

**ESCOLA SUPERIOR DE AGRICULTURA LUIZ DE QUEIROZ**

**LQI-800 MÉTODOS INSTRUMENTAIS DE  
ANÁLISE**

**Texto auxiliar para aulas teóricas**

*Prof. Dr. ARNALDO ANTÔNIO RODELLA*

**2006**

## ÍNDICE

1	CONTAMINAÇÃO EM LABORATÓRIOS DE ANÁLISES DE TRAÇOS DE METAIS.....	4
1.1	Introdução.....	4
1.2	O ambiente do laboratório.....	4
1.3	Água.....	5
1.4	Reagentes.....	5
1.5	Frascos.....	7
1.6	Equipamentos volumétricos.....	7
1.7	Amostradores automáticos.....	8
1.8	Testando as fontes de contaminação.....	8
2	AVALIAÇÃO DE MÉTODOS ANALÍTICOS E CALIBRAÇÃO DE MÉTODOS INSTRUMENTAIS	
	10	
2.1	Introdução.....	10
2.2	Parâmetros de avaliação de métodos analíticos.....	11
2.3	Calibração em métodos instrumentais.....	15
2.4	Controle de qualidade dos resultados analíticos.....	19
3	AVALIAÇÃO DE DADOS ANALÍTICOS.....	22
3.1	Erros.....	22
3.2	Limites de confiança.....	24
3.3	Comparação de precisão e exatidão.....	26
3.4	Comparação de precisão e exatidão entre dois métodos.....	27
3.5	Comparação de resultados analíticos empregando regressão linear.....	29
3.6	Propagação de erros aleatórios.....	31
3.7	Desvio padrão de resultado estimado por regressão linear.....	32
3.8	Problemas.....	33
4	PREPARO DE SOLUÇÃO DA AMOSTRA.....	35
4.1	Dissolução.....	35
4.2	Decomposição.....	37
4.3	Preparo de solução de amostra e interpretação do resultado analítico.....	42
5	NATUREZA E PROPRIEDADES DA ENERGIA RADIANTE.....	43
5.1	Radiação eletromagnética.....	43
5.2	Parâmetros de onda.....	44
5.3	Exemplos de cálculos.....	46
5.4	Modalidades de radiação eletromagnética.....	47
5.5	Luz visível.....	48
5.6	Radiação eletromagnética e matéria.....	51
5.7	Histórico.....	53
5.8	Relação de Boltzman.....	60
5.9	Absorção de energia por moléculas.....	61
5.10	Espectros.....	62
5.11	Perda da energia absorvida.....	67
6	INSTRUMENTOS PARA MÉTODOS ESPECTROSCÓPICOS.....	68
6.1	Fontes de radiação.....	68
6.2	Recipientes de amostra.....	71
6.3	Seletor de região espectral ou de comprimento de onda.....	72
6.4	Detetores de radiação.....	75
6.5	Sistema de leitura.....	78
7	ESPECTROSCOPIA DE ABSORÇÃO MOLECULAR.....	79

7.1	Lei de Beer .....	81
7.2	Absorbância e Transmitância .....	82
7.3	Desvios da lei de Beer .....	82
7.4	Instrumentos .....	83
8	FOTOMETRIA DE EMISSÃO DE CHAMA E ESPECTROMETRIA DE ABSORÇÃO ATÔMICA ..	86
8.1	Atomização em chama.....	89
8.2	Seleção de comprimento de onda e leitura do sinal.....	95
8.3	Interferências .....	97
8.4	Atomização sem chama .....	101
9	POTENCIOMÉTRIA E CONDUTIMETRIA .....	107
9.1	Noções de Eletroquímica.....	107
9.2	Potenciometria.....	112
9.3	Condutimetria .....	121
10	CROMATOGRAFIA GASOSA .....	126
10.1	Introdução à cromatografia.....	126
10.2	Cromatografia gasosa .....	133
11	SISTEMAS DE ANÁLISES POR INJEÇÃO EM FLUXO – FIA .....	144
11.1	Introdução.....	144
11.2	Componentes do sistema FIA.....	146
11.3	Parâmetros característicos de sistemas FIA.....	149
11.4	Variações em sistemas em FIA.....	152
11.5	Reatores .....	155
11.6	Determinação espectrofotométrica de algumas espécies em sistemas FIA ..	155

### **Observação**

Esta apostila não substitui a consulta e o estudo em livros textos de química. Ela não tem a intenção de ser um trabalho publicado, nem auferir méritos de autoria para seu organizador. Os tópicos são apresentados de forma sucinta e resumidos. Ela é tão somente um guia preparado para auxiliar alunos com referência a assuntos apresentados em sala de aula. É uma compilação que se baseou em idéias obtidas em diferentes fontes.

# 1 CONTAMINAÇÃO EM LABORATÓRIOS DE ANÁLISES DE TRAÇOS DE METAIS

## 1.1 Introdução

Estudos envolvendo o comportamento de espécies químicas no ambiente fatalmente atingem um ponto onde são requeridos métodos de análise com limites de detecção bem mais baixos do que os adotados na análise química rotineira. Neste ponto, ao se escolher uma técnica analítica adequada, certamente vai se optar por um método instrumental, cuja faixa de trabalho envolve concentrações da ordem de micro ou até mesmo nanograma por litro. Não basta apenas adquirir um equipamento e instalá-lo numa sala qualquer de um laboratório, onde se convive com o preparo e a manipulação de amostras. É preciso estar atento para as implicações que a escolha de um método analítico sensível e de baixo limite de detecção traz para a rotina de trabalho. O recurso para a compra do equipamento será certamente apenas a maior parcela de um total que será exigido e investir na melhoria das condições do local de trabalho é uma necessidade.



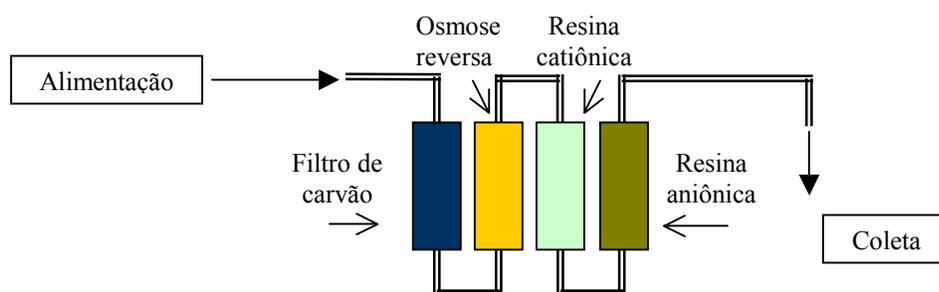
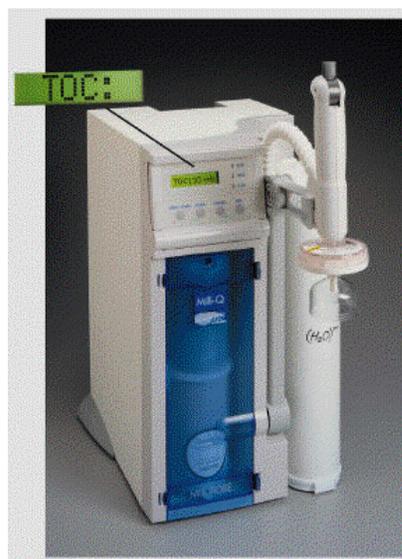
Quando se trabalha na faixa de concentração de  $\mu\text{g L}^{-1}$  a contaminação é o principal fator que afeta a exatidão dos resultados analíticos. Existem equipamentos e técnicas para o planejamento e construção de “salas limpas”, nas quais a contaminação pode ser completamente controlada. Esses recursos são em geral muito caros e existem procedimentos “caseiros” que podem ser aplicados a laboratórios convencionais para reduzir a contaminação a níveis bastante aceitáveis. Essas técnicas podem ser nada mais que a aplicação de puro bom senso, mas devem ser usadas consciente e rigorosamente para serem efetivas.

## 1.2 O ambiente do laboratório

Material particulado do próprio ar é a fonte de contaminação mais importante na determinação de vários elementos, como alumínio e zinco. Salas e capelas nas quais se opera sob um fluxo de ar filtrado podem ser instaladas no laboratório. Se isso não for possível, os instrumentos deverão ser localizados em uma sala isolada do corpo principal do laboratório que não seja caminho de circulação para outras partes do mesmo, de preferência sem janelas que se abram para o exterior, fazendo o possível para evitar a entrada de material particulado e limitando o acesso apenas às pessoas que operam os instrumentos.

### 1.3 Água

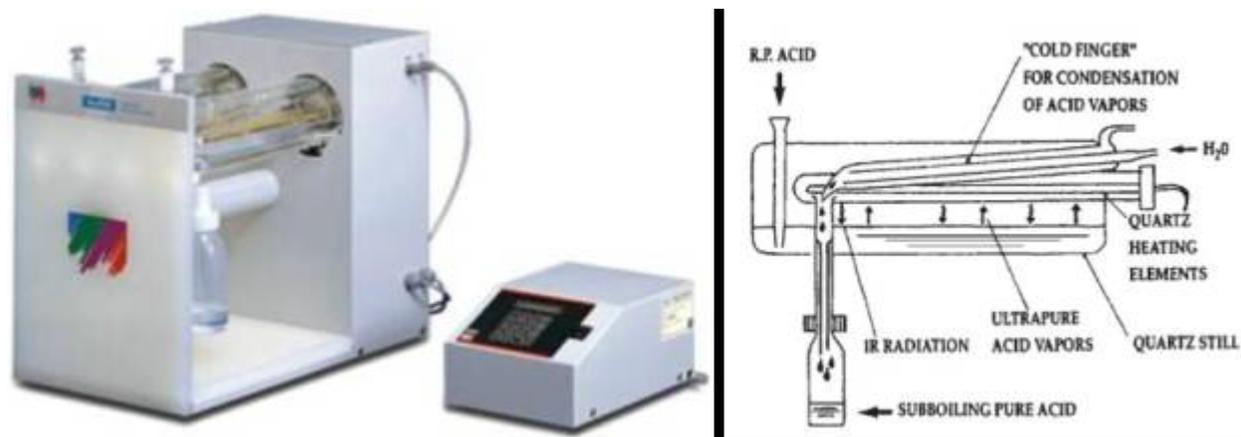
Suprimento de água ultrapura é essencial para lavagem de material, preparo de soluções reagentes e soluções padrão; diluição de amostras, entre outros. Equipamentos desionizadores, a partir de água corrente de condutividade elétrica cerca de  $400 \mu\text{S cm}^{-1}$  produzem água deionizada de condutividade elétrica menor que  $1 \mu\text{S cm}^{-1}$ . Água ultrapura é obtida a partir de água previamente purificada e atinge condutividade elétrica menor que  $0,055 \mu\text{S cm}^{-1}$  (resistividade elétrica maior que  $18 \text{M}\Omega \text{cm}^{-1}$  e teor de carbono orgânico total (TOC) abaixo de  $10 \mu\text{g L}^{-1}$ . Um sistema de pré-colunas, livrando a água da maioria dos constituintes dissolvidos, aumenta enormemente a vida útil das colunas de resina, que são caras. O sistema purificador deve ter capacidade de suprir as exigências em água na medida em que forem necessárias, visto não ser conveniente se estocar água de elevada pureza.



### 1.4 Reagentes

Reagentes podem se constituir em importante fonte de contaminação e devem ser do maior grau de pureza disponível. No preparo de amostras, quantidades relativamente grandes de ácidos são

empregadas e a contribuição de suas impurezas para o resultado obtido na amostra pode ser significativa. Mesmo produtos de elevada pureza podem exigir purificação no laboratório através do processo de sub-destilação (destilação “sub-boiling”), por exemplo. Usa-se neste caso um equipamento para a produção de ácidos e solventes muito puros, que promove destilação por evaporação superficial sem que ocorra ebulição. O aquecimento se dá por radiação da região do infravermelho e os vapores são condensados com um “dedo frio”.



Pipetas, espátulas ou outros equipamentos não devem, em princípio, serem introduzidos nos frascos de reagentes. Recomenda-se despejar uma quantidade conveniente do produto num recipiente limpo, para então tomar medir as quantidades necessárias. O produto que sobra não deverá retornar ao frasco original, que deverá ser armazenado em local perfeitamente limpo e somente aberto raramente, pelo mínimo período de tempo possível.

Todos os reagentes devem ser testados quanto à contaminação através de *brancos* e, uma vez confirmado o problema, eles deverão ser descartados. Por isso mesmo, reagentes de elevada pureza devem ser adquiridos em quantidades pequenas. Em geral eles são acompanhados de um certificado de análise onde consta o número do lote do produto, a lista dos elementos pesquisados, os métodos empregados e seus limites de detecção e os elementos efetivamente detectados como impureza e suas concentrações. Por exemplo:

**Nitric Acid SpA***Standard Pack 500ml 2½LT (F-treated glass)**HNO<sub>3</sub> MW 63.01 d 1.42 CAS [7697-37-2] EC [231-714-2]**Assay 67-69%**Colour <10 Hazen (APHA)**Elemental impurities at time of manufacture:**Ag, As, Ba, Be, Bi, Cd, Co, Cr, Cu, Hg, Li, Mn, Mo, Ni, Pb, Sb, Se,**Sn, Sr, Th, Ti, U, V, Zr <1 ppb each**Zn <1 ppb (2)**B, Fe, Mg, K <1 ppb (5) each**Al <1 ppb (10)**Ca, Na <1 ppb (50) each**Values in parentheses indicate likely maximum levels on storage**Application: Environment Analysis (eg, using AAS, ICP-AES,**ICP-MS), Trace Metal Analysis, Ion Chromatography***1.5 Frascos**

Todos os frascos destinados a conter amostras, padrões ou reagentes devem ser testados para determinar se estão perfeitamente limpos. Como norma, frascos empregados na determinação de traços de metais deverão ser reservados apenas para essa finalidade. Frascos plásticos são em geral preferidos, desde que suportem a ação de ácidos fortes durante o processo de lavagem. Frascos plásticos moldados podem conter traços de produtos organometálicos usados no processo de moldagem. O material mais recomendado é sem dúvida o PFTE, politetrafluoretileno, ou seus derivados fluoroplásticos, seguindo-se o polipropileno de alta densidade. Nenhum frasco deve ser considerado livre de contaminação, exceto quando expressamente garantido pelo fabricante.

Um procedimento básico de lavagem de frasco é se iniciar usando um detergente de laboratório e enxaguar com água deionizada. Em seguida devem ser imersos em solução de HNO<sub>3</sub> 10% por, no mínimo, 8 horas. Pode ser conveniente deixar os frascos nesse banho de ácido e retirá-los apenas no momento de uso. Após serem removidos da solução ácida serão lavados com várias pequenas porções de água deionizada e usados imediatamente. Se for essencial secá-los, os frascos terão um enxágüe final com álcool ou acetona de elevada pureza e secados sob fluxo de ar filtrado. Após secos, os frascos são tampados e acondicionados em sacos plásticos selados para prevenir contaminação por impurezas presentes no ar.

**1.6 Equipamentos volumétricos**

Processos de preparo de amostra e padrões devem ser planejados para minimizar o número de etapas de diluição, pois cada uma delas é uma fonte potencial de contaminação. Micropipetas

com ponteiros descartáveis de plástico são recomendadas para se efetuar grandes diluições e são preferíveis às pipetas de vidro.



Mesmo as ponteiros descartáveis não devem ser consideradas livre de contaminação e devem ser lavadas. Recomenda-se inserir a ponteira na pipeta e ajustá-la na máxima capacidade. Aspira-se um ou dois volumes de água deionizada, três volumes de  $\text{HNO}_3$  10% e mais três volumes de água deionizada, descartando-se cada volume antes de se aspirar o próximo. Ajusta-se então o volume no valor desejado e lava-se a ponteira com no mínimo dois volumes da solução a ser medida, antes de medir o volume final e transferi-lo para o frasco receptor.

Uma opção bastante conveniente é o preparo de soluções por pesagem. Uma massa de sal pequena pode ser pesada com exatidão satisfatória em balança analítica, assim como a água deionizada, nos próprios frascos que vão armazenar a solução. Do mesmo modo, diluições podem ser efetuadas com facilidade e exatidão.

### 1.7 Amostradores automáticos

Muitos dos equipamentos para análise de traços dispõem de sistemas de tomada automática de amostras, nos quais bandejas de cubetas contem soluções de amostras e de padrões de calibração. Esses sistemas podem ser fonte de contaminação, apesar de disporem de um sistema de lavagem para eliminar resíduos de solução de amostra do tubo aspirador. O sistema lavador e o próprio líquido usado na lavagem pode ser causa de problemas, exigindo atenção constante na sua utilização.

### 1.8 Testando as fontes de contaminação

Quando se suspeita de um problema de contaminação no laboratório é necessário adotar um procedimento sistemático, executá-lo passo a passo, para identificar a fonte e controlá-la.

- **Branco do instrumento:** efetuar uma série de leituras no equipamento sem nenhuma solução de amostra. Se algum sinal for obtido, o instrumento ou o ambiente ao seu redor es-

tá contaminado. Procedimentos de limpeza ou substituição de componentes contaminados devem ser efetuados consultando-se o manual do equipamento.

- **Branco da água:** efetuar uma série de medidas da água tomada diretamente do equipamento de purificação. Se algum sinal for obtido, a água ou os equipamentos usados para sua coleta está contaminado. Equipamentos purificadores em geral dispõem de sistema de controle de qualidade da água produzida por medida de condutividade elétrica.
- **Branco de ácido:** preparar uma solução de branco típica contendo 0,1 a 1% HNO<sub>3</sub> e testar a qualidade do ácido empregado no preparo da amostra. Caso um sinal seja obtido ele pode ser provocado pelo próprio ácido ou então ser consequência de frascos contaminados, uma vez que soluções ácidas removem com eficiência traços de metais das superfícies.
- **Branco da análise:** a etapa final do processo é confirmar se o preparo da amostra está adequado. Um branco de análise contendo todos os componentes presentes na solução de amostra, exceto ela própria, será analisado.

## 2 AVALIAÇÃO DE MÉTODOS ANALÍTICOS E CALIBRAÇÃO DE MÉTODOS INSTRUMENTAIS

### 2.1 Introdução

A aplicação de um método analítico é uma dentre as diferentes etapas que compõem a marcha geral de uma análise química quantitativa. Essas etapas são:

- Amostragem
- Redução da quantidade amostrada
- Preparo da amostra
- Medida de uma quantidade de amostra
- Preparo da solução da amostra
- Remoção de interferentes
- Aplicação do método analítico
- Interpretação do resultado

Ao analisar uma amostra não se pode perder a noção desse conjunto e alguns pontos importantes podem ser destacados, tais como:

- todas as etapas citadas são igualmente importantes, pois ocorrendo uma falha em qualquer uma delas o resultado final será comprometido;
- a amostragem, redução e preparo da amostra são etapas cruciais, em geral efetuadas fora do laboratório, nas quais corre-se o risco de se cometer erros de identificação da amostra, ou de contaminação por constituintes de moinhos, peneiras ou espátulas que entram em contato com o material a ser analisado;
- no preparo da solução da amostra, reagentes impuros e perdas de elementos por volatilização são fontes de erros;
- uso de equipamento sofisticado para detectar sinal analítico não é garantia de resultado exato;
- nem sempre o tempo total da análise pode ser abreviado ao se optar por um método analítico rápido, pois outras etapas, como o preparo de solução de amostra, podem ser bastante morosas.

