Adquirir um fluxo absoluto nulo não é, evidentemente, prático, mas o consumo de amostra e reagente

pode ser drasticamente reduzido. O sistema de fluxo pode ser bastante eficiente se as dispersões mútuas das zonas de amostra e reagentes forem constantes, e a reacção para produzir espécies detectáveis e a consequente detecção ocorrerem na mesma secção do sistema de fluxo [39].

A Análise por injeção sequencial (SIA, do inglês *Sequential Injection Analysis*), nasceu dos conceitos atrás referidos, e foi introduzida em 1990 por Růžička e Marshall [39,40], sendo um simples e conveniente conceito de análise por fluxo. Quando a investigação de FIA se orientou para a exploração de gradientes de concentração formados pelo processo de dispersão, novas técnicas usando *stopped-flow*, fluxo sinusoidal, injeção de reagente (FIA reverso), injeção sequencial, e calibração de uma única solução foram desenvolvidas. A transformação de FIA em SIA significa o reconhecimento de uma grande versatilidade deste método, originalmente designado como uma mera ferramenta para automação de ensaios em série [41].

Com a introdução de SIA, são também aplicáveis os mesmos parâmetros básicos para injeção em fluxo, na medida em que são usados os mesmos componentes, apenas com algumas alterações menores. SIA é mecanicamente mais simples do que a injeção em fluxo uma vez que só usa uma única bomba, uma única válvula e um único canal. O SIA usa uma válvula de selecção, em vez de injeção, através do qual volumes, precisamente medidos, de amostra e soluções de reagente são aspirados para um *holding coil* por meio de uma bomba que seja capaz de fazer movimentos precisos e controlados de *stop-go-forward-reverse* [41]. Um equipamento básico SIA é mostrado na figura seguinte:

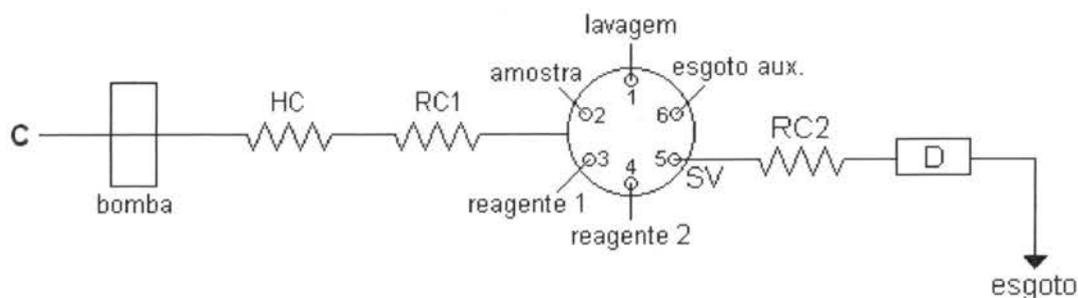


Figura 4.6 – Esquema de um SIA. C, transportador; HC, *holding coil*; RC, *reaction coil*; SV, válvula de selecção; D, detector [41]

Foram usados, principalmente, quatro diferentes tipos de transportadores de líquidos em SIA. Artigos que lidaram com as suas aplicações usaram uma bomba de fluxo de pistão sinusoidal, especialmente desenhada para SIA [42,43]. Com esta bomba, o caudal é dependente do ângulo de rotação, do raio da bomba, da engrenagem, e da frequência da bomba. As repetibilidade e reprodutibilidade são boas, mas é difícil manter um caudal constante durante a análise. Outras bombas usadas em SIA são as bombas peristálticas, que são ainda mais adequadas quando usadas com tubagem de *Neoprene* [41]. Buretas automáticas que sejam programáveis por computador e tenham velocidade variável são principalmente usadas pelo grupo espanhol [44]. Outro tipo de bombas usadas em SIA é a electro-osmótica, que é descrita como sistema de bombagem ideal para este método, por causa da sua direcção de fluxo ser rapidamente invertida e o seu caudal pode ser mantido com elevado grau de reprodutibilidade [41].

Por ultimo, uma outra contribuição valiosa foi dada pelo grupo da Universidade de Washington que exploraram novos sistemas de sensores, alargando tremendamente o alcance do SIA e abrindo novos horizontes no campo de análise de fluxo.

