

---

**Eliana Sousa da Silva**

**Licenciada em Química Industrial**

**Desenvolvimento de um sistema de análise por injeção**

**sequencial (SIA) para a determinação de vanádio (V) em águas**



***Serviço de Química - Física***

***Curso de Mestrado em  
Química Analítica Ambiental***

**Porto Janeiro 2008**

---



Orientadora: ***Professora Doutora Paula Pinto***

Co-Orientadora: ***Professora Doutora Lúcia Saraiva***

Dissertação apresentada à Faculdade de Farmácia  
da Universidade do Porto para a obtenção do  
grau de Mestre em Química Analítica Ambiental

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

Não é o desafio que define quem somos nem o que somos capazes de ser,  
mas como enfrentamos esse desafio.

## ***Índice***

Resumo	I
Abstract	II
Resumé	III
Resumen	IV
Agradecimentos	V
Organização geral da dissertação	VII
Índice de figuras	IX
Índice de tabelas	XI
<b>Capítulo 1. Introdução</b>	<b>1</b>
1.1 Vanádio no ambiente	1
1.1.1 Fontes emissoras, transporte e aplicações	1
1.1.2 Propriedades físico-químicas do vanádio	4
1.1.3 Toxicidade e função biológica do vanádio e seus compostos	7
1.1.4 Legislação em vigor envolvendo o vanádio em águas	11
1.2 Análise por injeção sequencial (SIA)	12
1.3 Metodologias usadas na determinação de vanádio em águas	27
1.4 Enquadramento e objectivos do trabalho	32
1.5 Referências bibliográficas	34
<b>Capítulo 2. Parte experimental</b>	<b>43</b>
2.1 Introdução	43
2.2 Reagentes e soluções	43
2.3 Instrumentação e componentes do sistema SIA	44
2.4 Controlo informático do sistema	49

2.5	Optimização e avaliação das características de funcionamento do sistema SIA desenvolvido	50
2.6	Procedimento experimental	52
2.7	Referências bibliográficas	55
	<b>Capítulo 3. Resultados e discussão</b>	<b>56</b>
3.1	Introdução	56
3.2	Implementação da reacção de vanádio (V) com DPH e 4-AAP	56
3.3	Optimização dos parâmetros físico-químicos do sistema SIA	57
3.3.1	Composição da solução transportadora	58
3.3.2	Comprimento de onda	59
3.3.3	Soluções de reagentes e amostra	59
3.3.4	Paragem de fluxo	64
3.3.5	Caudal de propulsão	64
3.3.6	Dimensão do reactor	65
3.4	Parâmetros de calibração do sistema SIA	65
3.5	Estudo interferências	67
3.6	Aplicação da metodologia a amostras de água	68
3.6.1	Águas para consumo humano	68
3.6.2	Águas residuais	70
3.6.2.1	Estudos de eliminação da interferência do catião Fe (III)	70
3.7	Referências bibliográficas	75
	<b>Capítulo 4. Conclusões</b>	<b>76</b>
4.1	Referências bibliográficas	78

## Resumo

No âmbito desta dissertação foi desenvolvido um sistema de análise por injeção sequencial (SIA) para a detecção espectrofotométrica de vanádio (V) em amostras de água. A reacção baseia-se na condensação oxidativa entre a dopamina e a 4-aminoantipirina pelo vanádio (V) em meio ácido, com consequente formação do produto de cor violeta, detectado a 565 nm.

Foi efectuada a optimização do sistema tendo em conta vários parâmetros físico-químicos, tais como composição da solução transportadora, concentração e volumes de reagentes e amostra, ordem de aspiração de reagentes e amostra, dimensão do reactor, caudal de propulsão e comprimento de onda.

O sistema seguiu a lei de Beer para concentrações de vanádio (V) entre 0,50 e 5,0 mg L<sup>-1</sup>. Foram avaliadas as características analíticas do sistema tendo-se obtido como limites de detecção e quantificação 0,39 e 1,31 mg L<sup>-1</sup>, respectivamente. A metodologia permitiu efectuar 10 determinações por hora.

Uma vez que a metodologia desenvolvida seria posteriormente aplicada à análise de vanádio (V) em amostras de água, foi efectuada um estudo de interferência de diversas espécies usualmente presentes neste tipo de amostras. Depois de optimizada, a metodologia foi aplicada a amostras de água para consumo humano tendo sido avaliados os efeitos de matriz através de ensaios de recuperação.

As vantagens e as limitações da metodologia desenvolvida foram comentadas, nomeadamente no que concerne à sua aplicação a amostras de águas residuais.

## Abstract

The present work describes the development of a sequential injection analysis (SIA) methodology for the spectrophotometric determination of vanadium (V) in water samples. The determination was based on dopamine oxidation by vanadium (V) in acidic medium followed by coupling of the formed intermediary with 4-aminoantipyrine to yield a violet product, detected at 565 nm.

The system optimization was accomplished regarding several physical chemical parameters, such as composition of carrier solution, concentrations and volumes of reagents and sample, order of aspiration of reagents and sample, length of the reaction coil, propulsion flow rate and wavelength.

Beer law was obeyed for vanadium (V) in concentration range 0.50 and 5.0 mg L<sup>-1</sup>. The detection and quantification limits of vanadium (V) determination were found to be 0.39 and 1.31 mg L<sup>-1</sup>, respectively. The sampling rate was of 10 determinations per hour.

Considering that the developed methodology was to be applied to the determination of vanadium (V) in water samples, a study of interference of several species usually present in these samples was performed.

Following system optimization, the methodology was applied to drinking water samples and the matrix effects were assessed through recovery tests.

The advantages and disadvantages of the proposed methodology were discussed, mainly concerning the application to waste water samples.

## Résumé

Le travail présenté décrit le développement d'une méthodologie d'analyse par injection séquentielle (SIA) pour la détermination spectrophotométrique de vanadium(V) dans des échantillons d'eau. Cette détermination est basée sur l'oxydation en milieu acide de la dopamine par le vanadium(V) suivie de la formation en présence de 4-aminoantipyrine d'un produit violet détecté à 565nm.

L'optimisation du système a été effectuée en considérant de nombreux paramètres physico-chimiques comme la composition de la phase éluante, les concentrations et les volumes de réactifs et d'échantillons, l'ordre d'incorporation des échantillons et de l'échantillon, la longueur des tubulures, les débits et la longueur d'onde de détection.

La loi de Beer est vérifiée pour des concentrations en vanadium (V) comprises entre 0,5 et 5,0 mg L<sup>-1</sup>. La limite de détection et le seuil de quantification du vanadium(V) ont été déterminés comme étant respectivement égaux à 0,39 et 1,31 mg L<sup>-1</sup>. Le nombre de mesures d'échantillons est d'environ une dizaine par heure.

La méthode développée s'intéressant spécifiquement à la détermination du vanadium (V) dans des échantillons d'eau, une étude des potentielles interactions dues la présence de diverses espèces présentes dans ce type d'échantillons a été réalisée.

Les avantages et les inconvénients de la méthode proposée pour l'analyse d'échantillons d'eaux de rejet sont discutés dans ce travail.

## Resumen

En el presente trabajo se describe el desarrollo de una metodología de análisis por inyección secuencial (SIA) para la determinación espectrofotométrica de vanadio (V) en muestras de agua. La determinación se basa en la oxidación de dopamina por el vanadio (V) en medio ácido seguida de acoplamiento del intermediario formado con 4-aminoantipirina para generar un producto violeta, que se detecta a 565 nm.

Se realizó una optimización del sistema teniendo en cuenta varios parámetros físico químicos, como la composición de la disolución portadora, la concentración y volúmenes de reactivos y muestra, orden de aspiración de los mismos, longitud de la bobina de reacción, velocidad del flujo de propulsión y longitud de onda.

La ley de Beer se cumplió para un intervalo de concentraciones de vanadio (V) entre 0,50 y 5,0 mg L<sup>-1</sup>. Los límites de detección y de cuantificación para la determinación de vanadio (V) encontrados son 0,39 y 1,31 mg L<sup>-1</sup>, respectivamente. La frecuencia de muestreo es de 10 determinaciones por hora.

Teniendo en cuenta que la metodología desarrollada sería aplicada para la determinación de vanadio (V) en muestras de agua, se realizó un estudio de la posible interferencia de varias especies que suelen estar presentes en este tipo de muestras.

Después de optimizado el sistema, la metodología se aplicó a muestras de agua potable y los efectos de matriz se evaluaron mediante ensayos de recuperación.

Finalmente, se realizó un análisis de las ventajas y desventajas de la metodología propuesta, principalmente en lo que respecta a su aplicación en muestras de aguas residuales.

## Agradecimentos

Ao *Senhor Professor Doutor José Luís Fontes da Costa Lima*, manifesto o meu profundo apreço e gratidão pelo acolhimento único e simpático e por ter acreditado em mim, desde o primeiro momento. O seu carácter muito próprio, e por isso singular, é uma fonte constante de aprendizagem, incentivo, apoio e amizade.

À *Professora Doutora Paula Pinto*, o meu profundo agradecimento pela sua orientação, dedicação e disponibilidade total dispensada à concretização desta tese. Agradeço ainda o apoio, a força e o carinho que me transmitiu nos momentos difíceis.

À *Professora Doutora Lúcia Saraiva*, agradeço a supervisão e co-orientação, a disponibilidade demonstrada ao longo da realização desta dissertação e o apoio transmitido nos momentos mais difíceis.

Ao *Professor Doutor Victor Cerdà*, da Universidade das Ilhas Baleares, Palma de Maiorca, agradeço ter-me recebido como aluna do Bloco B deste Mestrado. A forma simpática e gentil com que fui tratada permanecerá para sempre comigo. Agradeço ainda à Antónia Frias, Laura, Carmen, Toni, Miquel, Maria, Maria Antonieta, Jesus, Veronica, Yania, Mailen, Burkhard, Matias e Prof. Nina pelo modo como me acolheram, proporcionando-me dois meses inesquecíveis de boa disposição e amizade.

Aos docentes das aulas de Mestrado, *Professor(a) Salette Reis, Agostinho Almeida e Beatriz Godinho*, agradeço os ensinamentos científicos transmitidos e a boa disposição. À *Professora Doutora Marcela Segundo*, deixo um agradecimento particular pela atenção que teve para comigo desde o primeiro contacto e pela sua simpatia, amabilidade e ajuda. Aos restantes *Professores* do grupo de Química Física, agradeço a sua amabilidade e simpatia.

À *Faculdade de Farmácia* da Universidade de Porto, agradeço ter-me aceite como aluna de Mestrado.

À *Ana Ramos*, colega de Mestrado e amiga, agradeço a simplicidade com que me recebeu e me deixou fazer parte da sua vida. O seu sorriso tão característico e a sua energia contagiante deram-me forças para enfrentar as adversidades. Obrigado pela cumplicidade, pela partilha de confidências, pelo carinho, pela força e ânimo, por seres a minha guia no Porto, por estares sempre presente e pela amizade que se manterá, mesmo que os nossos caminhos se separem.

Ao *Carlos Azevedo*, colega de Mestrado e amigo, agradeço o facto de me ter recebido de braços abertos, a troca de vivências, o apoio nos momentos difíceis, o carinho demonstrado, a cumplicidade, a boa disposição e a amizade gerada.

A *todos os colegas* do grupo de Química Física, agradeço a sua simpatia e ajuda dispensada. Ao *André*, em particular, agradeço o companheirismo, o apoio, o carinho e a amizade. À *Diana* e à *Joana*, agradeço a boa disposição e o carinho. À *Karine* agradeço o empréstimo constante de material e a convivência solidária e amiga na “parte superior do laboratório”.

Manifesto aqui o meu profundo agradecimento a *todos os meus amigos* por terem entrado na minha vida e aí permanecerem, nos bons e nos maus momentos. À *Sandra* e *Elsa*, deixo um agradecimento sentido pela longa amizade, cumplicidade, carinho, incentivo e apoio incondicional. À *Lucília*, *Lúcia*, *Maria José Tapia*, *Pascal*, *Luís*, *Mariana*, *Susy*, *Sérgio Rodrigues*, *Mónica*, *Dores*, *Rui*, *Olinda*, *Rita(s)*, *Carlos Ramos*, *Rosa*, *Nelson*, *Pedro*, *Isa*, *Maria João*, *Diana*, *Sérgio Diogo*, *Mendes dos Santos*, *Anabela*, *Fernanda* e *Silvina*, agradeço a amizade, a boa disposição e o estímulo com que me presenteiam, apesar da distância.

Ao *meu pai António* e aos *meus irmãos Sérgio* e *Manoel*, agradeço o carinho, o amor, o estímulo e o apoio incondicional em todas as fases da minha vida, permitindo-me ir atrás dos meus “sonhos”. A eles dedico esta dissertação.

## Organização geral da dissertação

A presente dissertação apresenta-se dividida em vários capítulos, incluindo os temas que se referem seguidamente, em detalhe.

No *Capítulo 1, Introdução*, apresenta-se uma abordagem geral ao elemento vanádio e seus compostos no ambiente. Salientam-se as fontes emissoras, transporte no ambiente, aplicações, propriedades físico-químicas, toxicidade, funções biológicas e legislação.

Faz-se uma introdução aos métodos de fluxo e descreve-se, em pormenor, a técnica de análise automática em fluxo empregue neste trabalho, a análise por injeção sequencial SIA (do inglês “*Sequential injection analysis*”). São ainda referidas as diversas metodologias que têm sido utilizadas na quantificação de vanádio (V) em amostras de água, nas quais se incluem as metodologias implementadas por métodos discretos e as metodologias automáticas em fluxo. Na parte final do capítulo, faz-se o enquadramento do trabalho desenvolvido e estabelecem-se os objectivos a alcançar.

No *Capítulo 2, Parte experimental*, faz-se referência aos aspectos práticos deste trabalho. É feita a descrição dos reagentes, material, equipamento, preparação das soluções, componentes do sistema SIA e o modo como é efectuado o controlo informático do sistema. São referidos ainda os processos de optimização e avaliação das características de funcionamento da metodologia SIA, assim como o procedimento experimental utilizado.

No *Capítulo 3, Resultados e discussão*, descreve-se a reacção na qual se baseia a quantificação de vanádio (V) em águas e faz-se a apresentação e discussão dos resultados obtidos nas etapas de desenvolvimento, optimização e validação da metodologia automática SIA implementada. É apresentado o estudo de possíveis espécies interferentes na determinação de vanádio (V) em amostras de água. Apresentam-se os resultados dos ensaios de recuperação obtidos na aplicação da metodologia a amostras de água para consumo humano. São ainda expostos os resultados obtidos na aplicação da metodologia a uma amostra de referência de água residual sendo discutida a estratégia utilizada para eliminar a presença do interferente Fe(III).

No *Capítulo 4, Conclusões*, mencionam-se os aspectos mais relevantes do trabalho, no que diz respeito à aplicação da técnica SIA para a determinação de vanádio (V) em águas. Por fim, refere-se uma proposta futura para a eliminação do interferente Fe(III) em amostras de água.

## Índice de figuras

<b>Figura 1</b>	Ocorrência de várias espécies de vanadato e polivanadato em função do valor de pH e da concentração total de vanádio.....	7
<b>Figura 2</b>	Esquema básico de uma montagem FIA. T - Solução transportadora; R - Reagente; B - Dispositivo propulsor; A - Amostra; V - Sistema de injeção; C - Ponto de confluência, Re - Reactor; D - Detector; E - Esgoto.....	13
<b>Figura 3</b>	Representação esquemática da aspiração sequencial de zonas num sistema SIA. a) Aspiração sequencial de reagente (R) e amostra (S) para o tubo de armazenamento a partir da válvula. b) Perfil de concentrações das zonas enviadas para o detector.....	15
<b>Figura 4</b>	Esquema básico de uma montagem SIA. T - Solução transportadora, P - Dispositivo de propulsão/aspiração; TA - Tubo de armazenamento; VS - Válvula selectora de fluidos; S - Amostra; R1 - Reagente 1; R2 - Reagente 2; R - Reactor. D - Detector; E - Esgoto.....	16
<b>Figura 5</b>	Representação esquemática do funcionamento geral de uma montagem SIA. P - Dispositivo de propulsão/aspiração; HC - Tubo de armazenamento (do inglês “holding coil”); V - Válvula selectora de fluidos; S - Amostra (do inglês “sample”); R - Reagente. St - Solução padrão; D - Detector; W - Esgoto (do inglês “waste”).....	21
<b>Figura 6</b>	Representação esquemática da difusão molecular no sentido axial e radial.....	23
<b>Figura 7</b>	Representação da sobreposição mútua de zonas. Ls: largura da base do pico da zona sobreposta; La: largura da base do pico de amostra; Lr: largura da base do pico de reagente; $I_D$ : ponto de isodispersão.....	24
<b>Figura 8</b>	Esquema da montagem do sistema SIA desenvolvido para a determinação de vanádio (V) em amostras de água. T - Solução transportadora; B - Bomba peristáltica (a - sentido de aspiração, b - sentido de propulsão); TA - Tubo de armazenamento (do inglês “holding coil”); VS - Válvula selectora; R1 - Solução de DPH; R2 - Solução de 4-AAP; S - Amostra/solução padrão; R - Reactor; D - Detector; E - Esgoto.....	45

<b>Figura 9</b>	Bomba peristáltica Gilson Minipuls 3 utilizada no sistema SIA.....	46
<b>Figura 10</b>	Válvula selectora de fluidos de oito portas utilizada no sistema SIA.....	47
<b>Figura 11</b>	Representação esquemática de três posições consecutivas da válvula selectora de fluidos.....	47
<b>Figura 12</b>	Visualização no ecrã do programa usado para a determinação de vanádio (V) em amostras de água. Sentido (a ou b) - sentido de aspiração/propulsão.....	49
<b>Figura 13</b>	Esquema da reacção envolvida na determinação de vanádio (V) em amostras de água no sistema SIA.....	57
<b>Figura 14</b>	Espectro de absorção molecular do produto da reacção.....	59
<b>Figura 15</b>	Influência do volume de solução de DPH no sinal analítico de uma solução padrão de vanádio (V) de concentração 5,0 mg L <sup>-1</sup> .....	60
<b>Figura 16</b>	Influência da concentração de solução de 4-AAP no sinal analítico de uma solução padrão de vanádio (V) de concentração 5,0 mg L <sup>-1</sup> .....	61
<b>Figura 17</b>	Influência da concentração da solução de DPH no sinal analítico de uma solução padrão de vanádio (V) de concentração 5,0 mg L <sup>-1</sup> .....	62
<b>Figura 18</b>	Variação do declive da curva de calibração de vanádio (V) com a ordem de aspiração. 1) 4-AAP/Am/DPH; 2) Am/4-AAP/DPH; 3) Am/DPH/4-AAP; 4) Am/DPH/4-AAP/DPH/4-AAP; 5) Am/DPH/4-AAP/DPH/4-AAP/DPH/4-AAP.....	63
<b>Figura 19</b>	Registo dos sinais analíticos obtidos na construção da curva de calibração com soluções padrão de vanádio (V) de concentrações crescentes.....	66

## Índice de tabelas

<b>Tabela 1</b>	Algumas propriedades físico-químicas do elemento vanádio.....	5
<b>Tabela 2</b>	Ciclo analítico implementado no sistema SIA para a determinação de vanádio (V) em amostras de águas residuais.....	53
<b>Tabela 3</b>	Resultados obtidos no estudo de espécies potencialmente interferentes na determinação de vanádio (V) pela metodologia desenvolvida.....	68
<b>Tabela 4</b>	Resultados obtidos nos ensaios de recuperações em águas para consumo humano.....	69
<b>Tabela 5</b>	Erros relativos obtidos na quantificação de vanádio (V) na amostra de referência de água residual, após a adição de soluções de EDTA com diversas concentrações.....	72
<b>Tabela 6</b>	Erros relativos obtidos na quantificação de vanádio (V) em amostras de águas fictícias tratadas com EDTA $3,5 \times 10^{-5} \text{ mol L}^{-1}$ .....	74

## Capítulo 1

### *Introdução*

#### **1.1 Vanádio no ambiente**

##### ***1.1.1 Fontes emissoras, transporte e aplicações***

A contaminação do meio ambiente por metais pesados tem vindo a suscitar preocupação nas populações no que concerne aos efeitos que podem provocar na saúde humana e no sistema ecológico, sendo por isso considerado um tema de actual relevância.

O vanádio é um elemento metálico que se encontra amplamente distribuído pela crosta Terrestre em baixas concentrações [1,2]. Este, em quantidades vestigiais ( $\text{ng mL}^{-1}$ ), representa um elemento essencial para o normal crescimento das células, mas pode ser tóxico para o homem e para os animais quando presente em concentrações

superiores [2-5]. Pode-se assim depreender a importância dos estudos de monitorização de vanádio que tem vindo a ser efectuados em amostras ambientais [2,6].

No ambiente, o vanádio não se encontra na sua forma elementar, mas sim combinado com outros elementos, tais como oxigénio, sódio, enxofre ou cloreto. Os seus compostos existem em mais de cinquenta ligas metálicas e em associação com combustíveis fósseis, tais como petróleo bruto, óleos, carvão [7]. Este encontra-se também em diversos minerais, tal como vanadite,  $Pb_5(VO_4)_3Cl$ , cartonite,  $K_2(UO_2)_2(VO_4)_2 \cdot 3H_2O$  e patronite ( $VS_4$ ). Outros minerais de vanádio, embora de menor importância, são a bravoite, sulvanite, roscoelite, davidite e uvanite [1,8].