A opção por determinado método analítico deve ser feita com critério, considerando: níveis

de precisão e exatidão requeridos; quantidade de amostra disponível; concentração do elemento de interesse na amostra; número de amostras a ser analisado; custo e disponibilidade do equipamento; exigência de treinamento do operador, entre outros.

Os métodos analíticos podem ser classificados como *clássicos* e *instrumentais*. A designação *métodos instrumentais* leva à associação imediata com métodos que empregam instrumentação eletrônica, quase sempre sofisticada, com maior ou menor grau de automatização, como espectrofotometria, potenciometria, polarografia, cromatografia, entre outros. Entretanto, um método analítico tradicional como a volumetria, que não seria qualificado com instrumental, pode ser conduzido através de bureta automática, registro de curva de titulação e detecção automática de ponto final. Provavelmente, uma forma de classificação mais coerente dos métodos analíticos é a que os distingue como:

- *métodos estequiométricos*: são também chamados de clássicos, pois fazem uso dos princípios fundamentais da química, a estequiometria. São baseados em reações químicas bem definidas, como ocorre na gravimetria e a volumetria.
- *métodos não estequiométricos*: nesses métodos, um sinal analítico, absorção ou emissão de luz por exemplo, é diretamente relacionado à concentração do elemento de interesse. Nem sempre se conhece perfeitamente a reação química envolvida e, por isso mesmo, esses métodos requerem calibração.

## 2.2 Parâmetros de avaliação de métodos analíticos

**Precisão:** é o grau de concordância entre dados obtidos através de um mesmo procedimento. Reflete a ocorrência dos erros indeterminados ou casuais, sendo expressa pelo desvio padrão, variância, erro padrão da média, coeficiente de variação. Existem dois parâmetros diretamente relacionados à precisão, mas que expressam condições diferentes: a *repetibilidade*, que exprime a concordância entre os resultados obtidos no mesmo laboratório e a *reprodutibilidade*, que exprime a concordância entre os resultados obtidos em laboratórios diferentes.

**Exatidão:** é o parâmetro que indica o quanto o valor determinado difere do valor exato, ou daquele tomado como tal. Corresponde à expressão dos erros sistemáticos ou determinados do método analítico.

**Sensibilidade:** é dada pela inclinação da curva de calibração na concentração de interesse, ou pelo coeficiente angular quando se ajusta uma reta aos dados de sinal analítico e concentração.

Por exemplo, a equação da curva de calibração de método espectrofotométrico de determinação de chumbo é:

$$A = 1,12 [\text{Pb}] + 0,312$$

onde A é a intensidade do sinal analítico expresso em absorvância e a concentração de Pb é expressa em  $\text{mg L}^{-1}$ , a sensibilidade do método é 1,12 unidades de absorvância por unidade de concentração de Pb.

A sensibilidade é definida por vezes em métodos espectrofotométricos como a concentração de um elemento em solução, expressa em  $\text{mg L}^{-1}$ , que corresponde a absorção de 1% da radiação emitida da fonte de radiação, ou seja, 99% de transmitância ou 0,0044 de absorvância.

**Limite de detecção:** é a concentração do elemento de interesse que produz um sinal analítico distinguível do ruído.

Efetuando-se um grande número de leituras do branco, em geral pelo menos 10, calcula-se o valor do desvio padrão,  $s$ , das determinações. Toma-se como ruído um valor igual a  $k$  igual a  $2s$  ou  $3s$ . Se  $k$  for 3, diz-se que o sinal correspondente ao limite de detecção se distingue do ruído em 98 de cada 100 determinações. Com o coeficiente angular da curva de calibração calcula-se a concentração correspondente ao sinal encontrado, que será o limite de detecção.

Exemplo: em um método determinação de Pb, 24 repetições da leitura do branco forneceram o sinal analítico médio  $S$  igual a 0,0296, com desvio padrão  $s$  de 0,0082. A equação da curva de calibração, onde a concentração de Pb é expressa em  $\text{mg L}^{-1}$ , é;

$$S = 1,12 [\text{Pb}] + 0,312$$

Assumindo uma distribuição normal, considera-se que a um nível de confiança de 98% (identificado as vezes nos textos por  $3\sigma$ ), o sinal analítico distinguível da variação do branco ou ruído é:

$$S = 3 \cdot 0,0082 = 0,0246$$

A concentração correspondente a esse valor é:

$$[\text{Pb}] = 0,0246/1,12 = 0,022 \text{ mg L}^{-1}$$

O limite de detecção do método ao nível de 98% de probabilidade ( $3\sigma$ ) é  $0,022 \text{ mg L}^{-1}$  Pb

Limites de detecção para diferentes técnicas espectroscópicas ( $3\sigma$ ), fornecidos por um fabricante de

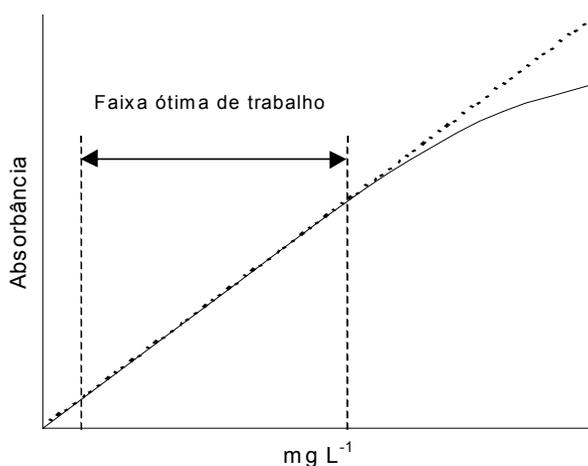
equipamentos

Elemento	AAS-chama	GFAA	ICP radial	ICP axial
	----- $\mu\text{g L}^{-1}$ -----			
Ca	1.5	0.03	0.15	2
Cd	0.8	0.02	1.5	0.2
Cr	3	0.08	3.	0.4
Cu	1.5	0.25	1.5	0.5
Hg	300	1.5 (0.009)*	30	0.5
Mg	0.15	0.01	0.15	0.05
Mn	1.5	0.09	0.6	0.1
Ni	6	0.8	6	0.9
Pb	75000	320	45	0.8
Sn	150	0.5	60	--
V	60	0.3	3	0.4
Zn	450	--	1.5	0.1

AAS-chama= absorção atômica com chama; GFAA= forno de grafite; ICP= plasma

(\*): valor para geração de hidreto

**Limite de determinação:** é a menor concentração determinável, tomada como um valor igual a cinco, ou dez vezes, o limite de detecção.



**Faixa ótima de trabalho:** é o intervalo de concentração da curva de calibração, compreendido entre o *limite de determinação* e o ponto onde começa o desvio da linearidade. Em métodos

espectrofotométricos, a faixa ótima de trabalho é por vezes tomada como o intervalo de concentração, em  $\text{mg L}^{-1}$ , correspondente a absorbâncias entre 0,2 e 0,8, intervalo esse onde erro fotométrico é mais baixo.

**Seletividade:** é o parâmetro que indica em que medida um sinal analítico corresponde apenas à espécie química de interesse. Diferentes espécies também podem ser responsáveis pelo sinal analítico, pois uma reação química ou propriedade física que serve de base para um método analítico dificilmente é específica para uma determinada espécie química.

Este é um problema a ser resolvido durante o estudo do método e sua solução pode requerer processos que complicam a aplicação do método, podendo também limitá-la a certas matrizes. Em geral, no estudo de um método são definidas inicialmente as condições ótimas para a manifestação do sinal analítico da espécie que está sendo determinada, para em seguida se estudar a seletividade do método.

Resultados de estudo de interferentes para método de determinação espectrofotométrica de zinco foram obtidos com soluções de concentração  $5 \text{ mg L}^{-1}$  Zn, na presença de diferentes elementos interferentes

Al		Fe		Ca		Mn		K		Cd	
$\text{mg L}^{-1}$	A										
0	0,402	0	0,402	0	0,402	0	0,402	0	0,402	<b>0</b>	<b>0,402</b>
5	0,394	5	0,399	50	0,396	10	0,399	200	0,398	<b>1</b>	<b>0,478</b>
10	0,398	10	0,396	100	0,389	20	0,399	400	0,405	<b>2</b>	<b>0,553</b>
15	0,390	<b>15</b>	<b>0,378</b>	150	0,387	30	0,394	600	0,395	<b>3</b>	<b>0,639</b>
<b>20</b>	<b>0,385</b>	20	0,353	<b>200</b>	<b>0,387</b>	<b>40</b>	<b>0,385</b>	<b>800</b>	<b>0,401</b>	<b>4</b>	<b>0,709</b>
25	0,378	25	0,342	300	0,370	50	0,377	1000	0,374	<b>5</b>	<b>0,799</b>

Com base nesses resultados, prepara-se uma tabela de seletividade do método, indicando a relação entre concentrações de interferente e de zinco, para a qual se tem um erro menor que certo limite, geralmente 5%:

elemento	Al	Fe	Ca	Mn	K	Cd
relação	4	3	40	8	160	0

Nesse exemplo, Al, Fe, Mn são sérios interferentes, ao contrário de Ca e K. Quanto ao Cd, fica evidente que ele reage com o reagente cromogênico com a mesma intensidade que o Zn.

Também se avalia a seletividade de um método através do *coeficiente de seletividade*. Na curva padrão anteriormente mostrada para determinação de chumbo poderiam estar incluídos outros termos, correspondentes à resposta de elementos interferentes Cd, Fe e Zn:

$$S = 1,12 [\text{Pb}] + 0,08 [\text{Cd}] - 0,02 [\text{Fe}] + 0,01 [\text{Zn}] + S_{\text{branco}}$$

Colocando o valor 1,12 em evidência tem-se:

$$S = 1,12 ([\text{Pb}] + 0,071 [\text{Cd}] - 0,018 [\text{Fe}] + 0,0089 [\text{Zn}]) + S_{\text{branco}}$$

Os valores 0,071; -0,018 e 0,0089 são denominados *coeficientes de seletividade* e expressam o grau de interferência de cada elemento. Os coeficientes podem ser negativos, quando o elemento causa uma redução na intensidade do sinal analítico, caso do Fe. O coeficiente de seletividade é mais empregado para caracterizar o desempenho de eletrodos de membrana na potenciometria.

### 2.3 Calibração em métodos instrumentais

A calibração é uma operação inerente aos métodos instrumentais, através da qual se relacionam concentrações conhecidas do elemento a ser determinado e os correspondentes sinais analíticos. Em grande parte dos casos, essas concentrações conhecidas devem ser fornecidas por soluções padrão.

Soluções padrão usadas nas calibrações são normalmente de concentração muito baixas para serem preparadas diretamente. Prepara-se então uma *solução padrão estoque*, que por diluição dará origem às *soluções padrão de trabalho*. Emprega-se um composto químico que seja padrão primário, isto é, um composto químico estável, de elevada pureza, não higroscópico, não facilmente oxidável e que possa ser dissolvido com facilidade.

Com exceção de Al e Cr, soluções padrão de metais podem ser preparadas pela dissolução em HNO<sub>3</sub> de metais na forma elementar, como ocorre para Zn, Fe, Pb, Ni, Cu, Ag, Mg. Nessas soluções, a concentração usual é 1000 mg L<sup>-1</sup> de metal em meio de HNO<sub>3</sub> 2%. Soluções de Cr podem ser preparadas a partir do sal K<sub>2</sub>Cr<sub>2</sub>O<sub>7</sub>, no grau de padrão primário.

Soluções padrão podem ser preparadas a partir de sais que não são padrões primários como CuSO<sub>4</sub>.5H<sub>2</sub>O e FeCl<sub>3</sub> para depois serem padronizadas por métodos clássicos. Soluções padrão de ferro podem ser aferidas por gravimetria, pois ele pode ser facilmente precipitado como Fe(OH)<sub>3</sub>.

com  $\text{NH}_3$ , separado por filtração e pesado como  $\text{Fe}_2\text{O}_3$  após queima por ignição. Soluções padrão de cálcio preparadas a partir de  $\text{CaCO}_3$  e de outros metais podem ser aferidas por volumetria de complexação com EDTA. Uma alternativa conveniente e bastante utilizada é a compra de soluções padrões estoque, preparadas por firmas idôneas.

Soluções padrão de metais são mais bem conservadas em frascos plásticos, Teflon de preferência. Soluções padrão estoque não devem ser conservadas por mais de um ano e soluções padrão de trabalho não devem ser estocadas, porque normalmente não se recomenda armazenar soluções de concentrações inferiores a  $100 \text{ mg L}^{-1}$ .

### **2.3.1 Calibração convencional ou padrão externo**

Prepara-se uma série de soluções, cujo intervalo de concentração no elemento de interesse inclui as concentrações das soluções de amostra. O sinal analítico correspondente a cada solução é relacionado à respectiva concentração através de um gráfico, ou de uma equação. Normalmente utiliza-se o intervalo de calibração no qual existe uma relação linear entre sinal e concentração, não só pela facilidade em se trabalhar com uma relação linear, mas principalmente porque a sensibilidade diminui quando o desvio de linearidade se acentua. Recursos computacionais permitem o fácil ajuste de diferentes funções aos dados de calibração.

Uma vez obtida, a relação entre sinal analítico e concentração será aplicada para calcular a concentração das soluções de amostra. O sinal analítico da amostra não pode exceder ao limite superior de calibração e quando isso ocorre deve-se diluir a solução da amostra.

É muito provável que as características físicas ou químicas da solução de amostra afetem a medida do sinal analítico, determinando uma interferência. Idealmente, solução padrão e solução de amostra devem ter as mesmas características, tais como: densidade, viscosidade, acidez, conteúdo de sólidos, concentrações das espécies químicas predominantes. É fácil perceber, por exemplo, que não se pode analisar uma amostra de água do mar sem levar em consideração a presença de  $\text{NaCl}$ , ou uma amostra de bebida sem considerar o teor de etanol.

Em muitos casos, contudo, a solução padrão de trabalho é preparada a partir da simples diluição em água da solução estoque, sem que ocorram problemas. Na determinação espectrofotométrica de fósforo em tecido vegetal, a curva padrão é preparada com soluções diluídas em água, pois componentes da matriz não causam interferências e a acidez do meio não é afetada por variações de acidez dos extratos.

Para se contornar interferências causadas por soluções extratoras, as soluções padrão devem apresentar as mesmas concentrações dos compostos presentes nas mesmas. Exemplo: na determinação de fósforo solúvel em citrato ou em ácido cítrico, em fertilizantes as soluções padrão são preparadas nas mesmas concentrações dessas substâncias.

Quando os elementos interferentes provem da matriz, a concentração deles evidentemente varia de amostra para amostra e a solução do problema pode requerer a separação do elemento por precipitação, extração por solvente, resina de troca iônica ou então, mantém se o interferente no meio, promovendo sua inativação por oxidação, redução ou complexação.

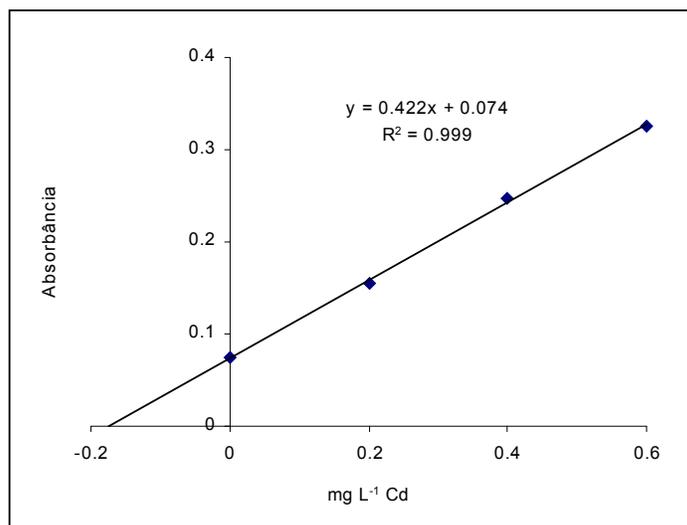
Na determinação de cálcio por espectrometria de absorção atômica efetua-se a adição de lantânio para eliminação do efeito do íon fosfato. Por outro lado, a determinação de potássio por fotometria de chama de emissão pode sofrer interferências de outros cátions como sódio e magnésio e para superá-las pode ser empregado um *tampão de radiação*, solução contendo concentrações relativamente elevadas desses elementos de modo que variações dos mesmos nas soluções de amostras sejam encobertas. Igualmente na potenciometria é empregado um tampão para ajuste da força iônica do meio.

### 2.3.2 Adição de padrão

O efeito dos constituintes da matriz pode ser contornado pela presença da solução de amostra em todas as soluções padrão de calibração. Trata-se de um procedimento cuja aplicação à análise rotineira de um grande número de amostras pode ser complicado, pois no mínimo duplica o número de leituras de sinal. Contudo, o procedimento pode ser facilmente incorporado em sistemas automatizados de tomada de amostras.

No exemplo a seguir, adicionam-se os volumes indicados de solução padrão e de solução de amostra a balões de 50 mL, completando-se o volume.

solução	volume de solução de amostra	volume de solução padrão 10 mg L <sup>-1</sup> Cd	concentração final de Cd (X)	Absorbância (Y)
1	2 mL	0 mL	0,0	0,075
2	2 mL	1 mL	0,2	0,155
3	2 mL	2 mL	0,4	0,248
4	2 mL	3 mL	0,6	0,325



Na equação de regressão obtida  $y$  é a absorbância e  $x$  a concentração final do cádmio adicionado em  $\text{mg L}^{-1}$ . O teor do metal na amostra é calculado fazendo  $y$  igual a zero, o que resulta em  $x$  igual a  $-0,175$ . Esse valor corresponde a  $0,175 \text{ mg L}^{-1}$ , isto é, a contribuição da solução de amostra para a concentração final e a concentração da solução de amostra será:

$$0,175 \cdot 50/2 = 4,38 \text{ mg L}^{-1} \text{ Cd}$$

Como o sinal sempre foi lido na presença da solução da amostra, o efeito interferente dos componentes da matriz será compensado, desde que o elemento adicionado sofra o mesmo nível de interferência que o elemento originário da matriz, o que nem sempre ocorre. O fato de se obter uma linha perfeitamente reta na calibração por adição de padrão não garante que o método esteja funcionando bem e, além disso, nos métodos espectrométricos seu uso é em geral restrito à eliminação das interferências não espectrais.

### 2.3.3 Padrão interno

Este método baseia-se na adição às soluções padrão e à solução de amostra, de um elemento ou substância estranho à amostra, em concentração conhecida. Na determinação de potássio por fotometria de chama de emissão, adiciona-se lítio em quantidades conhecidas e iguais às soluções de amostra e padrões. Para ser padrão interno o elemento não pode estar presente na amostra analisada. O lítio, no caso, é um elemento incomum em matrizes agronômicas.

