

LILIANA SARA MELO OLIVEIRA

Licenciada em Microbiologia

Determinação de ião bromato em águas através de um sistema automático baseado em multi-seringa

Universidade do Porto

Porto, 2005

Trabalho de Dissertação apresentado à
Faculdade de Farmácia da Universidade do Porto
para a obtenção do grau de mestre

FACULDADE DE FARMACIA
U. P.
BIBLIOTECA
Data 24 / 09 / 2006
Reg. 3311
Cota _____

FFM

DLI

3311

Trabalho realizado no serviço de Química-Física
da Faculdade de Farmácia da Universidade do Porto

Índice

Agradecimentos	VI
Resumo	VII
Abstract	VIII
Organização da dissertação	IX
1. Introdução	1
1.1. Ocorrência de bromato em águas.....	2
1.2. Metodologias utilizadas na determinação de bromato.....	3
1.2.1. Reacção do bromato com compostos da família das fenotiazinas.....	7
1.3. Metodologias automáticas de fluxo para a determinação de bromato	11
1.4. Análise por injeção em fluxo baseada em multi-seringa (MSFIA)	16
1.5. Enquadramento e objectivos	20
2. Material e métodos	22
2.1. Reagentes e soluções	23
2.2. Instrumentação e componentes do sistema de fluxo	25
2.3. Montagem e funcionamento do sistema de fluxo.....	27
2.4. Estudo das variáveis e avaliação das características de funcionamento do método.....	29
3. Resultados e discussão	33
3.1. Estudo das condições de funcionamento do sistema de fluxo	34

3.1.1. Estudo dos parâmetros físicos	34
3.1.1.1. Temperatura.....	34
3.1.1.2. Percurso óptico da célula de fluxo	35
3.1.1.3. Sequência de adição dos reagentes	37
3.1.1.4. Estudo do caudal na etapa de determinação	40
3.1.1.5. Dimensões e geometria dos tubos de reacção.....	41
3.1.1.6. Volume de amostra	44
3.1.2. Estudo dos parâmetros químicos	45
3.1.2.1. Utilização da clorpromazina.....	46
3.1.2.2. Utilização da trifluoperazina.....	55
3.1.2.3. Utilização da tioridazina.....	61
3.1.2.4. Utilização da fenotiazina	66
3.1.2.5. Utilização da 2-trifluorometil(fenotiazina)	67
3.2. Estudos de eliminação de interferentes	68
3.2.1. Eliminação das interferências provocadas pelos iões hipoclorito e clorito.	68
3.2.2. Eliminação da interferência provocada pelo ião nitrito	74
3.2.3. Eliminação simultânea das interferências	77
4. Conclusões	80
Referências	86

Agradecimentos

À Faculdade de Farmácia da Universidade do Porto, e em especial ao serviço de Química-Física, pela admissão como aluna do curso de Mestrado Europeu em Química Analítica Ambiental.

Ao Professor Doutor José Luís Fontes da Costa Lima, agradeço o apoio pedagógico e científico, que contribuíram de forma imprescindível para a realização deste mestrado.

Ao Departamento de Química da Universidade das Ilhas Baleares, na pessoa do Professor Doutor Víctor Cerdà, pela oportunidade que me foi dada de efectuar o bloco B deste mestrado, nessa instituição.

À Doutora Marcela Segundo, não só pela primorosa orientação, como também pela amizade, dedicação e incentivo durante todo o desenvolvimento deste trabalho.

Ao Professor Doutor António Rangel pelo estímulo na realização deste mestrado.

À Cristina Soares e a todos os colegas do Departamento de Química-Física pelo óptimo ambiente de trabalho, pela amizade e pela partilha de bons momentos.

À minha família, em especial aos meus pais, por todas as oportunidades e pelo apoio incondicional que sempre me deram.

A todos os que contribuíram, de alguma forma, para a concretização deste trabalho.

Resumo

No âmbito desta dissertação, desenvolveu-se uma metodologia de análise por injeção em fluxo baseada em multi-seringa para a determinação de ião bromato em águas.

A determinação baseia-se na detecção espectrofotométrica do produto resultante da oxidação de compostos da família das fenotiazinas na presença de ião bromato, em meio ácido. Após o estudo inicial da influência dos parâmetros físicos no funcionamento do sistema de fluxo, foram testados diferentes compostos fenotiazínicos. A fenotiazina e a 2-trifluorometil(fenotiazina) revelaram ser solúveis apenas em elevadas percentagens de etanol, impossibilitando a sua utilização no sistema. No caso da clorpromazina, trifluoperazina e tioridazina, foi também avaliada a influência da concentração dos diferentes reagentes e da presença de espécies interferentes. A clorpromazina proporcionou a obtenção de maior sensibilidade e menor limite de detecção, tendo-se observado a interferência dos iões nitrito, hipoclorito e clorito para todos os compostos testados.

O sistema desenvolvido permitiu a determinação do ião bromato num intervalo de concentrações compreendido entre 25 e 750 $\mu\text{g L}^{-1}$, com um limite de detecção de 7 $\mu\text{g L}^{-1}$, boa repetibilidade ($\text{DPR} < 1,6\%$, $n = 10$), com uma frequência de 35 determinações por hora. Foi ainda possível, sem qualquer modificação da montagem analítica, a eliminação em linha das interferências. Para tal, adicionou-se sulfito à solução de clorpromazina, eliminando a interferência dos aniões clorito e hipoclorito. A eliminação da interferência do ião nitrito foi conseguida através da adição de ácido amidossulfónico à solução de ácido clorídrico.

Abstract

In the present work, the development of a multi-syringe flow injection system for the determination of bromate in water is described.

The determination is based on the spectrophotometric detection of a coloured cation, resulting from the oxidation of phenothiazine compounds in the presence of bromate, in acidic medium. After studying the influence of the physical parameters in the flow system performance, different phenothiazine compounds were tested. As high percentages of ethanol were needed for the dissolution of phenothiazine and 2-(trifluoromethyl)phenothiazine, these compounds were not applied in the flow system. For chlorpromazine, trifluoperazine and thioridazine, the influence of the concentration of reagents and the presence of interfering species were evaluated. Higher sensitivity and lower detection limit were attained using chlorpromazine. Interference from nitrite, hypochlorite and chlorite was observed for all phenothiazines tested.

The proposed methodology allowed the determination of bromate within a concentration range between 25 and 750 $\mu\text{g L}^{-1}$, with a detection limit of 7 $\mu\text{g L}^{-1}$, good precision (RSD < 1,6%, n = 10), with a determination frequency of 35 h^{-1} . It was also possible the in-line elimination of interferences, without changes in the manifold. This was attained by adding sulfite to the chlorpromazine solution for elimination of hypochlorite and chlorite. The elimination of nitrite ion was achieved by adding amidosulfonic acid to the hydrochloric acid solution.

Organização da dissertação

A presente dissertação encontra-se organizada em capítulos, num total de quatro.

No capítulo 1, é referida a ocorrência de bromato em águas bem como as metodologias disponíveis para a sua determinação e com particular detalhe, a reacção com compostos da família das fenotiazinas. É também apresentada uma revisão das metodologias de fluxo para a determinação em causa. É ainda realizada uma exposição dos fundamentos e vantagens associadas à análise por injeção em fluxo baseada em multi-seringa, técnica usada neste trabalho. Na parte final, é dado a conhecer o enquadramento e as motivações para a realização do trabalho desenvolvido.

O capítulo 2 compreende os aspectos de natureza experimental, descrevendo os procedimentos adoptados na preparação de soluções, além do equipamento e material laboratorial utilizado na concepção da montagem de fluxo. São também descritos os parâmetros utilizados na avaliação da metodologia proposta.

No capítulo 3, faz-se a descrição e discussão detalhada das diferentes etapas de desenvolvimento da metodologia, bem como a aplicação da mesma à análise de amostras de água para consumo humano, recorrendo a ensaios de recuperação.

No capítulo 4, são mencionados os aspectos que se consideram mais relevantes no trabalho efectuado, assim como as potencialidades e as limitações da metodologia proposta em determinações de rotina.

1.

INTRODUÇÃO

1.1. Ocorrência de bromato em águas

O bromato é uma espécie química aniônica, cuja formação é consequência da utilização de agentes oxidantes em processos de desinfecção de águas que contêm anião brometo. São duas as técnicas de desinfecção mais vulgarmente empregues em estações de tratamento de águas para consumo humano. Uma delas faz uso do ozono como agente desinfectante, enquanto que na outra, o processo de desinfecção implica a utilização de soluções de hipoclorito de sódio. Em ambas as técnicas, verifica-se a formação de bromato após o tratamento (Walters *et al.*, 1997; Weinberg *et al.*, 2003).

Recentemente, foram realizados estudos em ratinhos de laboratório, com a finalidade de avaliar a toxicidade do bromato. Os resultados demonstraram que a concentração de bromato em água para consumo humano associada ao risco de morte a um nível de 10^{-5} corresponde ao valor de $0,5 \mu\text{g L}^{-1}$ (Joyce e Dillon, 1994). Estas experiências permitiram comprovar que o bromato de potássio induz a formação de tumores nas células renais, mesoteliomas do peritónio, e tumores nas células foliculares da tiróide. Além disso, a ocorrência de danos físicos nos cromossomas provocados pelo bromato de potássio ou pelo ião bromato fazem com que estes compostos sejam considerados agentes genotóxicos (Nawrocki e Bilozor, 1997). As organizações mundiais envolvidas na protecção do meio ambiente, nomeadamente a Agência de Protecção Ambiental dos Estados Unidos (US EPA), a Organização Mundial de Saúde (WHO) e a Agência Internacional de Pesquisa do Cancro (IACR) reconhecem o bromato como um potencial agente cancerígeno, pertencente à categoria 2B, para o homem (Kurokawa *et al.*, 1990).

Uma vez que a qualidade da água para consumo humano tem sido fortemente afectada pela presença do ião bromato, tornou-se necessário legislar no sentido de proteger a saúde humana e melhorar a qualidade das águas em função dos seus principais usos. Com este intuito, foi publicado o Decreto-Lei nº 243/2001 de 5 de Setembro que estabelece normas, critérios e objectivos de qualidade. Este Decreto-Lei resulta da transposição da Directiva nº 98/83/CE de 3 de Novembro. Estes textos referem que a quantidade de bromato presente em águas para consumo humano deve tomar um valor tão baixo quanto possível sem comprometer a eficácia da desinfecção. Este diploma estabelece o valor paramétrico de $25 \mu\text{g L}^{-1}$ de bromato em águas para consumo humano no período compreendido entre 5 a 10 anos após a entrada em vigor da Directiva nº 98/83, devendo este valor ser reduzido para $10 \mu\text{g L}^{-1}$ 10 anos após a entrada em vigor da Directiva nº 98/83.

No que respeita à legislação internacional relativa à qualidade da água para consumo humano, os regulamentos apresentados pela WHO (WHO, 2003), US EPA (Patel, 1992) e União Europeia (CEE, 1994) estabelecem como nível máximo de contaminante (MCL) a concentração correspondente a $10 \mu\text{g L}^{-1}$ de bromato, recomendando a sua eliminação total.

1.2. Metodologias utilizadas na determinação de bromato

São várias as técnicas analíticas utilizadas para a determinação do ião bromato, sendo a cromatografia iónica reconhecida como a mais utilizada (Kościelna, 2004). No primeiro método baseado em cromatografia iónica recomendado pela US EPA para a realização de análises de rotina do ião bromato, foi utilizada a detecção

condutimétrica (IC-CD) (Pfaff, 1993). Ao longo dos anos, vários trabalhos que visam a determinação do bromato por cromatografia iónica com detecção condutimétrica têm sido publicados (Hautman e Bolyard, 1992; Joyce e Dillon, 1994; Weinberg, 1994; Jackson *et al.*, 1998; Schminke e Seubert, 2000a; Echigo *et al.*, 2001; De Borba, 2005). No entanto, esta metodologia envolve a aplicação de colunas de troca iónica, e requer a realização do pré-tratamento da amostra, de modo a remover os iões interferentes, sendo o cloreto o anião mais problemático. Nalguns casos, são utilizadas colunas de pré-concentração com o intuito de diminuir o limite de detecção (Nowak e Seubert, 1998; ISO 15061, 2001; Liu *et al.*, 2002). Estão ainda referenciados alguns trabalhos que recorrem à utilização de colunas de troca iónica que permitem a determinação de baixas concentrações em ião bromato sem necessidade de submeter a amostra a pré-tratamento ou a pré-concentração, utilizando elevados volumes de amostra. No entanto, esta abordagem afecta a simetria do pico referente ao bromato (Jackson *et al.*, 1998; Colombini *et al.*, 1999; López-Ruiz, 2000).

A detecção do ião bromato pode também ser efectuada espectrofotometricamente através da adição de um reagente de desenvolvimento de cor ao eluente, após separação dos iões numa coluna cromatográfica. Neste caso, ocorre uma reacção, onde os iões bromato são convertidos em espécies absorventes, as quais são selectivamente detectadas. Uma dessas reacções baseia-se na conversão do bromato eluído em iões tribrometo, em meio ácido, ocorrendo detecção espectrofotométrica destes iões a 267 nm (Inoue *et al.*, 1997; Weinberg e Yamada, 1998; Weinberg *et al.*, 1998; Nowack e Von Gunten, 1999; Delcomyn *et al.*, 2001). A utilização de soluções ácidas contendo iodeto de potássio e molibdénio (VI) como catalisadores leva à formação de aniões triiodeto que absorvem a 352 nm (Salhi e Von Gunten, 1999;

Echigo *et al.*, 2001; Wagner *et al.*, 2002). Um outro método descrito por alguns autores consiste na utilização de cromatografia iónica combinada com a reacção entre o bromato e a fucsina, em meio ácido, ocorrendo a detecção espectrofotométrica a 530 (Achilli e Romele, 1999) ou a 520 nm (Valsecchi *et al.*, 1999). Entre os métodos cromatográficos com derivatização pós-coluna e detecção UV/Vis, os mais simples e eficazes são os que fazem uso da *o*-dianizina como reagente de desenvolvimento de cor (Wagner *et al.*, 1999, 2000a, 2000b; Himata *et al.*, 2000; Echigo *et al.*, 2001; Hautman *et al.*, 2001). Todavia, as propriedades cancerígenas da *o*-dianidizina requerem a aplicação de cuidados especiais na manipulação deste reagente. A clorpromazina constitui um outro reagente apropriado para a detecção do ião bromato após a sua separação em colunas de troca iónica (Walters *et al.*, 1997; Ingrand *et al.*, 2002; Schminke e Seubert, 2000a, 2000b).

Sensíveis e específicos, são os métodos baseados na combinação da cromatografia iónica com a espectrometria de massa, podendo esta última possuir diferentes configurações de acordo com o processo de ionização envolvido: ionização com plasma de acoplamento indutivo (IC-ICP-MS) (Creed *et al.*, 1996; Yamanaka *et al.*, 1997; Nowak e Seubert, 1998; Seubert e Nowak, 1998; Pantsar-Kallio e Manninen, 1998; Colombini *et al.*, 1999; Divjak *et al.*, 1999; Schminke e Seubert, 2000a; Slingsby e Kiser, 2001; Seubert *et al.*, 2000), ionização à pressão atmosférica (IC-API-MS) (Buchberger e Ahrer, 1999; Huang *et al.*, 1999; Seubert *et al.*, 2000), ionização por electrospray (IC-ESI-MS) (Charles *et al.*, 1996; Roehl *et al.*, 2002), ou ionização por electrospray associada a dupla espectrometria de massa (IC-ESI-MS-MS) (Magnuson, 1998).

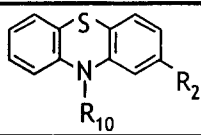
Existem outros métodos cromatográficos menos usuais que podem ser utilizados para a análise de bromato em águas, nomeadamente a cromatografia em fase reversa com detecção espectrofotométrica na zona do ultra-violeta (Bohme *et al.*, 1997) e ainda cromatografia iónica com detecção fluorimétrica (Ingrand *et al.*, 2002).

Encontram-se ainda referenciados na literatura métodos não cromatográficos destinados à determinação do ião bromato, recorrendo à fluorimetria e à espectrofotometria UV/Vis como técnicas de detecção. A fluorescência constitui uma alternativa interessante para a detecção do bromato em águas. Esta técnica fundamenta-se na formação de um complexo fluorescente, ocorrendo diminuição da intensidade de fluorescência com o aumento da concentração de bromato (Gahr *et al.*, 1998). A espectrofotometria UV/Vis, por sua vez, possibilita a determinação de bromato através do emprego de diversas reacções. Ketai *et al.* (2000) apresentaram um método aplicado à determinação directa de bromato em aditivos de pão e farinhas baseado na detecção espectrofotométrica a 602 nm do produto originado através da reacção do bromato com o 2-(3,5-dibromo-2-piridilazo)-5-dietilaminol (3,5-dibromo-PADAP) e o tiocianato, em meio fortemente ácido. Ingrand *et al.* (2002) descreveram um método baseado na reacção do bromato com o azul de metileno em meio ácido, ocorrendo detecção espectrofotométrica do produto reaccional a 745 nm. Foram ainda descritas, por alguns autores, reacções colorimétricas aplicadas à determinação de bromato em águas, utilizando compostos da família das fenotiazinas como reagentes de desenvolvimento de cor (Gordon *et al.*, 1994; Farrel *et al.*, 1995; Ingrand *et al.*, 2002).

1.2.1. Reacção do bromato com compostos da família das fenotiazinas

As fenotiazinas são constituídas por um anel aromático tricíclico com um átomo de enxofre e outro de azoto, quimicamente activos, nas posições 5 e 10, podendo também conter substituintes nas posições 2 e 10. As propriedades analíticas das fenotiazinas são determinadas pelas estruturas dos substituintes localizados nestas posições, os quais podem incluir cadeias halogenadas, alifáticas, piperídnicas ou piperazínicas (Farrel *et al.*, 1995). As estruturas dos compostos estudados neste trabalho são apresentadas na tabela 1.1.

Tabela 1.1. Estruturas químicas da fenotiazina e derivados avaliados neste trabalho.

Composto		
	R ₂	R ₁₀
Clorpromazina	- Cl	- (CH ₂) ₃ N(CH ₃) ₂
Trifluoperazina	- CF ₃	- (CH ₂) ₃ -N(CH ₂) ₂ -N-CH ₃
Tioridazina	- SCH ₃	- (CH ₂) ₂ -N(CH ₂) ₂ -N-CH ₃
Fenotiazina	- H	- H
2-Trifluorometil(fenotiazina)	- CF ₃	- H

Os derivados das fenotiazinas podem existir sob a forma de bases livres insolúveis em água, ou sais, os quais são solúveis em água, ácido clorídrico e em outros solventes orgânicos. Os sais fenotiazínicos com cadeias alifáticas na posição 10 apresentam elevada solubilidade em água, ácido clorídrico, etanol, clorofórmio e inferior em

acetona. A introdução de substituintes heterocíclicos na mesma posição provoca a diminuição da solubilidade em água (Karpińska *et al.*, 1996).

A propriedade química mais importante destes compostos é a sua aptidão para sofrerem oxidação, resultando na formação de compostos corados, em que a cor dos produtos da reacção é determinada pelo tipo de substituintes nas posições 2 e 10 (Karpińska *et al.*, 1996; Kojlo *et al.*, 2001). O esquema geral das reacções de oxidação dos derivados da fenotiazina é apresentado na figura 1.1.

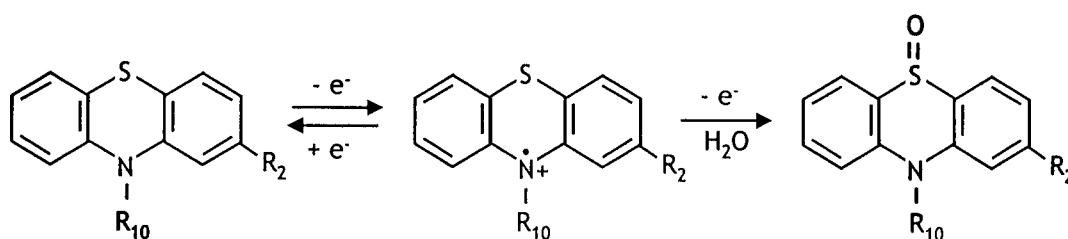


Figura 1.1. Representação do processo de oxidação dos derivados da fenotiazina.

Na primeira etapa da reacção, o composto é reversivelmente oxidado a um radical livre corado ou semiquinona através da perda de um electrão, sendo posteriormente passível de uma oxidação irreversível, resultando na formação de um sulfóxido incolor (Němcová *et al.*, 1982; Puzanowska-Tarasiewicz, 1998). Nalguns casos, este mecanismo de decomposição é mais complexo, dificultando a identificação dos produtos reaccionais. A velocidade da primeira etapa da reacção é afectada por várias condições, nomeadamente, o tipo de oxidante, a acidez da solução, a temperatura e o tipo da fenotiazina utilizada (Karpińska *et al.*, 1996).

De acordo com alguns autores (Jenílek *et al.*, 1991; Puzanowska-Tarasiewicz *et al.*, 2005), a estabilidade dos radicais livres originados depende essencialmente de três factores:

- tipo e posição dos substituintes no esqueleto estrutural da fenotiazina: os radicais livres constituídos por cadeias alifáticas na posição 10 são mais estáveis comparativamente aos que possuem substituintes heterocíclicos;
- acidez do meio reaccional: a estabilidade do radical catiónico aumenta com o aumento da concentração de ácido; em meios com baixa acidez (pH entre 2 e 7) a velocidade de decomposição do radical é determinada pelo tipo e concentração do tampão utilizado;
- presença de catiões e aniões de vários sais.