O vanádio envolve-se em vários processos geoquímicos que ocorrem na crosta terrestre. O ciclo biogeoquímico global do vanádio caracteriza-se pela libertação deste para a atmosfera, água e solo, proveniente de fontes naturais e antropogénicas. O transporte das partículas contendo vanádio para áreas distantes é efectuado através da água ou do ar, pela deposição seca e húmida e pelos processos de adsorção e complexação. Como todos os elementos vestigiais que se acumulam no solo, o vanádio migra no próprio solo e no sistema: rocha - água - solo - vegetação - animais - homem. O transporte e distribuição do vanádio na água e nos solos são directamente influenciados pelo pH, potencial de oxidação-redução e presença de matéria particulada [1].

As principais fontes emissoras de vanádio para o ambiente têm origem maioritariamente nos processos de combustão de óleo, seguida da combustão de carvão. Efectivamente, das 64 000 toneladas/ano de vanádio que são emitidas para a atmosfera a partir de fontes naturais e antropogénicas, 90% provém da combustão de óleos [7]. A queima destes combustíveis liberta vanádio para a atmosfera, o qual se deposita posteriormente nos solos e pode ser lixiviado para as águas superficiais e subterrâneas

[9]. Por outro lado, a libertação natural de vanádio para o solo e para a água advém principalmente da erosão dos solos, do desgaste das rochas e fogos florestais [10]. Este processo envolve geralmente a conversão de vanádio no estado de oxidação (III), menos solúvel, para o vanádio no estado de oxidação (V), mais solúvel. Estas fontes naturais contribuem com mais de 8,4 toneladas/ano para a emissão de vanádio para a atmosfera [7].

A concentração de vanádio nas águas depende largamente da localização geográfica. A localização de sistemas de água em áreas próximas de locais industriais, ou em locais onde as fontes naturais de vanádio são elevadas, contribuem para a presença de vanádio nessas mesmas águas em maior ou menor quantidade. A concentração de vanádio varia desde  $0,2 \mu\text{g L}^{-1}$  a mais de  $100 \mu\text{g L}^{-1}$  em águas naturais e de  $0,2$  a  $29 \mu\text{g L}^{-1}$  na água do mar. Nos solos, a concentração de vanádio varia entre  $3,0$  a  $310 \mu\text{g g}^{-1}$  [8]. Os dados existentes sobre a presença de vanádio em águas residuais ou águas superficiais são escassos e antigos. Dados mais recentes revelam que a concentração de vanádio em áreas onde haja indústria deve rondar os  $60 \mu\text{g L}^{-1}$  [7].

Os compostos de vanádio são amplamente empregues numa vasta gama de processos industriais, sendo o metavanadato de amónio ( $\text{NH}_4\text{VO}_3$ ) e o pentóxido de vanádio ( $\text{V}_2\text{O}_5$ ) os mais comuns, servindo de matéria-prima para a obtenção da maioria dos outros compostos. São utilizados como catalisadores na indústria química, em particular no fabrico de ácido sulfúrico (caso do  $\text{V}_2\text{O}_5$ ), na produção de ligas de aços especiais com alumínio, cobre, ferro e outros metais resistentes à temperatura e corrosão [2], na ligação de titânio com aço, na indústria do vidro (o dióxido de vanádio,  $\text{VO}_2$ , por exemplo, actua como revestimento especial para vidros, com efeito bloqueador de radiação infravermelha e não da luz visível) [11], no fabrico de pigmentos e tintas, em alguns tipos de baterias e células de combustíveis, em equipamentos electrónicos, em

reações de oxidação de fase líquida e como vanadatos de sódio ou amônio em material de limpeza para condutas de gás [2,11].

O vanádio também pode ser empregue, em menores quantidades, no fabrico de plásticos, borracha, cerâmica e outros químicos. Todas estas fontes antropogénicas contribuem para libertação de vanádio para a atmosfera. Outras fontes antropogénicas incluem as lamas provenientes dos esgotos municipais e certos fertilizantes [1].

### **1.1.2 Propriedades físico-químicas do vanádio**

O vanádio é um metal de transição pertencente ao grupo V da tabela periódica. No estado puro, é um elemento metálico, brilhante, prateado, dúctil e maleável, existindo usualmente na forma de cristais. Este elemento possui boa resistência a bases, ácido clorídrico e ácido sulfúrico. Para valores de temperaturas superiores a 660°C este sofre oxidação. Algumas das propriedades físico-químicas gerais do vanádio são apresentadas na *Tab. 1* [1,7,12].

O vanádio possui dois isótopos naturais,  $^{50}\text{V}$  e  $^{51}\text{V}$ . No entanto, o isótopo  $^{50}\text{V}$  é considerado ligeiramente radioactivo, com um tempo de meia vida de  $6 \times 10^{+15}$  anos. Artificialmente têm sido sintetizados vários isótopos radioactivos, contudo muito instáveis, como é o caso dos isótopos  $^{46-49}\text{V}$ ,  $^{52-54}\text{V}$  [12,13].

O vanádio possui vários estados de oxidação, desde o estado -1 ( $d^6$ ) ao estado +5 ( $d^0$ ) e pode existir em várias formas oxianiónicas ou oxicatiónicas [1,2,13-16]. Contudo, os estados de oxidação mais comuns são os estados +3, +4 e +5, os quais podem ser estáveis em solução aquosa e são as únicas formas com algum significado biológico nos organismos vivos [2,11]. O vanádio no estado de oxidação (III) e no estado de oxidação (IV) actua como catião, mas no estado de oxidação (V), a forma mais usual no meio aquático, o vanádio reage quer como catião quer como anião. O vanádio assume assim

uma posição excepcional entre os biometais devido ao facto que quer a forma catiónica quer a forma aniónica podem participar em processos biológicos. Na forma aniónica, de vanadatos,  $\text{H}_2\text{VO}_4^-$ ,  $\text{HVO}_4^{2-}$ , actua como um análogo do fosfato [2,15,17], mas na sua forma catiónica, sobretudo como  $\text{VO}^{2+}$ , comporta-se como um típico metal de transição, competindo com outros na coordenação a ligandos biogénicos e outros compostos. Alguns autores consideram a química do vanádio mais complexa que os demais metais, dado os múltiplos estados de oxidação que este apresenta e a fácil hidrólise e polimerização a que está sujeito [2,7].

**Tabela 1** - Algumas propriedades físico-químicas do elemento vanádio[1,7,12].

Grandeza	Valor	Unidade
Massa específica do sólido	6110	$\text{kg/m}^3$
Ponto de fusão	$1890 \pm 10$	$^{\circ}\text{C}$
Calor de fusão	22,8	$\text{kJ/mol}$
Ponto de ebulição	3407 (3380, a 1 atm= $1.013 \times 10^5$ Pa)	$^{\circ}\text{C}$
Calor de vaporização	453	$\text{kJ/mol}$
Electronegatividade	1,63	Pauling
Estados de oxidação	+5, +4, +3, +2, +1, 0, -1	-
Resistividade eléctrica	20	$10^{-8} \Omega \text{ m}$
Condutividade térmica	31	$\text{W}/(\text{m}^{\circ}\text{C})$
Calor específico	489	$\text{J}/(\text{kg}^{\circ}\text{C})$
Coefficiente de expansão térmica	0,84	$10^{-5} (1/^{\circ}\text{C})$
Coefficiente de Poisson	0,37	-
Estrutura cristalina	Cúbica de corpo centrado	-
d	5,96	$\text{g cm}^{-3}$
MA	50,94	$\text{g mol}^{-1}$
Configuração electrónica	$[\text{Ar}] 4s^2 3d^3$	-

Nas águas naturais arejadas e nas águas industriais o vanádio está presente nos estados de oxidação (IV) e (V) [3,8,17,19]. A coexistência destas duas espécies é dependente do pH, potencial de oxidação-redução, força iónica do meio e da presença de matéria orgânica (ácidos húmicos) [3,20-22]. Na presença de oxigénio ou de agentes oxidantes (por exemplo, diamida), o vanádio encontra-se sempre no estado (V), independentemente da natureza do composto original. Na presença de agentes redutores (por exemplo, ácido ascórbico), os compostos de vanádio encontram-se no estado de oxidação (IV) [15,23].

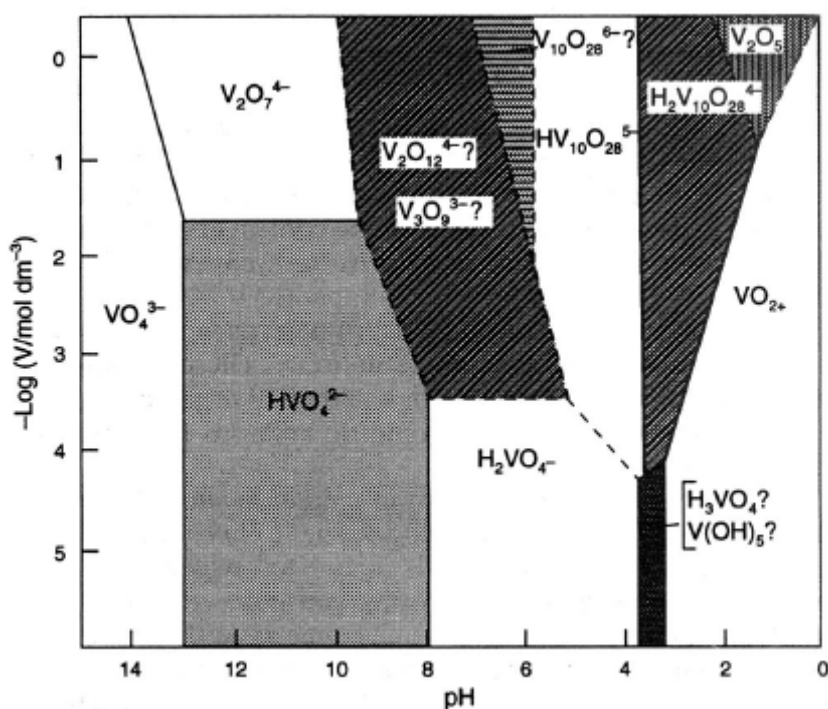
Vários autores afirmam que em solução, o vanádio (V) é a espécie mais estável. No entanto, o vanádio (IV) é facilmente oxidado a vanádio (V) em soluções cujo valor de pH seja elevado. O vanádio (V) pode existir como vários oxoiões, referidos como vanadatos (por exemplo,  $\text{VO}_4^{3-}$ ,  $\text{H}_2\text{VO}_4^-$ ,  $\text{HVO}_4^{2-}$ ) ou como catião  $\text{VO}_2^+$ . A natureza exacta da espécie de vanadato presente na solução depende fortemente do pH desta e da concentração (*Fig. 1*) [3].

O vanadato, a espécie pentavalente em solução, pode polimerizar (principalmente a formas diméricas e triméricas), especialmente em concentrações de sais mais elevadas [7].

O vanádio (V) existe como catião  $\text{VO}_2^+$  em meio ácido e como catião  $\text{VO}_4^{3-}$  em meio alcalino [2,5]. O vanádio (IV), na forma de catião vanadilo,  $\text{VO}^{2+}$ , pode estar presente em meio redutor. É estável em solução ácida cujo valor de pH é inferior a 2, mas é oxidado ao estado (V) pelo oxigénio atmosférico para valores mais elevados de pH [2].

Ambos os estados de oxidação (IV) e (V) do vanádio possuem tendência para formar quelatos estáveis com uma variedade de ligandos orgânicos e inorgânicos (tais como cetonas, aldeídos, catecóis, compostos amino e fenóis). A formação de quelatos é

outro factor que pode alterar o estado de oxidação do vanádio de (V) para (IV) [13]. Esta alteração do estado de oxidação do vanádio na amostra explica-se pela transferência de carga entre o vanádio e a espécie quelante, dado que é necessário que um dos componentes tenha características de doador de electrões e o outro funcione como receptor de electrões.



**Figura 1** - Ocorrência de várias espécies de vanadato e polivanadato em função do valor de pH e da concentração total de vanádio [3].

### 1.1.3 Toxicidade e função biológica do vanádio e seus compostos

O vanádio é considerado um elemento relativamente tóxico para o Ser Humano e animais [24,25]. A nível vestigial, o vanádio é um elemento essencial para o crescimento das células mas pode ser tóxico quando presente em concentrações mais elevadas. A toxicidade do vanádio depende do seu estado físico-químico, particularmente do estado oxidação e da solubilidade. A toxicidade de um composto

aumenta com o aumento do estado de oxidação. É amplamente reconhecido que o vanádio (V) na forma de vanadato é mais tóxico do que o vanádio (IV) presente na forma de íons vanadilo [1,3,5,18,26].

Com base na toxicidade aguda, o composto de vanádio  $\text{NH}_4\text{VO}_3$  no estado de oxidação (V) tem sido descrito como sendo duas vezes mais tóxico que o composto  $\text{VCl}_3$  no estado de oxidação (III) e, mais de seis vezes mais tóxico que o composto  $\text{VI}_2$  no estado de oxidação (II). Por sua vez, o composto de vanádio  $\text{V}_2\text{O}_5$  no estado de oxidação (V) tem sido citado como sendo mais de cinco vezes mais tóxico que o composto de vanádio  $\text{V}_2\text{O}_3$  no estado de oxidação (III) [27]. Desta forma, o vanádio e os seus compostos devem ser encarados como tóxicos, devendo por isso ser tratados e manipulados com bastante cuidado [1].

Os compostos de vanádio são geralmente conhecidos por terem actividade insulina mimética, quer em sistemas *in vitro* ou *in vivo*, podendo tornar-se útil no futuro tratamento da diabetes [28-34]. Contudo, as questões relacionadas com os possíveis efeitos carcinogénicos e de toxicidade destes compostos [24,35-37], em particular após a administração prolongada para o tratamento das diabetes, são uma preocupação relevante.

A absorção de vanádio pelo organismo depende da composição química do composto de vanádio, assim como também das espécies expostas e dos modos de exposição. A exposição de humanos e animais a vanádio e compostos de vanádio por inalação resulta especialmente em efeitos adversos para o sistema respiratório [27,38,39]. No entanto, não existem dados suficientes que dêem origem a uma dose de referência crónica ou subcrónica para a inalação. Outros efeitos foram observados após a exposição oral ou inalação de vanádio, em parâmetros sanguíneos [40,41], fígado [42] e no desenvolvimento neurológico em ratos [43] e outros organismos.

Nos humanos, os sais de vanádio são fracamente absorvidos no trato gastrointestinal. A exposição aguda e crónica pode dar origem a conjuntivites, rinites, irritação reversível do tracto respiratório, bronquite, e asma. A exposição industrial é em grande parte aguda, sendo raramente crónica [1,12,27].

A excreção do vanádio pelo organismo humano depende da forma como decorreu a exposição e da forma química em que este se encontra presente. Contudo, as principais fontes de excreção são a urina e as fezes.

Estudos efectuados em animais demonstram que doses orais elevadas de vanádio provocam opressão dos vasos, congestão e degeneração do fígado, hemorragias nos pulmões, insuficiência respiratória, convulsões, diarreia com perda de sangue e morte [27,44]. A intoxicação por inalação provoca sangramento do nariz e bronquite aguda [27]. O ácido ascórbico revelou-se um antídoto efectivo contra doses letais de vanádio em ratos, ratazanas e cães, devido à sua capacidade em reduzir o vanádio ao estado de oxidação (IV) [1]. Para os animais, a principal via de excreção de vanádio é a urina [1,7].

A dose letal de vanádio  $LC_{50}$  (concentração letal para 50% dos organismos expostos) é largamente dependente da espécie, idade, dieta e modo de exposição. O valor de  $LC_{50}$  encontrado para ratos expostos a vanádio por via oral varia entre 10-160 mg/Kg de peso para pentóxido de vanádio e outros compostos de vanádio no estado de oxidação (V) enquanto que para compostos de vanádio no estado de oxidação (IV) varia entre 448-467 mg/Kg de peso. Os valores agudos de  $LC_{50}$  para os organismos aquáticos variam de 0,20 a 120 mg L<sup>-1</sup>, com a maioria a estar compreendida entre 1,0 e 2,0 mg L<sup>-1</sup> [7].

Estudos nutricionais revelaram que o vanádio é um elemento essencial para os pintainhos e ratos. A sua deficiência pode resultar numa redução do crescimento, danos

na reprodução e distúrbios no metabolismo de lípidos. O vanádio também é essencial para os microorganismos existentes no solo poderem fixar o nitrogénio [45].

O vanádio não tem funções biológicas definidas nos animais, mas encontra-se no pigmento respiratório que constitui o sangue (azul) de um tipo de vermes marinhos (gén. *Ascidia*). O vanádio pode também substituir o fósforo na molécula da apatite ( $P_2O_5$ ) que é um importante constituinte dos dentes.

As formas de vanádio (IV) e vanádio (V) são as mais estudadas pelo facto de ambas serem capazes de reagir com material genético, podendo interagir com os grupos fosfatos e os grupos de açúcar dos nucleótidos para formar complexos que inibem ou estimulam a actividade das muitas enzimas de DNA e RNA [2]. Estas duas espécies apresentam diferentes propriedades nutricionais e de toxicidade, justificando-se assim os estudos de especiação que tem sido efectuados nos últimos anos [3,46].

O papel desempenhado pelo vanádio no sistema fisiológico envolve a normalização dos níveis de açúcar, participação em vários sistemas de enzimas como inibidores e como catalisador da oxidação de várias aminas [3,47]. O vanádio, de entre os metais de transição, é o que mais poder catalisador possui na oxidação de catecolaminas (exemplo, a adrenalina) e também na oxidação de aminas derivadas da descarboxilação de aminoácidos [3,47].

Estudos *in vitro* revelaram que os estados de oxidação (IV) e (V) do vanádio são equitativamente activos. É esta actividade catalítica que pode ser responsável pela intensa contracção vascular que ocorre nos pulmões, rins e intestinos quando são administradas grandes quantidades de vanádio [3]. Foi demonstrado que aproximadamente 0,5 mg/L de vanádio inibem a síntese de colesterol e aumentam a oxidação de ácidos gordos. O vanádio também altera o metabolismo do sulfato pela redução da quantidade de SH no fígado [17,47].

De acordo com os dados existentes na literatura, a bioacumulação ou bioconcentração de vanádio é considerada baixa ou limitada para os mamíferos, aves e peixes. Contudo, parece ser muito maior para os moluscos, crustáceos e animais mais baixos e moderada para plantas e algas, não existindo indicação da biomagnificação do vanádio na cadeia alimentar [7,13].

Um estudo efectuado por Ress *et al.* [48] revelou que a inalação de pentóxido de vanádio por parte de ratas masculinas e de ratos masculinos e femininos, é carcinogénica, apesar de estes resultados terem sido recentemente refutados [49]. Contudo, a informação disponível na literatura não é suficientemente esclarecedora no que diz respeito à possibilidade de o vanádio ou os compostos de vanádio serem considerados toxinas reprodutivas ou teratogénicos. De acordo com a EPA [50] (do inglês “*Environmental Protection Agency*” - USA) e o IARC [51] (do inglês “*International Agency for Research on Cancer*”), o vanádio e os compostos de vanádio ainda não foram classificados como elementos carcinogénicos. Em humanos, não existem estudos disponíveis sobre os possíveis efeitos carcinogénicos do vanádio. Estudos efectuados em animais expostos a vanádio através da ingestão de água, não revelaram a longo termo um aumento dos tumores.

#### **1.1.4 Legislação em vigor envolvendo o vanádio em águas**

Apesar da relativa toxicidade apresentada pelo vanádio, verificou-se que muito pouco está legislado, no nosso País e a nível comunitário, no que diz respeito aos valores que este elemento pode apresentar em diversas matrizes de águas (naturais e residuais).

O Decreto-Lei n.º 236/98, de 1 de Agosto [52] estabelece normas, critérios e objectivos de qualidade com a finalidade de proteger o meio aquático e melhorar a

qualidade das águas em função dos seus principais usos. O anexo XVIII do referido decreto estipula valores limite de emissão (VLE), para vários parâmetros, entre os quais se incluem os metais, na descarga de águas residuais na água e no solo. No entanto, constatou-se que não existe um valor legislado para o elemento vanádio, apesar deste ser considerado um elemento tóxico. Apenas o anexo XVI do referido Decreto de Lei, referente à qualidade das águas destinadas à rega, estipula os valores máximo recomendado (VMR) e máximo admissível (VMA) para o vanádio de  $0,10 \text{ mg L}^{-1}$  e  $1,0 \text{ mg L}^{-1}$ , respectivamente, dada a toxicidade que o vanádio apresenta para várias culturas, mesmo em concentrações relativamente baixas.

Relativamente às águas para consumo humano, as normas Portuguesas não estipulam valores de referência no que concerne à presença do elemento vanádio neste tipo de matriz [53].

## 1.2 Análise por injeção sequencial (SIA)

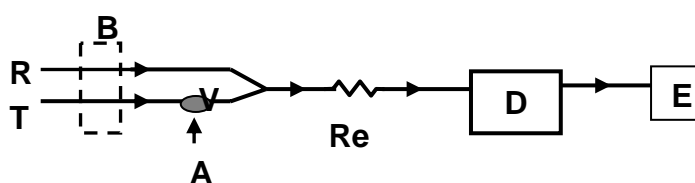
A crescente exigência requerida no controlo de vários parâmetros a nível industrial, alimentar, farmacêutico e ambiental conduziu ao desenvolvimento e aperfeiçoamento de técnicas analíticas com a finalidade de se obterem melhores resultados na análise de matrizes complexas e diversificadas. Deste modo, as técnicas de análise automáticas por fluxo deram o seu contributo para a automatização de metodologias analíticas mais expeditas, com elevada eficiência analítica, que permitem minimizar a intervenção humana na manipulação de amostras com consequente diminuição de erros provenientes de várias fontes.