Assumindo que diferentes condições instrumentais ou operacionais 1, 2, 3...afetem na mesma proporção e emissão de energia radiante dos átomos de potássio ( $E_K$ ) e de lítio ( $E_{Li}$ ), pode-se estabelecer a relação:

$$\frac{E_{K1}}{E_{Li1}} = \frac{E_{K2}}{E_{Li2}} = \frac{E_{K3}}{E_{Li3}} = \text{constante}$$

Na calibração também se pode estabelecer a relação:

$$\frac{[K]_{am}}{[K]_p} = \frac{(E_K)_{am}}{(E_K)_p} = \frac{(E_{Li})_{am}}{(E_{Li})_p}$$

pois como as quantidades adicionadas de Li são iguais normalmente  $(E_{Li})_{am} = (E_{Li})_p$ .

$$[K]_{am} = [K]_p \cdot \frac{(E_K)_{am}}{(E_{Li})_{am}} \cdot \frac{(E_{Li})_p}{(E_K)_p}$$

Na tabela que se segue, são mostrados alguns exemplos de cálculo:

Soluções	Sinal analítico de emissão		teor de K na amostra ( $\text{mg L}^{-1}$ )
	K	Li	
padrão $10 \text{ mg L}^{-1} \text{ K} + 10 \text{ mg L}^{-1} \text{ Li}$	25,1	24,2	--
amostra 1 + $10 \text{ mg L}^{-1} \text{ Li}$	12,7	25,7	4,76
amostra 1 + $10 \text{ mg L}^{-1} \text{ Li}$ (*)	11,8	23,8	4,78
amostra 2 + $10 \text{ mg L}^{-1} \text{ Li}$	18,4	25,3	7,01

Observe-se que na segunda leitura da amostra 1, identificada pelo asterístico, uma variação do instrumento fez cair o sinal do potássio, a qual, também afetando na mesma proporção o sinal do lítio, foi corrigida, pois a relação entre sinais desses elementos permaneceu constante. O método do padrão interno serve, por exemplo, para corrigir problemas associados à variação da velocidade de nebulização nos métodos de chama e de variações de fluxo nos métodos cromatográficos..

## 2.4 Controle de qualidade dos resultados analíticos

Um método analítico sempre fornece um resultado, um certo valor numérico; o problema é se definir o quanto ele é confiável. Para assegurar a qualidade dos resultados de laboratório existem alguns procedimentos que podem ser adotados.

As ações de caráter geral são: laboratório mantido em condições de limpeza e de segurança;

treinamento técnico e manutenção de disciplina do pessoal envolvido; aquisição de insumos, reagentes e vidraria, de boa qualidade, manutenção e calibração periódica de equipamentos; atenção na manipulação de dados e resultados, para evitar erros, entre outros. Especificamente, os seguintes procedimentos podem ser destacados

- *uso de sala branca*: sala protegida da contaminação do ambiente, no que diz respeito a poeira e material particulado em geral. Nesta sala admite-se apenas ar filtrado e se obedecem a regras estritas de limpeza.
- *purificação de reagentes*: reagentes comuns são por vezes purificados para análises de rotina. Para determinação de elementos a baixas concentrações (ppb) se exige que mesmo reagentes puros devam ser tratados para eliminação de interferentes, como a destilação sub-boiling. Aqui também se enquadra a questão da pureza da água empregada no laboratório
- *prova em branco*: todo conjunto de amostras analisado deve ser acompanhado por uma solução preparada com os mesmos reagentes, submetida aos mesmos procedimentos que foram efetuados na amostra, com exceção da inclusão da própria amostra. É o que se denomina *prova em branco*. O sinal analítico registrado para a prova em branco deve ser subtraído do sinal das amostras para eliminar efeitos de interferentes, mas isso pode ser feito dentro de certos limites pois, de maneira geral, o sinal do branco não pode representar uma proporção elevada do sinal analítico.
- *repetições*: resultados concordantes em repetições de uma mesma amostra não garantem exatidão, mas indicam apenas a precisão de um método.
- *uso de métodos alternativos*: dificilmente resultados obtidos por dois métodos baseados em princípios completamente diferentes serão afetados pelo mesmo tipo de erro. Deste modo, eventuais dúvidas sobre resultados podem ser solucionadas.
- *análise de amostras certificadas*: são amostras cujo teor em determinados elementos é garantido por entidades de reconhecida idoneidade. Estas amostras servem para aferir a exatidão dos resultados obtidos em laboratório ao se comparar procedimentos alternativos, equipamentos, pessoas, entre outros.
- *análise de amostras padrões*: nas análises de rotina devem ser incluídas amostras que já foram analisadas diversas vezes no próprio laboratório, das quais se conhece o teor médio e o desvio padrão do constituinte de interesse. Elas substituem os padrões certificados,

que pelo custo elevado não podem ser utilizados com maior frequência.

- *programas interlaboratoriais*: apesar de toda precaução em sanar eventuais fatores de erro, resultados tendenciosos podem ser obtidos em um laboratório devido a fatores de difícil identificação, relacionados a alguma característica específica do local. Uma forma tratar essa questão é efetuar análises de mesmas amostras em diferentes laboratórios, aplicando uma mesma metodologia sob condições completamente distintas de equipamentos, pessoal, reagentes.

### 3 AVALIAÇÃO DE DADOS ANALÍTICOS

#### 3.1 Erros

Toda medida esta sujeita a erro. O valor medido (X) de uma grandeza corresponde sempre a seu valor real (R) associado ao valor de um erro (E):

$$X = R \pm E$$

Os erros podem ser classificados como:

*Erros indeterminados, aleatórios ou casuais:* são os que não tem causa conhecida e são inevitáveis. Variáveis aleatórias e fora de controle sempre afetam as medidas efetuadas tanto no sentido positivo como negativo e determinam a precisão de uma medida, ou seja, a dispersão de repetições em torno de um valor médio.

*Erros determinados ou sistemáticos:* aqueles cuja origem pode ser determinada e, portanto podem ser sanados ou minimizados. Cada erro determinado apresenta sempre a mesma direção e magnitude, determinando a exatidão da medida, ou seja, o quanto o valor medido se afasta do valor real.

As causas dos erros determinados podem ser:

- *pessoais:* erros de manipulação de materiais, leitura em instrumentos, registro de dados, cálculo e identificação de amostras, entre outros. São minimizados por meio de treinamento.
- *instrumentais:* efeitos de variação de temperatura e de energia elétrica, contaminação e falha em instrumentos, que afetem o sinal num determinado sentido. São evitados pela manutenção periódica preventiva.
- *método:* reações lentas e incompletas, reações paralelas, espécies instáveis, reagentes não específicos. São contornados durante o estudo dos métodos analíticos

Erros determinados podem ser classificados como:

- *proporcionais:* aqueles cuja magnitude é proporcional ao teor de constituinte determinado: uma pipeta descalibrada, livrando um volume 4% maior que o nominal, resultará em erro positivo de 4% nos resultados do constituinte determinado.

- *aditivos*: quando o erro é independente da concentração do constituinte determinado: volumes iguais de  $\text{HNO}_3$  impuro empregado na digestão de diferentes amostras de tecido vegetal introduzirão uma quantidade fixa de Pb nos extratos.

O valor real de uma grandeza não é conhecido, pois, em princípio, toda medida está sempre sujeita a erro. Entretanto, pode-se tomar como valor real o teor determinando por um método analítico confiável e bem conhecido, considerado como referência, ou então, o resultado obtido em amostras certificadas.

Exemplo: determina-se cálcio em uma amostra certificada de calcário, para qual o teor é 21,13 % Ca. Admitindo a ocorrência apenas de erros aleatórios, se a medida fosse repetida várias vezes por um analista, diferentes valores poderiam ser obtidos:

repetição	%Ca	Desvios
1 <sup>a</sup>	19,86	-1,13
2 <sup>a</sup>	21,86	+0,87
3 <sup>a</sup>	20,44	-0,55
4 <sup>a</sup>	21,10	+0,110
5 <sup>a</sup>	20,86	-0,13
6 <sup>a</sup>	21,49	+0,50
7 <sup>a</sup>	22,56	+1,57
8 <sup>a</sup>	19,75	-1,24
média = 20,99		soma dos desvios = 0.00

A média aritmética das 8 determinações, 20,99, se aproxima bastante do valor real 21,13, pois, como erros aleatórios podem ser tanto negativos como positivos, eles tendem a se cancelar. Assim, a média aritmética é a melhor estimativa do valor real de uma grandeza através de medidas afetadas apenas por erros aleatórios.

O conjunto das repetições de determinações de cálcio constitui uma população, caracterizada por parâmetros estatísticos como média e desvio padrão. A média real dessa população, representada por  $\mu$ , é 21,13 e o valor 20,99 é uma estimativa ( $m$ ) dessa média verdadeira obtida a partir de uma amostra de 8 elementos.

A média é um parâmetro que nada informa sobre a variabilidade observada entre as diferentes repetições, ou seja, sobre a dispersão dos dados. O desvio padrão característico da população,  $\sigma$ , é o *desvio padrão verdadeiro* e expressa essa dispersão dos dados em torno da média verdadeira. Obtém-se um *desvio padrão estimado*  $s$  ao se considerar amostras contendo  $N$  indivíduos retiradas de uma população:

$$s = \sqrt{\frac{\text{soma do quadrado dos desvios}}{N - 1}}$$

À medida que  $N$  aumenta,  $s$  tende a  $\sigma$  e por esse motivo,  $s$  é tomado como boa aproximação de  $\sigma$  para amostras compostas de muitos indivíduos ( $N > 30$ ). No exemplo em questão, o desvio padrão  $s$  estimado a partir dos 8 valores citados é 0,972.

Uma população caracterizada como normal é aquela para a qual a distribuição de frequência dos dados obedece à lei de distribuição normal de Gauss. A partir dessa lei podem ser estabelecidos intervalos em termos de  $\sigma$  em torno da média  $\mu$ , que contem uma determinada proporção de indivíduos da população:

intervalo em torno da média	$\pm 0,67\sigma$	$\pm 1,00\sigma$	$\pm 1,96\sigma$	$\pm 2,00\sigma$	$\pm 2,58\sigma$	$\pm 3,00\sigma$
% de indivíduos abrangidos	50,0	68,0	95,0	96,0	99,0	99,7

### 3.2 Limites de confiança

Para uma população que segue a lei da distribuição normal, para a qual se conhece a média  $\mu$  e o desvio padrão verdadeiro  $\sigma$ , pode-se estabelecer um intervalo de confiança (IC):

$$IC = x \pm z \cdot \sigma$$

Um resultado analítico pode ser a média  $m$  de uma série de  $n$  observações. Para este caso, ainda considerando  $\sigma$  conhecido:

$$IC = m \pm \frac{z \cdot \sigma}{\sqrt{n}}$$

Exemplo: O teor de mercúrio em uma espécie de peixe foi determinado em 3 amostras, obtendo-se a média 1,67 mg kg<sup>-1</sup> Hg. O desvio padrão  $\sigma$  na determinação de mercúrio pelo método

empregado é conhecido e igual a 0,10. Para probabilidade de 95%,  $z$  é igual a 1,96, portanto:

$$IC = 1,67 \pm \frac{1,96 \cdot 0,10}{\sqrt{3}} = 1,67 \pm 0,11$$

Assim, embora não conheçamos o valor verdadeiro da média podemos estabelecer que ela se situa entre 1,56 e 1,78 mg kg<sup>-1</sup> Hg, com 95% de certeza.

Na maioria das vezes, um conjunto de  $n$  dados  $x_i$  extraídos da população é empregado para se obter a estimativa,  $m$ , da média verdadeira  $\mu$  e também a estimativa,  $s$ , do desvio padrão  $\sigma$ . O intervalo de confiança obtido a partir das estimativas  $m$  e  $s$  é definido agora em termos de um parâmetro  $t$ , por sua vez obtido em função do número de graus de liberdade ( $n-1$ ):

$$IC = m \pm \frac{t \cdot s}{\sqrt{n}}$$

### Comparações de médias

Uma das aplicações mais comuns da estatística na química analítica é a comparação de resultados de diferentes amostras, procedimentos, equipamentos ou operadores. Um novo método analítico para ser válido tem que ser comparado a um método considerado padrão. Materiais de referência, que garantem o teor de um seu constituinte, podem ser analisados por um analista para testar a qualidade de seu trabalho.

Exemplo: Em um material, o teor de potássio garantido pelo fornecedor é 15,35 %K, determinando por um método tradicional e bem estudado, para o qual se atribuí um desvio padrão  $\sigma$  de 0,17. Um comprador analisa o produto que recebeu e obtém para uma única determinação 14,75%K. O teor de potássio determinado difere do valor garantido com 99% de certeza?

No caso se conhece o desvio padrão  $\sigma$  e adota-se o parâmetro  $z$ , obtido a partir da distribuição de Gauss. Como indicado anteriormente,  $z$  vale 2,58 para 99% de probabilidade, assim:

$$IC = 15,35 \pm 2,58 \cdot 0,17$$

O intervalo entre 14,91 e 15,79 não inclui o resultado 14,75; portanto, o material recebido apresenta um teor de K menor que o valor certificado, a de 99% de probabilidade.

Exemplo: O teor de enxofre em uma amostra de material vegetal determinado por um método de referência é 0,157%S. Trabalhando-se com um método analítico que está sendo estudado, os

seguintes valores foram obtidos: 0,143; 0,141; 0,149 e 0,139. Pode-se dizer que o método testado fornece valores concordantes com o método tradicional ao nível de 95% de probabilidade?

Calcula-se para o novo método a média **m** e o desvio padrão **s** :

$$m = 0,143 \qquad s = 0,00432 \qquad n = 4$$

O valor tabelado de t para 3 graus de liberdade e 95 % de probabilidade é 3,182. O intervalo de confiança calculado vai de 0,136 a 0,150 não inclui o *valor real* 0,157, portanto, o método testado apresenta em erro sistemático e não tem a mesma exatidão do método de referência. Uma outra forma de avaliar a exatidão nesse problema seria obter um *valor calculado* de **t** para confrontá-lo com o *valor tabelado*:

$$t = \frac{0,157 - 0,143}{\frac{0,00432}{\sqrt{4}}} = 6,48$$

Como o valor calculado de t é maior que o tabelado, conclui-se que o valor 0,147 difere significativamente de 0,157, com 95% de probabilidade.

### 3.3 Comparação de precisão e exatidão

Dois técnicos de laboratório, A e B, trabalhando com o mesmo método, equipamentos e reagentes, obtiveram os seguintes valores para o teor de potássio em porcentagem em 5 repetições de uma mesma amostra:

Analista	Dados	Desvio padrão (s)	Variância (s <sup>2</sup> )	Graus de liberdade
A	1,37 1,33 1,31 1,33 1,30	0,0268	0,00072	4
B	1,28 1,36 1,35 1,40 1,31	0,0464	0,00215	4

A comparação de precisão entre os dois analistas é feita com base na medida da dispersão dos valores obtidos por cada um deles, ou seja, variância ou desvio padrão. O teste F efetua a comparação de variâncias:

$$F = \frac{s_B^2}{s_A^2} = \frac{0,00215}{0,00072} = 1,31$$

Para 4 graus de liberdade do denominador e do numerador, o valor de F tabelado é 6,39, ao nível de 95% de probabilidade. Como o F calculado não excedeu o valor tabelado, conclui-se que

não há diferença de precisão entre os dois analistas.

Supondo-se que a amostra analisada é um material de referência, com valor certificado de 1,305% K, pode-se discutir também a exatidão desses analistas com base nas médias:

$$m_A = 1,328 \%K \quad m_B = 1,340 \%K$$

O valor de  $t$  calculado para cada analista é confrontado com o valor tabelado  $t = 2,78$ , para 4 graus de liberdade e 95% de probabilidade:

$$t_A = \frac{1,328 - 1,305}{0,02683 / \sqrt{5}} = 1,916 \quad t_B = \frac{1,340 - 1,305}{0,02345 / \sqrt{5}} = 3,337$$

O valor  $t$  calculado para o analista A não excedeu o valor tabelado e conclui-se que o valor determinado e o valor certificado não diferem entre si a 95% de probabilidade e o analista A é exato. Isso não ocorre com o analista B e o resultado de sua determinação não é exato. Embora ambos os analistas tenham a mesma precisão nas suas determinações, não apresentam a mesma exatidão.

### 3.4 Comparação de precisão e exatidão entre dois métodos

Foram efetuadas 10 determinações de cádmio em um material por dois métodos A e B, obtendo-se:

Método	Média ( $\mu\text{g kg}^{-1}$ Cd)	Desvio padrão	Variância	g.l.
A	97,06	0,20656	0,0427	9
B	97,34	0,13500	0,0182	9

Para comparar esses dois métodos quanto à precisão emprega-se o teste F:

$$F = \frac{0,0427}{0,0182} = 2,34$$

Como o valor de F tabelado (95%) é 3,18, conclui-se assim, que os dois métodos não diferem entre si quanto à precisão.

Nesse mesmo exemplo pode-se efetuar uma comparação entre médias através do teste t. Uma vez que as variâncias dos dois conjuntos de dados não foram significativamente diferentes, pode-se calcular o *desvio padrão conjunto* através da fórmula:

$$s = \sqrt{\frac{(s_A)^2 \cdot gl_A + (s_B)^2 \cdot gl_B}{n_A + n_B - 2}} = \sqrt{\frac{(0,20656)^2 \cdot 9 + (0,13500)^2 \cdot 9}{10 + 10 - 2}} = 0,174$$

sendo o número de graus de liberdade igual a  $(n_A + n_B - 2)$ . O valor de  $t$  calculado será obtido através da fórmula:

$$t = \frac{m_A - m_B}{s \cdot \sqrt{\frac{1}{n_A} + \frac{1}{n_B}}} = \frac{97,34 - 97,06}{0,174 \cdot \sqrt{\frac{1}{10} + \frac{1}{10}}} = 3,58$$

O valor de  $t$  tabelado para 18 graus de liberdade e 95% de probabilidade é 2,10, concluir que a diferença entre as duas médias é estatisticamente significativa. Se o método A fosse um método de referência, o método B não apresentaria exatidão, sendo afetado por um erro determinado. O cálculo de  $t$  não requer que o número de determinações seja igual nos dois métodos testados.

### Descoberta do Argônio

Lord Rayleigh recebeu o prêmio Nobel em 1904 pela descoberta do Argônio, e ela foi resultado de uma pequena discrepância entre dois conjuntos de dados experimentais. Na época, admitia-se que o ar atmosférico era composto por 20% de  $O_2$  e 80% de  $N_2$ . Raleygh fez passar ar sobre cobre metálico aquecido para remover o oxigênio, formando  $CuO$  e deixando sobrar  $N_2$  “puro”. A massa de volume fixo de gás foi medida sob pressão e temperatura constantes. Paralelamente, ele produziu também o mesmo volume de  $N_2$  em laboratório pela decomposição química de óxido nitroso ( $N_2O$ ) ou óxido nítrico ( $NO$ ).

Massa de um volume V de $N_2$ isolado do ar atmosférico	Massa de um volume V de $N_2$ obtido por decomposição química
2,31017	2,30143
2,30986	2,29890
2,31010	2,29816
2,31001	2,30182
2,31024	2,29869
2,31010	2,29940
2,31028	2,29849
	2,29889
Média ( $m_1$ ) = 2,31011 Desvio padrão ( $s_1$ ) = 0,000143 $n_1 = 7$	Média ( $m_2$ ) = 2,29947 Desvio padrão ( $s_2$ ) = 0,00138 $n_2 = 8$

Rayleigh sabia que suas medições tinham sido feitas com cuidado e que a discrepância observada estava fora da margem de erro experimental do procedimento adotado. O  $N_2$  isolado do ar era mais denso que o  $N_2$  obtido por decomposição química e isso seria consequência da presença de um elemento mais pesado, desconhecido, existente no ar. Assim foi descoberto o Argônio!