A elevada estabilidade dos radicais catiónicos em meio ácido constitui a base para o desenvolvimento de métodos espectrofotométricos envolvendo a utilização de fenotiazinas (Puzanowska-Tarasiewicz *et al.*, 2005). Além disso, os elevados valores dos coeficientes de absorvidade molar correspondentes a aproximadamente 2×10^4 L mol⁻¹ cm⁻¹ indicam que as fenotiazinas podem ser utilizadas como reagentes sensíveis em determinações espectrofotométricas (Kojlo *et al.*, 2001).

Alguns autores têm utilizado derivados das fenotiazinas como reagentes para a determinação espectrofotométrica do ião bromato (Gordon *et al.*, 1994; Farrel *et al.*, 1995; Gordon e Bubnis, 1995; Walters *et al.*, 1997). Na presença de fenotiazinas e em meio ácido, o ião bromato sofre redução, resultando na formação de um radical catiónico fortemente corado.

Gordon *et al.* (1994) estudaram o efeito da concentração de ácido na determinação do bromato, utilizando a clorpromazina. Estes autores propõem a utilização do ácido clorídrico em concentrações compreendidas entre 1,0 e 1,2 mol L⁻¹ no momento da detecção. A utilização de concentrações inferiores a 1,0 mol L⁻¹ impossibilita a medição da oxidação da clorpromazina pelo bromato, enquanto que a aplicação de concentrações de ácido superiores a 1,2 mol L⁻¹ origina a diminuição do valor da absorvância, provavelmente devido à redução directa do ião bromato.

A sequência de adição dos reagentes constitui outro parâmetro crítico na determinação do bromato utilizando fenotiazinas. Segundo Gordon *et al.* (1994) e Farrel *et al.* (1995), o ácido tem um efeito catalítico na reacção e deve ser adicionado após a reacção do bromato com o reagente de desenvolvimento de cor.

Os interferentes mais comuns e problemáticos, nesta reacção, são os iões nitrito, clorito e ainda alguns metais, presentes sobretudo em águas residuais e possivelmente em águas para consumo humano. Estas interferências devem-se à capacidade de estes iões oxidarem os compostos da família das fenotiazinas. Gordon *et al.* (1994) propõe um processo de eliminação destes interferentes. O procedimento experimental proposto consiste no tratamento prévio das amostras. A remoção de metais é conseguida através da realização de processos de extracção em fase sólida. Para a remoção da interferência proveniente do ião nitrito, as amostras são tratadas com ácido amidossulfónico. O clorito é eliminado através da sua redução a cloreto por ferro (II) ou por sulfito, tendo-se verificado a permanência de um valor residual de oxidante (equivalente a 1 - 2 µg L⁻¹ de bromato), em ambos os casos.

1.3. Metodologias automáticas de fluxo para a determinação de bromato

Embora os métodos cromatográficos permitam quantificar de uma forma conveniente o teor em bromato presente nas mais diversas matrizes, estes métodos acarretam elevados custos por análise, exigem mão-de-obra altamente especializada e envolvem a utilização de equipamento complexo e de elevado custo, tornando-os dispendiosos. Estes factores explicam a procura contínua de métodos simples, robustos e económicos para monitorizar e controlar os níveis de bromato presentes em águas.

Encontram-se referenciadas na literatura várias metodologias de fluxo contínuo para a determinação do ião bromato, sendo a maior parte dos sistemas propostos baseada na análise por injeção em fluxo (FIA), existindo também um sistema fundamentado na análise por injeção sequencial (SIA). Foram propostas montagens com diversas configurações, associadas a diferentes tipos de detecção. Na tabela 1.2 são apresentadas as principais características dos diferentes sistemas descritos.

O primeiro sistema desenvolvido, proposto por Gordon *et al.* (1994), emprega a reacção de oxidação da clorpromazina pelo ião bromato, formando um radical catiónico estável em meio ácido, detectado espectrofotometricamente a 530 nm. O método envolve a injeção directa da amostra no sistema FIA, que sofre dispersão na solução transportadora, e onde é adicionada a clorpromazina e o ácido clorídrico. A metodologia apresenta como principal limitação a necessidade de realizar o tratamento prévio da amostra, de modo a eliminar potenciais interferentes.

Tabela 1.2. Quadro resumo das diversas metodologias de fluxo para a determinação de bromato em águas.

Matriz	Tipo de sistema	Metodologia	Intervalo de aplicação	Ritmo de determinação / h ⁻¹	DPR / %	LD / µg L ⁻¹	Referência
Águas tratadas por ozonização	FIA	Quantificação do produto da reacção com a clorpromazina por EAM	1 - 30 µg L ⁻¹	24	2,1	0,8	Gordon <i>et al.</i> , 1994
Águas tratadas por ozonização	FIA	Quantificação do produto da reacção com a clorpromazina por EAM	1 - 40 µg L ⁻¹	17	3,0	0,8	Gordon e Bubnis, 1995
Águas minerais	FIA	Quantificação do bromato por ICP-MS	1 - 50 µg L ⁻¹	6	2,8	0,13	Elwaer <i>et al.</i> , 2000
Águas tratadas por ozonização	FIA	Quantificação do produto da reacção com o sulfito por quimioluminescência	0,046 - 64 mg L ⁻¹	120	3,0	10	Esteves da Silva <i>et al.</i> , 2001

DPR: desvio padrão relativo; LD: limite de detecção; FIA: análise por injeção em fluxo; EAM: espectrofotometria de absorção molecular; ICP-MS: espectrometria de massa com plasma de acoplamento indutivo.

Tabela 1.2. Quadro resumo das diversas metodologias de fluxo para a determinação de bromato em águas.

Matriz	Tipo de sistema	Metodologia	Intervalo de aplicação	Ritmo de determinação / h ⁻¹	DPR / %	LD / µg L ⁻¹	Referência
Águas tratadas por ozonização	FIA	Quantificação do produto da reacção com a clorpromazina por EAM	1 - 30 µg L ⁻¹	nd	0,5	0,85	Ingrand <i>et al.</i> , 2002
Águas para consumo humano	CFIA	Determinação potenciométrica utilizando uma solução de Fe(III)-Fe(II)	0,013 - 0,77 mg L ⁻¹	24	5,0	2,5	Ohura <i>et al.</i> , 2004
Águas residuais	SIA	Quantificação do produto da reacção com o 5-bromo-PADAP e tiocianato por EAM	0,18 - 3,00 mg L ⁻¹	45	0,8	150	Van Staden <i>et al.</i> , 2004

DPR: desvio padrão relativo; LD: limite de detecção; FIA: análise por injeção em fluxo; EAM: espectrofotometria de absorção molecular; CFIA: análise por injeção em fluxo circulatório; SIA: análise por injeção sequencial; nd: não disponível.

Gordon e Bubnis (1995) desenvolveram uma metodologia semelhante à descrita anteriormente, com a possibilidade de acoplamento directo ao eluente de uma coluna de cromatografia iónica. Esta metodologia proporciona o incremento da selectividade da clorpromazina como reagente de desenvolvimento de cor, uma vez que espécies químicas potencialmente interferentes são separadas durante o processo cromatográfico.

Elwaer *et al.* (2000) propuseram um sistema de análise por injeção em fluxo, incorporando uma coluna de troca aniónica seguindo-se a quantificação do bromato por espectrometria de massa com plasma de acoplamento indutivo (ICP-MS). O procedimento experimental consiste na utilização de uma microcoluna de troca aniónica polimérica, a qual permite uma separação rápida das espécies com base nas diferenças relativas das afinidades dos iões brometo e bromato. Segundo os autores, o bromato possui menor afinidade para a resina comparativamente ao anião brometo, o qual por sua vez, revela menor afinidade com a solução transportadora contendo malonato. O método desenvolvido apresenta um intervalo de linearidade alargado e proporciona um baixo limite de detecção. Os dados obtidos permitiram concluir que iões presentes em águas minerais, nomeadamente o sulfato, o nitrato e o cloreto não influenciam a eficiência da determinação. Todavia, este método manifesta como desvantagem a elevada duração do ciclo analítico.

Em 2001 (Esteves da Silva *et al.*), surgiu um sistema de fluxo com detecção por quimioluminescência, baseado na reacção do bromato com o sulfito, em meio ácido, na presença de hidrocortisona. A curva de calibração do método é estabelecida através do logaritmo do sinal gerado pelo detector em função do logaritmo da concentração de bromato. Neste trabalho, é adoptada uma estratégia de análise

factorial para o estudo dos parâmetros experimentais. O estudo de iões interferentes demonstra que o cloreto e o brometo provocam a diminuição do sinal analítico. Os autores sugerem, para trabalho futuro, a inclusão de um esquema adaptável à operação em fluxo para eliminação de interferentes, prévio à injeção da amostra, de modo a aumentar a selectividade da metodologia.

Ingrand *et al.* (2002) propuseram uma metodologia de fluxo baseada na reacção espectrofotométrica da clorpromazina com o bromato. O sistema envolve a pré-concentração da amostra, através da utilização de uma microcoluna de troca aniónica constituída por alumina, a qual permite a eluição do bromato previamente à do anião brometo, minimizando possíveis contaminações das amostras seguintes por resíduos das anteriores. É ainda de realçar a particularidade de este sistema utilizar o hidróxido de amónio como transportador e eluente, permitindo o condicionamento periódico da coluna entre amostras.

Muito recentemente, a detecção potenciométrica foi utilizada na determinação de bromato (Ohura *et al.*, 2004), utilizando um sistema de análise por injeção em fluxo circulatório (CFIA). O procedimento envolve a utilização de uma solução de Fe(III)-Fe(II), a qual é reciclada através de um reservatório. O método analítico baseia-se no estabelecimento de uma relação linear entre a concentração de bromato e a diferença de potencial transiente verificada no eléctrodo. Este valor deve-se à formação de brometo consequente da reacção do bromato com o ferro(II) presente na solução tampão. Segundo os autores, a metodologia é passível de ser aplicada à determinação de diversas espécies oxidantes, constituindo uma mais valia em processos de controlo de águas, bem como na monitorização de parâmetros ambientais.

Em 2004, Van Staden *et al.* desenvolveram uma metodologia de análise por injeção sequencial para a determinação de bromato em águas residuais, fundamentada na detecção espectrofotométrica a 550 nm, do produto resultante da reacção do bromato com o 2-(5-bromo-2-piridilazo)-5-(dietilamino)fenol (5-bromo-PADAP), na presença de tiocianato. Este sistema é pouco dispendioso em termos de consumo de reagentes, mas apresenta como limitação a impossibilidade de aplicação a amostras de água para consumo humano, devido ao elevado limite de detecção obtido.

1.4. Análise por injeção em fluxo baseada em multi-seringa (MSFIA)

A análise por injeção em fluxo baseada em multi-seringa (MSFIA), introduzida por Cerdà *et al.* (1999) constitui uma das mais recentes abordagens às técnicas de gestão de fluidos na área da automatização laboratorial. O seu desenvolvimento procurou reunir as vantagens da técnica FIA (Ruzicka e Hansen, 1975) com a robustez da metodologia SIA (Ruzicka e Marshall, 1990), através da combinação das operações multi-canal proporcionadas por sistemas FIA, com a possibilidade de selecção de volumes exactos de amostra e reagentes necessários para a análise, característica da metodologia SIA. Esta nova técnica possibilitou também a exclusão de bombas peristálticas e respectivos tubos de impulsão, empregues nas técnicas predecessoras. Estes tubos, constituídos por material polimérico, manifestam elevado desgaste com o emprego de ácidos e bases concentradas bem como de solventes orgânicos, exigindo substituições frequentes e calibrações periódicas dos sistemas (Cerdà *et al.*, 1999; Miró *et al.*, 2002).

Os sistemas MSFIA apresentam como elemento base a bureta multi-seringa, comercializada pela empresa Crison. Trata-se de uma bomba de pistão multi-canal que proporciona a movimentação simultânea dos êmbolos de quatro seringas, cujas capacidades podem variar entre 0,5 e 25 mL. As seringas encontram-se ligadas a uma barra movimentada pelo motor da bureta automática, controlado por computador através de uma porta série. À saída de cada seringa, está acoplada uma válvula solenóide de três vias e na extremidade oposta encontra-se o êmbolo responsável pelos movimentos de aspiração / propulsão das soluções. Estas válvulas determinam a ligação das seringas ao sistema ou ao reservatório das soluções, consoante se encontram na posição "On" ou "Off", independentemente do sentido do movimento assumido pelo êmbolo (aspiração ou propulsão). O estabelecimento de cada percurso é condicionado pela posição de duas membranas presentes na parte central da válvula. Um percurso é definido através da activação do solenóide, originando a aplicação de uma pressão numa das membranas. O percurso alternativo é estabelecido após o desligar da válvula, através do deslocamento de uma mola helicoidal que permite a reposição da membrana na sua posição inicial (figura 1.2). A bureta multi-seringa é apresentada esquematicamente na figura 1.3.

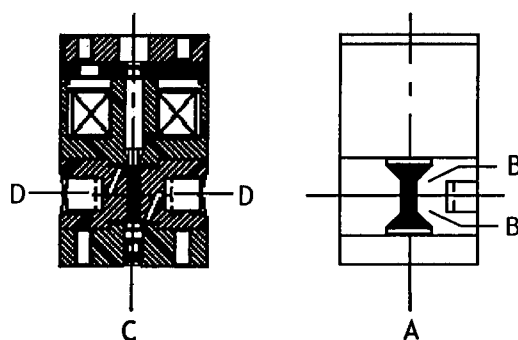


Figura 1.2. Aspecto interior de uma válvula solenóide de três vias. A - núcleo; B - membranas de PTFE; C - mola helicoidal; D - local para a ligação da tubagem.

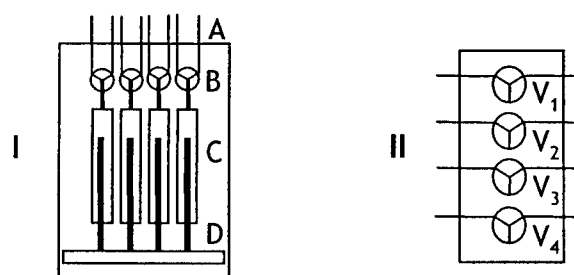


Figura 1.3. Representação esquemática da multi-seringa. I - Esquema frontal: A, tubos; B, válvulas solenóides (V_1 - V_4); C, seringas; D, barra condutora dos pistões. II - Esquema simplificado.

Uma das vantagens deste dispositivo relativamente aos utilizados em outras técnicas de fluxo está relacionada com a constituição dos seus materiais. As extremidades dos êmbolos bem como os dispositivos de ligação da seringa ao sistema e restantes tubagens são constituídas por PTFE (politetrafluoretileno), permitindo a utilização de ácidos e bases fortes bem como solventes orgânicos, uma vez que as soluções contactam exclusivamente com o vidro das seringas e o PTFE das tubagens e revestimentos, os quais constituem materiais resistentes.

A utilização de seringas com diferentes volumes, associada ao número de passos do motor da bureta possibilita a ocorrência de um largo intervalo de caudais e volumes passíveis de utilização. Esta versatilidade de caudais possibilita uma elevada precisão na medição dos volumes de reagentes e amostra seleccionados. As versões mais recentes deste equipamento permitem incorporar válvulas solenóides adicionais na montagem analítica (Cerdà, 2003), possibilitando a criação de uma rede de fluxo,

cuja gestão de fluidos pode ser efectuada de modo semelhante à utilizada em sistemas de multi-comutação (Reis *et al.*, 1994).

Uma outra vantagem associada aos sistemas MSFIA reside na possibilidade de utilização de menores quantidades de reagentes, uma vez que estes são introduzidos na rede de fluxo apenas quando necessários, retornando ao reservatório nas restantes situações, contrariamente ao que acontece em sistemas FIA, nos quais se verifica um movimento contínuo das soluções. Por outro lado, a manipulação dos reagentes pode ocorrer simultaneamente nos quatro canais, o que poderá contribuir para a obtenção de ritmos de determinação superiores relativamente aos obtidos em sistemas SIA (Segundo e Rangel, 2002). A possibilidade de envio simultâneo dos segmentos de amostra e reagentes através de confluências em forma de T ou Y possibilita uma transferência de massa radial facilitada entre as diferentes zonas de contacto. Este facto constitui outra vantagem marcante relativamente à técnica SIA, em que a transferência de massa é predominantemente axial, traduzindo-se num rendimento superior da reacção química em MSFIA, quando reactores com as mesmas dimensões são utilizados (Miró *et al.*, 2002).

Em MSFIA não é habitual recorrer à utilização de uma das seringas do bloco multi-seringa como reservatório de amostra para introdução directa da amostra no sistema de fluxo. Tal procedimento ocasionaria efeitos colaterais indesejáveis, nomeadamente a contaminação das amostras seguintes por resíduos das anteriores (“carryover”, em inglês), o que implicaria vários passos de lavagem entre amostras consecutivas, aumentando significativamente o ciclo analítico. Desta forma, é sempre necessário recorrer a outros dispositivos que permitam a inserção repetível de um dado volume de amostra no sistema (Segundo *et al.*, 2005).

Diversas aplicações foram desenvolvidas recorrendo a sistemas de fluxo baseados em multi-seringa, descritas em cerca de 30 artigos científicos. Grande parte destas publicações abrange determinações de diversos parâmetros de interesse ambiental, geralmente em águas naturais ou residuais, recorrendo à detecção espectrofotométrica UV/Vis (Albertús *et al.*, 1999), fluorimétrica (Armas *et al.*, 2002), potenciométrica (Andrade-Eiroa *et al.*, 2002), por espectrometria de fluorescência atómica com geração de hidretos (Semenova *et al.*, 2002) ou por quimioluminescência (Pizà *et al.*, 2002).

1.5. Enquadramento e objectivos

A atenção crescente dada à presença de bromato em águas para consumo humano tem-se traduzido no controlo por meios legislativos, através da diminuição da sua concentração máxima permitida. Pode considerar-se que o ião bromato ocupa uma posição própria e independente em termos de preocupações ambientais e para a saúde humana, o que denota a tomada de consciência em relação à toxicidade que lhe é inerente, razão pela qual se torna imperativo o seu controlo sistemático em águas para consumo humano.

Com o intuito de minimizar os problemas associados aos métodos cromatográficos utilizados, foram desenvolvidas diversas metodologias, já referidas anteriormente, para a determinação deste ião, baseadas na análise por injeção em fluxo, existindo uma baseada em análise por injeção sequencial. Embora bem sucedidas como técnicas laboratoriais e constituindo ferramentas versáteis para melhorar as potencialidades da análise instrumental, é indispensável realçar algumas

desvantagens que lhes são intrínsecas. A aplicação de sistemas FIA em processos de controlo tem sido dificultada pela sua montagem complexa e elevado consumo de reagentes, características que se tornam proibitivas em termos de custo e de intervenção humana no que respeita ao controlo diário em larga escala. Por outro lado, a metodologia SIA desenvolvida possui um limite de detecção bastante superior ao nível de ião bromato a determinar em águas para consumo humano.

Pretendeu-se assim criar uma alternativa simples aos métodos já existentes para a determinação de ião bromato, mais adequada às necessidades contemporâneas, em termos de automatização das metodologias analíticas, limite de detecção requerido para a análise em causa, bem como consumo de reagentes e quantidade de efluentes gerados. Deste modo, é objectivo do trabalho experimental descrito na presente dissertação, o desenvolvimento de um sistema de análise por injeção em fluxo baseado em multi-seringa aplicado à determinação de ião bromato em águas para consumo humano.

2.

MATERIAL E MÉTODOS

2.1. Reagentes e soluções

Durante o trabalho experimental foi utilizada água ultra-pura com resistividade superior a 18 MΩ cm, obtida a partir de um sistema MilliQ (Millipore). Todos os reagentes usados possuíam qualidade analítica ou semelhante, não tendo sido submetidos a qualquer tratamento para purificação adicional.

Para a preparação de soluções de concentração rigorosa foi utilizado material de vidro de classe A ou equivalente. A medição de volumes rigorosos, iguais ou inferiores a 5000 µL, foi efectuada recorrendo a pipetas de volumes reguláveis calibradas periodicamente, com pontas de plástico descartáveis (modelos P100, P1000 e P5000, Gilson).

Todas as pesagens de reagentes sólidos foram efectuadas numa balança analítica (modelo AG 285, Mettler Toledo).

Os padrões de bromato envolvidos no traçado das curvas de calibração foram preparados diariamente, por diluição rigorosa em água a partir de uma solução padrão mais concentrada com a concentração de 1,000 g L⁻¹, obtida através da pesagem de bromato de potássio (Merck) e respectiva dissolução em água.

As soluções de cada uma das fenotiazinas foram obtidas diariamente, por dissolução em água dos respectivos reagentes sólidos (Sigma-Aldrich), resultando em soluções de clorpromazina 750 mg L⁻¹ (2,11 mmol L⁻¹), trifluoperazina 500 mg L⁻¹ (1,05 mmol L⁻¹) e tioridazina 500 mg L⁻¹ (1,23 mmol L⁻¹).

Para a dissolução da fenotiazina e da 2-(trifluorometil)fenotiazina (Sigma-Aldrich), foram utilizadas soluções concentradas de ácido acético glacial ($d = 1,05$; Merck), etanol ($d = 0,79$; Merck), e N,N-dimetilformamida ($d = 0,95$; Promega).

