



UNIVERSIDADE FEDERAL DA BAHIA  
INSTITUTO DE QUÍMICA  
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM QUÍMICA



**Desenvolvimento de estratégias analíticas  
envolvendo microextração dispersiva e  
sistema em linha empregando extração no  
ponto-nuvem para a determinação de metais**

**Patrícia Xavier Baliza**

Tese apresentada ao Colegiado do Curso de Pós-Graduação em Química como parte dos requisitos para a obtenção do grau de Doutor em Ciências.  
Área de concentração: Química Analítica.

Orientador: Prof. Dr. Leonardo Sena Gomes Teixeira

Salvador, Maio de 2009

## AGRADECIMENTOS

A Deus, por ter sempre guiado meus passos e por ter me dado oportunidades de realizar projetos como este.

Aos meus pais e meu irmão, que compartilharam comigo as vitórias e os maus momentos, sempre com um sorriso de confiança e amor incondicional.

Ao professor Leonardo Sena Gomes Teixeira, pelo apoio, amizade e confiança na realização deste projeto.

Ao professor Valfredo Lemos pela amizade e incentivo.

Ao professor Sérgio Ferreira, pela amizade e apoio.

Aos funcionários do Programa de Pós-Graduação da Universidade Federal da Bahia, Cristovão e Paulo, sempre prestativos e dedicados.

Aos colegas e amigos do Laboratório de Química Analítica da Universidade Estadual da Bahia: Graciete, Ednilton, Luana Novaes, Rafael, Mardson, Débora, Uelber, Adenilde, Regina, Marcos, Papá, Daniel, Anaildes, Luana Sena e Douglas pela agradável convivência e ajuda no que foi necessário durante o desenvolvimento do trabalho.

Aos amigos, Marcelo, Elenir, Bruno, Carla, Gabi, Pedro, Isaias, Núbia, Adriana, Lindomar, pelo carinho, paciência, amizade sincera e por estarem sempre ao meu lado.

Aos colegas Anaildes Lago e Rafael Oliveira, pela valiosa contribuição na realização deste projeto.

Ao grande amigo Juracir, pelo carinho e amizade, sempre disposto a ajudar.

À FAPESB, pelo essencial apoio financeiro.

Enfim, a todos não citados, mas que de alguma forma participaram deste trabalho.

## RESUMO

No presente trabalho, é proposta a síntese de um novo reagente derivado do tiazol, o 5-bromotiazolilazo-2-orcinol (Br-TAO) e a sua aplicação em sistemas de pré-concentração de metais. O Br-TAO foi empregado em um procedimento para a pré-concentração de cobalto utilizando a micro-extração dispersiva líquido-líquido e determinação por espectrometria de absorção atômica com chama (FAAS). O fator de enriquecimento e o limite de detecção obtidos foram 16 e  $0,9 \mu\text{g L}^{-1}$ , respectivamente. A exatidão do método foi testada por análise do material de referência certificado NIST 1570a, Folhas de Espinafre. Este procedimento foi aplicado para a determinação de cobalto em águas do Rio das Contas, localizado no município de Jequié-BA. Outro procedimento empregou o reagente Br-TAO em um sistema em linha com injeção seqüencial e extração no ponto-nuvem para pré-concentração e determinação de manganês por FAAS. O procedimento foi baseado na extração no ponto-nuvem de manganês no sistema de injeção seqüencial e retenção em minicoluna, com posterior eluição e detecção. Variáveis químicas e de fluxo que influenciam o sistema foram otimizadas e alguns parâmetros analíticos determinados, como frequência analítica ( $48 \text{ h}^{-1}$ ), fator de enriquecimento (14), índice de consumo (0,20 mL) e limite de detecção ( $0,5 \mu\text{g L}^{-1}$ ). Os materiais de referência certificados NIST 1568a, Farinha de Arroz e NIST 1573a, Folhas de Tomateiro, foram utilizados para o teste da exatidão do procedimento. O método foi aplicado à determinação de manganês em farinhas de arroz, láctea e de milho. Este trabalho faz parte de um projeto PRONEX, financiado pelo CNPq/FAPESB e intitulado “Núcleo de pesquisas em Química Analítica da Bahia: Química e qualidade em alimentos”.

**PALAVRAS-CHAVE:** manganês, cobalto, Br-TAO, microextração dispersiva líquido-líquido, extração no ponto nuvem, injeção sequencial

## ABSTRACT

In this paper, it is proposed the synthesis of a new reagent derivative of thiazole, 5-bromothiazolylazo-2-orcinol (Br-TAO) and its application in systems for preconcentration of metals. The reagent was synthesized by diazotization and coupling reactions. Then the solid product was purified by recrystallization with ethanol and characterized. The reagent Br-TAO was employed in a preconcentration procedure for cobalt using microdispersive liquid-liquid extraction and determination by flame atomic absorption spectrometry (FAAS). The enrichment factor and the limit of detection were 16 and  $0.9 \mu\text{g L}^{-1}$ , respectively. The accuracy was tested by analysis of certified reference material NIST 1570a, Spinach Leaves. The procedure was applied to the determination of cobalt in water from Rio de Contas, located in Jequié-BA. Another procedure employed the reagent Br-TAO in an on-line system with sequential injection and cloud point extraction for preconcentration and determination of manganese by FAAS. The procedure is based on the cloud point extraction of manganese in the sequential injection system and retention in a minicolumn, with subsequent elution and detection. Chemical and flow variables that affect the system were optimized and some specific analytical and some analytical parameters were determined, such as analytical frequency ( $48 \text{ h}^{-1}$ ), enrichment factor (14), rate of consumption (0.20 mL) and the limit of detection ( $0.5 \mu\text{g L}^{-1}$ ). The certified reference materials NIST 1568a, Rice Flour and NIST 1573a, tomato leaves were used to test the accuracy of the procedure. The method was applied to the determination of manganese in rice flour, milk and corn. This work is part of a PRONEX project, funded by CNPq / FAPESB entitled "Center for Research in Analytical Chemistry of Bahia: Chemistry and quality food."

KEYWORDS: manganese, cobalt, Br-TAO, dispersive liquid-liquid microextraction, cloud point extraction, sequential injection

---

---

## SUMÁRIO

	Página
<b>AGRADECIMENTOS.....</b>	<b>02</b>
<b>RESUMO.....</b>	<b>03</b>
<b>ABSTRACT.....</b>	<b>04</b>
<b>SUMÁRIO.....</b>	<b>05</b>
<b>LISTA DE FIGURAS.....</b>	<b>09</b>
<b>LISTA DE TABELAS.....</b>	<b>11</b>
<b>INTRODUÇÃO.....</b>	<b>13</b>
<b>OBJETIVOS.....</b>	<b>14</b>
<b>Capítulo 1. Reagentes tiazolilazo e sua aplicação em Química</b>	
<b>Análítica.....</b>	<b>15</b>
1.1. Reagentes tiazolilazo.....	16
1.2. Aplicação dos reagentes tiazolilazo em procedimentos analíticos.....	20
1.2.1. Espectrofotometria.....	20
1.2.2. Extração líquido-líquido.....	22
1.2.3. Extração em fase sólida.....	23
1.2.1.1. Procedimentos em batelada.....	24
1.2.1.2. Procedimentos em linha.....	30
1.2.4. Cromatografia.....	35
<b>Capítulo 2. Microextração dispersiva líquido-líquido e extração no ponto-nuvem.....</b>	<b>37</b>
2.1. Microextração dispersiva líquido-líquido.....	38
2.2. Aplicação da DLLME na determinação de metais .....	38
2.3. Extração no ponto nuvem.....	43
2.3.1. Aplicações.....	45

<b>Capítulo 3. Determinação de metais em alimentos.....</b>	<b>50</b>
3.1. Determinação de metais em alimentos.....	51
3.2. Cobalto (Co).....	52
3.3. Manganês (Mn).....	53
3.4. Determinação de Co e Mn em alimentos utilizando técnicas espectrométricas.....	54
<b>Capítulo 4. Parte Experimental.....</b>	<b>60</b>
4.1. Equipamentos e materiais.....	61
4.2. Soluções.....	62
4.3. Procedimentos.....	63
4.3.1. Síntese do reagente Br-TAO.....	65
4.3.2. Coleta e preparo das amostras.....	65
4.3.3. Procedimento para microextração líquido-líquido dispersiva.....	65
4.3.4. Procedimento para extração no ponto nuvem em linha...	66
<b>Capítulo 5. Resultados e Discussão.....</b>	<b>69</b>
5.1. Síntese do reagente Br-TAO.....	69
5.1.1 Reações envolvidas.....	69
5.1.1.1 Formação do cátion nitrosila.....	69
5.1.1.2 Reação de diazotação.....	69
5.1.1.3 Reação de acoplamento.....	71
5.1.2 Caracterização do reagente Br-TAO.....	72
5.1.2.1 Ponto de fusão.....	72
5.1.2.2 Solubilidade.....	72
5.1.2.3 Espectro na região do infravermelho.....	72
5.1.2.4 Espectros de absorção na região do visível.....	74
5.2. Aplicação da micro-extração dispersiva líquido-líquido utilizando Br-TAO na determinação de cobalto.....	75
5.2.1. Princípio do método.....	75
5.2.2. Condições iniciais.....	75
5.2.3. Ordem de adição dos reagentes.....	75

5.2.4. Método de introdução da solução extratora na solução do metal.....	78
5.2.5. Método de introdução da fase enriquecida no equipamento de detecção.....	79
5.2.6. Efeito do tipo de solvente dispersivo.....	81
5.2.7. Efeito da quantidade de solvente dispersivo.....	81
5.2.8. Efeito do tipo de solvente extrator.....	82
5.2.9. Efeito da quantidade de solvente extrator.....	83
5.2.10. Efeito do pH.....	84
5.2.11. Efeito da concentração da solução de Br-TAO.....	85
5.2.12. Efeito do tempo da micro-extração.....	86
5.2.13. Efeito do tempo de centrifugação.....	87
5.2.14. Condições otimizadas.....	88
5.2.15. Estudo da seletividade.....	89
5.2.16. Parâmetros analíticos.....	90
5.2.17. Aplicação.....	91
5.3. Sistema em linha com injeção seqüencial e extração no ponto-nuvem para pré-concentração de manganês utilizando Br-TAO.....	93
5.3.1. Princípio do método.....	93
5.3.2. Condições iniciais.....	93
5.3.3. Efeito do pH.....	96
5.3.4. Efeito da concentração da solução de Br-TAO.....	97
5.3.5. Efeito da concentração de surfactante.....	98
5.3.6. Tipo de eluente.....	99
5.3.7. Concentração do eluente.....	100
5.3.8. Efeito de eletrólitos.....	101
5.3.9. Efeito da vazão de enriquecimento.....	102
5.3.10. Efeito da vazão do eluente.....	103
5.3.11. Efeito da temperatura de ponto nuvem.....	104
5.3.12. Efeito do tempo da mistura.....	105
5.3.13. Efeito da massa e do tipo de material filtrante.....	107
5.3.14. Condições otimizadas.....	108
5.3.15. Estudo da seletividade.....	109

5.3.16. Características analíticas.....	110
5.3.17. Aplicação.....	111
<b>Capítulo 6. Conclusões e perspectivas.....</b>	<b>114</b>
6.1 Conclusões.....	115
6.2 Perspectivas.....	116
<b>Capítulo 7. Referências Bibliográficas.....</b>	<b>118</b>
7.1. Referências Bibliográficas.....	118



**LISTA DE FIGURAS**

<b>FIGURA</b>	<b>PÁGINA</b>
<b>Figura 1.</b> Estrutura molecular do (I) 1-(2-tiazolilazo)-2-naftol (TAN), (II) 4-(2-tiazolilazo)resorcinol (TAR) e (III) 2-2-tiazolilazo)-p-cresol (TAC)	17
<b>Figura 2.</b> Efeito da acidez ou alcalinidade no equilíbrio do íon diazônio	18
<b>Figura 3.</b> Equilíbrio em solução aquosa de fenol envolvido em reação de acoplamento na síntese de reagentes tiazolilazo e benzotiazolilazo	19
<b>Figura 4.</b> Pontos de complexação em reagente tiazolilazo	19
<b>Figura 5.</b> Esquema geral de procedimento para microextração dispersiva líquido-líquido	39
<b>Figura 6.</b> Equilíbrio entre monômeros e micelas	44
<b>Figura 7.</b> Configuração do sistema utilizando extração em ponto-nuvem em linha para determinação de vanádio	46
<b>Figura 8.</b> Configuração do sistema utilizando extração em ponto-nuvem em linha para determinação de disprósio e ferro em urina	48
<b>Figura 9.</b> Diagrama esquemático do sistema em linha com extração no ponto-nuvem e injeção seqüencial para determinação de manganês	67
<b>Figura 10.</b> Formação do cátion nitrosila	70
<b>Figura 11.</b> Mecanismo de diazotação de 2-amino-5-bromotiazol	71
<b>Figura 12.</b> Reação de acoplamento do sal diazônio com orcinol	71
<b>Figura 13.</b> Espectro no infravermelho do 5-bromotiazolilazo-2-orsinol	73
<b>Figura 14.</b> Estrutura do reagente 5-bromotiazolilazo-2-orsinol	73
<b>Figura 15.</b> Espectros de absorção do reagente Br-TAO, na região do visível, em soluções a diferentes valores de pH	74
<b>Figura 16.</b> Sistema para injeção da fase enriquecida no espectrômetro de absorção atômica com chama	80
<b>Figura 17.</b> Influência do tipo de solvente dispersivo na micro-extração dispersiva líquido-líquido de cobalto utilizando Br-TAO	81
<b>Figura 18.</b> Influência da quantidade de solvente extrator na micro-extração dispersiva líquido-líquido de cobalto utilizando Br-TAO	83
<b>Figura 19.</b> Influência do pH na micro-extração dispersiva líquido-líquido de cobalto utilizando Br-TAO	84
<b>Figura 20.</b> Influência da concentração do reagente complexante na micro-extração dispersiva líquido-líquido de cobalto utilizando Br-TAO	85

<b>Figura 21.</b> Influência do tempo na micro-extração dispersiva líquido-líquido de cobalto utilizando Br-TAO	86
<b>Figura 22.</b> Influência do tempo de centrifugação na micro-extração dispersiva líquido-líquido de cobalto utilizando Br-TAO	87
<b>Figura 23.</b> Curva analítica relativa à determinação de cobalto após a micro-extração dispersiva líquido-líquido utilizando Br-TAO	90
<b>Figura 24.</b> Curva analítica relativa à determinação direta de cobalto utilizando espectrometria de absorção atômica com chama	91
<b>Figura 25.</b> Influência do pH no sistema em linha com injeção seqüencial e extração no ponto-nuvem para pré-concentração de manganês utilizando Br-TAO	96
<b>Figura 26.</b> Influência da concentração do reagente no sistema em linha com injeção seqüencial e extração no ponto-nuvem para pré-concentração de manganês utilizando Br-TAO	97
<b>Figura 27.</b> Influência da concentração do surfactante Triton X-114 no sistema em linha com injeção seqüencial e extração no ponto-nuvem para pré-concentração de manganês utilizando Br-TAO	98
<b>Figura 28.</b> Influência da concentração do eluente no sistema em linha com injeção seqüencial e extração no ponto-nuvem para pré-concentração de manganês utilizando Br-TAO	100
<b>Figura 29.</b> Influência da vazão de enriquecimento no sistema em linha com injeção seqüencial e extração no ponto-nuvem para pré-concentração de manganês utilizando Br-TAO	102
<b>Figura 30.</b> Influência da vazão do eluente no sistema em linha com injeção seqüencial e extração no ponto-nuvem para pré-concentração de manganês utilizando Br-TAO	103
<b>Figura 31.</b> Influência da temperatura no sistema em linha com injeção seqüencial e extração no ponto-nuvem para pré-concentração de manganês utilizando Br-TAO	104
<b>Figura 32.</b> Influência do tempo no sistema em linha com injeção seqüencial e extração no ponto-nuvem para pré-concentração de manganês utilizando Br-TAO	105
<b>Figura 33.</b> Influência da massa de algodão na minicoluna do sistema em linha com injeção seqüencial e extração no ponto-nuvem para pré-concentração de manganês utilizando Br-TAO	107
<b>Figura 34.</b> Curva analítica relativa ao sistema em linha com injeção seqüencial e extração no ponto-nuvem para pré-concentração de manganês utilizando Br-TAO	110
<b>Figura 35.</b> Curva analítica relativa à determinação direta de manganês utilizando espectrometria de absorção atômica com chama	111

**LISTA DE TABELAS**

<b>TABELA</b>	<b>PÁGINA</b>
<b>Tabela 1.</b> Métodos de pré-concentração em batelada utilizando extração em fase sólida com reagentes tiazolilazo	27
<b>Tabela 2.</b> Métodos de pré-concentração em linha utilizando extração em fase sólida com reagentes tiazolilazo	32
<b>Tabela 3.</b> Características de alguns procedimentos de micro-extração dispersiva líquido-líquido	42
<b>Tabela 4.</b> Classes de surfactantes	43
<b>Tabela 5.</b> Métodos de pré-concentração em linha utilizando extração no ponto-nuvem com o reagente Br-PADAP	49
<b>Tabela 6.</b> Quantidades diárias de manganês (mg dia <sup>-1</sup> ) recomendadas	54
<b>Tabela 7.</b> Quantidade de manganês encontrada em diferentes alimentos, segundo dados do projeto TACO	55
<b>Tabela 8.</b> Procedimentos para a determinação de manganês e cobalto em amostras de alimentos	58
<b>Tabela 9.</b> Parâmetros operacionais do espectrômetro de absorção atômica com chama	61
<b>Tabela 10.</b> Etapas de um ciclo completo para a determinação de manganês por injeção seqüencial	68
<b>Tabela 11.</b> Condições experimentais iniciais utilizadas na micro-extração dispersiva líquido-líquido utilizando Br-TAO na determinação de cobalto	76
<b>Tabela 12.</b> Influência da ordem de adição dos reagentes na micro-extração dispersiva líquido-líquido de cobalto utilizando Br-TAO	77
<b>Tabela 13.</b> Influência do método de introdução da fase enriquecida no equipamento de detecção	79
<b>Tabela 14.</b> Influência da quantidade de solvente dispersivo e solvente extrator utilizadas na micro-extração dispersiva líquido-líquido de cobalto utilizando Br-TAO	82
<b>Tabela 15.</b> Condições experimentais otimizadas utilizadas na micro-extração dispersiva líquido-líquido utilizando Br-TAO na determinação de cobalto	88
<b>Tabela 16.</b> Quantidades máximas toleráveis de outras espécies na micro-extração dispersiva líquido-líquido utilizando Br-TAO na determinação de cobalto	89
<b>Tabela 17.</b> Parâmetros analíticos relativos à determinação de cobalto após a micro-extração dispersiva líquido-líquido utilizando Br-TAO	92

<b>Tabela 18.</b> Resultados da determinação de cobalto em águas após a micro-extração dispersiva líquido-líquido utilizando Br-TAO	93
<b>Tabela 19.</b> Condições experimentais iniciais utilizadas na micro-extração dispersiva líquido-líquido utilizando Br-TAO na determinação de cobalto	95
<b>Tabela 20.</b> Influência do tipo de eluente no sistema em linha com injeção seqüencial e extração no ponto-nuvem para pré-concentração de manganês utilizando Br-TAO	99
<b>Tabela 21.</b> Influência de eletrólitos no sistema em linha com injeção seqüencial e extração no ponto-nuvem para pré-concentração de manganês utilizando Br-TAO	101
<b>Tabela 22.</b> Influência do material filtrante no sistema em linha com injeção seqüencial e extração no ponto-nuvem para pré-concentração de manganês utilizando Br-TAO	106
<b>Tabela 23.</b> Condições experimentais otimizadas utilizadas no sistema em linha com injeção seqüencial e extração no ponto-nuvem para pré-concentração de manganês utilizando Br-TAO	108
<b>Tabela 24.</b> Quantidades máximas toleráveis de outras espécies no sistema em linha com injeção seqüencial e extração no ponto-nuvem para pré-concentração de manganês utilizando Br-TAO	109
<b>Tabela 25.</b> Parâmetros analíticos relativos ao sistema em linha com injeção seqüencial e extração no ponto-nuvem para pré-concentração de manganês utilizando Br-TAO	112
<b>Tabela 26.</b> Resultados da determinação de manganês em alimentos após aplicação do sistema em linha com injeção seqüencial e extração no ponto-nuvem utilizando Br-TAO	113

## INTRODUÇÃO

Alguns elementos-traço, como Co e Mn, são essenciais ao homem, cuja necessidade diária não passa de poucos miligramas. Entretanto, se ingeridos em doses elevadas, estes elementos podem ser nocivos à saúde humana. Desta forma, a composição elementar é uma informação fundamental para assegurar a qualidade dos alimentos. Também, o teor desses elementos em águas, sedimentos, plantas e animais, entre outras amostras, pode fornecer informações importantes sobre níveis de contaminação no meio ambiente.

A quantificação de espécies metálicas como cobalto e manganês em diversas matrizes, tem sido realizada por diferentes técnicas, incluindo, espectrofotometria, eletroquímica, espectrometria de absorção atômica (AAS), espectrometria de emissão óptica com plasma indutivamente acoplado (ICP OES), espectrometria de massas (ICP-MS), entre outras. No entanto, algumas destas técnicas não apresentam sensibilidade ou seletividade adequada para algumas determinações. Nestes casos, um método de separação ou pré-concentração pode ser bastante adequado para a resolução destes problemas [1].

Técnicas como extração líquido-líquido (LLE), extração em fase sólida (SPE), microextração em fase Líquida (SPME), extração no ponto nuvem (EPN) são amplamente utilizadas na separação e pré-concentração de elementos traço. A micro-extração líquido-líquido dispersiva consiste em um sistema ternário de solventes. Esta técnica tem sido muito usada em procedimentos de pré-concentração devido às vantagens obtidas, como simplicidade, rapidez, e pequenas quantidades de amostra e solventes orgânicos requeridos. O processo denominado extração no ponto nuvem (EPN) é baseado na separação de duas fases isotrópicas, geradas a partir de sistemas micelares. Este fenômeno pode ser aplicado para extração e/ou pré-concentração de espécies inorgânicas, orgânicas e biomoléculas [1, 2]. Compostos tiazolilazo têm sido bastante empregados em procedimentos de extração de metais, pois formam complexos metálicos de baixa solubilidade em soluções aquosas, mas com maior solubilidade em sistemas orgânicos

## **OBJETIVO GERAL**

Sintetizar o reagente Br-TAO e aplicá-lo em procedimentos de pré-concentração com micro-extração líquido-líquido dispersiva e extração no ponto nuvem para determinação de metais.

## **OBJETIVOS ESPECÍFICOS**

Sintetizar, purificar e caracterizar o reagente Br-TAO e verificar as suas potencialidades na complexação de metais;

Desenvolver um sistema em linha de extração no ponto-nuvem para determinação de manganês, utilizando o reagente Br-TAO

Aplicar o reagente Br-TAO em um sistema para pré-concentração de cobalto, empregando a micro-extração dispersiva líquido-líquido

## **Capítulo 1**

# **Reagentes tiazolilazo e sua aplicação em Química Analítica**

---

### 1.1. Reagentes tiazolilazo e sua síntese

Os corantes azo representam o maior e mais importantes grupo de corantes sintéticos. Essas substâncias possuem a estrutura básica  $\text{Ar-N=N-Ar}^1$ , onde Ar e  $\text{Ar}^1$  designam grupos aromáticos quaisquer. A unidade contendo a ligação  $\text{-N=N-}$  é chamada de grupo azo, um forte grupo cromóforo que confere cor brilhante a estes compostos. Na formação da ligação azo, muitas combinações de  $\text{ArNH}_2$  e  $\text{Ar}^1\text{NH}_2$  (ou  $\text{Ar}^1\text{OH}$ ) podem ser utilizadas. Estas possíveis combinações fornecem uma variedade de cores, como amarelo, laranja, vermelho, marrom e azul. Entre esses corantes, um grupo se destaca, os compostos tiazolilazo. Estas substâncias são derivadas do 2-aminotiazol.

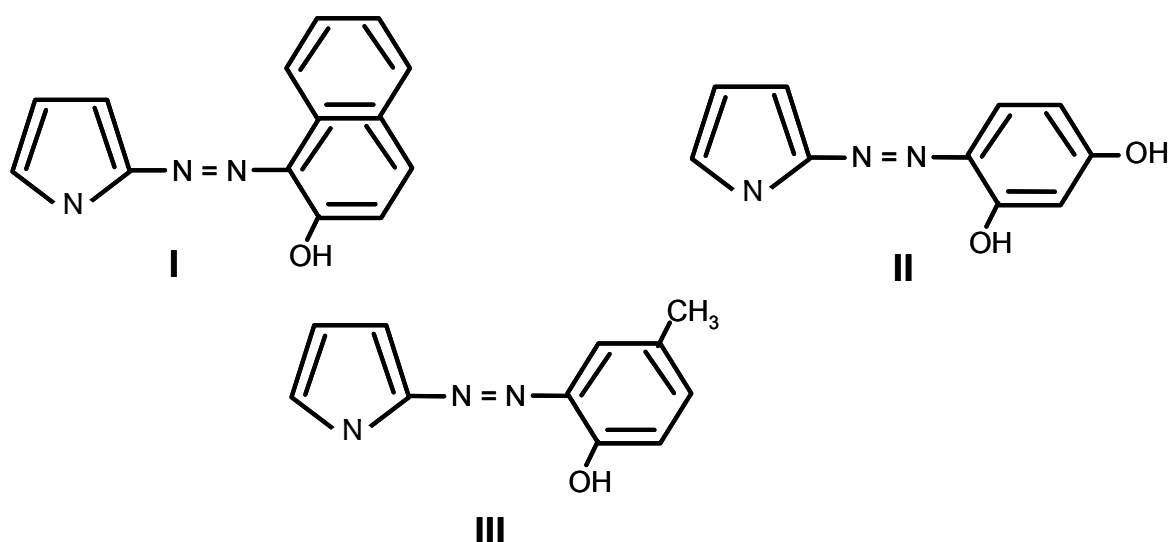
As principais aplicações dos compostos tiazolilazo em Química Analítica incluem métodos espectrofotométricos, extração em fase sólida, cromatografia líquida, eletroquímica, extração no ponto nuvem, entre outros. Estes compostos têm sido bastante empregados em procedimentos de extração, uma vez que formam complexos metálicos de baixa solubilidade em soluções aquosas, mas com maior solubilidade em sistemas orgânicos [3]. A aplicação dos corantes tiazolilazo em espectrofotometria se baseia na coloração dos quelatos formados entre estes reagentes e a maioria dos metais, especialmente alguns metais de transição.

Os corantes tiazolilazo são preparados a partir da diazotação do 2-aminotiazol e seus derivados, e posterior acoplamento com grupos fenólicos ou outras substâncias aromáticas. A diazotação ocorre em soluções fortemente ácidas a baixas temperaturas, devido á elevada reatividade do intermediário diazotado. Entre estes compostos, o 1-(2-tiazolilazo)-2-naftol (TAN), 2-(2-tiazolilazo)-p-cresol (TAC) e 4-(2-tiazolilazo)resorcinol (TAR) são os reagentes mais utilizados. As estruturas químicas desses reagentes são mostradas na Figura 1.

No grupo dos reagentes azo, existem ainda os compostos piridilazo, derivados da 2-aminopiridina. O preparo destes reagentes não é tão simples quanto o de seus análogos derivados do 2-aminotiazol. A síntese dos reagentes piridilazo envolve o acoplamento do piridildiazotato com uma substância fenólica em atmosfera de dióxido de carbono. Este acoplamento é geralmente realizado com alguma dificuldade [4].



Ao contrário do que acontece com os reagentes piridilazo, o preparo dos derivados do 2-aminotiazol não requer qualquer condição especial para a diazotação. Desta forma, um grande número de corantes tiazolilazo têm sido preparados a partir de vários fenóis, naftóis e outras substâncias não-fenólicas. As mesmas considerações são feitas em relação aos derivados do 2-aminobenzotiazol [5,6].



**Figura 1.** Estrutura molecular do (I) 1-(2-tiazolilazo)-2-naftol (TAN), (II) 4-(2-tiazolilazo)resorcinol (TAR) e (III) 2-(2-tiazolilazo)-p-cresol (TAC)

Vários autores têm descrito a síntese de reagentes tiazolilazo e benzotiazolilazo, baseada na reação do 2-aminotiazol ou seus derivados em soluções concentradas de ácido clorídrico, fosfórico, sulfúrico ou acético [6, 7, 8]. O diazotato formado é tão reativo que o meio deve ser mantido a baixa temperatura (0 a 5°C) [9]. Ainda, a instabilidade do sal de diazônio formado requer que esta substância seja imediatamente acoplada com outro composto aromático. Há, então, a formação imediata de um corante colorido. Na reação de acoplamento, o reagente eletrófilo é o íon diazônio. Quando o íon hidróxido encontra-se presente, o íon diazônio encontra-se em equilíbrio com um composto não-ionizado, o diazo-hidróxido, e com sais, diazoatos, dele derivados. Assim, o íon hidróxido tende a transformar o íon diazônio, que dá reação de acoplamento, em compostos que não dão essa reação.

Em relação ao reagente eletrófilo, a reação de acoplamento é favorecida por baixa concentração do íon hidróxido, ou seja, por alta concentração hidrogeniônica, daí a necessidade do ácido na etapa inicial da reação. Na Figura 2 é mostrado o efeito da acidez do meio no equilíbrio do íon diazônio [9].



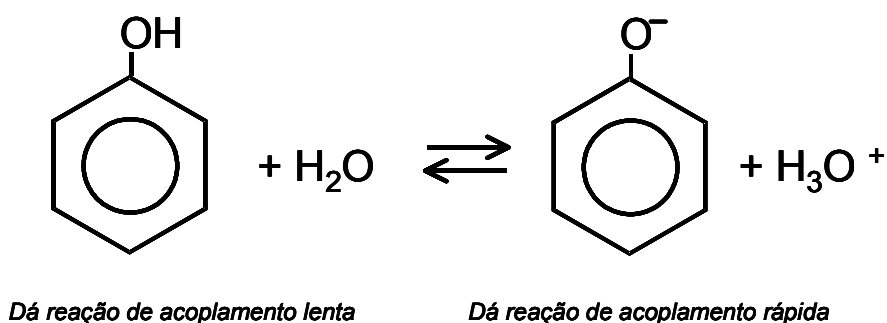
**Figura 2.** Efeito da acidez ou alcalinidade no equilíbrio do íon diazônio.

O anel aromático para ser atacado pelo íon diazônio deve possuir, em geral, um grupo com forte tendência a ceder elétrons, como  $-\text{OH}$ . O fato de a reação ser ativada por grupos doadores de elétrons, assim como estudos da respectiva cinética, indica que a reação de acoplamento é uma reação de substituição aromática eletrófila na qual o íon diazônio é o reagente atacante [9]. Experimentalmente, verifica-se que para a reação de acoplamento ocorrer convenientemente, exige-se mais do que simplesmente misturar o sal de diazônio com o fenol. Se condições desfavoráveis fizerem com que a reação de acoplamento se dê apenas lentamente, pode acontecer que outras reações, como a reação do sal de diazônio com a água, que origina um outro fenol, seja a reação principal. Além disso, esse outro fenol indesejavelmente formado, pode, ele próprio, participar da reação de acoplamento, originando produtos que podem contaminar o corante sintetizado.

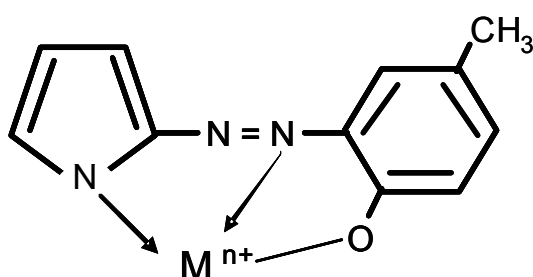
Dessa maneira, é extremamente importante ajustar o meio em que se dá a reação de acoplamento ao grau mais favorável de acidez ou alcalinidade. Os fenóis são relativamente ácidos em solução aquosa, e existem em equilíbrio com o respectivo íon fenóxido, de acordo com a Figura 3. Devido à carga negativa completa que possui, o  $-\text{O}^-$  tende a ceder elétrons muito mais fortemente do que o  $-\text{OH}^-$ ; o íon fenóxido é, conseqüentemente, muito mais reativo que o fenol não-ionizado, na substituição aromática eletrófila.