Seguindo o primeiro passo da sequência das zonas, durante a qual a amostra e reagentes são acumuladas nas condutas da *holding coil* adjacentes a cada uma, a válvula é mudada para a posição do detector (ver Figura 4.7A). No passo seguinte, o fluxo é revertido para que as zonas acumuladas sejam propulsionadas, através da válvula, do reactor ao detector (Figura 4.7B). Como o centro do fluido se move a uma taxa do dobro da velocidade média, enquanto que os elementos do fluido mais adjacente às paredes movem-se a taxas inferiores, os núcleos das zonas sequenciadas penetram em cada uma das zonas. Durante este movimento, a reversão do fluxo cria uma região complexa dentro da qual o analito é transformado numa espécie detectável (Figura 4.7C). Um requisito fundamental ao bom desempenho do SIA, é a interpenetração máxima das zonas através de um aumento deliberado da dispersão axial, obtido por meios de inversão de fluxo e do desenho das tubagens.

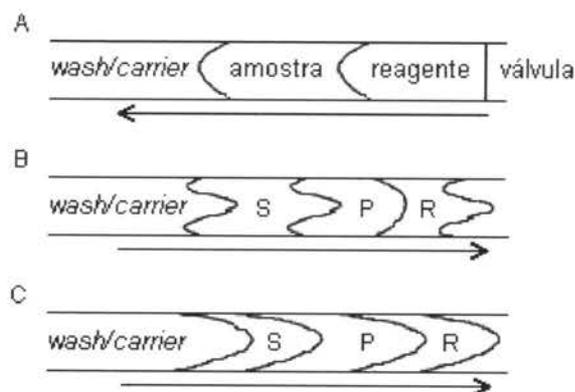


Figura 4.7 – Perfis do fluxo das zonas sequenciadas (A) e injectadas [(B) imediatamente depois da inversão do fluxo; (C) no *reactor coil*]. S, amostra; R, reagente; e P, zona do produto formado <sup>[41]</sup>

A dispersão reprodutível é a base para análise pelos métodos de injeção de fluxo, e é o resultado de todas as forças físicas que actuam nas zonas injectadas. A dispersão descrita para o FIA é também aplicável num analisador SIA e foi descrita na secção 4.1. No entanto, o modelo *random walk* foi também usado para descrever dispersão num canal dum analisador SIA, por Růžička e Marshall [39]. Segundo estes, existem dois factores principais que causam o movimento das moléculas e o espalhamento da zona: um interno, que é simétrico e causado pela difusão molecular; o outra é externo e é causado pelo fluxo imposto no líquido que transporta a zona através do sistema. Se o fluxo é unidireccional, e se a difusão molecular e/ou transferência de massa radial (causada por *coiling* ou *packing* da tubagem) não compensa o resultado assimétrico originado pelo fluxo Newtoniano, o perfil de concentração resultante assimétrico [39].

Embora Růžička e Gübeli [42] tenham dito que “para uma configuração racional de um analisador por injeção sequencial, o grau da dispersão da amostra tem que ser considerado como o principal elemento da configuração”, a penetração da zona (relacionada com a dispersão) é o parâmetro chave, e o controlo deste é essencial para a execução bem sucedida da injeção sequencial [45]. A importância da penetração da zona pode ser descrita como o impacto dramático que a sua influência tem na área superficial, sobre o qual o gradiente de concentração existe e por isso a mistura radial acontece.

Embora se diga que o SIA é simplesmente uma variação do FIA, existem algumas diferenças fundamentais no uso e controlo dos parâmetros operacionais usados em SIA. O maior desafio é a teoria da dinâmica dos fluidos, que conduz à optimização do sistema de fluxo baseado em paragens e inversões do fluxo. Quando aplicada a técnica da injeção sequencial, é imperativo perceber os princípios em que se baseia de modo a proceder às subsequentes análises. A extensão da dispersão que o pico do produto sofrerá, é essencialmente influenciada pelos parâmetros operacionais que governam a hidrodinâmica do SIA.

Os seguintes parâmetros mostraram afectar significativamente na dispersão das zonas num sistema FIA: o caudal volumétrico, diâmetro do tubo, comprimento do trajecto do fluido da injeção ao detector, volumes da amostra e reagentes, ordem da injeção da amostra e reagentes, inversão do fluxo, e, embora menos importante, a geometria do reactor. De modo a avaliar a influência de cada parâmetro, um corante não reactivo foi usado como amostra e reagente respectivamente, numa série de experiências [41].