As soluções de ácido sulfúrico usadas foram preparadas por diluição apropriada de uma solução comercial concentrada ($d = 1,84$; Merck) em água.

As soluções de ácido clorídrico utilizadas foram obtidas por diluição apropriada de uma solução comercial concentrada ($d = 1,18$; 37 % m/m; Pronalab) em água.

Para a preparação da solução de ferro (II), procedeu-se à dissolução de $\text{FeSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$ (Sigma) em água.

A solução de ácido amidossulfônico foi preparada por dissolução de 20,0 g do respectivo sólido (Merck) em 200,0 mL de água.

A solução de sulfito foi obtida por dissolução de 15,8 g de sulfito de sódio (Riedel-de Haën) em 100,0 mL de água, resultando numa solução com a concentração de 100 g L^{-1} em ião sulfito.

Para testar possíveis interferências, prepararam-se soluções padrão de bromato 0,250 mg L^{-1} às quais se adicionaram volumes variáveis de uma solução contendo a espécie a avaliar com uma concentração de 1000 mg L^{-1} . As soluções concentradas das espécies potencialmente interferentes foram obtidas por dissolução em água de cloreto de potássio (Sigma-Aldrich), sulfato de potássio (Riedel-de Haën), fluoreto de sódio (Merck), cloreto de cálcio (Merck), cloreto de magnésio (Riedel-de Haën), brometo de potássio (Merck), iodeto de potássio (Merck), nitrito de potássio (Fluka),

nitrato de potássio (Merck), hipoclorito de sódio (Aldrich), clorito de sódio (Fluka), clorato de potássio (Sigma) e sulfito de sódio (Riedel-de Haën).

2.2. Instrumentação e componentes do sistema de fluxo

Os espectros de absorção do produto de oxidação resultante da reacção entre o bromato e cada uma das fenotiazinas solúveis em água foram obtidos num espectrofotómetro de duplo feixe (modelo Lambda 45, Perkin Elmer), utilizando células de quartzo, com um volume de 1000 µL e um percurso óptico de 10 mm.

Para o estudo da temperatura, recorreu-se à utilização de um banho termostático (modelo Tectron 3473100, Selecta).

Todas as medições de pH foram efectuadas através de um milivoltímetro (modelo GLP 22, Crison) equipado com um eléctrodo combinado de vidro (modelo 52-02, Crison).

A montagem do sistema MSFIA compreendeu como componentes básicos uma bureta de pistão multisinga, duas válvulas solenóides e um espectrofotómetro, ligados entre si e comandados por computador.

Como dispositivo de gestão de fluidos foi utilizada uma multisinga (modelo BU 4S, Crison) equipada com quatro seringas (Microliter, Hamilton), com as capacidades de 2,50, 5,00 e 10,00 mL. Foram usadas seringas de vidro, comportando êmbolos de metal, sendo a extremidade que permaneceu em contacto com a solução constituída por politetrafluoretileno (PTFE). O movimento completo do êmbolo da seringa foi de 5000 passos, sendo o volume correspondente a cada passo dependente do volume da

seringa utilizada. O modelo em causa permitiu ainda o acoplamento e controlo de uma quantidade máxima de doze válvulas solenóides por ligação às quatro saídas digitais localizadas na parte posterior do equipamento. Utilizou-se um conjunto de duas válvulas solenóides de três vias (modelo 161T031, NResearch) para a introdução da amostra no sistema.

Como sistema de detecção, foi utilizado um espectrofotómetro UV/Vis (modelo Helios γ , ThermoUnicam), equipado com uma célula de fluxo (referência 75.3Q, Starna Brand), com um volume de 140 μ L e um percurso óptico de 20 mm.

Os sinais analíticos foram registados em papel num registador (BD111, Kipp & Zonen), acoplado ao sistema de detecção. Foi também efectuada a aquisição do sinal analítico através da conversão do sinal analógico proveniente do espectrofotómetro recorrendo a uma placa PCL-711B (Advantech) a uma frequência de 3 Hz.

O controlo do equipamento envolvido na montagem descrita foi realizado utilizando um computador, através da porta de comunicação RS-232. Utilizou-se um software elaborado em Microsoft Quick Basic 4.5, de forma a permitir o controlo dos dispositivos, bem como a aquisição do sinal analítico. Este programa possibilitou o controlo do sentido e da velocidade de deslocamento do êmbolo da multiseringa, assim como a definição das posições de activação ("On") ou desactivação ("Off") de todas as válvulas solenóides.

As ligações dos diferentes componentes do sistema foram efectuadas através de tubos com um diâmetro interno de 0,8 mm e ligadores, ambos constituídos por PTFE (Omnifit). Em toda a tubagem, foi utilizada uma configuração linear, exceptuando os

tubos de reacção TR1 e TR2, nos quais figuraram nós aleatórios. Para a ligação de três tubos, recorreu-se à utilização de confluências de metacrilato em forma de Y.

2.3. Montagem e funcionamento do sistema de fluxo

A primeira parte do trabalho experimental centrou-se no desenvolvimento de uma montagem para a determinação do ião bromato em águas, considerando factores determinantes para a obtenção de um método rápido, económico, preciso, exacto, sensível e com um baixo limite de detecção. Para tal, foi necessária a realização de procedimentos que visaram o estudo das características físicas do sistema: temperatura da reacção, percurso óptico da célula de fluxo, ordem de adição dos reagentes, volume de amostra, caudais, forma e comprimento dos reactores.

A figura 2.1 representa um esquema da montagem final do sistema em cada uma das etapas do ciclo analítico. Utilizando esta montagem, foram realizados diversos estudos relativos aos parâmetros da reacção química envolvendo cada uma das fenotiazinas avaliadas, nomeadamente a concentração dos reagentes, a presença de espécies interferentes e a eliminação em linha dos interferentes.

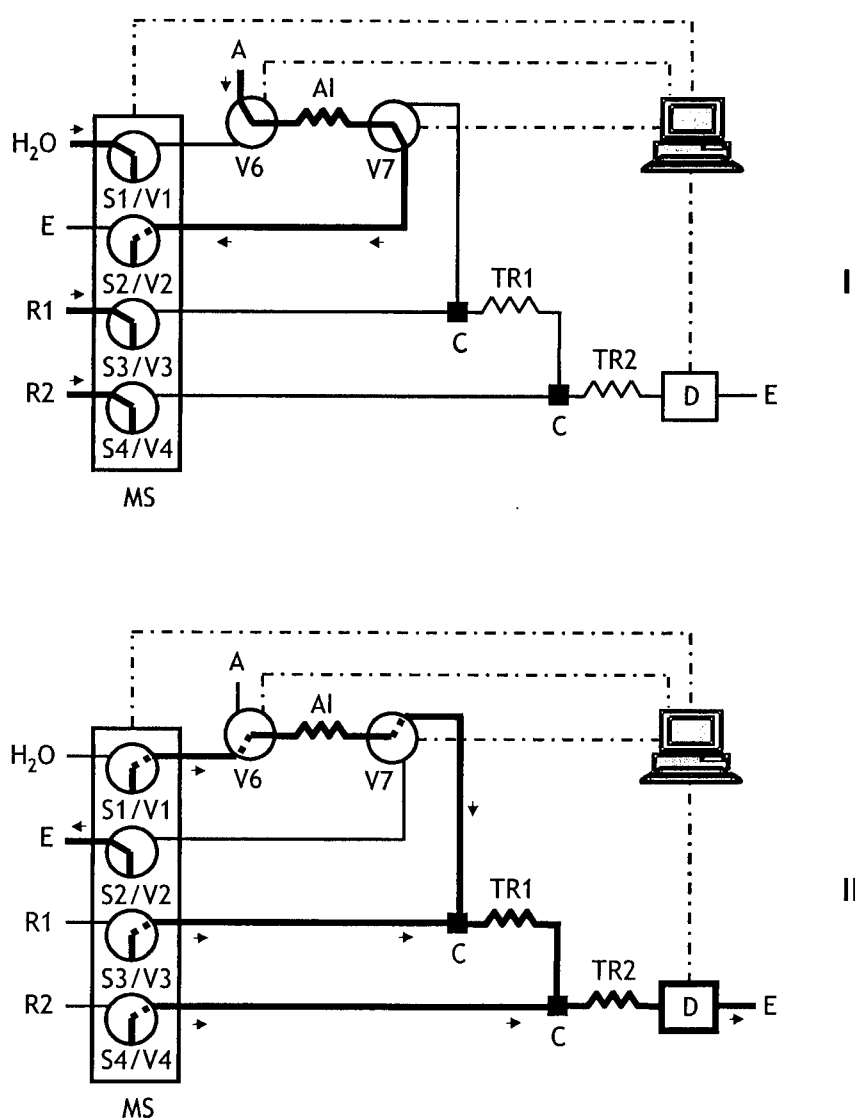


Figura 2.1. Representação esquemática da montagem analítica utilizada para a determinação de bromato em águas, em que o movimento dos fluidos nos diferentes canais está realizado em negrito para a primeira (I) e segunda (II) etapas do ciclo analítico. MS: multi-seringa, S_i : seringa ($S_1 = S_2 = 10,00$ mL, $S_3 = 2,50$ mL, $S_4 = 5,00$ mL), V_i : válvula solenóide na posição "On" (traço contínuo) ou "Off" (traço descontínuo), D: espectrofotómetro, C: confluência, TR_{*i*}: tubo de reacção ($l_{TR1} = 60$ cm e $l_{TR2} = 160$ cm), AI: alça de injeccção (1000 μ L), R1: fenotiazina, R2: ácido clorídrico, A: amostra ou padrão, E: esgoto.

O ciclo analítico desenvolvido encontra-se representado na tabela 2.1. Este ciclo compreendeu duas etapas executadas num período de tempo de 103 segundos. Na primeira etapa (I), procedeu-se simultaneamente ao enchimento parcial das seringas com as respectivas soluções e ao preenchimento da alça de injeção com a solução padrão ou amostra. Na segunda etapa (II), por inversão do sentido do fluxo, os reagentes foram adicionados sequencialmente à amostra, sendo inicialmente misturada com a fenotiazina no tubo de reacção TR1, e seguidamente adicionado o ácido clorídrico com posterior mistura no tubo de reacção TR2. O produto da reacção formado foi enviado através do detector, obtendo-se o sinal analítico.

Tabela 2.1. Ciclo analítico para a determinação de bromato em águas. Os volumes e caudais indicados correspondem à seringa 1 (10,00 mL).

Etapa	Descrição	Volume / μL	Tempo / s	Caudal / mL min ⁻¹
I	Enchimento das seringas e da alça de injeção	4000	24	10,0
II	Injeção da amostra (H ₂ O como transportador), adição dos reagentes (HCl e fenotiazina), formação do produto corado, detecção e aquisição do sinal analítico	4000	69	3,5

2.4. Estudo das variáveis e avaliação das características de funcionamento do método

Durante o desenvolvimento da metodologia automática proposta realizaram-se diversos estudos tendo em vista a melhoria das características do sistema,

nomeadamente o aumento da sensibilidade, da exactidão, da precisão e do ritmo de amostragem, e a diminuição do limite de detecção. Todos estes factores influenciaram as escolhas efectuadas durante o estudo das características de funcionamento do sistema. Este estudo foi realizado pelo método univariante, o qual consistiu em variar, num determinado intervalo, o parâmetro objecto de estudo, mantendo fixos todos os restantes.

Utilizou-se como sinal analítico o valor máximo de absorvância registado a partir do sinal transiente originado pela passagem do segmento do produto reaccional corado pelo detector. O traçado da curva de calibração foi efectuado utilizando o valor máximo de absorvância obtido em função das concentrações de bromato presentes nas soluções padrão.

Considerou-se o limite de detecção como o valor mínimo de concentração (C_{LD}) para o qual se consegue obter uma resposta analítica (Y_{LD}) significativamente diferente do ruído de fundo ou do valor de um branco (IUPAC, 1976; IUPAC, 1995). O valor de Y_{LD} foi obtido através da equação $Y_{LD} = b + 3 S_{y/x}$, onde b corresponde à ordenada na origem e $S_{y/x}$ refere-se ao desvio padrão da regressão. Este foi calculado através da equação $S_{y/x} = [\sum(y_i - \hat{y}_i)^2 / (n-2)]^{1/2}$, em que y_i corresponde aos valores obtidos experimentalmente, \hat{y}_i representa os pontos calculados a partir da equação da recta para cada valor de x e n corresponde ao número de pontos. A concentração mínima detectável C_{LD} foi determinada através da substituição do valor de Y_{LD} na equação da recta $Y_{LD} = \text{declive } C_{LD} + b$ (Miller e Miller, 1993).

O limite de quantificação foi definido como o limite mais baixo para determinações quantitativas, em oposição à detecção qualitativa. Na prática, calculou-se este valor,

substituindo o valor de Y_{LQ} na equação da recta $Y_{LQ} = \text{declive } C_{LQ} + b$, em que Y_{LQ} é dado pela equação $Y_{LQ} = b + 10 S_{y/x}$ (Miller e Miller, 1993).

Para avaliar a exactidão da metodologia, procedeu-se à realização de ensaios de recuperação em água MilliQ e em água da torneira, utilizando três níveis de concentração para cada matriz. O procedimento consistiu em adicionar pequenas quantidades de uma solução padrão comercial com a concentração de $1000 \mu\text{g mL}^{-1}$ de ião BrO_3^- (LGC, referência U-ICC-010) a balões volumétricos contendo 1000 mL de cada uma das águas a analisar. Após a adição da espécie a dosear, as soluções foram injectadas no sistema, calculando-se a concentração de bromato presente na solução por interpolação directa do sinal analítico obtido na recta de calibração previamente estabelecida. A percentagem de recuperação foi determinada através da razão entre o valor de concentração obtido pela análise no sistema proposto e o valor teórico originado após a adição.

A precisão da metodologia desenvolvida foi avaliada através do cálculo do desvio padrão relativo (DPR), expresso em percentagem, de um conjunto de dez injeções de duas soluções padrão contendo 100 e $250 \mu\text{g L}^{-1}$ de bromato, calculando-se a concentração média obtida e o respectivo desvio padrão.

O cálculo do número de determinações por hora foi efectuado tendo em conta o período de tempo necessário para a realização de todas as etapas da sequência analítica, resultando na soma do tempo gasto em cada passo do ciclo acrescido do tempo requerido para a comunicação de instruções entre o computador e os restantes dispositivos do sistema.

Com o objectivo de aplicar a metodologia proposta à determinação do bromato em águas para consumo, procedeu-se ao estudo do efeito dos seguintes iões: cloreto, fluoreto, sulfato, cálcio, magnésio, iodeto, brometo, nitrito, nitrato, hipoclorito, clorito e clorato. A escolha das concentrações utilizadas para cada espécie baseou-se nos valores máximos admissíveis ou nos valores paramétricos de cada ião presente em águas para consumo humano, especificados na legislação portuguesa (Decreto-Lei nº 243/2001; Decreto-Lei nº 236/98). Considerando esses valores, preparou-se uma solução contendo o ião a testar, à qual se adicionou uma concentração de 0,250 mg L⁻¹ de ião bromato. Foram consideradas interferentes as espécies que provocaram um desvio relativo superior a cinco por cento no valor do sinal analítico. Para cada espécie considerada interferente, preparou-se uma série de padrões, contendo apenas o ião em causa. Estes padrões foram preparados num intervalo de concentrações de modo a incluir o valor máximo admissível ou valor paramétrico da espécie a estudar, sendo injectados no sistema de fluxo nas mesmas condições de operação utilizadas para o bromato. A extensão da interferência foi avaliada através da comparação entre o declive obtido para a reacção da espécie interferente com a fenotiazina e o declive obtido para a reacção do bromato, nas mesmas condições.

3.

RESULTADOS E DISCUSSÃO

3.1. Estudo das condições de funcionamento do sistema de fluxo

Foram efectuados estudos sobre as variáveis físicas do sistema de fluxo, cujos valores foram seleccionados, tendo em vista o aumento da sensibilidade e a diminuição do limite de detecção da metodologia analítica. Posteriormente, procedeu-se ao estudo das propriedades químicas que condicionam a reacção de desenvolvimento de cor baseada na oxidação de compostos da família das fenotiazinas, nomeadamente a clorpromazina, a trifluoperazina, a tioridazina, a 2-trifluorometil(fenotiazina) e a fenotiazina.

3.1.1. Estudo dos parâmetros físicos

Todos os parâmetros físicos foram estudados, utilizando apenas a clorpromazina como reagente de desenvolvimento de cor.

3.1.1.1. Temperatura

O estudo da temperatura foi efectuado, colocando o tubo de reacção TR2 num banho termostático, que permitiu a variação da temperatura entre 20 e 60°C. Este estudo foi efectuado através do estabelecimento de curvas de calibração, utilizando 200 µL de soluções padrão contendo 100 - 6000 µg L⁻¹ de ião bromato, clorpromazina 1,41 mmol L⁻¹ e HCl 6,0 mol L⁻¹. Nesta experiência, foi utilizada uma célula de fluxo com um percurso óptico de 10 mm. A figura 3.1 revela que a temperatura não teve qualquer influência na sensibilidade da reacção, pelo que, o estudo dos restantes parâmetros foi efectuado à temperatura ambiente.

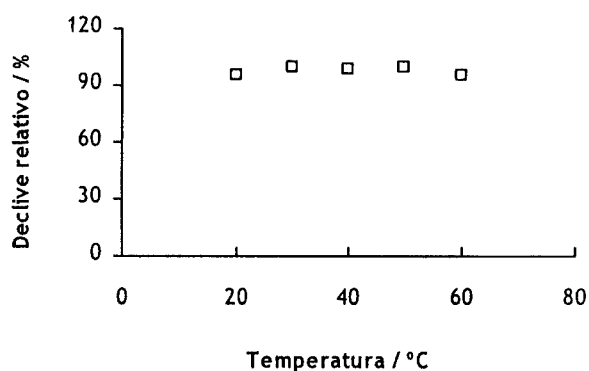


Figura 3.1. Estudo da influência da temperatura na sensibilidade da reacção entre o ião bromato e a clorpromazina.

3.1.1.2. Percurso óptico da célula de fluxo

Com o objectivo de diminuir o limite de detecção e aumentar a sensibilidade da metodologia, efectuou-se um estudo de forma a avaliar a influência do percurso óptico da célula de fluxo nestes dois parâmetros. Esta experiência consistiu em realizar curvas de calibração utilizando soluções padrão de bromato num intervalo de concentrações compreendido entre 50 e 750 $\mu\text{g L}^{-1}$, utilizando células de fluxo de 10 e 20 mm. Para tal, utilizou-se um volume de amostra de 1000 μL , clorpromazina com a concentração de 1,41 mmol L^{-1} e HCl 6,0 mol L^{-1} .

Utilizando a célula de 20 mm de percurso óptico, foi obtida uma sensibilidade duas vezes superior relativamente à célula de 10 mm. Estes resultados demonstraram ser consistentes com a lei de Lambert-Beer, a qual refere a existência de proporcionalidade directa entre a absorvância e o percurso óptico da célula. Os resultados obtidos estão representados na figura 3.2.

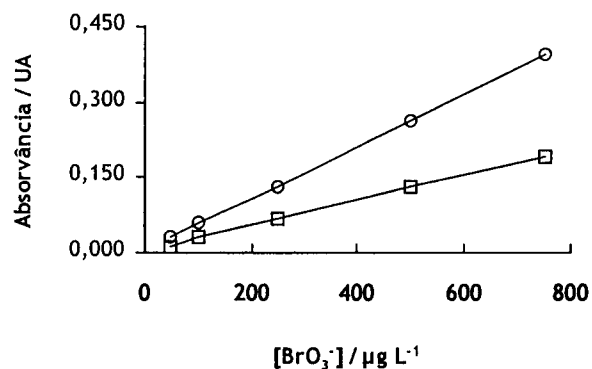


Figura 3.2. Curvas de calibração obtidas para células de fluxo com percurso óptico de 10 (□) e 20 mm (○).

No entanto, utilizando a célula de 20 mm, verificou-se a formação de um pico imediatamente antes do aparecimento do pico relativo ao produto da reacção, conforme demonstrado na figura 3.3.

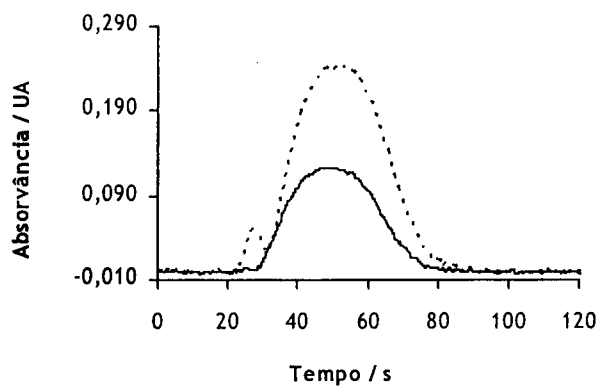


Figura 3.3. Sinais analíticos obtidos utilizando células de fluxo com percurso óptico de 10 mm (traço contínuo) e de 20 mm (traço descontínuo), correspondentes a uma solução padrão de bromato com a concentração de $500 \mu\text{g L}^{-1}$.

Este primeiro pico é provavelmente um artefacto causado pela formação de gradientes de índice de refração na interface onde ocorre a mistura entre reagentes e transportador. Este fenómeno, designado por efeito Schlieren, deve-se à formação de intensos gradientes de índice de refração (Zagatto *et al.*, 1990, Rocha e Nóbrega, 1996). No entanto, verificou-se que os picos obtidos possuíam formas diferentes e os respectivos máximos de absorvância não eram simultâneos, não afectando a leitura do sinal do sinal analítico (segundo pico), o que permitiu a escolha da célula de fluxo de 20 mm para a realização das experiências seguintes.