Quanto maior for a concentração de  $\text{H}_3\text{O}^+$ , mais alta será a proporção do fenol não-ionizado, e menor será a velocidade da reação de acoplamento. Assim, a reação de acoplamento é favorecida por concentração hidrogeniônica baixa. Isso justifica a necessidade da mistura contendo o fenol ser preparada em solução básica. Geralmente, é utilizado hidróxido ou carbonato de sódio.

Muitos corantes do tipo tiazolilazo atuam como ligantes tridentados, formando complexos com vários cátions metálicos, por meio do grupo orto-hidroxila, do nitrogênio azo mais próximo do anel fenólico e do átomo de nitrogênio heterocíclico. Na Figura 4 são representadas algumas estruturas indicando os possíveis pontos de complexação.



**Figura 3.** Equilíbrio em solução aquosa de fenol envolvido em reação de acoplamento na síntese de reagentes tiazolilazo e benzotiazolilazo.



**Figura 4.** Pontos de complexação em reagente tiazolilazo.

## 1.2. Aplicação dos reagentes tiazolilazo em procedimentos analíticos

### 1.2.1. Espectrofotometria

Os reagentes tiazolilazo são muito atrativos para uso em determinações espectrofotométricas de metais, devido às suas excelentes propriedades como ligantes. Os compostos mais frequentemente usados como reagentes cromogênicos são 1-(2-tiazolilazo)-2-naftol (TAN), 2-(2-tiazolilazo)-p-cresol (TAC) e 4-(2-tiazolilazo)resorcinol (TAR). A síntese destes reagentes foi descrita pela primeira vez em um artigo publicado no início dos anos 60 [10]. A partir de então, diversos derivados do 2-aminotiazol foram sintetizados e utilizados em procedimentos para determinação espectrofotométrica de metais [6, 11 - 14]. Em meados da década de 90, houve um incremento no número de trabalhos utilizando compostos tiazolilazo em sistemas de separação. Paralelamente, a utilização destes compostos em sistemas para determinação espectrofotométrica diminuiu, provavelmente devido à competição com técnicas mais modernas.

Um novo reagente denominado 3 - (2-tiazolilazo) -2,6-diaminopiridina, (2,6-TADAP) foi aplicado à determinação de paládio e platina em misturas sintéticas utilizando a espectrofotometria molecular derivativa [15]. O reagente 2-(2'-tiazolilazo)-p-cresol (TAC), em presença de brometo de N-cetil-N,N,N-trimetilamônio (CTAB) e Triton X-100 foi utilizado para a determinação de urânio em águas [16]. Este corante tiazolilazo também foi utilizado em um método espectrofotométrico para a determinação de vanádio em presença de ácido ascórbico [17]. Em um método para o estudo da complexação entre cobre, zinco e cádmio com um éter de coroa em meio metanólico, o composto 4-(2-tiazolilazo)resorcinol (TAR) foi empregado como reagente colorimétrico [18].

Um método simples, seletivo e rápido para determinação de vanádio foi desenvolvido, baseado na formação e extração dos complexos íon-associados entre o vanádio, o TAR e os cátions de alguns sais mono e ditetrazol [19].

A determinação simultânea de ferro e níquel em aço e ligas de alumínio foi realizada após complexação com o ácido 4 - (2'-benzotiazolilazo)salicílico (BTAS) e medida por espectrofotometria molecular derivativa [20].

Um reagente derivado do triazeno, benzotiazolildiazoaminoazobenzeno (BTDA), foi sintetizado pela primeira vez para a determinação espectrofotométrica de níquel em ligas de alumínio [21] e tensoativos catiônicos em águas residuais industriais [22]. Um método espectrofotométrico para a determinação do íon uranila ( $\text{UO}_2^{2+}$ ) em amostras geológicas foi desenvolvido com base na reação de complexação seletiva de íons uranila com 2-(2'-benzotiazolilazo) fenol, 2-(2'-benzotiazolilazo)-4-metoxifenol, e 2-(2'-benzotiazolilazo)-3-hidroxifenol em presença do lauril sulfato de sódio [23].

Quatro novos reagentes tiazolilazo, 8-[2-benzotiazolilazo]-1,4-naftalenodiol, 8 - [2-benzotiazolilazo] -1,5-naftalenodiol, 8 - [2-benzotiazolilazo] -1,6-naftalenodiol e 1--[2-benzotiazolilazo] -2,3-naftalenodiol foram sintetizados, e as suas reações cromogênicas com níquel em dodecilsulfato de sódio (SDS) foram estudadas [24]. Estas reações foram utilizadas para a determinação de níquel em amostras de folhas de chá, pimenta e água natural.

O teor de níquel em diferentes amostras biológicas também foi determinado espectrofotometricamente, utilizando três novos compostos azo heterocíclicos: 5 - (2-benzotiazolilazo) -2,2-biphenyldiol, 5 - (2-benzotiazolilazo)-8-hidroxiquinolina e 4 - (2-benzotiazolilazo) -3-hidroxi-2-naftóico [25]. O composto 5 - (2-benzotiazolilazo)-8-hidroxiquinolina foi novamente utilizado juntamente com três compostos análogos, 1 - (2-benzotiazolilazo)-2-hidroxi-3-naftóico, 5 - (benzotiazolilazo) -2,5-naftalenodiol e 4 - (2 - benzotiazolilazo) -2,2-biphenildiol na determinação espectrofotométrica de nióbio em minérios [26] e molibdênio em urina [27]. Todos estes compostos, exceto 4 - (2 - benzotiazolilazo) -2,2-biphenildiol, também foram aplicados na determinação espectrofotométrica de paládio ou de ácido tartárico na presença de nióbio [28].

O ácido 2-(2'-tiazolilazo)-5-dimetilaminobenzóico (TAMB) foi aplicado à determinação espectrofotométrica indireta de ácidos nucleicos. Os ácidos nucleicos e o complexo formado pelo paládio (II) com TAMB interagem rapidamente à temperatura ambiente para formar um novo complexo supermolecular, diminuindo a absorvância a 621 e 675 nm [29]. O reagente TAMB também foi utilizado em um método desenvolvido para a determinação simultânea de quantidades traço de paládio e níquel em meio aquoso e metanólico por espectrofotometria molecular derivativa [30].

Ródio (III) foi determinado por espectrofotometria molecular derivativa utilizando TAMB como o agente complexante em um meio de Triton X-100 [31]. Um derivado do TAMB, 5-Me-BTAMB, foi sintetizado e sua reação cromogênica com o níquel foi estudada em detalhes [32]. Outros reagentes cromogênicos do tipo benzóico, como o ácido 2-[2-(6-metil-benzotiazolilazo)-5-(N-metil-N-sulfometil)aminobenzóico (6-Me-BTAMSB), o ácido 2-[2-(6-metilbenzotiazolilazo)-5-(N-etil-N-sulfometil)aminobenzóico (6-Me-BTAESB), e o ácido 2-[2-(6-metilbenzotiazolilazo)-5-(N-etil-N-carboxilmetil)aminobenzóico (6-Me-BTAECB) foram sintetizados e aplicados a determinação espectrofotométrica de níquel em ligas de alumínio [33].

### **1.2.2. Extração líquido-líquido**

Extração líquido-líquido é um método bastante útil para pré-concentração e separação de metais. Normalmente, uma fase é aquosa e a outra é um solvente orgânico hidrofóbico. Uma seqüência de extrações com diferentes solventes pode ser usada para separar, com grande eficiência, misturas relativamente complexas. Muitas aplicações fotométricas de reagentes tiazolilazo são baseadas na extração líquido-líquido, pois os seus complexos metálicos têm grande solubilidade em certos solventes orgânicos, mas a sua solubilidade em solução aquosa é limitada [34]. Estas aplicações fotométricas incluem a extração do complexo com um solvente, como clorofórmio, 1-butanol, benzeno, metil isobutil cetona ou tetracloreto de carbono e posterior medição espectrofotométrica [6, 34]. Nestas aplicações, a extração é feita para reduzir a interferência, explorando fatores como pH da fase aquosa ou adição de agentes mascarantes.

Com o objetivo de aumentar a eficiência da extração, a adição de um eletrólito forte pode ser feita. Procedimentos de pré-concentração para a determinação de metais alcalinos em sais de grau analítico por ICP OES são baseados neste fato [35,36]. Os complexos formados entre os cátions ferro (II) e níquel (II) com o reagente TAC podem ser quantitativamente extraídos de soluções salinas utilizando-se álcool isoamílico, tetracloreto de carbono, clorofórmio, xileno, hexano, acetato de butila ou metil isobutil cetona. A determinação dos metais por ICP OES pode ser feita após uma nova extração

com solução de ácido clorídrico ou pela mineralização do resíduo da fase orgânica com ácido nítrico concentrado.

Relações entre parâmetros termodinâmicos caracterizando equilíbrio químico, como a constante do equilíbrio de dissociação do reagente TAN entre as fases orgânica (nitrobenzeno) e aquosa têm sido determinadas [37]. A partição dos reagentes TAN, TAR e derivados piridilazo em sistemas aquosos bifásicos formados pela mistura de quantidades iguais de polietilenoglicol a 40 % (v/v) e  $(\text{NH}_4)_2 \text{SO}_4$  3,5 mol L<sup>-1</sup> também tem sido investigada [38].

### **1.2.3. Extração em fase sólida**

A extração em fase sólida (EFS) envolve a partição entre duas fases, um líquido e um sorvente sólido. De uma maneira geral, o líquido é colocado em contato com um sorvente em um frasco ou em uma coluna. Extração em sistemas que utilizam frascos é realizada adicionando-se o sorvente à amostra em um recipiente, e promovendo-se a agitação. Sistemas com colunas envolvem a percolação da amostra através do sorvente empacotado. Neste caso, a amostra pode ser introduzida na coluna com o auxílio da gravidade ou de um sistema de bombeamento ou aspiração. O tempo de contato entre as fases, traduzido pelo tempo de agitação ou vazão da amostra, deve ser suficiente para permitir uma sorção significativa dos componentes de interesse. Por outro lado, este período não deve ser muito alto, para não prejudicar o tempo de análise. Nesta etapa, alguns componentes da matriz são concentrados no sorvente. Alguns destes componentes não são retidos, permitindo certa purificação ou separação da amostra.

Outra etapa da extração em fase sólida, que pode ser opcional, é a lavagem do sorvente utilizando-se um solvente apropriado, para eliminar componentes da matriz sorvidos na fase sólida, sem que o analito de interesse seja perdido. Esta etapa geralmente é adotada quando se utilizam colunas em batelada.

A etapa final da extração em fase sólida técnica consiste na eluição dos componentes de interesse por um solvente adequado, para posterior detecção dos componentes neste solvente. Alguns procedimentos já eliminam a etapa final, realizando a detecção no próprio sorvente. Este é o princípio da

Espectrofotometria em Fase Sólida [39]. Em outros procedimentos, há a introdução do suporte sólido em um sistema de detecção, como a ETAAS [40].

O mecanismo de retenção dos analitos dependerá da natureza do sorvente, podendo ser uma simples retenção, quelação ou troca iônica. Na adsorção, geralmente ocorre interação hidrofóbica ou ligações de Wan der Waals entre os elementos traço e a fase sólida. A interação hidrofóbica acontece quando o sorvente é altamente apolar, como a sílica C<sub>18</sub>, um sorvente muito utilizado em extração em fase sólida. A quelação consiste na complexação de átomos de grupos funcionais com elementos traços, átomos mais freqüentes nesse tipo de mecanismo são os nitrogênios presentes em aminas, grupos azo, amidas e nitrilas, o oxigênio, encontrado em grupos carboxílicos, hidroxilicos, fenólicos,éter, carbonil, fosforil, e o sulfúrico, presente em tiois, tiocarbamatos, tioéteres. A natureza do grupo funcional fornecerá uma idéia da seletividade do ligante para o elemento traço de interesse.

Reagentes tiazolilazo podem ser diretamente adicionados à amostra e os quelatos posteriormente retidos em um sorvente apropriado. Alternativamente, estes ligantes podem ser associados ao suporte, gerando um sorvente quelante. Esta introdução pode ser feita por meio de dois métodos:

- a) Sorventes impregnados: sorção do ligante no sorvente por impregnação da matriz sólida com uma solução contendo o quelante [40];
- b) Sorventes funcionalizados: incorporação química de grupos quelantes em sorventes já existentes [41].

Os sorventes impregnados são mais simples no preparo e utilização. No entanto, a principal desvantagem no uso destes materiais é a possibilidade de lixiviação do reagente quelante durante as etapas da extração, o que pode reduzir a vida útil do sorvente.

A combinação de suportes sólidos com reagentes tiazolilazo têm resultado em sorventes muito atrativos, permitindo o desenvolvimento de sistemas de pré-concentração versáteis. Diversos procedimentos de pré-concentração em linha e em batelada utilizando estes sorventes são descritos na literatura.



Os suportes mais usados em associação com compostos tiazolilazo em sistemas de separação e pré-concentração são o poliestireno divinil-benzeno [42], espuma de poliuretano [43], sílica [44] e naftaleno [45].

Poliestireno divinil-benzeno é um sorvente polimérico muito usado em sistemas de separação e pré-concentração. Esta substância é comercialmente disponível como a série de resinas Amberlite XAD [46, 47]. Estas resinas apresentam alta retenção de compostos polares, devido à sua superfície hidrofóbica, que contém um número relativamente grande de sítios ativos aromáticos que permitem interações  $\pi$ - $\pi$ . Resinas amberlite XAD são largamente usadas no desenvolvimento de vários sorventes quelantes, devido às suas propriedades físicas, como porosidade, alta área superficial, durabilidade e pureza [48, 49].

Espumas de poliuretano (EPU) têm sido bastante utilizadas em procedimentos de extração de uma grande variedade de compostos orgânicos e inorgânicos. Este é um material muito interessante para pré-concentração e separação devido ao baixo custo, elevada área superficial e estabilidade em meio ácido ou básico. EPU pode ser usada sem tratamento ou associada a reagentes quelantes em procedimentos de pré-concentração ou amostragem [50,40]. A aplicação de EPU a procedimentos em linha produz menor resistência à passagem de fluidos do que muitos materiais empregados com este propósito. Este suporte também é resistente a mudanças no pH, apesar de apresentar inchamento quando em presença de alguns solventes orgânicos concentrados, como etanol [51 - 54].

#### **1.2.3.1. Procedimentos em batelada**

Uma resina quelante contendo TAR como grupo funcional, denominada TAR-XVI, foi utilizada na recuperação quantitativa de urânio a partir de materiais geológicos [55]. A pré-concentração e determinação de traços de cobalto em amostras de foi realizada com o auxílio de uma coluna recheada com o sorvente Amberlite XAD-16 impregnado com TAR [56]. Duas novas resinas quelantes, contendo, respectivamente, TAM [57] e TAN [58] foram sintetizadas e seu comportamento de sorção foi investigado para dezenove íons metálicos.

TAN foi também associado à resina Amberlite XAD-2 para produzir um sorvente usado na determinação de cobre e zinco em água [59]. Em um método de extração em fase sólida para a determinação de urânio na água, este metal foi retido em uma coluna recheada com Amberlite XAD-4 impregnada com TAN [60]. Um procedimento analítico foi desenvolvido para a determinação de cobalto em matrizes salinas usando uma coluna contendo a resina Amberlite XAD-2 impregnada com TAC [61].

Reagentes tiazolilazo podem também ser diretamente adicionados à amostra para complexar elementos, e os quelatos podem ser posteriormente retidos em um sorvente adequado [62]. Cobre, níquel e ferro foram determinados em sais de amônio, utilizando um processo baseado na formação de quelatos com TAR. Os quelatos foram adsorvidos em uma coluna recheada com Amberlite XAD-IB [63]. Este reagente também foi utilizado para a formação de quelatos em um método de pré-concentração e de separação de traços de gálio em água [62].

EPU impregnada com reagentes tiazolilazo tem sido utilizada na sorção de muitas espécies de meio aquoso. O reagente TAC foi associado à EPU para a determinação de chumbo em amostras salinas por ETAAS [40]. A remoção de íons Hg (II) de soluções aquosas foi realizada com o auxílio de EPU impregnada com TAN [43]. Uma minicoluna rechada com PUF impregnada com o ácido 6 - [2'-(6'-metil-benzotiazolilazo)] -1,2-dihidroxi-3,5-benzenodisulfônico (Me-BDBD) foi utilizada para a determinação em linha e por batelada de cobre em alimentos [8].

Existem alguns procedimentos que descrevem a separação e pré-concentração de elementos-traço utilizando naftaleno microcristalino impregnado com reagentes tiazolilazo [45, 64]. Complexos de vários cátions podem ser quantitativamente retidos em naftaleno. A massa sólida pode facilmente ser dissolvida em um solvente orgânico adequado, como acetona ou dimetilformamida, e o metal é determinado por espectrofotometria. Alternativamente, os metais podem ser desorvidos com soluções de ácido e determinados por polarografia de pulso diferencial [65,66]. No entanto, a principal desvantagem no uso de naftaleno microcristalino são os efeitos tóxicos deste suporte. Alguns procedimentos em batelada utilizando suportes associados a reagentes tiazolilazo são apresentados na Tabela 1.

**Tabela 1.** Métodos de pré-concentração em batelada utilizando extração em fase sólida com reagentes tiazolilazo. TAM: 2-(2-tiazolilazo)-5-dimetilaminofenol; TAN: 1-(2-tiazolilazo)-2-naftol; TAC: 2-(2-tiazolilazo)-p-cresol; TAR: 4-(2-tiazolilazo)-resorcinol; Me-BDBD: ácido 6 - [2'-(6'-metil-benzotiazolilazo)] -1,2-dihidroxi-3 ,5-benzenodisulfônico; EF: Fator de enriquecimento; LD: Limite de detecção; ESP: espectrofotometria, FAAS: espectrometria de absorção atômica com chama; ETAAS: espectrometria de absorção atômica com atomização eletrotérmica; ICP OES: espectrometria de emissão ótica com plasma indutivamente acoplado; DPP: polarografia de pulso diferencial; NP: naftaleno; EPU: espuma de poliuretano; a: Co (II), Cr (III), Cu (II), Fe (III), Hf (IV), In (III), Mn (II), Mo (VI), Nb (V), Ni (II), Pb (II), Sn (IV), Ta (V), Th (IV), U (VI), V (V), W (VI), Zn (II)., Zr(IV).

Reagente	Imobilização	Suporte	Metal	LD ( $\mu\text{g L}^{-1}$ )	EF	Técnica de detecção	Referência
TAM	Sorção de complexo	Cartucho SEP PAK C18	Zn (II)	16,0	-----	ICP OES	[67]
		NP	Ir (IV)	-----	-----	ESP	[68]
	Funcionalização	Amberlite XAD-16	Vários <sup>a</sup>	-----	-----	ICP OES	[57]
TAC	Impregnação	Amberlite XAD – 2	Co (II)	12	-----	ICP OES	[61]
		EPU	Pb (II)	0,25	16	ETAAS	[40]
Me-BDBD	Impregnação	EPU	Cu (II)	1,40	26	FAAS	[8]

Tabela 1. Continuação

Reagente	Imobilização	Suporte	Metal	LD ( $\mu\text{g L}^{-1}$ )	EF	Técnica de detecção	Referência
TAN	Funcionalização	Amberlite XAD-16	Vários <sup>a</sup>	-----	-----	ICP OES	[42]
		Amberlite XAD 4	U (VI)	-----	-----	ESP	[60]
	Impregnação	Amberlite XAD - 2	Cu (II)	-----	80	FAAS	[59]
			Zn (II)	-----	80		
		EPU	Hg (II)	-----	-----	ESP	[43]
		Carvão ativado	Hg (II)	-----	-----	-----	[69]
		Sílica C-18	Ni (II)	-----	-----	ESP	[70]
	Zn (II)		-----	-----			
	Sorção de complexo	NP	Sc (III)	24,3	-----	ESP	[45]
			Zn (II)	9.5	100		[64]
			Bi (II)	55	-----	DPP	[65]
			Cu (II)	91	-----		
			Cd (II)	66	-----		
Pb (II)			60	-----	[66]		

Tabela 1. Continuação

Reagente	Imobilização	Suporte	Metal	LD ( $\mu\text{g L}^{-1}$ )	EF	Técnica de detecção	Referência
TAR	Sorção de complexo	Carvão ativado	Cd (II)	-----	-----	ETAAS	[71]
			Cu (II)				
			Pb (II)				
			Ni (II)				
	Funcionalização	Amberlite XAD-IB	Cu (II)	-----	-----	ETAAS	[63]
			Fe (II)				
			Ni (II)				
Impregnação	Amberlite XAD - 16	U (VI)	-----	-----	ICP-OES	[55]	
Impregnação	Amberlite XAD - 16	Co (II)	-----	-----	-----	[56]	

### 1.2.3.2. Procedimentos em linha

A resina Amberlite XAD-2 foi associada ao reagente 2-(2'-benzotiazolilazo)-p-cresol (BTAC) por dois processos para produzir sorventes utilizados na extração de chumbo. O polímero foi impregnado [72] ou funcionalizado [73] com BTAC, e a fase sólida resultante foi empregada como recheio de minicolunas em procedimentos em linha. O sorvente impregnado foi ainda utilizado em um sistema em linha para determinação de níquel em alimentos [74]. Uma minicoluna empacotada com a resina Amberlite XAD-2 impregnada com o reagente TAM foi utilizada em um procedimento para determinação de quantidades traço de cádmio com pré-concentração em linha [75]. Esse método apresenta vantagens como alta frequência analítica de amostras, baixo limite de detecção, alto fator de pré-concentração e simplicidade de operação. Outra resina da série, Amberlite XAD-16, foi impregnada com TAR e utilizada em um sistema de pré-concentração para determinação de cromo em soluções parenterais [76]. O mesmo sorvente foi ainda utilizado em um procedimento para especiação de cromo em amostras de água [77].

Devido às suas propriedades, como baixa resistência à passagem de fluidos e pouca extensão de inchamento, a espuma de poliuretano é um suporte muito adequado para uso em sistemas que utilizam colunas. A primeira utilização desta fase sólida foi em um sistema de extração em linha para determinação de zinco em materiais biológicos por espectrofotometria [52]. A EPU foi utilizada sem impregnação para coletar complexos de zinco com tiocianato. A determinação de cádmio [78], cobre [79] e chumbo [78], cobre e chumbo em diversas matrizes foi realizada com o emprego de sistemas de pré-concentração em linha que utilizam minicolunas recheadas com EPU impregnada com o ácido 2-(6'-metil-2'-benzotiazolilazo)cromotrópico (Me-BTANC). Outros procedimentos nos quais reagentes tiazolilazo são utilizados para aumentar a capacidade de sorção da EPU podem ser encontrados na literatura. Estes reagentes incluem TAM [80], Me-BTABr [81] e BTAC [82 - 84].

Em medidas por espectrofotometria em fase sólida (EFS), sílica impregnada com reagentes tiazolilazo foi depositada em uma cela de medida, para retenção de diversas espécies. A medida de absorvância é realizada diretamente na fase sólida [85].

Em um trabalho descrito na literatura é proposta a construção e adaptação de uma cela de fluxo simples e de baixo custo para medidas por EFS, que permite a utilização de maiores quantidades de material sem ocasionar excessivo aumento da impedância hidrodinâmica e do espalhamento de radiação. A reação de cobalto(II) com TAN imobilizado em sílica funcionalizada C<sub>18</sub> foi utilizada para demonstrar as características da cela de fluxo proposta [39]. O suporte sólido citado anteriormente foi também utilizado para determinação simultânea de Fe(II), Ni(II) e Zn(II), em misturas ternárias [85], ligas [86] e produtos farmacêuticos [87, 88] utilizando a EFS acoplada à análise em fluxo.

O reagente TAN foi imobilizado em uma minicoluna de sílica C18 empregada em sistema em linha para determinação espectrofotométrica de níquel [89]. O sistema utilizou 2-(5-bromo-2-piridilazo)-5-(dietilamino)-fenol (Br-PADAP) como reagente para formação de cor. A tolerância a interferentes em potencial foi aumentada pela adição de pirofosfato de sódio e pelo uso da própria minicoluna.

Uma substância denominada 2,2-bis-[3-(2-tiazolilazo)-4-4-hidroxifenilpropano] (TAPHP) foi imobilizada em sílica e o sorvente resultante foi empregado em um sistema em linha para determinação espectrofotométrica de paládio [90].

Vários outros sistemas em linha são descritos na literatura, envolvendo reagentes tiazolilazo em conjunto com diversos suportes sólidos, resultando em sorventes utilizados para a pré-concentração de metais. Um resumo destes procedimentos pode ser visto na Tabela 2.

**Tabela 2.** Métodos de pré-concentração em linha utilizando extração em fase sólida com reagentes tiazolilazo. TAM: 2-(2-tiazolilazo)-5-dimetilaminofenol; TAN: 1-(2-tiazolilazo)-2-naftol; TAC: 2-(2-tiazolilazo)-p-cresol; TAR: 4-(2-tiazolilazo)-resorcinol; Me-BTANC: ácido 2-(6-metil-2-benzotiazolilazo) cromotrópico; Me-BTABr: 2-[2'-(6-metil-benzotiazolilazo)]-4-bromofenol; BTAC: 2-(2'-benzotiazolilazo)-p-cresol; Me-BDBD: ácido 6 - [2'-(6'-metil-benzotiazolilazo)] -1,2-dihidroxi-3 ,5-benzenodisulfônico; EF: Fator de enriquecimento; LD: Limite de detecção; ESP: espectrofotometria, FAAS: espectrometria de absorção atômica com chama; EPU: espuma de poliuretano.

Reagente	Imobilização	Suporte	Metal	Técnica de detecção	LD ( $\mu\text{g L}^{-1}$ )	EF	Referência
TAN	Sorção de complexo	Sílica C-18	Zn (II)	FAAS	0,15	120	[91]
			Fe (III)				
	Impregnação	Sílica C-18	Ni (II)	ESP	-----	-----	[85]
			Zn (II)				
			Co (II)	ESP	-----	-----	[88]
			Ni (II)	ESP	-----	-----	[86]
			Zn (II)	ESP	10	-----	[87]



Tabela 2. Continuação

Reagente	Imobilização	Suporte	Metal	Técnica de detecção	LD ( $\mu\text{g L}^{-1}$ )	EF	Referência
BTAC	Impregnação	EPU	Cd (II)	FAAS	0,27	41	[82]
			Pb (II)		1,00	26	[83]
			Pb (II)		1,00	26	[84]
	Amberlite XAD-2	Ni (II)	FAAS	1,10	30	[74]	
		Pb (II)		3,7	27	[72]	
Funcionalização	Amberlite XAD-2	Pb (II)	FAAS	1,7	60	[73]	
TAC	Impregnação	EPU	Co (II)	FAAS	3,20	37	[92]
			Co (II)		2,40	51	[92]
		Amberlite XAD - 2	Co (II)	FAAS	0,13	87	[93]
TAM	Impregnação	Amberlite XAD - 2	Cd (II)	FAAS	1,2	108	[75]
		EPU	Pb (II)		2,20	45	[80]
Me-BTANC	Impregnação	EPU	Cd (II)	FAAS	0,80	37	[78]
			Pb (II)		3,75		
			Cu (II)	ESP	1,20	-----	[79]

**Tabela 2.** Continuação

Reagente	Imobilização	Suporte	Metal	Técnica de detecção	LD ( $\mu\text{g L}^{-1}$ )	EF	Referência
Me-BTABr	Impregnação	EPU	Zn (II)	FAAS	0,37	23	[81]
		Amberlite XAD-16	Cr (III)	FAAS	0,02	50	[76]
TAR	Impregnação	Amberlite XAD - 16	Cr (III) and Cr (VI)	FAAS	0,02	250	[77]
Me-BDBD	Impregnação	EPU	Cu (II)	ESP	3,40	7	[8]

#### 1.2.4. Cromatografia

Cromatografia líquida de alto desempenho (CLAE) é uma técnica largamente usada devido à sua excelente seletividade, alta resolução e boa sensibilidade. HPLC também tem sido empregada na análise quantitativa de compostos inorgânicos, pois é uma técnica rápida, sensível e seletiva para a separação de íons metálicos [94,95]. Esta técnica geralmente envolve a formação de complexos de metais com um reagente derivatizante. Compostos tiazolilazo tem sido usados em HPLC como agentes quelantes devido à relativa seletividade e estabilidade dos complexos formados. O uso destes reagentes em derivatização pré-coluna em HPLC é muito atrativo, pois combina a alta sensibilidade dos reagentes espectrofotométricos com a seletividade da HPLC, resultando em métodos altamente sensíveis e seletivos para a determinação de íons metálicos [96]. No entanto, a maioria dos métodos que combinam HPLC com reagentes tiazolilazo apresentam a desvantagem de requerer uma alta proporção de solvente orgânico na fase móvel, devido à baixa solubilidade dos quelatos em água [97].

Dois reagentes tiazolilazo, TAR e 5-metil-4-(2-tiazolilazo) resorcinol (5MTAR) foram utilizados para determinação de cobalto em água mineral e resíduo doméstico por HPLC [98]. O comportamento de retenção do reagente TAR e outros três derivados thiazolilazo, TAO, TAC e TAN, por HPLC foi estudado [99]. A retenção desses compostos é afetada principalmente pelas interações hidrofóbicas entre os reagentes tiazolilazo e a fase móvel. O reagente TAR tem sido muito utilizado como um reagente quelante na separação e determinação de elementos de transição e terras raras por HPLC [100 - 103].

A separação de Pt (II), Ir (IV), Ru (III), Rh (III) e Os (IV) por HPLC foi realizada com o reagente 2-(2-tiazolilazo)-5-dietilaminofenol (TADAP) como um derivatizante pré-coluna [104]. O efeito de modificadores da fase móvel na retenção deste reagente e seus quelatos com Co (II), Ni (II), Cu (II), Pd (II), Rh (III) e Ru (IV) foi investigado [105]. TADAP também foi empregado na dosagem de V (V), Nb (V), e Ta (V) em minerais e amostras sintéticas por HPLC [106]. Um derivado do TADAP, 2-(6-metil-2-benzotiazolilazo)-5-dietilaminofenol também foi utilizado como um derivatizante pré-coluna em HPLC para

separação e determinação de Ru (III), Rh (III), Os (IV), IV (IV), Pt (II), Co (II), Ni (II) e Cu (II) [107].

Outros reagentes tiazolilazo tem sido empregados como derivatizantes em HPLC, como TAM [108], 2-(2-benzotiazolilazo)-5-(3-sulfopropil)aminofenol (BTASPAP) [109] e (2-(6-metil-2-benzotiazolilazo)-5-dietilaminofenol (MBTAE) [110 - 113].

## **Capítulo 2**

# **Microextração dispersiva líquido-líquido e extração no ponto-nuvem**

---

---

## **2.1. Microextração dispersiva líquido-líquido**

Apesar dos avanços instrumentais ocorridos nas últimas décadas, a determinação de elementos traço ainda apresenta dificuldades, tais como baixa seletividade e sensibilidade das técnicas de detecção, o que torna necessário a aplicação de metodologias de separação e pré-concentração prévias. Técnicas como extração líquido-líquido (LLE), extração em fase sólida (EFS), micro-extração em fase sólida (SPME) e extração no ponto nuvem (CPE) são amplamente utilizadas na separação e pré-concentração de elementos traço.

Uma nova tendência em Química Analítica é a miniaturização de sistemas de extração líquido-líquido [1], que tem sido modificada para novas configurações, tais como, a micro-extração líquido-líquido (LLME), extração com micro-gota (SDME) e micro-extração líquido-líquido dispersiva (DLLME).