O *caudal volumétrico* inclui ambos os caudais de carga e saída e é também referido como o efeito combinado da velocidade da bomba e do diâmetro interno da tubagem da bomba, quando é usada uma bomba peristáltica. Na correlação com a expressão de Vanderslice,  $D=k' \cdot q$ , onde  $q$  é o caudal em ml/min, a dispersão das diferentes zonas diminui à medida que o caudal é aumentado. O coeficiente de dispersão diminui com o aumento do caudal na medida em que o tempo de residência diminui, com o aumento do caudal. Existe uma relação linear entre a velocidade de bomba e o caudal; por isso, o caudal pode ser alterado modificando a velocidade da bomba. A elevados caudais, a deterioração da sensibilidade e reprodutibilidade é observada devido à elevada contra pressão. É preferido que o caudal de carga seja mais rápido que o caudal de saída do modo a garantir elevada frequência amostral, desde que a bomba o permita.

O *comprimento da tubagem* é sugerido pelos requerimentos experimentais. Tubagens longas levam a maiores tempos de residência e por isso, maior tempo de reacção originando uma maior dispersão.. O nível da mistura (número de pratos ou tanques) é definido como o comprimento médio do tubo usado para cada etapa de mistura [41].

Em SIA, as tubagens estão divididas em duas partes: a serpentina de retenção (em inglês, *holding coil*), que é o tubo entre a bomba e a válvula de selecção, e o reactor em serpentina (em inglês, *reactor coil*), que é parte que conecta a válvula de selecção com o detector. A serpentina de retenção actua primeiramente como um reservatório e deverá ser suficientemente longa para prevenir que a amostra e reagentes entrem nas condutas da bomba. Os reactores não devem exceder um terço do volume da solução de lavagem, de modo a assegurar a descarga completa durante cada experiência [41]. Os reactores são usualmente mantidos o mais pequenos possível de modo a evitar diluição excessiva da zona do produto formado. O comprimento é determinado pela distância física entre a válvula e o detector [42], e pela cinética de reacção, na medida em que assegura o desenvolvimento completo da cor, e deste modo o comprimento não ser demasiado pequeno. Devido à natureza descontínua do SIA, períodos de paragens de fluxo podem ser facilmente incorporados de modo a alargar tempos de reacção [41].

O *diâmetro do tubo* tem uma influência dramática na dispersão das diferentes zonas, uma vez que este está relacionado com o número *Dean*:

$$De = \left( \frac{DV\rho}{\mu} \right) \cdot \left( \frac{L}{2R} \right)^{1/2},$$

onde: D, diâmetro do tubo; V, volume;  $\rho$ , densidade;  $\mu$ , viscosidade; L, comprimento do tubo; R, raio da curvatura do tubo.

É estabelecido que a dispersão é proporcional à quarta raiz do diâmetro do tubo. Existem vários factores a ter em conta ao considerar o diâmetro óptimo do tubo. Estes incluem a contra pressão resultante no comprimento do tubo, a vulnerabilidade ao bloqueio, e o grau de dispersão radial possível. A tubagem mais larga é usualmente usada para o *holding coil*, devido à promoção da dispersão axial e, por isso, da penetração da zona, assim como para os tubos ascendentes para prevenção de qualquer contra pressão. Os tubos mais estreitos são usados para os *reaction coils*, de modo a prevenir diluição excessiva na zona do produto formado [41].

Gübelli et al. [45] conduziram estudos em profundidade sobre o efeito do *volume de amostra e reagente* na zona de penetração e sensibilidade. As suas conclusões podem ser referidas em três regras:

- 1<sup>a</sup>. Mudar o volume da zona amostral é um modo efectivo de mudar a sensibilidade da medição. Diluição de amostras concentradas é melhor adquirida reduzindo o volume da amostra injectada.
- 2<sup>a</sup>. Injectar o dobro do volume dos reagentes como volume da zona amostral, enquanto se mantém o volume da zona da amostra igual ou inferior a  $0.5 \cdot S_{1/2}$ , permite que se encontrem as condições óptimas para químicas de um único reagente. ( $S_{1/2}$  é definido como o volume da amostra necessário para produzir uma dispersão de dois nos tubos).
- 3<sup>a</sup>. Para reacções com dois reagentes poderem ser acomodadas, é necessário que o volume da amostra seja mantido abaixo do valor  $S_{1/2}$ , para que a zona amostral esteja cercado pelas zonas do reagente e para que a concentração dos reagentes injectados seja suficientemente elevado.