O teste t pode ser empregado para decidir se o nitrogênio do ar é significativamente mais pesado que o nitrogênio obtido em laboratório:

$$t = \frac{m_1 - m_2}{\sqrt{\frac{s_1^2(n_1 - 1) + s_2^2(n_2 - 1)}{n_1 + n_2 - 2}} \sqrt{\frac{n_1 + n_2}{n_1 \cdot n_2}}}$$

$$t = \frac{2,31011 - 2,29947}{\sqrt{\frac{(0,000143)^2 \cdot (7 - 1) + (0,00138)^2 \cdot (8 - 1)}{8 + 7 - 2}}} \sqrt{\frac{15}{56}} = 20,20$$

Também neste exemplo como as variâncias não eram significativamente diferentes calculou-se o desvio padrão conjunto. O valor de t tabelado para 13 graus de liberdade e 99% de probabilidade é 3,012. Como o valor de t calculado excede o valor tabelado as médias são significativamente diferentes.

### 3.5 Comparação de resultados analíticos empregando regressão linear

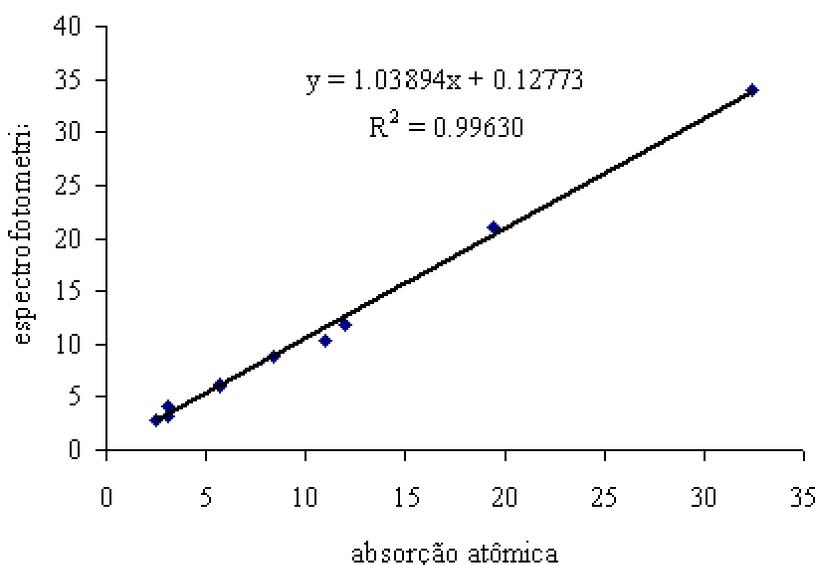
Resultados analíticos obtidos em diferentes amostras por dois métodos em confronto podem ser objeto de uma análise de regressão para determinar se esses métodos apresentam o mesmo grau de exatidão. Se um desses métodos for um método de referência avalia-se a exatidão do método alternativo.

Exemplo: dez amostras de material vegetal foram analisadas para determinação de cobre por espectrometria de absorção atômica (A) e por espectrofotometria (B), fornecendo os valores indicados a seguir. Existe diferença significativa entre os resultados fornecidos pelos métodos?

Obtendo-se a equação de regressão  $y = a x + b$ , caso o coeficiente angular  $a$  fosse 1 e coeficiente linear  $b$  fosse zero os resultados fornecidos pelos dois métodos seriam inteiramente concordes. Sendo o coeficiente angular significativamente diferente de 1 isso corresponde a manifestação de um *erro determinado proporcional*; e caso o coeficiente linear seja diferente de zero isso

corresponde a ocorrência de um *erro determinado aditivo*. Essas comparações são feitas pelo teste *t* e para tanto devem ser calculados: o desvio padrão da regressão (*s*); desvio padrão do coeficiente linear (*s<sub>b</sub>*) e desvio padrão do coeficiente angular (*s<sub>a</sub>*):

Amostra	Absorção atômica (x)	Espectrofotometria (y)	x <sup>2</sup>	xy	y <sup>2</sup>	y <sub>est</sub>	y-y <sub>est</sub>	(y-y <sub>est</sub> ) <sup>2</sup>
1	2,5	2,9	6,25	7,25	8,41	2,7251	0,175	0,0306
2	12,0	11,9	144,00	142,80	141,61	12,5950	-0,695	0,4830
3	5,7	6,2	32,49	35,34	38,44	6,0497	0,150	0,0226
4	8,4	8,9	70,56	74,76	79,21	8,8548	0,045	0,0020
5	3,1	3,2	9,61	9,92	10,24	3,3484	-0,148	0,0220
6	19,4	21,0	376,36	407,40	441,00	20,2832	0,717	0,5139
7	11,0	10,4	121,00	114,40	108,16	11,5561	-1,156	1,3365
8	3,1	4,2	9,61	13,02	17,64	3,3484	0,852	0,7251
9	5,7	6,0	32,49	34,20	36,00	6,0497	-0,050	0,0025
10	32,4	33,9	1049,76	1098,36	1149,21	33,7894	0,111	0,0122
<b>Σ</b>	<b>103,3</b>	<b>108,6</b>	<b>1852,13</b>	<b>1937,45</b>	<b>2029,92</b>	<b>108,5998</b>	<b>0,000</b>	<b>3,1505</b>



Desvio padrão da regressão ou de uma determinação:

$$s = \sqrt{\frac{\sum (y - y_{\text{est}})^2}{n - 2}} = \sqrt{\frac{3,1505}{10 - 2}} = 0,6275$$

Desvio padrão do coeficiente linear:

$$s_B = s \cdot \sqrt{\frac{\sum x^2}{n \cdot \sum x^2 - (\sum x)^2}} = 0,6275 \cdot \sqrt{\frac{1852,13}{10 \cdot 1852,13 - (103,3)^2}} = 0,3048$$

Desvio padrão do coeficiente angular:

$$s_A = \frac{s}{\sqrt{\sum x^2 - (\sum x)^2}} = \frac{0,6275}{\sqrt{1852,13 - \frac{(103,3)^2}{10}}} = 0,02239$$

Para testar se o coeficiente angular **a** é diferente de 1 e o coeficiente linear **b** é diferente de zero calculam-se os valores de **t<sub>B</sub>** para o coeficiente linear e de **t<sub>A</sub>** para o coeficiente angular

$$t_B = \frac{(b - 0)}{s_B} = \frac{(0,12773 - 0)}{0,3048} = 0,419 \quad t_A = \frac{(a - 1)}{s_A} = \frac{(1,03894 - 1)}{0,02239} = 1,739$$

O número de graus de liberdade é (n-1) igual a 8 e o valor de t tabelado é 2,306 para 8 graus de liberdade e 95 de probabilidade. Como os valores de t calculados não excederam o valor tabelado, o coeficiente angular não é estatisticamente diferente de 1, nem o coeficiente linear difere estatisticamente de zero. Deste modo, ambos os métodos confrontados para determinação de cobre fornecem resultados com precisão equivalente e não são afetados por erros determinados proporcionais ou aditivos.

Esses cálculos podem ser feitos facilmente com auxílio da planilha Excel: opção ferramentas > análise de dados > **regressão**. Deve-se observar contudo que o coeficiente angular é comparado ao valor zero e não a um como efetuado anteriormente :

ANOVA					
	<i>gl</i>	<i>SQ</i>	<i>MQ</i>	<i>F</i>	<i>F de significação</i>
Regressão	1	847,3735	847,3735	2151,7135	5,15558 10 <sup>-11</sup>
Resíduo	8	3,150507	0,393813		
Total	9	850,524			

	<i>Coefficientes</i>	<i>Erro padrão</i>	<i>Stat t</i>	<i>valor-P</i>
Coeficiente linear	0,12773	0,304814	0,419043	0,6862099
Coeficiente angular	1,038942	0,022397	46,38657	5,156 10 <sup>-11</sup>

### 3.6 Propagação de erros aleatórios

Um resultado analítico é consequência de uma série de etapas sobre cada qual incidem erros. O cálculo da incerteza, **s**, de um resultado **x** é efetuado levando-se em conta as incertezas dos resul-

tados intermediários  $p$ ,  $q$ ,  $r$ , de cada etapa, de acordo com as operações matemáticas envolvidas. Quando o resultado final  $x$  é obtido por operações de soma e subtração,  $x = p + q - r$ , a incerteza absoluta  $s_x$  do resultado é dada pela expressão:

$$s_x = \sqrt{(s_p)^2 + (s_q)^2 + (s_r)^2}$$

Estando envolvidas operações de multiplicação e divisão, a incerteza relativa  $s_x/x$  será:

$$x = \frac{p \cdot q}{r} \quad \frac{s_x}{x} = \sqrt{\left(\frac{s_p}{p}\right)^2 + \left(\frac{s_q}{q}\right)^2 + \left(\frac{s_r}{r}\right)^2}$$

Exemplo: qual será a incerteza  $s_x$  na concentração de potássio em uma solução de amostra, calculada pela expressão dada a seguir?

$$x = \frac{12,8 \pm 0,1}{25,0 \pm 0,1} \cdot 20 \pm 0,01 = 10,24 \pm s_x$$

$$\frac{s_x}{x} = \sqrt{\left(\frac{0,1}{12,8}\right)^2 + \left(\frac{0,1}{25}\right)^2 + \left(\frac{0,01}{20}\right)^2} = 0,0088$$

$$s_x = 10,24 \cdot 0,0088 = 0,09$$

### 3.7 Desvio padrão de resultado estimado por regressão linear

A calibração nos métodos instrumentais envolve o ajuste de uma função matemática que na maior parte das vezes é a função linear. Uma questão interessante que surge ao usar a equação da reta ajustada à curva de calibração é o cálculo do desvio padrão de uma concentração ( $s_c$ ) estimada através dela:

$$s_c = \frac{s_y}{a} \sqrt{\frac{1}{L} + \frac{1}{N} + \frac{(y_c - \bar{y})^2}{a^2 \cdot s_{xx}}} \quad s_{xx} = \sqrt{\sum X^2 - \frac{(\sum X)^2}{N}}$$

$s_y$ , o desvio padrão da regressão, pode ser obtido através da fórmula já citada anteriormente e  $a$  é o coeficiente angular da equação da reta de regressão

$s_{xx}$  é dado pela fórmula indicada.

$L$  é o número de repetições do sinal analítico obtido para a amostra e que deram origem ao valor  $y_c$  e  $N$  é o número de pontos da curva de calibração.

$\bar{y}$  é a média dos  $N$  valores de sinais analíticos da curva de calibração  $y = a \cdot x + b$

Exemplo: para um método espectrofotométrico foram obtidos os seguintes valores em uma calibração:

mg L <sup>-1</sup> (x)	Absorbância (y)
0,0	0,000
0,2	0,045
0,4	0,092
0,6	0,131
0,8	0,173
1,0	0,211
x médio = 0,5	y médio = 0,1087

A equação linear ajustada a esses dados é  $y = 0,21114 x + 0,00309$ . Na análise de uma amostra foram efetuadas 3 medidas de absorbância, obtendo-se o valor médio de 0,157, o qual corresponde a uma concentração estimada de 0,729 mg L<sup>-1</sup>. Como o valor de  $S_{xx}$  é 2,15833, o desvio padrão associado ao valor de concentração estimado pela equação da curva de calibração será:

$$s_C = \frac{0,003256}{0,21114} \sqrt{\frac{1}{3} + \frac{1}{6} + \frac{(0,157 - 0,10870)^2}{(0,21114)^2 \cdot 2,15833}} = 0,0116 \text{ mg L}^{-1}$$

### 3.8 Problemas

- Um carregamento de minério de cobre foi amostrado para análise ao ser recebido pelo comprador, obtendo-se os resultados 14,58; 14,61; 14,69 e 14,64 %Cu. O vendedor forneceu como teor certificado o valor 14,66 %Cu, com desvio padrão de 0,07 para cinco determinações. O comprador deve aceitar o carregamento?

A análise efetuada pelo comprador fornece um teor médio de 14,63 %Cu, com desvio padrão de 0,05 e 3 graus de liberdade. O desvio padrão conjunto é:

$$s = \sqrt{\frac{(0,05)^2 \cdot 3 + (0,07)^2 \cdot 4}{4 + 5 - 2}} = 0,062$$

O valor  $t$  tabelado é 2,37, para 7 graus de liberdade e 95% de probabilidade. Calcula-se agora a diferença entre médias prevista pelo valor  $t$  tabelado:

$$\Delta m = t \cdot s \sqrt{\frac{n_1 + n_2}{n_1 \cdot n_2}} = 2,37 \cdot 0,062 \cdot \sqrt{\frac{4 + 5}{4 \cdot 5}} = 0,095$$

A diferença calculada é superior à diferença observada de 0,03; conclui-se que não há dife-

rença significativa entre os teores certificado e analisado.

- O teor de  $\text{SO}_2$  no ar de uma indústria foi determinado em dois dias sucessivos, obtendo-se os valores médios de 8,63 e 8,84  $\text{mg L}^{-1}$  para 6 e 5 amostras respectivamente. Sabendo-se que esse método apresenta um desvio padrão de 0,093  $\text{mg L}^{-1}$   $\text{SO}_2$ , determinar se essas médias diferem entre si a 95 e 99% de probabilidade.

-Um método para determinação de zinco foi testado com uma amostra certificada contendo 0,082  $\text{mg Zn kg}^{-1}$  sendo obtido os seguintes valores: 0,083; 0,088; 0,087 e 0,086  $\text{mg Zn kg}^{-1}$ . O método estudado fornece resultados exatos ao nível de 95% de probabilidade?

-Um método para determinação de cromo em solução do solo forneceu um valor médio de 0,06871  $\text{mg/L}$  em sete repetições, com desvio padrão de 0.00037. Um novo método aplicado à mesma amostra forneceu os valores: 0,0682; 0,0677; 0,0685; 0,0685 e 0,0679  $\text{mg/L}$ . Pode-se ter 90% de confiança que o novo método fornece resultado não diferente do método padrão? Pode se ter 99% de certeza?

- Solução de HCl foi padronizada com diferentes indicadores, obtendo-se os dados indicados. As diferenças entre indicadores 1 e 2 e entre 2 e 3 são significativas a 95% de probabilidade?

Indicador	Concentração HCl $\pm$ desvio padrão	Número de repetições
1. Azul de bromotimol	0,09665 $\pm$ 0,00225	28
2. Vermelho de metila	0,08686 $\pm$ 0,00098	18
3. Verde de bromocresol	0,08641 $\pm$ 0,00113	29

- O teor de titânio em 5 amostras diferentes foi determinado por dois métodos. As duas técnicas analíticas diferem ao nível de 95 % de probabilidade?

Amostra	%Ti - método 1	%Ti - método 2
A	0,0134	0,0135
B	0,0144	0,0156
C	0,0126	0,0137
D	0,0125	0,0137
E	0,0137	0,0136

## 4 PREPARO DE SOLUÇÃO DA AMOSTRA<sup>1</sup>

Algumas técnicas analíticas, como espectrometria atômica de arco e fluorescência de raios X, são conduzidas em amostras sólidas, mas a grande maioria dos métodos analíticos é conduzida em solução aquosa.

Apesar das dificuldades impostas pela necessidade de se obter um extrato de amostra nas análises químicas usuais, o procedimento também tem suas vantagens. Assim, um pequeno volume de solução de amostra da ordem de alguns poucos microlitros pode ser tomado com precisão, permitindo que uma quantidade muito pequena de amostra seja considerada. Quando uma amostra tem seus componentes sejam postos em solução para determinar constituinte de interesse, os interferentes têm chance de serem removidos ou de terem seu efeito contornado. Efetuar diluições ou pré-concentração e ajustar as características da matriz às das soluções padrão também são possíveis quando se dispõe de soluções de amostras.

Matrizes orgânicas exigem a eliminação eficiente dos compostos orgânicos, tanto para a liberação de constituintes, como para eliminação de interferências. Estas últimas são particularmente importantes em técnicas instrumentais como a voltametria, cromatografia e principalmente na espectrometria de absorção atômica em forno de grafite e plasma ICP axial, nas quais ocorre o aumento da *interferência de background*.

### 4.1 Dissolução

Essencialmente, este é um procedimento para o preparo de soluções de matrizes inorgânicas. A dissolução pode ser conduzida diretamente em água ou em solução aquosa sem mudança química. Um exemplo comum de aplicação desse processo em materiais de interesse agrônômico é na determinação de nitrogênio e potássio em misturas de fertilizantes minerais. Como as fontes desses nutrientes são, em geral, sais inorgânicos bastante solúveis, como sulfato e nitrato de amônio, uréia, cloreto e sulfato de potássio, através da dissolução em água são determinados os teores totais daqueles nutrientes.

Na análise de solos, soluções aquosas de ácidos, sais ou agentes complexantes colocam em solução apenas parte dos nutrientes, definindo teores solúveis ou disponíveis, que podem ser diretamente relacionados com a absorção dos mesmos pelas plantas.

---

<sup>1</sup> baseado no II Workshop Sobre Métodos De Decomposição de Amostras realizado no CENA, Piracicaba, SP, em 1998.



A dissolução pode ser feita empregando-se ácidos ou mistura de ácidos com mudança química. A solubilização de rochas calcárias se enquadra neste caso. Amostras de calcários são facilmente dissolvidas em solução HCl sob aquecimento com desprendimento de  $\text{CO}_2$ . Outro exemplo é a dissolução de metais em ácidos.

Certas matrizes inorgânicas, como os silicatos, compreendendo argilas, rochas, minerais e escórias, são de difícil dissolução mesmo em ácidos concentrados a quente. Neste caso, pode se optar pelo emprego de eletrólitos inorgânicos fundidos, os fundentes, que atuam como poderosos solventes a temperaturas elevadas, ao redor de  $1000^\circ\text{C}$ . O processo normalmente é conduzido em cadinhos de platina, o que é uma desvantagem devido ao custo elevado desse material.

A fusão pode ser efetuada com reagentes básicos, tais como: LiOH, NaOH, KOH,  $\text{Na}_2\text{CO}_3$ ,  $\text{NaHCO}_3$ . O  $\text{Na}_2\text{CO}_3$  é um fundente comumente empregado. Após fusão com  $\text{Na}_2\text{CO}_3$ , um silicato de cálcio insolúvel resultará em CaO e  $\text{Na}_2\text{SiO}_3$ , que serão solubilizados em HCl.

Na determinação de silício em material vegetal, a amostra pode ser incinerada em mufla e o resíduo fundido em  $\text{Na}_2\text{CO}_3$ . O Si solúvel torna-se então passível de determinação espectrofotométrica.

A fusão também pode ser conduzida com boratos: tetraborato de lítio,  $\text{Li}_2\text{B}_4\text{O}_7$  e metaborato de lítio,  $\text{LiBO}_2$ , bem como com outros fundentes ácidos como  $\text{NH}_4\text{HSO}_4$ ,  $\text{NaHSO}_4$ ,  $\text{Na}_2\text{S}_2\text{O}_7$ ,  $\text{K}_2\text{S}_2\text{O}_7$  ou oxidantes,  $\text{NaNO}_3$ ,  $\text{K}_2\text{S}_2\text{O}_8$ .