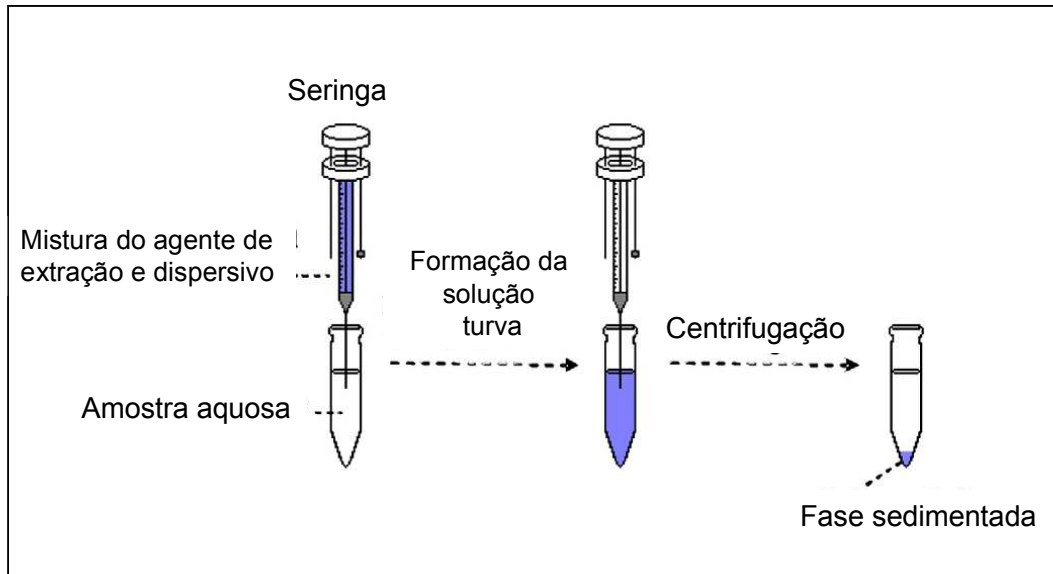
O princípio destes métodos é similar ao da extração líquido-líquido convencional, contudo apresentam vantagens como a minimização da quantidade de solvente utilizado, simplicidade de operação, baixo custo e baixo consumo de tempo. No entanto essas técnicas apresentam algumas desvantagens como, formação de bolha de ar, longo tempo para atingir o equilíbrio, devido à limitada área superficial entre a amostra e o solvente orgânico e não é adequado para aplicação simultânea para uma grande quantidade de amostras.

## **2.2. Aplicação da DLLME na determinação de metais**

A micro-extração líquido-líquido dispersiva foi relatada pela primeira vez em 2006 por Berijani e colaboradores [114], para a determinação de pesticidas organofosforados em água. Recentemente, a DLLME passou a ser usada para extração e pré-concentração de compostos inorgânicos, e apresentou vantagens como, simplicidade de operação, pequenas quantidades de amostra e solventes orgânicos, rapidez, baixo custo e elevadas recuperações e fatores de enriquecimento.

A DLLME consiste em um sistema ternário de solventes. Nesta técnica, uma mistura contendo quantidades apropriadas do solvente extrator e do solvente dispersivo é injetada rapidamente em uma amostra aquosa, com o

auxílio de uma seringa. Então, uma solução turva é formada. O analito na amostra é extraído para o interior de gotículas do solvente de extração. Após a extração, a separação das fases é realizada por centrifugação, e o analito é determinado na fase sedimentada. No caso da determinação de elementos traço, um reagente complexante deve estar dissolvido no solvente extrator. Um esquema do procedimento de DLLME é mostrado na Figura 5 [115].



**Figura 5.** Esquema geral de procedimento para microextração dispersiva líquido-líquido

Assim como em outras técnicas de extração, em DLLME, vários fatores experimentais afetam a eficiência de extração e devem ser otimizados. Entre os principais fatores, encontram-se: escolha do agente complexante, escolha do solvente extrator e do dispersivo, tempo de extração, pH da amostra, tempo de centrifugação, volume da amostra.

Uma das principais vantagens deste método é a pequena quantidade de solventes orgânicos utilizados. São utilizados volumes de solventes extratores e dispersivos da ordem de microlitros. Isso torna a técnica de baixo custo e diminui bastante a quantidade de resíduos gerados. Além disso, o fato de o analito ser extraído em um volume tão pequeno viabiliza uma elevada sensibilidade aos procedimentos.

A técnica de DLLME foi aplicada para a determinação de cádmio por espectrometria de absorção atômica com forno de grafite (GFAAS). Neste trabalho, o metanol foi utilizado como solvente dispersivo e o tetracloreto de carbono como solvente de extração. Os íons Cd (II) foram extraídos com o auxílio do agente complexante pirrolidinoditiocarbamato de amônio dissolvido no solvente dispersivo. O analito foi medido em 20 microlitros da fase rica. O procedimento foi aplicado á determinação de cádmio em amostras de água. Apenas 5 mL de amostra foram utilizados. Além da alta sensibilidade obtida, com um fator de enriquecimento de 125, o procedimento de extração é extremamente rápido: foram gastos apenas três minutos por amostra [116].

Em outro trabalho descrito na literatura, a DLLME é aplicada para determinação de cobre em amostras de água por espectrometria de absorção atômica com chama (FAAS). Uma seringa foi utilizada para introduzir a mistura do solvente de extração (clorofórmio) e solvente dispersivo (metanol) a solução contendo os íons Cu(II) e o reagente complexante (8-hidroxiquinolina), após centrifugada, a fase rica foi coletada com a ajuda de uma seringa de HPLC e transferida para um tubo de ensaio, sendo deixado a temperatura ambiente. Após esta etapa o resíduo foi dissolvido em ácido nítrico e determinado por FAAS. O efeito dos parâmetros experimentais sobre a extração foi avaliado utilizando-se dois métodos de otimização: univariado e planejamento do composto central [117].

A combinação da DLLME com espectrometria de absorção atômica com chama usando um sistema de introdução de pequenas quantidades de amostra foi utilizada para determinação de chumbo em amostras de água [118]. O ácido dietilditiofosfórico, tetracloreto de carbono e metanol, foram usados como agente quelante, solvente de extração, e solvente dispersivo, respectivamente. Alguns parâmetros como tipo e volume dos agentes de extração e dispersivo, pH do meio e efeito da quantidade do agente quelante foram otimizados. O sistema de introdução da amostra possibilitou sinais sensíveis e reprodutíveis. Com base em dados bibliográficos, as características do método proposto foram comparadas com outros métodos, como extração líquido-líquido (LLE), extração por ponto nuvem (CPE), extração em fase sólida (SPE), coprecipitação, apresentado vantagens como simplicidade de operação, rapidez, baixo custo, alto fator de enriquecimento, baixo consumo de reagentes



e reprodutibilidade dos resultados. O alto fator de enriquecimento obtido é justificado pelo pequeno volume da fase sedimentada, cerca de 25 µL.

A DLLME também foi aplicada na pré-concentração e determinação espectrofotométrica de mercúrio em amostras de água. Neste método, uma pequena quantidade de 1-hexil-3-metilimidazol bis(trifluormetilsulfonyl)imida foi utilizado como solvente de extração e dissolvido em acetona (solvente dispersivo). Essa mistura foi injetada com a ajuda de uma seringa em uma solução contendo cátions de mercúrio complexados por 4,4'-bis(dimetilamino)tiobenzofenona (TMK) na presença de dodecil sulfato de sódio como agente anti-aderente. Após a formação da solução turva, esta foi centrifugada e a fase sedimentada determinada por espectrofotometria [119].

Um sistema de microextração líquido-líquido dispersiva em linha de injeção seqüencial, acoplado a espectrometria de absorção atômica com chama foi desenvolvido para promover a pré-concentração e determinação de cobre e chumbo em amostras de água. O fluxo de metanol (solvente dispersivo) contendo 2,0 % (v/v) de xileno (solvente extrator) e 0,3 % (m/v) de dietilditiofosfato (agente quelante) foi fundido em linha com o fluxo da amostra (fase aquosa), resultando em uma mistura turva constituída por gotículas do solvente de extração totalmente disperso na fase aquosa. As gotículas hidrofóbicas formadas foram retidas em uma microcoluna de esferas de teflon. Uma solução de isobutilmetilcetona foi utilizada para eluição quantitativa dos analitos que foram transportados até o nebulizador do FAAS. O sistema proposto apresenta vantagens como rapidez de operação, redução de tempo, baixo custo e baixo consumo de solventes orgânicos [120]. Na Tabela 3 são apresentadas as características de alguns procedimentos de micro-extração dispersiva líquido-líquido.

**Tabela 3.** Características de alguns procedimentos de micro-extração dispersiva líquido-líquido. EF: Fator de enriquecimento; LD: Limite de detecção; ESP: espectrofotometria, FAAS: espectrometria de absorção atômica com chama; ETAAS: espectrometria de absorção atômica com atomização eletrotérmica;. APDC: Pirrolidinoditiocarbamato de amônio; DDTPA: ácido dietilditioposfórico; HQ: 8-hidroxiquinolina; NPDA: 4-nitro-o-fenilenodiamina; TMK: 4,4'-bis(dimetilamino)tiobenzofenona; DDTP: dietilditioposfato; HMS: 1-hexil-3-metilimidazol bis(trifluormetilsulfonil)imida

Metal	Reagente	Solvente de extração	Solvente dispersivo	LD ( $\mu\text{g L}^{-1}$ )	EF	Deteção	Ref
Cd	APDC	Tetracloroeto de carbono	Metanol	0,60	125	ETAAS	[116]
Pb	DDTP	Tetracloroeto de carbono	Acetona	0,02	150	ETAAS	[121]
			Metanol	0,50	1000	FAAS	[118]
Cu	HQ	Clorofórmio	Metanol	3,00	42	FAAS	[117]
Se	NPDA	Clorofórmio	Etanol	-----	122	-----	[122]
Se	APDC	Tetracloroeto de carbono	Etanol	0,05	70	ETAAS	[123]
Hg	TMK	HMS	Acetona	$3,9 \times 10^6$	18.8	ESP	[119]
Cu	DDTP	Xileno	Metanol	0,04	560	FAAS	[120]
Pb			0,54	265			

### 2.3. Extração no ponto nuvem

O processo denominado extração no ponto nuvem (EPN) é baseado na separação de duas fases isotrópicas, geradas a partir de sistemas micelares. Este fenômeno pode ser aplicado para extração e/ou pré-concentração de espécies inorgânicas, orgânicas e biomoléculas.

Os surfactantes são substâncias de fundamental importância para o processo de EPN. Essas substâncias possuem a capacidade de alterar as propriedades superficiais e interfaces de um líquido, possuindo uma extremidade polar e outra apolar. Os surfactantes podem ser classificados como catiônicos, aniônicos, não-iônicos ou anfóteros.

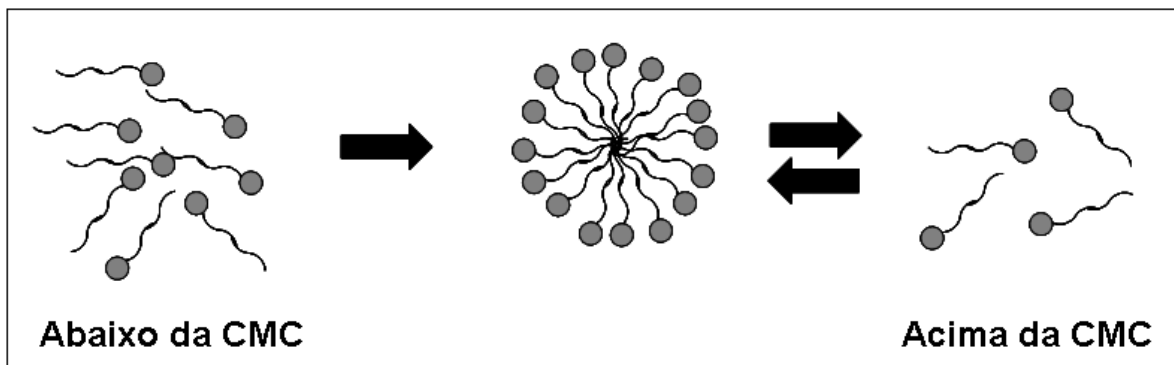
Os surfactantes aniônicos contêm geralmente grupos polares como carboxilato, sulfonato, sulfato ou fosfato, e são bastante utilizados na indústria de sabões e detergentes. Um surfactante catiônico possui em geral a fórmula  $R_nXY$ , onde R representa uma ou mais cadeias hidrofóbicas, X é um elemento capaz de formar uma estrutura catiônica e Y é um contra íon, já os não-iônicos apresentam como grupo polar cadeias de polioxietileno ou polipropileno. Nos anfóteros existem tanto cargas positiva como negativa na molécula. Na Tabela 4 são apresentadas alguns exemplos das classes de surfactantes [124].

**Tabela 4.** Classes de surfactantes

Surfactante	Estrutura	Classe
Dodecilsulfato de sódio (SDS)	$CH_3(CH_2)_{11}SO_4^-Na^+$	Aniônico
Brometo de hexadeciltrimetilamônio (HDTB)	$CH_3(CH_2)_{15}N^+(CH_3)_3Br^-$	Catiônico
Octilfenoxipolietoxietanol (Triton X-114)	$(CH_3)_3CCH_2C(CH_3)_2(C_6H_4)O(OCH_2CH_2)_7$	Não-iônico
4-(dodecildimetilamônio)butirato (DAB)	$CH_3(CH_2)_{11}N^+(CH_3)_2(CH_2)_3COO^-$	Anfótero

Para ser empregado na extração por ponto nuvem, um surfactante deve apresentar algumas características, como, por exemplo, baixa temperatura de separação de fases e alta densidade, que facilitam a separação de fases, disponibilidade comercial e baixo custo.

Os surfactantes podem se associar em meio aquoso ou orgânico e formar vários tipos de agregados, como micelas, vesículas, microemulsões, monocamadas e bicamadas. Quando uma solução de surfactante atinge uma determinada concentração (chamada concentração micelar crítica, CMC), suas moléculas se agregam espontaneamente, formando as micelas. Abaixo da CMC, o surfactante apresenta-se na forma de monômeros, quando a concentração está acima, porém próxima da CMC, existe um equilíbrio dinâmico entre monômeros e micelas (Figura 6). Em concentrações acima da CMC, as micelas possuem um diâmetro entre 3-6 nm o que representa de 30-200 monômeros [125]. A CMC depende da estrutura do surfactante (tamanho da cadeia de hidrocarboneto) e das condições experimentais do meio (concentração iônica, contra-íons, temperatura, etc.).



**Figura 6.** Equilíbrio entre monômeros e micelas [125]

As micelas são freqüentemente empregadas para modificar o meio reacional, permitindo solubilizar espécies que apresentam baixa solubilidade, ou promover um novo meio que pode modificar a velocidade reacional, a posição de equilíbrio das reações químicas, e em, alguns casos a estereoquímica destas reações. Uma das propriedades mais importantes das micelas é a capacidade que elas possuem de solubilizar solutos de diferentes características e naturezas, e estes podem interagir com as micelas

eletrostaticamente, hidrofobicamente ou pela combinação de ambos os efeitos. No caso de íons metálicos, pelo fato deles não possuírem afinidade com as micelas, estes precisam estar ligados a reagentes complexantes, como, por exemplo, 4-(2-piridilazo)-resorcinol (PAR), 1-(2-piridilazo)-2-naftol (PAN), luminol, entre outros. Estes podem ser solubilizados no interior das micelas de surfactantes não-iônicos, assim, quando ocorre a separação física das duas fases, é possível concentrar e separar metais em um pequeno volume, de maneira similar a extração líquido-líquido.

O processo de extração em ponto nuvem consiste em três etapas bastante simples:

1. Solubilização dos analitos de interesse nos agregados micelares;
2. Turvação;
3. Separação das fases para análise.

Na primeira etapa, o surfactante é adicionado à solução aquosa contendo o analito, este pode se ligar eletrostaticamente ao grupo polar do surfactante, ou ocorre à formação de quelatos em uma fase rica em surfactante [126]. Em seguida a temperatura é alterada, ocorrendo a turvação. Então, há a separação entre a fase rica em surfactante e a fase aquosa. A separação física entre as duas fases é facilitada pela diferença de densidade e viscosidade.

### **2.3.1. Aplicações**

Alguns autores têm tentado promover a EPN em sistemas em linha. O primeiro trabalho empregando extração em ponto nuvem (EPN) juntamente com análise em fluxo (FIA) foi publicado em 2001 [127]. Anteriormente, alguns trabalhos que envolviam EPN, utilizavam sistemas FIA para facilitar a manipulação ou transporte da fase rica para algum detector [128].

As dificuldades da incorporação da extração no ponto nuvem a análises em fluxo foram resolvidas empregando alguns artifícios, como a utilização de aditivos como, por exemplo, sais, álcalis, ácidos, polímeros, uréia e outros surfactantes. A adição do aditivo tem por objetivo induzir a separação em linha das fases no ponto nuvem, evitando assim problemas com a dificuldade de se incorporar no sistema um dispositivo de temperatura. Esses aditivos podem

também afetar a eficiência de extração e o fator de pré-concentração do processo de extração por ponto nuvem [2].

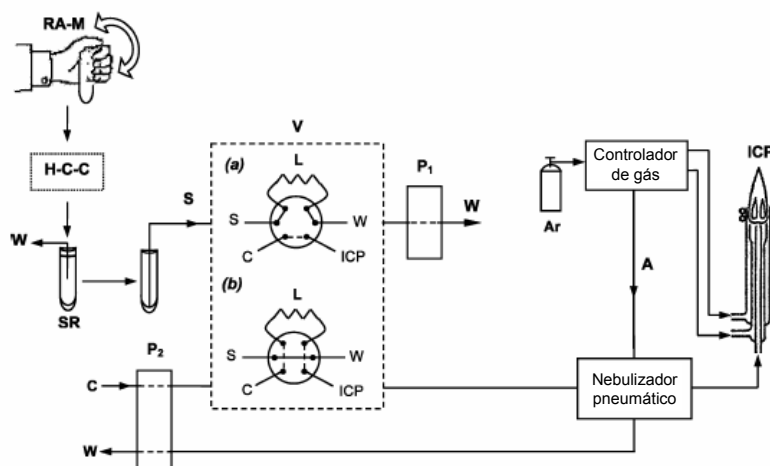
Para surfactantes iônicos, a adição de sais diminui a CMC e aumenta a pressão externa reduzindo o tamanho das micelas. Isto ocorre porque o eletrólito adicionado reduz a repulsão entre os grupos carregados eletronicamente, localizados nas “cabeças” das moléculas de surfactante. Este efeito é ainda mais pronunciado para surfactantes de cadeias longas, já que a redução na repulsão das moléculas é proporcionalmente maior no empacotamento molecular do que em anfipáticos de cadeia curta. A adição de sais também aumenta a sensibilidade, isto é, a dependência da CMC ao número de carbonos da cadeia linear. Por exemplo, uma redução na CMC entre surfactantes homólogos onde se tem um aumento do comprimento da cadeia será maior quanto maior for a concentração de sal e este valor pode se aproximar do valor para surfactantes não iônicos. Mas este efeito também depende da valência do íon do eletrólito, especialmente dos contra-íons do surfactante [128].

A coleta da fase rica em surfactante após a separação das fases, que na EPN em batelada geralmente é realizada pelo uso de uma centrifuga, pode ser substituída por uma coluna empacotada com um material filtrante apropriado. Então, promove-se a eluição das micelas contendo o analito, utilizando-se um solvente apropriado, como acetonitrila, água ou soluções ácidas.

Em um sistema FIA envolvendo EPN, geralmente o material filtrante deve reter agregados do surfactante, permitindo a passagem de componentes de menor tamanho, como sais, moléculas de água, monômeros do surfactante e agregados menores. Desta forma, a seleção do material filtrante é de extrema importância nestes sistemas. Alguns materiais filtrantes têm sido testados para utilização como recheio de colunas em alguns sistemas, como algodão, lã de vidro, fibra de nylon, filtro de cigarro e sílica.

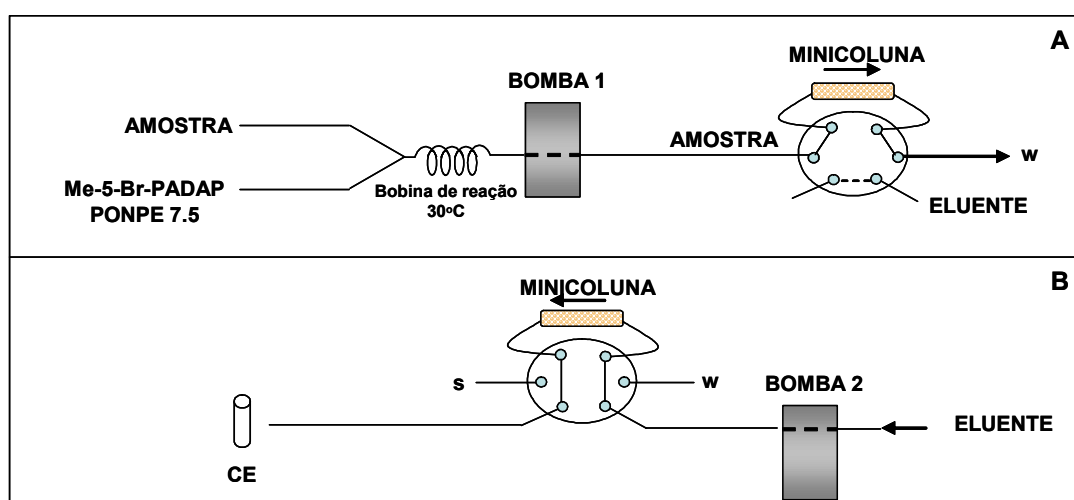
A principal limitação das extrações por ponto nuvem de íons metálicos em linha é o baixo coeficiente de partição de muitas espécies neutras de quelatos metálicos, o que pode ser solucionado com o uso de ligantes altamente hidrofóbicos. Reagentes piridilazo e tiazolilazo apresentam esta característica, o que os torna bastante adequados para uso em sistemas desse tipo.

O reagente 2-(5-bromo-2-piridilazo)-5-dietilaminofenol (5-Br-PADAP) foi utilizado como agente complexante na determinação de traços de vanádio em amostras de soluções parenterais. O surfactante não-iônico polioxietileno (5.0) nonifenol (PONPE 5.0) foi empregado para formação dos agregados micelares. Neste sistema, a técnica de extração no ponto nuvem foi usada para pré-concentração em batelada de vanádio. A fase rica em surfactante foi, então, introduzida em um sistema em linha com detecção por ICP OES. Neste caso, o sistema em linha foi utilizado apenas para auxiliar na introdução da fase concentrada no espectrômetro. A configuração do sistema é mostrada na Figura 7 [129]. O reagente 5-Br-PADAP foi também empregado em um sistema análogo para determinação de mercúrio. Uma modificação foi realizada apenas para o uso de um separador gás-líquido. O mercúrio proveniente da EPN flui para o separador, onde é reduzido, e o vapor transportado para o nebulizador do ICP OES. No trabalho, realizou-se um estudo minucioso das variáveis que afetam a extração e a formação do vapor de mercúrio, e obteve-se um fator de pré-concentração de 200 vezes. O procedimento foi aplicado na determinação do metal em amostras de água potável [130].



**Figura 7.** Configuração do sistema utilizando extração em ponto-nuvem em linha para determinação de vanádio. RA-M: adição de reagente e mistura; H-C-C: aquecimento, centrifugação e resfriamento; SR: remoção do sobrenadante; S: amostra; P1 e P2: bombas peristálticas; V: válvula de injeção; C: solução carreadora; Ar: argônio; W: descarte; a: pré-concentração; b: eluição [129].

Um sistema de pré-concentração em linha associado à técnica de extração em ponto nuvem e a eletroforese capilar foi desenvolvido para determinação de disprósio e ferro em amostras de urina. Uma representação esquemática do sistema utilizado é mostrado na figura 8 [131]. A amostra é transportada até uma bobina reacional, na qual se mistura com uma solução do reagente 5-Br-PADAP e o surfactante polietilenoglicol-mono- $\rho$ -nonilfenileter (PONPE 7.5). A mistura é promovida a 30°C e, então, levada até uma minicoluna recheada com algodão, onde ocorre a retenção dos analitos de interesse. Em seguida, a eluição é realizada utilizando-se uma solução de acetonitrila. A fase rica é, então, recolhida diretamente no frasco de eletroforese. O trabalho demonstrou a viabilidade do acoplamento da eletroforese capilar e extração em ponto nuvem em linha, proporcionando um método sensível para determinação de disprósio e ferro.



**Figura 8.** Configuração do sistema utilizando extração em ponto-nuvem em linha para determinação de disprósio e ferro em urina. S: amostra; CE: recipiente coletor para eletroforese; W: descarte; A: pré-concentração; B: eluição [131].



A aplicação dos reagentes azo em sistemas em linha utilizando extração no ponto-nuvem ainda não tem sido muito explorada, pois o uso da própria técnica de extração em sistema linha é recente [127]. Os trabalhos encontrados na literatura descrevem a utilização de apenas um reagente, o Br-PADAP. Esta utilização deve-se ao fato deste reagente ser muito popular e facilmente comercializado. A possibilidade de associação da EPN com sistemas em linha representa uma alternativa promissora no campo de métodos de separação automatizados, particularmente, quando observados os excelentes fatores de enriquecimento e eficiências de extração obtidos. Adicionalmente, as características analíticas e aplicabilidades apresentadas nos trabalhos desenvolvidos são comparáveis ou superiores a procedimentos envolvendo outras técnicas de pré-concentração. Neste tipo de sistema de extração no ponto-nuvem, parâmetros experimentais adicionais devem ser testados, especialmente aqueles relacionados à coluna de coleta (tais como natureza química do material de empacotamento, dimensões, vazões de eluição e pré-concentração, e desenho do sistema em linha).

Na Tabela 5 são apresentadas as características de alguns procedimentos de extração no ponto-nuvem envolvendo o emprego do reagente Br-PADAP em sistemas em linha.

**Tabela 5.** Métodos de pré-concentração em linha utilizando extração no ponto-nuvem com o reagente Br-PADAP. ICP-OES: Espectrometria de Emissão Ótica com Plasma Indutivamente Acoplado; CV-ICP-OES: Espectrometria de Emissão Ótica com Vapor Frio e Plasma Indutivamente Acoplado; CE: Eletroforese Capilar.

Surfactante	Metal	Amostra	LD (ng L <sup>-1</sup> )	EF	Detecção	Ref
PONPE 5.0	V	Soluções parenterais	16,0	250,0	ICP-OES	[129]
	Hg	Água	4,00	200,0	CV-ICP-OES	[130]
PONPE 7.5	Fe	Urina	200	2200	CE	[131]
	Dy		480			
	Gd		40,0	20,00	ICP-OES	[132]

## **Capítulo 3**

# **Determinação de metais em alimentos**

---

---

### **3.1. Determinação de metais em alimentos**

Embora muitos metais sejam essenciais ao bom funcionamento do organismo, outros podem ser prejudiciais, causando efeito de toxicidade agudo ou crônico. Esta toxicidade depende não só do metal tóxico em si, mas da forma como está disponível e da sua concentração, salientando-se, ainda, que a maior parte dos metais encontrados no organismo humano apresenta alta reatividade química e atividade biológica, particularmente na forma de íons, radicais ou complexos orgânicos. Podem, potencialmente, ser de alto risco, dependendo da quantidade ingerida e de outras condições, como o tempo e frequência da exposição e suscetibilidade do organismo exposto.

As intoxicações por metais pesados, que ocorrem mais freqüentemente, são causadas por alumínio, arsênio, bário, berílio, cádmio, chumbo, mercúrio e níquel. Esses elementos alteram as estruturas celulares, as enzimas e substituem metais co-fatores de atividades enzimáticas.

Alguns metais pesados como o cromo, o cobre e o zinco, encontrados na natureza em solos, ar e água, além dos alimentos, são considerados como sendo microelementos essenciais ao metabolismo dos organismos vivos. Entretanto, o excesso ou carência desses elementos pode levar a distúrbios no organismo, e em casos extremos, até a morte. Estes microelementos (ou micronutrientes) essenciais podem ser introduzidos nos tecidos vivos através da água, alimentos, respiração e até mesmo pela própria pele. Entretanto, de acordo com os organismos de saúde, 90% da ingestão de metais pesados e outros contaminantes ocorrem por meio do consumo de alimentos.

### 3.2. Cobalto (Co)

O cobalto é um elemento metálico que, mesmo sem ser muito abundante, é bastante comum na crosta terrestre, sendo que a sua concentração aproximada no solo de 0,1 a 40  $\mu\text{g g}^{-1}$  e em água do mar é de 0,1 a 0,6  $\mu\text{g L}^{-1}$ . Sua presença é comum em rochas ígnea, águas, meteoritos, carvão, solos, plantas e animais.

Devido a sua elevada permeabilidade magnética, mesmo em altas temperaturas (até 1.121°C), o cobalto é especialmente empregado na produção de ligas magnéticas, utilização que consome cerca de um quarto da produção mundial. O restante é destinado à fabricação de peças de precisão e de ligas especiais para odontologia, ou como matéria-prima na indústria de cerâmica. Um dos principais sais de cobalto é o sulfato  $\text{CoSO}_4$ , empregado em processos de galvanoplastia, na preparação de agentes secantes e na fertilização de pastagens [133].

O cobalto apresenta caráter essencial, e é o principal constituinte da vitamina B-12 [134]. Não existe recomendação oficial para ingestão diária de Co, exceto no que se refere à vitamina B12, onde a dose diária requerida para adultos é de 3 a 4  $\mu\text{g}$  desta vitamina. Estima-se que o organismo contenha de 0,7 a 1,1 mg de Co, sendo que 4,4% (0,09 a 0,22 mg) estão na forma de vitamina B12. A concentração de Co é de 1,5 a 2 vezes maior nos glóbulos vermelhos do que no plasma, no qual o Co é transportado ligado à transcobalamina. A sua deficiência pode causar anemia perniciosa e distúrbios relacionados à fadiga muscular. Porém, altos teores de cobalto no organismo são extremamente perigosos, pois o mesmo prejudica a absorção do ferro [76].

Para a população em geral, a dieta representa a principal fonte de exposição ao Co [135]. As principais fontes de vitamina B-12 incluem alguns peixes (truta, arenque, cavala, etc.), ostras, ovos e leite. Em alguns órgãos, como fígado, coração e rins a concentração de vitamina B-12 é particularmente elevada. As concentrações mais altas são encontradas no fígado. Em pesquisas realizadas [ref], foram encontrados valores que variam entre 0,01 a 0,07 mg de Co/kg de peso úmido neste órgão, a maior parte como vitamina B12.

### 3.3. Manganês (Mn)

O manganês é um dos elementos mais abundantes na crosta terrestre e encontra-se largamente distribuído em solos, sedimentos, rochas, água e materiais biológicos. É importante para o crescimento das plantas e em funções vitais dos animais superiores. O manganês tem também aplicações industriais relevantes

O manganês é um elemento químico essencial para todas as formas de vida, nas quais tem funções tanto estruturais quanto enzimáticas. A química biológica do manganês está intimamente associada à química do oxigênio, em seus vários estados de oxidação. Nesse contexto, o manganês desempenha papel fundamental nos processos fotossintéticos de produção de O<sub>2</sub>, na degradação [136].

Nos seres humanos, a retenção do manganês é maior nas crianças do que nos adultos. Isto deve-se a uma maior retenção no trato gastrointestinal e a uma imaturidade do fígado e do sistema de excreção biliar nas crianças. A barreira hemato-encefálica não está completamente desenvolvida nas crianças, por isso, durante este período, o manganês penetra quase livremente no cérebro. Os idosos apresentam um risco aumentado à exposição excessiva ao manganês, devido a uma maior susceptibilidade das suas células cerebrais para serem danificadas e a perda progressiva de neurônios, com o avanço da idade [137]. Na Tabela 6 estão apresentadas as quantidades diárias de manganês recomendadas para a dieta de seres humanos.

As principais fontes de manganês da dieta incluem cereais e produtos à base de sementes, (derivados predominantemente de pão e farinha de trigo) nozes e chá. Outras fontes importantes incluem vegetais (como ervilhas e batatas), frutas e vinho. Com menos de 4% de contribuição para a ingestão diária de manganês (para qualquer grupo etário) encontram-se os produtos lácteos e produtos à base de carne e peixe [137]. Na Tabela 7 é apresentada a quantidade de manganês encontrada em diferentes alimentos

Tem sido demonstrado que a exposição excessiva ao manganês provoca efeitos tóxicos a vários níveis nomeadamente ao nível do sistema

nervoso central, respiratório, cardíaco e reprodutor. O sistema nervoso central é o alvo crítico dessa exposição, uma vez que os referidos efeitos tóxicos se manifestam neste órgão a menores concentrações do que nos outros sistemas. Mesmo a baixas concentrações os efeitos observados no sistema nervoso central são os mais preocupantes.