Segundo van Staden et al. [47], a melhor sensibilidade obtida corresponde a usar uma razão amostra:reagente 1:1. Com esta razão, as duas zonas observam praticamente a mesma dispersão axial e a penetração ocorre praticamente no máximo da zona amostral descendente, assim como no máximo da zona do reagente ascendente. Por outro lado, Gübelli et al. [45] verificaram que aumentando os volumes das zonas de reagente e amostra a razões de volumes iguais, causaram sobreposição da zona e o aumento do pico é adquirido pelo aumento substancial no consumo de amostra, reagente, solução de lavagem e tempo. Ou seja, um aumento simultâneo nos volumes de amostra e reagente acima do valor  $S_{1/2}$  não é uma maneira eficiente de aumentar a altura do pico e a sensibilidade da medição. A sobreposição é completa usando pequenos volumes iguais, e parcial com relativamente elevados volumes iguais. Enquanto mantiveram o volume de reagente constante, os autores [45] também variaram as razões dos volumes. Aumentando o volume da amostra desde um volume inferior do reagente até a um volume igual (onde o volume da amostra estava em excesso em relação à

zona do reagente), concluíram que também resultava numa diminuição da sobreposição da amostra. Para proporções de amostra:reagentes diferentes de um, a sobreposição só é completa quando é executada com uma confluência das correntes, ou seja, quando todos os elementos são misturados.

A importância da *ordem correcta de injeção da amostra e reagente* é também um parâmetro importante [48]. A ordem das diferentes sequências de reagentes é muito dependente das reacções envolvidas. O tempo de residência de uma zona específica também depende na sua posição na sequência dos reagentes. A zona que é injectada primeiro, chega ao detector em ultimo devido à inversão do fluxo. Esta zona é a que tem maior tempo de residência, e por isso é a que fica mais dispersa [41]. O seguinte tem que ser considerado: quando a sensibilidade é importante, o reagente, a concentrações suficientemente elevadas, tem que ser introduzido primeiro de modo a penetrar a zona da amostra, que assim irá observar menor dispersão. Se é necessário tamponar a amostra pela solução de lavagem, a ordem tem que ser revertida. A técnica de sanduíche, colocação da amostra entre duas zonas de reagentes, é uma opção a ser considerada quando as considerações de solubilidade impedem o aumento da concentração do reagente [41].

Embora seja a primeira *inversão de fluxo*, e a sua duração, a mais efectiva em fornecer penetração da zona mútua, existem análises em que é necessário mais do que uma inversão de fluxo, devido por exemplo, às diferentes viscosidades das zonas adjacentes e por isso, mistura insuficiente [45].

Vários tipos de reactores foram descritos na literatura para sistemas FIA. Várias *geometrias* foram propostas, quando o reactor consiste num comprimento de tubo. Foram avaliadas três geometrias, de modo a estabelecer uma relação entre a geometria do reactor e a penetração da zona. Os estudos mostraram que a geometria do reactor não tem um efeito significativo na sensibilidade ou precisão. São, contudo, preferidos tubos estreitos em sistemas SIA, devido à melhor dispersão axial obtida [41].

Deve ser notado que apenas os parâmetros físicos dos parâmetros acima mencionados foram salientados. A influência da reacção química na dispersão, não foi sequer mencionada. O valor óptimo para cada parâmetro dependerá extensivamente das condições específicas de cada reacção e não apenas da

sensibilidade máxima, mas assim como da reprodutibilidade das medições. Uma série de parâmetros que resultem numa elevada sensibilidade podem ser rejeitados, se o desvio padrão relativo for muito alto. É, contudo, surpreendente que se obtenha uma tão boa precisão em sistemas SIA, uma vez que a reacção acontece numa interface com gradientes de concentração muito diferentes [41].

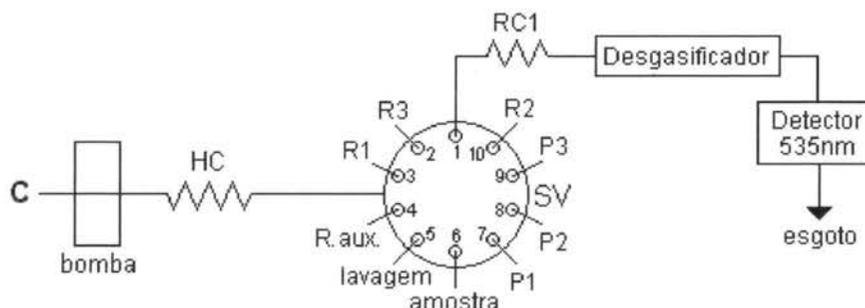
Os sistemas SIA também podem ser classificados pelo número de zonas. Podem ser de uma única zona, se apenas a amostra é injectada, ou por exemplo de mais de três zonas, quando é injectado uma amostra e mais de dois reagentes. O presente trabalho, apresenta um sistema de mais de três zonas: amostra, reagente cromogénico, tampão e agente mascarante.