3.1.1.3. Sequência de adição dos reagentes

A ordem pela qual os diferentes reagentes são adicionados e consequentemente se misturam influencia o desenvolvimento da reacção química e a dispersão da amostra (Ruzicka e Hansen, 1988). Por outro lado, a formação do produto de oxidação, mostrou ser afectada pela ordem de adição dos reagentes, mesmo em estudos efectuados por métodos discretos (Gordon *et al.*, 1994; Farrel *et al.*, 1995).

Neste estudo, foram realizadas curvas de calibração, utilizando 1000 μL de soluções padrão de bromato com concentrações compreendidas entre 25 e 750 $\mu\text{g L}^{-1}$, 2,11 mmol L^{-1} de clorpromazina e $\text{HCl } 7,0 \text{ mol L}^{-1}$. Foram estudadas quatro possíveis ordens de adição dos reagentes, designadas I a IV. Para cada sequência de adição, foi necessário efectuar algumas modificações numa secção da montagem, resultando em quatro configurações diferentes, as quais estão representadas na figura 3.4.

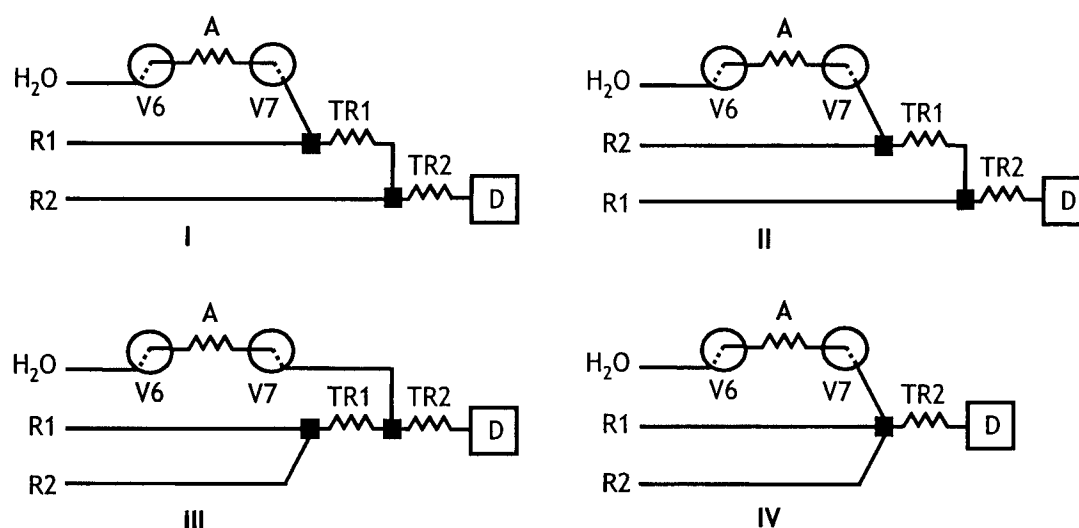


Figura 3.4. Representação esquemática da secção da montagem analítica que foi sujeita a variações de acordo com a ordem pretendida de adição dos reagentes: sequências I, II, III e IV. V_i : válvula solenóide na posição Off (traço descontínuo), D: espectrofotómetro, TR_i : tubo de reacção ($l_{TR1} = 60$ cm e $l_{TR2} = 160$ cm), A: amostra (1000 μ L), R1: clorpromazina 2,11 mmol L^{-1} , R2: HCl 7,0 mol L^{-1} , E: esgoto.

Tabela 3.1. Quadro resumo das operações efectuadas no estudo das diferentes sequências de adição dos reagentes.

Sequência	Tubo de reacção TR1	Tubo de reacção TR2
I	Mistura da amostra com a clorpromazina	Adição de HCl
II	Mistura da amostra com HCl	Adição de clorpromazina
III	Mistura da clorpromazina com HCl	Adição da amostra
IV	---	Mistura da amostra com a clorpromazina e com o HCl

A ordem de adição I consistiu em adicionar clorpromazina à amostra em confluência, com mistura no tubo de reacção TR1, adicionando-se posteriormente ácido clorídrico com formação do produto final no tubo de reacção TR2. Na ordem de adição II, a

amostra foi misturada com o ácido clorídrico, sendo de seguida, adicionada a clorpromazina. A ordem de adição III consistiu em adicionar a clorpromazina ao ácido clorídrico, os quais foram misturados no tubo de reacção TR1, adicionando-se de seguida, a amostra com posterior mistura no tubo de reacção TR2. Na ordem de adição IV, foram adicionadas as três soluções simultaneamente, com mistura no tubo de reacção TR2. Nesta experiência, foi necessária a utilização de uma confluência de quatro entradas, removendo-se as confluências previamente utilizadas juntamente com o tubo de reacção TR1, de forma a possibilitar a adição à amostra de ambos os reagentes em simultâneo. As diferentes operações efectuadas encontram-se resumidas na tabela 3.1.

Os resultados obtidos são apresentados na figura 3.5, tendo-se verificado que as sequências de adição I e III permitiram a obtenção de valores de sensibilidade semelhantes, com apenas uma diferença de 4%, e superiores às restantes sequências.

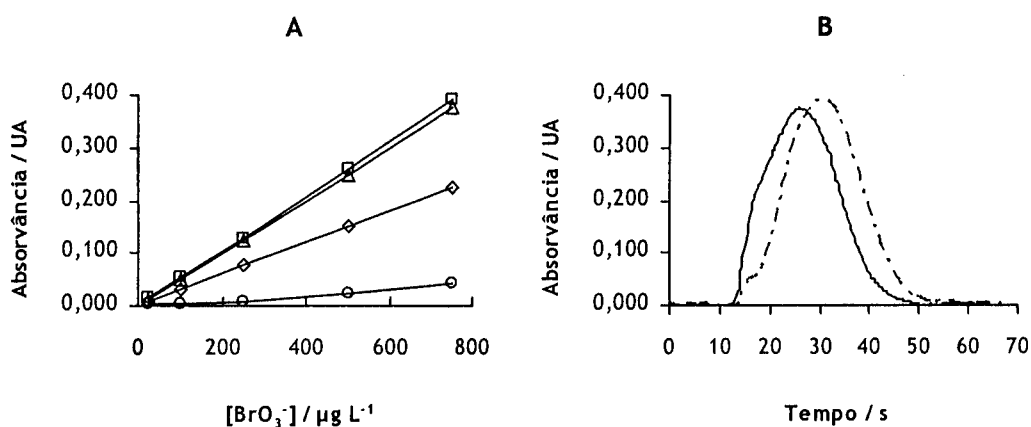


Figura 3.5. (A) Efeito da sequência de adição dos reagentes na reacção entre o BrO_3^- e a clorpromazina: ordem I (\square), ordem II (\circ), ordem III (Δ), ordem IV (\diamond). (B) Comparação da forma dos picos obtidos para as ordens de adição I (traço descontínuo) e III (traço contínuo), utilizando uma solução padrão de bromato com a concentração de $750 \mu\text{g L}^{-1}$.

A diferença entre estas sequências residiu no perfil do pico, tendo-se observado, na ordem de adição I, uma melhor diferenciação entre o pico de Schlieren e o pico relativo ao produto corado.

No entanto, utilizando as ordens de adição II e IV, obtiveram-se valores de sensibilidade de 10 e 58% da sensibilidade obtida utilizando a ordem I, bem como a ocorrência de diminuição do intervalo de linearidade. A diminuição significativa da sensibilidade observada quando o ácido clorídrico foi adicionado à amostra antes da adição da clorpromazina (caso II) ou simultaneamente (caso IV) pode dever-se à redução do ião bromato a anião brometo por outras espécies eventualmente presentes nas soluções (Farrel *et al.*, 1995). Para evitar esta ocorrência, a fenotiazina deve ser adicionada ao bromato antes da adição do ácido clorídrico para a obtenção de maior sensibilidade. Deste modo, a ordem de adição I foi utilizada nas restantes experiências do trabalho experimental.

3.1.1.4. Estudo do caudal na etapa de determinação

Com o objectivo de diminuir o tempo necessário à execução do ciclo analítico que se traduz no aumento do ritmo de determinação, foram avaliados os caudais utilizados na etapa de mistura da amostra com os reagentes e respectiva formação do produto da reacção. Para tal, foram estabelecidas curvas de calibração utilizando as mesmas condições descritas na secção anterior (3.1.1.3). Foram testados caudais globais de envio para a célula de fluxo compreendidos entre 3,5 e 7,0 mL min⁻¹, o que corresponde a intervalos de caudais compreendidos entre 2,0 e 4,0 para a seringa 1 (transportador), 1,0 e 2,0 para a seringa 3 (clorpromazina 2,11 mmol L⁻¹) e 0,50 e 1,0 para a seringa 4 (HCl 7,0 mol L⁻¹).

Atendendo aos resultados obtidos, apresentados na figura 3.6, verifica-se que o caudal de envio para o detector não altera significativamente a sensibilidade, o que permite concluir que é possível aumentar o ritmo de determinação através do aumento do caudal sem comprometer a sensibilidade da metodologia. No entanto, a utilização de caudais muito elevados pode conduzir à existência de sobrepressão no sistema, factor que pode danificar as válvulas solenóides. Deste modo, foi seleccionado o caudal global de $6,1 \text{ mL min}^{-1}$ para as restantes experiências como solução de compromisso entre o ritmo de determinação e o bom funcionamento das válvulas solenóides.

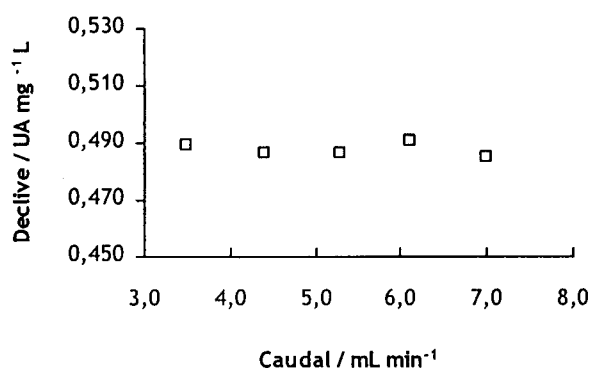


Figura 3.6. Declives obtidos pelo estabelecimento de curvas de calibração em que a etapa de mistura de reagentes foi efectuada a diferentes caudais, num intervalo compreendido entre $3,5$ e $7,0 \text{ mL min}^{-1}$.

3.1.1.5. Dimensões e geometria dos tubos de reacção

No método automático proposto foi necessária a utilização de dois tubos de reacção, TR1 e TR2, de forma a assegurar o estabelecimento da sequência de adição dos reagentes previamente estudada. O primeiro teve como objectivo assegurar a mistura entre o ião bromato e a clorpromazina. O segundo permitiu a formação do

produto corado resultante da adição do ácido clorídrico ao composto previamente formado no TR1.

Nesta experiência, optou-se por estudar primeiro o comprimento dos tubos de reacção, procedendo de seguida ao estudo da geometria dos mesmos. Para cada procedimento, foram estabelecidas curvas de calibração utilizando condições experimentais iguais às descritas na secção 3.1.1.3.

Foram utilizados reactores enrolados em espiral, utilizando tubo com 0,8 mm de diâmetro interno. Para o estudo do tubo de reacção TR1, foram testados comprimentos de 40, 60, 80 e 100 cm, os quais correspondem a volumes aproximados de 200, 300, 400 e 500 μL , respectivamente. O estudo do tubo de reacção TR2 foi efectuado variando o comprimento do respectivo tubo num intervalo compreendido entre 80 e 400 cm, correspondendo a um intervalo de volumes entre 400 e 2000 μL . Analisando a figura 3.7, verifica-se que o volume do tubo de reacção TR1 não afecta o valor de sensibilidade do método. Foi seleccionado o tubo de reacção de 60 cm (300 μL), uma vez que este demonstrou ser o suficiente para a obtenção de uma boa mistura entre o bromato e a clorpromazina.

Relativamente ao tubo de reacção TR2, observou-se uma diminuição da sensibilidade com o aumento do volume do reactor, apesar do aumento do tempo de residência proporcionado pelos reactores mais longos. Esta diminuição da sensibilidade, mais visível para o reactor de 400 cm (2000 μL) é provavelmente devida ao aumento da dispersão observada para reactores mais longos. Utilizando tubos de reacção de 80 e 120 cm (400 e 600 μL), observaram-se valores muito elevados de índices de refracção, permitindo concluir que o comprimento destes reactores não era suficiente para a obtenção de uma boa mistura. Os reactores de 200 e 300 cm,

correspondentes a volumes aproximados de 1000 e 1400 μL proporcionaram a obtenção de sensibilidades semelhantes à obtida utilizando o reactor de 160 cm, mas não foram seleccionados devido a acarretarem o aumento do tempo necessário à execução do ciclo analítico. Escolheu-se o reactor de 160 cm (800 μL) como tubo de reacção TR2 pois, comparativamente aos reactores mais curtos, foi observado um menor efeito do índice de refração.

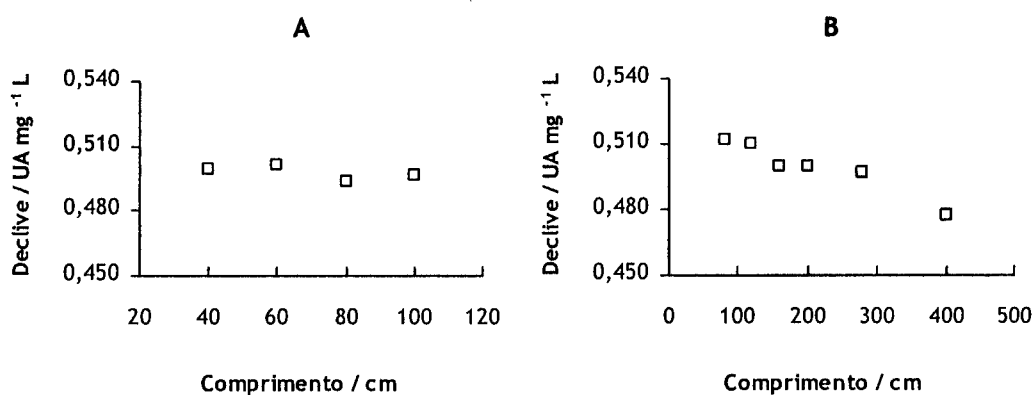


Figura 3.7. Influência do comprimento dos tubos de reacção TR1 (A) e TR2 (B) na sensibilidade da reacção entre o ião bromato e a clorpromazina.

Após a escolha das dimensões dos reactores, avaliou-se a geometria que proporcionava a melhor mistura e a menor dispersão do produto no sistema. Foram testados reactores enrolados em forma de espiral e reactores com nós aleatórios. A utilização de reactores com nós aleatórios originou um aumento de cerca de 2,6% no valor da sensibilidade, possuindo ainda a vantagem de permitir uma melhor diferenciação entre o pico do índice de refração e o pico relativo ao produto corado, conforme se pode observar através da figura 3.8. De facto, este reactor tem sido descrito como o que fornece melhores condições de mistura, uma vez que proporciona uma intensificação do transporte radial e limita o transporte ao longo do

eixo de escoamento (Marshall e Van Staden, 1992). Deste modo, foram utilizados nós aleatórios em ambos os reactores nas experiências subsequentes.

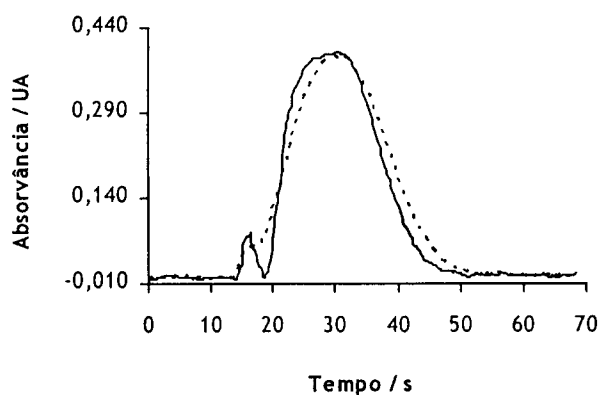


Figura 3.8. Sinais analíticos obtidos utilizando tubos de reacção com geometrias diferentes: espiral (traço descontinuo) e nós aleatórios (traço contínuo), correspondentes a uma solução padrão de bromato com a concentração de $750 \mu\text{g L}^{-1}$.

3.1.1.6. Volume de amostra

Tendo como objectivo incrementar a sensibilidade da metodologia, estudou-se o volume de amostra. Para tal, foram realizadas curvas de calibração injectando volumes num intervalo compreendido entre 400 e 2000 μL de soluções padrão contendo 25 - 750 $\mu\text{g L}^{-1}$ de bromato, utilizando as concentrações de 1,41 mmol L^{-1} de clorpromazina e HCl 6,0 mol L^{-1} . Atendendo aos resultados representados na figura 3.9, conclui-se que o volume de amostra constitui um parâmetro importante em termos de sensibilidade da reacção.

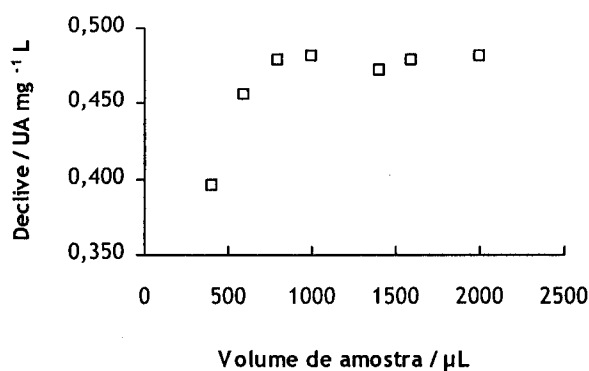


Figura 3.9. Declives obtidos utilizando diversos volumes de amostra, compreendidos entre 400 e 2000 μL .

Deste estudo, verificou-se uma maior sensibilidade utilizando volumes superiores a 800 μL , tendo-se obtido declives para volumes de amostra de 400 e 600 μL correspondentes a 82 e 95% do valor do declive obtido quando utilizado um volume de 800 μL . Para volumes superiores, a sensibilidade manteve-se praticamente constante, permitindo concluir que este volume foi o suficiente para minimizar a diluição da amostra devida à dispersão no transportador. De forma a garantir a obtenção de máxima sensibilidade e minimizar a diluição da amostra, seleccionou-se o volume de 1000 μL para as experiências seguintes.

3.1.2. Estudo dos parâmetros químicos

Após a realização de uma pesquisa prévia acerca da disponibilidade comercial dos compostos da família das fenotiazinas, verificou-se que se encontravam catalogados cerca de vinte compostos, em que a maior parte só seria disponibilizada mediante encomenda. Tendo em conta o custo e a disponibilidade para fornecimento imediato,

seleccionaram-se para estudo os seguintes compostos: fenotiazina, clorpromazina, trifluoperazina, tioridazina e 2-trifluorometil(fenotiazina).

3.1.2.1. Utilização da clorpromazina

A clorpromazina foi sugerida por alguns autores como sendo um reagente que proporciona a obtenção de elevada sensibilidade na determinação do ião bromato (Gordon *et al.*, 1994; Farrel *et al.*, 1995; Gordon e Bubnis, 1995; Walters *et al.*, 1997; Ingrand *et al.*, 2002).

Com o objectivo de determinar o comprimento de onda mais adequado a utilizar na determinação pretendida, foi traçado o espectro de absorção correspondente ao composto corado formado após reacção do bromato com a clorpromazina (figura 3.10).

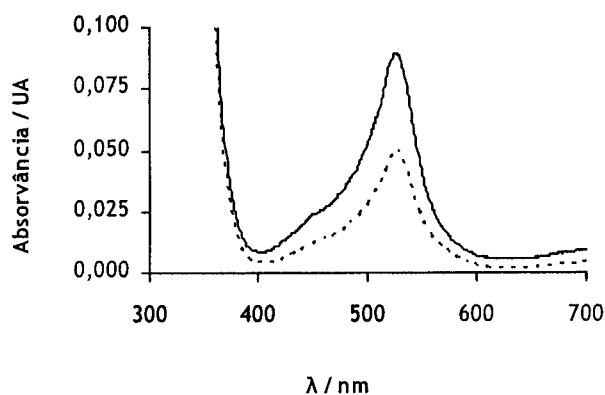


Figura 3.10. Espectro de absorção correspondente ao produto de oxidação resultante da reacção entre o bromato e a clorpromazina. O ensaio a branco está representado pela linha descontinua.

Para tal, preparou-se um ensaio contendo $100 \mu\text{g L}^{-1}$ de bromato, $0,50 \text{ mmol L}^{-1}$ de clorpromazina e $2,0 \text{ mol L}^{-1}$ de HCl. O ensaio do branco foi preparado de igual modo, mas sem a adição de bromato. Ao comparar os dois espectros, verificou-se a ocorrência de um máximo de absorvância ao comprimento de onda de 525 nm , o qual aumentou com a adição do bromato.

A reacção de oxidação-redução escolhida para a determinação do ião bromato assume uma importância especial uma vez que ocorre em condições muito específicas de acidez. Por esta razão, vários autores propuseram o uso de ácido clorídrico em concentrações superiores a $1,2 \text{ mol L}^{-1}$ no momento da medição (Gordon *et al.*, 1994; Farrel *et al.*, 1995; Gordon e Bubnis, 1995; Walters *et al.*, 1997).