**Tabela 6.** Quantidades diárias de manganês ( $\text{mg dia}^{-1}$ ) recomendadas

	Idade	Quantidade ( $\text{mg dia}^{-1}$ )
Crianças	0-6 meses	0,3 – 0,6
	7-12 meses	0,6 – 1
	1-3 anos	1 – 1,5
	4-6 anos	1,5 – 2
	7-10 anos	2 – 3
Adolescentes	--	3
Adultos	--	5
Gestantes	Todas as idades	2 - 5
Lactantes	Todas as idades	2 - 5

Fonte: ANVISA - Portaria n ° 33, de 13 de janeiro de 1998 [138].

**Tabela 7.** Quantidade de manganês encontrada em diferentes alimentos, segundo dados do projeto TACO [139]

Descrição dos alimentos	Quantidade de manganês ( $\mu\text{g g}^{-1}$ )
Arroz, integral, cru	29,9
Arroz, tipo 1, cru	10,3
Arroz, tipo 2, cru	8,3
Cereais, milho, flocos, com sal	*Tr
Cereais, milho, flocos, sem sal	*Tr
Cereais, mistura para vitamina, trigo, cevada e aveia	22,8
Creme de arroz, pó	12,4
Creme de milho, pó	2,0
Farinha, de centeio, integral	38,6
Farinha, de rosca	16,2
Pão, aveia, forma	10,8
Pão, trigo, forma, integral	16,2
Beterraba, crua	12,3
Coentro, folhas desidratadas	104,8
Couve, manteiga, crua	10,2
Espinafre, cru	7,1
Jurubeba, crua	5,2
Nabo, cru	44,2
Palmito, em conserva	108,2
Açaí, polpa, com xarope de guaraná e glucose	32,9
Salsa, crua	18,8
Abacaxi, cru	16,2

\* Quantidades-traço

### **3.4. Determinação de Co e Mn em alimentos utilizando técnicas espectrométricas**

A composição elementar de alimentos é informação fundamental para assegurar a qualidade do alimento. Elementos-traço como Co e Mn, são essenciais ao homem, cuja necessidade diária não passa de poucos miligramas. Entretanto, estes elementos podem ser nocivos quando ingeridos em doses elevadas [140].

A quantificação de espécies metálicas como manganês e cobalto em amostras de alimentos tem sido realizada por diferentes técnicas, incluindo, espectrofotometria, espectrometria de absorção atômica (AAS), espectrometria de emissão óptica com plasma indutivamente acoplado (ICP OES), espectrometria de massas (ICP-MS), entre outras.

Um sistema de pré-concentração em linha foi utilizado para determinação de cobalto em amostras de chá preto e farinha de arroz. Íons de cobalto foram adsorvidos em uma minicoluna empacotada com a resina Amberlite XAD-2 funcionalizada com o reagente pirocatecol e eluídos com uma quantidade apropriada de ácido nítrico para serem conduzidos até o nebulizador do espectrômetro de absorção atômica com chama. O sistema utilizado apresenta vantagens como simplicidade, rapidez e baixo custo, e mostrou-se promissor para a determinação de cobalto em amostras de alimento [141].

A técnica de espectrometria de absorção atômica eletrotérmica foi utilizada para determinação de cobalto e manganês em amostras de alimentos infantis. Foram preparadas suspensões das amostras e estas introduzidas diretamente no forno de grafite. Diferentes amostras de alimentos infantis foram analisadas e baixas concentrações de cobalto foram encontradas. Já para o manganês, encontro-se concentrações mais elevadas. Os procedimentos utilizados são rápidos e precisos, podendo ser aplicados em análise de rotina, controle de qualidade e estudos toxicológicos de amostras de alimentos infantis [142].



Um método de fluorescência de fase polimérica foi aplicado na determinação de manganês em amostras de arroz e chá. O método baseou-se na reação de manganês e eosina, na presença de fenantrolina para formar um composto fluorescente. A intensidade da fluorescência foi medida em comprimentos de excitação e emissão de 533 e 550 nm, respectivamente. O método proposto foi aplicado as amostras de alimentos com resultados satisfatórios [143].

Vários trabalhos foram realizados usando diferentes técnicas para determinar manganês e cobalto em diversos tipos de amostras de alimentos. A Tabela 8 apresenta alguns desses trabalhos.

**Tabela 8.** Procedimentos para a determinação de manganês e cobalto em amostras de alimentos

Elemento	Limite de detecção ( $\mu\text{g L}^{-1}$ )	Amostra	Técnica de detecção	Referência
Mn	3,0	Folhas de chá	F AAS	[144]
Co	0,86	Chá preto, arroz, e mel	F AAS	[145]
Mn	0,98			
Mn	-----	Arroz	Titulação catalítica	[146]
Co	0,5	Chá preto, arroz, milho e espinafre	F AAS	[141]
Mn	245*	Chá	F AAS	[147]
Co	0,6	Água	F AAS	[93]

\*Valores em  $\text{mg Kg}^{-1}$

**Tabela 8.** Continuação

<b>Elemento</b>	<b>Limite de detecção (µg L-1)</b>	<b>Amostra</b>	<b>Técnica de detecção</b>	<b>Referência</b>
Co	0,6	Chá preto e arroz	F AAS	[49]
Mn	12*	Café	SS-ET AAS	[148]
Co	4*			
Mn	12	Águas naturais	FI FAAS	[149]
Mn	31,0	Feijão, lentilhas, maçã e avelã	ET AAS	[150]
Co	0,5	Alface	F AAS	[151]
Mn	13*	Farinha de trigo	F AAS	[152]

\*Valores em mg Kg<sup>-1</sup>

## **Capítulo 4**

# **Parte Experimental**

---

#### 4.1. Equipamentos e materiais

Os equipamentos e materiais utilizados no trabalho são listados a seguir.

4.1.1. Espectrômetro de absorção atômica com chama ar/acetileno marca PERKIN ELMER (Norwalk, CT, EUA), modelo AAnalyst 200 equipado com lâmpada de deutério para correção da radiação de fundo. Lâmpadas de cátodo oco foram utilizadas como fonte de radiação e as condições operacionais do espectrômetro, descritas na Tabela 9, foram as sugeridas pelo fabricante.

**Tabela 9.** Parâmetros operacionais do espectrômetro de absorção atômica com chama.

Parâmetro	Condição
Comprimento de onda (Co)	240,7 nm
Comprimento de onda (Cu)	324,8 nm
Comprimento de onda (Mn)	279,48 nm
Comprimento de onda (Ni)	231,1 nm
Altura do queimador	13,5 mm
Abertura da fenda	0,2 nm
Vazão de fluxo do acetileno	2,0 L min <sup>-1</sup>
Vazão de fluxo do ar	13,5 L min <sup>-1</sup>
Vazão de fluxo do nebulizador	5,0 mL min <sup>-1</sup>

4.1.2. Medidor de pH DIGIMED, modelo DM 20.

4.1.3. Agitador mecânico FISATOM, modelo 713D.

4.1.4. Agitador magnético com aquecimento CIENTEC, modelo 103.

4.1.5. Bomba de vácuo FANEM, modelo 089 CAL.

4.1.6. Sistema para purificação de água QUIMIS, São Paulo, Brasil.

4.1.7. Bomba de abertura/digestão, modelo PARR 4749.

4.1.8. Equipamento para medir ponto de fusão, marca MICROQUIMICA, modelo 302.

4.1.9. Válvula seqüencial de seis posições manual, marca Rheodyne (Cotati, USA), modelo 5011.

4.1.10. Válvula manual de duas posições e seis vias , marca Rheodyne (Cotati, USA), modelo 5041.

4.1.11. Válvula manual de duas posições (aberta e fechada), construída em laboratório, adaptada de uma torneira de bureta e conectada a uma peça T.

4.1.12. Tubos de silicone de variados diâmetros.

4.1.13. Tubos capilares de Teflon ou polietileno.

4.1.14. Tubo de cloreto de polivinila (0,5 cm de diâmetro interno x 4,0 cm de comprimento) utilizado como minicoluna.

4.1.15. Centrífuga Bio Eng, modelo BE 5000.

4.1.16. Espectrômetro de Infravermelho, ABB BOMEM, série MB 100.

4.1.17. Bombas peristálticas de quatro canais MILLAN, modelo 204.

## **4.2. Reagentes**

4.2.1. Ácido nítrico P. A. (MERCK)

4.2.2. Ácido clorídrico P. A. (MERCK)

4.2.3. Etanol 99 % (MERCK)

4.2.4. Cloreto de amônio P. A. (VETEC)

4.2.5. Hidróxido de amônio P. A. (MERCK)

4.2.6. Hidróxido de sódio P. A. (QUIMEX)

4.2.7. Borato de sódio P. A. (SYNTH)

4.2.8. Acetato de sódio anidro P. A. (SYNTH)

4.2.9. Ácido acético glacial P. A. (MERCK)

4.2.10. Orcinol para síntese (MERCK)

- 4.2.11. 2-Amino 5 bromotiazol para síntese(ALDRICH)
- 4.2.12. Nitrito de sódio PA (SYNTH)
- 4.2.13. Carbonato de sódio P. A. (SYNTH)
- 4.2.14. Triton X 114 P. A. (Sigma–Aldrich, Milwaukee, USA)
- 4.2.15. Clorofórmio P. A. (SYNTH)
- 4.2.16. Tetracloroeto de carbono P. A. (MERCK)
- 4.2.17. Metanol P. A. (SYNTH)

### 4.3. Soluções

Água desionizada obtida de um sistema de purificação de água (QUIMIS, São Paulo, Brasil) foi utilizada para preparar todas as soluções. Todos os reagentes usados foram de grau analítico.

4.3.1. **Soluções dos metais:** As soluções de cobre, níquel, cobalto e manganês foram preparadas diariamente a partir da solução estoque (padrão para absorção atômica, Merck) de  $1000 \mu\text{g mL}^{-1}$  por diluição com água desionizada.

4.3.2. **Soluções de Triton X-114:** Soluções do surfactante Triton X-114 foram preparadas misturando o reagente líquido com água desionizada.

4.3.3. **Soluções de interferentes:** As soluções utilizadas para teste de interferentes foram preparadas pela dissolução de solução estoque dos metais e ânions em água desionizada

4.3.4. **Soluções de Br-TAO:** Soluções do reagente 5-bromotiazolilazo-2-orcinol foram preparadas dissolvendo o composto sólido em álcool etílico absoluto (Merck).

4.3.5. **Solução-tampão acetato de sódio (pH 3,7 – 5,5):** preparada pela dissolução de 82,00 g de acetato de sódio anidro em 1,0 L de água desionizada e o pH desejado foi ajustado com ácido acético glacial.

4.3.6. **Solução-tampão amoniacal (pH 9,0 – 10,0):** preparada pela dissolução de 53,50 g de cloreto de amônio em 1,0 L de água desionizada e o pH desejado foi ajustado com hidróxido de amônio.

4.3.7. **Solução-tampão borato de sódio (pH 7,0 – 8,0):** preparada pela dissolução de 38,13 g de borato de sódio em 1,0 L de água desionizada e o pH desejado foi ajustado com solução de ácido clorídrico e hidróxido de sódio.

4.3.8. **Solução-tampão fosfato de sódio (pH 6,0 – 6,5):** preparada pela dissolução de 28,39 g de fosfato ácido de sódio,  $\text{Na}_2\text{HPO}_4$ , e 23,99 g de fosfato diácido de sódio,  $\text{NaH}_2\text{PO}_4$ , em 1,0 L de água desionizada.

**Solução-tampão cloreto de potássio e ácido clorídrico (pH 3,0):** preparada pela dissolução de 0,37 g de cloreto de potássio em 42,50 ml de ácido clorídrico  $0,20 \text{ mols L}^{-1}$ , dissolvidos em 100 ml de água desionizada.

4.3.9. **Soluções de ácido clorídrico:** As soluções foram preparadas medindo-se quantidades apropriadas do ácido P.A. (MERCK) e diluindo-se com água desionizada.

4.3.10. **Soluções de ácido nítrico:** As soluções foram preparadas medindo-se quantidades apropriadas do ácido P.A. (MERCK) e diluindo-se com água desionizada.

4.3.11. **Soluções de hidróxido de sódio:** As soluções de hidróxido de sódio foram preparadas pesando-se quantidades apropriadas da base (MERCK) e diluindo-se com água desionizada.



#### 4.4. Procedimentos

##### 4.4.1. Síntese do reagente Br-TAO

Aproximadamente 2,0 g de 2-amino-5-bromotiazol foram dissolvidos em 50 mL de solução de ácido clorídrico 6,0 mol L<sup>-1</sup> a 0-5 °C. Uma solução de 0,53 g de nitrito de sódio em 20,0 mL de água gelada foi adicionada gota a gota durante 45 min, sob forte agitação a 0-5 °C. Para o acoplamento, 0,96 g de orcinol foram adicionados a 20,0 ml de solução de carbonato de sódio 1,0 mol L<sup>-1</sup>. Esta solução foi adicionada gota a gota à solução do diazotato, sob forte agitação a 0-5 °C, durante 60 minutos. Nesta etapa, observa-se a formação de um precipitado avermelhado. O sistema foi, então, mantido em refrigerador durante 24 h. O produto foi filtrado e lavado com água fria. O sólido vermelho-escuro resultante foi purificado por recristalização com etanol e carvão ativo.

##### 4.4.2. Coleta e preparo das amostras

As amostras de alimentos (farinha de arroz, farinha láctea e farinha de milho) foram adquiridas em estabelecimentos comerciais localizados na cidade de Jequié, Bahia. Amostras de água foram coletadas em torneira, poço e rio da cidade de Jequié. Estas amostras de água foram filtradas, tiveram o seu pH ajustado com solução-tampão e analisadas logo após a coleta. Foram analisados, também, os seguintes materiais de referência certificados: SRM 1568a, Farinha de Arroz; SRM 1573a, Folhas de Tomateiro e NIST 1570a, Folhas de Espinafre, provenientes do National Institute of Standards and Technology.

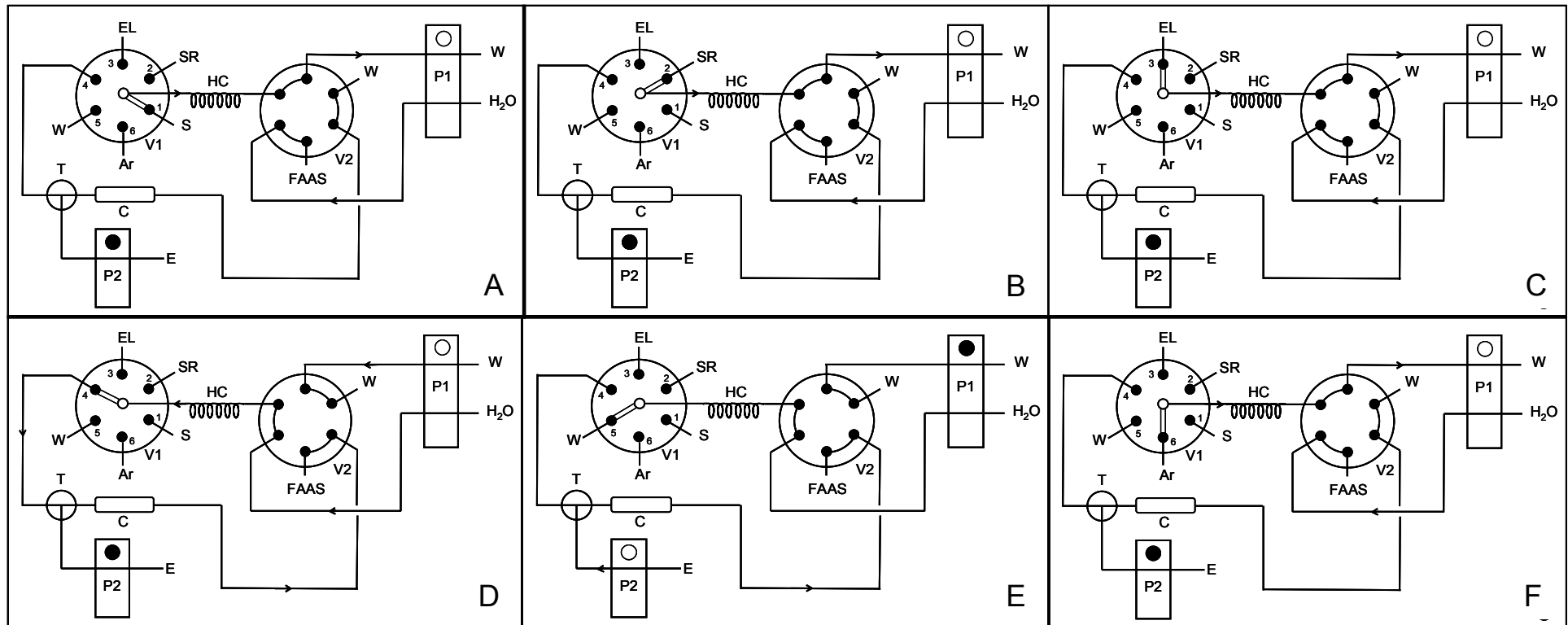
Para a digestão das amostras sólidas, 0,10 g, aproximadamente, do material seco foram pesados em copo de PTFE. Foram adicionados de 4,0 mL de solução de ácido nítrico 1:1 (v/v). O copo contendo a mistura foi fechado na armadura metálica de uma bomba de digestão ácida. O sistema foi, então, mantido em estufa por quatro horas a uma temperatura de aproximadamente 150 °C. Após resfriamento, o pH da mistura foi ajustado com soluções de hidróxido de sódio e ácido clorídrico, e solução tampão foi adicionada para ajuste do pH. Cada amostra foi, então, submetida a seus respectivos sistemas de pré-concentração propostos. Materiais de referência foram preparados de maneira análoga.

#### **4.4.3. Procedimento para microextração líquido-líquido dispersiva**

Adicionou-se a um tubo de ensaio 5,0 mL de solução contendo cobalto ajustada em pH apropriado. Em seguida, foi preparada uma solução contendo 2,0 mL de metanol, 50,0  $\mu\text{L}$  de tetracloreto de carbono e 50,0  $\mu\text{L}$  de solução do reagente Br-TAO. A solução metanólica foi imediatamente adicionada à solução do metal com a ajuda de uma seringa de 5,0 mL. A solução turva resultante foi centrifugada durante 2 minutos a 5.000 rpm. Após a centrifugação, um resíduo de cor avermelhada foi sedimentado no fundo do tubo. Este resíduo foi injetado no Espectrômetro de Absorção Atômica com chama (FAAS).

#### **4.4.4. Procedimento para extração no ponto nuvem em linha**

A extração no ponto-nuvem em linha foi realizada em um sistema de pré-concentração por injeção seqüencial. Este sistema é ilustrado na Figura 9. As etapas do ciclo completo para o sistema de pré-concentração em linha com injeção seqüencial para a determinação de manganês são relacionadas na Tabela 10. O procedimento de análise é iniciado quando a bomba 1 (P1) é ligada e a válvula 2 (V2) está na posição 1. Nestas condições, a bomba 2 (P2) está desligada e água é transportada para o espectrômetro de absorção atômica (FAAS). Inicialmente, 2800  $\mu\text{L}$  de solução tamponada do metal (S), 700  $\mu\text{L}$  de solução de surfactante e reagente (SR) e 700  $\mu\text{L}$  de solução de eletrólito (EL) foram aspirados nas portas 1, 2 e 3 da válvula 1 (V1). A mistura foi aspirada diretamente para a bobina de reação (HC, 200 cm) a um fluxo de 140  $\mu\text{L s}^{-1}$ . Quando a mistura preencheu toda a bobina de reação, as válvulas V1 e V2 foram simultaneamente acionadas para as posições 4 e 2, respectivamente. A mistura reacional foi, então, transportada através da minicoluna (C) a um fluxo de 140  $\mu\text{L s}^{-1}$ . Ao mesmo tempo, água é passada através da bobina de reação, eliminando resíduos das paredes do tubo. Após a passagem da mistura pela minicoluna, a válvula V1 foi, então, acionada para a posição 5. Simultaneamente, a bomba 2 foi ligada e a válvula manual de duas posições e conectada a uma peça T (T) foi aberta. Nesta situação, um fluxo de eluente passa pela minicoluna, transportando o manganês diretamente para o nebulizador do espectrofotômetro. Então, ar é aspirado para a bobina de reação através da porta 6 da válvula V1, para retirar a água. O tempo total por ciclo foi 75 s, resultando em uma frequência analítica de 45  $\text{h}^{-1}$ . O sinal transiente foi registrado na forma de altura do pico (absorvância).



**Figura 9.** Diagrama esquemático do sistema em linha com extração no ponto-nuvem e injeção seqüencial para determinação de manganês. P1 e P2, bombas peristálticas; V1, válvula manual de seis posições; V2, válvula manual de duas posições e seis vias; C, minicoluna recheada com algodão; T, peça T conectada a uma válvula manual de duas posições abre-fecha; HC, bobina de reação; S, solução de manganês; SR, solução de surfactante-reagente; EL, solução de eletrólito; E, eluente; W, descarte; FAAS, espectrômetro de absorção atômica com chama; ○, bomba peristáltica ligada; ●, bomba peristáltica desligada; Etapas A a F, ver Tabela 10.

**Tabela 10.** Etapas de um ciclo completo para a determinação de manganês por injeção seqüencial

Etapa	Tempo (s)	Posição				Ação
		Válvula 1	Válvula 2	Bomba 1	Bomba 2	
A	20	1	1	Ligada	Desligada	Aspiração de amostra
B	5	2	1	Ligada	Desligada	Aspiração de reagente e surfactante
C	5	3	1	Ligada	Desligada	Aspiração de solução de eletrólito
D	30	4	2	Ligada	Desligada	Transporte através da minicoluna
E	10	5	2	Desligada	Ligada	Eluição e detecção / Lavagem da bobina de reação
F	5	6	1	Ligada	Desligada	Retirada de água da bobina de reação

## **Capítulo 5**

# **Resultados e Discussão**

---

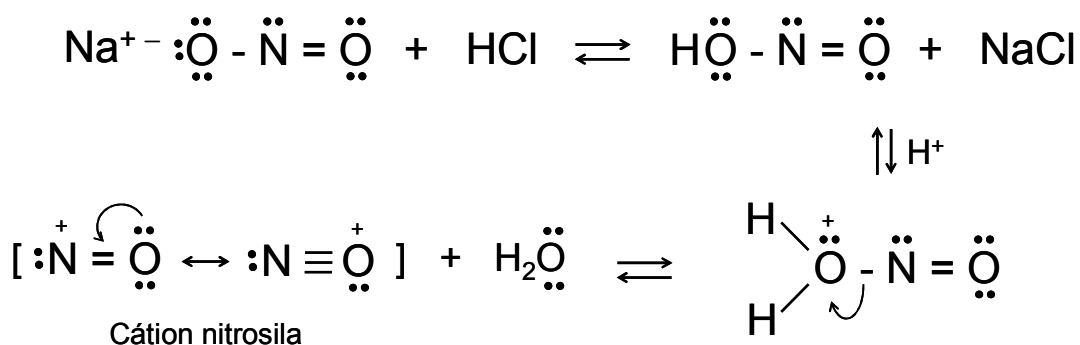
---

## 5.1. Síntese do reagente Br-TAO

### 5.1.3 Reações envolvidas

#### 5.1.3.1 Formação do cátion nitrosila

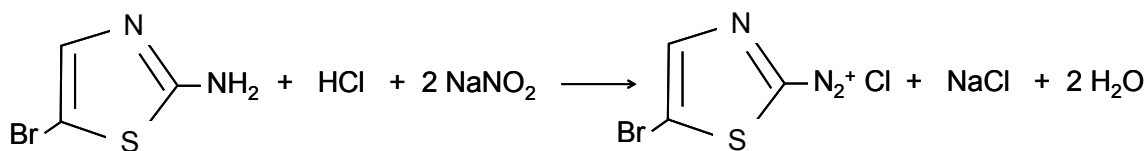
A formação do cátion nitrosila é realizada através do tratamento de nitrito de sódio com ácido clorídrico diluído em água, em baixa temperatura. Na reação é gerado o ácido nitroso, um ácido fraco e instável, que estabelece equilíbrio com o cátion nitrosila [153], conforme a Figura 10. O ácido nitroso reage com todas as classes de amina. Os produtos que se obtêm destas reações dependem se a amina for primária, secundária ou terciária, ou se for alifática ou aromática [154].



**Figura 10.** Formação do cátion nitrosila [153].

#### 5.1.3.2 Reação de diazotação

A reação foi feita a partir do 2-amino-5-bromotiazol, formando o sal de diazônio. Na reação de diazotação, o grupo amino primário presente na estrutura deste composto, promove um ataque nucleofílico ao cátion nitrosila produzido no meio reacional, formando o sal diazônio (Figura 11). O sistema reacional manteve-se resfriado entre 0-5°C porque o sal de diazônio é extremamente instável e tende a se decompor lentamente.



2-Amino-5-bromotiazol

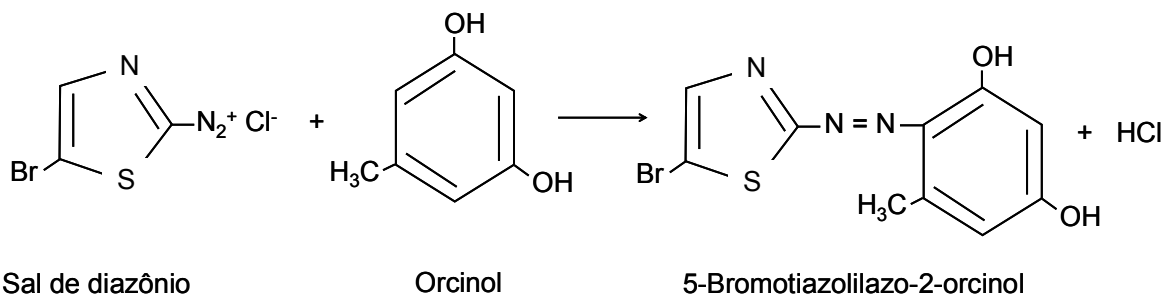
Sal de diazônio

**Figura 11.** Mecanismo de diazotação de 2-amino-5-bromotiazol

### 5.1.3.3 Reação de acoplamento

Os cátions diazônio tendem a sofrer reações de acoplamento com os anéis aromáticos ativados, dando origem a compostos azo. Estas reações de acoplamento são tipicamente reações de substituição aromática, onde o íon diazônio positivamente carregado é o eletrófilo que reage com o anel rico em elétrons [155].

A reação de acoplamento do orcinol com o cátion diazônio, representada na Figura 12, tem como produto o Br-TAO (5-bromotiazolilazo-2-orsinol).



**Figura 12.** Reação de acoplamento do sal diazônio com orcinol.

#### 5.1.4 Caracterização do reagente Br-TAO

Para caracterização do reagente Br-TAO foram determinadas a medida do seu ponto de fusão e coloração característica, a solubilidade deste composto em alguns solventes e análise do espectro na região do infravermelho.

##### 5.1.4.1 Ponto de fusão

O ponto de fusão do produto purificado e seco foi determinado quatro vezes. Foram obtidos valores na faixa entre 205 e 207 °C.

##### 5.1.4.2 Solubilidade

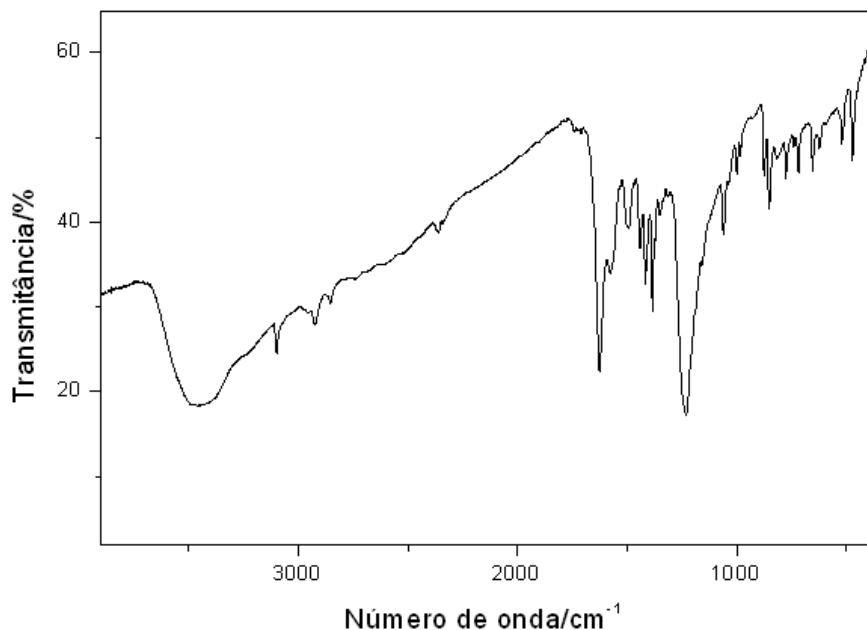
A solubilidade do reagente Br-TAO foi testada em alguns solventes. Foi verificado que o reagente é pouco solúvel em água, solúvel em NaOH a 5% (m/v) e pouco solúvel em NaHCO<sub>3</sub> a 5% (m/v). A solubilidade do reagente indica que o composto é classificado no grupo dos ácidos orgânicos fracos: fenóis, enóis, oximas, imidas, sulfonamidas, tiofenóis, todos com mais de cinco carbonos. Algumas conclusões sobre a estrutura do composto podem ser adiantadas quando a solubilidade é verificada. Uma substância tende a ser mais solúvel em solventes com estruturas semelhantes à sua própria estrutura (polaridade semelhante). Em uma série homóloga, à medida que aumenta o número de átomos de carbonos, diminui a solubilidade em água. À medida que aumenta a massa molecular diminui a solubilidade em solventes inertes como água e éter. Substâncias que possuem oxigênio apresentam grande tendência para formar hidratos, aumentando o grau de solubilidade em água [156].

##### 5.1.4.3 Espectro na região do infravermelho

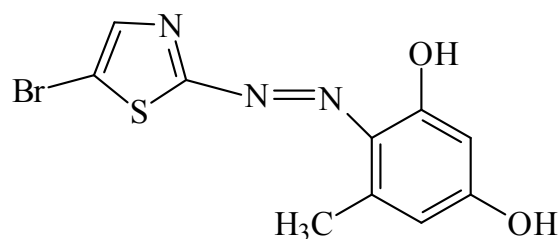
O espectro de infravermelho do Br-TAO (Figura 13) apresenta uma banda de absorção na região em torno de 3400-3200 cm<sup>-1</sup> (1). Essa banda indica a presença de grupo funcional OH de álcoois ou fenóis, associados por ligação de hidrogênio. Pode-se confirmar essa atribuição pela presença da banda de estiramento de C-O em torno de 1300-1000 cm<sup>-1</sup> (2). Essa banda é geralmente intensa e relativamente alargada. A presença de banda aguda e de intensidade média em torno de 3080-3030 cm<sup>-1</sup> (3) é devida às vibrações de estiramento da ligação =C-H de anel aromático. A banda na região de 850-840



$\text{cm}^{-1}$  (4) é resultante da deformação fora do plano da ligação C-H de anel aromático. O aparecimento de bandas entre  $2000\text{-}1660\text{ cm}^{-1}$  é característica de bandas harmônicas e de combinação. O perfil do espectro nessa região indica que o anel é 1,2,3,5-tetrasubstituído. A banda de absorção referente ao estiramento da ligação N=N, em compostos azo, não é percebido no infravermelho dado a natureza apolar da ligação. A estrutura proposta para o composto Br-TAO é apresentada na Figura 14.