## 4.2.1. Equipamento e Montagem

O equipamento do sistema SIA é constituído por uma bomba de fluxo de pistão sinusoidal (CAT, modelo HPLH20S), que propulsiona as correntes de reagentes e amostra, ou padrões, para uma válvula de selecção de 10 portas (Valco Instruments, cheminert™ C25-3180D) accionada electricamente. Para a determinação do alumínio (III), a válvula foi preenchida com uma linha para o detector, três para os reagentes (eriocromo cianina R, ácido ascórbico e tampão), uma para a amostra, três para os padrões (50, 150 e 250 ppb), uma para a lavagem (água desionizada) e ainda outro para um reactor auxiliar.

A absorvência é medida por uma detector fotométrico, que incorpora um LED verde de modo a medir a um comprimento de onda de 535 nm, com um percurso óptico de 3 cm. A aquisição de dados e controlo da aparelhagem foi adquirida usando uma placa de interface (modelo 6023) e terminadora (modelo TBX-68) da *National Instruments*. O sinal analógico é então transmitido para um computador onde é lido através de um programa construído em *LabVIEW*.

A tubagem é feita de tubo PTFE 0.75 ID. O *holding coil* tem um volume de 601  $\mu$ l e o reactor tem um volume de 570  $\mu$ l. O sistema SIA óptimo é mostrado na Figura 4.8:



**Figura 4.8** – Sistema SIA para a determinação do alumínio (III): C, corrente transportadora (água); HC, *holding coil*; R1, reagente cromogénico; R2, ácido ascórbico; R3, tampão; R. aux., reactor auxiliar; P1-P3: padrões; SV, válvula de selecção; RC1, reactor.

### 4.2.2. Optimização da Montagem

A optimização da montagem SIA revelou-se uma tarefa bastante árdua, não tendo chegado a resultados óptimos. Isto porque um sistema SIA funciona bem até um máximo de três zonas [41], e o sistema para a determinação do alumínio necessita de mais de três: reagente cromogénico, ácido ascórbico, tampão e a amostra ou padrão. O que acontece, então, é que o grau de mistura é deficiente. Outro aspecto negativo para a optimização do sistema é a cinética da reacção, que é lenta, e necessita dum tempo de residência específico: não demasiado pequeno, para o desenvolvimento da cor, mas também não demasiado elevado, de modo a que o efeito diluição/difusão não se sobreponha à cinética da reacção.

Foram feitas diversas tentativas de modo a optimizar o sistema, sem que, no entanto, se tenha chegado a bons resultados. Foi aplicada a técnica da sanduíche, ou seja, a colocação da amostra entre duas zonas de reagente. O que se observava nesta situação era normalmente a existência de dois picos. Foram feitas diversas inversões de fluxo: como já foi dito, é a primeira a mais importante para a interpenetração das zonas. No entanto, efectuar mais do que uma inversão conduzia a falta de reprodutibilidade do grau de mistura. Foram experimentados vários comprimentos de tubagem e, conseqüentemente, foi variado o número de reactores: tubagens pequenas não são suficientes para o desenvolvimento de cor, mas tubagens longas levam a maiores tempos de residência e por isso uma maior dispersão, havendo por isso uma menor reprodutibilidade. Concluiu-se que o sistema respondia melhor apenas com um reactor (601  $\mu$ l), uma vez que evitava a diluição excessiva da zona do produto formado. Foram experimentadas várias ordens de injeção de amostra e reagente: uma vez que a amostra tem que ser tamponada, os melhores resultados foram obtidos injectando primeiro o tampão, seguido do ácido ascórbico, reagente corado e amostra.

#### 4.2.3. Resultados

Relativamente à técnica SIA, não se obtiveram resultados reprodutíveis. A maior limitação do SIA é a dificuldade da interpenetração de diferentes zonas quando são usados vários reagentes [41,47,48]. Neste caso, o sistema apresenta quatro zonas (amostra ou padrão, reagente corado, mascarante e tampão) produzindo resultados de fraca qualidade. O facto de não ser possível misturar reprodutivelmente os vários reagentes envolvidos, leva a que não seja possível atingir a linearidade concentração vs. sinal numa gama de concentração pretendida. Adicionalmente, a robustez do método para eliminação de interferentes (Fe) fica muito comprometida.

Para promover a sobreposição das zonas, pode-se efectuar várias inversões do fluxo, mas este procedimento aumenta a dispersão da amostra, diminuindo a zona de linearidade [48]. Usar uma câmara de mistura é outro dos métodos, mas este tem algumas propriedades indesejadas tais como os volumes mortos e o aumento da dispersão [41].