Numa primeira experiência, avaliou-se a influência da concentração de ácido clorídrico na sensibilidade do método. Para tal, foram estabelecidas curvas de calibração através da injeção de $1000 \mu\text{L}$ de diferentes soluções padrão de bromato com concentrações compreendidas entre 25 e $750 \mu\text{g L}^{-1}$, mantendo fixa a concentração de clorpromazina ($1,41 \text{ mmol L}^{-1}$) e variando a concentração de HCl num intervalo compreendido entre $2,0$ e $8,0 \text{ mol L}^{-1}$. Este procedimento foi utilizado em todas as experiências relativas ao estudo da concentração do ácido. Os declives obtidos são apresentados na figura 3.11.

Os resultados obtidos permitem concluir que a concentração de ácido tem uma forte influência na sensibilidade da reacção, tendo-se observado um aumento da sensibilidade com o aumento da concentração de ácido clorídrico. Obtiveram-se valores de sensibilidade de 23, 87, 96 e 98% do declive obtido utilizando a solução de $8,0 \text{ mol L}^{-1}$, para concentrações de ácido clorídrico de $2,0$, $4,0$, $6,0$ e $7,0 \text{ mol L}^{-1}$,

respectivamente. No entanto, o aumento da concentração de ácido traduziu-se num aumento da altura do pico devido ao efeito de Schlieren. Isto deve-se ao facto de as soluções de ácido mais concentradas apresentarem maior viscosidade, dificultando o processo de mistura. Foi escolhida a concentração de ácido clorídrico de $7,0 \text{ mol L}^{-1}$, uma vez que esta permitiu a obtenção de uma sensibilidade muito próxima à obtida utilizando a concentração máxima, possuindo a vantagem de originar sinais analíticos com menor interferência do efeito de Schlieren.

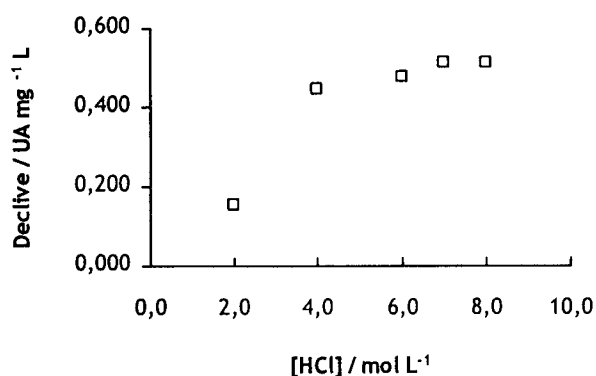


Figura 3.11. Influência da concentração de ácido clorídrico na sensibilidade da metodologia baseada na reacção de oxidação-redução entre o bromato e a clorpromazina.

Com o objectivo de aumentar a sensibilidade da metodologia, realizou-se uma experiência, que consistiu em aumentar o caudal da solução de ácido clorídrico para o dobro, substituindo a seringa de 5,00 mL destinada à propulsão do ácido, utilizada na experiência anterior, por uma de 10,00 mL. Este procedimento teve como objectivo proporcionar a ocorrência da reacção, utilizando concentrações de ácido superiores às utilizadas na experiência anterior, sem recorrer à utilização de ácido comercial concentrado (concentração aproximada de 12 mol L^{-1}) no sistema, uma vez que este poderia danificar o equipamento. A concentração de ácido clorídrico na

célula de fluxo foi calculada através da multiplicação da concentração presente na seringa pela razão entre o caudal da seringa utilizada para o ácido e o caudal total. Deste modo, foram obtidas na célula de fluxo, e portanto, no momento da detecção, valores de concentração de HCl inferiores aos da solução de HCl contida no interior da seringa. Esses valores estão indicados na tabela 3.2, juntamente com os declives obtidos para cada concentração de ácido clorídrico testada.

Tabela 3.2. Valores de concentração de ácido clorídrico utilizados no sistema de fluxo utilizando seringas de 5,00 e 10,00 mL e respectivos declives obtidos.

	Volume da seringa / mL			
	5,00		10,00	
[HCl] _{inicial} / mol L ⁻¹	[HCl] _{final} / mol L ⁻¹	Declive / UA mg ⁻¹ L	[HCl] _{final} / mol L ⁻¹	Declive / UA mg ⁻¹ L
2,0	0,57	0,154	0,89	0,261
4,0	1,1	0,444	1,8	0,377
6,0	1,7	0,475	2,7	0,417
8,0	2,3	0,508	3,6	0,419

Os resultados obtidos demonstram que o aumento do caudal de HCl para o dobro não proporciona um aumento da sensibilidade. Comparando os declives obtidos, utilizando ácido clorídrico 8,0 mol L⁻¹, verificou-se uma diminuição da sensibilidade de cerca de 18% com a seringa de 10,00 mL relativamente à seringa de 5,00 mL. Observou-se ainda que a concentração final de HCl de 1,8 mol L⁻¹ utilizando a seringa de 10,00 mL, proporcionou a obtenção de um declive 21% inferior ao obtido com a concentração final de ácido correspondente a 1,7 mol L⁻¹, utilizando a seringa de

menor caudal. Comparando as concentrações finais de 2,3 e 2,7 mol L⁻¹ proporcionadas pelas seringas de 5,00 e 10,00 mL, respectivamente, obteve-se uma diminuição do declive correspondente a 18% para a segunda situação. O decréscimo dos valores de sensibilidade observado deve-se ao facto de a proporção entre os diversos canais ser fixada pelos volumes das várias seringas envolvidas, afectando também o factor de diluição da amostra. Este foi estimado através da razão entre o caudal total (17,50 e 22,50 mL min⁻¹ utilizando as seringas de 5,00 e 10,00 mL, respectivamente) e o caudal de amostra (10,00 mL min⁻¹). Deste modo, o factor de diluição da amostra revelou ser de 2,25 vezes utilizando a seringa de 10,00 mL e de 1,75 vezes utilizando a seringa de 5,00 mL, tendo-se seleccionado esta para as experiências subsequentes, pois apesar do dobro do caudal de HCl proporcionar o aumento da concentração de ácido no momento da detecção, não foram conseguidos valores de sensibilidade superiores aos obtidos com a seringa de 5,00 mL.

Ainda com o objectivo de aumentar a sensibilidade da reacção e diminuir o limite de detecção, procedeu-se à utilização de ácido sulfúrico em vez de ácido clorídrico. O procedimento consistiu na injeção de 1000 µL de uma solução padrão de bromato com a concentração de 750 µg L⁻¹, mantendo fixa a concentração de clorpromazina (1,41 mmol L⁻¹) e variando a concentração de ácido sulfúrico num intervalo compreendido entre 2,0 e 6,0 mol L⁻¹. Esta experiência teve como fundamento o facto de o ácido sulfúrico possuir dois átomos de hidrogénio em lugar de apenas um presente no ácido clorídrico, permitindo aumentar a concentração de H⁺ no meio sem diluir a amostra, e portanto, utilizando a configuração do início da experiência anterior. Porém, a utilização de ácido sulfúrico não originou a formação do composto corado, resultando na inexistência de qualquer sinal analítico. Uma possível explicação deste resultado reside na hipótese de o produto formado não absorver na

zona do visível ou no comprimento de onda utilizado. No entanto, esta hipótese não foi provada dado não se ter realizado um espectro de absorção do produto originado nestas condições. A solução de ácido clorídrico com a concentração de $7,0 \text{ mol L}^{-1}$ foi seleccionada para a execução das restantes experiências.

As experiências seguintes tiveram como finalidade determinar a concentração mais adequada de clorpromazina para a metodologia desenvolvida. O procedimento experimental consistiu na realização de curvas de calibração através da injeção de $1000 \mu\text{L}$ de soluções padrão de bromato com concentrações compreendidas entre 25 e $750 \mu\text{g L}^{-1}$, mantendo a concentração de $\text{HCl } 7,0 \text{ mol L}^{-1}$ e variando a concentração de clorpromazina num intervalo compreendido entre $0,563$ e $2,85 \text{ mmol L}^{-1}$. Os valores obtidos são apresentados na figura 3.12.

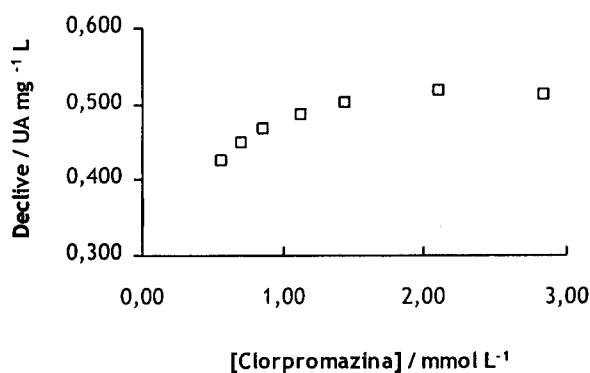


Figura 3.12. Valores de sensibilidade obtidos através do estabelecimento de curvas de calibração utilizando diferentes concentrações de clorpromazina.

Obtiveram-se valores de sensibilidade correspondentes a 82, 87, 90, 94 e 97% do valor obtido utilizando a solução de clorpromazina com a concentração de $2,11 \text{ mmol L}^{-1}$, para soluções contendo $0,563$, $0,711$, $0,856$, $1,13$ e $1,44 \text{ mmol L}^{-1}$ de

clorpromazina, respectivamente. Para concentrações superiores de clorpromazina, a sensibilidade manteve-se constante. Deste modo, o valor de $2,11 \text{ mmol L}^{-1}$ foi seleccionado como o correspondente à concentração mínima que proporcionou a maior sensibilidade, sendo por isso utilizado nas experiências posteriores.

A fase seguinte deste estudo consistiu na utilização de uma solução de clorpromazina $1,41 \text{ mmol L}^{-1}$ como transportador. Esta abordagem teve como objectivo minimizar a diluição da amostra no interior do sistema, através da intercalação da amostra no reagente, ocorrendo mistura a partir da interface. Para tal, a seringa 1 ($10,00 \text{ mL}$) foi preenchida com a solução de clorpromazina, a qual continha água nas experiências anteriores. Numa primeira experiência, a amostra foi intercalada na solução de clorpromazina utilizada como transportador. Na experiência seguinte, além de se intercalar a amostra na solução de clorpromazina, procedeu-se ainda à adição do reagente em confluência através da seringa 3 ($2,50 \text{ mL}$). Contudo, utilizando a clorpromazina como transportador, o volume de amostra teve que ser reduzido para $400 \text{ }\mu\text{L}$ para a obtenção de um pico bem definido. A utilização de volumes superiores originou a formação de um pico duplo, explicado pelo facto de o reagente não atingir a parte central da porção de amostra injectada. Obtiveram-se declives correspondentes a $0,469$ e $0,419 \text{ UA mg}^{-1} \text{ L}$, com e sem adição de clorpromazina em confluência, respectivamente. Estes resultados demonstram que a utilização de clorpromazina como transportador originou uma diminuição dos valores de sensibilidade na ordem dos 19% (sem adição de clorpromazina em confluência) e dos 9% (com adição de clorpromazina em confluência), relativamente à experiência anterior, em que se utilizou água como transportador. Este decréscimo da sensibilidade pode dever-se à utilização de um volume de amostra de apenas $400 \text{ }\mu\text{L}$, um valor bastante inferior ao utilizado na experiência anterior. A utilização de

clorpromazina como transportador não proporcionou resultados melhores que os obtidos na experiência anterior, e portanto utilizou-se água como transportador nas experiências seguintes.

Com o objectivo de identificar potenciais interferentes na metodologia desenvolvida, foi efectuado um estudo experimental em que as espécies a testar foram adicionadas a uma solução de bromato com uma concentração de $250 \mu\text{g L}^{-1}$. Foram consideradas interferentes as espécies que provocaram um desvio relativo superior a cinco por cento no valor do sinal analítico. As espécies testadas, respectivas concentrações e desvios relativos obtidos são apresentadas na tabela 3.3.

Os aniões cloreto, fluoreto, sulfato, cálcio, magnésio, iodeto, brometo, nitrato, clorato e sulfito não revelaram qualquer interferência nas concentrações testadas. Por outro lado, os aniões nitrito, hipoclorito e clorito revelaram interferir na metodologia proposta, sendo estas interferências justificadas pelo facto de estes iões possuírem a capacidade de oxidar a clorpromazina (Kojlo *et al.*, 2001). Para cada uma destas espécies, preparou-se uma série de soluções padrão contendo apenas o ião interferente, as quais foram injectadas no sistema de fluxo, utilizando as mesmas condições usadas na determinação do ião bromato. Deste modo, preparou-se uma série de soluções padrão contendo 25 e $750 \mu\text{g L}^{-1}$ de ião nitrito. Os padrões de hipoclorito foram preparados num intervalo de concentrações compreendido entre 25 e $2500 \mu\text{g L}^{-1}$. Para o ião clorito, prepararam-se padrões num intervalo de concentrações que variou entre 25 e $3600 \mu\text{g L}^{-1}$.

Tabela 3.3. Resultados obtidos no estudo de potenciais espécies interferentes, utilizando a clorpromazina como reagente de desenvolvimento de cor.

Espécie adicionada	Concentração em espécie adicionada / mg L ⁻¹	Desvio relativo / %
Cl ⁻	250	4,4
F ⁻	1,50	1,5
SO ₄ ²⁻	250	0,0
Ca ²⁺	100	1,5
Mg ²⁺	50,0	1,5
I ⁻	0,0500	0,8
Br ⁻	6,00	3,7
NO ₂ ⁻	0,500	61,6
NO ₃ ⁻	50,0	1,5
ClO ⁻	2,00	71,1
ClO ₂ ⁻	3,00	74,6
ClO ₃ ⁻	0,500	0,8
SO ₃ ²⁻	300	-4,0

A extensão da interferência foi avaliada através da comparação entre o declive obtido para a reacção do bromato com a clorpromazina e o declive resultante da reacção do interferente com a clorpromazina (figura 3.13). Foram obtidos declives correspondentes a 0,535, 0,442, 0,201 e 0,133 UA mg⁻¹ L para os iões bromato, nitrito, hipoclorito e clorito, respectivamente. Utilizando os valores de concentração expressos em µmol L⁻¹, foram obtidos declives de 6,84 x 10⁻², 2,03 x 10⁻², 1,03 x 10⁻² e 8,97 x 10⁻³ UA µmol⁻¹ L para os iões bromato, nitrito, hipoclorito e clorito, respectivamente. Analisando os resultados obtidos, conclui-se que a interferência do

ião nitrito é superior à observada para os iões hipoclorito e clorito, já que a curva de calibração obtida utilizando as soluções padrão deste ião proporcionou um declive superior relativamente aos declives obtidos para os iões hipoclorito e clorito.

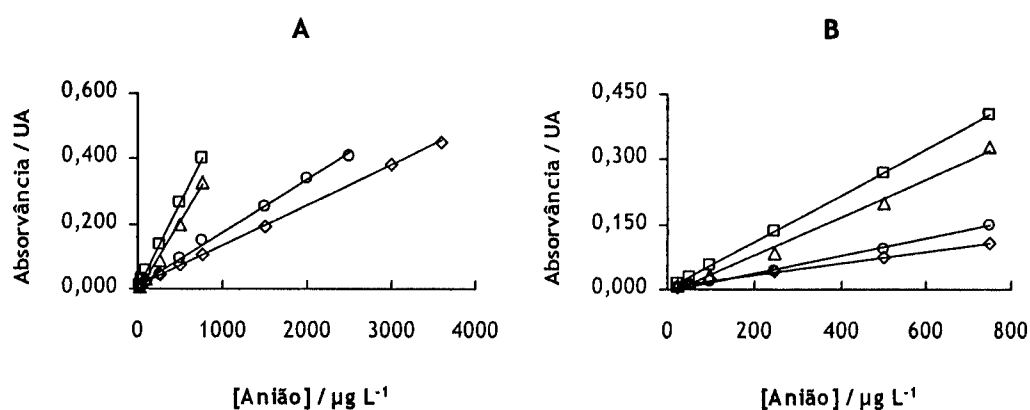


Figura 3.13. Reacção da clorpromazina com os aniões BrO_3^- (\square), NO_2^- (Δ), ClO^- (\circ) e ClO_2^- (\diamond), utilizando todas as concentrações testadas (A) e um intervalo menor de concentrações (B).

3.1.2.2. Utilização da trifluoperazina

Numa fase inicial de trabalho com este composto, procedeu-se ao traçado do espectro de absorção correspondente ao produto de oxidação resultante da reacção entre o ião bromato e a trifluoperazina. Para tal, preparou-se uma solução contendo $100 \mu\text{g L}^{-1}$ de bromato, $0,50 \text{ mmol L}^{-1}$ de trifluoperazina e $2,0 \text{ mol L}^{-1}$ de HCl, sendo a solução de referência preparada de igual modo, mas sem a presença do ião bromato. A figura 3.14 representa o espectro obtido, permitindo determinar o valor de 505 nm como o correspondente ao comprimento de onda de máxima absorção do produto de oxidação originado por esta fenotiazina.

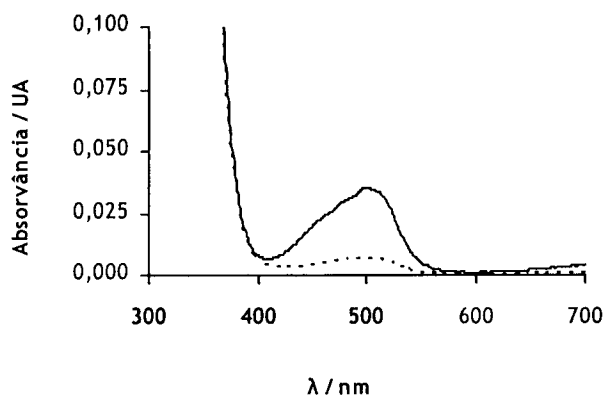


Figura 3.14. Espectro de absorção correspondente ao produto de oxidação resultante da reacção entre o bromato e a trifluoperazina. O ensaio a branco está representado pela linha descontinua.

A influência da concentração de ácido clorídrico foi avaliada através do estabelecimento de curvas de calibração injectando 1000 μL de soluções padrão de bromato com concentrações compreendidas entre 25 e 750 $\mu\text{g L}^{-1}$. Foi usada uma solução de trifluoperazina com a concentração de 1,05 mmol L^{-1} e soluções de ácido clorídrico com concentrações que variaram entre 1,0 e 8,0 mol L^{-1} . Os resultados obtidos estão representados na figura 3.15.

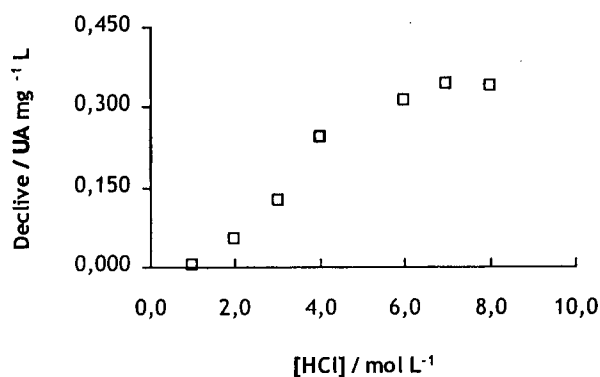


Figura 3.15. Influência da concentração de ácido clorídrico na sensibilidade da metodologia baseada na reacção de oxidação-redução entre o bromato e a trifluoperazina.

O método demonstrou ser linear para as concentrações de bromato estudadas, usando concentrações de HCl superiores a 2,0 mol L⁻¹. Abaixo deste valor, verificou-se a inexistência de uma relação linear entre a concentração de bromato e o valor de absorvância obtido. Pela análise do gráfico, verifica-se um incremento significativo do valor da sensibilidade com o aumento da concentração de HCl. Ao aumentar a concentração de ácido, obtiveram-se valores de sensibilidade de 1,6, 16, 37, 71, 92 e 100% da sensibilidade obtida com a solução mais concentrada (8,0 mol L⁻¹), para os valores de concentração de HCl correspondentes a 1,0, 2,0, 3,0, 4,0, 6,0 e 7,0 mol L⁻¹, respectivamente. Todavia, a utilização de concentrações de HCl superiores a 6,0 mol L⁻¹ traduziu-se num aumento de ruído devido à formação de bolhas de ar no interior do sistema. Deste modo, a concentração de 6,0 mol L⁻¹ de ácido clorídrico foi escolhida para a realização das experiências subsequentes como uma solução de compromisso entre a sensibilidade e a precisão da metodologia.

O passo seguinte teve como objectivo determinar a concentração mínima de trifluoperazina capaz de proporcionar a maior sensibilidade. Experimentalmente, este estudo consistiu no estabelecimento de curvas de calibração através da injeção de 1000 µL de soluções padrão de bromato com concentrações compreendidas entre 25 e 750 µg L⁻¹, utilizando uma solução de HCl 6,0 mol L⁻¹ e soluções de trifluoperazina com concentrações que variaram entre 0,567 e 2,61 mmol L⁻¹. Os valores dos declives obtidos, correspondentes a cada concentração testada encontram-se representados na figura 3.16.