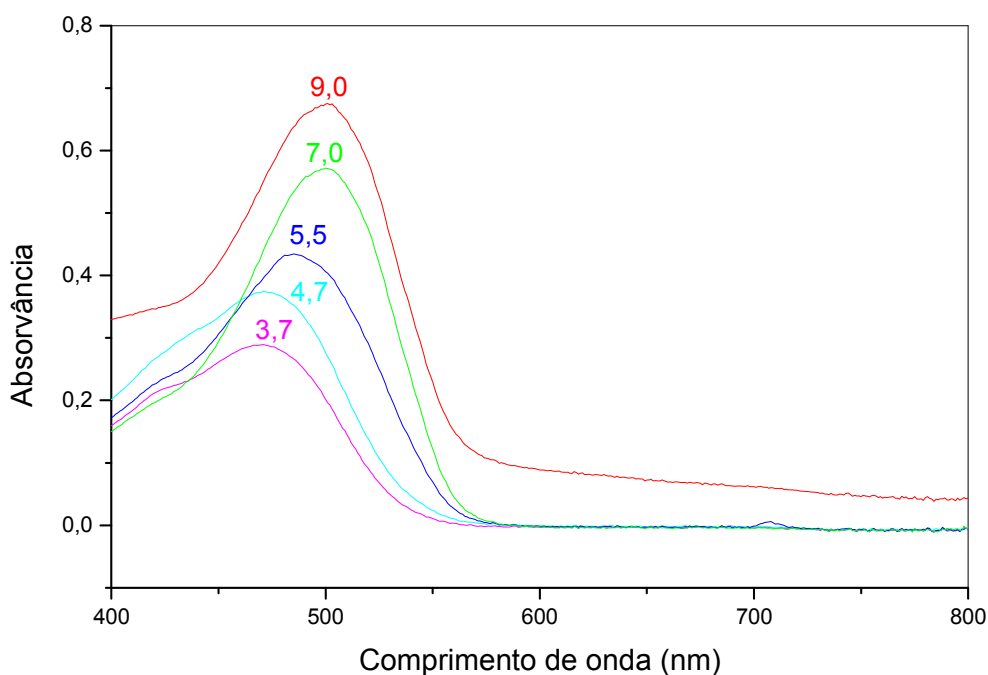
**Figura 13.** Espectro no infravermelho do 5-bromotiazolilazo-2-orcinol.



**Figura 14.** Estrutura do reagente 5-bromotiazolilazo-2-orcinol.

#### 5.1.4.4 Espectros de absorção na região do visível

A partir de uma solução de Br-TAO  $1,3 \times 10^{-3} \text{ mol L}^{-1}$  em etanol, foram preparadas soluções do reagente a diferentes valores de pH, com o auxílio de soluções-tampão acetato de sódio, borato de sódio e amoniacal. Os espectros de absorção dessas soluções foram obtidos na região do visível, conforme a Figura 15. A solução do reagente apresenta coloração amarelada (amarelo-claro) em valores de pH entre 3,7 e 4,7 e, de acordo com o espectro, absorção máxima a 475 nm. Há um pequeno deslocamento da absorção máxima para 485 nm, quando o meio assume pH 5,0. Nestas condições, a solução apresenta-se amarelo-escuro. Em meio neutro ou básico (pH 7,0 e 9,0), a solução do corante apresenta-se alaranjada, com máximo de absorção em 500 nm.



**Figura 15.** Espectros de absorção do reagente Br-TAO, na região do visível, em soluções a diferentes valores de pH.

## **5.2. Aplicação da micro-extração dispersiva líquido-líquido utilizando Br-TAO na determinação de cobalto**

### **5.2.1. Princípio do método**

O objetivo desta etapa do trabalho foi desenvolver um procedimento para a pré-concentração de cobalto utilizando a micro-extração dispersiva líquido-líquido utilizando o reagente Br-TAO como reagente complexante. O procedimento baseia-se em um sistema ternário de solventes, onde quantidades apropriadas do solvente extrator, do solvente dispersivo e do reagente Br-TAO são diretamente injetadas em uma solução aquosa contendo íons Co (II). Uma mistura turva é formada e os íons são extraídos nas finas gotas do solvente extrator. Após a extração, a separação das fases é realizada com uma rápida centrifugação, e o cobalto é dosado na fase enriquecida por FAAS.

### **5.2.2. Condições iniciais**

As condições utilizadas para os experimentos iniciais são apresentadas na Tabela 11 e foram baseadas em testes prévios ou relatos da literatura.

### **5.2.3. Ordem de adição dos reagentes**

O efeito da ordem de adição dos reagentes no sistema de micro-extração dispersiva líquido-líquido foi estudado. Conforme resultados apresentados na Tabela 12, a ordem de adição número 06, correspondente a adição da solução aquosa contendo o cobalto após a mistura da solução de Br-TAO, do solvente extrator e solvente dispersivo foi a que resultou em um maior sinal analítico. Além disso, observou-se que com essa ordem de adição obteve-se uma mistura turva característica da micro-extração dispersiva líquido-líquido.

**Tabela 11.** Condições experimentais iniciais utilizadas na micro-extração dispersiva líquido-líquido utilizando Br-TAO na determinação de cobalto

Parâmetro		Condição
pH da extração		8,0
Volume de solução aquosa		5,0 mL
Concentração inicial de Co (II)		100 µg L <sup>-1</sup>
Solvente dispersivo	Tipo	Metanol
	Quantidade	2,0 mL
Solvente extrator	Tipo	Tetracloroeto de carbono
	Quantidade	50 µL
Tempo	Extração	2 minutos
	Centrifugação	3 minutos
Solução de Br-TAO	Concentração	9,6 x 10 <sup>-4</sup> mol L <sup>-1</sup>
	Quantidade	50 µL

**Tabela 12.** Influência da ordem de adição dos reagentes na micro-extração dispersiva líquido-líquido de cobalto utilizando Br-TAO

Número do experimento	Ordem				Comentário	Sinal
	1	2	3	4		
1	Solução aquosa	Solvente extrator	Solvente dispersivo	Solução de Br-TAO	Não houve formação de mistura turva	-----
2	Solução aquosa	$\frac{\text{Solvente extrator}}{\text{Solvente dispersivo}}$	Solução de Br-TAO	-----	A solução de Br-TAO não se misturou	0,071
3	Solução aquosa	$\frac{\text{Solvente dispersivo}}{\text{Solução de Br-TAO}}$	Solvente extrator	-----	Não houve formação de mistura turva; fases distintas	0,013
4	Solução aquosa	$\frac{\text{Solvente extrator}}{\text{Solução de Br-TAO}}$	Solvente dispersivo	-----	Solução totalmente límpida	0,022
5	Solução aquosa	Solução de Br-TAO	$\frac{\text{Solvente extrator}}{\text{Solvente dispersivo}}$	-----	Forma mistura turva	0,076
6	Solução aquosa	$\frac{\text{Solução de Br-TAO}}{\text{Solvente extrator}} \\ \text{Solvente dispersivo}$	-----	-----	Forma mistura turva	0,160
7	$\frac{\text{Solução de Br-TAO}}{\text{Solvente extrator}} \\ \text{Solvente dispersivo}$	Solução aquosa	-----	-----	Não houve homogeneização satisfatória	0,156

#### **5.2.4. Método de introdução da solução extratora na solução do metal**

Em procedimentos de micro-extração dispersiva líquido-líquido, a homogeneização do sistema de pré-concentração é um fator muito importante, pois influencia diretamente a eficiência da extração. A solução extratora é composta do solvente dispersivo, do solvente extrator e da solução de reagente Br-TAO. Foram testados três métodos de introdução da solução extratora na solução do metal:

a) Micropipeta. É um método bastante simples e prático, e que acrescenta volumes de solução extratora com bastante precisão. No entanto, há o inconveniente de que a ponteira da micropipeta não alcança o fundo dos tubos de ensaio utilizados no procedimento. Desta maneira, a homogeneização do sistema ficou bastante comprometida.

b) Inversão na ordem de adição dos reagentes. Testou-se a adição da solução do metal na solução extratora já contida no tubo de ensaio. Este procedimento evitaria a necessidade de introdução da solução extratora no seio da solução do metal. Entretanto, observou-se que não houve uma homogeneização satisfatória, conforme resultados apresentados na Tabela 12.

c) Seringa. Neste caso, uma seringa de vidro de 5,0 mL foi empregada para inserir um volume definido da solução extratora na solução do metal. Este procedimento promoveu uma homogeneização satisfatória e foi, então, utilizado em todos os experimentos posteriores.

### 5.2.5. Método de introdução da fase enriquecida no equipamento de detecção

A maioria dos procedimentos que utilizam a micro-extração dispersiva líquido-líquido para a pré-concentração de metais emprega a Espectrometria de Absorção Atômica com Atomização Eletrotérmica como técnica de detecção. Neste caso, a introdução da fase enriquecida no equipamento de detecção é mais simples, pois se trata de um volume definido. Além disso, o equipamento requer uma quantidade muito pequena de amostra para detecção. Quando a Espectrometria de Absorção Atômica com Chama (FAAS) é utilizada, atenção especial deve ser tomada na introdução da fase enriquecida, pois o volume proveniente do sistema de micro-extração dispersiva líquido-líquido é muito pequeno, da ordem de dezenas de microlitros. Então, foram testados alguns métodos para a introdução da amostra no FAAS. Os resultados são apresentados na Tabela 13.

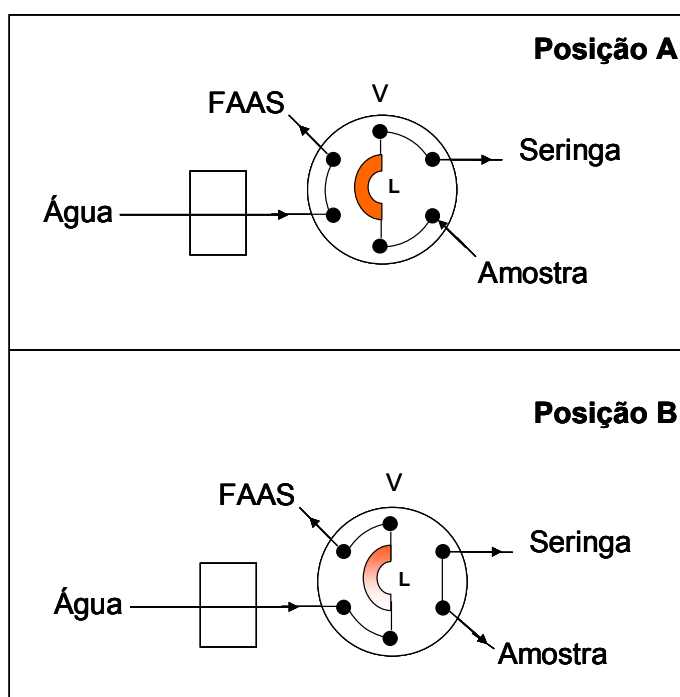
**Tabela 13.** Influência do método de introdução da fase enriquecida no equipamento de detecção

Método	Medidas				Desvio-padrão relativo (%)
Medida direta	0,138	0,113	0,131	0,106	12,3
Seringa	0,095	0,147	0,120	0,126	17,2
Alça de amostragem	0,149	0,144	0,152	0,144	2,7

a) Medida direta. Neste método, a fase aquosa sobrenadante é retirada do contato com a fase enriquecida, com o auxílio de uma seringa e, então, descartada. A fase enriquecida é, então, aspirada para o FAAS ( $5,0 \text{ mL min}^{-1}$ ). A quantidade de fase enriquecida é muito pequena. Este procedimento gerou resultados bastante imprecisos e foi, desta forma, abandonado.

b) Injeção com seringa. Testou-se, também, a introdução da fase enriquecida no FAAS com o auxílio de uma seringa de 10  $\mu\text{L}$ . Uma quantidade definida da fase enriquecida é coletada com a seringa e injetada diretamente no capilar do FAAS. Apesar de simples e bastante prático, este procedimento não apresentou uma precisão satisfatória e não foi adotado.

c) Injeção com alça de amostragem. Para melhorar a precisão das medidas, testou-se um dispositivo simples de injeção no FAAS. O esquema deste dispositivo é mostrado na Figura 16. O sistema consiste de uma válvula de seis portas, uma bomba peristáltica, uma seringa de plástico e tubos capilares de Teflon. Aspira-se a fase enriquecida com o auxílio da seringa até que o líquido preencha todo o volume da alça de amostragem. Então, a posição da válvula é mudada e um fluxo de água transporta a fase enriquecida até o FAAS. Obtém-se um sinal transiente. O volume da alça de amostragem foi fixado em 20  $\mu\text{L}$ . Esta forma de introdução melhorou bastante a precisão das medidas e foi adotada em todos os experimentos posteriores.

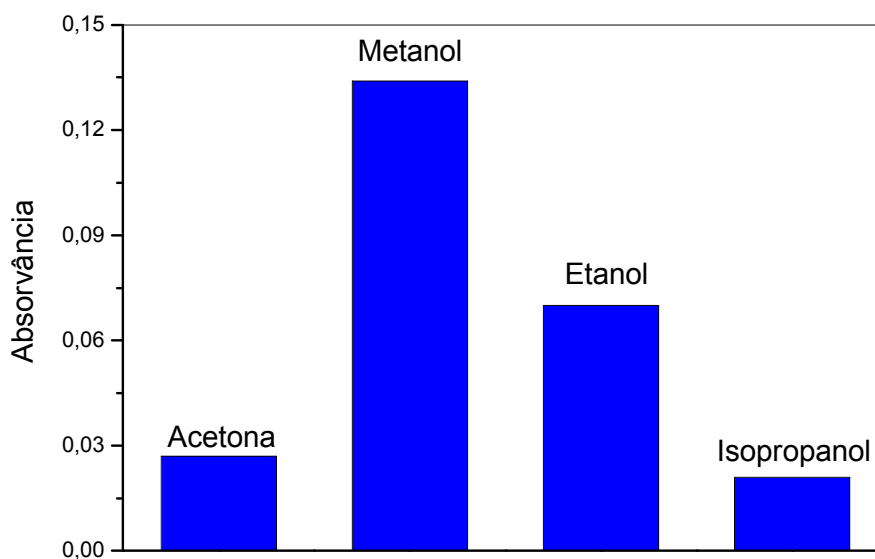


**Figura 16.** Sistema para injeção da fase enriquecida no espectrômetro de absorção atômica com chama (FAAS). V: válvula de seis vias; L: alça de amostragem, 20  $\mu\text{L}$ ; A: válvula V em posição de enchimento; B: válvula V em posição de injeção.



### 5.2.6. Efeito do tipo de solvente dispersivo

Em procedimentos que utilizam micro-extração dispersiva líquido-líquido, o solvente dispersivo deve ser miscível na fase aquosa e no solvente extrator. Assim, acetona, etanol, isopropanol e metanol foram testados como solventes dispersivos. O efeito destes solventes na pré-concentração de cobalto por micro-extração dispersiva líquido-líquido foi investigado, utilizando-se 2000  $\mu\text{L}$  de cada solvente juntamente com 50  $\mu\text{L}$  do solvente extrator, tetracloreto de carbono, e 50  $\mu\text{L}$  de solução de Br-TAO  $1,3 \times 10^{-3} \text{ mol L}^{-1}$ . De acordo com os resultados apresentados na Figura 17, maiores sinais analíticos foram obtidos com o uso de metanol como solvente dispersivo. Desta forma, este solvente foi empregado em todos os experimentos posteriores.



**Figura 17.** Influência do tipo de solvente dispersivo na micro-extração dispersiva líquido-líquido de cobalto utilizando Br-TAO

### 5.2.7. Efeito da quantidade de solvente dispersivo

O efeito da quantidade de metanol, o solvente dispersivo, também foi avaliado. Experimentos foram realizados utilizando-se diferentes volumes de metanol, variando de 0,50 a 2,50 mL. O volume da fase sedimentada deve ser

mantido constante, para uma melhor comparação dos resultados. Assim, o volume de tetracloreto de carbono, o solvente extrator, foi variado simultaneamente com a quantidade de solvente dispersivo, para manter o volume de fase sedimentada constante. Utilizando-se as quantidades dos solventes apresentadas na Tabela 14, o volume de fase sedimentada obtido experimentalmente permaneceu em, aproximadamente, 25  $\mu\text{L}$ . Os resultados mostram que a extração é máxima quando utilizado um volume de metanol de 2,0 mL. Quando uma pequena quantidade de metanol foi utilizada, este não conseguiu dispersar apropriadamente o solvente extrator, tetracloreto de carbono, e a solução turva não se formou completamente. Ao contrário, quando uma quantidade excessiva do solvente dispersante é utilizada, a solubilidade do complexo do cobalto com o Br-TAO aumenta significativamente, prejudicando a extração. Desta forma, nos experimentos posteriores, foi utilizado um volume de metanol de 2,0 mL.

**Tabela 14.** Influência da quantidade de solvente dispersivo e solvente extrator utilizadas na micro-extração dispersiva líquido-líquido de cobalto utilizando Br-TAO

Quantidade de solvente dispersivo (mL)	Quantidade de solvente extrator ( $\mu\text{L}$ )	Absorvância
0,50	48,5	0,070
1,00	50,0	0,137
1,50	51,0	0,156
2,00	52,0	0,160
2,50	53,5	0,112

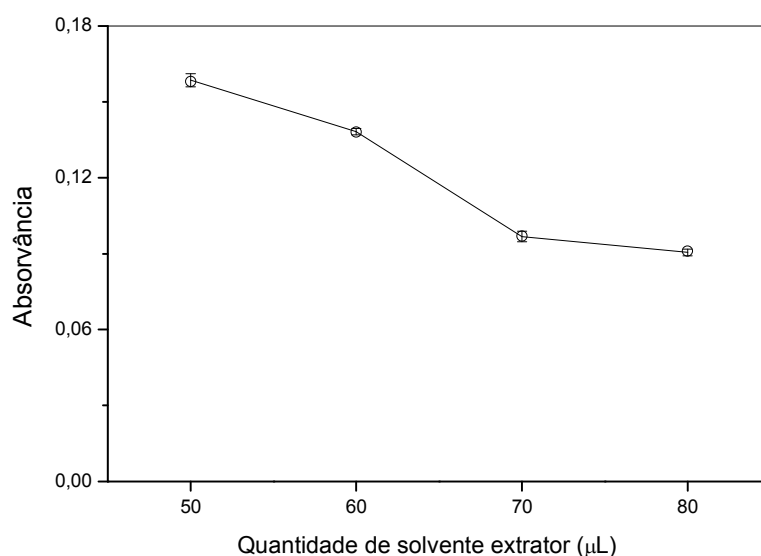
#### 5.2.8. Efeito do tipo de solvente extrator

O solvente extrator utilizado em procedimentos de micro-extração dispersiva líquido-líquido deve ter as mesmas características desejáveis aos solventes utilizados em extrações líquido-líquido convencionais. É desejável que este solvente apresente baixa solubilidade em água, alta capacidade de extração dos componentes de interesse, nesse caso, o sistema Co (II) – Br-

TAO, e seja mais denso que a água. Dois solventes com estas propriedades foram testados: clorofórmio e tetracloreto de carbono. A turvação da solução foi observada apenas com o uso do tetracloreto de carbono. Quando utilizado o solvente clorofórmio, a solução permaneceu límpida. Ainda assim, foi promovida a centrifugação. No entanto, não houve separação de fases, neste caso. Então, em todos os experimentos posteriores, foi utilizado tetracloreto de carbono como solvente extrator.

### 5.2.9. Efeito da quantidade de solvente extrator

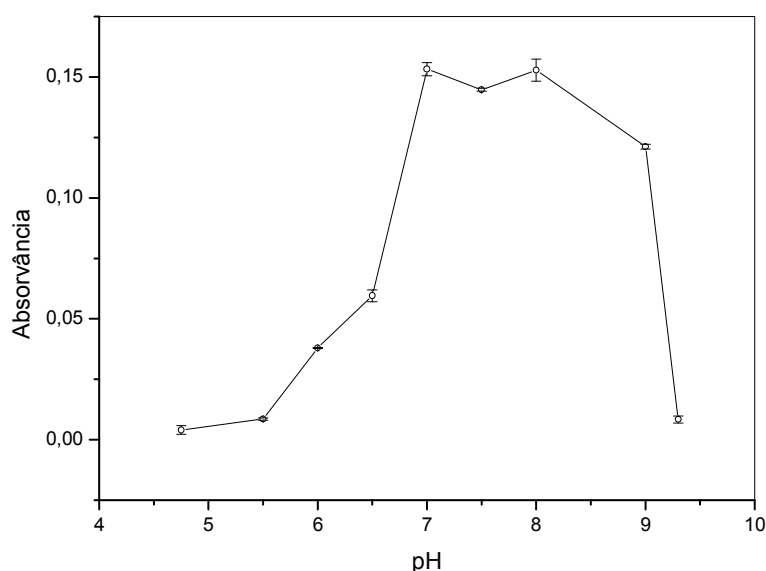
A influência da quantidade solvente extrator utilizada na micro-extração dispersiva líquido-líquido de cobalto utilizando Br-TAO foi investigada. Foram executados experimentos utilizando volumes de tetracloreto de carbono de 50, 60, 70 e 80  $\mu\text{L}$ . Os resultados são apresentados na Figura 18. De acordo com os resultados apresentados na figura, o sinal obtido decresce para um aumento no volume do solvente extrator. Isso ocorre devido ao aumento de volume, para uma mesma massa do componente analisado. Então, para os experimentos posteriores, foram utilizados 50  $\mu\text{L}$  do solvente extrator.



**Figura 18.** Influência da quantidade de solvente extrator na micro-extração dispersiva líquido-líquido de cobalto utilizando Br-TAO

### 5.2.10. Efeito do pH

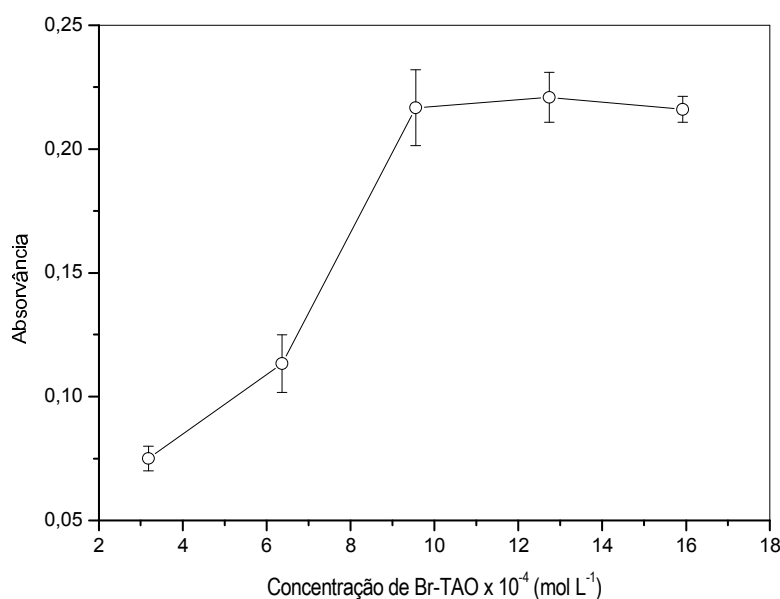
O pH da solução aquosa é um fator importante na micro-extração dispersiva líquido-líquido de cobalto utilizando Br-TAO, pois este parâmetro está diretamente relacionado à formação das espécies metal-ligante. O pH da solução de cobalto foi variado utilizando-se soluções-tampão acetato (pH 4,8 e 5,5), fosfato (pH 6,0 e 6,5), borato (pH 7,0, 7,5 e 8,0) e amoniacal (pH 9,0 e 9,25). Foram preparadas soluções de cobalto  $100 \mu\text{g L}^{-1}$  com um volume total de 100 mL, contendo 10 mL de cada solução-tampão. De acordo com a Figura 19, a faixa de pH onde é máxima a extração de cobalto é entre 7,0 e 8,0. O valor de pH de 7,5 para a solução de cobalto foi utilizado nos experimentos posteriores, utilizando tampão borato.



**Figura 19.** Influência do pH na micro-extração dispersiva líquido-líquido de cobalto utilizando Br-TAO

### 5.2.11. Efeito da concentração da solução de Br-TAO

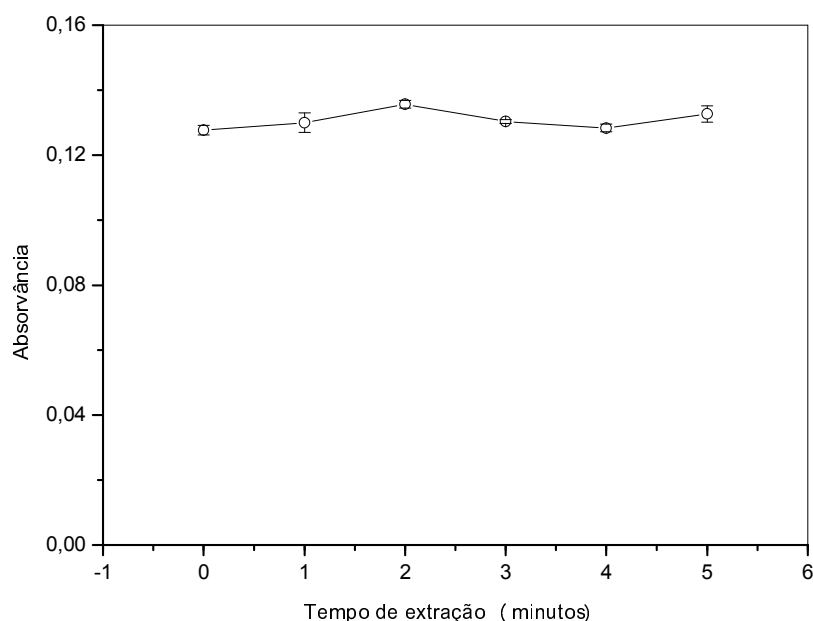
A influência da quantidade do reagente Br-TAO na micro-extração dispersiva líquido-líquido de cobalto foi avaliada variando-se a concentração da solução deste reagente. Foram preparadas soluções de Br-TAO de concentrações  $3,2 \times 10^{-4}$ ,  $6,4 \times 10^{-4}$ ,  $9,6 \times 10^{-4}$ ,  $1,3 \times 10^{-3}$  e  $1,6 \times 10^{-3}$  mol L<sup>-1</sup> em etanol. Cada uma destas soluções foi misturada ao solvente extrator e ao solvente dispersivo, e injetada na solução aquosa de cobalto. O resultado obtido para cada solução é mostrado na Figura 20. Observa-se que os melhores resultados são obtidos quando utilizadas soluções de Br-TAO de concentrações  $9,6 \times 10^{-4}$  a  $1,6 \times 10^{-3}$  mol L<sup>-1</sup>. O solvente da solução também foi testado, preparando-se duas soluções de Br-TAO  $1,3 \times 10^{-3}$  mol L<sup>-1</sup>, uma com o soluto dissolvido em etanol outra em metanol. Promoveu-se a micro-extração dispersiva líquido-líquido e observou-se que o resultado foi similar para ambos os solventes. Então, nos experimentos posteriores, utilizou-se solução de Br-TAO  $1,3 \times 10^{-3}$  mol L<sup>-1</sup> em etanol, devido à sua menor toxicidade.



**Figura 20.** Influência da concentração do reagente complexante na micro-extração dispersiva líquido-líquido de cobalto utilizando Br-TAO

### 5.2.12. Efeito do tempo da micro-extração

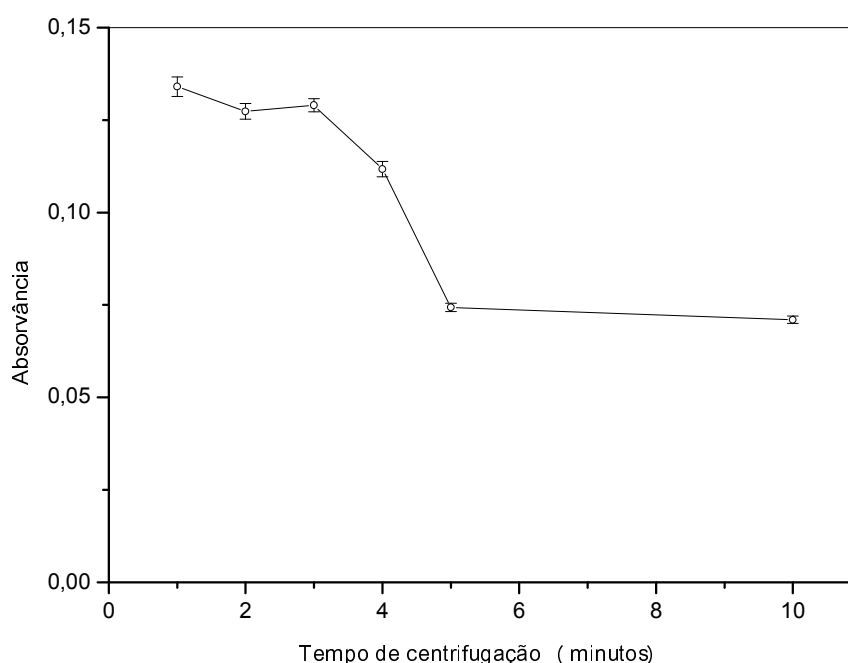
O tempo da micro-extração dispersiva líquido-líquido de cobalto utilizando Br-TAO foi considerado como o intervalo de tempo entre a mistura dos reagentes e o momento do início do processo de centrifugação. Foram retiradas alíquotas de 10,0 mL de solução de cobalto  $100 \mu\text{g L}^{-1}$  e transportadas para diferentes tubos de ensaio. A solução contendo o reagente Br-TAO, tetracloreto de carbono e metanol foi, então, injetada em cada tubo. O intervalo de tempo entre a injeção e o início da centrifugação foi, então, variado, utilizando os valores de 0,0, 1,0, 2,0, 3,0, 4,0 e 5,0 minutos. Os resultados apresentados na Figura 21 revelam que o tempo, no intervalo estudado, não tem qualquer influência na eficiência da micro-extração. Isso indica que o processo de extração é bastante rápido, provavelmente devido à grande área de contato entre o solvente de extração e a fase aquosa. Nos experimentos posteriores, a separação das fases através de centrifugação foi realizada imediatamente após a mistura dos reagentes. Essa característica da micro-extração dispersiva líquido-líquido torna o procedimento bastante rápido.



**Figura 21.** Influência do tempo na micro-extração dispersiva líquido-líquido de cobalto utilizando Br-TAO

### 5.2.13. Efeito do tempo de centrifugação

A influência do tempo de centrifugação na micro-extração dispersiva líquido-líquido de cobalto utilizando Br-TAO foi também estudada. De acordo com os resultados apresentados na Figura 22, a extração é máxima quando a centrifugação é realizada no intervalo de 1,0 a 3,0 minutos. Se o período de centrifugação for superior a 3,0 minutos, há um decréscimo no sinal analítico. Provavelmente, isso ocorre devido à dispersão das gotículas do solvente extrator na fase aquosa. Para viabilizar um procedimento rápido, característica importante em muitas aplicações analíticas, foi utilizado um tempo de centrifugação de 2,0 minutos em todos os experimentos posteriores.



**Figura 22.** Influência do tempo de centrifugação na micro-extração dispersiva líquido-líquido de cobalto utilizando Br-TAO

### 5.2.14. Condições otimizadas

Após os estudos de otimização, as condições apresentadas na Tabela 15 foram estabelecidas e utilizadas nos experimentos posteriores.

**Tabela 15.** Condições experimentais otimizadas utilizadas na micro-extração dispersiva líquido-líquido utilizando Br-TAO na determinação de cobalto

Parâmetro		Condição
pH da extração		7,5
Solvente dispersivo	Tipo	Metanol
	Quantidade	2,0 mL
Solvente extrator	Tipo	Tetracloroeto de carbono
	Quantidade	50 µL
Tempo	Extração	0 minuto
	Centrifugação	2 minutos
Solução de Br-TAO	Concentração	$1,3 \times 10^{-3} \text{ mol L}^{-1}$



### 5.2.15. Estudo de efeito de outros íons

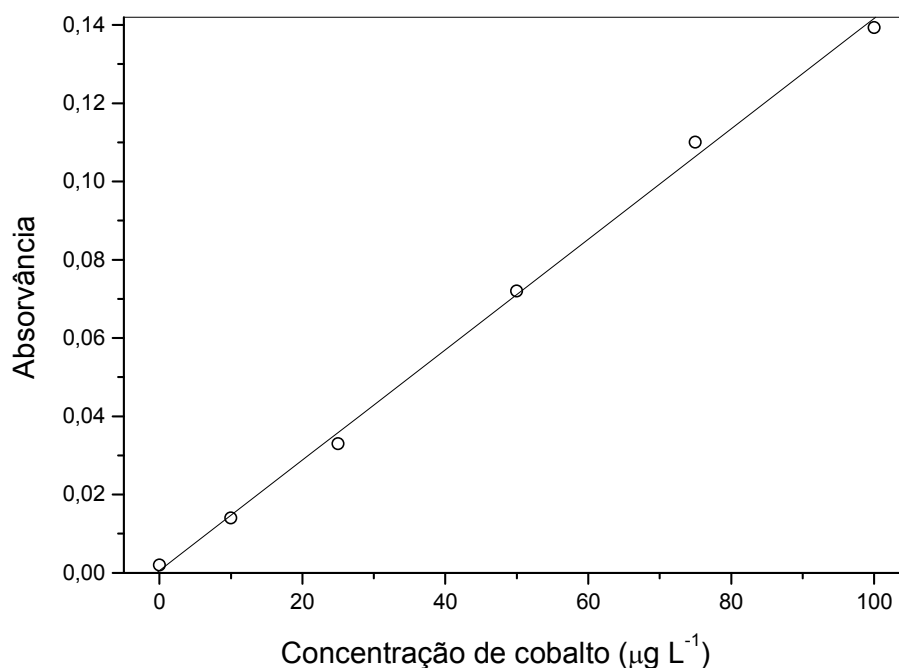
O efeito de diversos íons na micro-extração dispersiva líquido-líquido de cobalto utilizando Br-TAO foi estudada, sob as condições otimizadas. O critério para interferência foi fixado em  $\pm 5,0 \%$  na extração, para uma solução de cobalto de  $100,0 \mu\text{g L}^{-1}$ . A Tabela 16 apresenta as substâncias estudadas e as suas quantidades máximas toleráveis.