Aliando estas desvantagens ao facto da cinética da reacção lenta, pode-se perceber que a técnica SIA não é a adequada na determinação do alumínio (III) em água.

## 5. Estudo Económico Comparativo

### 5.1. Custo de reagentes/L

O custo dos reagentes é indiferente à técnica usada, e inclui a mão-de-obra, outras soluções usadas, e IVA à taxa correspondentes. O preço da solução cromogénica é a de trabalho (ver alínea e do capítulo 3), e o preço total dos padrões corresponde à soma dos padrões de alumínio usados. Estes encontram-se na tabela seguinte:

**Tabela 5.1 – Custos dos reagentes**

<b>Descrição</b>	<b>Custo (€/L)</b>
Eriocrome Cianina R	14.18
Ácido Ascórbico	12.85
Tampão	16.68
Água Destilada	3.5
Padrões	19.62

### 5.2. Volumes gastos por método de análise e método de calibração

#### 5.2.1. FIA

O tempo de análise da técnica FIA é de cerca de 50 segundos. Dados os caudais (ver Figura 4.2), pode-se calcular os volumes gastos por cada método de análise e por cada método de calibração. A injeção de Eriocrome Cianina R é de 2 segundos.

**Tabela 5.2 – Volumes referentes aos métodos de análise e calibração (FIA)**

<b>Descrição</b>	<b>Volume método (mL)</b>	
	<b>Análise</b>	<b>Calibração</b>
Eriocrome Cianina R	0,05	0,16
Ácido Ascórbico	0,38	1,13
Tampão	1,34	4,03
Padrão	-----	4,40

## 5.2.2. SIA

Os volumes usados na técnica SIA são o resultado da sequência usada. É de notar que não se chegou a otimizar o sistema, sendo estes volumes indicativos, mas contudo bastante aproximados a um sistema real.

Tabela 5.3 – Volumes referentes aos métodos de análise e calibração (SIA)

Descrição	Volume método (mL)	
	Análise	Calibração
Eriocrome Cianina R	0.03	0.09
Ácido Ascórbico	0.02	0.06
Tampão	0.15	0.45
Água destilada	3.00	9.00
Padrão	-----	0.75

## 5.3. Custo das análises e calibrações

Todas as análises e calibrações, em ambas as técnicas, são feitas em duplicado. Por isso, os custos das análises e calibrações correspondem a duas vezes os volumes dos métodos correspondentes.

## 5.3.1. FIA

Tabela 5.4 – Custos referentes a uma análise e calibração (FIA)

Descrição	Custos (€)	
	Análise	Calibração
Eriocrome Cianina R	0,0015	0,0044
Ácido Ascórbico	0,0096	0,0289
Tampão	0,0448	0,1343
Padrão	-----	0,2590
<b>Total</b>	<b>0,0559</b>	<b>0,4266</b>

## 5.3.2. SIA

Tabela 5.4 – Custos referentes a uma análise e calibração (SIA)

Descrição	Custos (€)	
	Análise	Calibração
Eriochrome Cianina R	0.0009	0.0026
Ácido Ascórbico	0.0005	0.0015
Tampão	0.0050	0.0150
Água destilada	0.0210	0.0630
Padrão	-----	0.0294
<b>Total</b>	<b>0.0274</b>	<b>0.1115</b>

## 6. Conclusões

Este estudo confirma que, para a determinação do alumínio (III), o sistema FIA apresenta mais vantagens. No FIA não existe problema na reprodutibilidade e qualidade da mistura, uma vez que esta é efectuada por meio de confluências, e quando chega ao detector, está perfeitamente misturada.

Outra vantagem do sistema FIA é a frequência amostral. Um sistema SIA necessita, só para lavagem da tubagem, cerca de 30 segundos, e a sua frequência amostral é cerca de metade de um sistema FIA convencional [45].

O SIA, por outro lado, tem várias vantagens. A maior das quais é o baixo consumo de reagentes, e o conseqüente custo reduzido de análises e calibrações. Apresenta um equipamento mais simples e a aparelhagem não necessita de ser mudada se os parâmetros de fluxo e volumes de injeção forem modificados. É também uma ferramenta muito versátil, na medida em que pode ser adaptado a técnicas multireagente e sistemas de multideteção, sem a necessidade de reconfigurar o sistema. Por outro lado, necessita de controlo computadorizado e, portanto desenvolvimento de *software*.