## 4.2 Decomposição

O processo de decomposição mais importante em análises de materiais de interesse agrônomo é a destruição da matéria orgânica em matrizes como tecido vegetal: limbo foliar, bainhas, colmos; tecido animal; alimentos; fertilizantes orgânicos, resíduos industriais, entre outros.

### 4.2.1 Combustão

Rotineiramente os procedimentos de combustão ocorrem em sistema aberto por incineração em mufla elétrica. Componentes orgânicos de amostras são oxidados pelo oxigênio atmosférico, transformando-se essencialmente em  $\text{CO}_2$  e  $\text{H}_2\text{O}$ . O resíduo obtido é formado por óxidos, sulfatos, fosfatos e silicatos de elementos não voláteis.

Materiais orgânicos normalmente são incinerados de 450 a 550°C, devendo a elevação de temperatura ser conduzida de modo progressivo. Os constituintes não voláteis permanecem nas cinzas, as quais são atacadas com uma solução ácida para solubilização dos elementos de interesse. Nesse processo, o resíduo insolúvel isolado por filtração por vezes é considerado como  $\text{SiO}_2$ .

Esse procedimento é adequado para quantidades relativamente elevadas de material vegetal (1 ou 2 gramas), não sofre contaminação por impurezas provenientes de reagentes, mas apresenta o problema de perda de elementos por volatilização. O risco perda é maior com o aumento da temperatura, mas esta deve ser suficientemente elevada para se evitar combustão incompleta.

A perda de elementos de interesse pode decorrer de outros constituintes da própria matriz. Na presença de íon cloreto ocorre formação de  $\text{PbCl}_2$  e  $\text{CdCl}_2$  voláteis, determinando a perda desses elementos. Certos reagentes podem ser adicionados para evitá-las: ácido sulfúrico forma sulfatos de Pb e Cd que não se volatilizam. Também, na determinação de cloreto em tecido vegetal se incinera a amostra misturada a carbonato de sódio para se evitar perdas daquele elemento. Por outro lado, nitratos podem ser adicionados a amostras com objetivo de acelerar a oxidação.

O processo combustão é conduzido em geral em fornos elétricos denominados muflas, mas atualmente existem equipamentos onde a incineração se processa por meio de microondas. O material orgânico é normalmente colocado em cadinhos ou cápsulas de porcelana, nos quais existe o risco de reação desse material com a amostra. Isso é evitado em recipientes de quartzo e de platina, mas o custo elevado torna restrito o uso dos mesmos.

### 4.2.2 Via úmida

Matrizes orgânicas e biológicas são submetidas sob aquecimento à decomposição com ácidos minerais oxidantes concentrados ou misturas de ácidos oxidantes, visando a oxidação da matéria orgânica. Emprega-se também a mistura de um ácido oxidante e peróxido de hidrogênio. Os ácidos oxidantes empregados são:  $\text{HNO}_3$ ,  $\text{H}_2\text{SO}_4$  e  $\text{HClO}_4$ . Sendo aplicada à determinação de metais, estes permanecem como cátions simples em meio ácido.

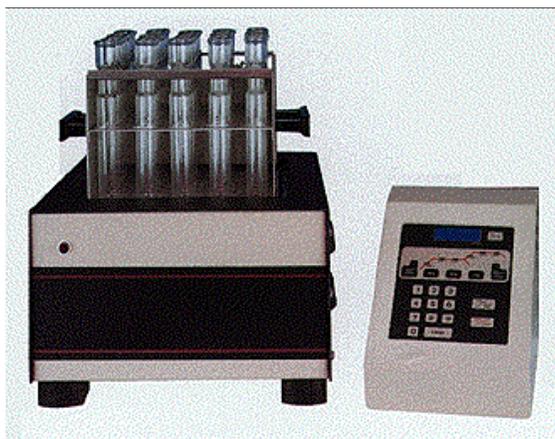
Neste processo, as possibilidades de perdas de elementos são minimizadas em relação à incineração em sistemas abertos, mas ainda assim alguns elementos importantes como boro e mercúrio podem ser perdidos.

O emprego de volumes relativamente elevados de reagentes concentrados introduz o risco de contaminação, sobretudo na determinação de constituintes que ocorrem a baixas concentrações. Neste caso será necessário empregar ácidos de elevada pureza.

#### 4.2.2.1 Técnicas de aquecimento convencional

Na análise de materiais orgânicos como tecidos vegetais, fertilizantes e resíduos orgânicos emprega-se rotineiramente o processo que se denomina *digestão nítrico-perclórica* para determinação de P, K, Ca, Mg, S e micronutrientes, empregando-se os ácidos nítrico e perclórico concentrados.

Em sistemas abertos, a eficiência de oxidação é limitada pela temperatura de ebulição do ácido empregado. O  $\text{HNO}_3$  tem seu poder de oxidação limitado pela temperatura de ebulição do azeótropo formado a  $120^\circ\text{C}$ .



Digestor para balões Kjeldahl

Bloco digestor

Na digestão nítrico-perclórica o  $\text{HNO}_3$  atua inicialmente oxidando da maior parte dos compostos orgânicos, que apresentariam riscos de explosão caso fossem postos em contato com o ácido

perclórico. Após a maior parte da matéria orgânica ter sido eliminada, adiciona-se o ácido perclórico, que sendo um agente oxidante mais energético completa o processo e por estar na presença de quantidade pequena de matéria orgânica apresenta menor risco. Como a temperatura de ebulição do  $\text{HClO}_4$  é maior que a do  $\text{HNO}_3$  ele promove a expulsão do  $\text{HNO}_3$  residual. Ao final do processo a temperatura será mais uma vez elevada, pois também o  $\text{HClO}_4$  deve ser eliminado, devido ao risco de formação de perclorato de potássio, que é pouco solúvel.

Na determinação de nitrogênio pelo método de Kjeldahl, a oxidação da matéria orgânica de amostras de solo, tecido vegetal e fertilizantes orgânicos é efetuada pela digestão com ácido sulfúrico em combinação com catalisadores (Selênio elementar, selenito de sódio,  $\text{HgO}$ ), sais como  $\text{K}_2\text{SO}_4$  para promover elevação da temperatura de ebulição do ácido, ou ainda peróxido de hidrogênio.

Na oxidação da matéria orgânica, o nitrogênio orgânico se converte em nitrogênio amoniacal para ser determinado pelo método de Kjeldahl. O nitrogênio na forma nítrica é convertido a amoniacal pela ação de hidrogênio nascente produzido a partir da reação entre cromo metálico, ou liga de Raney, com  $\text{H}_2\text{SO}_4$  durante a digestão sulfúrica. A redução de nitrato a amônio pode ser feita em meio alcalino, durante a destilação da amônia pela liga de Devarda.

Os processos de digestão nítrica perclórica ou sulfúrica são conduzidos em tubos de vidro, submetidos a aquecimento em blocos digestores ou, então, empregando balões Kjeldahl, de volumes variáveis entre 50 e 800 mL. A grande vantagem é, principalmente, a simplicidade e o baixo custo dos equipamentos.

A mistura de ácido sulfúrico e de peróxido de hidrogênio ( $\text{H}_2\text{O}_2$ ) também pode ser empregada para a digestão de material vegetal.

#### **4.2.2.2 Decomposição em sistema fechado. Bomba de Teflon**

Em sistemas fechados a temperatura de ebulição do  $\text{HNO}_3$  se eleva e isso aumenta seu poder de oxidação, sendo possível eliminar os riscos do uso do ácido perclórico. Na destruição de matéria orgânica em sistemas fechados são eliminadas as perdas por volatilização e a oxidação à temperaturas elevadas determina menor tempo e menor consumo de ácidos, reduzindo com isso a introdução de contaminantes na solução de amostra.

O processo pode ser conduzido em frascos de Teflon PTFE a temperaturas que o material suporta, entre 160 a 200°C. O frasco de PTFE é contido num cilindro de aço e dispõe de tampa que se abre em caso de ocorrer pressão excessiva durante o processo, sendo o conjunto aquecido em

bloco aquecedor ou estufa. Um volume de 2ml de  $\text{HNO}_3$  é suficiente para oxidar 100 mg de carbono a 170-180°C durante cerca de 3 horas. A matéria orgânica pode ser completamente oxidada pelo ácido nítrico a 300°C, mas para isso devem ser usados frascos de quartzo.

#### 4.2.2.3 Decomposição assistida por microondas

A microonda empregada é a radiação eletromagnética de frequência 2450 MHz, comprimento de onda de 12 cm, energia de 600 a 700 W (0,0016 eV). Microondas não são radiações ionizantes, pois apresentam energia insuficiente para romper ligações químicas, cujas energias são bem maiores, tais como:

H-OH	5,2 eV
H-CH <sub>3</sub>	4,5 eV
H-NH-CH <sub>3</sub>	4,3 eV
H <sub>3</sub> C-CH <sub>3</sub>	3,8 eV

Os efeitos biológicos das microondas estão associados apenas ao superaquecimento do tecido exposto, o que pode ocorrer até 2 cm de profundidade.



Os materiais interagem com as microondas basicamente de três formas:., refletindo-as sem se aquecerem, como fazem os metais; sendo transparentes a elas e também não se aquecendo, como os plásticos e as cerâmicas e finalmente absorvendo-as e se aquecendo. O aquecimento de materiais por microondas se dá por *condução iônica*, ou seja, a migração de íons dissolvidos sob a influência de um campo eletromagnético e por *rotação de dipolo*, quando moléculas com dipolo permanente ou

dipolo induzido se alinham a um campo eletromagnético aplicado.

A habilidade de um material em converter a energia eletromagnética de microondas em calor a uma determinada frequência e temperatura é expressa pelo parâmetro  $\text{tg } \delta$ . Para água a  $25^{\circ}\text{C}$   $\text{tg } \delta$  é igual a 0,157 enquanto que para o vidro borossilicato é 0,00106. No aquecimento convencional de um líquido por condução térmica, a superfície externa do frasco tem que estar a uma temperatura superior à temperatura de ebulição do líquido, enquanto no aquecimento por microondas ocorre o aquecimento do interior do líquido para fora.

O processo de oxidação de matéria orgânica assistida por microondas pode ser conduzido em sistemas fechados, onde não ocorrem perdas por volatilização e ação da microonda não é focalizada sobre a amostra. O aumento da pressão aumenta a temperatura de ebulição dos ácidos e, conseqüentemente, a eficiência da oxidação, permitindo que menores quantidades de ácidos possam ser empregadas. Não se recomenda empregar o ácido perclórico em sistemas fechados, devido aos riscos de explosão dos frascos sob pressão.

No equipamento denominado forno de microondas focalizado, o processo é conduzido em sistema aberto a pressão atmosférica. Os tubos de digestão são colocados em cavidades e submetidos individualmente a ação de microondas direcionadas sobre a amostra, que recebe uma quantidade conhecida e reprodutível de energia.



O equipamento possibilita a adição automatizada de reagentes e como o controle de cada célula de digestão é independente, diferentes processos e amostras podem ser conduzidos simultaneamente.

Na decomposição de material orgânico ocorre liberação de um grande volume de gases. Isso limita nos sistemas fechados a massa de material a quantidade de no máximo 0,5g, enquanto que nos sistemas abertos pode-se decompor até 5 g.

A decomposição de materiais em sistemas fechados, ao não permitir a volatilização de ácidos, resulta em extratos bastante ácidos e isso pode complicar a utilização de certos métodos analíticos onde o controle das condições de pH é mais rígido.

### **4.3 Preparo de solução de amostra e interpretação do resultado analítico**

O preparo de solução da amostra está diretamente relacionado com a interpretação do resultado da análise. O ataque de uma amostra de solo com ácidos nítrico, clorídrico e fluorídrico solubiliza a matriz completamente e no extrato obtido poderão ser determinados os teores totais de Si, Fe, Al, Ca, Mg, K, entre outros constituintes. Teores totais são úteis em estudos de mineralogia de solo, ou, por exemplo, para determinar a contribuição dos constituintes potencialmente tóxicos de um fertilizante ou de um resíduo industrial para a contaminação de um solo. Nos estudos de nutrição de plantas, contudo, os teores de elementos nas formas disponíveis no solo e nos fertilizantes são mais representativos do que os teores totais.

Deste modo, é no momento do preparo da solução das amostras que os teores ficam caracterizados. Ao se agitar solo com solução  $1 \text{ mol L}^{-1}$  KCl, os cátions  $\text{Al}^{+3}$ ,  $\text{Ca}^{+2}$  e  $\text{Mg}^{+2}$  que fazem parte do complexo de troca do solo são deslocados e substituídos pelo íon  $\text{K}^{+}$ , sendo por isso mesmo denominados trocáveis. Por outro lado, ao se aquecer uma amostra do solo com solução de HCl, o cálcio e o magnésio das partículas de calcário presentes no solo serão incluídos na determinação.

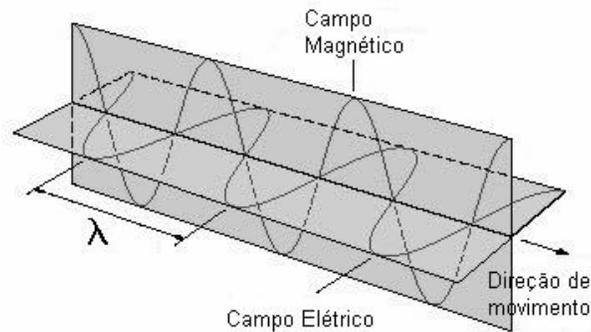
Na análise de fertilizantes a simples agitação com água de amostras contendo as fontes mais usadas de N e K, como uréia e KCl, permite considerar a determinação dos teores totais daqueles nutrientes. Contudo, para as fontes de fósforo, a água não é o extrator mais adequado e uma solução contendo o íon citrato permitira avaliar mais adequadamente o teor de P utilizável pelas plantas.

Assim, ao se interpretar o resultado de uma análise de solo ou de fertilizante, pode ser imprescindível conhecer os detalhes da marcha analítica com relação ao método empregado para se obter as soluções das amostras para análise.

## 5 NATUREZA E PROPRIEDADES DA ENERGIA RADIANTE

### 5.1 Radiação eletromagnética

Radiação eletromagnética é uma combinação de um campo elétrico e de um campo magnético, variáveis em tempo e espaço, que se propaga através do espaço transportando energia. Radiação eletromagnética é a propagação de energia no espaço, vácuo ou ar, na forma de um movimento ondulatório, à velocidade constante quando o meio não varia. Existem infinitos campos elétricos e campos magnéticos correspondentes que se situam em planos perpendiculares à direção de propagação da radiação. Para a maioria das aplicações analíticas envolvendo a interação da energia radiante com a matéria, é suficiente considerar apenas o campo elétrico.



A radiação eletromagnética é subdividida em diferentes modalidades tais como: luz visível, raios gama, ondas de rádio, microondas, raios x, ultravioleta, infravermelho. Esses nomes são estabelecidos com fins didáticos e práticos, pois não há diferenças abruptas entre as modalidades de radiação e todas são, basicamente, o mesmo fenômeno físico.

Denomina-se luz a radiação eletromagnética visível, que o ser humano percebe, pois se caracteriza por comprimentos de onda ao qual olho humano é sensível. Em suma, luz visível é a radiação eletromagnética que se situa entre o infravermelho e o ultravioleta. A percepção das cores varia muito de uma espécie animal para a outra. Cães e gatos, por exemplo, não vêem cores, apenas o preto e o branco; as cobras são sensíveis ao infravermelho e as abelhas ao ultravioleta. Mesmo entre os seres humanos pode haver grandes variações na percepção e por isto, os limites do espectro visível não são rígidos. Aparelhos de laboratório denominados espectroscópios podem detectar comprimentos de onda entre 2 e 2500 nm.

A radiação eletromagnética exibe simultaneamente propriedades de partícula e de onda. Essas características são mutuamente exclusivas e se aplicam separadamente em circunstâncias diferentes. As características ondulatórias aparecem quando a radiação eletromagnética se propaga a grandes distâncias e é considerada numa ampla escala de tempo, enquanto as características de partícula são evidentes a pequenas distâncias e escalas de tempo.

Os fenômenos de reflexão e difração da radiação eletromagnética podem ser analisados tanto pelos conceitos ondulatório como corpuscular; a interferência, difração e polarização são fenômenos interpretados apenas pelo modelo ondulatório e o efeito fotoelétrico é explicado apenas pelo modelo corpuscular. O modelo ondulatório da luz explica entre outros fenômenos triviais como a formação do arco-íris, o funcionamento das lentes de aumento e a aparente distorção dos objetos quando imersos em água.

## 5.2 Parâmetros de onda

Uma onda é caracterizada pela velocidade com que se propaga, a amplitude ou intensidade, o comprimento de onda e a frequência.

### Velocidade

Todas radiações eletromagnéticas irradiam-se pelo espaço com a mesma velocidade. No vácuo, a velocidade, representada por  $c$ , é conhecida como “velocidade da luz”, igual a  $2,99792 \cdot 10^8 \text{ m s}^{-1}$  ou  $3,00 \cdot 10^8 \text{ m s}^{-1}$ .

As propriedades ondulatórias da radiação eletromagnética são descritas por duas variáveis interdependentes: frequência e comprimento de onda. Essa interdependência é expressa pela equação:

$$c = \lambda \nu$$

Assim desde que  $c$  é uma constante  $\lambda$  e  $\nu$  tem uma relação recíproca entre si: radiação com alta frequência tem baixo comprimento de onda e vice-versa.

### Frequência ( $\nu$ , letra grega nu)

É número de vezes que um ponto da onda, o pico, por exemplo, passa por um ponto do espaço na unidade de tempo, ou seja, é o número de ciclos que a onda apresenta por segundo. A frequência é expressa nas unidades  $\text{s}^{-1}$  ou Hertz

### Comprimento de onda ( $\lambda$ , letra grega lambda)

É a distância entre qualquer ponto na onda e seu ponto correspondente na próxima crista ou vale. Comprimento de onda é expresso em metros seus submúltiplos como nanômetro ( $1 \text{ nm} = 10^{-9}$

metros). A radiação constituída por um único comprimento de onda é denominada radiação monocromática. A luz do sol é constituída por uma ampla gama de comprimentos de onda é denominada policromática.