**Tabela 16.** Quantidades máximas toleráveis de outras espécies na micro-extração dispersiva líquido-líquido utilizando Br-TAO na determinação de cobalto

Espécie	Quantidade máxima tolerável
Al (III)	$10,0 \text{ mg L}^{-1}$
Br (-I)	$5,0 \text{ g L}^{-1}$
Ca (II)	$10,0 \text{ g L}^{-1}$
Cd (II)	$5,0 \text{ mg L}^{-1}$
Cl (-I)	$50,0 \text{ g L}^{-1}$
Cu (II)	$5,0 \text{ mg L}^{-1}$
Fe (III)	$2,0 \text{ mg L}^{-1}$
K (I)	$10,0 \text{ g L}^{-1}$
Mg (II)	$1,0 \text{ g L}^{-1}$
Na (I)	$50,0 \text{ g L}^{-1}$
Ni (II)	$1,0 \text{ mg L}^{-1}$
NO <sub>3</sub> (-I)	$10,0 \text{ g L}^{-1}$
Pb (II)	$1,0 \text{ mg L}^{-1}$
SO <sub>4</sub> (-II)	$5,0 \text{ g L}^{-1}$
Zn (II)	$10,0 \text{ mg L}^{-1}$

### 5.2.16. Parâmetros analíticos

Foram preparadas soluções de cobalto de concentração 0,0; 10,0; 25,0; 50,0; 75,0, 100,0; 150,0 e 200,0  $\mu\text{g L}^{-1}$ . Durante o preparo destas soluções, foram adicionados 10 mL de solução-tampão borato de sódio pH 7,5 a cada solução, antes de completar o volume com água desionizada. A seção linear da curva analítica relacionando a concentração de cobalto ao sinal analítico é apresentada na Figura 23.

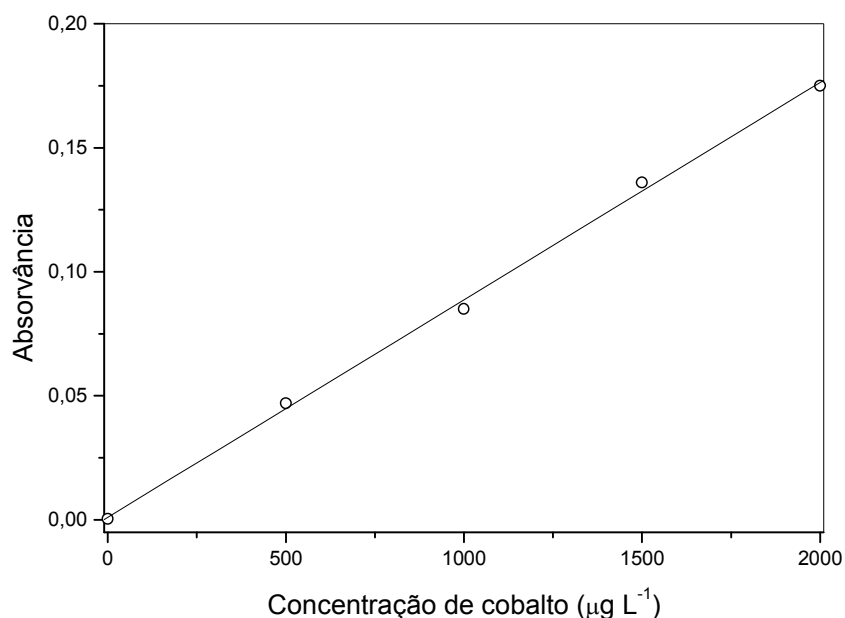


**Figura 23.** Curva analítica relativa à determinação de cobalto após a micro-extração dispersiva líquido-líquido utilizando Br-TAO

Utilizando-se os valores obtidos dos sinais analíticos para as curvas, foram calculados alguns parâmetros relativos ao sistema. O limite de detecção, calculado como  $3s_b/b$ , sendo  $s_b$  o desvio-padrão do branco e  $b$  o coeficiente angular da seção linear da curva analítica, foi  $0,9 \mu\text{g L}^{-1}$ . O limite de quantificação, calculado como  $10s_b/b$ , foi  $3,0 \mu\text{g L}^{-1}$ . O sistema apresenta linearidade até o valor de concentração de  $100 \mu\text{g L}^{-1}$ . A equação da curva analítica no intervalo de  $3,0$  a  $100 \mu\text{g L}^{-1}$  é  $A = 5,81 \times 10^{-4} + 1,41 \times 10^{-3} C$ , onde  $A$  é a absorvância e  $C$  a concentração de cobalto, em  $\mu\text{g L}^{-1}$ , com coeficiente de correlação  $r = 0,9990$ .

O desvio-padrão relativo correspondente aos valores de concentração da curva analítica, calculado como  $(s/X) \times 100$ , sendo  $s$  o desvio-padrão para sete medidas e  $X$  o valor médio dessas medidas, variou de 2,3 a 5,8%.

O fator de enriquecimento foi calculado pela razão entre os coeficientes angulares das curvas analíticas com pré-concentração e sem pré-concentração. A curva analítica para determinação direta de cobalto utilizando a espectrometria de absorção atômica com chama é mostrada na Figura 24. A equação desta curva analítica é  $A = 1,00 \times 10^{-3} + 8,76 \times 10^{-5} C$ , com coeficiente de correlação  $r = 0,9997$ . O valor do fator de enriquecimento encontrado para o sistema de micro-extração dispersiva líquido-líquido utilizando Br-TAO na determinação de cobalto foi 16.



**Figura 24.** Curva analítica relativa à determinação direta de cobalto utilizando espectrometria de absorção atômica com chama

O índice de consumo foi calculado pela razão entre o volume de solução do metal utilizado na pré-concentração e o fator de enriquecimento. Este parâmetro indica o volume necessário para a obtenção de uma unidade do fator de enriquecimento. É um parâmetro interessante para comparar procedimentos que utilizam volumes muito diferentes de amostra. O valor

encontrado para o índice de consumo deste procedimento, considerando-se 5 mL de solução de metal, foi 0,31.

Um resumo das características analíticas do sistema de micro-extração dispersiva líquido-líquido utilizando Br-TAO na determinação de cobalto é apresentado na Tabela 17.

**Tabela 17.** Parâmetros analíticos relativos à determinação de cobalto após a micro-extração dispersiva líquido-líquido utilizando Br-TAO

Equação da seção linear da curva analítica	$A = 5,81 \times 10^{-4} + 1,41 \times 10^{-3} C$
Limite de detecção	0,9 $\mu\text{g L}^{-1}$
Limite de quantificação	3,0 $\mu\text{g L}^{-1}$
Fator de pré-concentração	16
Índice de consumo	0,31 mL
Precisão	2,3 a 5,8%
Faixa de linearidade	3,0 a 100,00 $\mu\text{g L}^{-1}$

### 5.2.17. Aplicação

O método proposto foi aplicado à determinação de cobalto em amostras reais de águas e no material de referência certificado NIST 1570a, Folhas de Espinafre, proveniente do National Institute of Standards and Technology. Para determinar a exatidão do método, o material de referência foi digerido e a amostra líquida foi submetida ao processo de pré-concentração e determinação. O teor de cobalto obtido pelo procedimento proposto foi  $0,43 \pm 0,07 \mu\text{g g}^{-1}$ , que concorda com o valor certificado  $0,39 \pm 0,05 \mu\text{g g}^{-1}$ .

Cobalto foi também determinado após aplicação do procedimento proposto a amostras de água potável, água de rio e água de poço, coletadas na cidade de Jequié, Bahia. As amostras foram filtradas e analisadas logo após a coleta. Os resultados obtidos para três determinações individuais estão apresentados na Tabela 18. Foram adicionadas, também, quantidades conhecidas do metal, para o cálculo da recuperação para cada amostra. Os

valores das recuperações variaram no intervalo de 94 a 104 %, demonstrando a aplicabilidade do método.

**Tabela 18.** Resultados da determinação de cobalto em águas após a micro-extração dispersiva líquido-líquido utilizando Br-TAO

Amostra	Quantidade de cobalto ( $\mu\text{g L}^{-1}$ )		Recuperação (%)
	Adicionada	Encontrada	
Água potável	0	< L.D.	96
	5	$4,8 \pm 0,3$	
Água de rio	0	$3,2 \pm 0,3$	104
	5	$8,4 \pm 0,4$	
Água de poço	0	< L.D.	94
	5	$4,7 \pm 0,1$	

### **5.3. Sistema em linha com injeção seqüencial e extração no ponto-nuvem para pré-concentração de manganês utilizando Br-TAO**

#### **5.3.1. Princípio do método**

Neste trabalho, pretendeu-se desenvolver um sistema para a pré-concentração de manganês. O procedimento foi baseado na extração no ponto-nuvem de manganês no sistema de injeção seqüencial e retenção em minicoluna com posterior detecção por espectrometria de Absorção Atômica com chama. O sistema é ilustrado na Figura 9.

#### **5.3.2. Condições iniciais**

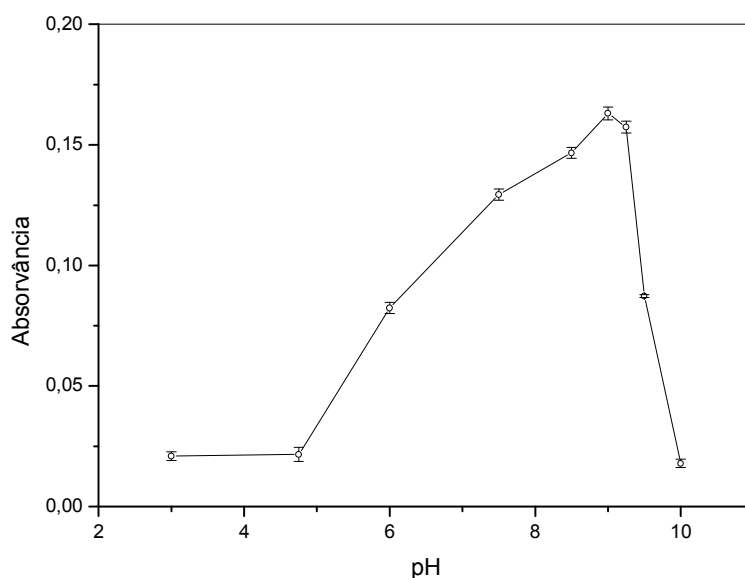
As condições utilizadas para os experimentos iniciais são apresentadas na Tabela 19 e foram baseadas em testes prévios ou relatos da literatura.

**Tabela 19.** Condições experimentais iniciais utilizadas na micro-extração dispersiva líquido-líquido utilizando Br-TAO na determinação de cobalto

Parâmetro		Condição
Solução de Mn (II)	Tipo	100 µg L <sup>-1</sup>
	Quantidade	2800 µL
pH da extração		8,0
Eletrólito	Tipo	Cloreto de sódio
	Quantidade	700 µL
Eluente	Tipo	Ácido sulfúrico
	Concentração	5,0 x 10 <sup>-2</sup> mol L <sup>-1</sup>
Surfactante	Tipo	Triton X-114
	Concentração	1,0 x 10 <sup>-2</sup> % (v/v)
Reagente Br-TAO	Concentração	8,0 x 10 <sup>-6</sup> mmol L <sup>-1</sup>
Recheio da minicoluna	Tipo	Algodão
	Quantidade	100 mg
Solução surfactante/reagente		700 µL
Tamanho da bobina de reação		200 cm
Temperatura de incubação		25-30° C
Tempo de incubação		0,0 s
Vazão de aspiração e propulsão		140 µL s <sup>-1</sup> .
Vazão de eluição		5,0 mL min <sup>-1</sup>

### 5.3.3. Efeito do pH

O pH da solução de manganês é um parâmetro importante para ser estudado na otimização do sistema desenvolvido. O pH foi variado utilizando-se soluções-tampão listadas no Capítulo 4. Soluções de Mn (II) em diferentes valores de pH foram preparadas pela adição de 10 mL da solução-tampão apropriada, para um volume total de 100 mL. As soluções foram, então, submetidas ao processo de pré-concentração conforme sistema representado na Figura 9. Os resultados obtidos são apresentados na Figura 25 e, como pode-se observar, o sinal analítico é máximo quando utilizou-se solução-tampão amoniacal de pH 9,0. Esta solução foi, então, utilizada nos experimentos posteriores.

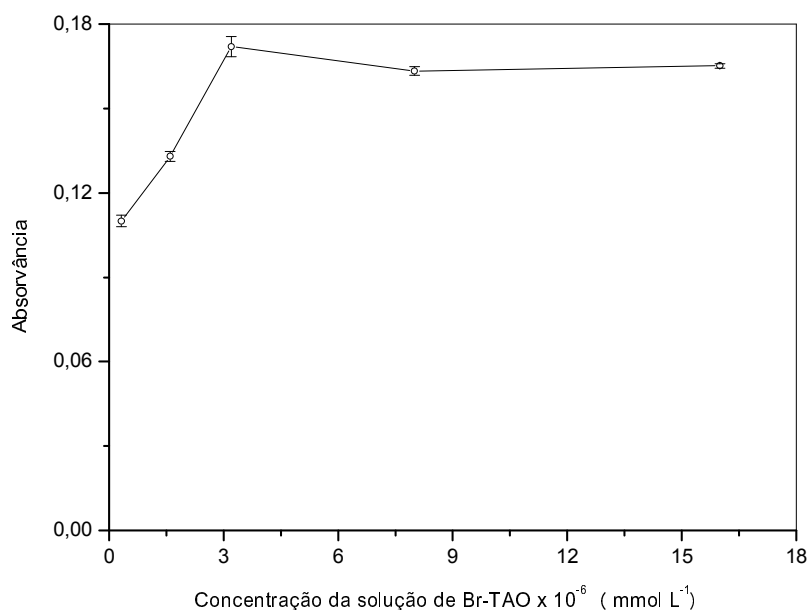


**Figura 25.** Influência do pH no sistema em linha com injeção seqüencial e extração no ponto-nuvem para pré-concentração de manganês utilizando Br-TAO.



### 5.3.4. Efeito da concentração da solução de Br-TAO

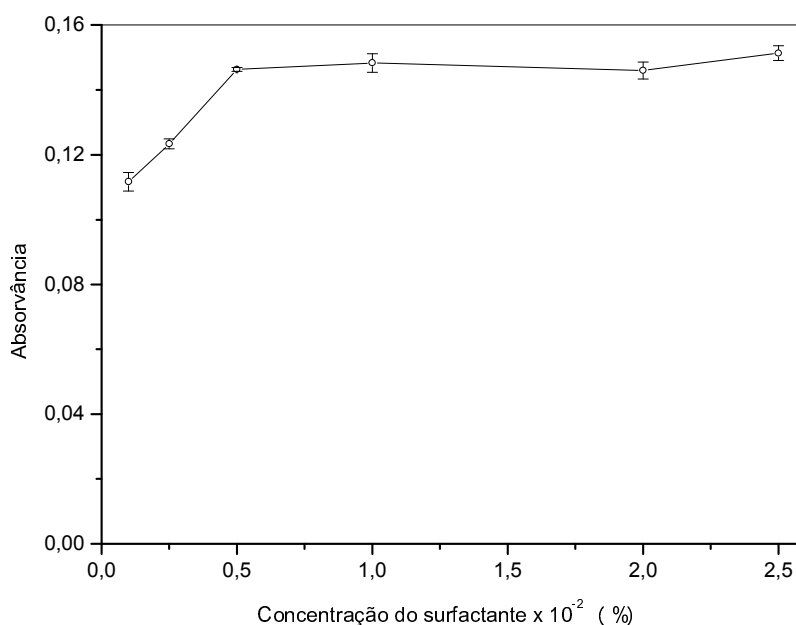
A influência da quantidade do reagente Br-TAO no sistema também foi investigada. Para este estudo, foram preparadas soluções de surfactante-reagente. Nestas soluções, a concentração final do surfactante Triton X-114 foi fixada em  $2,5 \times 10^{-2} \%$  (v/v) e as concentrações do reagente Br-TAO foram  $3,2 \times 10^{-7}$ ,  $1,6 \times 10^{-6}$ ,  $3,2 \times 10^{-6}$ ,  $8,0 \times 10^{-6}$  e  $1,6 \times 10^{-5} \text{ mmol L}^{-1}$ . Para o preparo, quantidades adequadas de soluções de Triton X-114 e Br-TAO foram misturadas e o volume completado com água desionizada. Os resultados apresentados na Figura 26 mostram que o sinal analítico aumenta até a concentração de  $3,2 \times 10^{-6} \text{ mmol L}^{-1}$ , quando atinge o valor máximo. Para os experimentos posteriores, foi escolhida, então, solução de Br-TAO  $8,0 \times 10^{-6} \text{ mmol L}^{-1}$ .



**Figura 26.** Influência da concentração do reagente no sistema em linha com injeção seqüencial e extração no ponto-nuvem para pré-concentração de manganês utilizando Br-TAO.

### 5.3.5. Efeito da concentração de surfactante

O surfactante utilizado no sistema em linha com extração no ponto nuvem foi o Triton X-114. A influência da concentração desta substância no sinal analítico do manganês foi estudada. Para este estudo, foram utilizadas soluções de Triton X-114 de concentrações  $1,0 \times 10^{-3}$ ,  $2,5 \times 10^{-3}$ ,  $5,0 \times 10^{-3}$ ,  $1,0 \times 10^{-2}$ ,  $2,0 \times 10^{-2}$  e  $2,5 \times 10^{-2}$  % (v/v). Os resultados estão apresentados na Figura 27. Os mais altos sinais analíticos foram obtidos quando utilizadas soluções de Triton X-114 maiores ou iguais a  $5 \times 10^{-3}$  % (v/v). Então, soluções de Triton X-114 a  $1,0 \times 10^{-2}$  % (v/v) foram escolhidas para os trabalhos subsequentes.



**Figura 27.** Influência da concentração do surfactante Triton X-114 no sistema em linha com injeção sequencial e extração no ponto-nuvem para pré-concentração de manganês utilizando Br-TAO.

### 5.3.6. Tipo de eluente

Um solvente apropriado deve ser usado após a etapa de pré-concentração, para remover o manganês da minicoluna. Este eluente também tem a função de transportar os íons do metal para o nebulizador do espectrômetro de absorção atômica com chama. Assim, a escolha deste eluente pode ser um fator fundamental no sinal analítico após a etapa de pré-concentração. A influência do tipo e da concentração do eluente escolhido no sinal analítico do sistema em linha com extração no ponto nuvem foi, então, investigada. Água, soluções de ácidos minerais e etanol foram empregados como eluentes, visando obter um bom resultado na eficiência de dessorção e no sinal analítico. Os eluentes utilizados e os sinais analíticos obtidos são listados na Tabela 20.

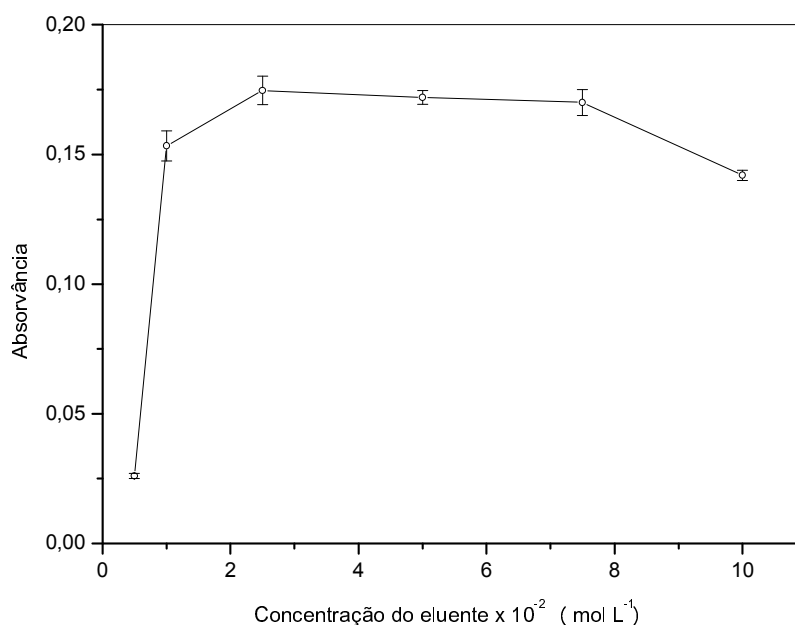
**Tabela 20.** Influência do tipo de eluente no sistema em linha com injeção seqüencial e extração no ponto-nuvem para pré-concentração de manganês utilizando Br-TAO.

Eluente	Absorvância
Água	0,000
Etanol	0,007
Etanol a 10 % (v/v)	0,020
Etanol a 30 % (v/v)	0,017
Ácido clorídrico 0,1 mol L <sup>-1</sup>	0,144
Ácido nítrico 0,1 mol L <sup>-1</sup>	0,139
Ácido sulfúrico 0,1 mol L <sup>-1</sup>	0,142

Quando água é utilizada como eluente, o sinal analítico é zero. Nestas condições, não é observada dessorção, evidenciada pelo desaparecimento da coloração avermelhada do Br-TAO da minicoluna. Etanol e suas soluções são bons eluentes para dessorção, mas promovem baixos sinais analíticos. Os melhores resultados em dessorção e sinal analítico foram obtidos com o uso dos ácidos clorídrico, nítrico e sulfúrico como eluentes. Como o uso do ácido sulfúrico acarretou resultados mais precisos, esta substância foi escolhida como eluente para os próximos experimentos.

### 5.3.7. Concentração do eluente

Para completar os resultados do estudo anterior, foram utilizadas como eluente, soluções de ácido sulfúrico de concentrações  $5,0 \times 10^{-3}$ ,  $1,0 \times 10^{-2}$ ,  $2,5 \times 10^{-2}$ ,  $5,0 \times 10^{-2}$ ,  $7,5 \times 10^{-2}$  e  $1,0 \times 10^{-1}$  mol L<sup>-1</sup>. Os sinais analíticos obtidos e as respectivas concentrações de ácido são mostrados na Figura 28. De acordo com o gráfico apresentado, melhores resultados são obtidos quando utilizadas concentrações de ácido maiores ou iguais a  $2,5 \times 10^{-2}$  mol L<sup>-1</sup>. Quando utilizada solução de ácido  $1,0 \times 10^{-1}$  mol L<sup>-1</sup>, há um decréscimo no sinal analítico, provavelmente devido a acidez residual na minicoluna. Assim, soluções de ácido sulfúrico  $5,0 \times 10^{-2}$  mol L<sup>-1</sup> foram utilizadas nos experimentos posteriores.



**Figura 28.** Influência da concentração do eluente no sistema em linha com injeção seqüencial e extração no ponto-nuvem para pré-concentração de manganês utilizando Br-TAO.

---

---

### 5.3.8. Efeito de eletrólitos

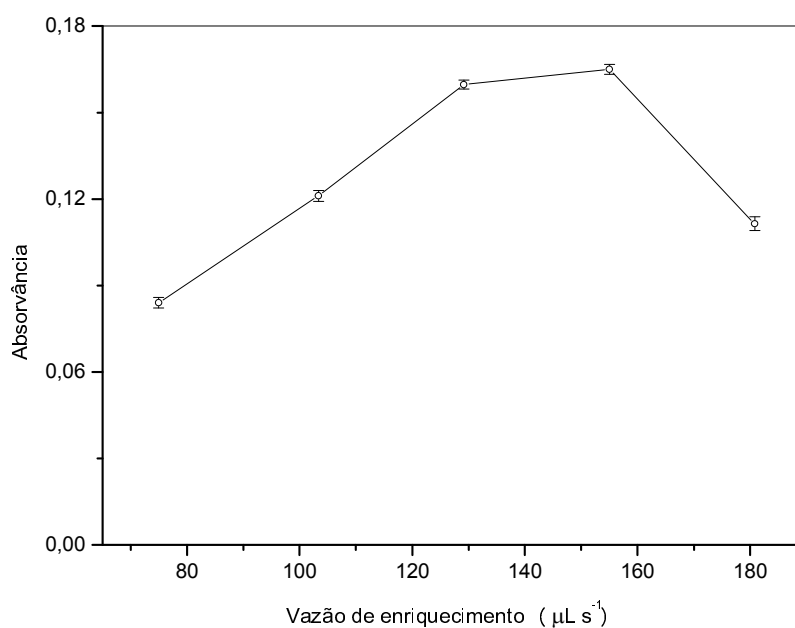
A adição de alguns eletrólitos é empregada por alguns autores como uma alternativa em procedimentos com extração no ponto nuvem, para uma pré-concentração mais eficiente [157,127]. Em alguns casos, estas substâncias são adicionadas ao meio com o objetivo de decrescer a temperatura do ponto nuvem [158]. Neste trabalho, foram testadas soluções saturadas de sulfato de sódio, cloreto de sódio, cloreto de potássio e nitrato de potássio. De acordo com a Tabela 21, sinais analíticos maiores foram obtidos utilizando-se cloreto de sódio, que foi empregado nos experimentos posteriores.

**Tabela 21.** Influência de eletrólitos no sistema em linha com injeção seqüencial e extração no ponto-nuvem para pré-concentração de manganês utilizando Br-TAO.

Substância	Absorvância
Sulfato de sódio	0,131
Cloreto de sódio	0,142
Nitrato de potássio	0,136
Cloreto de potássio	0,125

### 5.3.9. Efeito da vazão de enriquecimento

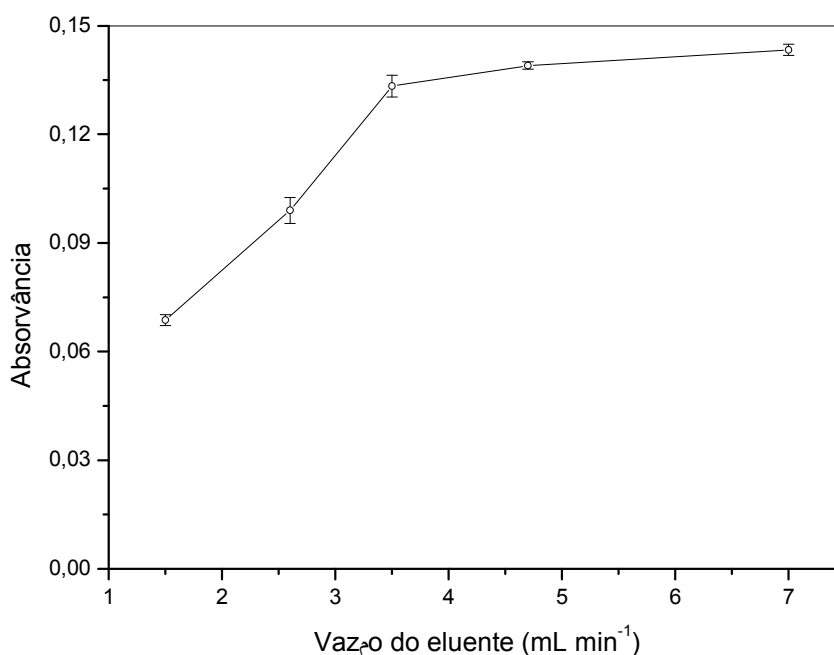
A influência da vazão com a qual a mistura passa pela minicoluna foi também investigada. Esta vazão corresponde à taxa de carreamento da mistura pela água, correspondente à etapa 04 da Figura 9 ou da Tabela 10. Foram utilizadas vazões variando de 75 a 180  $\mu\text{L s}^{-1}$ . A vazão de aspiração dos reagentes, correspondente às etapas 01, 02 e 03 da Figura 9 ou da Tabela 10 foi mantida a 150  $\mu\text{L s}^{-1}$ . A Figura 29 apresenta a variação do sinal analítico com a vazão de enriquecimento. As condições mais favoráveis para a coleta dos íons Mn (II) na minicoluna foram obtidas a vazões variando na faixa de 130 a 155  $\mu\text{L s}^{-1}$ . Então, nos experimentos posteriores, foi utilizada uma vazão de 140  $\mu\text{L s}^{-1}$ . Este valor foi também utilizado para a vazão de aspiração das soluções com o objetivo de facilitar a operação.



**Figura 29.** Influência da vazão de enriquecimento no sistema em linha com injeção seqüencial e extração no ponto-nuvem para pré-concentração de manganês utilizando Br-TAO.

### 5.3.10. Efeito da vazão do eluente

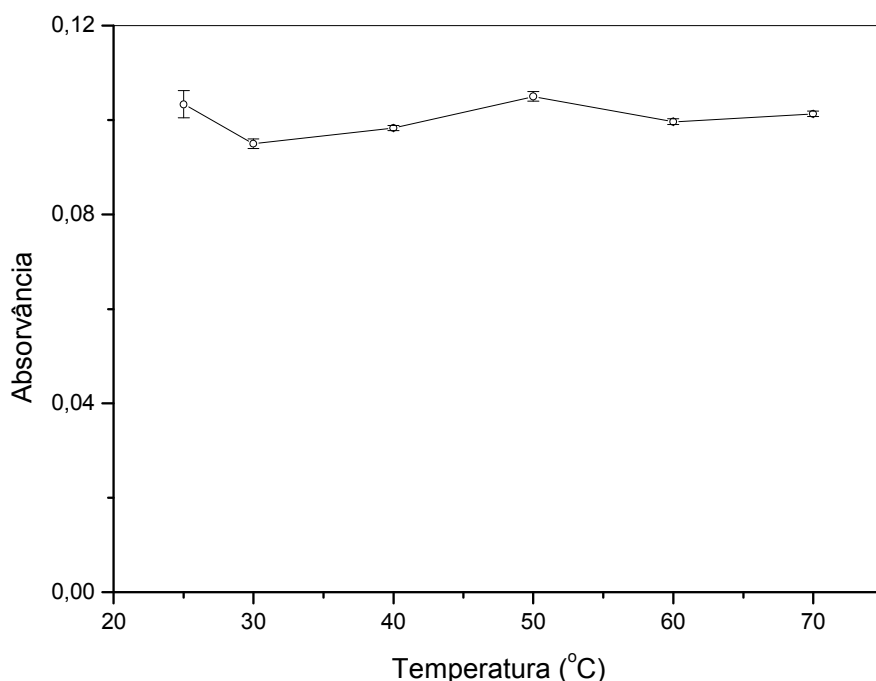
No sistema proposto, a vazão do eluente controla a velocidade de desorção do manganês da minicoluna. Uma solução de ácido sulfúrico  $5,0 \times 10^{-2} \text{ mol L}^{-1}$  foi bombeada através da minicoluna a diferentes valores de vazão. Estes valores variaram de 1,5 a  $7,0 \text{ ml min}^{-1}$ . Os resultados obtidos permitiram observar que, para valores de vazão de eluente no intervalo de 3,5 a  $7,0 \text{ ml min}^{-1}$ , o sinal analítico é máximo e praticamente constante (Figura 30). Para valores de vazão abaixo desse intervalo, o sinal decresceu consideravelmente, gerando picos largos. Provavelmente, isso é devido à incompatibilidade entre as vazões de eluição e aspiração, causando uma dispersão significativa, quando a vazão do eluente foi muito menor do que a do nebulizador, gerando picos largos. Dessa forma, nos experimentos posteriores, foi estabelecida uma vazão de  $5,0 \text{ ml min}^{-1}$ , pois, além desse valor estar situado no intervalo de maior sinal analítico, foi possível combinar as vazões de aspiração e eluição.



**Figura 30.** Influência da vazão do eluente no sistema em linha com injeção seqüencial e extração no ponto-nuvem para pré-concentração de manganês utilizando Br-TAO.