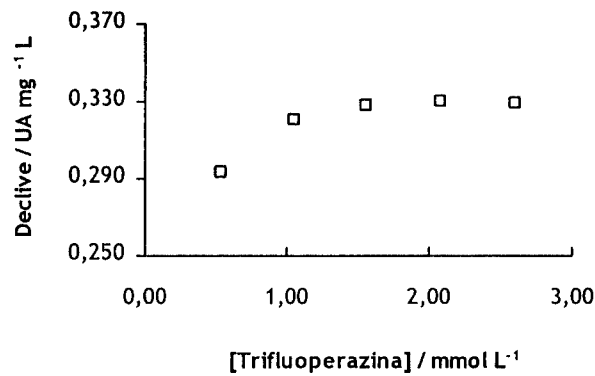


Figura 3.16. Valores de sensibilidade obtidos através do estabelecimento de curvas de calibração utilizando diferentes concentrações de trifluoperazina.

Através da análise dos resultados, conclui-se que a concentração de trifluoperazina influencia de modo pouco acentuado a sensibilidade da reacção, verificando-se que a concentração de 1,05 mmol L⁻¹ proporcionou a melhor sensibilidade (0,321 UA mg⁻¹ L), tendo-se obtido cerca de 92% deste valor para a menor concentração testada e valores semelhantes utilizando concentrações superiores de trifluoperazina. Contudo, esta fenotiazina foi descrita por Farrell e seus colaboradores (1995), como sendo mais sensível que a clorpromazina, em estudos efectuados por métodos discretos. Com o objectivo de avaliar se esta diferença no método de fluxo era devida à utilização de um tempo de reacção insuficiente antes da leitura do sinal analítico, procedeu-se à realização de uma experiência de modo a avaliar a influência do caudal de envio para o detector (que condiciona o tempo de reacção) e da concentração de trifluoperazina na sensibilidade da reacção. Para tal, estabeleceram-se curvas de calibração utilizando 1000 µL de soluções padrão de bromato com concentrações compreendidas entre 25 e 750 µg L⁻¹. Foram realizadas

três curvas de calibração, utilizando em todas a concentração de $6,0 \text{ mol L}^{-1}$ de HCl. Numa primeira fase, com o objectivo de estudar a cinética da reacção, fez-se um estudo do caudal, utilizando uma solução de trifluoperazina com uma concentração de $2,12 \text{ mmol L}^{-1}$ e caudais de envio para o detector correspondentes a $3,5$ e $6,1 \text{ mL min}^{-1}$. Deste estudo, foram obtidas duas curvas de calibração com declives de $0,355 \text{ UA mg}^{-1} \text{ L}$ para o caudal inferior e de $0,356 \text{ UA mg}^{-1} \text{ L}$ para o caudal de $6,1 \text{ mL min}^{-1}$. A obtenção de declives praticamente iguais permitiu concluir que o tempo de reacção não condiciona a sensibilidade, já que para o caudal mais baixo não se verificou qualquer aumento da sensibilidade. Deste modo, o caudal de $6,1 \text{ mL min}^{-1}$ foi seleccionado por proporcionar um ritmo de determinação superior. Seguidamente, foi realizada uma terceira curva de calibração utilizando uma solução de trifluoperazina com uma concentração de $21,3 \text{ mmol L}^{-1}$, dez vezes superior à utilizada nas curvas de calibração anteriores, da qual resultou uma curva de calibração com um declive de $0,351 \text{ UA mg}^{-1} \text{ L}$, cerca de 1% inferior ao obtido com a concentração de $2,12 \text{ mmol L}^{-1}$. Os resultados obtidos permitiram concluir que a utilização de concentrações elevadas de trifluoperazina não proporciona o efeito desejado na sensibilidade da reacção. Deste modo, foi utilizada a concentração de trifluoperazina correspondente a $1,05 \text{ mmol L}^{-1}$ nas experiências seguintes.

O estudo de interferentes foi realizado da mesma forma e utilizando os mesmos critérios descritos na secção anterior (3.1.2.1), mas utilizando como reagente a trifluoperazina. Os desvios relativos obtidos para cada espécie testada estão indicados na tabela 3.4.

De todas as espécies testadas, revelaram-se interferentes os iões nitrito, hipoclorito e clorito, com desvios relativos superiores a 50%. Para cada uma destas espécies,

foram realizadas curvas de calibração através da injeção no sistema de fluxo de soluções padrão contendo apenas o íon interferente.

Tabela 3.4. Resultados obtidos no estudo de potenciais espécies interferentes, utilizando a trifluoperazina como reagente de desenvolvimento de cor.

Espécie adicionada	Concentração em espécie adicionada / mg L ⁻¹	Desvio relativo / %
Cl ⁻	250	0,0
F ⁻	1,50	1,2
SO ₄ ²⁻	250	1,2
Ca ²⁺	100	-2,6
Mg ²⁺	50,0	0,0
I ⁻	0,0500	-3,8
Br ⁻	6,00	2,4
NO ₂ ⁻	0,500	51,6
NO ₃ ⁻	50,0	1,1
ClO ⁻	2,00	50,8
ClO ₂ ⁻	3,00	64,2
ClO ₃ ⁻	0,500	1,1

A extensão da interferência foi avaliada através da comparação entre o declive obtido utilizando padrões de bromato e o declive resultante da reação do interferente com a trifluoperazina (figura 3.17). Obtiveram-se declives correspondentes a 0,347, 0,251, 0,0187 e 0,0524 UA mg⁻¹ L para os íões bromato, nitrito, hipoclorito e clorito, respectivamente. Convertendo estes valores em

unidades de UA $\mu\text{mol}^{-1} \text{L}$, obtiveram-se sensibilidades de $4,44 \times 10^{-2}$ para o bromato, $1,15 \times 10^{-2}$ para o ião nitrito, $9,62 \times 10^{-4}$ para o hipoclorito e $3,53 \times 10^{-3}$ para o clorito. Estes resultados demonstram que a interferência causada pelo ião nitrito é superior à provocada pelos iões hipoclorito e clorito.

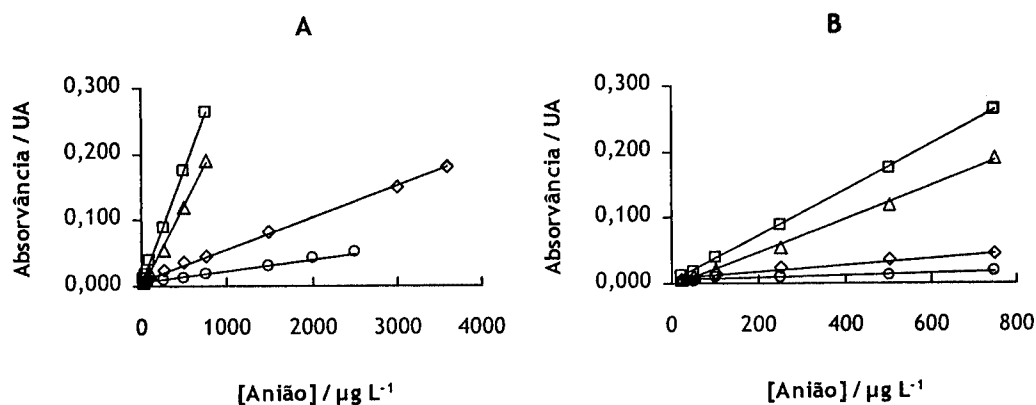


Figura 3.17. Reacção da trifluoperazina com os aniões BrO_3^- (□), NO_2^- (Δ), ClO^- (○) e ClO_2^- (◇), utilizando todas as concentrações testadas (A) e um intervalo menor de concentrações (B).

3.1.2.3. Utilização da tioridazina

Para determinar o comprimento de onda de máxima absorção do produto resultante da reacção desta fenotiazina com o ião bromato, preparou-se uma solução contendo $100 \mu\text{g L}^{-1}$ de bromato, $0,50 \text{ mmol L}^{-1}$ de tioridazina e $\text{HCl } 2,0 \text{ mol L}^{-1}$, tendo-se preparado uma solução de referência com os mesmos componentes, excepto o ião bromato. Após o varrimento de comprimentos de onda (figura 3.18), verificou-se que a absorvância máxima do produto corado ocorria a 635 nm .

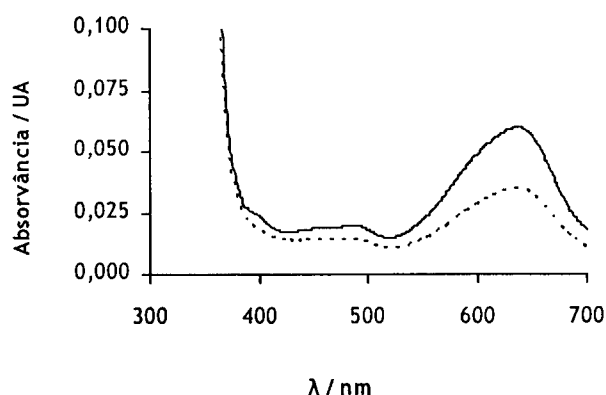


Figura 3.18. Espectro de absorção correspondente ao produto de oxidação resultante da reacção entre o bromato e a tioridazina. O ensaio a branco está representado pela linha descontinua.

Para avaliar a influência da concentração de ácido clorídrico na sensibilidade da reacção, foram estabelecidas curvas de calibração através da injeção de 1000 μL de soluções padrão de bromato com concentrações compreendidas entre 25 e 750 $\mu\text{g L}^{-1}$, utilizando a concentração de 1,24 mmol L^{-1} de tioridazina e variando a concentração de ácido clorídrico num intervalo compreendido entre 2,0 e 8,0 mol L^{-1} . Os valores dos declives obtidos são apresentados na figura 3.19.

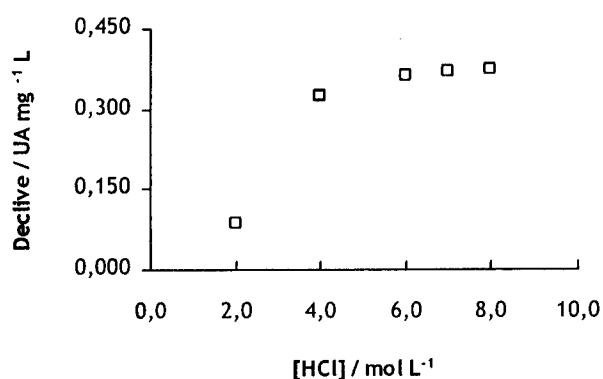


Figura 3.19. Influência da concentração de ácido clorídrico na sensibilidade da metodologia baseada na reacção de oxidação-redução entre o bromato e a tioridazina.

Tal como aconteceu com as fenotiazinas previamente estudadas, a concentração de ácido revelou ter um papel fundamental na sensibilidade da reacção. As concentrações de ácido clorídrico correspondentes a 2,0, 4,0, 6,0 e 7,0 mol L⁻¹ permitiram a obtenção de valores de sensibilidade de 23, 87, 96 e 98% da encontrada para a concentração de 8,0 mol L⁻¹. O valor de 6,0 mol L⁻¹ foi seleccionado para a realização das restantes experiências com a tioridazina, como consequência de esta concentração proporcionar um valor de sensibilidade muito próximo do obtido utilizando a concentração máxima.

A experiência seguinte teve a finalidade de determinar a concentração mais adequada de tioridazina capaz de proporcionar a maior sensibilidade, na metodologia desenvolvida. Para tal, realizaram-se curvas de calibração através da injeção de 1000 µL de soluções padrão de bromato com concentrações compreendidas entre 25 e 750 µg L⁻¹, utilizando uma solução de HCl 6,0 mol L⁻¹ e soluções de tioridazina num intervalo de concentrações compreendido entre 0,616 e 3,09 mmol L⁻¹. Os declives obtidos correspondentes a cada concentração testada estão representados na figura 3.20. A análise dos resultados revela semelhança nos declives das curvas de calibração obtidas utilizando diferentes concentrações de tioridazina, verificando-se apenas um aumento de 11% ao usar a concentração de 1,24 mmol L⁻¹, relativamente à menor concentração testada, tendo sido este valor de concentração utilizado no estudo dos interferentes.

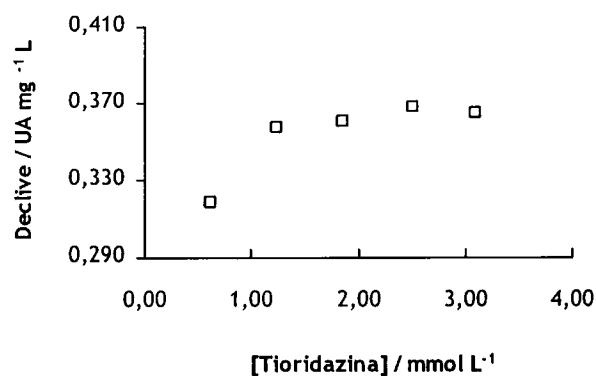


Figura 3.20. Valores de sensibilidade obtidos através do estabelecimento de curvas de calibração utilizando diferentes concentrações de tioridazina.

O estudo de interferentes foi realizado da mesma forma e utilizando critérios iguais aos descritos na secção 3.1.2.1, mas utilizando a tioridazina como reagente de desenvolvimento de cor. Os resultados obtidos para cada espécie testada são apresentados na tabela 3.5. Através da análise dos resultados, verifica-se a ocorrência de interferência devido à presença dos iões nitrito, hipoclorito e clorito.

Para avaliar a extensão da interferência causada por cada um destes iões, realizaram-se curvas de calibração através da injeção no sistema de fluxo de soluções padrão contendo apenas o ião interferente em estudo. Os declives obtidos foram comparados com o declive resultante da reacção do bromato com a tioridazina. Os resultados obtidos estão representados na figura 3.21.

Tabela 3.5. Resultados obtidos no estudo de potenciais espécies interferentes, utilizando a tioridazina.

Espécie adicionada	Concentração em espécie adicionada / mg L ⁻¹	Desvio relativo / %
Cl ⁻	250	1,1
F ⁻	1,50	2,2
SO ₄ ²⁻	250	2,2
Ca ²⁺	100	1,1
Mg ²⁺	50,0	2,2
I ⁻	0,0500	2,2
Br ⁻	6,00	0,0
NO ₂ ⁻	0,500	61,3
NO ₃ ⁻	50,0	-3,3
ClO ⁻	2,00	37,9
ClO ₂ ⁻	3,00	65,8
ClO ₃ ⁻	0,500	-2,2

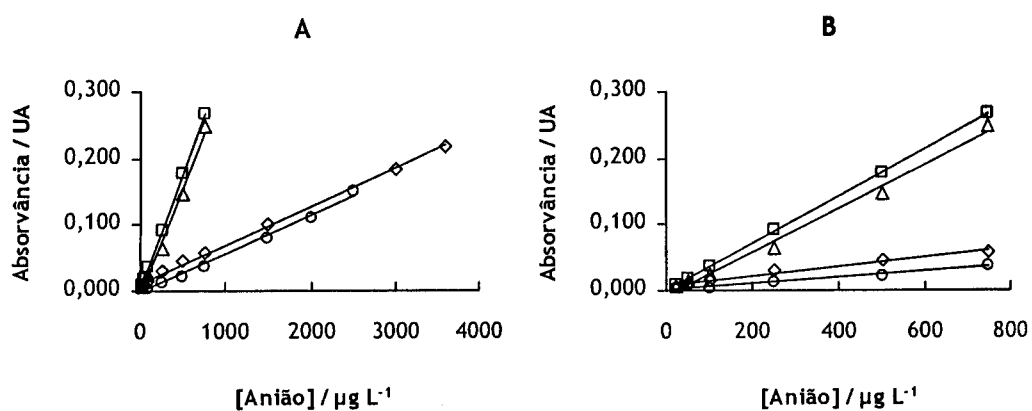


Figura 3.21. Reacção da tioridazina com os aniões BrO₃⁻ (□), NO₂⁻ (Δ), ClO⁻ (○) e ClO₂⁻ (◇), utilizando todas as concentrações testadas (A) e um intervalo menor de concentrações (B).

Obtiveram-se declives correspondentes a 0,352, 0,327, 0,0452 e 0,0714 UA mg⁻¹ L para os iões bromato, nitrito, hipoclorito e clorito, respectivamente. Convertendo estes valores em unidades de UA μmol⁻¹ L, obtiveram-se sensibilidades de 4,50 x 10⁻² para o bromato, 1,50 x 10⁻² para o ião nitrito, 2,33 x 10⁻³ para o hipoclorito e 4,82 x 10⁻³ para o clorito. Estes resultados permitiram concluir que, tal como sucedeu com a clorpromazina e a trifluoperazina, a interferência causada pelo ião nitrito é superior à provocada pelos iões hipoclorito e clorito.

3.1.2.4. Utilização da fenotiazina

Numa primeira fase do trabalho experimental utilizando a fenotiazina, procedeu-se à pesagem de uma massa correspondente a 38,34 mg do composto sólido, à qual se adicionou 50,00 mL de água, tendo-se verificado que o composto era insolúvel em água. Procedeu-se a uma nova pesagem de uma massa idêntica, a qual foi dissolvida em ácido acético glacial. Retiraram-se 4000 μL desta solução para um balão de 20,00 mL, no qual já se havia colocado 80 μL de uma solução contendo 25,0 mg L⁻¹ de bromato e 12,60 mL de água. A reacção resultou na formação de um precipitado, o que levou a concluir que, para que esta fenotiazina pudesse ser incorporada no sistema de fluxo, teria que se usar uma elevada concentração de ácido acético para evitar que esta precipitasse. Pensou-se então na possibilidade de se utilizar ácido acético como transportador e solvente da fenotiazina. Contudo, de acordo com os resultados obtidos na secção 3.1.1.3, para a obtenção de uma elevada sensibilidade é necessário que a adição de ácido ocorra após a mistura do bromato com a fenotiazina, o que não aconteceria caso o ácido acético fosse utilizado como transportador e solvente da fenotiazina. De seguida, utilizou-se como solvente o

etanol. Para estudar a possibilidade de utilização deste composto no sistema de fluxo desenvolvido, foi realizado um estudo com o objectivo de avaliar a percentagem de etanol necessária para a dissolução da fenotiazina, tendo-se verificado que a utilização de quantidades de etanol inferiores a 89% não era o suficiente para a sua dissolução, permitindo concluir que, utilizando o etanol como solvente, a fenotiazina não poderia ser utilizada no sistema de fluxo. Numa última experiência, utilizou-se a N,N-dimetilformamida como solvente da fenotiazina. Utilizando esta solução, preparou-se um ensaio contendo 100 g L^{-1} de bromato, $0,753 \text{ mmol L}^{-1}$ de fenotiazina e $2,0 \text{ mol L}^{-1}$ de ácido clorídrico. A reacção foi imediata, levando à formação de um composto solúvel laranja intenso. Dado que a N,N-dimetilformamida é um composto de elevada toxicidade, optou-se por não dar continuidade às experiências com este reagente. Deste modo, a fenotiazina não foi utilizada no sistema de fluxo proposto.

3.1.2.5. Utilização da 2-trifluorometil(fenotiazina)

Com o objectivo de determinar o comprimento de máxima absorção do produto resultante da reacção entre o bromato e a 2-trifluorometil(fenotiazina), procedeu-se à preparação de uma solução contendo $2,83 \text{ mmol L}^{-1}$ desta fenotiazina. Para tal, pesou-se uma massa de 37,88 mg do composto sólido e adicionou-se 50,00 mL de água, tendo-se verificado que o composto era insolúvel em água. Procedeu-se à preparação de novas soluções desta fenotiazina, utilizando como solventes o ácido acético glacial e a N,N-dimetilformamida. Observou-se que esta fenotiazina era solúvel em ambos os solventes, mas pelas razões mencionadas na secção anterior, não foram utilizados no sistema de fluxo. De seguida, utilizando o etanol como solvente, estudou-se a sua percentagem necessária para a dissolução do composto, e

verificou-se que era necessário utilizar quantidades de etanol superiores a 93% para evitar a precipitação da 2-trifluorometil(fenotiazina), impossibilitando a implementação desta fenotiazina na metodologia de fluxo desenvolvida.

3.2. Estudos de eliminação de interferentes

As experiências de eliminação dos interferentes foram realizadas utilizando a reacção da clorpromazina com o bromato. Numa primeira fase, efectuaram-se estudos visando a eliminação da interferência associada aos iões hipoclorito e clorito, seguindo-se a realização de experiências com o intuito de eliminar a interferência causada pelo ião nitrito. Numa última fase, realizaram-se experiências de modo a eliminar simultaneamente os três interferentes na metodologia desenvolvida.

3.2.1. Eliminação das interferências provocadas pelos iões hipoclorito e clorito

De acordo com alguns autores, o ião clorito é removido através do tratamento das amostras com ferro(II) ou com uma solução contendo 10 mg L⁻¹ de sulfito (Gordon et al, 1994; Gordon e Bubnis, 1995). Numa primeira experiência, procedeu-se à adição de ferro(II) numa concentração correspondente a 6,0 mg L⁻¹ à água da torneira, à qual foi também adicionado anião bromato em concentrações compreendidas entre 25 e 250 µg L⁻¹. Após interpolação numa curva de calibração estabelecida com padrões entre 25 e 750 µg L⁻¹, foram obtidos valores acima de 890 µg L⁻¹ para todos os

ensaios efectuados, indicando que a utilização de Fe(II) não permite a eliminação da interferência em causa.

Seguidamente, foi realizado um estudo visando a eliminação da interferência por adição de anião sulfito. Com este intuito, foram realizados ensaios em que soluções contendo $2,00 \text{ mg L}^{-1}$ em hipoclorito e teores entre 25 e $250 \mu\text{g L}^{-1}$ de bromato, foram tratadas com anião sulfito. Deste modo, foram adicionados diferentes volumes de uma solução contendo $10,0 \text{ g L}^{-1}$ de sulfito, de modo a obter as concentrações de 5,00, 10,0 e $20,0 \text{ mg L}^{-1}$ de sulfito. Cada uma das soluções obtidas foi processada em triplicado no sistema de fluxo, tendo-se obtido os resultados indicados na tabela 3.6.