É importante ressaltar que a frequência da radiação é característica da fonte emissora e não varia em função do meio. Assim, uma radiação com frequência  $6 \cdot 10^{14}$  Hz e velocidade  $3 \cdot 10^8$  m s<sup>-1</sup> terá comprimento de onda:

$$c = \lambda \nu$$

$$3 \cdot 10^8 \text{ m s}^{-1} = 6 \cdot 10^{14} \text{ s}^{-1} \cdot \lambda$$

$$\lambda = 5 \cdot 10^{-7} \text{ m} = 500 \text{ nm}$$

Ao ser transmitida através do vidro, a radiação eletromagnética mantém a mesma frequência, mas como a velocidade para  $1,8 \cdot 10^8$  m s<sup>-1</sup> e enquanto estiver percorrendo o vidro seu comprimento de onda se altera para:

$$c = \lambda \nu$$

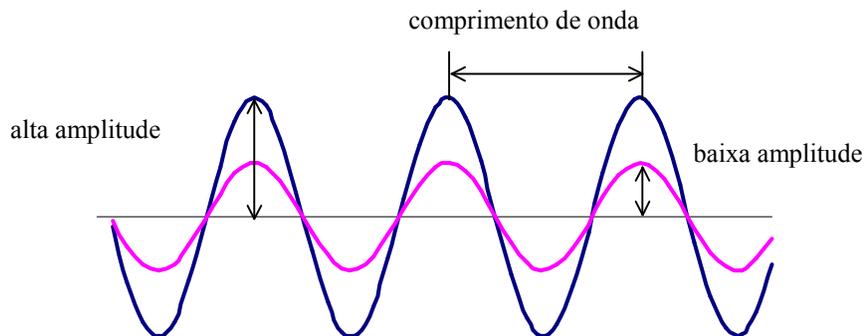
$$1,8 \cdot 10^8 \text{ m s}^{-1} = 6 \cdot 10^{14} \text{ s}^{-1} \cdot \lambda$$

$$\lambda = 3 \cdot 10^{-7} \text{ m} = 300 \text{ nm}$$

Quando emerge do vidro, a radiação retoma sua velocidade e comprimento de onda iniciais.

### Amplitude

Outra característica de uma onda é a amplitude que é a altura da crista ou profundidade do vale.



A amplitude é uma medida da força dos campos elétrico e magnético da onda e está relacionada à intensidade da radiação, que nos caso da luz visível se manifesta como brilho. A luz de uma cor particular, vermelho, por exemplo, tem frequência e comprimento de onda específico, mas pode ser brilhante (amplitude alta) ou fraca (amplitude baixa).

De acordo com o modelo corpuscular, a radiação eletromagnética é constituída por um conjunto de pacotes discretos de energia chamados fótons. A frequência da radiação determina a magnitude da energia dos fótons e a intensidade da radiação é proporcional ao número de fótons. Como os fótons são absorvidos e emitidos eles atuam como transportadores de energia. A energia do fóton é dada pela equação:

$$E = h \nu \quad E = \frac{h \cdot c}{\lambda}$$

$$h = \text{constante de Planck} = 6,626 \times 10^{-34} \text{ J s}$$

### 5.3 Exemplos de cálculos

Um dentista usa raios X ( $\lambda = 1,0$  Angstrom ) para tirar radiografias de um paciente que escuta a música de um rádio ( $\lambda = 325$  cm) e olha pela janela para o céu azul ( $\lambda = 473$  nm). Qual é a frequência em  $\text{s}^{-1}$  da radiação eletromagnética de cada fonte? Assumir que a radiação se propaga a velocidade da luz  $3,00 \times 10^8$  m/s.

$$c = \lambda \nu \quad \nu = c / \lambda$$

$$1 \text{ cm} = 10^{-2} \text{ m} \quad 1 \text{ nm} = 10^{-9} \text{ m} \quad 1 \text{ Angstrom} = 10^{-10} \text{ m}$$

$$1 \text{ \AA} = 1,0 \times 10^{-10} \text{ m} \quad 325 \text{ cm} = 325 \times 10^{-2} \text{ m} \quad 473 \text{ nm} = 473 \times 10^{-9} \text{ m}$$

$$\nu = 3 \times 10^8 \text{ m s}^{-1} / (1,0 \times 10^{-10} \text{ m}) = 3 \times 10^{18} \text{ s}^{-1} \text{ or Hz}$$

$$\nu = 3 \times 10^8 \text{ m s}^{-1} / (325 \times 10^{-2} \text{ m}) = 9,23 \times 10^7 \text{ s}^{-1}$$

$$\nu = 3 \times 10^8 \text{ m s}^{-1} / (473 \times 10^{-9} \text{ m}) = 6,34 \times 10^{14} \text{ s}^{-1}$$

Uma cozinheira usa o forno de microondas para preparar uma refeição. O comprimento de onda é 1,20 cm. Qual a energia de um fóton da radiação de microonda ?

$$E = h \nu \quad \nu = c / \lambda \quad E = h c / \lambda$$

$$h = \text{constante de Planck} = 6,626 \times 10^{-34} \text{ J s}$$

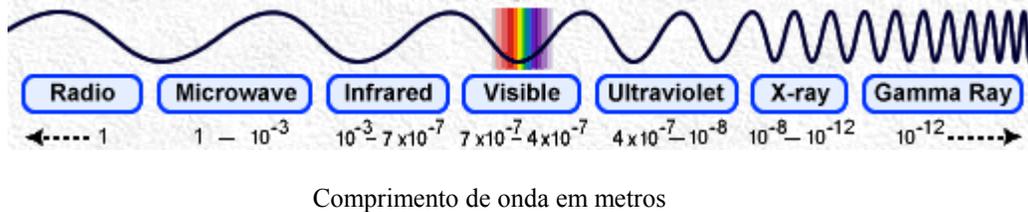
$$E = (6,626 \times 10^{-34} \text{ J.s} \cdot 3 \times 10^8 \text{ m/s}) / 1,20 \times 10^{-2} \text{ m}$$

$$E = 1,66 \times 10^{-23} \text{ J}$$

## 5.4 Modalidades de radiação eletromagnética

A radiação eletromagnética se propaga a velocidade constante num determinado meio, mas diferenças no comprimento das ondas, e conseqüentemente na freqüência, resultam em tipos de radiação que apresentam diferentes características, como o poder de penetração dos raios X ou o aquecimento do infravermelho.

O conjunto de radiações com diferentes comprimentos de onda constituem o espectro eletromagnético que é formado por diferentes regiões.



Ondas de radio são usadas para transmitir sinais de radio de TV com comprimentos de onda de até centenas de metros. Microondas de comprimento de onda são usadas rotineiramente no cozimento dos alimentos por agirem sobre a rotação das moléculas de água e assim provocando aquecimento. As radiações de infravermelho incluem as radiações térmicas. Ao se passar corrente elétrica através de um filamento metálico ele pode não emitir luz, mas emite radiação infravermelha que é sentida como calor. Tem uso cotidiano nos controles remotos. Para a região do infravermelho se usa o número de onda que é o inverso do comprimento de onda. A região da luz visível (400-750 nm), que é detectada pelo olho humano, coincide com os comprimentos de onda de maior intensidade, emitidos pelo Sol. A radiação ultravioleta corresponde à faixa de 400 a 10 nm. Uma fonte importante de radiações ultravioleta é o Sol, sendo a maior parte delas bloqueadas pela camada de ozônio na parte superior da atmosfera da Terra. Os Raios X são radiações eletromagnéticas de grande poder de penetração, usadas em aplicações médicas. Os raios gama são emitidos por átomos de elementos radioativos e são mais penetrantes que os raios X e também usados na medicina.

As diferentes freqüências caracterizam as diferentes energias dos fótons constituintes das diferentes regiões do espectro eletromagnético. Esses fótons de energias diferentes interagem de modo distinto com a matéria. Radiações de comprimentos de onda mais curtos (maiores freqüências) têm energia maior e, conseqüentemente, afetam o núcleo e os elétrons das camadas mais internas do á-

tomo. À medida que a energia dos fótons diminui as interações são mais fracas, a ponto das radiações de microondas, por exemplo, apenas afetarem a rotação das moléculas.

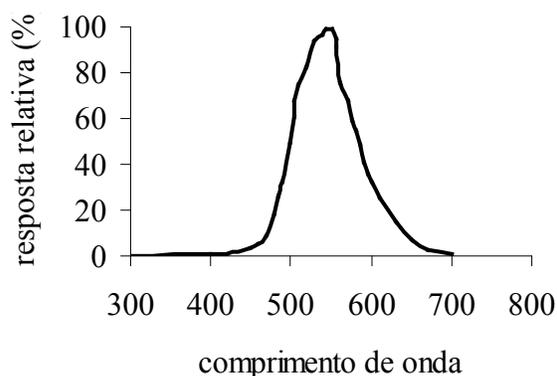
Tipo de radiação	Frequência (Hz)	Comprimento de onda	Interação com a matéria
Raios gama	$10^{20} - 10^{24}$	$<10^{-12}$ m	Nuclear
Raios X	$3 \cdot 10^{20} - 3 \cdot 10^{16}$	1 pm - 10 nm	Elétron interno
Ultravioleta	$3 \cdot 10^{16} - 7,5 \cdot 10^{14}$	10 nm - 400 nm	Elétron externo
Visível	$7,5 \cdot 10^{14} - 4 \cdot 10^{14}$	400 nm - 750nm	Elétron externo
Infravermelho próximo	$4 \cdot 10^{14} - 1,2 \cdot 10^{14}$	750 nm - 2,5 $\mu$ m	Elétron externo + Vibração. molecular
Infravermelho médio	$1,2 \cdot 10^{14} - 6 \cdot 10^{12}$	2,5 $\mu$ m - 50 $\mu$ m	Vibração molecular
Infravermelho distante	$6 \cdot 10^{12} - 3 \cdot 10^{11}$	50 $\mu$ m - 1000 $\mu$ m	Vibração molecular
Microondas	$3 \cdot 10^{11} - 3 \cdot 10^8$	1mm – 1 m	Rotação molecular
Ondas de rádio	$< 3 \cdot 10^8$	$>1$ m	Spin nuclear

As radiações são também classificadas como ionizantes e não-ionizantes. Ionização é a remoção de um ou mais elétrons de um átomo ou de uma molécula de modo a produzir uma espécie positiva. Radiações na região visível do espectro ou de comprimentos de onda maiores não apresentam capacidade de ionizar e assim são classificadas de não-ionizantes. As radiações começam a serem classificadas como ionizantes na região do ultravioleta. O comprimento de onda exato depende do átomo ou da molécula.

### 5.5 Luz visível

A porção visível do espectro eletromagnético, detectável pelo olho humano, está compreendida entre 400 e 750 nm.

As cores que se percebem são resultantes da absorção pela matéria de certos comprimentos de onda e da transmissão de outros. Assim, a cor observada (cor complementar) corresponde aos comprimentos de onda não

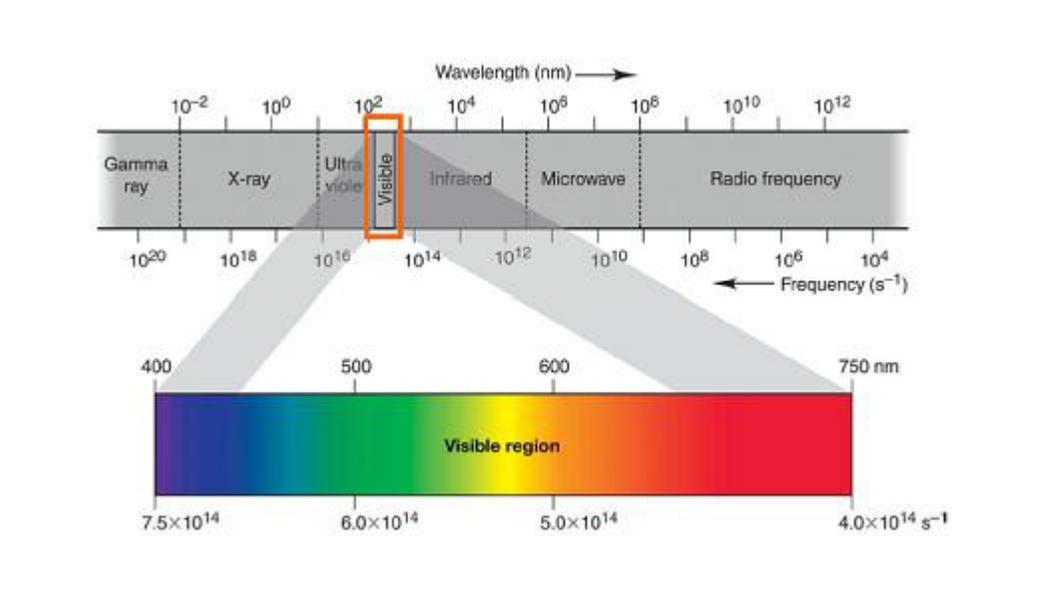


absorvidos por uma substância.

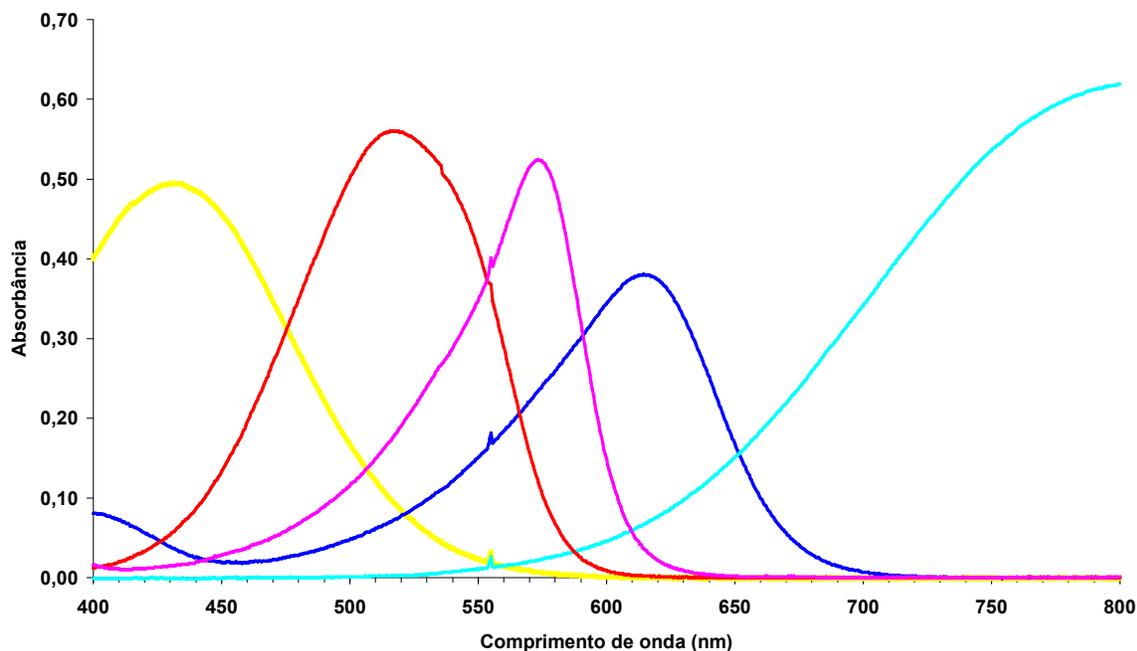


A percepção das cores pelo olho humano é uma evidência dos comprimentos de onda diferenciados de diferentes radiações, mas não serve para finalidades analíticas precisas.

$\lambda$ absorvido, nm	Cor da luz absorvida	Cor Complementar Transmitida
400 - 435	Violeta	Amarela esverdeada
435 - 480	Azul	Amarela
480 - 490	Azul esverdeada	Laranja
490 - 500	Verde azulada	Vermelha
500 - 560	Verde	Purpura
560 - 580	Amarelo esverdeada	Violeta
580 - 595	Amarela	Azul
595 - 650	Laranja	Azul esverdeada
650 - 750	Vermelha	Verde azulada

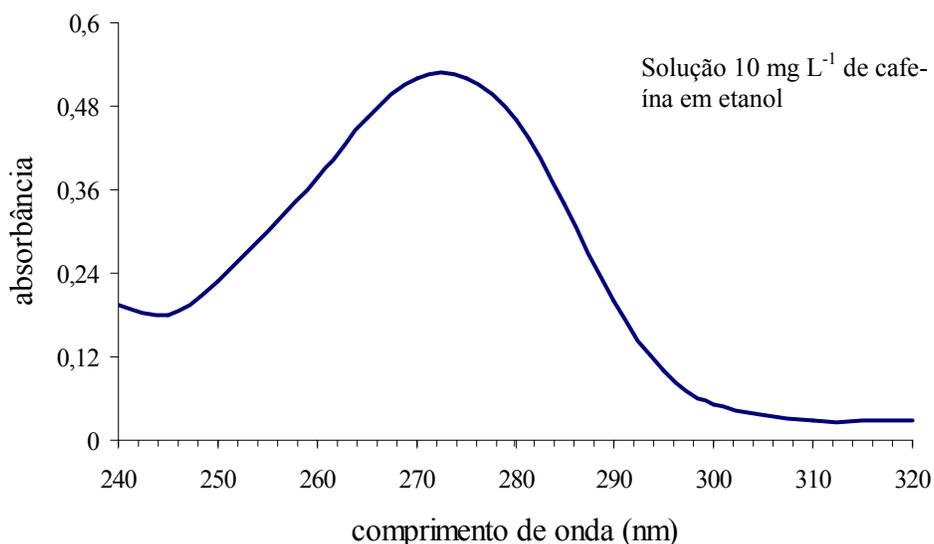


Um equipamento é capaz de efetuar uma varredura e medir a energia absorvida por soluções em função do comprimento da radiação incidente sobre ela, constituindo um espectro de absorção de energia pelas moléculas presentes. Os espectros de absorção de algumas soluções coloridas são apresentados a seguir (as cores são as mesmas das linhas da figura). Se as soluções são coloridas elas absorvem energia radiante no intervalo 400-750 nm.



Uma solução vermelha, por exemplo, não absorve radiações de 400 nm, mas a 450 nm já o faz. O pico de absorção ocorre a 520 nm e, portanto, a solução vermelha retira do espectro de luz visível a cor verde azulada. A cor que se vê é produzida parte restante desse espectro.

Soluções incolores podem também apresentar um espectro de absorção de radiação eletromagnética, mas que não estará evidentemente compreendido entre 400 e 750 nm. Uma solução de cafeína em etanol exibe um máximo de absorção próximo a 270 nm, na região UV, ou seja, ela retira uma fração de comprimento de onda do espectro de energia radiante, mas isso não pode ser detectado pelo olho humano, e, assim, a solução é incolor.



## 5.6 Radiação eletromagnética e matéria

Moléculas, íons e átomos são constituídos por cargas elétricas, elétrons e núcleos e um campo elétrico como o das radiações eletromagnéticas exerce uma força sobre essas espécies. A radiação eletromagnética e a matéria estão envolvidas com diferentes fenômenos, alguns dos quais são comentados a seguir.

### Transmissão

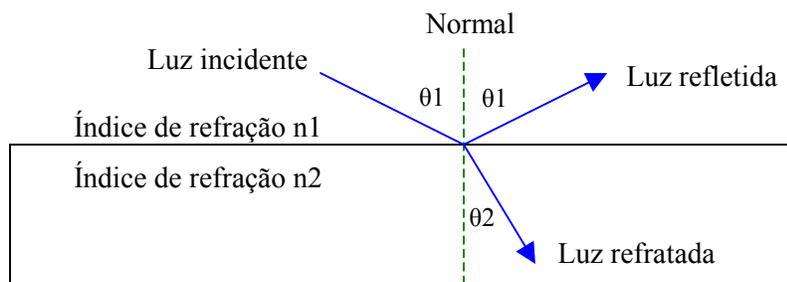
A transmissão de energia radiante através de um meio material não muda sua frequência, pois esta é determinada pela fonte emissora. Durante a transmissão não ocorre transferência de energia da radiação para a matéria, mas apenas uma interação temporária do campo elétrico da radiação com a estrutura eletrônica do meio. Essa interação altera a velocidade e, conseqüentemente, o comprimento de onda da radiação.