### 5.3.11. Efeito da temperatura de ponto nuvem

Um banho de aquecimento foi inserido no sistema da Figura 9, para a realização deste estudo. A bobina de reação foi completamente imersa na água do banho e a temperatura variada de 25 a 70° C. Neste experimento, o cloreto de sódio não foi adicionado; desta forma a etapa 3 (Figura 9 e Tabela 10) do procedimento foi suprimida. Os resultados são apresentados na Figura 31. Nenhuma mudança significativa foi observada no sinal analítico, para o intervalo de temperatura estudado. Desta forma, por razões de comodidade, os experimentos posteriores foram conduzidos à temperatura ambiente (25 a 30° C), sem a necessidade de banho de aquecimento.

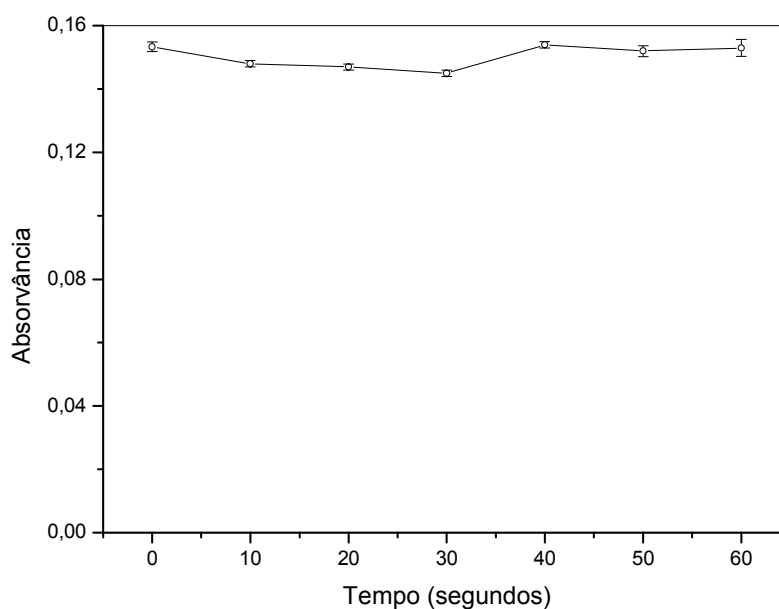


**Figura 31.** Influência da temperatura no sistema em linha com injeção seqüencial e extração no ponto-nuvem para pré-concentração de manganês utilizando Br-TAO.



### 5.3.12. Efeito do tempo da mistura

A influência do tempo decorrido após a aspiração de todas as soluções para a bobina de reação no sinal analítico também foi estudada. Para este estudo, a bomba 01 foi desligada entre as etapas C e D da Figura 9, interrompendo a vazão da mistura nos intervalos de tempo entre 0,0 e 60,0 segundos. Os resultados apresentados na Figura 32 permitem observar que o sinal analítico é constante no intervalo considerado. Desta forma, este intervalo de tempo entre as etapas C e D foi suprimido, para contribuir com a frequência analítica do sistema.



**Figura 32.** Influência do tempo no sistema em linha com injeção seqüencial e extração no ponto-nuvem para pré-concentração de manganês utilizando Br-TAO.

---

---

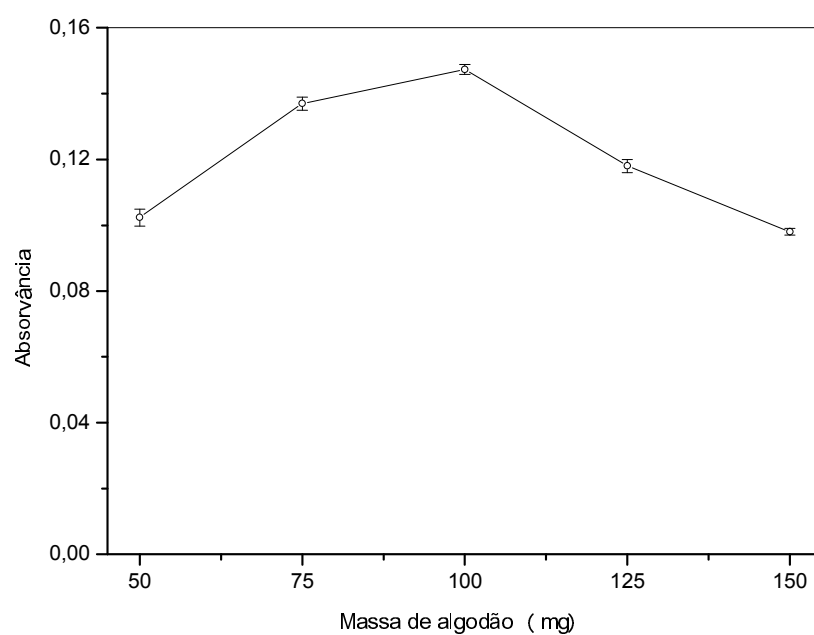
### 5.3.13. Efeito da massa e do tipo de material filtrante

Procedimentos de extração no ponto nuvem em batelada utilizam uma centrífuga para acelerar a decantação da fase rica. Em procedimentos em linha, a centrífuga é substituída por uma minicoluna contendo um material filtrante inerte para retenção da fase rica, com posterior eluição. A capacidade de retenção do material é um fator importante para o sistema. Os materiais estudados foram escolhidos baseados em trabalhos prévios. Estes materiais e os sinais analíticos obtidos são apresentados na Tabela 22. Os melhores resultados foram obtidos quando algodão foi utilizado como material filtrante.

**Tabela 22.** Influência do material filtrante no sistema em linha com injeção seqüencial e extração no ponto-nuvem para pré-concentração de manganês utilizando Br-TAO.

Material	Absorvância
Lã de vidro	0,070
Algodão	0,146
Filtro de cigarro	0,112

A quantidade algodão na minicoluna foi variada de 50 a 150 mg. Observou-se (Figura 33) que o uso de uma minicoluna contendo 100 mg de algodão promove o maior sinal analítico. Quantidades acima deste valor são limitadas pela pressão causada no sistema. Então, colunas cilíndricas de cloreto de polivinila (PVC) recheadas com 100 mg de algodão foram usadas nos experimentos subseqüentes.



**Figura 33.** Influência da massa de algodão na minicoluna do sistema em linha com injeção seqüencial e extração no ponto-nuvem para pré-concentração de manganês utilizando Br-TAO.

### 5.3.14. Condições otimizadas

Após os estudos de otimização, as condições apresentadas na Tabela 23 foram estabelecidas e utilizadas nos experimentos posteriores.

**Tabela 23.** Condições experimentais otimizadas utilizadas no sistema em linha com injeção seqüencial e extração no ponto-nuvem para pré-concentração de manganês utilizando Br-TAO.

Parâmetro		Condição
Concentração inicial de Mn (II)		100 µg L <sup>-1</sup>
pH da extração		9,0
Eletrólito		Cloreto de sódio
Eluente	Tipo	Ácido sulfúrico
	Concentração	5,0 x 10 <sup>-2</sup> mol L <sup>-1</sup>
Surfactante	Concentração	1,0 x 10 <sup>-2</sup> % (v/v)
Reagente Br-TAO	Concentração	8,0 x 10 <sup>-6</sup> mmol L <sup>-1</sup>
Recheio da minicoluna	Tipo	Algodão
	Quantidade	100 mg
Temperatura de incubação		25-30 °C
Tempo de incubação		0,0 s
Vazão de aspiração e propulsão		140 µL s <sup>-1</sup> .
Vazão de eluição		5,0 mL min <sup>-1</sup>

### 5.3.15. Estudo do efeito de outros íons

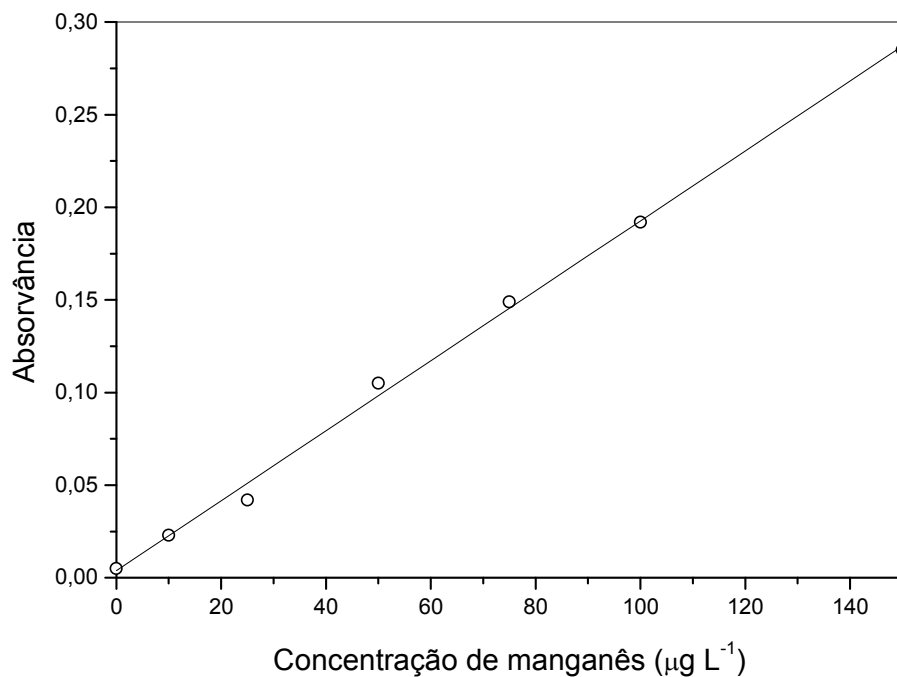
A interferência de íons no sistema em linha para determinação de manganês foi estudada sob as condições otimizadas. O critério para interferência foi fixado em  $\pm 5,0 \%$  na extração, para uma solução de manganês de  $100,0 \mu\text{g L}^{-1}$ . A interferência de sódio e cloreto foi estudada sem considerar o sal adicionado como eletrólito. A Tabela 24 apresenta as substâncias estudadas e as suas quantidades máximas toleráveis.

**Tabela 24.** Quantidades máximas toleráveis de outras espécies no sistema em linha com injeção seqüencial e extração no ponto-nuvem para pré-concentração de manganês utilizando Br-TAO.

Espécie	Quantidade máxima tolerável
Al (III)	$1,0 \text{ mg L}^{-1}$
Cl (-I)	$10,0 \text{ g L}^{-1}$
Co (II)	$1,0 \text{ mg L}^{-1}$
Cu (II)	$0,1 \text{ mg L}^{-1}$
Fe (III)	$1,0 \text{ mg L}^{-1}$
K (I)	$5,0 \text{ g L}^{-1}$
Mg (II)	$1,0 \text{ g L}^{-1}$
Na (I)	$10,0 \text{ g L}^{-1}$
Ni (II)	$1,0 \text{ mg L}^{-1}$
NO <sub>3</sub> (-I)	$5,0 \text{ g L}^{-1}$
Pb (II)	$0,1 \text{ mg L}^{-1}$
Zn (II)	$1,0 \text{ mg L}^{-1}$

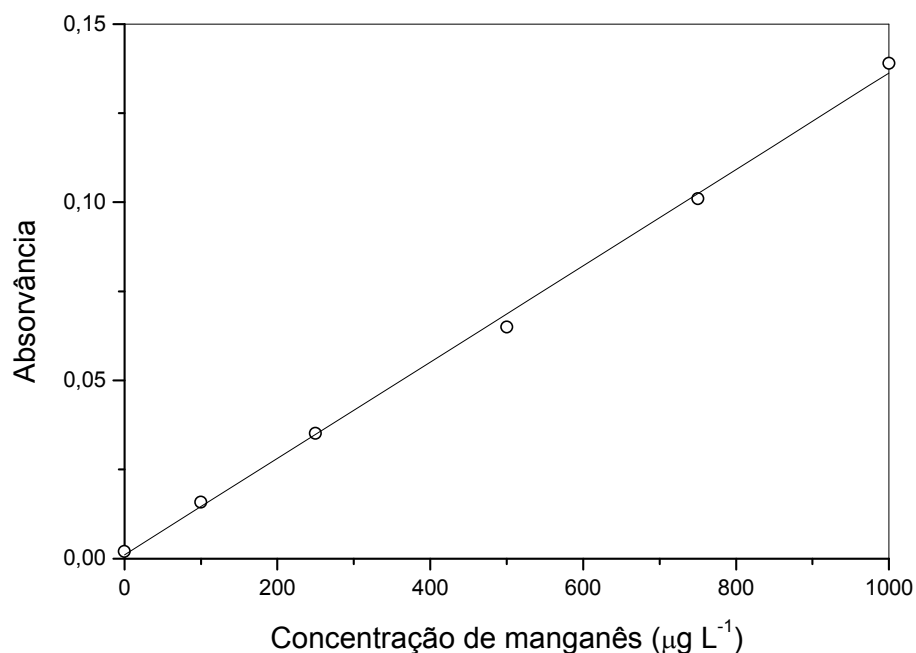
### 5.3.16. Características analíticas

Após otimização das variáveis, as características analíticas do procedimento foram otimizadas. Foram preparadas soluções de manganês de concentração 0,0; 10,0; 25,0; 50,0; 75,0, 100,0; 150,0 e 200,0  $\mu\text{g L}^{-1}$ . Durante o preparo destas soluções, foram adicionados 10 mL de solução-tampão amoniacal pH 9,0 a cada solução, antes de completar o volume com água desionizada. A seção linear da curva analítica relacionando a concentração de manganês ao sinal analítico é apresentada na Figura 34.



**Figura 34.** Curva analítica relativa ao sistema em linha com injeção seqüencial e extração no ponto-nuvem para pré-concentração de manganês utilizando Br-TAO.

A curva analítica para determinação direta de manganês utilizando a espectrometria de absorção atômica com chama é mostrada na Figura 35. Esta curva analítica, cuja equação da seção linear é  $A = 2,00 \times 10^{-3} + 1,35 \times 10^{-4} C$ , com coeficiente de correlação  $r = 0,9991$ , foi utilizada no cálculo do fator de enriquecimento do sistema. O fator de enriquecimento e outras características analíticas do procedimento foram calculados de maneira análoga àqueles do item 5.2.16. As características analíticas do sistema em linha com injeção seqüencial e extração no ponto-nuvem para pré-concentração de manganês utilizando Br-TAO são apresentadas na Tabela 25.



**Figura 35.** Curva analítica relativa à determinação direta de manganês utilizando espectrometria de absorção atômica com chama

**Tabela 25.** Parâmetros analíticos relativos ao sistema em linha com injeção seqüencial e extração no ponto-nuvem para pré-concentração de manganês utilizando Br-TAO

Equação da seção linear da curva analítica	$A = 3,81 \times 10^{-3} + 1,89 \times 10^{-3} C$
Limite de detecção	$0,5 \mu\text{g L}^{-1}$
Limite de quantificação	$1,7 \mu\text{g L}^{-1}$
Fator de pré-concentração	14
Frequência analítica	$48 \text{ h}^{-1}$
Índice de consumo	0,20 mL
Precisão	6,3 ( $50 \mu\text{g L}^{-1}$ ) e 5,4 ( $100 \mu\text{g L}^{-1}$ ) %
Faixa de linearidade	1,7 a $150,00 \mu\text{g L}^{-1}$



### 5.3.17. Aplicação

O procedimento proposto foi aplicado na determinação de manganês em amostras reais de alimentos e nos materiais de referência certificados NIST 1568a, Farinha de Arroz e NIST 1573a, Folhas de Tomateiro, provenientes do National Institute of Standards and Technology. Para determinar a exatidão do método, o material de referência foi digerido e a amostra líquida foi submetida ao processo de pré-concentração e determinação. Os materiais de referência Farinha de Arroz e Folhas de Tomateiro apresentam valores certificados de  $20,0 \pm 1,6$  e  $246 \pm 8 \mu\text{g g}^{-1}$ , respectivamente. Os teores de manganês obtidos pelo procedimento proposto (Farinha de Arroz,  $19,3 \pm 1,2 \mu\text{g g}^{-1}$  e Folhas de Tomateiro,  $239 \pm 5 \mu\text{g g}^{-1}$ ) concordam com os valores certificados. Amostras de alimentos infantis (farinha de arroz, farinha láctea e farinha de milho) foram digeridas e submetidas ao procedimento proposto. Os resultados obtidos para três determinações individuais estão apresentados na Tabela 26. Foram adicionadas, também, quantidades conhecidas do metal, para o cálculo da recuperação para cada amostra. Os valores das recuperações variaram no intervalo de 94 a 104 %, demonstrando a aplicabilidade do método.

**Tabela 26.** Resultados da determinação de manganês em alimentos após aplicação do sistema em linha com injeção seqüencial e extração no ponto-nuvem utilizando Br-TAO.

Amostra	Quantidade de manganês ( $\mu\text{g g}^{-1}$ )		Recuperação (%)
	Adicionada	Encontrada	
Farinha de arroz	0	$2,2 \pm 0,1$	98
	5	$7,1 \pm 0,3$	
Farinha láctea	0	$6,9 \pm 0,3$	106
	5	$12,2 \pm 0,5$	
Farinha de milho	0	$4,3 \pm 0,1$	104
	5	$9,5 \pm 0,5$	

## **Capítulo 6**

# **Conclusões e perspectivas**

---

---

### 6.3 Conclusões

Embora tenham sido sintetizados com o objetivo claro de utilização como indicadores metalocrômicos, os reagentes benzotiazolilazo já foram utilizados em determinações espectrofotométricas, aplicações cromatográficas, diversos sistemas de separação e determinações eletroanalíticas. Além disso, vários autores dedicaram-se ao estudo das propriedades destes reagentes, como a determinação de constantes de dissociação.

Neste trabalho, foi proposta pela primeira vez a síntese e aplicação do reagente Br-TAO em procedimentos de pré-concentração para determinação de metais. A síntese do reagente é simples e utiliza reações de diazotação e acoplamento, bastante utilizadas no preparo de reagentes similares. Observou-se que o reagente apresenta baixa solubilidade em água, o que facilita o seu uso como complexante extraído para meio orgânico.

Um dos procedimentos ao qual o Br-TAO foi aplicado é a micro-extração dispersiva líquido-líquido. Trata-se de uma técnica muito recente, cujo primeiro relato foi publicado em 2006 [114]. O procedimento proposto é baseado na pré-concentração de cobalto utilizando a micro-extração dispersiva líquido-líquido utilizando o reagente Br-TAO como reagente complexante. O método é bastante simples, de fácil manuseio e baixo custo. Este baixo custo está relacionado, principalmente, à pequena quantidade de clorofórmio que utiliza (50 µL). A pequena quantidade deste solvente extrator também minimiza a toxidez do método. Outra característica interessante do método é a rapidez. Após injeção da mistura Br-TAO/metanol/clorofórmio, a turvação do meio é imediata. A fase decantada é injetada no FAAS depois de uma rápida centrifugação. Há, ainda, a necessidade de pouco volume de amostra, propriedade particularmente desejável quando há limitação na quantidade de amostra analisada. As vantagens citada e as características analíticas obtidas tornam o método uma boa alternativa à determinação de cobalto em análises de rotina.

Apesar das características interessantes apresentadas pelo procedimento, este também possui alguns aspectos restritivos. Por exemplo, o uso de metanol, um solvente tóxico, em quantidades apreciáveis é obrigatório, pois o emprego desta substância apresentou melhores resultados. A quantidade da fase decantada é muito pequena, o que impõe o uso de um

processo alternativo para a introdução da amostra no FAAS. No procedimento proposto, este sistema funcionou satisfatoriamente.

Em um segundo propôs a aplicação do reagente Br-TAO em um sistema em linha com injeção seqüencial e extração no ponto-nuvem para pré-concentração e determinação de manganês por FAAS. A operação consiste na aspiração de soluções de manganês, surfactante/reagente e eletrólito para uma bobina de reação. A mistura é, então, bombeada através de uma minicoluna que retém os íons Mn (II). Após a retenção, um fluxo de eluente ácido passa pela coluna, retirando os íons e transportando-os para o nebulizador do FAAS. O método baseia-se em uma interessante combinação de sistemas em linha com extração no ponto-nuvem. As potencialidades desta combinação ainda não foram totalmente exploradas. A grande maioria dos trabalhos que envolvem o tema foi publicada depois do ano 2000 [127].

Este é o primeiro procedimento que envolve injeção seqüencial e extração no ponto-nuvem. O sistema é rápido, sensível e de baixo custo. Além disso, requer pequenas quantidades de amostras e reagentes. Estas vantagens são representadas pelas interessantes características analíticas do método, como a frequência de determinações, fator de enriquecimento, índice de consumo e limite de detecção.

No entanto, algumas desvantagens podem ser destacadas. Apesar do uso de algodão ter proporcionado maiores sinais analíticos, este material de recheio torna a vida útil da minicoluna curta, quando comparado com sorventes mais tradicionais, como espuma de poliuretano ou resinas poliméricas. O desenho do sistema e o tipo de detecção dificultam determinações multi-elementares. Ainda, o desenho do sistema e a seqüência de operações com válvulas manuais e bombas peristálticas tornam o sistema suscetível a erros humanos, que podem afetar os resultados.

#### **6.4 Perspectivas**

O uso de reagentes como o Br-TAO ainda pode ser bastante explorado em diversos sistemas para determinação, separação ou pré-concentração de metais, baseado na sua capacidade em formar complexos com um grande número de cátions metálicos. A demanda por determinações cada vez mais sensíveis, multi-elementares ou seletivas justifica esta utilização. Uma das

dificuldades encontradas na operação do procedimento com micro-extração dispersiva líquido-líquido foi o processo de introdução da amostra no FAAS. Esta dificuldade pode ser minimizada com o desenvolvimento de novos sistemas de introdução, particularmente aqueles que envolvam, além da detecção, todo o processo de micro-extração em linha. Estes sistemas poderão viabilizar, também, a automação de sistemas que utilizam detectores em processos descontínuos, como espectrômetros de absorção atômica com atomização eletrotérmica.

No acoplamento de extração no ponto nuvem com sistemas em linha, outros materiais filtrantes de maior vida útil devem ser testados, ao invés do algodão. Além disso, sistemas versáteis podem ser desenhados utilizando-se bombas peristálticas e válvulas eletronicamente controladas, como solenóides, visando minimizar erros humanos. Sistemas em linhas com outras configurações e detectores mais sensíveis ou multi-elementares podem originar procedimentos bastante interessantes para a determinação e pré-concentração de metais.

## **Capítulo 7**

# **Referências Bibliográficas**

## 7.1. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

---

- [1] NASERIB, M. T., HEMMATKHAHB, P., HOSSEINI, M. R M., ASSADI, Y., Combination of dispersive liquid–liquid microextraction with flame atomic absorption spectrometry using microsample introduction for determination of lead in water samples, , **Analytica Chimica Acta** v.1 0 p. 135–141, 2 0 0 8
- [2] AL-GHAMDI, A. M.; NASR-EL-DIN, H. A. Effect of oilfield chemicals on the cloud point of nonionic surfactants. **Colloid Surface A**, v. 125, p. 5-18, 1997.
- [3] LEMOS, V. A.; SANTOS, E. S.; SANTOS, M. S.; YAMAKI, R.T.; Thiazolylazo dyes and their application in analytical methods. **Microchim. Acta**, v. 158, p. 189-204, 2007.
- [4] ANDERSON, R. G.; NICKLESS, G. Heterocyclic azo dyestuffs in analytical chemistry. A review. **Analyst**, v. 92, p. 207-238, 1967.
- [5] FRAGA, I. C. S. Determinação espectrofotométrica de níquel utilizando o reagente 2-(2'-benzotiazolilazo)-p-cresol. 70 f. Dissertação (Mestrado em Ciências) – Pontifícia Universidade Católica, Rio de Janeiro, 1989.
- [6] HOVIND, H. R., Thiazolylazo dyes and their applications in Analytical Chemistry. **Analyst**, v.100, p. 769-796, 1975.
- [7] LEMOS, V. A., Sistema em linha para pré-concentração e determinação de cádmio e chumbo por Espectrometria de Absorção Atômica com chama utilizando minicoluna de espuma de poliuretano impregnada com 2-(2'-benzotiazolilazo)-p-cresol. 127 f. Tese (Doutorado em Ciências) – Universidade Federal da Bahia, Salvador, 2001.
- [8] LEMOS, V. A.; VIEIRA, D. R.; NOVAES, C. G.; ROCHA, M. E.; SANTOS, M. S.; YAMAKI, R. T. Preconcentration systems using polyurethane foam/Me-BDBD for determination of copper in food samples, **Microchim. Acta**, v. 153, p. 193-201, 2006.

[9] MORRISON, R.; BOYD, R. **Química Orgânica**, Lisboa: Fundação Calouste Gulbenkian, 1648 p., 1986.

[10] JENSEN, B.S., 1-(2'-Thiazolylazo)-2-Oxyaryl Compounds as Complexometric Metal Indicators, **Acta chemica scandinavica**, v. 14, 1960. p 927-932, 1960

[11] UENO K, IMAMURA T, CHENG KL (1992) Handbook of Organic Analytical Reagents, 2<sup>nd</sup> Edition, CRC Press, Boca Raton, Florida, USA.

[12] ONISHI H (1986) Photometric Determination of Traces of Metals, Part IIA, New York, US, Wiley.

[13] ONISHI H (1989) Photometric Determination of Traces of Metals, Part IIB, New York, US, Wiley.

[14] ANDERSON RG, Nickless G (1967) Heterocyclic azo dyestuffs in Analytical Chemistry, *Analyst* 92: 207.

[15] TORAL M.I., RICHTER, P., LARA, N., ESCUDERO, M.T., SOTO, C., Simultaneous determination of platinum and palladium by second derivative spectrophotometry using 3-(2'-thiazolylazo)-2,6-diaminopyridine as chromophore ligand, **Anal Lett**, v 33, p.93, 2000

[16] TEIXEIRA, L.S.G., COSTA, A.C.S., FERREIRA, S.L.C., FREITAS, M.D., Spectrophotometric determination of uranium using in the presence of surfactants, **J Brazil Chem Soc**, v.10, p.519. 1999

[17] TEIXEIRA, L.S.G, COSTA, A.C.S, QUEIROZ, A.S, AMORIM, A.M.M., BOMFIM, O.N., FERREIRA, S.L.C., 2-(2-thiazolylazo)-p-cresol as a spectrophotometric reagent for vanadium determination in the presence of ascorbic acid, **Microchim Acta**, v.129, p.103, 1998

[18] ROUNAGH, I G.H., HOSSEINI, M.S., GHIAMATI, E., Competitive spectrophotometric study of copper, zinc and cadmium with 18C6 using TAR as a colorimetric complexing agent in methanol, **Iran J Chem Eng**, v.17, p.4, 1998



- [19] GAVAZOV, K.B., LEKOVA, V.D., DIMITROV, A.N., PATRONOV, G.I The solvent extraction and spectrophotometric determination of vanadium (V) with 4-(2-thiazolylazo)resorcinol and tetrazolium salts **Central European Journal Of Chemistry**, v. 5, p 257-270, 2007
- [20] HASHEM, E.Y., ABU-BAKR, M.S., HUSSAIN, S.M., Interaction of nickel with (BTAS) and simultaneous first-derivative spectrophotometric determination of nickel(II) and iron(III), **Spectrochim Acta Part A**, v.59, p 761, 2003
- [21] ZHAO, S.L., XIA, X.Q, KONG, X.W, LIU, T.S., Highly sensitive colour-reaction of nickel with a new chromogenic reagent benzothiazolyldiazoaminoazobenzene and its application, **Talanta**, v.45, p13, 1997
- [22] LI, S.T., ZHAO, S.L., Spectrophotometric determination of cationic surfactants with benzothiazolyldiazoaminoazobenzene, **Anal Chim Acta** v. 99 p. 501, 2004
- [23] AMIN, A.S., EL-MOSSALAMY, E.H., Simple spectrophotometric method for the quantitative determination of uranium, **J Trace Microprobe**, v.21, p. 637, 2003
- [24] AMIN, A.S., Synthesis of some thiazolylazo compounds and their application to the spectrophotometric determination of nickel, **Quim Anal**, v.20: p.145, 2001
- [25] AMIN, A.S., Determination of nickel in biological samples spectrophotometrically involving complexation reaction with some thiazolylazo compounds, **Ann Chim-Rome**, v.91, p.103, 2001
- [26] AMIN, A.S., The surfactant-sensitized analytical reaction of niobium with some thiazolylazo compounds, **Microchem Journal**, v.65, p.261, 2000
- [27] AMIN, A.S, Determination of molybdenum in human urine by spectrophotometric method using thiazolylazo compounds as chromogenic reagents, **Anal Lett**, v.32, p. 1575, 1999.

[28] AHMED, I.S., Selective spectrophotometric investigation and determination with some thiazolylazo compounds, of palladium(II), or of tartaric acid in the presence of niobium(V), **Instrum Sci Technol**, v.33, p.33, 2005.

[29] HAO, Y.M., SHEN, H.X., Simple and sensitive determination of nucleic acids using palladium(II) complex with 2-(2-thiazolylazo)-5-dimethylaminobenzoic acid, **Anal Chim Acta**, v.422, p. 159, 2000.

[30] BHALOTRA, A., PURI, B.K., Simultaneous first derivative spectrophotometric determination of palladium and nickel using 2-(2-thiazolylazo)-5-dimethylaminobenzoic acid as an analytical reagent, **Microchim Acta**, v.134: p.139, 2000.

[31] BHALOTRA, A., PURI, B.K., Third derivative spectrophotometric determination of rhodium using 2-(2-thiazolylazo)-5-dimethylaminobenzoic acid as analytical reagent in the presence of triton X-100, **Quim Anal**, v.19, p.25. 2000.

[32] FAN, X.Z., ZHANG, G.F., ZHU, C.H., Synthesis of 2-[2-(5-methylbenzothiazolyl)azo]-5-dimethylaminobenzoic acid and its application to the spectrophotometric determination of nickel, **Analyst**, v.123, p.109, 1998.

[33] FAN, X.Z., ZHU, C.H., Syntheses of three new benzoic acid-type thiazolylazo reagents and their application to spectrophotometric determination of microamounts of nickel, **Microchem. Journal**, v. 59, p. 284, 1998.

[34] MARCZENKO, Z., **Spectrophotometric determination of elements**; Wiley & Sons: New York, 1976.

[35] FERREIRA, S. L. C., QUEIROZ, A. S., KORN, M. D. A., COSTA, A. C. S., Determination of nickel in alkaline salts by Inductively Coupled Plasma Atomic Emission Spectroscopy using 1-(2-thiazolylazo)-p-cresol for preconcentration and separation, **Anal. Lett**, v.30, p.2251-2260. 1997

[36] FERREIRA, S. L. C., QUEIROZ, A. S., ASSIS, J. C. R., KORN, M. D. A., COSTA, A. C. S., Determination of iron in alkaline salts by ICP-AES using 1-(2-

thiazolylazo)-p-cresol (TAC) for preconcentration and separation, **J. Brazil. Chem. Soc.**, v.8, p.621-624, 1997.

[37]. MAKRILIK, E., VANURA, P., Contribution to the thermodynamics of 1-(2-thiazolylazo)-2-naphthol in the water nitrobenzene extraction system, **J. Serb. Chem. Soc.** v.65, p.581-585., 2000

[38] VISSER, A. E., GRIFFIN, S. T., HARTMAN, D. H., ROGERS, R. D., Naphthol- and resorcinol-based azo dyes as metal ion complexants in aqueous biphasic systems, **Journal of Chromatography B**, v.743, p.107–114, 2000.

[39] REIS, B. F., ROCHA, F. R. P., TEIXEIRA, L. S. G., COSTA, A. C. S., KORN, M., Construção de uma cela de fluxo para medidas por espectrofotometria em fase sólida **Química Nova**, v.23, nº 1, p 116-118, 2000.

[40] D. SANT'ANA, O.; JESUINO, L. S.; CASSELLA, R. J.; CARVALHO, M. S.; SANTELLI, R. E., Determination of lead by electrothermal atomic absorption spectrometry employing a novel sampling strategy of polyurethane foam impregnated with thiazolylazo-*p*-cresol (TAC), **J. Braz. Chem. Soc.**, v. 15, Nº 1, p. 96-102, 2004.

[41] LEMOS, V. A., SANTOS, J. S., NUNES, L. S., Synthesis and application of a new functionalized resin in on-line preconcentration of lead, **Separ. Sci. Technol.** v.40, p.1401-1414, 2005.

[42] LEE, W., LEE, S. E., LEE, C. H., KIM, Y. S., LEE, Y., A chelating resin containing 1-(2-thiazolylazo)-2-naphthol as the functional group; synthesis and sorption behavior for trace metal ions, **Microchem. Journal**, v.70, p. 195 - 203. 2001.