Através da análise dos resultados, constata-se que ocorre interferência significativa do anião hipoclorito (tabela 3.6, ensaios 2, 7, 12 e 17), que é eliminada por adição de anião sulfito (tabela 3.6, ensaios 8 - 10, 13 - 15 e 18 - 20), possivelmente por redução do ClO^- a Cl^- , espécie que não interfere na determinação conforme indicado na secção 3.1.2.1. Também ficou patente que a adição de sulfito não afecta o doseamento do anião bromato, dada a obtenção de uma percentagem de recuperação entre 95 e 100%. Estes resultados foram independentes da concentração de anião sulfito testada.

Dados os resultados positivos obtidos na experiência anterior, foram efectuados ensaios de recuperação em água da torneira. Para cada ensaio preparado, adicionou-se uma concentração $10,0 \text{ mg L}^{-1}$ de anião sulfito. Os resultados obtidos são apresentados na tabela 3.7.

Tabela 3.6. Resultados obtidos nos ensaios para eliminação da interferência do anião hipoclorito por adição de anião sulfito, previamente à determinação.

Ensaio	Concentração em hipoclorito / mg L ⁻¹	Concentração em sulfito / mg L ⁻¹	Concentração em bromato / µg L ⁻¹		Recuperação / %
			Adicionado	Obtido	
1	0	0	0	< LD	---
2	2,0	0	0	654 ± 13	---
3	2,0	5,0	0	---	---
4	2,0	10,0	0	< LD	---
5	2,0	20,0	0	---	---
6	0	0	25	< LQ (19 ± 1)	---
7	2,0	0	25	680 ± 6	---
8	2,0	5,0	25	< LQ (22 ± 2)	---
9	2,0	10,0	25	25 ± 1	100 ± 4
10	2,0	20,0	25	24 ± 2	96 ± 8
11	0	0	100	92 ± 3	92 ± 3
12	2,0	0	100	771 ± 5	---
13	2,0	5,0	100	97 ± 1	97 ± 1
14	2,0	10,0	100	97 ± 2	97 ± 2
15	2,0	20,0	100	95 ± 2	95 ± 2
16	0	0	250	239 ± 1	95,6 ± 0,4
17	2,0	0	250	866 ± 8	---
18	2,0	5,0	250	249 ± 3	99,6 ± 1,2
19	2,0	10,0	250	240 ± 2	96,0 ± 0,8
20	2,0	20,0	250	248 ± 2	99,2 ± 0,8

Tabela 3.7. Resultados obtidos nos ensaios de recuperação em água da torneira com adição de anião sulfito para eliminação de interferência.

Concentração em sulfito / mg L ⁻¹	Concentração em bromato / µg L ⁻¹		
	Adicionado	Obtido	Recuperação / %
0	0	35 ± 3	---
10,0	0	< LD	---
10,0	25	< LQ (19 ± 2)	---
10,0	100	89 ± 2	89 ± 2
10,0	250	234 ± 3	94 ± 2

Verificou-se que a amostra testada originou um sinal analítico equivalente a 35 µg L⁻¹ de bromato antes da adição de sulfito. Após a adição desta espécie, o valor encontrado foi inferior ao limite de detecção da metodologia (< 8 µg L⁻¹), indicando que o sinal originalmente obtido é devido à presença de hipoclorito residual, proveniente do processo de desinfecção de águas para consumo humano mais correntemente usado em Portugal. Também foi possível obter uma percentagem de recuperação razoável quando foram adicionados 100 e 250 µg L⁻¹ de bromato à amostra em causa, indicando que não há efeitos associados à matriz nem reacção entre o anião sulfito e o anião bromato.

Dado que os resultados obtidos com o tratamento prévio da amostra por adição de ião sulfito foram satisfatórios, procedeu-se à sua implementação no sistema de fluxo de forma a eliminar a necessidade de pré-tratamento da amostra. Inicialmente, procedeu-se à adição de sulfito à solução transportadora, numa concentração de 300 mg L⁻¹ (seringa 1). Ao injectar um padrão de hipoclorito com a concentração de 2,00

mg L⁻¹, foi obtido um sinal correspondente a uma concentração de 516 µg L⁻¹ de ião bromato. Mesmo aumentando a concentração de sulfito para 3000 mg L⁻¹ na solução transportadora, foi obtido um sinal apenas 15% inferior, indicando que esta estratégia não é eficaz para a eliminação do interferente, provavelmente porque não existe uma mistura eficiente entre a solução transportadora e a parte central do segmento de amostra.

Desta forma, com o objectivo de proporcionar a adição de anião sulfito a todo o segmento de amostra, esta espécie foi adicionada à solução de clorpromazina, dado que esta solução é adicionada à amostra através de uma confluência. Ao preparar uma solução contendo 70,0 mg L⁻¹ de sulfito e clorpromazina 2,11 mmol L⁻¹, observou-se a formação de um precipitado, o qual desapareceu com a adição de umas gotas de ácido clorídrico 2,0 mol L⁻¹. A injeção de uma solução de hipoclorito 2,00 mg L⁻¹, utilizando a solução anterior na seringa 3 permitiu observar a formação de um sinal analítico correspondente a uma concentração de 543 µg L⁻¹ em ião bromato, indiciando que o sinal obtido foi devido ao facto da concentração de sulfito utilizada não ser suficiente para eliminar a interferência provocada pelo hipoclorito. Esta experiência foi repetida, mas aumentando cerca de trinta vezes a concentração de sulfito (2,00 g L⁻¹). Neste caso, foi obtido um sinal analítico que originou um valor de concentração inferior ao limite de quantificação, indicando a eliminação da interferência.

Utilizando estas condições experimentais, estabeleceu-se uma curva de calibração através da injeção de 1000 µL de soluções padrão de bromato com concentrações compreendidas entre 25 e 750 µg L⁻¹, que proporcionou a obtenção de características

analíticas semelhantes às obtidas anteriormente, na ausência de anião sulfito (tabela 3.8).

Tabela 3.8. Características analíticas da metodologia de fluxo desenvolvida, adicionando ou não anião sulfito à solução de clorpromazina.

	Clorpromazina 2,11 mmol L ⁻¹	Clorpromazina 2,11 mmol L ⁻¹ + Sulfito 2,0 g L ⁻¹
Sensibilidade / UA mg ⁻¹ L	0,518 ± 0,003	0,487 ± 0,002
Ordenada na origem / UA	0,001 ± 0,001	0,0011 ± 0,0008
Limite de detecção / µg L ⁻¹	8	7
Limite de quantificação / µg L ⁻¹	27	24

Ao adicionar sulfito à solução de clorpromazina, não foi observada alteração significativa da sensibilidade da metodologia, tendo-se obtido um valor muito próximo (94%) do obtido utilizando apenas a clorpromazina. Adicionalmente, a utilização do sulfito na solução de clorpromazina proporcionou a obtenção de limites de detecção e quantificação inferiores, além de permitir a eliminação do hipoclorito em linha. Foram também realizados ensaios de recuperação, utilizando água da torneira e soluções padrão contendo, além de bromato em diferentes concentrações, os aniões interferentes: hipoclorito (2,00 mg L⁻¹) e clorito (3,00 mg L⁻¹). Os resultados obtidos são apresentados nas tabelas 3.9 e 3.10. Verificou-se que o tratamento em linha foi eficaz e não afectou a quantificação do ião bromato, pois foram obtidas percentagens de recuperação próximas de 100% em todos os ensaios efectuados.

Tabela 3.9. Resultados obtidos nos ensaios de recuperação efectuados em água da torneira, com eliminação em linha da interferência causada pelos iões hipoclorito e clorito.

Concentração em bromato / $\mu\text{g L}^{-1}$		
Adicionado	Obtido	Recuperação / %
0	< LQ	---
25	24 ± 3	96 ± 2
100	98 ± 2	98 ± 2
250	263 ± 3	105 ± 1

Tabela 3.10. Resultados obtidos nos ensaios de recuperação efectuados com soluções padrão de bromato contendo simultaneamente hipoclorito $2,00 \text{ mg L}^{-1}$ e clorito $3,00 \text{ mg L}^{-1}$, com eliminação em linha das interferências.

Concentração em bromato / $\mu\text{g L}^{-1}$		
Adicionado	Obtido	Recuperação / %
0	< LD	---
25	27 ± 1	108 ± 5
100	90 ± 2	90 ± 2
250	233 ± 3	93 ± 1

3.2.2. Eliminação da interferência provocada pelo ião nitrito

Segundo Gordon e colaboradores (1994), a interferência causada pelo anião nitrito pode ser eliminada por adição de ácido amidossulfónico às amostras. Como estes autores descrevem ser necessária a adição de uma solução de ácido amidossulfónico 400 mg L^{-1} 10 minutos antes da injeção no sistema de fluxo, foi efectuado um estudo preliminar de forma a avaliar a possibilidade de remover esta interferência

em linha, tendo em conta que o tempo de reacção disponível corresponde ao curto intervalo de tempo em que a amostra é processada no interior do sistema de fluxo.

Desta forma, foram preparadas soluções contendo $25 \mu\text{g L}^{-1}$ de bromato e $500 \mu\text{g L}^{-1}$ de nitrito, às quais se adicionaram diferentes concentrações de ácido amidossulfónico (119 , 216 e 432 mg L^{-1}). Logo após a adição de ácido amidossulfónico, estas soluções foram processadas no sistema de fluxo durante os 30 minutos seguintes, conforme apresentado na figura 3.22.

Foi observado que ao utilizar-se uma solução de ácido amidossulfónico de 119 mg L^{-1} , a interferência do anião nitrito não foi completamente eliminada, no intervalo de tempo estudado. Aumentando a concentração de ácido amidossulfónico para 216 mg L^{-1} , observou-se a eliminação completa do ião nitrito ao fim de 10 minutos. Este tempo diminuiu para 2 minutos quando a concentração de 432 mg L^{-1} de ácido amidossulfónico foi utilizada. Estes dados permitem concluir que, para se proceder à eliminação em linha do ião nitrito, é necessária a adição de ácido amidossulfónico, de forma a que a sua concentração na célula de fluxo seja superior a 432 mg L^{-1} .

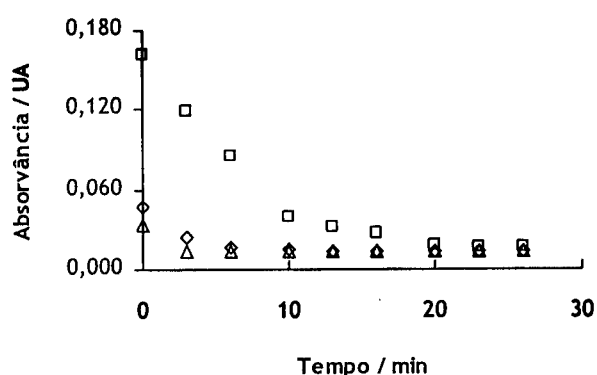


Figura 3.22. Variação ao longo do tempo do sinal analítico de uma solução contendo bromato e nitrito, à qual se adicionou diferentes concentrações de ácido amidossulfónico: 119 (□), 216 (◇) e 432 mg L^{-1} (Δ).

Eliminando a hipótese de se utilizar o ácido amidossulfônico como transportador uma vez que, como já foi observado em experiências anteriores, a montagem desenvolvida não proporciona uma mistura adequada entre a solução proveniente da seringa 1 e a parte central do segmento de amostra, procedeu-se à adição em confluência deste reagente, por adição à solução de clorpromazina. A concentração de ácido amidossulfônico foi avaliada entre 7,0 e 21 g L⁻¹, tendo sido adicionada a uma solução de clorpromazina 2,11 mmol L⁻¹. Para tal, injectou-se no sistema de fluxo uma solução contendo 25 µg L⁻¹ de bromato e 500 µg L⁻¹ de nitrito. Observou-se a eliminação do ião nitrito quando foi utilizada a concentração mais elevada (21 g L⁻¹). Utilizando estas condições experimentais, foram realizados ensaios de recuperação utilizando soluções padrão de bromato contendo 500 µg L⁻¹ em ião nitrito. Os resultados obtidos (tabela 3.11) indicam que foi possível eliminar a interferência, tendo-se obtido boas percentagens de recuperação (94 - 98%).

Tabela 3.11. Resultados obtidos nos ensaios de recuperação com soluções padrão contendo 500 µg L⁻¹ de nitrito, recorrendo à eliminação em linha do interferente em causa.

Concentração em bromato / µg L ⁻¹		
Adicionado	Obtido	Recuperação / %
0	< LD	---
25	< LQ (22 ± 2)	---
100	94 ± 2	94 ± 2
250	245 ± 3	98 ± 2

3.2.3. Eliminação simultânea das interferências

Inicialmente, procedeu-se ao tratamento das amostras previamente à introdução no sistema, por adição de soluções de sulfito e ácido amidossulfónico de modo a originar uma concentração final na amostra de 10,0 e 400 mg L⁻¹, respectivamente. Foram utilizadas amostras de água da torneira, às quais também se adicionaram diferentes teores de bromato. Após processamento no sistema de fluxo, foram obtidos sinais abaixo do limite de detecção para a água da torneira, mas também para os ensaios em que foi adicionado 25 e 100 µg L⁻¹ de bromato. Para o ensaio em que foi adicionado 250 µg L⁻¹, a concentração encontrada foi de 41 ± 2 µg L⁻¹, correspondendo a uma percentagem de recuperação de aproximadamente 16%. Estes resultados indicam que, nas condições ensaiadas, não é possível eliminar os dois interferentes simultaneamente previamente à introdução da amostra no sistema, sem interferir na determinação do anião bromato.

Com base nos resultados obtidos nas experiências anteriores para eliminação individual de cada um dos interferentes em linha, foi inicialmente testada a inclusão simultânea de sulfito e ácido amidossulfónico na solução de clorpromazina, em concentrações de 2,0 e 21 g L⁻¹, respectivamente. Após o estabelecimento de uma curva de calibração com padrões de bromato contendo concentrações entre 25 e 750 g L⁻¹, verificou-se uma diminuição do intervalo de resposta linear, bem como a obtenção de um valor de sensibilidade significativamente inferior, correspondente a cerca de 17% do valor obtido anteriormente. Esta ocorrência pode ter como explicação os resultados obtidos na secção 3.1.1.3, os quais permitiram concluir que era necessário que a adição de ácido ocorresse após a mistura do bromato com a clorpromazina, para a obtenção de uma elevada sensibilidade. Ao adicionar ácido

amidosulfônico juntamente com a clorpromazina, a amostra reage com a clorpromazina e é simultaneamente acidificada, sendo esta a causa provável da diminuição significativa da sensibilidade.

Desta forma, o ácido amidosulfônico foi adicionado à solução de HCl 7,0 mol L⁻¹, num teor de 10,5 g L⁻¹, enquanto que o anião sulfito foi adicionado à solução de clorpromazina, nas concentrações descritas na experiência anterior. Usando estas soluções, foram efectuados ensaios de recuperação em água da torneira (tabela 3.12) e para verificação da eliminação dos três interferentes em soluções padrão (tabela 3.13). Conforme indicado, foram obtidas percentagens de recuperação entre 89 e 96%, indicando que os interferentes em causa são eliminados com sucesso, sem prejuízo para a determinação do bromato.

Tabela 3.12. Resultados obtidos nos ensaios de recuperação em água da torneira, eliminando em linha as interferências causadas pelos iões nitrito, hipoclorito e clorito.

Concentração em bromato / µg L ⁻¹		
Adicionado	Obtido	Recuperação / %
0	< LD	---
25	< LQ (21 ± 2)	---
100	93 ± 2	93 ± 3
250	240 ± 2	96 ± 1

Tabela 3.13. Resultados obtidos nos ensaios de recuperação efectuados com solução padrão de bromato, contendo nitrito ($500 \mu\text{g L}^{-1}$), hipoclorito ($2,00 \text{ mg L}^{-1}$) e clorito ($3,00 \text{ mg L}^{-1}$), com eliminação em linha das interferências.

Concentração em bromato / $\mu\text{g L}^{-1}$		
Adicionado	Obtido	Recuperação / %
0	< LD	---
25	24 ± 2	96 ± 3
100	89 ± 3	89 ± 3
250	237 ± 3	95 ± 1

Utilizando estas últimas condições, o sistema foi avaliado em termos de sensibilidade, limite de detecção e limite de quantificação, através do estabelecimento de uma curva de calibração com soluções padrão de bromato contendo concentrações num intervalo compreendido entre 25 e $750 \mu\text{g L}^{-1}$. A metodologia desenvolvida proporcionou a obtenção de um valor de sensibilidade correspondente a $0,471 \text{ UA mg}^{-1} \text{ L}$, tendo-se obtido limites de detecção e de quantificação de $7 \mu\text{g L}^{-1}$ e $24 \mu\text{g L}^{-1}$ de bromato, respectivamente.

A precisão da metodologia foi avaliada através do desvio padrão relativo (DPR) de um conjunto de dez injeções de duas soluções padrão contendo 100 e $250 \mu\text{g L}^{-1}$ de bromato. Obtiveram-se desvios padrão relativos de 1,6 e 1,5% para as soluções de 100 e $250 \mu\text{g L}^{-1}$ de bromato, respectivamente.

4.

CONCLUSÕES

Neste trabalho, desenvolveu-se, pela primeira vez, uma metodologia de análise por injeção em fluxo baseada em multi-seringa para a determinação de bromato em águas. Este sistema possibilitou a determinação do ião bromato, num intervalo de concentrações compreendido entre 25 e 750 $\mu\text{g L}^{-1}$, com boa repetibilidade indicada pela obtenção de valores de desvios padrão relativos inferiores a 1,6%, tendo-se obtido limites de detecção e de quantificação correspondentes a 7 $\mu\text{g L}^{-1}$ e 24 $\mu\text{g L}^{-1}$ de bromato, respectivamente.

Tendo em consideração o valor paramétrico actual de 25 $\mu\text{g L}^{-1}$ relativo ao ião bromato em águas para consumo humano, imposto pela legislação portuguesa em 2001, conclui-se que o método desenvolvido constitui uma ferramenta eficaz no rastreio deste ião, uma vez que permite a quantificação do mesmo em concentrações superiores a 24 $\mu\text{g L}^{-1}$. Além disso, a metodologia proposta apresenta elevada simplicidade e custo reduzido quando comparada com espectrometria de massa com plasma de acoplamento indutivo ou com métodos cromatográficos baseados em troca iónica. No entanto, o recurso a estas técnicas torna-se conveniente como forma de validação, devido ao facto de o valor paramétrico de bromato em águas para consumo humano ser próximo do limite de quantificação proporcionado pela metodologia desenvolvida.

Um dos objectivos do trabalho focou-se na avaliação de diferentes compostos da família das fenotiazinas. As principais características analíticas obtidas, para as fenotiazinas utilizadas no sistema de fluxo encontram-se resumidas na tabela 4.1.

A utilização da clorpromazina apresenta maiores vantagens analíticas, uma vez que proporciona um menor limite de detecção, permitindo a análise de amostras contendo concentrações mais baixas de bromato. Além disso, a utilização desta

fenotiazina proporcionou a obtenção de maior sensibilidade, tendo-se obtido cerca de 68% deste valor para as restantes fenotiazinas.

Por outro lado, o estudo dos interferentes, indicado no capítulo anterior, revelou que a trifluoperazina apresenta maior tolerância a interferências provocadas pelos iões nítrico, hipoclorito e clorito. Em termos económicos, a determinação do ião bromato utilizando a tioridazina revelou ser menos dispendiosa.

Tabela 4.1. Características analíticas da metodologia de fluxo desenvolvida, obtidas para as três fenotiazinas usadas no sistema de fluxo, sem eliminação dos interferentes.

	Clorpromazina	Trifluoperazina	Tioridazina
Declive / UA mg ⁻¹ L	0,518 ± 0,003	0,346 ± 0,002	0,351 ± 0,002
Ordenada na origem / UA	0,001 ± 0,001	0,002 ± 0,001	0,002 ± 0,001
Limite de detecção / µg L ⁻¹	8	10	10
Limite de quantificação / µg L ⁻¹	27	33	32
Quantidade de HCl por determinação / mmol	14	12	12
Quantidade de fenotiazina por determinação / µg	750	500	500
Custo por 100 determinações / €	1,5	0,95	0,88

Comparativamente a trabalhos anteriormente desenvolvidos que visam a mesma determinação, o sistema a que se reporta esta dissertação apresenta a vantagem inovadora de incorporar a eliminação de interferentes em linha, dispensando processos de pré-tratamento da amostra. O ácido amidossulfónico, adicionado à solução de ácido clorídrico, permite a eliminação da interferência do ião nítrico

enquanto que o sulfito, misturado com a solução de clorpromazina, possibilita a eliminação da interferência dos iões hipoclorito e clorito. As características analíticas do sistema estão resumidas na tabela 4.2.

Tabela 4.2. Características analíticas da metodologia de fluxo desenvolvida, com eliminação em linha dos interferentes.