### Espalhamento da radiação

Durante a transmissão de energia radiante não há absorção e a maior parte dela mantém a direção original do feixe, mas a parte da radiação temporariamente retida é re-emitada em todas as direções. Quando as partículas do meio são muito pequenas, a radiação reemitida é praticamente anulada por interferência destrutiva, mas se as partículas forem maiores pode haver transmissão de energia em todas as direções causando o que se denomina espalhamento da radiação.

## Reflexão e Refração

Quando um feixe de radiação incide a um determinado ângulo sobre a superfície de separação entre dois meios uma parte pode ser refletida com mesmo ângulo de incidência. Outra parte é transmitida através do meio sofrendo uma mudança de direção, ou seja, sofrendo refração.

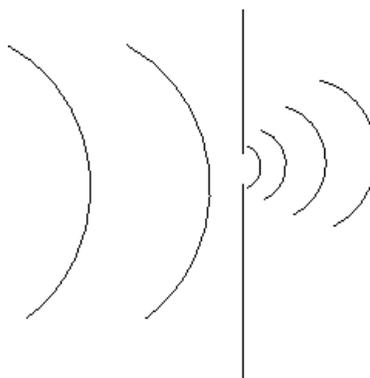


## Polarização

Na radiação eletromagnética ocorrem infinitos campos elétricos se situam em planos perpendiculares à direção de propagação. Ao atravessar certos meios, ditos polarizantes, a radiação passa a vibrar em um único plano, denominando-se então radiação polarizada.

## Difração

Ao atravessar um orifício relativamente estreito uma onda se irradia como se ali fosse uma fonte pontual de ondas, e esse fenômeno se denomina difração. A intensidade da difração aumenta a medida em que a abertura do orifício se aproxima do comprimento de onda da radiação. Na difração ocorrem interferências construtivas e destrutivas, que resultam em zonas, linhas ou pontos escuros e brilhantes dependendo da geometria do objeto que causa a difração.



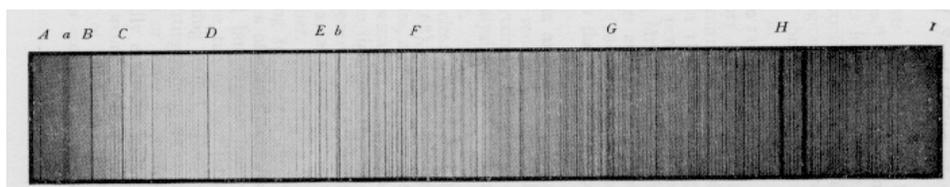
## Absorção e emissão de energia por átomos

As diferentes regiões do espectro eletromagnético interagem de modo bastante diferenciado com a matéria. Para haver absorção a frequência da onda incidente coincidir com uma frequência natural de um tipo de oscilação do sistema. Ainda devem ser respeitadas as regras de seleção quânticas atinentes ao sistema e à faixa de frequências envolvida.

### 5.7 Histórico

Isaac Newton demonstrou em 1665-66 que a luz branca, como a luz do Sol, ao passar por um prisma se decompõe em luz de diferentes cores, formando um espectro como o arco-íris. Carl Scheele em 1777 observou que a luz de cor violeta, localizada ao final do espectro da luz visível, enegrecia uma maior quantidade de cloreto de prata na reação de fotólise, que é a base da fotografia

Em 1802, William Hyde Wollaston (1766-1828) observou que, passando a luz solar por uma fenda e depois por um prisma, apareciam algumas linhas escuras no espectro, que ele interpretou como o limite das cores. Estas linhas são imagens da fenda do espectrógrafo em diferentes comprimentos de onda. Até 1820, o fabricante de instrumentos de vidro (lentes, prismas, microscópios e telescópios) alemão Joseph von Fraunhofer (Fraunhofer) (1787-1826), de Munique, já havia contado no espectro solar 574 linhas escuras, chamadas depois de linhas de Fraunhofer. Para 324 destas linhas, Fraunhofer deu o nome de letras maiúsculas: A, B, C ... para as linhas mais fortes e minúsculas para as mais fracas, começando com A no vermelho.



Fraunhofer também observou linhas nos espectros das estrelas Sírius, Castor, Pollux, Capella, Betelgeuse e Procyon. Cerca de 40 anos depois as linhas foram identificadas como sendo:

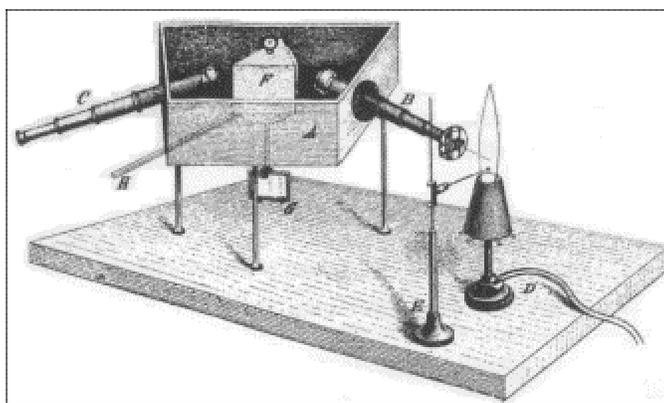
Linha	A	B	C	D1	D2	D3	E	b1	F	G	H	K
$\lambda$ (Å)	7594	6867	6563	5896	5890	5876	5270	5184	4861	4308	3968	3934
Elemento	O	O	$H\alpha$	Na	Na	He	Fe,Ca	Mg	$H\beta$	Fe,Ca	Ca	Ca



Bunsen

Kirchhoff

Em 1856, o químico alemão Robert Wilhelm Bunsen (1811-1899) inventou o bico de gás (bico de Bunsen), cuja vantagem era a de ter chama incolor. Quando um elemento químico era colocado sobre a chama, as cores emitidas eram as da substância, e não da chama. Bunsen tinha um colaborador mais jovem, o físico Gustav Robert Kirchhoff (1824-1887), que em 1856 sugeriu que as cores seriam mais bem distinguidas se passadas através de um prisma. Eles colocaram um prisma na frente de um conjunto de lentes e passaram a identificar as linhas com os elementos químicos.

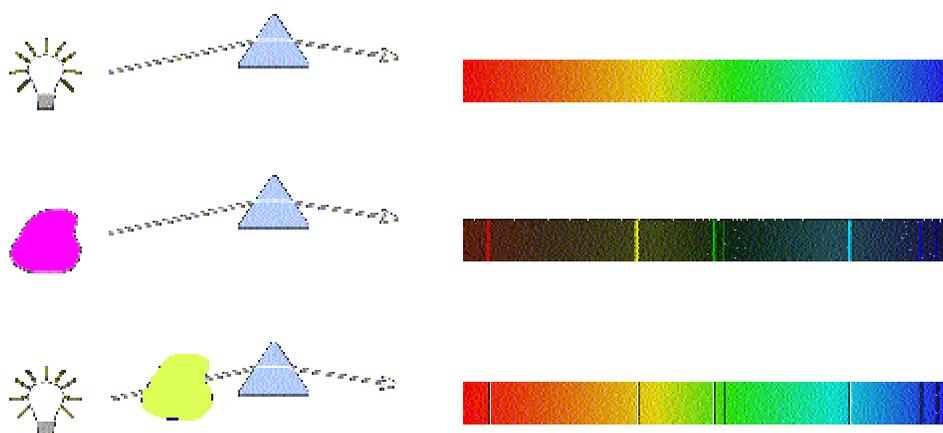


Os gases quentes observados por Kirchhoff e Bunsen não emitiam um espectro contínuo. Eles descobriram que cada elemento gerava uma série de linhas diferentes. Por exemplo, o neônio tinha linhas no vermelho, o sódio tinha linhas no amarelo e o mercúrio tinha linhas no amarelo e no verde.

Estas linhas eram todas brilhantes, enquanto as linhas de Fraunhofer eram escuras. Kirchhoff queria confirmar que as linhas escuras D descobertas por Fraunhofer eram linhas de sódio.

Para isto ele passou a luz do Sol através de uma chama de sódio, esperando que as linhas do sódio preenchessem as linhas escuras do Sol. Para sua surpresa, as linhas D ficavam mais fortes, mais escuras. Ele então substituiu o Sol por um sólido quente. A luz do sólido que passava pela chama apresentava as mesmas linhas escuras do Sol, na posição das linhas do sódio. Ele então concluiu que o Sol era um gás ou sólido quente, envolto por um gás mais frio. Estas camadas mais frias é que produzem as linhas escuras do Sol. Comparando o espectro, ele descobriu linhas de Mg, Ca, Cr, Co, Zr, Ba e Ni no Sol.

De suas experiências, Kirchhoff formulou as três leis empíricas da espectroscopia, para determinar a composição de uma mistura de elementos.



- 1) Um corpo **opaco** quente, sólido, líquido ou gasoso, emite um espectro **contínuo**.
- 2) Um gás **transparente** produz um espectro de **linhas** brilhantes (de emissão). O número e a posição destas linhas depende dos elementos químicos presentes no gás.
- 3) Se um espectro contínuo passar por um gás à temperatura mais baixa, o gás frio causa a presença de linhas escuras (absorção). O número e a posição destas linhas depende dos elementos químicos presentes no gás.

É importante notar que as linhas escuras não significam ausência de luz, somente o contraste de menos luz. O gás mais frio absorve mais radiação que emite e, portanto, gera linhas escuras. Se estiver em equilíbrio, isto é, nem aquecendo nem esfriando, um gás absorve a radiação vinda em sua direção e a re-emite em todas as direções, causando um decréscimo de fluxo na direção da fonte. Se não estiver em equilíbrio, o gás aquece.

A observação dos espectros estelares tomou impulso a partir de meados do século XIX. Em 1862, o astrônomo sueco Anders Jonas Ångström (1814-1874), identificou as linhas de hidrogênio no Sol, elemento descoberto em 1766 pelo físico e químico inglês Henry Cavendish (1731-1810). Em 1868, o astrônomo inglês *Sir* Joseph Norman Lockyer (1836-1920) descobriu uma linha inexplicada no espectro do Sol, que ele identificou com um novo elemento químico, hélio, do grego *helios*, Sol. Somente 27 anos mais tarde o elemento hélio foi descoberto na Terra, pelo químico inglês *Sir* William Ramsay (1852-1916) quando o espectro de um minério de urânio contendo hélio produziu uma linha na posição exata daquela encontrada por Lockyer no espectro do Sol. Hoje em dia sabe-se que o hélio é o segundo elemento mais abundante no Universo. O primeiro é o hidrogênio.

O espectro emitido no centro da estrela, pelas reações nucleares, é denominado "duro", constituído de raios gama, mas logo vai ser "abrandado" ou ficar mais "mole" (de comprimento de onda maior e energia menor por "fóton"). Como a energia total se mantém e cada fóton tem menos energia, o número de fótons é muito maior. Nesse processo, que envolve um enorme número de eventos ou colisões entre os fótons e a matéria, o espectro será contínuo, distribuído em todas as frequências. Ao migrar para camadas mais externas e frias, o espectro se torna cada vez mais "mole", passando a ser principalmente em raios X, ultravioleta e, finalmente, perto da superfície, no visível.

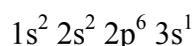
A "superfície" de uma estrela (fotosfera) não é uma camada de propriedades químicas e físicas distintas, como nos planetas. Toda a estrela é um gás, que absorve e reemite a radiação, de acordo com a sua temperatura. Mais no centro, o gás (na maioria hidrogênio e hélio) está todo ionizado, sendo composto de núcleos e elétrons livres. Porém a temperatura é menor na superfície, havendo átomos que podem ter elétrons em diferentes energias. Mas os elétrons não podem ficar em qualquer nível de energia - é um fato básico e muito intrigante. Eles só "aceitam" energia de comprimento de onda bem determinado e então "pulam" para um nível mais alto, absorvendo o fóton dessa energia. Não "servem" os fótons de menos energia, nem tampouco os de mais energia, a não ser de energia bem maior, que permite "pular" dois níveis para cima.

Assim, quando a radiação passa pela camada externa, menos densa e mais fria, os átomos dessa camada absorvem apenas os fótons de comprimentos de onda característicos, que serão removidos da radiação que se desloca da camada mais interna para fora da estrela. Além da fotosfera, o gás está tão rarefeito que, na prática, não mais absorve a radiação visível. Assim, a "superfície" é apenas um fenômeno ótico, relacionado com a emissão e absorção da luz da estrela.

Portanto, superpostas na radiação contínua emitida pela estrela, aparecem linhas escuras características dos elementos químicos das camadas superficiais da estrela, que são as linhas que Fraunhofer identificou, classificou e estudou a partir de 1814,. Porém, o gás que absorve a luz também se aquece. Na fotosfera do Sol, a temperatura é superior a 5000 K. As linhas escuras nunca são totalmente escuras ou desprovidas de luz. Elas têm a contribuição da luz emitida pelo gás que absorve a luz, mas que também a reemite.

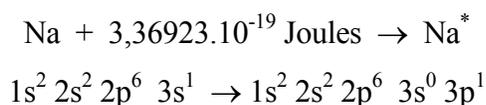
WOOD, em 1902, mostrou como átomos de sódio podiam emitir e absorver radiações através de uma experiência ilustrativa, se bem que não inédita. Nela se produzia vapor de sódio no interior de um bulbo de vidro, aquecendo-se uma pastilha de sódio metálico, sem que nenhum efeito ótico fosse perceptível. Juntando-se íons sódio a uma chama, e com ela irradiando o bulbo, notava-se emissão de luz amarela de dentro do mesmo. A luz emitida pela chama era capaz de levar átomos de sódio do estado fundamental para um nível mais elevado de energia, ou seja, um estado excitado instável. Quando os átomos excitados de sódio retornavam ao estado fundamental emitiam radiação luminosa. A experiência de WOOD serve para introduzir uma série de conceitos que são importantes para se entender os fundamentos dos métodos espectrométricos de chama.

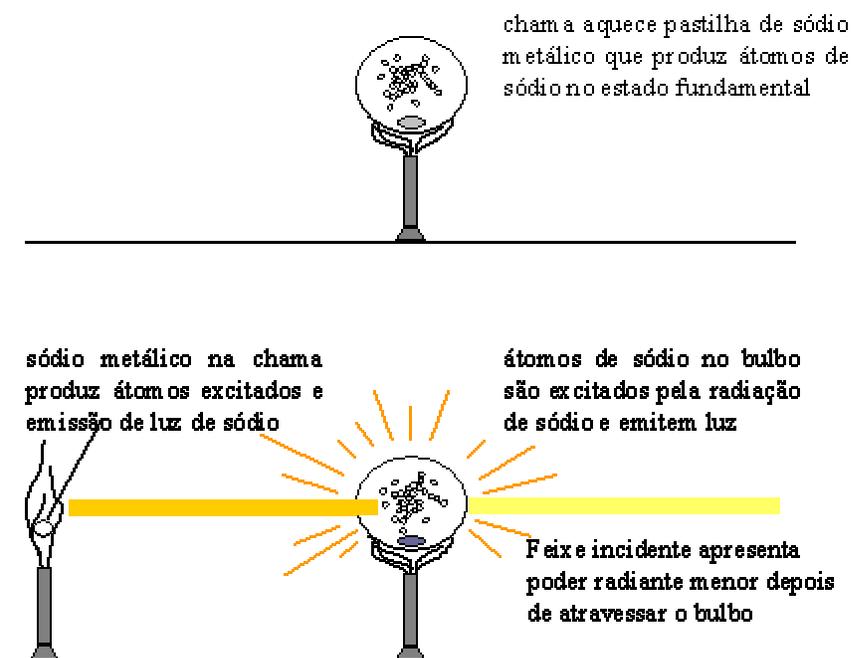
O aquecimento do sódio metálico produziu átomos de sódio no interior do bulbo. No estado fundamental, os 11 elétrons do átomo de sódio estão distribuídos de acordo com a seguinte configuração eletrônica:



A excitação desses átomos correspondeu a uma *mudança estado de energia eletrônica*. O menor grau de excitação do átomo de sódio corresponde à mudança do elétron localizado no orbital 3s, o mais externo, para orbitais de maior energia.

Demais elétrons podem ser ignorados, pois a quantidade de energia fornecida nos métodos em consideração, é insuficiente para afetá-los. Apesar da possibilidade de promoção para estados de maior energia, a excitação do átomo de sódio, em chama ou por radiação luminosa, corresponde essencialmente à promoção do elétron para o próximo orbital em ordem crescente de energia:

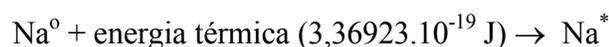
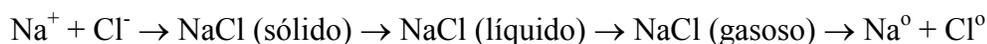




Átomos apresentam níveis ou estados de energia bem definidos, típicos de cada elemento químico. A frequência  $\nu$  da energia emitida, ou absorvida, pelo átomo é proporcional à diferença entre os valores das energias,  $E_i$  e  $E_f$ , de dois estados energéticos:

$$\nu = \frac{E_f - E_i}{h}$$

Na experiência de WOOD, essa energia foi fornecida pela luz proveniente de uma chama, quando nela eram introduzidos íons sódio,  $\text{Na}^+$ . O que ocorreu na chama pode ser entendido conforme indicado a seguir:



Na chama os íons sódio ( $\text{Na}^+$ ) se transformaram em átomos no estado fundamental ( $\text{Na}^0$ ), que podem ser excitados ( $\text{Na}^*$ ) através da energia liberada em colisões com partículas de alta veloci-

dade da chama, passando do orbital 3s para o orbital 3p. A tendência natural é retornar ao estado fundamental, mais estável, e isso se dá com cada átomo devolvendo a energia extra adquirida de  $3,36923 \cdot 10^{-19}$  J, através da emissão de radiação luminosa. Foi essa radiação que forneceu exatamente a energia necessária e suficiente para excitar os átomos de sódio dentro do bulbo. Em resumo, na experiência de WOOD átomos de sódio percorreram diversas vezes o mesmo caminho, indo e voltando, ganhando e devolvendo a mesma quantidade de energia.

Para ter seu elétron mais externo promovido do orbital 3s para 3p, o átomo de sódio tem de absorver 1 fóton de radiação luminosa de determinado comprimento de onda, de modo a obter  $3,372 \cdot 10^{-19}$  joules. Essa quantidade de energia corresponde aos fótons de radiação luminosa, cujo comprimento de onda pode ser calculado pela equação:

$$E = \frac{h \cdot c}{\lambda}$$

onde : E = energia em joules

h = constante de Planck =  $6,626176 \cdot 10^{-34}$  J.s

c = velocidade da luz =  $2,99792458 \cdot 10^8$  m.s<sup>-1</sup>

$\lambda$  = comprimento de onda em metros

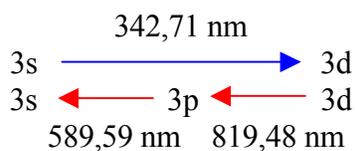
$$\lambda = \frac{6,626276(\text{J.s}) \cdot 2,99792458 \cdot 10^8 (\text{ms}^{-1})}{3,36923 \cdot 10^{19} (\text{J}) \cdot 10^9}$$

A radiação luminosa amarelada de 589,59 nm é típica do elemento sódio, sendo empregada para identificá-lo na análise qualitativa. É importante ressaltar a 589,59 nm ocorre absorção de  $3,36923 \cdot 10^{-19}$  J para promover o elétron de 3s para 3p e haverá emissão de radiação desse mesmo comprimento de onda, no retorno ao estado fundamental: (3s ← 3p)

Sob maior fornecimento de energia, existem muitas possibilidades de excitação do átomo de sódio. Depois de transição 3s → 3p, aquela com maior probabilidade de ocorrer é a 3s → 4p, que dá origem a uma linha de emissão na região do ultravioleta a 330,23 nm.