Os sistemas de análise por fluxo têm sofrido uma grande evolução e diversificação desde o aparecimento do conceito de sistemas em fluxo contínuo segmentado, SFA (do inglês “*Segmented flow analysis*”) [54] até ao desenvolvimento

dos sistemas em fluxo contínuos não segmentados na década de 70. Nos sistemas SFA ocorre segmentação da zona de amostra (solução resultante da mistura entre amostra e reagentes) com bolhas de ar, ao contrário do que sucede nos sistemas em fluxo contínuos não segmentados que são caracterizados por um escoamento contínuo das soluções no tempo e no espaço.

Foi apenas em 1975 que surgiu o conceito de análise por injeção em fluxo, FIA (do inglês “*Flow injection analysis*”) [55]. Um sistema FIA básico é constituído por um dispositivo propulsor, um sistema de injeção e um detector (*Fig 2*).

A técnica FIA baseia-se na injeção de um pequeno volume preciso da solução de amostra num fluido transportador não segmentado e em movimento contínuo. Esta solução é transportada durante um determinado percurso até alcançar o detector, onde se forma o sinal analítico. À medida que a amostra injectada se move no sistema, gera-se um gradiente de concentrações devido a uma série de transformações físico químicas que podem ocorrer, tais como dispersão física, reacção química, diluição, extração, tamponação, etc. Este gradiente é monitorizado através de um detector, formando-se um sinal analítico transiente com a forma de uma curva gaussiana. Deste modo, a metodologia FIA baseia-se no controlo da dispersão do segmento de amostra no fluxo transportador.

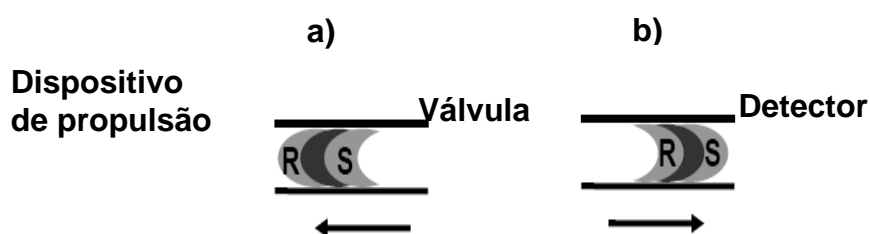


**Figura 2** - Esquema básico de uma montagem FIA. T - Solução transportadora; R - Reagente; B - Dispositivo propulsor; A - Amostra; V - Sistema de injeção; C - Ponto de confluência, Re - Reactor; D - Detector; E - Esgoto.

Ao contrário do que sucede nos métodos de análise descontínuos, as determinações nos sistemas FIA são efectuadas em condições de não equilíbrio físico ou químico e permitem ainda um processamento de dados mais versátil (facultando a análise da altura, área e largura de pico ou distância entre picos). A estas vantagens, pode-se ainda acrescentar o consumo de pequenos volumes de amostra, montagens de sistemas mais simples, de baixo custo e versáteis, sendo a intervenção do operador menos relevante, o que possibilitou o aumento do ritmo de amostragem, diminuição do consumo de amostra e diminuição de possíveis contaminações [56,57], permitindo que estas montagens sejam adaptadas a determinações específicas. Estes factores contribuíram para a larga aplicação da técnica FIA na automatização de métodos analíticos em diversas áreas. Convém realçar que o uso de computador não era obrigatório para informatizar o sistema, facto que a distingue das restantes técnicas de fluxo contínuo não segmentado que surgiram posteriormente. Porém, a técnica FIA apresenta como principal desvantagem a necessidade de reconfigurar fisicamente as montagens de forma a adaptá-las a diferentes determinações.

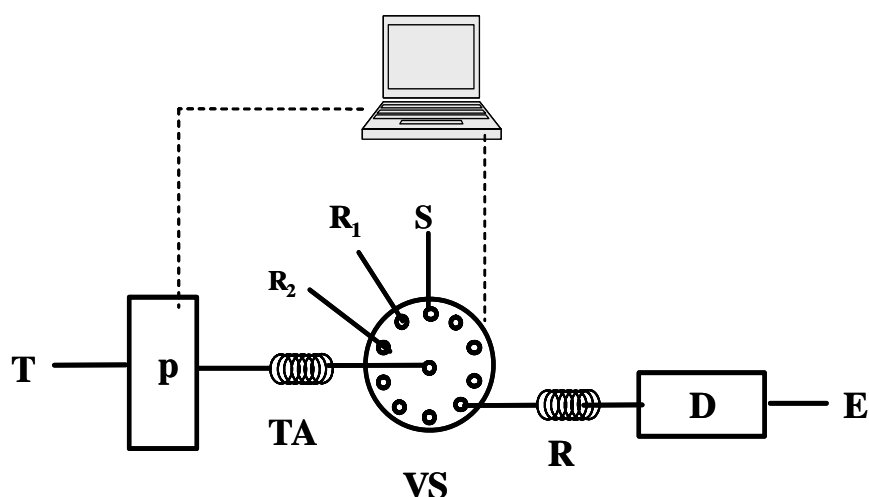
A análise por injeção sequencial, SIA (do inglês “*Sequential injection analysis*”), foi introduzida em 1990 por Ruzicka e Marshall [58] como uma evolução do processo de análise por fluxo. Esta técnica surgiu na tentativa de simplificar as montagens, tornando-se uma opção versátil e robusta à automatização de procedimentos analíticos complexos. A técnica SIA baseia-se nos mesmos princípios que a técnica FIA no que diz respeito à introdução de volumes precisos de amostra e reagentes, dispersão controlada e reprodutibilidade dos resultados.

A metodologia SIA consiste, na sua forma mais simples, na aspiração sequencial de volumes precisos de amostra e reagentes para um tubo de armazenamento (*Fig. 3a*). A aspiração das soluções é efectuada a partir de uma válvula selectora e por selecção da porta correspondente. Por inversão do sentido do fluxo, e por comutação da válvula selectora, ocorre a sobreposição reproduzível das zonas de amostra e reagente (*Fig. 3b*), formando-se uma zona composta derivada da penetração mútua das zonas, para a qual contribuem o processo de transporte conveccional e de difusão molecular [59,60].



**Figura 3** - Representação esquemática da aspiração sequencial de zonas num sistema SIA. a) Aspiração sequencial de reagente (R) e amostra (S) para o tubo de armazenamento a partir da válvula. b) Perfil de concentrações das zonas enviadas para o detector.

Um sistema SIA básico (*Fig. 4*) é constituído por um dispositivo propulsor, uma válvula selectora de fluidos e um detector, ligados entre si por tubagem de diâmetro interno reduzido e controlados por computador [58].



**Figura 4** - Esquema básico de uma montagem SIA. T - Solução transportadora, P - Dispositivo de propulsão/aspiração; TA - Tubo de armazenamento; VS - Válvula selectora de fluidos; S - Amostra; R1 - Reagente 1; R2 - Reagente 2; R - Reactor. D - Detector; E - Esgoto.

A parte fulcral do sistema SIA é a *válvula selectora de fluidos*. A válvula funciona como apoio dos restantes componentes do sistema (tubos de reacção, câmaras de mistura, detectores, reactores, dispositivos adicionais) e das soluções envolvidas na determinação de um dado analito. A porta central da válvula selectora permite a circulação de fluidos no sistema uma vez que se encontra ligada ao tubo de armazenamento e pode ligar-se, a qualquer momento, a todas as portas laterais. O número de portas laterais limita o número de operações que o sistema pode efectuar uma vez que define o número de soluções ou componentes (tubos reacção, câmaras de mistura, detectores) que podem estar conectados à volta da válvula selectora. Há no entanto a possibilidade de incorporar num mesmo sistema, mais do que um dispositivo de selecção, o que alarga assim a o número de operações que podem ser efectuadas, de um modo versátil. Esta característica torna possível aplicar a mesma montagem a diferentes determinações e analitos, sem necessidade de reconfigurar fisicamente o

sistema, bastando para tal efeito alterar as instruções contidas no software de controlo, através do teclado do computador [58].

A versatilidade da válvula selectora permite construir montagens SIA para operar num modo multiparamétrico. Nestes casos, cada porta da válvula desempenha um fim específico e a combinação de amostra, soluções padrão, reagentes e detectores em redor da válvula é possível sem recorrer à reconfiguração física do sistema, permitindo monitorizar vários parâmetros em conjunto [61,62].

Esta versatilidade, apresentada pela válvula selectora de fluidos, é considerada a grande vantagem da técnica SIA em relação à técnica FIA.

No que diz respeito ao dispositivo propulsor, este deve permitir a reprodutibilidade das aspirações e propulsões, na medida em que os volumes utilizados são definidos pelo caudal e tempo de aspiração ou propulsão. Isto significa que todos os movimentos conferidos por este dispositivo de início, paragem e inversão do sentido do fluxo têm que ser bastante precisos para garantir a reprodutibilidade supracitada [63]. O mesmo dispositivo deve ainda ser capaz de originar um fluxo laminar e isento de pulsos aleatórios, ser resistente a solventes agressivos e reagentes, permitir um rápido ajuste de caudal e envolver baixos custos de manutenção.

Existem vários tipos de dispositivos propulsores susceptíveis de serem utilizados em sistemas SIA, sendo os mais usados a bomba de pistão e a bomba peristáltica. A bomba de pistão sinusoidal foi dos primeiros dispositivos propulsores a ser usada, apresenta uma elevada repetibilidade durante prolongados períodos de tempo [63,64] e permite utilizar solventes orgânicos [65]. Contudo, proporciona ritmos de amostragem relativamente baixos, dada a capacidade da seringa, que necessita de reenchimentos constantes entre os ciclos analíticos. Em 1993, Ivaska *et al.* [66] avaliaram o uso de uma bomba peristáltica num sistema SIA. Esta apresenta como vantagens o facto de permitir

o acesso directo ao transportador (não se verificando a limitação existente em relação à seringa), de fornecer um escoamento micropulsado regular [63] e de permitir que o fluxo seja bidireccional e interrompido, reduzindo o consumo de amostra e reagentes, acarretando assim uma diminuição de desperdícios produzidos. Esta adaptação permitiu reduzir o volume gasto de reagentes e transportador em SIA para menos dez vezes que o necessário em FIA. Isto traduz-se numa vantagem em termos económicos e ambientais, indo também de encontro aos conceitos da Química Verde [67]. Apesar destas vantagens, e embora extremamente versáteis, a tubagem deste tipo de dispositivo sofre um desgaste considerável quando utilizada por longos períodos de tempo ou quando se usam solventes orgânicos, sendo necessário efectuar a sua substituição regularmente.

As microbombas solenóides [68] são as mais recentes unidades a serem empregues como dispositivos propulsores de fluidos. Estas unidades originam um fluxo pulsado totalmente controlado e são consideradas robustas e económicas [69-74]. Recentemente, Pinto *et al.* [75] utilizaram num sistema SIA microbombas solenóides como sistemas propulsores na determinação de indometacina em formulações farmacêuticas. As microbombas solenóides, responsáveis por aspiração e propulsão de soluções no sistema, actuam por movimento repentino do seu diafragma interno provocando um movimento caótico das soluções em todas as direcções o que contribuiu para uma mistura mais rápida e eficiente de zonas vizinhas, favorecendo o desenvolvimento da reacção.

No que diz respeito ao tipo de detector utilizado, é possível encontrar na literatura diferentes tipos de detectores conectados ao sistema SIA, possibilitando diferentes determinações. Considera-se que um detector é adequado quando este se pode acoplar em termos físicos ao sistema de fluxo e, de modo que a detecção em condições de fluxo seja efectuada com dispersão mínima da espécie a ser detectada, no momento

da medida. A posição do detector no sistema SIA depende do objectivo final a que se destina. Na primeira montagem SIA apresentada por Ruzicka *et al.* [58] o detector posicionava-se entre o dispositivo propulsor e a válvula.

O tubo de armazenamento, que permite a ligação da válvula selectora ao dispositivo propulsor, deve ter o comprimento suficiente para impedir que as amostras ou reagentes aspirados contaminem a solução transportadora. Considera-se que o tubo de armazenamento deve ser capaz de armazenar um volume duas vezes superior ao volume correspondente às zonas aspiradas de amostra e reagentes [76-78].

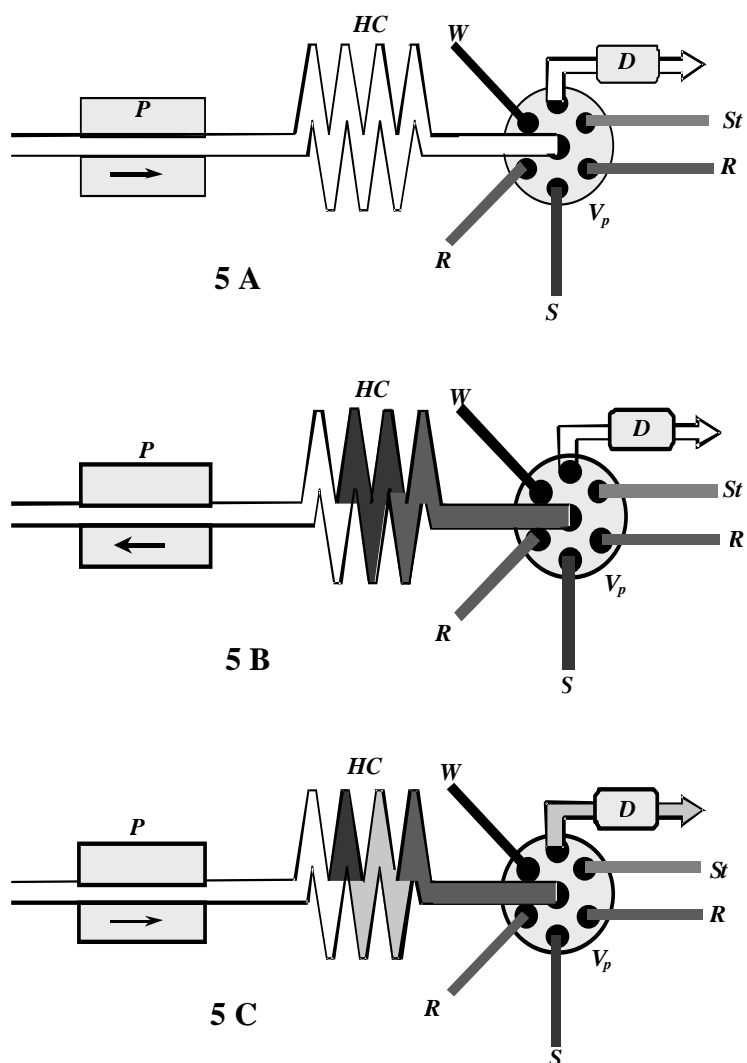
O computador controla o sistema, permitindo que o dispositivo propulsor e a válvula selectora actuem de forma sincronizada. Todas as modificações necessárias relativamente ao volume das soluções (definido em termos de tempos de residência de amostra e reagente no percurso analítico), sentido de escoamento das soluções (aspiração e propulsão) e caudal, são assim definidos. Torna-se evidente que um requisito essencial do sistema SIA é o controlo por computador, o que não sucedia em FIA. O uso do computador nos sistemas SIA, com software apropriado, permitiu a fácil adaptação desta técnica para efectuar paragem de fluxo [79,80], o que permite não só retirar considerações cinéticas como a velocidade de formação do produto de reacção assim com também possibilita a obtenção de espectros.

O uso do computador transmite também uma grande flexibilidade ao sistema dado que se podem facilmente programar muitas operações que miniaturizem os sistemas manuais, realizando operações em linha de manipulação e tratamento da amostra sem dificuldades acrescidas quando comparado com os métodos convencionais. Operações como diluição da amostra, diálise, difusão gasosa, extracção, reacções enzimáticas e várias outras operações, têm sido efectuadas em linha com sucesso [81].

Um ciclo analítico em SIA pode ser constituído por um número variado de etapas, dependendo apenas do tipo de reacção, operações que se pretendem efectuar e do número de portas disponíveis na válvula selectora de fluidos, como referido anteriormente. Na *Fig. 5* apresenta-se um esquema geral de funcionamento de um sistema em fluxo baseado na metodologia SIA. Toda a tubagem do sistema começa por ser preenchida com solução transportadora (*Fig. 5A*). Cada ciclo de medição começa por mudar a posição da válvula selectora para a porta de acesso à amostra e aspirar um volume preciso desta para o tubo de armazenamento pelo movimento inverso da bomba, sendo a bomba parada durante a rotação da válvula de modo a evitar excesso de pressão. Seguidamente, a válvula é mudada para o canal de acesso ao reagente e um volume preciso de reagente é aspirado para o tubo de armazenamento (sentido inverso). Deste modo, as zonas aspiradas de amostra e de reagente são associadas sequencialmente no tubo de armazenamento (*Fig. 5B*).

Seguidamente a válvula é rodada para a porta de acesso ao detector e promove-se a inversão do sentido do fluxo a partir da bomba peristáltica para o sentido directo (sentido do detector) (*Fig. 5C*), a qual impulsiona a zona reaccional formada na direcção do detector. Ao longo do percurso e à medida que as zonas são propulsionadas para o detector, cria-se um gradiente de concentrações no qual a amostra e os reagentes se interdispersam e as suas zonas sobrepõem-se, produzindo-se espécies detectáveis que originam um sinal analítico transiente, do mesmo modo que se obtém em FIA [59,82].

O produto formado pode ser detectado continuamente, ou caso seja necessário, pode-se parar o fluxo. Esta paragem de fluxo pode ser promovida no exterior ou interior do detector, com diversas finalidades: aumentar a sensibilidade da determinação pelo aumento do tempo de reacção, medir as constantes cinéticas da reacção ou mesmo para traçar espectros.



**Figura 5** - Representação esquemática do funcionamento geral de uma montagem SIA.  
 P - Dispositivo de propulsão/aspiração; HC - Tubo de armazenamento (do inglês “*holding coil*”); V - Válvula selectora de fluidos; S - Amostra (do inglês “*sample*”); R - Reagente. St - Solução padrão; D - Detector; W - Esgoto (do inglês “*waste*”).

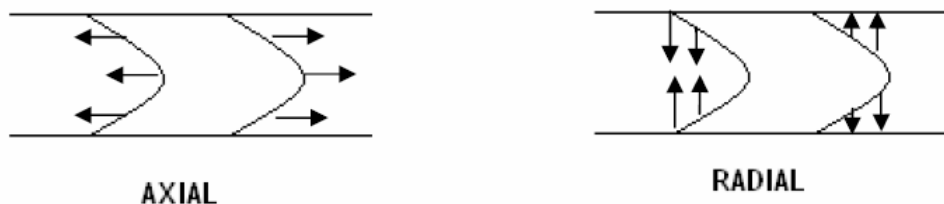
Apesar das vantagens até agora descritas da metodologia SIA em relação à técnica FIA, no que se refere à versatilidade, simplicidade instrumental, aspiração de pequenos volumes de amostra e reagentes, pré-programação de fluxo e baixa frequência de manutenção [76,83], a técnica de análise em fluxo SIA apresenta duas grandes desvantagens. Uma das desvantagens apresentada pela metodologia SIA, e talvez a principal, procede das dificuldades encontradas na mistura “topo a topo” das zonas de amostra e reagentes aspiradas sequencialmente, a partir da válvula selectora. Este factor limita o número de zonas que podem ser misturadas eficazmente. Segundo Taljaard e van Staden [84] o número máximo de zonas de amostra e reagentes passíveis de sofrerem uma mistura efectiva é três. No entanto, Guzman e Compton [85] conseguiram misturar eficazmente seis zonas reaccionais na reacção que envolveu a determinação do factor XIII. As dificuldades encontradas na mistura podem ser ultrapassadas recorrendo a estratégias que passam pela utilização de câmaras de mistura [84-87] numa das portas laterais da válvula, ou pelo uso de válvulas solenóides para intercalar um reagente no outro, segundo uma estratégia de amostra binária [88], ou mesmo pela incorporação de microbombas solenóides como unidade propulsora de fluidos [75]. As microbombas solenóides originam um fluxo pulsado reprodutível e facilmente controlado que induzem um movimento caótico das soluções em todas as direcções, o que afecta o grau de dispersão permitindo incrementar a mistura das zonas[69,74].

A segunda desvantagem relaciona-se com o ritmo de amostragem conseguido na metodologia SIA. A frequência de amostragem em SIA é sempre inferior aquela que se atinge com o método FIA uma vez que no FIA a amostra e reagentes são simultaneamente propulsionados (como se pode observar pela *Fig. 2*), enquanto na técnica SIA o ciclo de amostragem engloba o tempo de aspiração das zonas de amostra e reagente de forma sequencial para o tubo de armazenamento (como se pode observar

pela *Fig. 5B*) e posterior envio para o detector [89], causando um aumento adicional no tempo de análise, o que se traduz num ritmo de amostragem inferior.

Apesar da técnica SIA se basear, de um modo geral, nos mesmos princípios que a técnica FIA, é notória a diferença de comportamento que as soluções apresentam no interior da montagem. Num sistema SIA, os factores responsáveis pela dispersão e pela mistura das soluções são o processo de transporte conveccional que ocorre com o escoamento de fluidos e o processo de difusão molecular nas interfaces de contacto das diferentes soluções.