Sensibilidade / UA mg ⁻¹ L	0,471 ± 0,002
Ordenada na origem / UA	0,0004 ± 0,0008
Limite de detecção / µg L ⁻¹	7
Limite de quantificação / µg L ⁻¹	24
Intervalo de concentrações / µg L ⁻¹	25 - 750
DPR / % (n = 10)	< 1,6

A metodologia desenvolvida foi comparada com métodos descritos na literatura que recorrem à mesma reacção, tendo-se seleccionado para comparação uma metodologia de análise discreta (Farrell *et al.*, 1995), e uma outra baseada em análise por injeção em fluxo (Gordon *et al.*, 1994). As principais características dos diferentes métodos são apresentadas na tabela 4.3. As quantidades de reagentes e volume de efluente são relativos a uma determinação.

Através dos dados da tabela 4.3, verifica-se que a metodologia proposta consegue uma redução das quantidades de ácido clorídrico e de clorpromazina utilizadas cerca 7 e 5 vezes, respectivamente, quando comparada com o método discreto. Quando a comparação é efectuada com a metodologia FIA, verifica-se que o consumo de ácido

clorídrico é 1,3 vezes superior, sendo o consumo de clorpromazina cerca de 4 vezes superior, utilizando o método proposto.

Tabela 4.3. Comparação das principais características do sistema proposto com outros métodos que utilizam a mesma reacção.

	Sistema proposto	Referência	
		Gordon <i>et al.</i> , 1994	Farrell <i>et al.</i> , 1995
Quantidade de HCl / mmol	14	10,5	96
Quantidade de clorpromazina / µg	750	200	3626
Volume de efluente gerado / mL	11	8,5	50
Ritmo de determinação / h ⁻¹	35	24	12

No que respeita ao volume de efluente gerado, os valores demonstram que a metodologia desenvolvida apresenta uma produção de resíduos cerca de 5 vezes menor quando comparada com a metodologia discreta. Utilizando como termo de comparação a metodologia de análise por injeção em fluxo, verifica-se que o sistema proposto produz uma quantidade de efluente cerca de 1,3 vezes superior.

Outro aspecto importante resulta do facto da metodologia desenvolvida permitir a realização de 35 determinações por hora, valor esse consideravelmente superior ao obtido nos outros dois métodos, o que constitui uma mais valia para a sua aplicação em análises de rotina.

O sistema proposto demonstrou robustez, simplicidade e exactidão, além de estar adaptado ao conceito de “Química Verde”, justificado pela utilização de baixas

quantidades de reagentes, e redução do volume de efluente gerado. Estes factores contribuem para a diminuição dos custos operacionais associados à análise propriamente dita, bem como os relacionados com o tratamento dos efluentes gerados.

As montagens MSFIA estão geralmente associadas a elevada versatilidade, nomeadamente através da sua adaptação a diversas determinações apenas por alteração dos reagentes utilizados nas seringas e dos parâmetros do sistema controláveis por processador. Este facto permite antever a possibilidade de alargamento do intervalo de aplicabilidade do sistema desenvolvido à determinação de bromato. Para tal, será desejável a introdução de uma coluna de pré-concentração de forma a permitir a retenção do analito, que será posteriormente processado no sistema com configuração semelhante à proposta. Esta estratégia poderá proporcionar a diminuição do limite de detecção e o aumento da sensibilidade do método de forma a atingir o valor paramétrico a vigorar a partir de 2008 ($10 \mu\text{g L}^{-1}$).

REFERÊNCIAS

Achilli, M. e Romele, L. 1999. Ion chromatographic determination of bromate in drinking water by post-column with fuchsin. *Journal of Chromatography A* 847: 271-277.

Albertús, F., Horstkotte, B., Cladera, A. e Cerdà, V. 1999. A robust multisyringe system for process flow analysis. Part I. On-line dilution and single point titration of protolytes. *Analyst* 124: 1373-1381.

Andrade-Eiroa, A., Erustes, J. A., Forteza R., Cerdà, V. e Lima J. L. F. C. 2002. Determination of chloride by multisyringe flow injection analysis and sequential injection analysis with potentiometric detection. *Analytica Chimica Acta* 467: 25-33.

Armas, G., Miró, M., Cladera, A., Estela, J. M. e Cerdà, V. 2002. Time-based multisyringe flow injection system for the spectrofluorimetric determination of aluminium. *Analytica Chimica Acta* 455: 149-157.

Bohme, U., Schmidt, W., Dietrich, P. G., Matschi, A., Sacher, F. e Brauch, H.J. 1997. Trace analysis of bromate and bromide with ion chromatography on coated reversed phase materials. *Fresenius Journal of Analytical Chemistry* 357: 629-634.

Buchberger, W. e Ahrer, W. 1999. Combination of suppressed and non-suppressed ion chromatography with atmospheric pressure ionization mass spectrometry for the determination of anions. *Journal of Chromatography A* 850: 99-106.

Cerdà, V., Estela, J. M., Forteza, R., Cladera, A., Becerra, E., Altimira, P. e Sitjar, P. 1999. Flow techniques in water analysis. *Talanta* 50: 695-705.

Cerdà, V. 2003. Multisyringe flow injection analysis, a young and promising flow technique. *Journal of Flow Injection Analysis* 20: 203-206.

Charles, L., Pépin, D. e Casetta, B. 1996. Electrospray ion chromatography - tandem mass spectrometry of bromate at sub-ppb levels in water. *Analytical Chemistry* 68: 2554-2558.

Colombini, S., Polesello, S., Valsecchi, S. e Cavalli, S. 1999. Matrix effects in the determination of bromate in drinking water by ion chromatography. *Journal of Chromatography A* 847: 279-284.

Commission of the European Communities. 1994. *Proposal for a council directive concerning the quality of water intended for human consumption*, Brussels.

Creed, J. T., Magnuson, M. L., Pfaff, J. D. e Brockhoff, C. 1996. Determination of bromate in drinking waters by ion chromatography with inductively coupled plasma mass spectrometric detection. *Journal of Chromatography A* 753: 261-267.

De Borba, B. M., Rohrer, J. S., Pohl, C. A. e Saini, C. 2005. Determination of trace concentrations of bromate in municipal and bottled drinking waters using a hydroxide-selective column with ion chromatography. *Journal of Chromatography A* 1085: 23-32.

Decreto-Lei nº 236/98. 1998. *Diário da República Portuguesa* 176 I A: 3675-3722.

Decreto-Lei nº 243/2001. 2001. *Diário da República Portuguesa* 206 I A: 5754-5765.

Delcomyn, C. A., Weinberg, H. S. e Singer, P. C. 2001. Use of ion chromatography with post-column reaction for the measurement of tribromide to evaluate bromate levels in drinking water. *Journal of Chromatography A* 920: 213-219.

Divjak, B., Novič, M. e Goessler, W. 1999. Determination of bromide, bromate and other anions with ion chromatography and an inductively coupled plasma mass spectrometer as element-specific detector. *Journal of Chromatography A* 862: 39-47.

Echigo, S., Minear, R. A., Yamada, H. e Jackson, P. E. 2001. Comparison of three post-column reaction methods for the analysis of bromate and nitrite in drinking water. *Journal of Chromatography A* 920: 205-211.

Elwaer, A. R., McLeod, C. W. e Thompson, K. C. 2000. On-line separation and determination of bromate in drinking waters using flow injection ICP mass spectrometry. *Analytical Chemistry* 72: 5725-5730.

Esteves da Silva, J. C. G., Dias, J. R. M. e Magalhães, J. M. C. S. 2001. Factorial analysis of a chemiluminescence system for bromate detection in water. *Analytica Chimica Acta* 450: 175-184.

Farrel, S., Joa, J. F. e Pacey, G. E. 1995. Spectrophotometric determination of bromate ions using phenothiazines. *Analytica Chimica Acta* 313: 121-129.

Gahr, A., Huber, N. e Niessner, R. 1998. Fluorimetric determination of bromate by ion-exchange separation and post-column derivatization. *Mikrochimica Acta* 129: 281-290.

Gordon, G., Bubnis, B., Sweetin, D. e Kuo, C. 1994. A flow-injection, non-ion chromatographic method for measuring low level bromate ion in ozone treated waters. *Ozone Science and Engineering* 16: 79-87.

Gordon, G. e Bubnis, B. 1995. The measurement of very low level bromate ion. *Ozone Science and Engineering* 17: 551-559.

Hautman, D. P. e Bolyard, M. 1992. Analysis of oxyhalide disinfection by-products and other anions of interest in drinking water by ion chromatography. *Journal of Chromatography A* 602: 65-74.

Hautman, D. P., Munch, D. J., Frebis, C., Wagner, H. P. e Pepich, B. V. 2001. Review of the methods of the US Environmental Protection Agency for bromate determination and validation of Method 317.0 for disinfection by-product anions and low-level bromate. *Journal of Chromatography A* 920: 221-229.

Himata, K., Noda, M., Ando, S. e Yamada, Y. 2000. Measurement of bromate in bread by liquid chromatography with post-column flow reactor detection. *Journal of AOAC International* 83: 347-355.

Huang, Y., Mou, S. e Yan, Y. 1999. Determination of bromate in drinking water at the low $\mu\text{g/L}$ level by column switching ion chromatography. *Journal of Liquid Chromatography and Related Technologies* 22: 2235-2245.

Ingrand, V., Guinamant, J. L., Bruchet, A., Brosse, C., Noij, T. H. M., Brandt, A., Sacher, F., McLeod, C., Elwaer, A. R., Croué, J. P. e Quevauviller, P. 2002. Determination of bromate in drinking water: development of laboratory and field methods. *Trends in Analytical Chemistry* 21: 1-12.

Inoue, Y., Sakai, T., Kumagai, H. e Hanaoka, Y. 1997. High selective determination of bromate in ozonized water by using ion chromatography with postcolumn derivatization equipped with reagent preparation device. *Analytica Chimica Acta* 346: 299-305.

International Union of Pure and Applied Chemistry (IUPAC). 1976. Nomenclature, symbols, units and their usage in spectrochemical analysis - II. Data interpretation. *Analytical Chemistry* 48: 2294-2296.

International Union of Pure and Applied Chemistry (IUPAC). 1995. Nomenclature in evaluation of analytical methods including detection and quantification capabilities. *Pure and Applied Chemistry* 67: 1699-1723.

International Organization for Standardization, ISO 15061, Water quality. 2001. *Determination of dissolved bromate. Method by liquid chromatography of ions.*

Jackson, L. K., Joyce, R. J., Laikhtman, M. e Jackson, P. E. 1998. Determination of trace level bromate in drinking water by direct injection ion chromatography. *Journal of Chromatography A* 829: 187-192.

Jelínek, I. Němcová, I. e Rychlovský, P. 1991. Effects of salts on the stability of the cationic radical of phenothiazine derivatives. *Talanta* 38: 1309-1313.

Joyce, R. J. e Dillon, H. S. 1994. Trace-level determination of bromate in ozonated drinking-water using ion chromatography. *Journal of Chromatography A* 671: 165-171.

Karpińska, J., Starczewska, B. e Puzanowska-Tarasiewicz, H. 1996. Analytical properties of 2- and 10-disubstituted phenothiazine derivatives. *Analytical Sciences* 12: 161-170.

Ketai, W., Huitao, L., Jian, H., Xingguo, C. e Zhide, H. 2000. Determination of bromate in bread additives and flours by flow injection analysis. *Food Chemistry* 70: 509-514.

Kojlo, A., Karpińska, J., Kuzmicka, L., Misiuk, W., Puzanowska-Tarasiewicz, H. e Tarasiewicz, M. 2001. Analytical study of the reaction of phenothiazines with some oxidants, metal ions, and organic substances. *Journal of Trace and Microprobe Techniques* 19: 45-70.

Kościelna, H. 2004. Determination of bromate(V) in drinking water. A review. *Chemia Analityczna* 49: 445-457.

Kurokawa, Y., Maekawa, A., Takahashi, M. e Hayashi, Y. 1990. Toxicity and carcinogenicity of potassium bromate - a new renal carcinogen. *Environmental Health Perspectives* 87: 309-335.

Liu, Y., Mou, S. e Heberling, S. 2002. Determination of trace level bromate and perchlorate in drinking water by ion chromatography with an evaporative preconcentration technique. *Journal of Chromatography A* 956: 85-91.

López-Ruiz, B. 2000. Advances in the determination of inorganic anions by ion chromatography. *Journal of Chromatography A* 881: 607-627.

Magnuson, M. L. 1998. Determination of bromate at parts-per-trillion levels by gas chromatography-mass spectrometry with negative chemical ionization. *Analytica Chimica Acta* 377: 53-60.

Marshall, G. D. e Van Staden, J. F. 1992. Operational parameters affecting zone penetration in sequential injection analysis. *Process Control and Quality* 3: 251-261.

Miller, J. C. e Miller, J. N. 1993. *Statistics for Analytical Chemistry*, 3^a ed. Ellis Horwood, Chichester.

Miró, M., Estela, J. M. e Cerdà, V. 2002. Multisyringe flow injection analysis: characterization and applications. *Trends in Analytical Chemistry* 21: 199-210.

Nawrocki, J. e Bilozor, S. 1997. Brominated oxidation by-products in drinking water treatment. *Journal of Water Supply Research and Technology-Aqua* 46: 304-323.

Němcová, I., Zimova-Sulcova, N. e Nemeč, J. 1982. Oxidation-reduction properties of phenothiazine derivatives. *Chemické Listy* 76: 142-157.

Nowack, B. e Von Gunten, U. 1999. Determination of chlorate at low $\mu\text{g/L}$ levels by ion-chromatography with postcolumn reaction. *Journal of Chromatography A* 849: 209-215.

Nowak, M. e Seubert, A. 1998. Ultra-trace determination of bromate in drinking waters by means of microbore column ion chromatography and on-line coupling with inductively coupled plasma mass spectrometry. *Analytica Chimica Acta* 359: 193-204.

Ohura, H., Imato, T., Kameda, K. e Yamasaki, S. 2004. Potentiometric determination of bromate using an Fe(III)-Fe(II) potential buffer by circulatory flow-injection analysis. *Analytical Sciences* 20: 513-518.

Pantsar-Kallio, M. e Manninen, P. K. G. 1998. Speciation of halogenides and oxyhalogens by ion chromatography inductively coupled plasma mass spectrometry. *Analytica Chimica Acta* 360: 161-166.

Patel, Y. 1992. *Review of ozone and by-products criteria document*. US EPA, Washington DC.

Pfaff, J. D. 1993. US EPA Method 300.0, *Methods for the determination of inorganic substances in environmental samples*. US EPA, Washington DC.

- Pizà, N., Miró, M., Armas, G., Estela, J. M. e Cerdà, V. 2002. Implementation of chemiluminescence detection in the multisyringe flow injection technique. *Analytica Chimica Acta* 467: 155-166.
- Puzanowska-Tarasiewicz, H., Tarasiewicz, M., Karpińska, J., Kojło, A., Wolyniec, E. e Kleszczewska, E. 1998. Analytical application of reactions of 2-and 10-disubstituted phenothiazines with some oxidizing agents. *Chemia Analityczna* 43: 159-178.
- Puzanowska-Tarasiewicz, H., Kuźmicka, L., Karpińska, J. e Mielech-Lukasiewicz, K. 2005. Efficient oxidizing agents for determination of 2,10-disubstituted phenothiazines. *Analytical Sciences* 21: 1149-1153.
- Reis, B. F., Giné, M. F., Zagatto, E. A. G., Lima, J. L. F. C. e Lapa, R. A. 1994. Multicommutation in flow analysis. Part 1. Binary sampling: concepts, instrumentation and spectrophotometric determination of iron in plant digests. *Analytica Chimica Acta* 293: 129-138.
- Rocha, F. R. P. e Nóbrega, J. A. 1996. Efeito Schlieren em sistemas de análise por injeção em fluxo. *Química Nova* 19: 636-640.
- Roehl, R., Slingsby, R., Avdalovic, N. e Jackson, P. E. 2002. Applications of ion chromatography with electrospray mass spectrometric detection to the determination of environmental contaminants in water. *Journal of Chromatography A* 956: 245-254.
- Ruzicka, J. e Hansen, E. H. 1975. Flow injection analysis. Part I. A new concept of fast continuous flow analysis. *Analytica Chimica Acta* 78: 145-157.

Ruzicka, J. e Hansen, E. H. 1988. *Flow injection analysis*, 2ª ed. John Wiley & Sons, New York.

Ruzicka, J. e Marshall, G. D. 1990. Sequential injection: a new concept for chemical sensors, process analysis and laboratory assays. *Analytica Chimica Acta* 237: 329-343.

Salhi, E. e Von Gunten, U. 1999. Simultaneous determination of bromide, bromate and nitrite in low µg/L levels by ion chromatography without sample pre-treatment. *Water Research* 33: 3239-3244.

Schminke, G. e Seubert, A. 2000a. Comparison of ion chromatographic methods based on conductivity detection, post-column-reaction and on-line-coupling IC-ICP-MS for the determination of bromate. *Fresenius Journal of Analytical Chemistry* 366: 387-391.

Schminke, G. e Seubert, A. 2000b. Simultaneous determination of inorganic disinfection by-products and the seven standard anions by ion chromatography. *Journal of Chromatography A* 890: 295-301.

Segundo, M. A. e Rangel, A. O. S. S. 2002. Flow analysis: a critical view of its evolution and perspectives. *Journal of Flow Injection Analysis* 19: 3-8.

Segundo, M. A., Oliveira, H. M., Lima, J. L. F. C., Almeida, M. I. G. S. e Rangel, A. O. S. S. 2005. Sample introduction in multi-syringe flow injection systems: comparison between time-based and volume-based strategies. *Analytica Chimica Acta* 537: 207-214.

Semenova, N. V., Leal, L. O., Forteza, R. e Cerdà, V. 2002. Multisyringe flow-injection system for total inorganic arsenic determination by hydride generation-atomic fluorescence spectrometry. *Analytica Chimica Acta* 455: 277-285.

Seubert, A. e Nowak, M. 1998. Trace analysis of bromate in drinking waters by means of on-line coupling IC-ICP-MS. *Fresenius Journal of Analytical Chemistry* 360: 777-780.

Seubert, A., Schminke, G., Nowak, M., Ahrer, W. e Buchberger, W. 2000. Comparison of on-line coupling of ion-chromatography with atmospheric pressure ionization mass spectrometry and with inductively coupled plasma mass spectrometry as tools for the ultra-trace analysis of bromate in surface water samples. *Journal of Chromatography A* 884: 191-199.

Slingsby, R. e Kiser, R. 2001. Sample treatment techniques and methodologies for ion chromatography. *Trends in Analytical Chemistry* 20: 288-295.

Valsecchi, S., Isernia, A., Polosello, S. e Cavalli, S. 1999. Ion chromatography determination of trace level bromate by large volume injection with conductivity and spectrophotometric detection after post column derivatisation. *Journal of Chromatography A* 864: 263-270.

Van Staden, J. F, Mulaudzi, L. V. e Stefan, R. I. 2004. Spectrophotometric determination of bromate by sequential injection analysis. *Talanta* 64: 1196-1202.

Wagner, H. P., Pepich, B. V., Hautman, D. P. e Munch, D. J. 1999. Analysis of 500 ng/L levels of bromate in drinking water by direct-injection suppressed ion

chromatography coupled with a single, pneumatically delivered post-column reagent. *Journal of Chromatography A* 850: 119-129.

Wagner, H. P., Pepich, B. V., Hautman, D. P. e Munch, D. J. 2000a. Eliminating the chlorite interference in US Environmental Protection Agency Method 317.0 permits analysis of trace bromate levels in all drinking water matrices. *Journal of Chromatography A* 882: 309-219.

Wagner, H. P., Pepich, B. V., Hautman, D. P. e Munch, D. J. 2000b. Performance evaluation of a method for the determination of bromate in drinking water by ion chromatography (EPA Method 317.0) and validation of EPA Method 324.0. *Journal of Chromatography A* 884: 201-210.

Wagner, H. P., Pepich, B. V., Hautman, D. P. e Munch, D. J. 2002. US environmental protection agency method 326.0, a new method for monitoring inorganic oxyhalides and optimization of the postcolumn derivatization for the selective determination of trace levels of bromate. *Journal of Chromatography A* 956: 93-101.

Walters, B. D., Gordon, G. e Bubnis, B. 1997. An ion chromatographic method for measuring <5 µg/L bromate ion in drinking water. *Analytical Chemistry* 69: 4275-4277.

Weinberg, H. 1994. Pre-concentration techniques for bromate analysis in ozonated waters. *Journal of Chromatography A* 671: 141-149.

Weinberg, H. S. e Yamada, H. 1998. Post-ion-chromatography for the determination of oxyhalides at sub-ppb levels in drinking water. *Analytical Chemistry* 70: 1-6.

Weinberg, H. S., Yamada, H. e Joyce, R. J. 1998. A new, sensitive and selective method for determining sub- $\mu\text{g/L}$ levels of bromate in drinking water. *Journal of Chromatography A* 804: 137-142.

Weinberg, H. S., Delcomyn, C. A. e Unnam, V. 2003. Bromate in chlorinated drinking waters: occurrence and implications for future regulations. *Environmental Science and Technology* 37: 3104-3110.

World Health Organisation. 2003. *WHO guidelines for drinking water quality*. 3^a ed., Geneve.

Yamanaka, M., Sakai, T., Kumagai, H. e Inoue, Y. 1997. Specific determination of bromate and iodate in ozonized water by ion chromatography with postcolumn derivatization and inductively-coupled plasma mass spectrometry. *Journal of Chromatography A* 789: 259-265.

Zagatto, E. A. G., Arruda, M. A. Z., Jacintho, A. O. e Mattos, I. L. 1990. Compensation of the Schlieren effect in flow-injection analysis by using dual-wavelength spectrophotometry. *Analytica Chimica Acta* 234: 153-160.