[43] SAEED, M. M., BAJWA, S. Z., ANSARI, M. S., AHMED, R., Solid phase sorption of microamount of Hg(II) onto 1-(2-thiazolylazo)-2-naphthol (TAN) loaded polyurethane foam, **Radiochim. Acta**, v.93, p.177-185, 2005.

[44] PREETHA, C. R., BIJU, V. M., RAO, T. P., On-line solid phase extraction preconcentration of ultratrace amounts of zinc in fractionated soil samples for

determination by flow injection flame AAS, **Atom. Spectrosc.** V.24, p.118-124. 2003

[45] BHALOTRA, A., PURI, B. K., Column preconcentration and second derivative spectrophotometric trace determination of scandium in standard biological and synthetic samples using 1-(2-thiazolylazo)-2-naphthol, **Anal. Sci.**, v.16 p.507-511, 2000

[46] LIU, Y. W., GOU, Y., CHANG, X. J., MENG, S. M., YANG, D., DIN, B. J., Column solid-phase extraction with 2-acetylmercaptophenyldiazoaminoazobenzene (AMPDAA) impregnated amberlite XAD-4 and determination of trace heavy metals in natural waters by flame atomic absorption spectrometry, **Microchim. Acta**, v.149, p.95-101, 2005.

[47] VENKATESH, G., JAIN, A. K., SINGH, A. K., 2,3-dihydroxypyridine loaded Amberlite XAD-2 (AXAD-2-DHP): Preparation, sorption-desorption equilibria with metal ions, and applications in quantitative metal ion enrichment from water, milk and vitamin samples, **Microchim. Acta**, v.149, p. 213-221, 2005.

[48] KIM, Y. S., IN, G., HAN, C. W., CHOI, J. M., Studies on synthesis and application of XAD-4-salen chelate resin for separation and determination of trace elements by solid phase extraction, **Microchem. Journal**, v.80, p.151-157, 2005

[49] LEMOS, V. A., GAMA, E. M., LIMA, A. D., On-line preconcentration and determination of cadmium, cobalt and nickel in food samples by flame atomic absorption spectrometry using a new functionalized resin, **Microchim. Acta**, v.153, p. 179-186, 2006.

[50] BRAUN, T., NAVRATIL, J. D., FARAG, A. B., **Polyurethane Foam Sorbents in Separation Science**, CRC Press: Boca Raton, 1985.

[51] JESUS, D. S. DE., CARVALHO, M. S. DE., COSTA, A. C. S., FERREIRA, S. L. C., Quantitative separation of zinc traces from cadmium matrices by solid-phase extraction with polyurethane foam, **Talanta**, v.46, p.1525-1530, 1998.

[52] JESUS, D. S. DE., CASSELLA, R. J., FERREIRA, S. L. C., COSTA, A. C. S., CARVALHO M. S. DE., SANTELLI, R. E., Polyurethane foam as a sorbent for continuous flow analysis: Preconcentration and spectrophotometric determination of zinc in biological materials, **Anal. Chim. Acta**, v.366, p.263-269, 1998.

[53] FERREIRA, S. L. C., JESUS, D. S. DE., CASSELLA, R. J., COSTA, A. C. S., CARVALHO, M. S. DE, SANTELLI, R. E., An on-line solid phase extraction system using polyurethane foam for the spectrophotometric determination of nickel in silicates and alloys, **Anal. Chim. Acta**, v.378, p.287-292. 1999

[54] CASSELLA, R. J., SANTELLI, R. E., BRANCO, A. G., LEMOS, V. A., FERREIRA, S. L. C., CARVALHO, M. S. DE., Selectivity enhancement in spectrophotometry: on-line interference suppression using polyurethane foam minicolumn for aluminum determination with Methyl Thymol Blue, **Analyst** 124 (1999) 805-808.

[55] LEE C. H., SUH, M. Y., KIM, J. S., KIM, D. Y., KIM, W. H., EOM, T. Y., Separation and preconcentration of uranium from geological materials with chelating resin containing 4-(2-thiazolylazo)resorcinol functional groups, **Anal. Chim. Acta**, v. 382, p.199-203. 1999.

[56]. SOYLAK, M., ELÇI, L., NARIN, I., DOGAN, M., Application of solid-phase extraction for the preconcentration and separation of trace amounts of cobalt from urine, **Trace Elem. Electroly.** v.18, p.26-29, 2001.

[57] LEE, W., LEE, S. E., KIM, M. K., LEE, C. H., KIM, Y. S., A chelating resin containing 2-(2-thiazolylazo)-5-dimethylaminophenol as the functional group: Synthesis and sorption behavior for some trace metal ions, **Chem. Soc.** v.23 () p.1067-1072, 2002

[58] LEE, W., LEE, S. E., LEE, C. H., KIM, Y. S., LEE, Y., A chelating resin containing 1-(2-thiazolylazo)-2-naphthol as the functional group; synthesis and sorption behavior for trace metal ions, **Microchem. Journal**, v.70, p.195 - 203. 2001

[59] FERREIRA, S. L. C., SANTOS, H. C. DOS., FERREIRA, J. R., ARAÚJO, N. M. L. DE, COSTA, A. C. S., JESUS, D. S. DE., Preconcentration and determination of copper and zinc in natural water samples by ICP-AES after complexation and sorption on amberlite XAD-2, **J. Brazil. Chem. Soc.** v.9, p. 525-530, 1998

[60] VACHA J., SOMMER, L., Preconcentration of uranium(VI) on modified and unmodified Amberlite XAD-4 sorbent, **Collect. Czech. Chem. C.** v.58, p.1813-1820, 1993.

[61] FERREIRA S. L. C., BRITO, C. F. DE., Separation and preconcentration of cobalt after sorption onto amberlite XAD-2 loaded with 2-(2-thiazolylazo)-p-cresol, **Anal. Sci.** v.15, p.189-191, 1999.

[62] DIVRIKLI, U., SOYLAK, M., ELÇI, L., Separation and enrichment of gallium(III) as complex by solid phase extraction on amberlite XAD-4 adsorption resin, **Anal. Lett.** v.36, p.839-852, 2003

[63] SOYLAK, M., DIVRIKLI, U., ELÇI, L., DOGAN, M., Column chromatographic preconcentration and enrichment of copper, nickel and iron in by graphite furnace atomic absorption spectrometry, **Kuwait J. Sci. Eng.** v.25, p.389-396. 1998

[64] BHALOTRA A., PURI, B. K., Trace determination of zinc in standard alloys, environmental and pharmaceutical samples by fourth derivative spectrophotometry using 1-2-(thiazolylazo)-2-naphthol as reagent and ammonium tetraphenylborate supported on naphthalene as adsorbent, **Talanta** v.49, p.485-493. 1999

[65] BHALOTRA, A., PURI, B. K., Preconcentration of bismuth(III) and copper(II) by solid-phase extraction and subsequent determination by differential pulse polarography, **J. AOAC Int.** v.84, p.47-52, 2001

[66] BHALOTRA, A., PURI, B. K., Simultaneous determination of cadmium and lead in a standard alloy, various biological and environmental samples by differential pulse polarography after pre-concentration by solid-phase extraction

of their 1-(2-thiazolylazo)-2-naphthol-tetraphenylborate complexes on microcrystalline naphthalene, **Quim. Anal.** v.20, p.229-236. 2002

[67] TEIXEIRA, L. S. G., REIS, J. O. N., COSTA, A. C. S., FERREIRA, S. L. C., KORN, M. D. A., ANDRADE, J. B. DE, ICP-AES determination of small amounts of zinc in copper-base alloys after separation by adsorption of the zinc-TAN complex on Sep Pak C18 cartridges, **Talanta**, v. 46, p.1279-1283, 1998

[68] BHALOTRA, A., PURI B. K., First derivative spectrophotometric determination of iridium with 2-(2-thiazolylazo)-5-dimethylaminophenol in various synthetic samples using ammonium tetraphenylborate - Naphthalene as adsorbent, **Ann Chim-Rome**, v.90 p. 265-275. 2000

[69] STARVING, A. M., RAO, T. P. RAO., Removal and recovery of mercury(II) from hazardous wastes using 1-(2-thiazolylazo)-2-naphthol functionalized activated carbon as solid phase extractant, **J. Hazard. Mat.** v.113, p.77-81, 2004

[70] OLIVEIRA, F. S., TEIXEIRA, L. S. G., KORN, M., Application of partial least squares calibration for multicomponents determination by flow injection-solid phase spectrophotometry, **Lab. Robotics. Automat.** v.12, p.305-311, 2000.

[71] NARIN, I., SOYLAK, M., Determination of cadmium, copper, lead and nickel contents of water samples from Tabakhane River and Akkaya Dam, Nigde-Turkey after preconcentration on activated carbon, **Fresen. Environ. Bull.** v.8, p.24-27, 1999.

[72] FERREIRA, S. L. C., LEMOS, V. A., SANTELLI, R. E., GANZAROLLI, CURTIUS, A. J., An automated on-line flow system for the pre-concentration and determination of lead by flame atomic absorption spectrometry, **Microchem. Journal** v.68, p.41-46, 2001.

[73] LEMOS, V. A., SANTOS, J. S., NUNES, L. S., Synthesis and application of a new functionalized resin in on-line preconcentration of lead, **Separ. Sci. Technol.** v.40, p.1401-1414, 2005

[74] FERREIRA, S. L. C., SANTOS, W. N. L. DOS., LEMOS, V. A., On-line preconcentration system for nickel determination in food samples by flame atomic absorption spectrometry, **Anal. Chim. Acta** v 445, p.145-151, 2001

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

[76]. WUILLOUD, G. M., WUILLOUD, R. G., WUILLOUD, J. C. A., OLSINA, R. A., MARTINEZ, L. D., On-line preconcentration and determination of chromium in by flow injection - flame atomic absorption spectrometry, **J. Pharmaceut. Biomed.** 31 (2003) 117-124.

[77]. WUILLOUD, R. G., WUILLOUD, G. M., WUILLOUD, J. C. A., OLSINA, R. A., MARTINEZ, L. D., Preconcentration and speciation of Cr(III) and Cr(VI) in water samples using amberlite XAD-16 resin and determination by flow injection-flame AAS, **Atom. Spectrosc**, v.23, p. 44-51, 2002

[78] GAMA, E. M., LIMA, A. S., LEMOS, V. A., Preconcentration system for cadmium and lead determination in environmental samples using polyurethane foam/Me-BTANC, **J. Hazard.Mater**, v. 136, p 757-762, 2006

[79] LEMOS, V. A., JESUS, A. A. DE., GAMA, E. M., DAVID, G. T., YAMAKI, R. T., On-line solid phase extraction and determination of copper in food samples using polyurethane foam loaded with Me-BTANC, **Anal. Lett**, v 38, p.683-696. 2005

[80] FERREIRA, S. L. C., SANTOS, W. N. L. DOS., BEZERRA, M. A., LEMOS, V. A., BOSQUE-SENDRA, J. M., Use of factorial design and Doehlert matrix for multivariate optimisation of an on-line preconcentration system for lead determination by flame atomic absorption spectrometry, **Anal. Bioanal. Chem.** 375 (2003) 443-449.

[81]LEMOS, V. A., SANTOS, W. N. L. DOS., SANTOS, J. S., CARVALHO, M. B. DE., On-line preconcentration system using a minicolumn of polyurethane



foam loaded with Me-BTABr for zinc determination by Flame Atomic Absorption Spectrometry, **Anal. Chim. Acta** v. 481, p.283-290 2003.

[82] LEMOS, V. A., SANTELLI, R. E., CARVALHO, M. S. DE., FERREIRA, S. L. C., Application of polyurethane foam loaded with BTAC in an on-line preconcentration system: cadmium determination by FAAS, **Spectrochim. Acta Part B**, v.55, p.1497-1502, 2000

[83] LEMOS, V. A., DE LA GUARDIA, M., FERREIRA, S. L. C., An on-line system for preconcentration and determination of lead in wine samples by FAAS, **Talanta**, v 58, p.475-480, 2002.

[84] LEMOS, V. A., FERREIRA, S. L. C., On-line preconcentration system for lead determination in seafood samples by flame atomic absorption spectrometry using polyurethane foam loaded with 2-(2-benzothiazolylazo)-2-p-cresol, **Anal. Chim. Acta**, v. 441, p.281-289, 2001

[85] TEIXEIRA, L. S. G.; COSTA, A. C. S.; GARRIGUES, S.; DE LA GUARDIA, M. Flow-injection solid phase partial least-squares spectrophotometric simultaneous determination of iron, nickel and zinc, **J. Brazil. Chem. Soc.**, v. 13, p. 54-59, 2002

[86] TEIXEIRA, L. S. G.; ROCHA, F. R. P.; KORN, M.; REIS, B. F.; FERREIRA, S. L. C.; COSTA, A. C. S. Nickel and zinc determination by flow-injection solid-phase spectrophotometry exploiting different sorption rates. **Talanta**, v. 51, p. 1027-1033, 2000.

[87] TEIXEIRA, L. S. G.; ROCHA, F. R. P.; KORN, M.; REIS, B. F.; FERREIRA, S. L. C.; COSTA, A. C. S. Flow-injection solid-phase spectrophotometry for the determination of zinc in pharmaceutical preparations. **Anal. Chim. Acta**, v. 383, p. 309-315, 1999.

[88] TEIXEIRA, L. S. G., COSTA, A. C. S., ASSIS, J. C. R., FERREIRA, S. L. C., KORN, M., Solid phase spectrophotometry for the determination of cobalt in pharmaceutical preparations, **Microchim. Acta**, v.137, p.29-33. 2001

[89] VICENTE, S., MANIASSO, N., QUEIROZ, Z. F., ZAGATTO, E. A.G., Spectrophotometric flow-injection determination of nickel in biological materials **Talanta** v.57 p.475–480, 2002

[90] ARNDT, M., ZADROZNA, I., DYBKO, A., WROBLEWSKI, W., KASIURA, K., Palladium determination using flow-through spectrophotometric sensing phase, **Sensor. Actuat. B-Chem.** v. 90 p.332-336. 2003

[91] PREETHA, C. R., BIJU, V. M., RAO, T. P., On-line solid phase extraction preconcentration of ultratrace amounts of zinc in fractionated soil samples for determination by flow injection flame AAS, **Atom. Spectrosc.** v.24 p.118-124. 2003

[92] CASSELLA, R. J., SALIM, V. A., JESUÍNO, L. S., SANTELLI, R. E., FERREIRA, S. L. C, CARVALHO, M. S. DE., Flow injection determination of cobalt after its sorption onto polyurethane foam loaded with 2-(2-thiazolylazo)-p-cresol (TAC), **Talanta** v.54, p.61-67. 2001

[93] LEMOS, V. A., BRITO, C. F. DE., FERREIRA, A. C., KORN, M. D. A., Flame atomic absorption spectrometric determination of cobalt after on-line preconcentration, **Can. J. Anal. Sci. Spect.** v.47 p.49-54. 2002

[94] CHEN, Z., LI, B., MIAO, M., YANG, G., YIN, J., SU, Q., Simultaneous determination of palladium, platinum and rhodium by on-line column enrichment and HPLC with 4-hydroxy-1-naphthalthiorhodanine as pre-column derivatization reagents, **Microchim. Acta** v.152 p.93-97. 2005

[95] QIPING, L., HUASHAN, Z., JIEKE, C., Reversed-phase HPLC determination of some noble metals as their thiazolylazoresorcinol chelates, **Talanta** v.38, p.669-672. 1991

[96] UEHARA, N., FUKUDA, K., SHIJO, Y., Determination of cobalt in natural water as a 2-(5-bromo-2-pyridylazo)-5-[n-propyl-n-(3-sulphopropyl)amino]phenol chelate by on-line preconcentration HPLC with column-switching technique, **Anal. Sci.** v.14 p.343-348.1998

[97] Lin C. S., Zhang, X. S., Liu, X. Z., Determination of iron, cobalt and nickel as chelates with 4-(2-thiazolylazo) resorcinol by reversed-phase high-performance liquid chromatography, **Analyst** v.116, p.277-280. 1991

[98] CHUNG, Y., CHUNG, W., Determination of Co (II) ion as a 4-(2-thiazolylazo) resorcinol or 5-methyl-4-(2-thiazolylazo)resorcinol chelate by reversed-phase capillary high-performance liquid chromatography, **B. Kor. Chem. Soc.** V.24 p.1781-1784. 2003

[99] LEE, W., KIM, M. K., KIM, E. K., PARK, K. S., KIM, Y. S., Studies on the retention behaviour of some thiazolylazo derivatives in reversed phase liquid chromatography, **Microchem. Journal** v.70, p.187-194. 2001

[100] DOLEZAL, J., SOMMER, L., Reverse-phase high-performance liquid-chromatography of metal-chelates of 4-(2-pyridylazo)resorcinol and 4-(2-thiazolylazo)resorcinol - simultaneous determination of low concentrations of Co, Ni and Fe, **Collect. Czech. Chem. C.** v 59 p.2209-2226. 1994

[101] SARASWATI R., DESIKAN, N. R., RAO, T. H., Determination of transition and rare-earth elements in low-alloy steels as chelates with 4-(2-thiazolylazo)resorcinol by reversed-phase high-performance liquid-chromatography, **Microchimica Acta** v.109, p.253-260,1992

[102] LIU, Q. P., ZHANG, H. S., CHENG, J. K., Reversed-phase HPLC determination of some noble-metals as their thiazolylazoresorcinol chelates, **Talanta** v.38 p.669-672. 1991

[103].LIN, C. S., ZHANG, X. S., LI, G. C., LIANG, S. Q., On separation and determination of vanadium, cobalt and chromium as chelates with 4-(2-thiazolylazo) resorcinol by reversed-phase HPLC, **Acta Chim. Sinica** v.49 p.249-253. 1991

[104] WANG H., ZHANG, H. S., CHENG, J. K., Studies on 2-(2-thiazolylazo)-5-diethylaminophenol as a precolumn derivatizing reagent in the separation of platinum group metals by high performance liquid chromatography, **Talanta** v.48 p.1-7. 1999

[105] MISHENINA, I. V., SHAOVALOVA, E. N., BOLSHOVA, T. A., SMIRNOV, P. V., SHIPGUN, O. A., Effect of the nature of the stationary phase on the retention of metal chelates with 2-(2-thiazolylazo)-5-diethylaminophenol in high-performance liquid chromatography, **J. Anal. Chem.** v.51, p.270-276. 1996

[106] WANG, H., ZHANG, H. S., CHENG, J. K., OIU, P. H., Determination of V(V), Nb(V), and Ta(V) with 2-(2-thiazolylazo)-5-diethylaminophenol by reversed-phase high performance liquid chromatography, **Microchem. Journal** v.55 p.332-339. 1997

[107] LIU, Q. P., ZHAO, T., LIU, J. C., CHENG, J. K., Determination of platinum metals complexes with by reversed-phase high performance liquid chromatography, **Microchim. Acta** v.122 p.27-33. 1996

[108] YING, L. L., GUI, M. D., ZHAO, Y. Q., Revised-phase HPLC determination of Co(II), Ni(II) and Fe(III) as their 2-(2-thiazolylazo)-5-dimethylaminophenol chelates, **Talanta** v.42 p.89-92. 1995

[109] MA, Z. L., WANG, Y. P., WANG, C. X. MIAO, F. Z., MA, W. X., Reversed-phase ion-pair high performance liquid chromatographic determination of Co(III), Ni(II), V(V) and Fe(III)-2-(2-benzothiazolylazo)-5-(3-sulfopropyl)aminophenol chelates, **Talanta** v.44, p.743-748. 1997

[110] LIU Q. P., WANG, Y. C., LIU, J. C., JIEKE, C., Separation mechanism exploration on metal-MBTAE-salicylic acid mixed-ligand complexes by reversed-phase high-performance liquid-chromatography, **Talanta** v.42 p.901-907. 1995

[111] LIU, W. P., LIU, Q. P., Study on the retention behavior of platinum metal-complexes in reversed-phase high-performance liquid-chromatography, **Fresen. J. Anal. Chem.** v.350 p.671-673. 1994

[112] LIU, Q. P., WANG, Y. C., LIU, J. C., CHENG, J. K., Separation and determination of platinum metals and some transition-metals by reversed-phase high-performance liquid-chromatography, **Anal. Sci.** v.9 p.523-528. 1993

[113] LIU, Q. P., LIU, J. C., TONG, Y., CHENG, J., Separation and determination of Pt(II), Rh(III), Pd(II), Os(IV), Ni(II) and Co(II) complexes by reversed-phase liquid-chromatography, **Anal. Chim. Acta** v.269 p.223-228. 1992

[114] REZAEI, M., ASSADI, Y., HOSSEINI, M. M. , AGHAEI, E., AHMADI, F., BERIJANI, S., Determination of organic compounds in water using dispersive liquid-liquid microextraction, **Journal of Chromatography A**, v.1116, p.1-9 2006

[115] PEREIRA, F. P., LAVILLA, I., BENDICHO, C., Miniaturized preconcentration methods based on liquid-liquid extraction and their application in inorganic ultratrace analysis and speciation: A review **Spectrochimica Acta Part B** v.64, p.1-15 2009

[116] JAHROMI, E. Z., BIDARI, ARAZ., ASSADI, YAGHOUB., REZA, HOSSEINI M. M., JAMALI, M. R., Dispersive liquid-liquid microextraction combined with graphite furnace atomic absorption spectrometry Ultra trace determination of cadmium in water samples **Analytica Chimica Acta** v.585 p.305-311 2007

[117] FARAJZADEH, M. A., BAHRAMB, M., MEHRB, B G., JOHNSON J. A. K. Optimization of dispersive liquid-liquid microextraction of copper (II) by atomic absorption spectrometry as its oxinate chelate: Application to determination of copper in different water samples., **Talanta** v.75 p.832-840 2008

[118] NASERIA, M. T.I, HEMMATKHAHA, P., HOSSEINI, M R M, ASSAD, Y., Combination of dispersive liquid-liquid microextraction with flame atomic absorption spectrometry using microsample introduction for determination of lead in water samples, **Analytica Chimica Acta**, v.610, p.135-141, 2008

[119] GHAREHBAGHI M, SHEMIRANI F, BAGHDADI, M., Dispersive liquid-liquid microextraction based on ionic liquid and spectrophotometric determination of mercury in water samples, **International Journal of Environmental Analytical Chemistry**, v: 89, p: 21-33, 2009

[120] Anthemidis, A. N., Ioannou, K-I. G., On-line sequential injection dispersive liquid-liquid microextraction system for flame atomic absorption spectrometric determination of copper and lead in water samples,.**TALANTA**, v. 79 p. 86-91, 2009

[121]ASERI, M. T., HOSSEINI, M. R. M., ASSADI, Y., KIANI, A., Rapid determination of lead in water samples by dispersive liquid-liquid microextraction coupled with electrothermal atomic absorption spectrometry

**Talanta**, v.75, p.56–62 2008

[122] BIDARI, A., HEMMATKHAH, P., JAFARVAND, SANAZ., HOSSEINI, M. R. M.I ASSADI, Y., Selenium analysis in water samples by dispersive liquid-liquid microextraction based on piarselenol formation and GC-ECD, **Microchim Acta** , v.163, p.243–249 2008

[123] BIDARI, A., JAHROMI, Z. E., YAGHOUB, A., HOSSEIN, M. R. M., Monitoring of selenium in water samples using dispersive liquid-liquid microextraction followed by iridium-modified tube graphite furnace atomic absorption spectrometry. **Microchemical Journal** v.87, p.6–12 2007

[124] MANIASSO,N. Ambientes micelares em química analítica. **Quim. Nova**, v. 24, n. 1, p.87-93, 2001

[125] COELHO, L. M. Pré-concentração por "electrostacking" e por ponto nuvem para determinação de arsênio e cádmio em amostras ambientais e biológicas 95 f. TESE DE DOUTORADO – Universidade Estadual de Campinas, Campinas-SP, 2005

[126] SILVA, M. F.; CERUTTI, E. S.; MARTINEZ, L. D. Review Coupling Cloud Point Extraction to Instrumental Detection Systems for Metal Analysis. **Microchim. Acta** v. 155, p. 349-364, p.2006

[127] FANG, Q.; DU, M.; HUIE, C. W. On-line incorporation of cloud point extraction to flow injection analysis. **Anal. Chem.** v. 73, p. 3502-3505, 2001.

[128] LAESPADA, M. E. F.; PAVÓN, J. L. P.; CORDERO, B. M. Micelle-mediated methodology for the preconcentration of uranium prior to its determination by flow-injection. **Analyst**. v. 118, p. 209-212, 1993.

[129] GUSTAVO, M.; WUILLOUD, J. C. A.; WUILLOUD, R. G.; SILVA, M. F.; OLSINA, R. A.; MARTINEZ, L. D. Cloud point extraction of vanadium in parenteral solutions using a nonionic surfactant (PONPE 5.0) and determination by flow injection-inductively coupled plasma optical emission spectrometry. **Talanta**, v. 58, p. 619-627, 2002.

[130] WUILLOUD, J. C. A.; WUILLOUD, R. G.; SILVA, M. F.; OLSINA, R. A.; MARTINEZ, L. D. Sensitive determination of mercury in tap water by cloud point extraction pre-concentration and flow injection-cold vapor inductively coupled plasma optical emission spectrometry, **Spectrochim. Acta Part B**, v. 57, 365-374, 2002.

[131] ORTEGA, C., CERUTTI, S.; OLSINA, R. A.; MARTINEZ, L. D.; SILVA, M. F. Simultaneous determination of dysprosium and iron in urine by capillary zone electrophoresis coupled to cloud point extraction. **J. Pharm. Biom. Anal.** v. 36, p. 721-727, 2004.

[132] ORTEGA, C.; GOMEZ, M. R.; OLSINA, R. A.; SILVA, M. F.; MARTINEZ, L. D. On-line cloud point preconcentration and determination of gadolinium in urine using flow injection inductively coupled plasma optical emission spectrometry. **J. Anal. At. Spectrom.**, v. 17, p. 530-533, 2002.

[133] Disponível em: [http://www.tabela.oxigenio.com/metais\\_de\\_transicao.htm](http://www.tabela.oxigenio.com/metais_de_transicao.htm). Acessado em 10/03/2009

[134] FILHO, E.R.P., Sistemas Mecanizados Acoplados A Forno de Microondas Para a Mineralização Em Linha de Amostras de Interesse Alimentício: Determinação de Ferro e Cobalto, 104 f, Dissertação (Mestrado em Química Analítica), Universidade Estadual de Campinas,, Campinas-SP, 1999

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

[136] Disponível em :<http://www2.dbd.pucRio.br>. Acessado em 10/03/2009

[137] Toxicologia e Análises Toxicológicas I. Disponível em: <http://www.ff.up.pt/toxicologia/monografias/ano0405/manganes>. Acessado em 13/03/2009

[138] ANVISA - Portaria n ° 33, de 13 de janeiro de 1998. Disponível em: <http://www.anvisa.gov.br>. Acessado em 15.05.2007.

[139] LIMA, D. M.; COLUGNATI, F. A. B.; PADOVANI, R. M.; RODRIGUEZ-AMAYA, D. B.; SALAY, E; GALEAZZI, M. A. M. Tabela brasileira de composição de alimentos. Versão II. 2. ed. -- Campinas, SP: NEPA-UNICAMP, 113 p, 2006.

140 SANTOS, E.E., LAURIA, D.C., PORTO DA SILVEIRA, C.L., Assessment of daily intake of trace elements due to consumption of foodstuffs by adult inhabitants of Rio de Janeiro city. **Sci. Total Environ.**, n. 327, p. 69-79, 2004.

[141] LEMOS, V. A., SILVA, D. G. DA., CARVALHO, A. L. DE, SANTANA, D. A., NOVAES, G. S., PASSOS, A. S. DOS., Synthesis of amberlite XAD-2-PC resin for preconcentration and determination of trace elements in food samples by flame atomic absorption spectrometry , **Microchemical Journal** v.84, p.14–21, 2006

[142] VIÑAS. P., PARDO-MARTI´NEZ, M., HERNA´NDEZ-CO´RDOBA M. Determination of Copper, Cobalt, Nickel, and Manganese in Baby Food Slurries Using Electrothermal Atomic Absorption Spectrometry, **J. Agric. Food Chem**, v.48, p.5789-5794 2000

[143] JIANG, Z.T., LI, R., Determination of Manganese in Food by Polymer-Phase Fluorescence Quenching Method with Eosin in the Presence of Phenanthroline, **Chemia Analityczna**, v. 53, p.659-671, 2008



[144] HAN, Su-Ping; GAN, Wu-Er; SU, Qing-De. On-line sample digestion using an electromagnetic heating column for the determination of zinc and manganese in tea leaf by flame atomic absorption spectrometry. **Talanta**, v. 72, p. 1481–1486, 2007.

[145] SOYLAK, MUSTAFA; KAYA, B.; TUZEN, M. Copper(II)-8-hydroxquinoline coprecipitation system for preconcentration and separation of cobalt(II) and manganese(II) in real samples. **Journal of Hazardous Materials**, v. 147, p. 832–837, 2007.

[146] XUEZHI, D.; DELIANG, L.; CHUNSHAN, C.; JINGWEI, Z. Determination of manganese in grain by potential titration with catalytic end-point indication. **Talanta**, v. 50, p. 947–952, 1999.

[147] KENDUZLER E.; TURKER A. R.; YALÇINKAYA O. Separation and preconcentration of trace manganese from various samples with Amberlyst 36 column and determination by flame atomic absorption spectrometry. **Talanta**, v. 69, p. 835–840, 2006.

[148] OLESZCZUK, N.; CASTRO, J. T.; SILVA M. M. da; KORN, M. das G. A., WELZ B.; VALE M. G. R. Method development for the determination of manganese, cobalt and copper in green coffee comparing direct solid sampling electrothermal atomic absorption spectrometry and inductively coupled plasma optical emission spectrometry. **Talanta**, v. 73, p. 862-869, 2007.

[149] KNAP M.; KILIAN K.; PYRZYNSKA K. On-line enrichment system for manganese determination in water samples using FAAS. **Talanta**, v. 71, p. 406–410, 2007.

[150] KARGOSHA, K.; NOROOZIFAR, M. Analysis of Manganese in Real Samples by Diphenylcarbazide-Spectrophotometric Determination. **Turkish Journal of Chemistry**, v. 27, p. 227- 233, 2003.

[151] LEMOS, V. A.; SANTOS, L. N.; ALVES, A. P. O.; DAVID, G. T. Chromotropic acid-functionalized polyurethane foam: a new sorbent for on-line

preconcentration and determination of cobalt and nickel in lettuce samples, **Journal of Separation Science**, v. 29, p. 1197-1204, 2006.

[152] ARAUJO R. G. O.; DIAS, F. de S.; MACEDO, S. M.; SANTOS W. N. L. dos; FERREIRA S. L. C. Method development for the determination of manganese in wheat flour by slurry sampling flame atomic absorption spectrometry. **Food Chemistry**, v. 101, p. 397–400, 2007.

[153] VOLLHARDT, K. P. C.; SCHORE, N. E. **Química Orgânica – Estrutura e Função**. Quarta edição, Editora Bookman, Porto Alegre – RS.

[154] SOLOMONS, T. W. G.; MACEDO, H. **Química Orgânica**. Volume 2, 6ª edição, LTC Livros Técnicos e Científicos Editora S.A. Rio de Janeiro, 1996.

[155] MCMURRY, J. **Química Orgânica**. Volume 1, tradução técnica: Ana Flávia Nogueira e Izilda Aparecida Bagatin, Editora Pioneira-Thomson Learning, São Paulo–SP.

[156] SHRINER, R. L.; HERMANN, C. K. F.; MORRIL, T. C.; CURTIN, D. Y.; FUSON, R. C. **The systematic identification of organic compounds**. 8ª edição, John Wiley & Sons Inc., EUA.

[157] SUSSULINI, A., ARRUDA, M. A. Z., Determinação de cromo por espectrometria de absorção atômica com chama após extração e pré-concentração no ponto nuvem, **Eclética Química** v. 31, p. 73-80, 2006

[158] GARRIDO, M., DI NEZIO, M.S., LISTA, A.G., PALOMEQUE, M., FERNÁNDEZ BAND, B.S., Cloud-point extraction/preconcentration on-line flow injection method for mercury determination. **Analytica Chimica Acta** v.502 p.173–177 2004