Partindo do pressuposto que o escoamento é laminar, ao introduzir no sistema um segmento de amostra este estará sujeito inicialmente a um perfil parabólico de velocidades, sendo favorecidos os gradientes de concentração responsáveis pela difusão molecular, nos sentidos axial e radial, como se pode observar na *Fig. 6*.



**Figura 6** - Representação esquemática da difusão molecular no sentido axial e radial.

A inversão do sentido do fluxo, característica do sistema SIA, minimiza a dispersão axial do segmento, originando a formação de um perfil de concentrações aproximadamente simétrico. Como consequência, o sinal analítico formado após passagem pelo detector assemelha-se a um pico gaussiano.

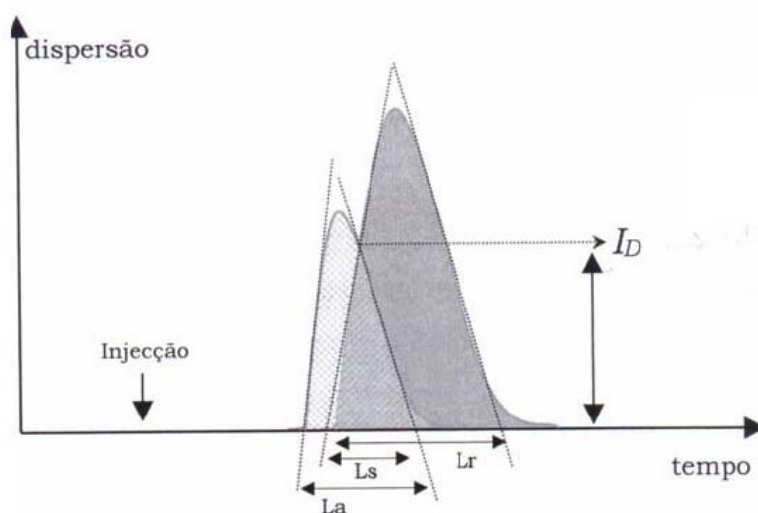
Ruzicka e Hansen [90] propuseram a quantificação do valor da dispersão através de um parâmetro, o coeficiente de dispersão ( $D$ ), definido como a razão das

concentrações da zona a intercalar antes ( $C^0$ ) e depois ( $C$ ) do processo de dispersão ter ocorrido, como se observa pela seguinte expressão:

$$D = \frac{C^0}{C}$$

Dado que a dispersão representa o grau de diluição da amostra após a sua introdução no sistema de fluxo, pode depreender-se que o valor de  $D$  está intimamente relacionado com a sensibilidade e limite de detecção da determinação.

Ao contrário do que sucede em FIA, onde a amostra é inserida num fluxo de transportador formando-se um gradiente de concentrações de analito, nos sistemas SIA, e mesmo depois da inversão de fluxo, apenas é possível uma sobreposição parcial das zonas de amostra e reagente adjacentes, como se observa na *Fig. 7*.



**Figura 7** - Representação da sobreposição mútua de zonas.  $L_s$ : largura da base do pico da zona sobreposta;  $L_a$ : largura da base do pico de amostra;  $L_r$ : largura da base do pico de reagente;  $I_D$ : ponto de isodispersão.

Como já foi referido anteriormente, o número de zonas que podem ser misturados por inversão de fluxo num reactor tubular, constitui uma limitação deste tipo de técnica. Logo, o grau de penetração ou sobreposição das zonas adjacentes é um

---

parâmetro de primordial importância em SIA. O estudo deste parâmetro é essencial para garantir a eficácia e máxima rentabilização de uma montagem SIA. A sobreposição de zonas assim obtida pode ser detectada continuamente ou por paragem de fluxo, como já foi referido anteriormente. Um dos requisitos para a metodologia SIA ser bem sucedida consiste em alcançar a máxima penetração de zonas provocada pelo aumento deliberado da dispersão radial obtida pela inversão do sentido de fluxo [58,91,92].

Surgiu assim a necessidade definir um parâmetro que descreva o grau de penetração, de modo a estabelecer o intervalo de tempo em que é possível obter uma medida significativa baseada em altura ou área de pico [76]. Este parâmetro depende dos volumes relativos de amostra e reagentes, tamanho e comprimento dos tubos, geometria do tubo de reacção e do fluxo de caudal debitado pela bomba peristáltica [77]. O grau de penetração e a dispersão determinam o sinal relativo a ser obtido. Assim, o grau de penetração [76] foi definido como:

$$P = \frac{2L_s}{L_a + L_r}$$

correspondendo  $L_s$  à largura da linha de base do pico da zona de sobreposição e  $L_a$  e  $L_r$  correspondem à largura de linha de base dos picos de amostra e reagente, respectivamente. O valor de  $P$  está relacionado com a dispersão sofrida por cada uma das zonas aspiradas no interior do sistema. O valor de  $P$  varia entre 0 e 1. Quando  $L_a + L_r = 2L_s$ , ocorre sobreposição total de zonas de amostra e reagente e  $P$  tem o valor unitário. Quando não ocorre sobreposição de zonas o valor de  $P$  é igual a zero [77].

Como é óbvio, a dispersão sofrida pela solução aspirada em primeiro lugar é superior à da segunda, dependendo o grau de sobreposição da ordem de aspiração das

---

soluções, da relação de volumes das soluções, do caudal, do diâmetro e comprimento dos tubos usados e da geometria do reactor.

Outro conceito relevante é o do ponto de isodispersão,  $I_D$  [83]. Este é um ponto em que a dispersão sofrida pelas zonas de amostra e reagente é igual. Ou seja, no elemento de fluido que corresponde a  $I_D$ , a razão entre as concentrações de amostra e reagentes, antes e depois da sua introdução no sistema, é a mesma, uma vez que se encontram igualmente dispersas [74,81]. No ponto de isodispersão, observa-se a concentração máxima do produto formado, no caso de ocorrer reacção.

Gübeli *et al.* [76] propuseram um novo parâmetro para medir a dispersão em sistemas SIA. O parâmetro foi designado por  $S_{1/2}$  e define-se como o volume de solução que origina no detector um sinal analítico com uma intensidade correspondente à metade do valor obtido para a mesma solução na ausência de qualquer diluição. Este valor é específico para cada montagem SIA sendo considerado como a melhor forma para medir a dispersão no sistema, independentemente da sua geometria e tipo de fluxo. Convém salientar que estes estudos efectuados por Gübeli *et al.* basearam-se apenas em fenómenos de dispersão, não tendo em consideração a reacção química envolvida ou a sua cinética. Posteriormente, Cladera *et al.* [93] avaliaram o efeito de parâmetros físicos do sistema (como caudal e dimensões dos tubos) sobre o valor de  $S_{1/2}$ , verificando-se que este aumenta sempre que as alterações proporcionem um aumento do tempo de residência das soluções no sistema. Actualmente, os parâmetros  $S_{1/2}$ ,  $D$  e  $I_D$  constituem uma referência na optimização, estudo de sobreposição de zonas e dispersão dos sistemas SIA.

### 1.3 Metodologias usadas na determinação de vanádio em águas

São vários os métodos analíticos referenciados na literatura para a determinação de vanádio (V) em amostras de água. Estes incluem técnicas analíticas como a voltametria [94,95], análise por activação de neutrão [96], espectrofotometria de absorção atómica com atomização electrotérmica [6,97,98], espectrofotometria de emissão atómica com plasma inductivamente acoplado, ICP [99], espectrometria de massa com plasma inductivamente acoplado, ICP-MS, [100], cromatografia [101] e cromatografia líquida hifenada com ICP-MS, LC-ICP-MS [15].

Embora estas técnicas possuam a sensibilidade requerida para a quantificação de vanádio (V) em águas, apresentam como desvantagem o elevado custo não só no que se refere à aquisição e manutenção dos equipamentos, como também à necessidade de se efectuarem etapas de separação e/ou pré-concentração e eliminação de interferentes, as quais tornam o processo laborioso e moroso. Por exemplo, apesar da técnica de análise por activação de neutrão ser muito sensível, o seu uso na determinação de vanádio a nível vestigial é difícil dado o diminuto tempo de vida que o isótopo  $^{52}\text{V}$  apresenta (3,75 minutos). A actividade deste isótopo  $^{52}\text{V}$  também pode ser mascarada pela presença de  $^{24}\text{Na}$  na matriz, necessitando assim de se eliminar este interferente [102]. Por outro lado, a técnica de espectrofotometria de absorção atómica e a técnica ICP-AES apresentam como limitação a determinação de vanádio total na amostra, não permitindo diferenciar os estados de oxidação, a não ser que se separe primeiramente o estado de oxidação (IV) e (V) do vanádio.

Estes factores explicam a grande aplicação da espectrofotometria de absorção molecular na determinação de vanádio (V) em vários tipos de amostras (águas, solos, biológicas e farmacêuticas) [2,3,103-111]. A sensibilidade e selectividade alcançadas nestas reacções, o seu baixo custo relativo e facilidade de implementação e operação,

constituem uma mais valia desta metodologia analítica, a qual possibilita ainda que se realizem estudos de especiação [112-114], ou seja, permite distinguir entre os diferentes estados de oxidação do vanádio de modo a se determinar melhor a toxicidade que este pode apresentar.

Os métodos espectrofotométricos usados na determinação de vanádio baseiam-se na formação de complexos, reacções de oxidação-redução, associação iónica, reacções cineticamente catalisadas e extracção por solvente. Destes, os métodos espectrofotométricos baseados em reacções catalíticas [3,115-118] são uma alternativa simples pois permitem um acréscimo de sensibilidade para a determinação de vanádio, sem necessitarem de etapa de pré-concentração [119,120]. Um exemplo típico deste método é o método de Fishman-Skougstad [121], o qual foi adoptado como método padrão para a determinação de vanádio em águas naturais e residuais [122]. Alguns destes métodos espectrofotométricos permitem ainda a determinação simultânea de vanádio (IV) e (V).

Em 1994, Taylor e van Staden [3] elaboraram um estudo de revisão sobre os métodos espectrofotométricos existentes para a determinação de vanádio, no período compreendido entre 1972-1992. Recentemente, Pyrzyńska [123] redigiu um artigo de revisão onde refere os métodos espectrofotométricos existentes para a determinação de vanádio, após a década de noventa. Este estudo menciona as diversas tentativas a que os métodos espectrofotométricos foram sujeitos de modo a aumentar a sua selectividade e sensibilidade, dividindo-os em duas categorias: os que formam complexos corados derivados da reacção do analito com um agente quelante orgânico e aqueles em que o vanádio no estado de oxidação (V) possui capacidade de catalisar a oxidação de vários corantes orgânicos, especialmente o bromato e persulfato [124-126].

Contudo, estas metodologias implementadas de forma descontínua são por vezes complexas dado o cuidado exigido na mistura dos reagentes em intervalos de tempo regular, de modo a se obter o resultado correcto. Adicionalmente, a maioria dos métodos espectrofotométricos que existem para a determinação de vanádio peca pela falta da sensibilidade e/ou selectividade necessárias sem recorrer ao uso de pré-tratamento da amostra. Dada a complexidade das matrizes ambientais, a existência de possíveis interferentes traduz-se numa menor selectividade do método perante o analito em estudo. Logo, a determinação de vanádio usando métodos rápidos, simples, selectivos e sensíveis é de extrema importância.

Tais desvantagens podem ser ultrapassadas recorrendo às técnicas de análise automáticas de análise por fluxo. Um avanço importante nos métodos de automatização laboratorial foi alcançado quando se abandonou o conceito tradicional de se efectuar as medições em equilíbrio e se introduziram experiências baseadas em condições de não equilíbrio [55]. Estes métodos são marcadamente vantajosos quando comparados com os procedimentos convencionais, dado que possibilitam uma frequência de amostragem superior, redução da intervenção humana e uma maior precisão e exactidão do método. Possuem ainda a vantagem de diminuir o consumo de reagente e produção de resíduo, conceitos que estão normalmente associados à perspectiva da Química Verde [127].

De entre as técnicas de fluxo, a técnica FIA, já referida no ponto 1.2 deste *Capítulo*, tem vindo a ganhar cada vez mais protagonismo no campo de processamento de análises, devido à simplicidade com a qual se podem manipular automaticamente processos referentes às amostras, tais como diluições e pré concentrações. Esta técnica permite o controlo rigoroso da reacção catalítica e a mistura das soluções de reagentes e amostra com maiores ritmos de amostragem. Adicionalmente, a análise é efectuada num sistema fechado e contínuo minimizando a potencial contaminação [56,128].

O acoplamento de um sistema FIA à detecção espectrofotométrica tem-se mostrado vantajoso em função da sensibilidade e selectividade atingidas, da facilidade de acoplar etapas de pré-concentração e separação em condições de repetibilidade [56]. Por exemplo, a reacção clássica para a determinação de vanádio (V) com 3,3'-DMN (3,3'-dimetilnaftidina) [129] implementada em modo tradicional necessita de 30 minutos para atingir o equilíbrio químico antes que se possa efectuar a detecção espectrofotométrica. Contudo, empregando este mesmo reagente, mas agora fazendo uso da técnica de análise por injeção com paragem de fluxo [47] obteve-se uma maior frequência de amostragem ( $34 \text{ h}^{-1}$ ), menor limite de detecção ( $0,19 \text{ mg L}^{-1}$ ) e maior sensibilidade. A paragem de fluxo permite incrementar o tempo de residência das zonas aspiradas e logo o tempo de reacção, sem aumentar a dispersão, o que se traduz em sinais analíticos mais intensos. Consequentemente, a sensibilidade da reacção é aumentada e o limite de detecção do método é diminuído [130,131].

Existe um número significativo de estudos descrito na literatura para a determinação de vanádio (V) em amostras ambientais tendo por base a técnica FIA. Foram propostas diversas montagens recorrendo a etapas de pré-concentração da amostra em linha [132-1335] com diferentes sistemas de detecção acoplados, como ICP-OES, ETAAS, FAA. Estas metodologias permitiram aumentar a sensibilidade, diminuir o gasto de reagentes e eliminar interferências. Contudo, o sistema de detecção mais empregue para a determinação de vanádio em sistemas de fluxo continua a ser a espectrofotometria de absorção molecular, recorrendo a reacções catalíticas e reacções de oxidação-redução [136-146]. Algumas destas metodologias empregam etapas de pré-concentração/separação e diluição. Permitem a eliminação de interferentes de um modo mais rápido e menos dispendioso, conseguindo ainda obter resultados mais exactos e precisos e limites de detecção mais baixos, na ordem dos  $\text{ng mL}^{-1}$ .

A segunda geração de análise por fluxo, SIA, que foi descrita e explicada em mais detalhe no ponto 1.2 deste *Capítulo*, apresenta como vantagens, quando comparada com a técnica FIA, a automatização das metodologias possível através do uso do computador e o baixo consumo de reagentes e amostra, contribuindo deste modo para processos mais limpos e amigos dos ambiente.

O artigo de revisão de Cerdà *et al.* [147] reflecte as potencialidades de aplicação da técnica SIA na monitorização de diversos parâmetros em amostras ambientais (águas, solos) usando diferentes tipos de detecção. A gama de aplicação da técnica foi-se alargando, tendo sido já usada com êxito na determinação de vanádio (V) em diversas matrizes e processos, tais como monitorização de bioprocessos [148], doseamento em petróleo [149] e amostras farmacêuticas [150,151].

Tendo em mente que o presente trabalho tem por base a utilização da técnica SIA para a determinação de vanádio (V) em amostras de água, efectuou-se uma pesquisa cuidada à literatura bibliográfica de modo a verificar quais os estudos existentes nesta área. Adicionalmente, foram também consultadas as bases de dados de websites relacionados com análise em fluxo [152-154]. Nestes, é possível encontrar várias referências à determinação de vanádio (V) em amostras de águas naturais baseadas na técnica de fluxo FIA, com diversos tipos de detecção e tratamento da amostra, como foi referido anteriormente. Contudo, nenhuma referência foi encontrada relativamente à determinação de vanádio (V) em amostras de águas naturais ou residuais, tendo por base a metodologia SIA.

O único trabalho descrito na literatura que envolve a determinação de vanádio (V) utilizando a técnica de fluxo SIA diz respeito a amostras de petróleo provenientes da Arábia Saudita [149]. Este trabalho envolve o acoplamento da SIA com ICP-MS, de modo a otimizar a precisão e exactidão e aumentar a sensibilidade da análise.

Verificou-se assim que existe uma lacuna em termos de trabalhos científicos no que diz respeito à utilização da metodologia em fluxo SIA para determinar vanádio (V) em amostras de água.

#### **1.4 Enquadramento e objectivos do trabalho**

Como referido no início deste capítulo, o vanádio desempenha um papel importante nos processos bioquímicos e a sua análise a nível ambiental, biológica e industrial é significativamente importante devido à toxicidade que este apresenta, quando presente em concentrações mais elevadas. Esta situação justificou a atenção que tem vindo ser dada ao vanádio, o que se traduz nos inúmeros estudos existentes na literatura, em particular no que diz respeito à presença deste no meio ambiente.

Neste sentido, e dada as suas variadas aplicações, muitos foram os métodos analíticos desenvolvidos para a quantificação de vanádio (V) em amostras ambientais. Contudo, a maioria destes métodos analíticos são implementados de forma convencional e, apesar de fazerem uso de técnicas avançadas, envolvem limitações, as quais dizem respeito ao custo elevado dos equipamentos, ao consumo elevado de reagentes, baixo ritmo de amostragem (derivado da reacção necessitar de atingir o equilíbrio químico) e ao elevado tempo necessário para manipular a amostra (diluir, pré-concentrar, separar).

O presente trabalho teve como objectivo o desenvolvimento de um sistema automático de análise em fluxo baseado na metodologia SIA, que permitisse a determinação de vanádio (V) em amostras de água, em particular águas para consumo humano e águas residuais. Pretende-se assim criar uma alternativa aos métodos analíticos supracitados, caracterizada pela economia de reagentes, com consequente redução na produção de efluentes e resíduos, o que vai de encontro aos princípios da

Química Verde. A automatização de procedimentos através da técnica SIA permite ainda minimizar a intervenção por parte do operador que se traduz na eliminação de possíveis fontes de erro.

A metodologia analítica desenvolvida para a determinação de vanádio (V) em águas baseou-se na condensação oxidativa entre os reagentes dopamina (DPH) e 4-aminoantipirina (4-AAP), pelo vanádio (V), em meio ácido. O sinal analítico correspondente ao produto formado de cor violeta é detectado espectrofotometricamente com selecção do comprimento de onda a 565 nm, correspondendo ao máximo de absorção do produto formado.

---

## 1. 5 Referências bibliográficas

- [1] *Toxicological profile for vanadium and compounds*, ATSDR (“Agency for Toxic Substances and Disease Registry”), U. S. Public Health Service, July, **1992**.
- [2] K. Pyrzyńska, T. Wierzbicki, *Talanta*, **2004**, *64*, 823.
- [3] M. J. C. Taylor, J. F. van Staden, *Analyst*, **1994**, *119*, 1263.
- [4] R. G. Wuilloud, J. A. Salonia, R. A. Olsina, L. D. Martinez, *Spectrochim. Acta B*, **2000**, *55*, 671
- [5] B. Patel, S. J. Haswell, R. Grzeskowiak, *J. Anal. Atom. Spectrom.*, **1989**, *4*, 195.
- [6] L. Minelli, E. Veschetti, S. Giammanco, G. Mancini, M. Ottaviani, *Microchem. J.*, **2000**, *67*, 83.
- [7] M. Costigan, R. Cary, S. Dobson, *Vanadium Pentoxide and Other Inorganic Vanadium Compounds*, Concise International Chemical Assessment Document 29, WHO (“World Health Organization”), Geneva, **2001**.
- [8] *Vanadium, Air Quality Guidelines - Chapter 6.12*, WHO (“World Health Organization”), Second Edition, Regional Office for Europe, Copenhagen, Denmark, pág. 1- 9, **2000**.
- [9] A. S. Amin, *Spectrochim. Acta A*, **2003**, *59*, 1025.
- [10] J. Nriagu, *Environment*, **1990**, *32*, 7.
- [11] M. J. C. Taylor, G. D. Marshall, S. J. S. Williams, J. F. van Staden, C. Saling, *Anal. Chim. Acta*, **1996**, *329*, 275.
- [12] *Vanadium, Environmental health criteria for vanadium*, IPCS (International Programme on Chemical Safety), WHO (“World Health Organization”), Geneva, **1988**.

- 
- [13] R. J. Irwin, M. V. Mouwerik, L. Stevens, M. D., Seese, W. Basham, *Environmental Contaminants Encyclopedia*. National Park Service, Water Resources Division, Fort Collins, Colorado, **1997**.
- [14] J. Poledniok, F. Buhl, *Talanta*, **2003**, 59, 1.
- [15] M. Colina, P. H. E. Gardiner, Z. Rivas, F. Troncone, *Anal. Chim. Acta*, **2005**, 538, 107.
- [16] D. Nicholls, *Coord. Chem. Rev.*, **1966**, 1, 379.
- [17] B. Wehrli, W. Stumm, *Geochim. Cosm. Acta*, **1989**, 53, 69.
- [18] S. Nakano, K. Sakamoto, A. Takenobu, T. Kawashima, *Talanta*, **2002**, 58, 1263.
- [19] H. T. Evans, R. M. Garrela, *Geochim. Cosmochim. Acta*, **1958**, 15, 131.
- [20] L. Pettersson, I. Andersson, A. Gorzsàs, *Coord. Chem. Rev.*, **2003**, 237, 77.
- [21] S. Giammanco, M. Ottaviani, M. Valenza, *Water Res.*, **1998**, 32, 19.
- [22] C. C. Wann, S. J. Jiang, *Anal. Chim. Acta*, **1997**, 357, 211.
- [23] E. Erdmann, K. Werdan, W. Krawietz, W. Schmitz, H. Scholz, *Biochem. Pharmacol.*, **1984**, 33, 945.
- [24] J. L. Domingo, *Mol. Cell. Biochem.*, **2000**, 203, 185.
- [25] J. L. Domingo, M. Gomez, D. J. Sanchez, J. M. Llobet, C. L. Keen, *Mol. Cell. Biochem.*, **1995**, 153, 233.
- [26] B. Patel, G. E. Henderson, S. J. Haswell, R. Grzeskowiak, *Analyst*, **1990**, 115, 1063.
- [27] D. M. Opresko, *Toxicity Summary for Vanadium and Vanadium Compounds*, OAK Rige Reservation International Environmental Restoration Program, Tennessee, **1991**.
- [28] A. Goc, *Cent. Eur. J. Biol.*, **2006**, 1, 314.
- [29] A. K. Srivastava, M. Z. Mehdi, *Diabetic Med.*, **2004**, 22, 2.
- [30] L. Marzban, J. H. McNeill, *J. Trace Elem. Exp. Med.*, **2003**, 16, 253.