## 7. Bibliografia

- [1]. Wiryawan, A., *Use of flow injection analysis for continuous monitoring of river water quality*, Laboratory Robotics and Automation, 12 (1999) 142.
- [2]. Ershova, N. I., Ivanov, V. M., *Application of chromacity characteristics for direct determination of trace aluminium with Eriochrome cyanine R by diffuse reflection spectroscopy*, Analytica Chimica Acta, 408 (2000) 145.
- [3]. American Public Health Association, American Water Works Association, Water Pollution Control Federation, *Standards Methods for the Examination of Water and Wastewater*, American Public Health Association, edição nº 20, 1999
- [4]. Royset, O., *Comparison of four chromogenic reagents for the flow-injection determination of aluminium in water*, Analytica Chimica Acta, 178 (1985) 223.
- [5]. Quintela, M. J., Gallego, M., Valcárcel, M., *Flow injection spectrophotometric method for the speciation of aluminium in river and tap waters*, Analyst, 118 (1993) 1199.
- [6]. Benson, R. L., Worsfold, P. J., Sweeting, F., W., *On-line determination of residual aluminium in potable and treated waters by flow-injection analysis*, Analytica Chimica Acta, 238(1990) 177.
- [7]. Hawke, D. J., Powell, H. K., Simpson, S. L., *Equilibrium modelling of interferences in the visible spectrophotometric determination of aluminium (III): comparison of the chromophores chrome azurol S, eriochrome cyanine R and pyrocatechol violet, and stability constants for eriochrome cyanine R-aluminium complexes.*, Analytica Chimica Acta, 319 (1996) 305.
- [8]. Royset, O., *Flow-Injection spectrophotometric determination of aluminium in water with pyrocatechol violet*, Analytica Chimica Acta, 185 (1986) 75.
- [9]. Srinivasan, P. T., Viraraghavan, T., Subramanian, K. S., *Aluminium in drinking water: An overview*, Water S.A., Vol. 25, Nº 1, Janeiro 1999.
- [10]. Decreto-Lei nº 236/98, Anexo VI, parte B.
- [11]. Decreto-Lei nº 243/2001, Anexo I, parte C.
- [12]. Růžička, J., Hansen, E. H., *Flow Injection Analysis. Part I: A new concept of fast continuous flow analysis*, Analytica Chimica Acta, 78 (1975) 145.
- [13]. Růžička, J., Hansen, E. H., *Flow injection analysis : Part X. theory, techniques and trends*, Analytica Chimica Acta, 99 (1978) 37.

- [14]. Růžička, J., Hansen, E. H., *Stopped flow and merging zones – a new approach to enzymatic assay by flow injection analysis*, *Analytica Chimica Acta*, 106 (1979) 207.
- [15]. Hull, R.D., Malick, R.E., Dorsey, J.G., *Dispersion phenomena in flow-injection systems*, *Analytica Chimica Acta*, 267 (1992) 1.
- [16]. Růžička, J., Hansen, E. H., *Flow injection analysis. Principles, applications and trends*, *Analytica Chimica Acta*, 114 (1980) 19.
- [17]. <http://faculty.washington.edu/dovichi/CoursePages/chem426.html>
- [18]. Růžička, J., Hansen, E. H., *Flow injection Analysis*, John Wiley & Sons, Nova Iorque, 1988.
- [19]. Růžička, J., *Flow-injection analysis from test-tube to integrated micro-conduits*, *Analytical Chemistry*, 55 (1983) 1040A.
- [20]. van der Linden, W.E., van Nugteren-Osinga, I. C., Bos, M., *Flow injection analysis (FIA) – a personal view*, *Analytica Chimica Acta*, 180 (1986) 20
- [21]. Růžička, J., Hansen, E. H., *Homogeneous and heterogeneous systems : Flow injection analysis today and tomorrow*, *Analytica Chimica Acta*, 214 (1988) 1.
- [22]. Hansen, E. H., *Flow-injection analysis: leaving its teen-years and maturing. A personal reminiscence of its conception and early development*, *Analytica Chimica Acta*, 308 (1995) 3.
- [23]. Růžička, J., Christian, G.D., *Flow-injection analysis and chromatography: twins or siblings?*, *Analyst*, 115 (1990) 475
- [24]. Růžička, J., *The second coming of flow-injection analysis*, *Analytica Chimica Acta*, 261 (1992) 3.
- [25]. Reis, B.F., *Análise química por injeção em fluxo: vinte anos de desenvolvimento*, *Química Nova*, 19(1) (1996) 51.
- [26]. Valcarcel, M., Luque de Castro, M.Q., *Flow-injection analysis: a useful alternative for solving analytical problems*, *Fresenius Z. Anal. Chem.*, 337 (1990) 662.
- [27]. Luque de Castro, M.Q., Tena, M.T., *Hyphenated flow injection systems and high discrimination instruments*, *Talanta*, 42 (1995) 151.
- [28]. Luque de Castro, M.Q., *Continuous monitoring by unsegmented flow techniques State of the art and perspectives*, *Talanta*, 36 (1989) 591.