- [31] A. K. Srivastava, *Mol. Cell. Biochem.*, **2000**, 206, 177.
- [32] P. G. Drake, A. P. Bevan, J. W. Burgess, J. J. Bergeron, B. I. Posner, *Endocrinology*, **1996**, 137, 4960.
- [33] K. H. Thompson, J. M. McNeill, C. Orving, *Chem. Rev.*, **1999**, 99, 2561.
- [34] I. Goldwasser, D. Gefel, E. Gershonov, M. Fridkin, Y. Scheckter, *J. Inorg. Biochem.*, **2000**, 80, 21.
- [35] D. Rehder, *Inorg. Chem. Commun.*, **2003**, 6, 604.
- [36] J. L. Domingo, M. Gomez, J. M. Llobet, J. Corbella, C. L. Keen, *Toxicol.*, **1991**, 66, 279.
- [37] H. Sakurai, *Environ. Health Perspect.*, **1994**, 102, 35.
- [38] J. M. Wörle-Knirsch, K. Kern, C. Schleh, C. Adelhelm, Cl. Feldmann, H. F. Krug, *Environ. Sci. Technol.*, **2007**, 41, 331.
- [39] J. P. Fawcett, S. J. Farquhar, T. Thou, B. I. Shand, *Pharmacol. Toxicol.*, **1997**, 80, 202.
- [40] A. Ścibior, H. Zaporowska, J. Ostrowski, *Arch. Environ. Contam. Toxicol.*, **2006**, 51, 287.
- [41] A. G. Villalva, T. I. Fortoul, M. R. A. Costa, G. P. Zarate, V. R. Lara, G. M. Levy, M. R. Lemus, P. B. Nevarez, P. D. Bech, P. M. Galante, L. C. Barenque, *Toxicol. Ind. Health*, **2006**, 22, 113.
- [42] K. Kobayashi, *Toxicology*, **2006**, 228, 162.
- [43] M. Soazo, G. B. Garcia, *Neurotoxicol. Teratol.*, **2007**, 29, 503.
- [44] A. Adachi, K. Asai, Y. Koyama, Y. Matsumoto, T. Okano, *J. Health Sci.*, **2000**, 46, 503.
- [45] M. D. Waters, *Toxicology of vanadium*. In *Advances in modern toxicology. Vol. 2. Toxicology of trace elements*, Wiley, New York, **1977**.

- [46] Z. L. Chen, G. Owens, *Anal. Chim. Acta*, **2008**, 607, 1.
- [47] M. E. Palomeque, A. G. Lista, B. S. F. Band, *Anal. Chim. Acta*, **1998**, 366, 287.
- [48] N. B. Ressa, B. J. Chou, R. A. Renne, J. A. Dill, R. A. Miller, J. H. Roycroft, J. R. Hailey, J. K. Haseman, J. R. Bucher, *Toxicol. Sci.*, **2003**, 74, 287.
- [49] J. H. Duffus, *Regul. Toxicol. Pharm.*, **2007**, 47, 110.
- [50] U.S. EPA. **1991a**. *Health Effects Assessment Summary Tables*, Office of Health and Environmental Assessment, Environmental Criteria and Assessment Office, Cincinnati, Washington, DC. OERR 9200.6-303(91-1). NTIS PB91-921199.
- [51] Website: <http://www.iarc.fr/> (acedido a 23 Agosto 2007).
- [52] *Decreto de Lei* nº236 de 1 de Agosto de **1998**. *Diário da República nº 206 – I Série A*, Ministério do Ambiente e Ordenamento do Território, Lisboa, Portugal.
- [53] *Decreto de Lei nº 243* de 5 de Setembro de 2001. *Diário da República nº 206 – I Série A*, Ministério do Ambiente e Ordenamento do Território, Lisboa, Portugal.
- [54] L. T. Skeggs, *Am. J. Clin. Pathol.*, **1957**, 28, 311.
- [55] J. Ruzicka, E. H. Hansen, *Anal. Chim. Acta*, **1975**, 78, 145.
- [56] J. Ruzicka, E. H. Hansen, *Flow Injection Analysis*, 2ª edição, John Wiley & Sons, New York, USA, **1988**.
- [57] K. K. Stewart, *Talanta*, **1981**, 28, 789.
- [58] J. Ruzicka, G. D. Marshall, *Anal. Chim. Acta*, **1990**, 237, 329.
- [59] J. Ruzicka, *Anal. Chim. Acta*, **1992**, 261, 3.
- [60] C. E. Lenchan, N. W. Barnett, S. W. Lewis, *Analyst*, **2002**, 127, 997.
- [61] R. A. S. Lapa, J. L. F. Costa Lima, I. V. O. S. Pinto, *Anal. Sci.*, **2000**, 16, 1157.
- [62] R. A. S. Lapa, J. L. F. Costa Lima, I. V. O. S. Pinto, *J. Braz. Chem. Soc.*, **2000**, 11, 170.
- [63] G. D. Christian, J. Ruzicka, *Anal. Chim. Acta*, **1992**, 261, 11.

- [64] J. Ruzicka, G. D. Marshall, G. D. Christian, *Anal. Chem.*, **1990**, 62, 1861.
- [65] A. Cladera, C. Tomàs, E. Gómez, J. M. Estela, V. Cerdà, *Anal. Chim. Acta*, **1995**, 302, 297.
- [66] A. Ivaska, J. Ruzicka, *Analyst*, **1993**, 118, 885.
- [67] L. H. Keith, L. U. Gron, J. L. Young, *Chem. Rev.*, **2007**, 107, 2695.
- [68] D. A. Weeks, K. S. Jonhson, *Anal. Chem.*, **1996**, 68, 2717.
- [69] J. L. M. Santos, M. F. T. Ribeiro, A. C. B. Dias, J. L. F. C. Lima, *Anal. Chim. Acta*, **2007**, 600, 21.
- [70] R. A. S. Lapa, J. L. F. C. Lima, B. F. Reis, J. L. M. Santos, E. A. G. Zagatto, *Anal. Chim. Acta*, **2002**, 466, 125.
- [71] P. S. Francis, S. W. Lewis, K. F. Lim, K. Carlsson, B. Karlberg, *Talanta*, **2002**, 58, 1029.
- [72] J. M. T. Carneiro, E. A. G. Zagatto, J. L. M. Santos, J. L. F. C. Lima, *Anal. Chim. Acta*, **2002**, 474, 161.
- [73] J. L. F. C. Lima, S. M. O. Sa, J. L. M. Santos, E. A. G. Zagatto, *J. Pharm. Biomed. Anal.*, **2003**, 32, 1011.
- [74] J. L. F. C. Lima, J. L. M. Santos, A. C. B. Dias, M. F. T. Ribeiro, E. A. G. Zagatto, *Talanta*, **2004**, 64, 1091.
- [75] P. C. A. G. Pinto, M. L. M. F. S. Saraiva, J. L. M. Santos, J. L. F. C. Lima, *Anal. Chim. Acta*, **2005**, 539, 173.
- [76] T. Gübeli, G. D. Christian, J. Ruzicka, *Anal. Chem.*, **1991**, 63, 2407.
- [77] G. D. Marshall, J. F. van Staden, *Proc. Control Qual.*, **1992**, 3, 251.
- [78] J. Ruzicka, T. Gübeli, *Anal. Chem.*, **1991**, 63, 1680.
- [79] Victor Cerdà, “*Introducción a los métodos de análisis en flujo*”, Palma Maiorca, Ed. SCWIRE, **2006**.

- [80] E. H. Hansen, *Anal. Chim. Acta*, **1992**, 261, 125.
- [81] A. Economou, *Trends Anal. Chem.*, **2005**, 24, 416.
- [82] J. Ruzicka, *Anal. Sci.*, **1991**, 7, 653.
- [83] J. F. van Staden, H. du Plessis, S. M. Linsky, R. E. Taljaard, B. Kremer, *Anal. Chim. Acta*, **1997**, 354, 59.
- [84] R. E. Taljaard, J. F. van Staden, *Lab. Rob. Autom.*, **1998**, 10, 325.
- [85] M. Guzman, B. J. Compton, *Talanta*, **1993**, 40, 1943.
- [86] T. McCormack, J. F. van Staden, *Anal. Chim. Acta*, **1998**, 367, 111.
- [87] V. Cerdà, A. R. Crespi, R. Forteza, *Lab. Rob. Autom.*, **1995**, 7, 245.
- [88] P. C. A. G. Pinto, M. L. M. F. S. Saraiva, J. L. M. Santos, J. L. F. C. Lima, *Talanta*, **2006**, 68, 857.
- [89] V. Cerdà, J. M. Estela, R. Forteza, A. Cladera, E. Becerra, P. Altimira, P. Sitjar, *Talanta*, **1999**, 50, 695.
- [90] J. Ruzicka, E. H. Hansen, *Anal. Chim. Acta*, **1978**, 99, 37.
- [91] M. Guzman, C. Pollema, J. Ruzicka, G. D. Christian, *Talanta*, **1993**, 40, 81.
- [92] J. Ruzicka, T. Gubelli, *Anal. Chem.*, **1991**, 63, 2407.
- [93] A. Cladera, E. Gómez, J. M. Estela, V. Cerdà, *Talanta*, **1996**, 43, 1667.
- [94] A. A. Ensafi, B. Naderi, *Fresenius J. Anal. Chem.*, **1997**, 358, 480.
- [95] A. Bobrowski, K. Nowak, J. Zarebski, *Anal. Chim. Acta*, **2005**, 543, 150.
- [96] E. Sabbioni, J. Kueera, R. Pietra, O. Vesterber, *Sci. Total Environ.*, **1996**, 188, 54.
- [97] E. Veschetti, D. Maresca, L. Lucentini, E. Ferretti, G. Citti, M. Ottaviani, *Microchem. J.*, **2007**, 85, 80.
- [98] A. Adachi, K. Ogawa, Y. Tsushi, N. Nagao, T. Kobayashi, *Water Res.*, **1997**, 31, 1247.
- [99] W. G. P. da Silva, R. C. Campos, N. Miekeley, *Anal. Lett.*, **1998**, 36, 1061.

- 
- [100] F. C. Wang, Y. C. Chang, J. C. Chin, C. L. Men, *Anal. Chim. Acta*, **1999**, 392, 299.
- [101] M. Sugiyama, T. Tamada, T. Hori, *Anal. Chim. Acta*, **2001**, 431, 141.
- [102] M. Ishizaki, S. Ueno, *Talanta*, **1979**, 26, 523.
- [103] Md. J. Ahmed, A. K. Banerjee, *Analyst*, **1995**, 120, 2019.
- [104] G. V. M. Murthy, T. S. Reddy, S. B. Rao, *Analyst*, **1989**, 114, 493.
- [105] A. A. Mohamed, M. F. El-Shahat, *Anal. Sci.*, **2000**, 16, 151.
- [106] A. C. S. Costa, L. S. G. Teixeira, H. V. Jaeger, S. L. C. Ferreira, *Mikrochim. Acta*, **1998**, 130, 41.
- [107] T. N. K. Kumar, H. D. Revanasiddappa, *J. Iranian Chem. Soc.*, **2005**, 2, 161.
- [108] N. Agnihotri, R. Dass, J. R. Mehta, *Anal. Sci.*, **1999**, 15, 1261.
- [109] M. J. Ahmed, S. Banoo, *Talanta*, **1999**, 48, 1085.
- [110] H. A. Mottola, D. P. Bendito, *Anal. Chem.*, **1994**, 66, 131R.
- [111] K. S. Kumar, S. H. Kang, K. Suvardhan, K. Kiran, *Environ. Toxicol. Phar.*, **2007**, 24, 37.
- [112] T. Shimizu, M. Nakano, N. Uehara, *Anal. Sci.*, **2001**, 17 Supplement, a365.
- [113] J. F. Jen, M. H. Wu, T. C. Yang, *Anal. Chim. Acta*, **1997**, 339, 251.
- [114] L. Zhao, X. Zhu, Ke Feng, B. Wang, *Int. J. Environ. An. Ch.*, **2006**, 86, 931.
- [115] A. A. Mohamed, K. F. Fawy, *Anal. Sci.*, **2001**, 17, 769.
- [116] S. Nakano, C. Yamada, M. Sakai, T. Kawashima, *Anal. Sci.*, **1986**, 2, 61.
- [117] L. Darbha, J. Arunachalam, *Talanta*, **1993**, 40, 135.
- [118] A. A. Mohamed, K. F. Fawy, *Mikrochim. Acta*, **2000**, 134, 229.
- [119] T. Kawashima, S. Nakano, M. Tabata, M. Tanaka, *Trends Anal. Chem.*, **1997**, 16, 1327.
- [120] A. Safavi, M. R. H. Nezhad, E. Shams, *Anal. Chim. Acta*, **2000**, 409, 283.
-

- [121] M. J. Fishman, M. V. Skougstad, *Anal. Chem.*, **1964**, 36, 1643.
- [122] A. E. Greenberg, L. S. Clesceri, A. D. Eaton, *Standard Methods for the Examination of Water and Waste-water*, 18<sup>th</sup> Edn. APHA-AWWA-WEF: Washington DC, **1992**.
- [123] K. Pyrzyńska, *Microchim Acta*, **2005**, 149, 159.
- [124] A. A. Ensafi, A. Kazemzadeh, *Anal. Chim. Acta*, **1994**, 298, 27.
- [125] S. Kawakubo, B. Liang, M. Iwatsuki, T. Fukasawa, *Analyst*, **1994**, 119, 1391.
- [126] A. A. Mohamed, M. Iwatsuki, T. Fukasawa, M.F. El-Shahat, *Analyst*, **1995**, 120, 2281.
- [127] F. R. P. Rocha, J. A. Nóbrega, O. F. Filho, *Green Chem.*, **2001**, 3, 216.
- [128] R. E. Taljaard, J. F. van Staden, *Lab. Rob. Automat.*, **1998**, 10, 325.
- [129] R. Belcher, A. I. Netten, W. I. Stephen, *Analyst*, **1951**, 76, 430.
- [130] N. Teshima, S. Ohno, T. Sakai, *Anal. Sci.* **2007**, 23, 1.
- [131] H. B. He, Y. X. Cr, W. B. Chang, W. L. Gong, *Talanta*, **1991**, 38, 1159.
- [132] Y. Wu, Z. Jiang, Bin Hu, *Talanta*, **2005**, 67, 854.
- [133] S. Moyano, G. Polla, P. Smichowski, J. A. Gásquez, L. D. Martinez, *J. Anal. At. Spectrom.*, **2006**, 21, 422.
- [134] B. Patel, S. J. Haswell, R. Grzeskowiak, *J. Anal. Atom. Spectrom.*, **1989**, 4, 195.
- [135] R. G. Wuilloud, J. A. Salonia, R. A. Olsina, L. D. Martinez, *Spectrochim. Acta B*, **2000**, 55, 671.
- [136] S. Nakano, E. Tanaka, Y. Mizutani, *Talanta*, **2003**, 61, 203.
- [137] T. Yamane, Y. Osada, M. Suzuki, *Talanta*, **1998**, 45, 583.
- [138] S. Kawakubo, K. Kajihara, M. Iwatsuki, *Anal. Sci.*, **1996**, 12, 237.
- [139] N. Teshima, K. Ayukawa, T. Kawashima, *Talanta*, **1996**, 43, 1755.
- [140] S. Nakano, M. Tago, T. Kawashima, *Anal. Sci.*, **1989**, 5, 69.

- [141] T. Shiobara, N. Teshima, M. Kurihara, S. Nakano, T. Kawashima, *Talanta*, **1999**, *49*, 1083.
- [142] M. J. C. Taylor, J. F. van Staden, *Anal. Chim. Acta*, **1995**, *307*, 1.
- [143] T. Yamane, Y. Yamaguchi, *Mikrochim. Acta*, **1998**, *130*, 111.
- [144] A. A. Ensafi, A. Kazemzadeh, *Microchem. J.*, **1996**, *53*, 139.
- [145] N. Teshima, H. Itabashi, T. Kawashima, *Anal. Sci.*, **1994**, *10*, 207.
- [146] A. M. Shiller, L. Mao, J. Cramer, *Limnol. Oceanogr.*, **1998**, *43*, 526.
- [147] V. Cerdà, A. Cerdà, A. Cladera, M. T. Oms, F. Mas, E. Gómez, F. Bauzá, M. Miró, R. Fortaleza, J. M. Estela, *Trends Anal. Chem.*, **2001**, *20*, 407.
- [148] P. J. Baxter, G. D. Christian, *Acc. Chem. Res.*, **1996**, *29*, 515.
- [149] H. M. Al-Swaidan, *Talanta*, **1996**, *43*, 1313.
- [150] A. M. Pimenta, M. C. B. S. M. Montenegro, A. N. Araújo, J. Martínez Calatayud, *J. Pharm. Biom. Anal.*, **2006**, *40*, 16.
- [151] J. F. van Staden, R. E. Taljaard, *Anal. Chim. Acta*, **1996**, *323*, 75.
- [152] Website da FIALab: <http://www.flowinjection.com/> (acedido a 23 Julho 2007).
- [153] Website da GlobalFia: <http://www.globalfia.com/> (acedido a 21 Junho 2007).
- [154] Website: <http://www.fia.unf.edu/> (acedido a 15 Maio 2007).

## Capítulo 2

### *Parte experimental*

#### **2.1 Introdução**

Neste capítulo é descrito o equipamento, material, reagentes e soluções empregues ao longo do trabalho. É apresentado o processo de optimização e avaliação das características de funcionamento da metodologia SIA, o controlo informático e o procedimento experimental utilizado.

#### **2.2 Reagentes e soluções**

Todas as soluções foram preparadas com água desionizada com condutividade específica inferior a  $0,1 \mu\text{S cm}^{-1}$ . Os reagentes usados possuíam qualidade analítica adequada, não tendo sido submetidos a qualquer processo de purificação.

Todos os reagentes sólidos necessários à preparação das soluções foram rigorosamente pesados numa balança analítica (ALS 220-4 da marca Kern).

O material de vidro utilizado na preparação das soluções era de classe A ou equivalente.

As soluções de 4-aminoantipirina (4-AAP)  $0,075 \text{ mol L}^{-1}$  (Sigma) e dopamina (DPH)  $0,15 \text{ mol L}^{-1}$  (Sigma) eram preparadas por dissolução do respectivo sólido em água desionizada. De forma a serem protegidas da luz, estas soluções eram envoltas em papel de alumínio logo após a preparação e no decorrer da experiência.

A solução padrão concentrada de vanádio (V) ( $100 \text{ mg L}^{-1}$ ) era preparada por dissolução do sólido de vanadato de amónio (Merck), em ácido clorídrico  $0,01 \text{ mol L}^{-1}$  (Merck) e aferida com água desionizada até perfazer o volume final pretendido.

As soluções padrão de calibração de vanádio (V) eram preparadas diariamente por diluição rigorosa da solução padrão concentrada em água, usando micropipetas automáticas LabMate, de volume variável, com pontas de plástico descartáveis.

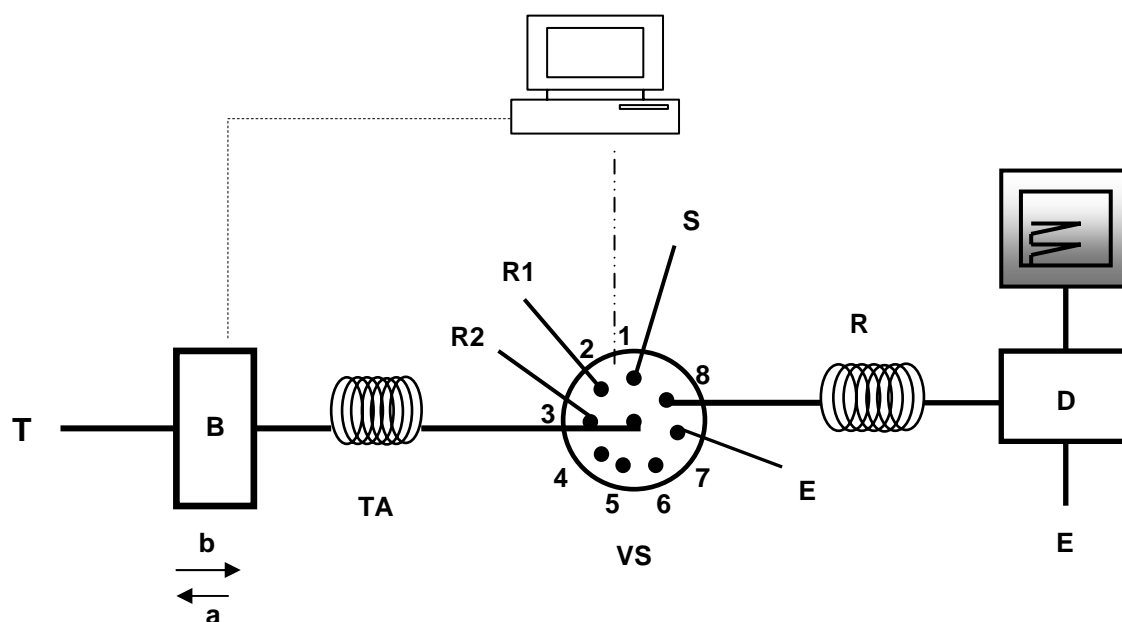
A solução transportadora de ácido sulfúrico  $0,025 \text{ mol L}^{-1}$  era preparada a partir de ácido sulfúrico comercial (Merck), pipetando um determinado volume deste para um balão volumétrico e diluindo em água desionizada, até perfazer o volume pretendido.

A amostra de água residual de referência certificada (SPS-WW2) foi fornecida pela LGC Promochem.

### **2.3 Instrumentação e componentes do sistema SIA**

O sistema SIA desenvolvido para a determinação de vanádio (V) em amostras de água era constituído por uma bomba peristáltica (dispositivo de aspiração/propulsão), uma válvula selectora de fluidos, um detector espectrofotométrico e um registador

ligados entre si por tubos de diâmetro interno reduzido e controlados por computador (Fig. 8).



**Figura 8** - Esquema da montagem do sistema SIA desenvolvido para a determinação de vanádio (V) em amostras de água. T - Solução transportadora; B - Bomba peristáltica (a - sentido de aspiração, b - sentido de propulsão); TA - Tubo de armazenamento (do inglês “*holding coil*”); VS - Válvula selectora; R1 - Solução de DPH; R2 - Solução de 4-AAP; S - Amostra/solução padrão; R - Reactor; D - Detector; E - Esgoto.

A unidade de aspiração/propulsão empregue neste trabalho era uma bomba peristáltica modelo Gilson Minipuls 3 (Fig. 9), que incorporava um tubo de impulsão de PVC, com diâmetro interno de 1,02 mm.



**Figura 9** - Bomba peristáltica Gilson Minipuls 3 utilizada na metodologia SIA.

A escolha do diâmetro interno do tubo de impulsão era efectuada em função dos volumes de solução a aspirar e do caudal de propulsão pretendido. A substituição deste tubo era efectuada assim que se detectava perda de elasticidade ou alguma anomalia no funcionamento do sistema, tais como alterações do caudal ou irreprodutibilidade dos sinais analíticos. Os tubos de impulsão foram calibrados através do cálculo da variação de volume aspirado ou propulsionado, por pesagem. Para tal, tarou-se um gobelé com água e procedeu-se posteriormente a aspirações ou propulsões a partir da válvula selectora, num determinado intervalo de tempo, a diferentes velocidades de rotação da válvula peristáltica. Entre cada etapa de aspiração ou propulsão, o gobelé era novamente pesado. Deste modo, obteve-se uma relação entre tempo e caudal, permitindo definir o volume a aspirar ou propulsionar, em termos de tempo. O sentido do fluxo (aspiração ou propulsão) e a velocidade de rotação da bomba peristáltica eram controlados por computador.

Ligada à bomba peristáltica, encontrava-se uma válvula selectora de fluidos de oito portas e rotação unidireccional, da marca VICI Valco Instruments Co Inc, modelo C25-3180EMH (*Fig. 10*).



Figura 10 - Válvula selectora de fluidos de oito portas utilizada no sistema SIA.

Esta válvula constituía a parte principal do sistema dado que a ela se encontravam ligados os restantes componentes, tal como reactor, detector, tubo de armazenamento, soluções. A válvula era constituída por uma porta central e por oito portas laterais. A válvula encontrava-se ligada ao tubo de armazenamento e pode a cada momento estar conectada com uma das oito portas laterais (Fig. 11), o que permite a distribuição de todas as soluções ao longo do sistema. As portas laterais desta válvula permitem a entrada e saída de todas as soluções no sistema e o seu número limita as operações que o sistema pode realizar.

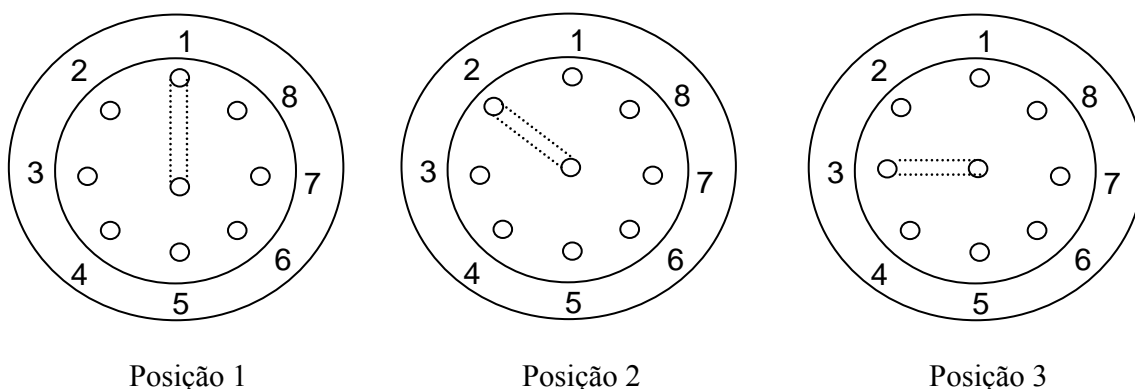


Figura 11 - Representação esquemática de três posições consecutivas da válvula selectora de fluidos.

O sistema de detecção usado neste trabalho foi um espectrofotómetro da marca Jenway, modelo 6300, equipado com uma célula de fluxo de 18  $\mu$ L de volume interno e percurso óptico de 1 cm, da marca Hellma. O detector encontrava-se ligado por tubagem à porta lateral número oito da válvula selectora de fluidos. A detecção do produto formado na reacção para a determinação de vanádio (V) no sistema automático de fluxo era efectuada a 565 nm.

Os sinais analíticos foram registados, em papel, num registador da marca Kipp & Zonen modelo BD111, que se encontrava ligado ao sistema de detecção. Contudo, a aquisição do sinal analítico poderia ser efectuada por computador se este estivesse equipado com uma interface conveniente.

A bomba peristáltica, a válvula selectora de fluidos e o detector encontravam-se ligados por tubo de teflon com diâmetro interno de 0,8 mm e configuração linear. O reactor usado na ligação da válvula selectora ao detector possuía configuração em forma de oito, por enrolamento nessa forma, ao longo de uma malha de plástico de 1,75m. Esta configuração permitiu diminuir o transporte axial e aumentar o transporte radial das soluções ao longo do percurso, até alcançarem o detector.

O tubo de armazenamento, que fazia a ligação entre a bomba peristáltica e a válvula selectora, possuía um comprimento de 4 m e configuração linear e permitia evitar a contaminação da solução transportadora por parte das soluções aspiradas pela válvula selectora de fluidos.

As medições de pH das soluções eram efectuadas num milivoltímetro de alta impedância de entrada da marca Criso, modelo GLP22, equipado com um eléctrodo de vidro combinado Ag/AgCl, da mesma marca e com a referência 52-02.

Os espectros de absorção molecular dos compostos foram registados num espectrofotómetro Perkin Elmer, modelo Lambda 45 UV/Vis.

## 2.4 Controlo informático do sistema

A bomba peristáltica e a válvula selectora de fluidos encontravam-se interligadas através de um computador e o seu controlo era efectuado através de um programa escrito em Microsoft QuickBasic 4.5. As instruções do programa, visualizadas no ecrã do computador (*Fig. 12*), referiam-se à escolha da posição da válvula selectora a aceder, ao tempo de permanência nessa posição (calculado a partir do volume de reagente/amostra aspirado ou propulsionado) e à velocidade e sentido de rotação da bomba peristáltica. Este programa permitia ainda definir a sequência de etapas necessárias em cada ciclo, assim como o número de repetições do mesmo, possibilitando deste modo a sincronização entre a bomba peristáltica e a válvula selectora de fluidos.

Programa de Controlo do Sistema SIA							
Posição (1 a 10)	Tempo (s)	Caudal (0-45)	Sentido (a ou b)				
<p><b>Alterar dados? (s/n)</b></p> <p><b>Número de repetições do ciclo:</b></p> <p><b>Alterar quadro ou fazer um novo (a/n)?</b></p>			<table border="1" style="margin: auto; border-collapse: collapse;"> <thead> <tr> <th style="padding: 5px;">Tempo</th> <th style="padding: 5px;">Posição</th> </tr> </thead> <tbody> <tr> <td colspan="2" style="text-align: center; padding: 10px;"><b>Ciclo</b></td> </tr> </tbody> </table>	Tempo	Posição	<b>Ciclo</b>	
Tempo	Posição						
<b>Ciclo</b>							

*Figura 12* - Visualização no ecrã do programa usado para a determinação de vanádio (V) em amostras de água. Sentido (a ou b) - sentido de aspiração / propulsão.

## 2.5 Optimização e avaliação das características de funcionamento do sistema SIA desenvolvido

O estudo de optimização da metodologia SIA implementada foi efectuado tendo por base o método univariante. Este consiste em fazer variar, num determinado intervalo, o parâmetro a optimizar mantendo todos os outros parâmetros fixos. As escolhas foram efectuadas visando obter um aumento de sensibilidade e diminuição do limite de detecção LD (do inglês "*Limit of detection*"). Nos estudos de optimização realizados, a avaliação da variação do parâmetro foi efectuada através da construção de curvas de calibração. No decorrer deste trabalho, de modo a validar o método analítico foram tidos em conta parâmetros como intervalo de linearidade da gama de trabalho, sensibilidade, LD, limite de quantificação LQ (do inglês "*Limit of quantification*"), precisão, exactidão e ritmo de amostragem.

O intervalo de concentrações em que se verificava uma relação linear entre a concentração de vanádio (V) a determinar e a medida espectrofotométrica, era definido através da representação gráfica da curva de calibração segundo o método dos mínimos quadrados, com soluções padrão de concentração crescente de vanádio (V). A avaliação da linearidade foi efectuada através do coeficiente de correlação da curva de calibração (R) e da visualização gráfica da curva. O valor da concentração de vanádio (V) a determinar na solução foi obtido a partir da avaliação da intensidade dos sinais analíticos registados em unidades de absorvância (UA). A amostra era analisada quatro vezes, consecutivamente, sendo o resultado final da intensidade do sinal analítico dado pela média destas leituras. O valor final da concentração de vanádio (V) nas amostras era calculado por interpolação da intensidade do sinal obtido na curva de calibração previamente traçada.

A sensibilidade do método tem um valor constante e é igual ao declive da curva de calibração, se e só se a curva de calibração for definida por um modelo linear. Caso contrário, o valor da sensibilidade é dado pela tangente à curva em cada ponto [1,2].

O LD aparece descrito na literatura de diversos modos embora seja definido na generalidade como o valor mínimo de concentração do analito que pode ser distinguido do branco com uma certeza estatística razoável [3]. Na prática traduz-se como sendo igual à média dos sinais analíticos do branco mais três vezes o desvio padrão deste [4]. Desta forma, foram efectuadas dez determinações consecutivas de branco e os seus sinais analíticos foram usados para o cálculo do LD.

O LQ corresponde à menor concentração medida a partir da qual é possível quantificar o analito, com uma determinada exactidão e precisão. O valor do LQ foi calculado como sendo igual à média dos sinais analíticos do branco mais dez vezes o desvio padrão deste [4].

A precisão do método, que pretende avaliar a dispersão de resultados, foi avaliada em termos de percentagem do desvio padrão relativo RSD (do inglês “*Relative standard deviation*”). Para este efeito, amostras com diferentes concentrações de vanádio (V) eram injectadas quinze vezes consecutivas, no sistema SIA. Estas soluções de vanádio (V) com concentrações distribuídas ao longo do intervalo de concentração linear de trabalho, eram analisadas de modo obter-se uma estimativa credível da repetibilidade da metodologia.

O ritmo de amostragem, expresso em número de determinações por hora, foi calculado pelo somatório do tempo necessário para a realização de cada operação do ciclo analítico com o tempo necessário à mudança da posição da válvula selectora entre cada etapa.

A exactidão da metodologia em fluxo proposta foi avaliada recorrendo à análise de uma amostra de referência certificada de água residual e a ensaios de recuperação. Os ensaios de recuperação, que permitem avaliar os efeitos de matriz, consistiram em adicionar a amostras de água para consumo humano pequenas quantidades de solução padrão concentrada de vanádio (V) em vários níveis de concentração, desde valores próximos do limite de quantificação a valores situados na parte superior da curva de calibração. A percentagem de recuperação foi calculada com base na seguinte expressão:

$$\% \text{ Rec} = \left( \frac{C_{AF} - C_A}{C_F} \right) \times 100$$

em que  $C_{AF}$  é a concentração de vanádio (V) encontrada na amostra adicionada de padrão,  $C_A$  é a concentração de vanádio (V) encontrada para a amostra e  $C_F$  é o valor teórico da concentração do padrão de vanádio (V) adicionado à amostra. Considera-se que não existe efeitos de matriz na metodologia proposta quando este valor varia entre 95% e 105%.

## 2.6 Procedimento experimental

A metodologia SIA desenvolvida para determinar vanádio (V) em águas envolveu a reacção do vanádio (V) com os reagentes DPH e 4-AAP, em meio ácido, com formação de um produto corado de cor violeta, detectado a 565 nm.

O procedimento experimental iniciou-se com o enchimento de toda a tubagem do sistema e da célula de fluxo com solução transportadora de ácido sulfúrico. Os tubos das portas um, dois e três da válvula selectora eram preenchidos com a amostra (soluções padrão de vanádio (V)/amostra de água), solução de DPH e solução de 4-

AAP, respectivamente. A porta sete da válvula selectora funcionava como esgoto e as portas da válvula selectora que não eram utilizadas com soluções, eram preenchidas com solução transportadora de modo a evitar a entrada de bolhas de ar no sistema.

O ciclo analítico desenvolvido para a determinação de vanádio (V) em amostras de água (Tab. 2) era composto por seis etapas que perfazem na sua globalidade um tempo de 353 segundos.

**Tabela 2** - Ciclo analítico implementado no sistema SIA para a determinação de vanádio (V) em amostras de água.

<i>Posição da</i>						
<i>Etapa</i>	<i>Válvula</i>	<i>Solução</i>	<i>Tempo</i>	<i>Sentido</i>	<i>Caudal</i>	<i>Volume</i>
	<i>Selectora</i>		<i>(s)</i>	<i>fluxo*</i>	<i>(mLmin<sup>-1</sup>)</i>	<i>(μL)</i>
1	1	Amostra	18	A	1,0	300
2	2	DPH	7,5	A	1,0	125
3	3	4-AAP	7,5	A	1,0	125
4	8	Transportador	20	P	1,0	-
5	8	Transportador	180	P	0,0	-
6	8	Transportador	120	P	1,0	-

\*Sentido fluxo – A – aspiração; P – propulsão.

As etapas 1, 2 e 3 consistiram em aspirar sequencialmente para o tubo de armazenamento, 300 μL de amostra (soluções padrão de vanádio (V)/amostra de água), 125 μL de solução de DPH 0,15 mol L<sup>-1</sup> e 125 μL de solução de 4-AAP 0,075 mol L<sup>-1</sup>. Na etapa 4 promove-se a inversão do sentido do fluxo e as zonas que se encontram no tubo de armazenamento são impulsionadas para o tubo de reacção, permanecendo em contacto durante 180s (etapa 5) de modo a aumentar o tempo de reacção e incrementar a

sensibilidade. A etapa final (etapa 6) consistiu em enviar para o detector o produto corado formado, a um caudal de  $1,0 \text{ mL min}^{-1}$ , registrando-se o respectivo sinal analítico. O valor de absorvância do sinal analítico era proporcional à concentração de vanádio (V) presente na amostra.

## 2.7 Referências bibliográficas

- [1] M. L. S. S. Gonçalves, “*Métodos instrumentais para análise de soluções - Análise quantitativa*”, 3<sup>o</sup> edição, Fundação Calouste Gulbenkian, Lisboa, **1996**.
- [2] L. A. Currie, *Pure & Appl. Chem.*, **1995**, *67*, 1699.
- [3] Analytical Methods Committee, *Analyst*, **1987**, *112*, 199.
- [4] V. A. Fassel, IUPAC, *Anal. Chem.*, **1976**, *48*, 2294.

## Capítulo 3

### **Resultados e discussão**

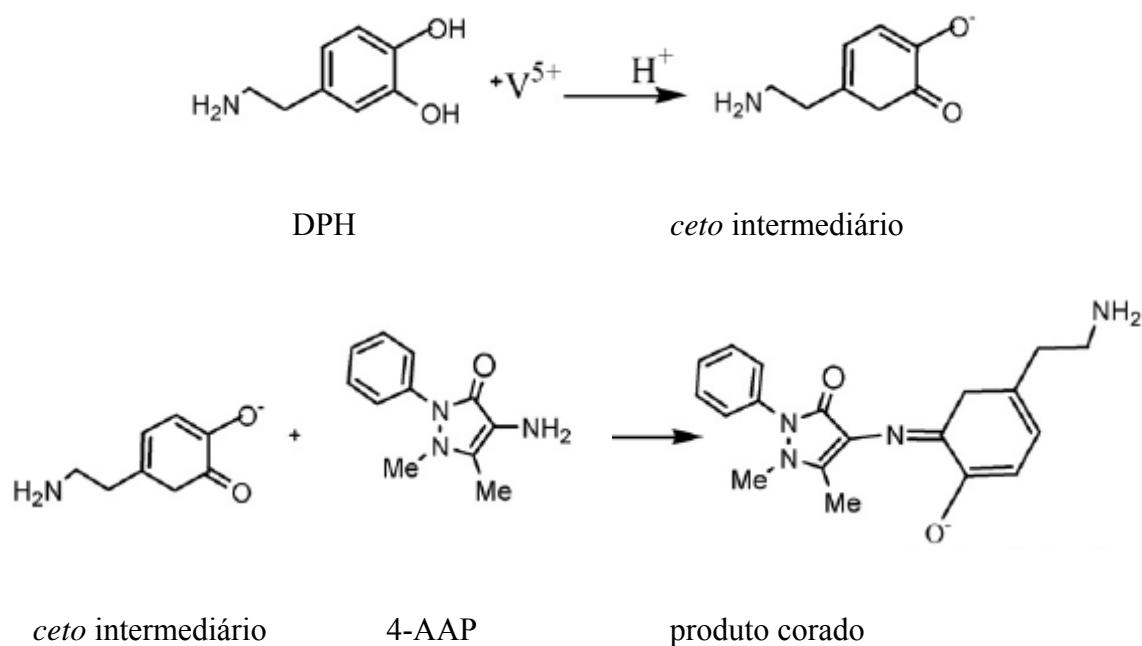
#### **3.1 Introdução**

Neste capítulo são apresentados os estudos que conduziram à optimização do sistema SIA desenvolvido para a determinação de vanádio (V), no que se refere aos parâmetros físico-químicos e à caracterização analítica. É ainda descrito o estudo de interferentes assim como a aplicação da metodologia desenvolvida a amostras de água para consumo e a sua validação através de ensaios de recuperação. É também apresentada a aplicação da metodologia a uma amostra de referência de água residual, sendo expostos estudos para eliminação do interferente Fe(III).

#### **3.2 Implementação da reacção de vanádio (V) com DPH e 4-AAP**

No presente trabalho, a quantificação de vanádio (V) em amostras de água baseou-se na reacção apresentada por Kumar et al. [1], tendo-se substituído o reagente

MBTH (do inglês “3-methyl-2-benzothiazolinone hydrazone hydrochloride”) pelo reagente 4-AAP. Esta reacção baseia-se na oxidação da DPH pelo vanádio (V), em meio ácido, com formação de um *ceto* intermediário. Este *ceto* intermediário reage com a 4-AAP, com conseqüente formação do produto final de cor violeta, detectado a 565 nm (Fig. 13).



**Figura 13** - Esquema da reacção envolvida na determinação de vanádio (V) em amostras de água no sistema SIA [1].

### 3.3 Optimização dos parâmetros físico-químicos do sistema SIA

Com a finalidade de otimizar a metodologia automática implementada, foi estudada a influência dos parâmetros físico-químicos no sinal analítico (absorvância). As condições experimentais foram definidas por optimização de volume, concentração e ordem de aspiração de reagentes e amostra, caudal de propulsão, dimensão do reactor, composição da solução transportadora e comprimento onda e paragem de fluxo.

### 3.3.1 Composição da solução transportadora

O pH do meio reaccional é de extrema importância para a determinação de vanádio (V) uma vez que determina a espécie que existe em solução [2] e influencia directamente a sensibilidade da reacção.

Como solução transportadora foram testadas soluções de ácido sulfúrico, clorídrico e nítrico, com concentrações compreendidas entre 0,050 e 0,35 mol L<sup>-1</sup>, e duas soluções tampão de acetato de sódio pH 3,0 e 3,8.