- [29]. Andrew, K.N., Blundell, N.J., Price, D., Worsfold, P.J., *Flow-injection techniques for water monitoring*, Analytical Chemistry, 66 (1994) 917A.
- [30]. Karlberg, B., Pacey, G.E., *Flow Injection Analysis. A Practical Guide*, Elsevier, Amesterdão (1988)
- [31]. Valcarcel, M., Luque de Castro, M.Q., *Flow Injection Analysis: Principles and Applications*, Ellis Horwood, Chichester (1987).
- [32]. Burguera, J.L., *Flow Injection Analysis Spectroscopy*, Marcel Dekker, Nova Iorque (1989).
- [33]. Růžicka, J., Hansen, E. H., *Flow injection Analysis*, John Wiley & Sons, Nova Iorque (1981).
- [34]. Růžicka, J., Phil. Trans. R. Soc. A., 305 (1982) 645.
- [35]. Stewart, K.K., *Flow-injection analysis: new tool for old assays, new approach to analytical measurements*, Analytical Chemistry, 55 (1983) 931A.
- [36]. Mottola, H.A., *Flow injection analysis (FIA) – a personal view*, Analytica Chimica Acta, 180 (1986) 26.
- [37]. Horvai, G., Pungor, E., C.C.R. Crit. Rev. Anal. Chem., 17(3) 1987 231.
- [38]. Fang, Z.L., *Non-equilibrated sample manipulation – the essence of flow-injection analysis*, Microchem. J., 45 (1992) 19.
- [39]. Růžicka, J., Marshall, G.D., *Sequential injection: a new concept for chemical sensors process analysis and laboratory assays*, Analytica Chimica Acta, 237 (1990) 329.
- [40]. Růžicka, J., Marshall, G.D., Christian, G.D, *Variable flow rates and a sinusoidal flow pump for flow-injection analysis*, Analytical Chemistry, 62 (1990) 1861.
- [41]. Taljaard, R.E., van Staden, J.F., *Application of Sequential-Injection Analysis as process analyzers*, Laboratory Robotics and Automation, 10 (1998) 325.
- [42]. Růžicka, J., Gübeli, T., *Principles of stopped-flow Sequential Injection Analysis and its application to the kinetic determination of traces of a proteolytic enzyme*, Analytical Chemistry, 63 (1991) 1680.
- [43]. Růžicka, J., *The second coming of flow-injection analysis*, Analytica Chimica Acta, 261 (1992) 3.

- [44]. Cladera, A., Tomàs, C., Gómez, E., Estela, J.M., Cerdá, V., *A new instrumental implementation of sequential injection analysis*, *Analytica Chimica Acta*, 302 (1995) 297.
- [45]. Gübeli, T., Christian, G.D., Růžička, J., *Fundamentals of sinusoidal flow Sequential Injection spectrophotometry*, *Analytical Chemistry*, 63 (1991) 2407.
- [46]. van Staden, J.F., du Plessis, H., Linsky, S.M., Taljaard, R.E., Kremer, B., *Influence of different volume ratios on the isodispersion point in sequential injection analysis*, *Analytica Chimica Acta*, 354 (1997) 59.
- [47]. Galhardo, C.X., Masini, J.C., *Spectrophotometric determination of phosphate and silicate by sequential injection using molybdenum blue chemistry*, *Analytica Chimica Acta*, 417 (2000) 191.
- [48]. Cerdá, V., Estela, J.M., Forteza, R., Cladera, A., Becerra, E., Altimira, P., Sitjar, P., *Flow techniques in water analysis*, *Talanta*, 50 (1999) 695.
- [49]. McCormack, T., van Staden, J.F., *Use of a sequential injection technique to evaluate the effect of mixing chambers on zone penetration*, *Analytica Chimica Acta*, 367 (1998) 111.





UNIÃO EUROPEIA  
Fundo Social Europeu

prodep III

*Mais Educação*



FACULDADE DE ENGENHARIA  
UNIVERSIDADE DO PORTO

BIBLIOTECA



0000091325