A solução de ácido sulfúrico de concentração 0,050 mol L<sup>-1</sup> originou sinais analíticos divididos em vários picos enquanto que com a solução de concentração 0,35 mol L<sup>-1</sup> os sinais obtidos eram regulares. Contudo, a sensibilidade atingida com a solução de concentração 0,35 mol L<sup>-1</sup> era inferior aquela que se obteve para a solução de concentração 0,15 mol L<sup>-1</sup>. Das várias soluções testadas, a solução de concentração 0,25 mol L<sup>-1</sup> foi a que evidenciou melhor compromisso entre sensibilidade (0,0811 UA mg L<sup>-1</sup>) e linearidade.

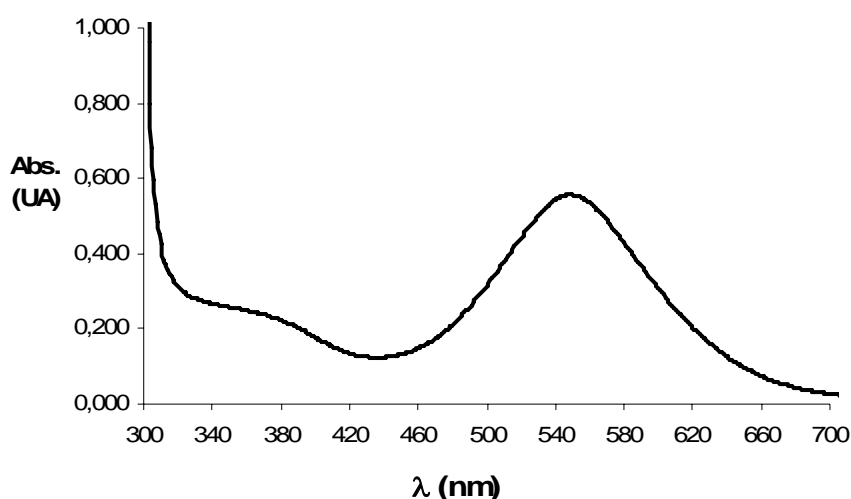
Relativamente às soluções de ácido nítrico e clorídrico, as soluções de concentração 0,050 mol L<sup>-1</sup> foram as que conduziram a melhor sensibilidade (0,0543 UA mg L<sup>-1</sup>) e linearidade em toda a gama de trabalho. Contudo, quando comparadas com a solução de ácido sulfúrico de concentração 0,25 mol L<sup>-1</sup>, verificou-se que esta última permitiu aumentar a sensibilidade da reacção em relação ao uso de ácido nítrico e clorídrico em 42%.

Os testes envolvendo as soluções tampão de acetato de sódio com pH 3,0 e 3,8 como transportador revelaram que a amplitude dos sinais analíticos, incluindo o sinal do branco, são superiores quando comparadas com o uso de qualquer um dos ácidos anteriormente referidos. No entanto, observou-se uma diminuição no valor da sensibilidade na ordem dos 56% e perda de linearidade no intervalo estudado (0,50-5,0

mg L<sup>-1</sup>). Deste modo, seleccionou-se como solução transportadora, a solução de ácido sulfúrico de concentração 0,25 mol L<sup>-1</sup>.

### 3.3.2 Comprimento de onda

Com o objectivo de definir o comprimento de onda no qual o produto corado formado apresentasse um máximo de absorção realizou-se um ensaio, em modo discreto, em que se adicionou 1,20 mL de solução padrão de vanádio (V) 2,0 mg L<sup>-1</sup>, 500 µL de solução de DPH 0,15 mol L<sup>-1</sup>, 500 µL de solução de 4-AAP 0,075 mol L<sup>-1</sup> e 800 µL de solução H<sub>2</sub>SO<sub>4</sub> 0,25 mol L<sup>-1</sup>. Foi traçado o espectro de absorção molecular desta solução (*Fig. 14*), cujo máximo de absorvância corresponde a 565 nm.



*Figura 14* - Espectro de absorção molecular do produto da reacção.

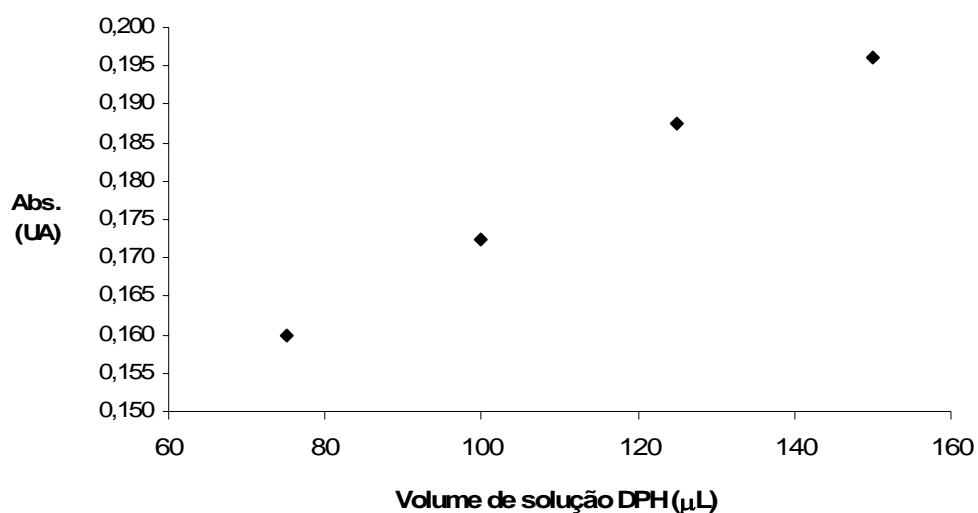
### 3.3.3 Soluções de reagentes e amostra

O efeito do volume de amostra nos sinais analíticos foi estudado fazendo variar o seu valor entre 150 e 350 µL. Para volumes superiores a 300 µL observaram-se problemas de mistura, com formação de picos duplos. Os estudos posteriores foram

efectuados com 300  $\mu\text{L}$  de amostra uma vez que este volume permitiu obter melhor resposta em termos de sensibilidade no intervalo de concentração pretendido.

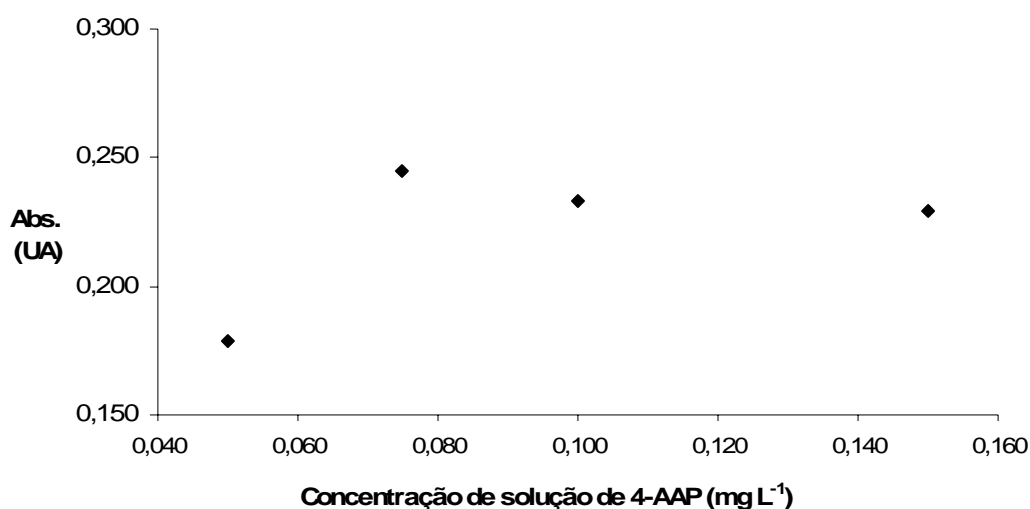
O volume da solução de 4-AAP foi testado entre 75 e 200  $\mu\text{L}$  tendo-se verificado um aumento da intensidade do sinal analítico com o aumento de volume. No entanto, para volumes superiores a 150  $\mu\text{L}$  o sinal revela problemas de mistura. Deste modo, o volume de 125  $\mu\text{L}$  foi usado nos estudos seguintes uma vez que permitiu obter melhor sensibilidade.

Seguidamente procedeu-se à optimização do volume da solução de DPH tendo-se testado volumes compreendidos entre 75 e 150  $\mu\text{L}$ . Observou-se um aumento do sinal com o aumento do volume até 150  $\mu\text{L}$  (*Fig. 15*). Com o volume de 150  $\mu\text{L}$  observaram-se problemas de mistura entre as zonas aspiradas, de modo que os estudos prosseguiram utilizando 125  $\mu\text{L}$  de DPH.



**Figura 15** - Influência do volume de solução de DPH no sinal analítico de uma solução padrão de vanádio (V) de concentração 5,0  $\text{mg L}^{-1}$ .

A concentração da solução de 4-AAP foi testada entre 0,050 e 0,15 mol L<sup>-1</sup>. O aumento da viscosidade relacionado com o aumento da concentração da 4-AAP dificultou a mistura das soluções em linha, o que se traduziu na formação de um pico duplo para valores superiores a 0,075 mol L<sup>-1</sup>. A intensidade dos sinais analíticos obtidos para esta concentração eram superiores aos demais (*Fig. 16*), o que conduziu a uma maior sensibilidade de modo que os restantes estudos foram efectuados com uma solução de 4-AAP 0,075 mol L<sup>-1</sup>.

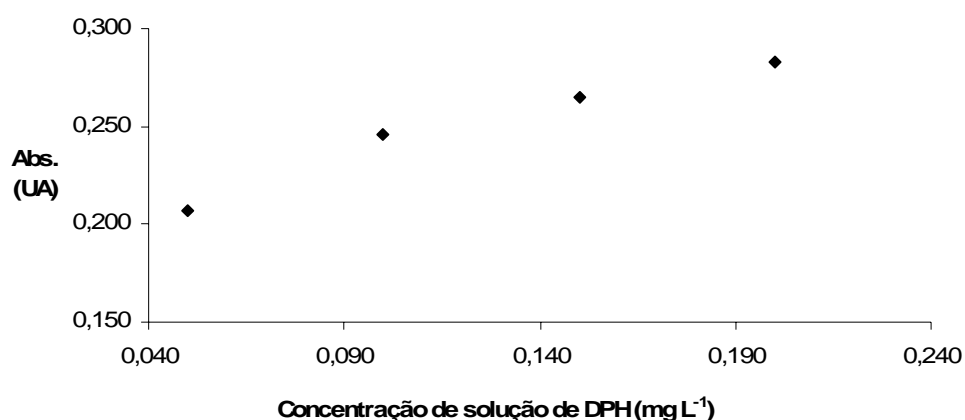


**Figura 16** - Influência da concentração da solução de 4-AAP no sinal analítico de uma solução padrão de vanádio (V) de concentração 5,0 mg L<sup>-1</sup>.

No estudo de optimização da concentração da solução de DPH foram testadas concentrações compreendidas entre 0,050 e 0,20 mol L<sup>-1</sup>. O aumento da concentração da solução de DPH no intervalo estudado conduziu a um aumento da intensidade dos sinais com conseqüente aumento da sensibilidade (*Fig. 17*). Contudo, nos estudos envolvendo o uso de DPH 0,20 mol L<sup>-1</sup> ocorria a perda de linearidade para padrões de vanádio (V) com concentrações superiores a 3,0 mg L<sup>-1</sup>. Por estes motivos, a restante

optimização foi efectuada utilizando uma solução de DPH de concentração  $0,15 \text{ mol L}^{-1}$ .

1.

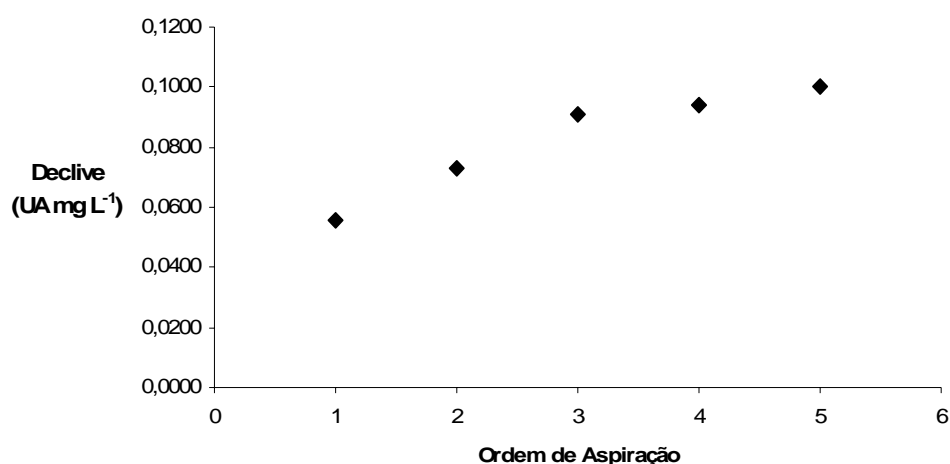


**Figura 17** - Influência da concentração da solução de DPH no sinal analítico de uma solução padrão de vanádio (V) de concentração  $5,0 \text{ mg L}^{-1}$ .

Foi ainda efectuado um teste envolvendo a mistura das soluções de DPH e 4-AAP de forma a verificar se a sensibilidade da reacção poderia ser incrementada. Para isso, preparou-se uma solução mistura com soluções de DPH e 4-AAP, em modo discreto. Posteriormente, esta solução mistura foi testada no sistema SIA de acordo com o procedimento experimental descrito no *Capítulo 2*. Apesar da sensibilidade ( $0,2025 \text{ (UA mg L}^{-1}\text{)}$ ) obtida nesta situação ser superior aos estudos até aqui referidos, verificou-se que a mistura das duas soluções não era estável ao longo de um dia de trabalho, tendo-se optado por usar as soluções de DPH e 4-AAP individualmente.

A sequência de aspiração das zonas de amostra e reagentes envolvidas na reacção influencia directamente o grau de sobreposição das mesmas e, ao mesmo tempo, a forma como estas se interdispersam umas nas outras, com repercussão final na intensidade e forma do sinal analítico obtido [3-7]. Tendo em conta a reacção, várias sequências de aspiração de amostra, DPH e 4-AAP foram testadas no sistema SIA, com o intuito de encontrar a sequência que favorecia a mistura. A resposta do sistema a estas

variações foi avaliada em termos de sensibilidade (*Fig. 18*), expressa pelo declive das curvas de calibração. Observou-se que a ordem de aspiração correspondente a Am/DPH/4-AAP/DPH/4-AAP/DPH/4-AAP, que consistiu em subdividir a aspiração dos 125  $\mu\text{L}$  dos reagentes DPH e 4-AAP em três partes iguais, permitiu obter um declive ligeiramente superior à ordem de aspiração Amostra/DPH/4-AAP. No entanto, para além da diferença entre as duas em termos de sensibilidade ser insignificante, na primeira opção há uma diminuição no ritmo de amostragem devido às várias mudanças de posição da válvula selectora. Deste modo, de todas as sequências testadas, verificou-se que a ordem de aspiração óptima consistia em aspirar sequencialmente a amostra, seguida de solução de DPH e por fim solução de 4-AAP. De facto, esta sequência revelou um contacto mais eficiente ente as zonas de amostra e reagentes, visível em termos de regularidade de sinal analítico e permitiu obter uma melhor relação entre sensibilidade e ritmo de amostragem, de modo que foi seleccionada para os estudos posteriores.



**Figura 18** - Variação do declive da curva de calibração de vanádio (V) com a ordem de aspiração. 1) 4-AAP/Am/DPH; 2) Am/4-AAP/DPH; 3) Am/DPH/4-AAP; 4) Am/DPH/4-AAP/DPH/4-AAP; 5) Am/DPH/4-AAP/DPH/4-AAP/DPH/4-AAP.

### **3.3.4 Paragem de fluxo**

Derivado à natureza interrompida do fluxo nos sistemas SIA, resultante do movimento bidireccional do fluxo permitido pela bomba peristáltica, os períodos de paragem de fluxo podem ser facilmente incorporados no procedimento analítico com o objectivo de incrementar os tempos de reacção com consequente aumento da sensibilidade e minimização do consumo de reagentes [8].

Tendo como base este pressuposto e com o intuito de aumentar a sensibilidade da reacção, foi efectuado um estudo de paragem de fluxo no interior do reactor que consistiu em aumentar o tempo de paragem de fluxo entre 30 e 240 segundos. O estudo resultou no aumento da intensidade dos sinais analíticos e consequente aumento de sensibilidade até 180 segundos. Observou-se que a sensibilidade obtida para 240 segundos de paragem era equivalente à obtida com 180 segundos. Como compromisso entre a sensibilidade e o ritmo de amostragem, os estudos posteriores foram efectuados introduzindo no ciclo analítico uma paragem de fluxo de 180 segundos.

### **3.3.5 Caudal de propulsão**

Foram testados caudais de propulsão entre 0,50 e 1,5 mL min<sup>-1</sup> tendo-se observado que o caudal de 0,50 mL min<sup>-1</sup> ocasionava um decréscimo na sensibilidade e perda de linearidade no intervalo de concentrações de vanádio (V) estudado, quando comparado com o caudal de 0,75 e 1,0 mL min<sup>-1</sup>. Este facto pode ser justificado pelo aumento da dispersão das diferentes zonas uma vez que o tempo de residência das zonas no percurso analítico aumenta, sofrendo maior diluição e originando sinais analíticos com amplitudes mais baixas. Por outro lado, o caudal de 0,75 mL min<sup>-1</sup> originou uma sensibilidade semelhante à obtida com o caudal de 1,0 mL min<sup>-1</sup>. Contudo, o caudal de 0,75 mL min<sup>-1</sup> faz aumentar o tempo do ciclo analítico para aproximadamente 10 minutos, conduzindo a um menor ritmo de amostragem. De modo a obter-se um

compromisso entre a sensibilidade e o ritmo de amostragem, escolheu-se o caudal de  $1,0 \text{ mL min}^{-1}$  como sendo o mais adequado para propulsionar a zona reaccional em direcção ao detector.

### 3.3.6 Dimensão do reactor

Foi avaliada a influência do comprimento do reactor na dispersão da zona reaccional tendo-se testado reactores em figuras de oito de 0,50; 1,0; 1,5; 1,75 e 2,0 m. O aumento do comprimento do reactor contribuiu para o aumento da intensidade dos sinais analíticos. Contudo, com o reactor de 2,0 m observou-se a formação de picos mais largos com retorno à linha de base demorado, factores estes atribuídos ao aumento da dispersão. Escolheu-se então o reactor com 1,75 m para estudos futuros dado que este oferece melhor sensibilidade e linearidade no intervalo de concentração definido. O reactor utilizado possuía a forma de figuras de oito promovendo a transferência de massa no sentido radial [6], contribuindo para uma mistura mais eficaz dos reagentes DPH e 4-AAP com a amostra.

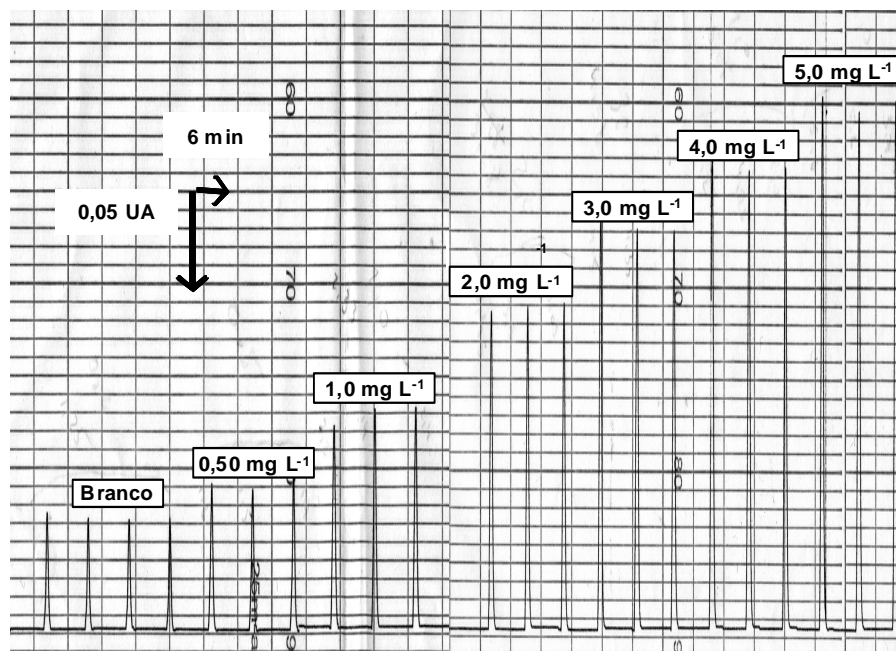
## 3.4 Parâmetros de calibração do sistema SIA

Procedeu-se à caracterização da metodologia de fluxo SIA desenvolvida no que respeita ao intervalo de linearidade, LD, LQ, precisão e ritmo de amostragem.

Nas condições optimizadas, foi possível estabelecer para a determinação de vanádio (V) o intervalo de concentrações de 0,50 a 5,0  $\text{mg L}^{-1}$  em que a lei de Beer é obedecida. O registo dos sinais analíticos obtidos durante a construção da curva de calibração de vanádio (V) no sistema SIA é apresentado na *Fig. 19*. A equação da curva de calibração obtida foi:

$$\text{Abs. (UA)} = 0,0902 (\pm 0,0029) C_{\text{vanádio (V)}} (\text{mg L}^{-1}) + 0,06 (\pm 0,0066), R^2=0,994,$$

em que Abs. se refere ao valor da intensidade do sinal em termos de absorvância (UA) e C à concentração de vanádio (V) em  $\text{mg L}^{-1}$ .



**Figura 19** - Registo dos sinais analíticos obtidos na construção da curva de calibração com soluções padrão de vanádio (V) de concentrações crescentes.

Os valores obtidos para o LD e LQ do método, calculados conforme descrito no *Capítulo 2*, foram de  $0,39 \text{ mg L}^{-1}$  e  $1,31 \text{ mg L}^{-1}$ , respectivamente.

A precisão da metodologia foi avaliada em termos de RSD de um conjunto de quinze determinações de duas amostras de concentrações  $0,50 \text{ mg L}^{-1}$  e  $3,0 \text{ mg L}^{-1}$ . Os valores de RSD obtidos, 1,56 % e 1,44%, respectivamente, expressam a excelente repetibilidade da metodologia automática proposta.

Após a optimização, o sistema desenvolvido permitia efectuar a avaliação da concentração de vanádio (V) a um ritmo de 10 determinações por hora.

### 3.5 Estudo de interferências

Uma vez que a metodologia desenvolvida seria posteriormente aplicada à análise de vanádio (V) em águas de consumo e águas residuais, foi realizado um estudo para avaliar as potenciais espécies interferentes.

O estudo experimental consistiu em adicionar, individualmente, quantidades de vários iões considerados possíveis interferentes a uma solução padrão de vanádio (V) de concentração  $1,0 \text{ mg L}^{-1}$ . As soluções assim preparadas eram analisadas pela metodologia desenvolvida e os sinais analíticos obtidos eram comparados com os obtidos por análise de uma solução de vanádio (V) de concentração  $1,0 \text{ mg L}^{-1}$ , na ausência de interferente. Iniciaram-se os estudos com soluções de interferentes de concentração  $100 \text{ mg L}^{-1}$  e quando se detectava a presença de uma interferência, a concentração dessa espécie era diminuída até ausência de interferência. Foram consideradas interferentes as espécies que apresentaram um desvio relativo superior a 3,0 % no valor do sinal analítico quando comparado com o sinal analítico da solução padrão de vanádio (V)  $1,0 \text{ mg L}^{-1}$ . Foram analisadas várias espécies consideradas como principais componentes de uma amostra de água (*Tab. 3*).

Os resultados permitiram verificar que o limite de tolerância das espécies Fe(III), Cr(VI), Cu(II), Ce(VI) e  $\text{NO}_2^-$  é de  $0,10 \text{ mg L}^{-1}$  e que as restantes espécies revelaram-se potenciais interferentes, com limites de tolerância variável. Os aniões sulfato, nitrato e fosfato apresentam um limite de tolerância de  $100 \text{ mg L}^{-1}$ .

**Tabela 3** - Resultados obtidos no estudo de espécies potencialmente interferentes na determinação de vanádio (V) pela metodologia desenvolvida.

<i>Espécie interferente adicionada</i>	<i>Limite de tolerância (mg L<sup>-1</sup>)</i>	<i>Desvio relativo (%)</i>
Fe <sup>3+</sup>	0,10	+ 0,0
Cu <sup>2+</sup>	0,10	+ 2,0
Cr <sup>6+</sup>	0,10	+ 1,1
Sn <sup>2+</sup>	0,50	+ 2,0
Pb <sup>2+</sup>	100	- 1,8
Zn <sup>2+</sup>	50	- 2,3
Na <sup>+</sup>	100	- 2,8
Mg <sup>2+</sup>	20	- 1,3
Mo <sup>6+</sup>	100	+ 0,85
W <sup>6+</sup>	1,0	+ 0,25
Ce <sup>6+</sup>	0,10	+ 1,8
SO <sub>4</sub> <sup>2-</sup>	100	+ 0,80
NO <sup>3-</sup>	100	+ 1,5
NO <sub>2</sub> <sup>-</sup>	0,10	+ 0,63
PO <sub>4</sub> <sup>3-</sup>	100	- 1,3

### 3.6 Aplicação da metodologia SIA a amostras de água

#### 3.6.1 Águas para consumo humano

Com o objectivo de avaliar o desempenho da metodologia desenvolvida esta foi aplicada a dez amostras de água para consumo humano. Os resultados obtidos indicam que nestas amostras a concentração de vanádio se encontra abaixo do limite de detecção da metodologia proposta.

Deste modo, a validação da metodologia foi efectuada através de ensaios de recuperação nas referidas amostras. Para o efeito, foram adicionadas quantidades variáveis de solução padrão de vanádio (V) às amostras e as soluções resultantes foram analisadas pela metodologia optimizada, segundo o procedimento exposto no *Capítulo 2*, tendo-se obtido os valores das recuperações por interpolação na curva de calibração de vanádio (V) (*Tab. 4*).

**Tabela 4** - Resultados obtidos nos ensaios de recuperações em águas para consumo humano.

<i>Amostras de água de consumo</i>	<i>Concentração de vanádio (V) adicionado (mg L<sup>-1</sup>)</i>	<i>Recuperação (%)</i>
1	0,20	104,3
2	0,50	101,1
3	0,75	100,8
4	1,00	104,1
5	1,50	100,0
6	2,00	104,2
7	2,60	98,1
8	3,00	100,6
9	4,50	107,6
10	3,50	101,9

As percentagens encontradas nos ensaios de recuperação encontram-se compreendidas entre 98,1% e 107,6%, indicando a ausência de efeitos de matriz.

### 3.6.2 Águas residuais

Com o objectivo de alargar a área de aplicação da metodologia desenvolvida, foi testada uma amostra de referência de água residual. A amostra foi analisada directamente no sistema SIA de acordo com o procedimento descrito no *Capítulo 2*.

Por interpolação na curva de calibração obteve-se um valor de concentração de  $1,21 \pm 0,09 \text{ mg L}^{-1}$  de vanádio (V) na amostra de referência. Este valor apresenta um desvio de 142% em relação ao que consta na ficha de análise da amostra ( $0,500 \text{ mg L}^{-1}$ ), evidenciando a existência de espécies interferentes na amostra.

A consulta da ficha de análise da amostra de referência aponta a presença de várias espécies interferentes, evidenciando no entanto que o Fe(III) se encontra presente em maior quantidade, com  $5,0 \text{ mg L}^{-1}$ . Este facto, aliado ao resultado obtido no estudo de interferentes, indica que o desvio obtido na análise da amostra se deve possivelmente à presença do catião Fe(III). A grande aplicação de vanádio no fabrico de ligas metálicas permite ainda justificar o facto do ferro se encontrar quase sempre associado ao vanádio, em águas residuais.

#### 3.6.2.1 Estudos de eliminação da interferência do catião Fe(III)

Uma vez que o catião Fe(III) não permitiu determinar de modo selectivo o vanádio (V) na amostra de referência, tornou-se imperativo encontrar uma alternativa para suprimir este catião do meio reaccional. As técnicas que têm sido frequentemente utilizadas com este objectivo são as reacções de oxidação-redução e/ou de complexação (4,5). No que diz respeito às reacções de oxidação-redução, as espécies redutoras mais características e mais utilizadas com esta finalidade têm sido o ácido ascórbico e o hidrocloreto de hidroxilamina [9,10].

Os estudos para a eliminação do catião ferro foram iniciados com um teste muito prévio envolvendo o ácido ascórbico. Foram preparadas soluções mistura (ácido

ascórbico  $3,5 \times 10^{-5} \text{ mol L}^{-1}$  + amostra de referência) e soluções padrão de vanádio (V) cuja concentração era equivalente à concentração de vanádio (V) presente na amostra de referência. As soluções foram analisadas no sistema SIA, segundo o procedimento experimental já descrito no *Capítulo 2*. Os sinais analíticos da amostra assim tratada com ácido ascórbico foram depois comparados com os sinais analíticos do padrão de vanádio (V). O resultado obtido apresentava um desvio de 12,3% relativamente à concentração real de vanádio (V) na amostra de referência, o que sugere que o ácido ascórbico, nestas condições, não é eficaz para eliminar a interferência do ferro.

Relativamente às reacções de complexação, os estudos existentes na literatura sugerem a utilização de diferentes agentes quelantes, tais como NaF [11-14], citrato [15], tartarato [15], EDTA (do inglês “*Ethylenediaminetetraacetic acid*”) [16], fosfato [17], EDTPO (do inglês “*ethylenediamine-N-N-N’-N’-tetrakis(methylenephosphonic acid)*”) [18], etc. Contudo, a maioria refere o uso de EDTA, o qual é utilizado com frequência na eliminação ou mascaramento de interferentes como o Fe(III) e ou mesmo na separação e especiação entre vanádio (IV) e vanádio (V) [19-24]. Tendo em conta este facto, testou-se o EDTA no tratamento da amostra de referência de modo a eliminar o Fe(III) e tornar o método mais selectivo. O EDTA foi utilizado na forma de sal dissódico ( $\text{Na}_2\text{EDTA}$ ) e por uma questão de simplicidade este passa a ser designado ao longo do texto por EDTA. A adição de EDTA à amostra teve como objectivo formar um complexo com o Fe(III), deixando o vanádio (V) livre em solução. Estes complexos estão bem caracterizados na literatura e a constante de formação,  $K_f$ , do complexo Fe(III)-EDTA é superior à do complexo V(V)-EDTA com valores de 25,1 e 18,1, respectivamente [25].

O procedimento abrangendo a utilização de EDTA para a eliminação da interferência do Fe(III) envolveu a preparação de várias soluções de EDTA, com

concentrações compreendidas entre  $1,0 \times 10^{-5}$  e  $1,0 \times 10^{-4}$  mol L<sup>-1</sup>. Prepararam-se também soluções padrão de vanádio (V), cuja concentração era equivalente à concentração de vanádio (V) presente na amostra de referência e soluções mistura (EDTA + amostra de referência). As soluções foram analisadas no sistema SIA, segundo o procedimento experimental já descrito no *Capítulo 2* e os sinais analíticos da amostra tratada com EDTA foram depois comparados com os sinais analíticos do padrão de vanádio (V).

Os resultados revelaram que o tratamento da amostra de referência com solução de EDTA de concentração superior a  $1,0 \times 10^{-4}$  mg L<sup>-1</sup> conduz a uma redução significativa do sinal analítico. Este facto sugere que o EDTA se encontra em excesso e que complexa não só o Fe(III) mas também o vanádio (V). Para além disso, os resultados experimentais permitiram ainda definir um intervalo de concentrações de EDTA dentro dos qual se poderia encontrar a concentração “ideal” de EDTA para efectuar o tratamento da amostra (*Tab. 5*).

**Tabela 5** - Erros relativos obtidos na quantificação de vanádio (V) na amostra de referência de água residual, após a adição de soluções de EDTA com diversas concentrações.

<b>[EDTA] adicionada (mol L<sup>-1</sup>)</b>	$1,0 \times 10^{-5}$	$2,5 \times 10^{-5}$	$3,5 \times 10^{-5}$	$4,0 \times 10^{-5}$	$6,0 \times 10^{-5}$	$7,5 \times 10^{-5}$	$8,0 \times 10^{-5}$
<b>Erro relativo (%)</b>	+ 51,6	+ 17,2	+ 2,29	- 7,88	- 43,4	- 52,6	- 66,8

Pela análise da tabela verifica-se que as soluções de EDTA com concentrações inferiores a  $3,5 \times 10^{-5}$  mol L<sup>-1</sup> são insuficientes para complexar todo o catião Fe(III) presente na amostra, uma vez que o sinal analítico correspondente à solução mistura

(EDTA + amostra de referência) é superior ao sinal analítico obtido com a solução padrão de vanádio (V). Por outro lado, a adição de EDTA com concentrações superiores a  $3,5 \times 10^{-5} \text{ mol L}^{-1}$  revelou ser excessiva pois o sinal analítico correspondente à solução mistura (EDTA + amostra de referência) é inferior ao sinal analítico obtido com a solução padrão de vanádio (V). Estes resultados sugerem que, nestas condições, o EDTA além de complexar o Fe(III) complexa também parte do vanádio (V) presente em solução.

A solução de EDTA de concentração  $3,5 \times 10^{-5} \text{ mol L}^{-1}$  revelou ser, de entre todas as concentrações estudadas, a mais eficaz e permite quantificar o vanádio (V) na amostra de referência com um erro de 2,29%.

Com o objectivo de alargar a aplicação da metodologia a amostras com concentrações variáveis de vanádio (V) e de espécies interferentes, efectuou-se um estudo envolvendo o tratamento de amostras fictícias com EDTA  $3,5 \times 10^{-5} \text{ mol L}^{-1}$ .

Prepararam-se soluções mistura contendo  $0,50 \text{ mg L}^{-1}$  de vanádio (V) e 2,0 e 10  $\text{mg L}^{-1}$  de Fe(III) às quais foi adicionada solução de EDTA de concentração  $3,5 \times 10^{-5} \text{ mol L}^{-1}$ . Foram também preparadas soluções padrão individuais de vanádio (V) e Fe(III), com as mesmas concentrações presentes nas soluções mistura. Estas soluções foram posteriormente analisadas no sistema SIA, de acordo com o procedimento analítico descrito no *Capítulo 2*. Os sinais analíticos das soluções mistura tratadas com EDTA eram depois comparados com os sinais do padrão de vanádio (V).

Os resultados obtidos (*Tab. 6*) demonstram que nas soluções com concentração de Fe(III) inferior a  $5,0 \text{ mg L}^{-1}$ , a quantidade de EDTA é excessiva ocorrendo uma diminuição do sinal da amostra tratada devido à complexação simultânea de vanádio (V). Por outro lado, os resultados relativos às soluções contendo Fe(III) com concentração superior a  $5,0 \text{ mg L}^{-1}$  revelaram que a concentração de EDTA escolhida é

insuficiente para complexar todo o Fe(III), traduzindo-se num sinal analítico muito elevado e apresentando um erro de 295%.

**Tabela 6** - Erros relativos obtidos na quantificação de vanádio (V) em amostras de águas fictícias tratadas com EDTA  $3,5 \times 10^{-5}$  mol L<sup>-1</sup>.

<b>[Fe(III)] (mol L<sup>-1</sup>)</b>	2,0	5,0	10
<b>[V(IV)] (mol L<sup>-1</sup>)</b>	0,50		
<b>[EDTA] adicionada (mol L<sup>-1</sup>)</b>	$3,5 \times 10^{-5}$		
<b>Erro relativo (%)</b>	- 6,30	+ 2,41	+ 295

Os estudos efectuados permitiram concluir que a concentração de EDTA a ser adicionada à amostra é largamente dependente da concentração da espécie interferente presente, tendo de ser ajustada a cada situação.

Dadas as limitações de tempo impostas para a conclusão do presente trabalho, não foi possível continuar os estudos de eliminação de interferências. No entanto, mediante os resultados obtidos, a utilização de uma resina de troca catiónica (AG 50W-X8) seria uma possibilidade promissora para a eliminação do catião ferro, sendo a sua incorporação no sistema SIA facilitada pela grande versatilidade deste tipo de sistema.

### 3.7 Referências bibliográficas

- [1] K. S. Kumar, S. H. Kang, K. Suvardhan, K. Kiran, *Environ. Toxicol. Phar.*, **2007**, 24, 37.
- [2] M. J. C. Taylor, *Analyst*, **1994**, 119, 1263.
- [3] N. W. Beyene, J. F. van Staden, R. I. Stefan, *Anal. Chim. Acta*, **2004**, 521, 223.
- [4] J. F. van Staden, R. E. Taljaard, *Mikrochim. Acta*, **1998**, 128, 297.
- [5] J. F. van Staden, R. E. Taljaard, *Anal. Chim. Acta*, **1996**, 323, 75.
- [6] G. D. Marshall, J. F. van Staden, *Proc. Control Qual.*, **1992**, 3, 251.
- [7] J. F. van Staden, H. du Plessis, S. M. Linsky, R. E. Taljaard, B. Kremer, *Anal. Chim. Acta*, **1997**, 354, 59.
- [8] E. H. Hansen, *Anal. Chim. Acta*, **1992**, 261, 125.
- [9] K. Pyrzyńska, *Microchim. Acta*, **2005**, 149, 159.
- [10] M. J. C. Taylor, J. F. van Staden, *Analyst*, **1994**, 119, 1263.
- [11] M. J. Ahmed, S. Banoo, *Talanta*, **1999**, 48, 1085.
- [12] M. E. Palomeque, A. G. Lista, B. S. F. Band, *Anal. Chim. Acta*, **1998**, 366, 287.
- [13] Md. J. Ahmed, A. K. Banerjee, *Analyst*, **1995**, 120, 2019.
- [14] T. Yamane, Y. Osada, M. Suzuki, *Talanta*, **1998**, 45, 583.
- [15] T. N. K. Kumar, H. D. Revanasiddappa, *J. Iranian Chem. Soc.*, **2005**, 2, 161.
- [16] J. Gao, X. Zhang, W. Yang, J. Kang, *Anal. Chim. Acta*, **2002**, 455, 159.
- [17] G. V. M. Murthy, T. S. Reddy, S. B. Rao, *Analyst*, **1989**, 114, 493.
- [18] S. Nakano, E. Tanaka, Y. Mizutani, *Talanta*, **2003**, 61, 203.
- [19] M. F. El-Shahat, S. H. A. Halim, H. A. Hassanin, *Afinidad*, **2004**, 512, 317.
- [20] L. Minelli, E. Veschetti, S. Giammanco, *Microchem. J.*, **2000**, 67, 83.
- [21] H. Liu, S. J. Jiang, *J. Anal. At. Spectrom.*, **2002**, 17, 556.

- [22] P. P. Coetzee, J. L. Fischer, M. Hu, *Water SA*, **2002**, 28, 37.
- [23] Y. Wu, Z. Jiang, Bin Hu, *Talanta*, **2005**, 67, 854.
- [24] J. F. Jen, M. H. Wu, T. C. Yang, *Anal. Chim. Acta*, **1997**, 339, 251.
- [25] A. I. Vogel, *Vogel's textbook of quantitative chemical analysis*, fifth edition, John Wiley & Sons, Inc., New York, **1989**.

## Capítulo 4

### Conclusões

No presente trabalho desenvolveu-se uma metodologia SIA que permite a determinação espectrofotométrica de vanádio (V) em amostras de água, no intervalo de 0,50 a 5,0 mg L<sup>-1</sup>, com base na condensação oxidativa entre a DPH e a 4-AAP.

O sistema de fluxo proposto demonstrou ser simples, versátil e fácil de operar graças ao funcionamento particular do sistema com base em inversões do sentido de fluxo.

A optimização da metodologia implementada foi relativamente simples, uma vez que os parâmetros a estudar eram controlados informaticamente, não sendo necessário reconfigurar fisicamente o sistema. Para além disto, o facto dos sistemas SIA apresentarem um fluxo bidireccional e descontínuo permitiu implementar uma etapa de paragem de fluxo que contribuiu para aumentar a sensibilidade da reacção.

Relativamente aos métodos discretos [1-3] existentes na literatura para a determinação de vanádio (V) em águas, a metodologia automática desenvolvida mostrou ser mais

rápida e económica possibilitando com um equipamento simples a realização de um número razoável de determinações por hora (10) de forma reprodutível, com consumo mínimo de reagentes e produção reduzida de efluentes. Este último ponto associado ao controlo informático do sistema constituem as principais vantagens da metodologia desenvolvida em relação aos métodos FIA [4-6] existentes para o mesmo fim

Os ensaios de recuperação efectuados a amostras de água para consumo confirmam a aplicabilidade da metodologia desenvolvida a este tipo de matriz.

Genericamente, os estudos efectuados permitem concluir que a metodologia SIA desenvolvida pode ser aplicada a amostras de água com concentração de Fe(III) inferior a  $0,10 \text{ mg L}^{-1}$ .

A metodologia foi ainda aplicada com eficácia a uma amostra de referência de água residual, tendo sido possível eliminar a interferência de Fe(III) nesta amostra pela adição de uma solução de EDTA  $3,5 \times 10^{-5} \text{ mol L}^{-1}$ . Contudo, a aplicabilidade da metodologia a amostras de água residual de composição variável encontra-se comprometida devido à semelhança observada entre as constantes de formação dos complexos Fe(III)-EDTA e V(V)-EDTA. De facto, o tratamento prévio da amostra com EDTA optimizado para a amostra de referência analisada não é eficiente para amostras com concentrações de Fe(III) variáveis. Deste modo, o tratamento a efectuar a cada amostra estaria dependente da concentração de interferentes, situação que não é viável na rotina laboratorial.

As limitações temporais inerentes à realização deste trabalho impossibilitaram a continuidade dos estudos relativos à eliminação da interferência do catião ferro. Tais estudos poderiam eventualmente passar pela utilização de uma resina de troca catiónica, nomeadamente a resina AG 50W-X8. Esta estratégia seria facilmente implementada no sistema SIA graças à elevada versatilidade da válvula selectora de fluidos.

#### 4.1 Referências bibliográficas

- [1] E. L. Dickson, G. Svehla, *Microchem. J.*, **1979**, 24, 509.
- [2] A. C. S. Costa, L. S. G. Teixeira, H. V. Jaeger, S. L. C. Ferreira, *Mikrochim. Acta*, **1998**, 130, 41.
- [3] S. Nakano, C. Yamada, M. Sakai, T. Kawashima, *Anal. Sci.*, **1986**, 2, 61.
- [4] M. E. Palomeque, A. G. Lista, B. S. F. Band, *Anal. Chim. Acta*, **1998**, 366, 287.
- [5] H. B. He, Y. X. Ci, W. B. Hang, W. L. Gong, *Talanta*, **1991**, 38, 1159.
- [6] T. Yamane, *Anal. Chim. Acta*, **1980**, 119, 389.