Em outra transição, menos provável, mas possível, o elétron é promovido do orbital 3s para 3d, mas pode retornar ao estado fundamental em duas etapas, através do orbital 3p, emitindo linhas a 819,48 nm e a 589,59 nm.

Os cálculos efetuados não são totalmente corretos, por não levarem em conta a ocorrência de *multipletos*, conforme será esclarecido mais adiante ao se discutir o espectro de linhas.



## 5.8 Relação de Boltzman

Quando uma população de átomos é introduzida em uma chama a maior parte deles permanece no estado fundamental e uma pequena fração passa para um estado excitado. A relação entre o número de átomos presentes em dois estados de energia possíveis é dada pela relação de Boltzmann. Assim, a razão entre o número de átomos em determinado estado excitado ( $N^*$ ), e o número de átomos no estado fundamental ( $N^0$ ) é calculado pela expressão:

$$\frac{N^*}{N^0} = A \frac{-E}{k \cdot T}$$

onde:

$A$  = constante (relação entre pesos estatísticos dos estados fundamental e excitado)

$E$  = diferença de energia entre os estados considerados.

$T$  = temperatura em graus Kelvin

$k$  = constante de Boltzmann =  $1,38062 \cdot 10^{-23} \text{ J.K}^{-1}$

$e$  = base dos logaritmos naturais = 2,718

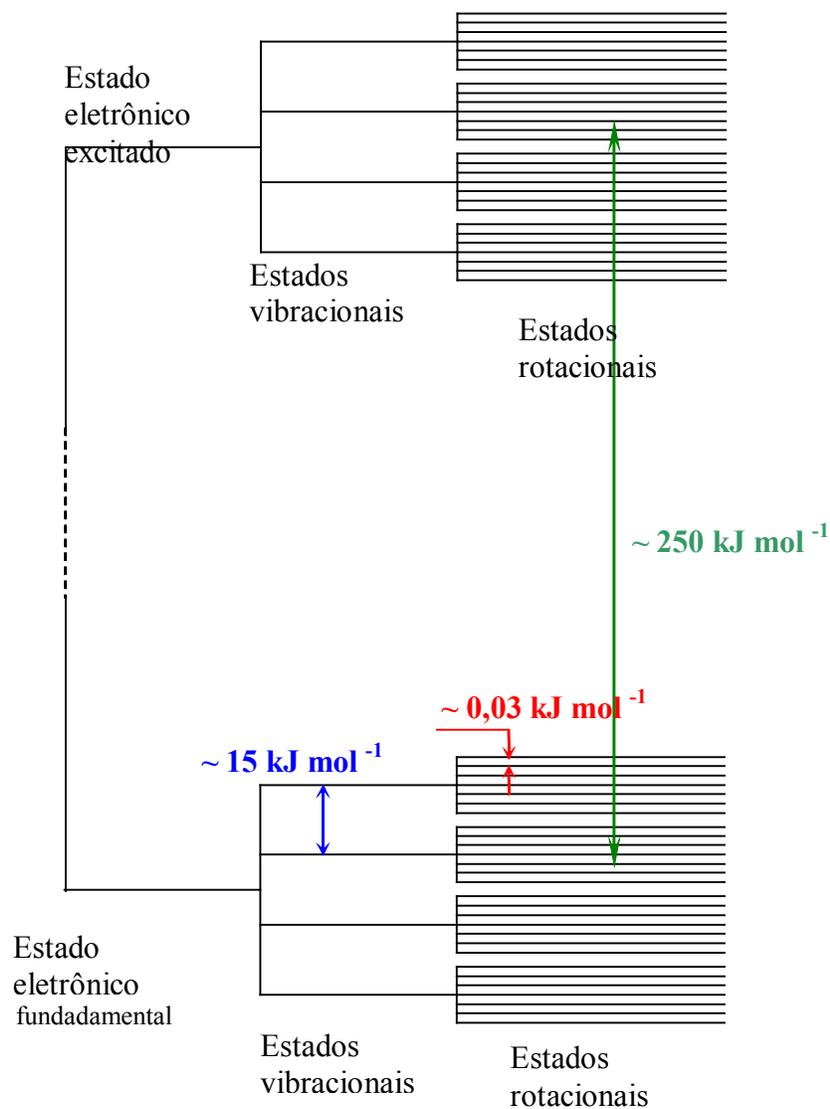
A relação de Boltzmann indica que a população de átomos excitados depende da temperatura e da diferença de energia entre os estados atômicos considerados. Para átomos de sódio numa chama a 2000 K, a relação entre populações de átomos excitados ( $3s^0 \ 3p^1$ ), e de átomos no estado fundamental será de 1 átomo em cada 100.000:

$$\frac{N^*}{N^0} = 2 \cdot e^{-[3,36923 \cdot 10^{-19} / (1,38062 \cdot 10^{-23} \cdot 2000)]} = 10^{-5}$$

A relação de Boltzmann é aplicável diretamente na análise dos métodos espectroscópicos de chama. Na fotometria de emissão de chama detecta-se a energia liberada no retorno ao estado fundamental de átomos excitados, cuja população é altamente dependente da temperatura. Já na espec-

trometria de absorção atômica, são os átomos no estado fundamental que interagem com um feixe de radiação, a variação de temperatura tem efeito relativamente menor.

### 5.9 Absorção de energia por moléculas



A mecânica quântica especifica que uma molécula pode ocupar apenas estados discretos de energia. Estes estados podem envolver orbitais de elétrons, vibrações entre átomos individuais e rotações da molécula como um todo. A energia total de uma molécula  $E_{\text{tot}}$  pode ser expressa como:

$$E_t = E_{\text{rot}} + E_{\text{vibr}} + E_{\text{ele}}$$

Para cada estado eletrônico existem muitos estados possíveis de energia vibracional e para cada estado de energia vibracional existem vários estados de energia rotacional. Radiações de comprimento de onda relativamente grande, e de baixa energia, como microondas e infravermelho afastado conseguem afetar apenas a rotação de moléculas.

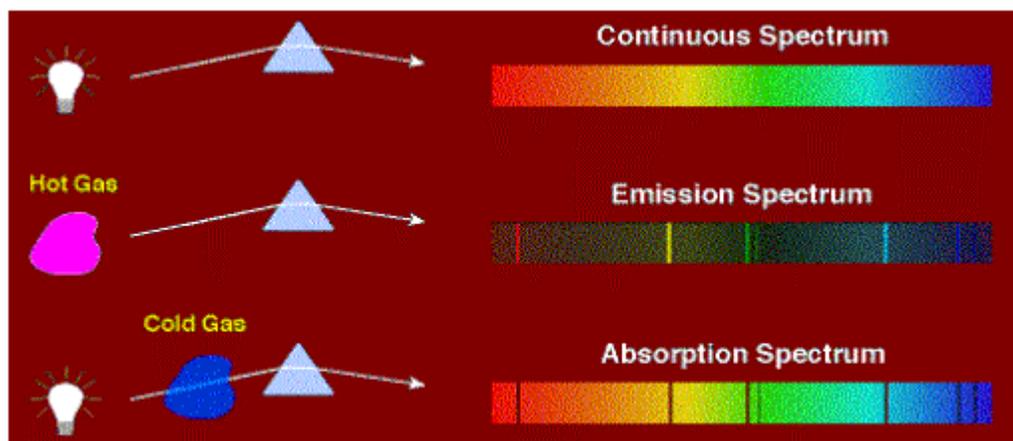
A absorção de energia de radiações da região do infravermelho está relacionada à vibração molecular, mas somente quando essa vibração corresponde também a um momento dipolar oscilante. Quando moléculas polares vibram, seu momento dipolar varia regularmente e resulta em um campo elétrico; a absorção de energia se dá quando o campo elétrico da radiação eletromagnética se acopla a aquele momento dipolar oscilante. Em outras palavras, se a frequência de uma radiação eletromagnética se ajustar exatamente à frequência vibracional da molécula a radiação é absorvida; a transferência de energia faz alterar a amplitude da vibração da molécula. Apenas moléculas com momento dipolar permanente absorvem energia da região do infravermelho do espectro eletromagnético. Portanto, moléculas diatômicas homonucleares como  $\text{Cl}_2$  e  $\text{O}_2$  cujo momento dipolar é zero, não interagem com radiação. Por outro lado, a vibração de moléculas diatômicas heteronucleares são acompanhadas de oscilação de momento dipolar e podem interagir com radiação e mudar seu estado vibracional de energia.

Na região visível e ultravioleta a absorção de energia por moléculas ocorre em decorrência de transições eletrônicas nos átomos constituintes das moléculas. Átomos livres não possuem energia rotacional ou vibracional, sendo que as transições de energia ocorrem entre diferentes níveis eletrônicos puros e dão origem a espectros na região do visível ou do ultravioleta. Isso ocorre porque transições eletrônicas envolvem diferenças relativamente mais elevadas de energia e, assim, correspondem a absorção de radiação eletromagnética de comprimentos de onda mais baixos.

Desde que, a cada nível eletrônico das moléculas está associado um conjunto de níveis de energia vibracional, e a cada um destes, por sua vez, um conjunto de níveis de energia rotacional, transições entre dois níveis eletrônicos moleculares diferem entre si por pequenas quantidades de energia vibracional e rotacional, dando origem à estrutura de bandas dos espectros moleculares.

### 5.10 Espectros

O conjunto de radiações emitidas ou absorvidas por um elemento, relacionadas ao comprimento de onda, constitui seu espectro de emissão ou de absorção, respectivamente. Os seguintes tipos de espectros podem ser distinguidos:



### Espectro contínuo

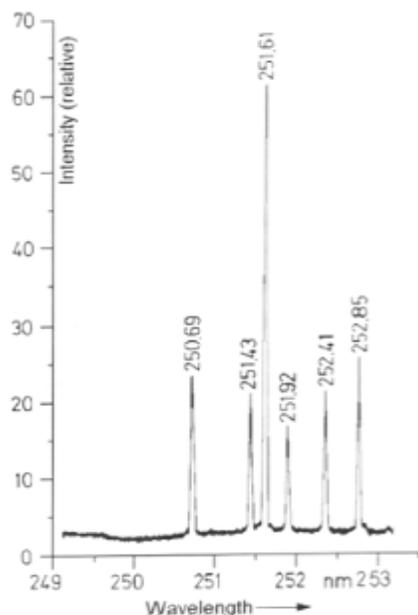
Quando um corpo sólido, como o filamento das lâmpadas de tungstênio, é levado à incandescência e se efetua a dispersão da energia radiante emitida, obtém-se um espectro contínuo, composto de todos os comprimentos de onda da faixa espectral estudada. Também é contínuo o espectro da lâmpada de deutério, empregada na correção de background na espectrometria de absorção atômica.

Se os átomos emitem em linhas espectrais, de onde vem o espectro contínuo? Quando átomos interagem com outros, as linhas espectrais são alargadas. Quando um agregado de átomos interage fortemente, como em um sólido, líquido, ou gás opaco, todas as linhas são tão alargadas, que produzem um contínuo. Embora um átomo só emita um comprimento de onda, muitos átomos comprimidos juntos num material emitem radiação em uma banda de linhas.

### Espectro atômico ou de linhas isoladas

De maneira geral, átomos de diferentes elementos quando convenientemente excitados liberam a energia extra adquirida emitindo radiações monocromáticas, de comprimentos de onda característicos e cujo conjunto constitui um espectro atômico de emissão.

Por outro lado, átomos em seu estado fundamental podem absorver energia radiante para promover transições entre estados eletrônicos de energia bem definidos. O conjunto de linhas de absorção, de comprimentos de onda característicos, constitui o espectro atômico de absorção. O espectro atômico típico é do tipo descontínuo e apresenta bandas muito estreitas, na verdade linhas,



Espectro de absorção por átomos de silício

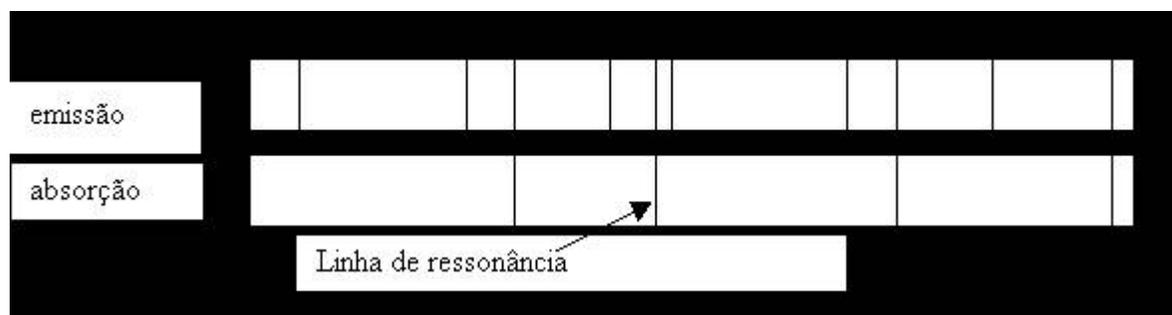
correspondentes a determinados comprimentos de onda. Na excitação por arco ou centelha elétrica, o átomo é levado a estados de elevada energia e o retorno à condição normal pode ocorrer por etapas, correspondentes a diferentes comprimentos de onda. Obtém-se então um espectro de emissão complexo, com muitas linhas.

A excitação dos átomos de uma chama por energia luminosa possibilita apenas transições do estado fundamental, em que a quase totalidade dos átomos se encontra, para estados excitados de energias mais baixas. Registrando-se um espectro de absorção nessas condições, obtém-se um espectro relativamente simples, com poucas linhas de absorção.

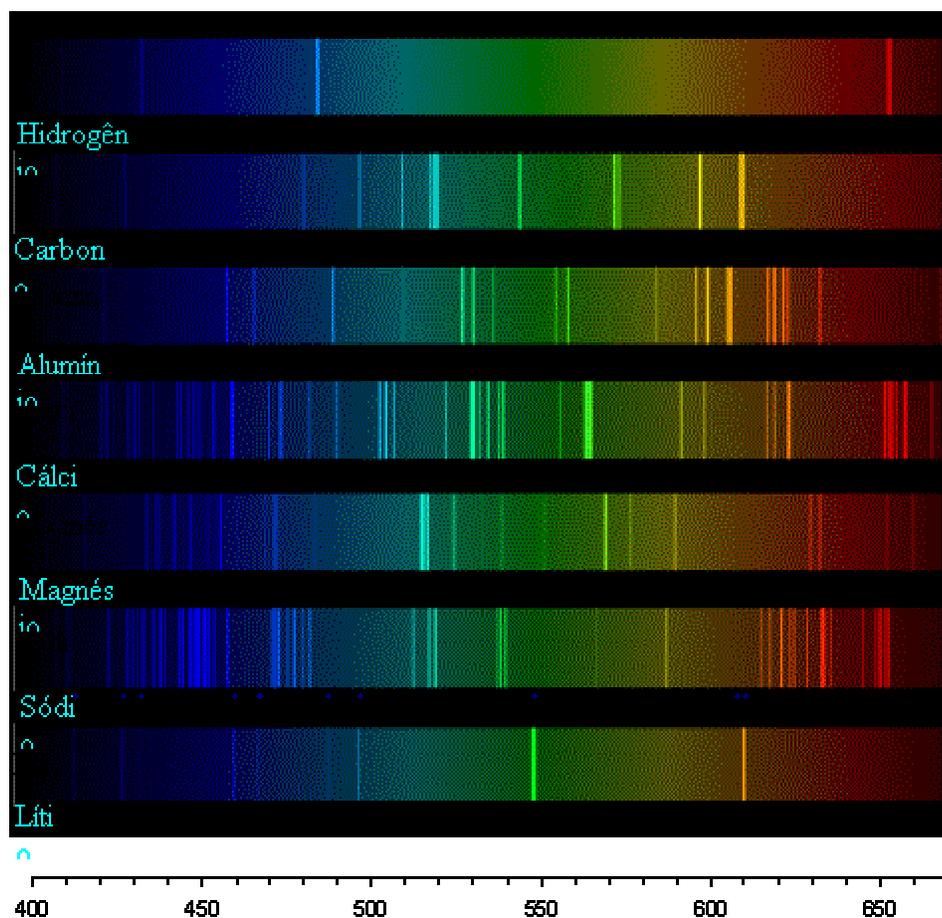
Se a energia aplicada para excitação atingir o potencial de ionização, isto é, for de intensidade suficiente para remover o elétron para longe da influência do núcleo, será obtido um íon.

No caso do átomo de sódio essa energia corresponde a  $8,235 \cdot 10^{-19}$  J. Nos espectros de emissão mostrados existem linhas correspondentes à emissão por átomos e também por íons.

Comparando o espectro atômico de absorção de um elemento com o espectro de emissão desse mesmo elemento, resultante da excitação térmica ou elétrica, verificar-se-á que nos mesmos comprimentos de onda das linhas de absorção ocorrerão linhas de emissão. Entretanto, sob condições mais energéticas, muitas linhas de emissão podem ser observadas em comprimentos de onda que não têm correspondente no espectro de absorção. A linha que corresponde à transição entre o estado fundamental e o estado excitado de mais baixa energia, e que é a mais provável, é denominada linha de ressonância. Um exemplo hipotético é mostrado a seguir.



Muitas linhas, aparentemente isoladas, são constituídas por vários componentes e se denominam multipletos. Esses componentes poderão ser separados, dependendo do poder de resolução do monocromador empregado. No espectro do átomo de sódio a linha de ressonância observada a 589 nanômetros é na realidade um dublete, pois é composta por duas linhas distintas e muito próximas, localizadas a 588,99 e 589,59 nanômetros.



### Espectro iônico

A ionização ocorre em chamas de elevada temperatura e o espectro de emissão de um íon será completamente diferente do espectro do átomo que lhe deu origem, assemelhando-se ao espectro do elemento de número atômico precedente.

Na espectrometria de emissão por plasma são atingidas temperaturas muito elevadas, como 7000 K, e assim grande parte dos átomos se ioniza. Neste caso, essas linhas de emissão de íons são utilizadas com finalidade analítica.

### Espectro de bandas

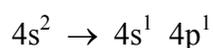
Moléculas submetidas à excitação suficientemente forte podem se romper e resultarem em átomos. Caso as moléculas permaneçam íntegras, será produzido um espectro de emissão molecular, no qual, grande número de linhas de comprimentos de onda, bem próximos, formarão agrupamentos chamados bandas. Deste modo, a energia radiante emitida aparece espalhada em um trecho do espectro em vez de se concentrar em linhas isoladas. Emissões de bandas ocorrem mais freqüentemente em chamas, pois a energia relativamente baixa permite a ocorrência de associações de átomos. Formas de excitação mais eficientes podem dissociar moléculas em átomos, dificultando a ocorrência de bandas.

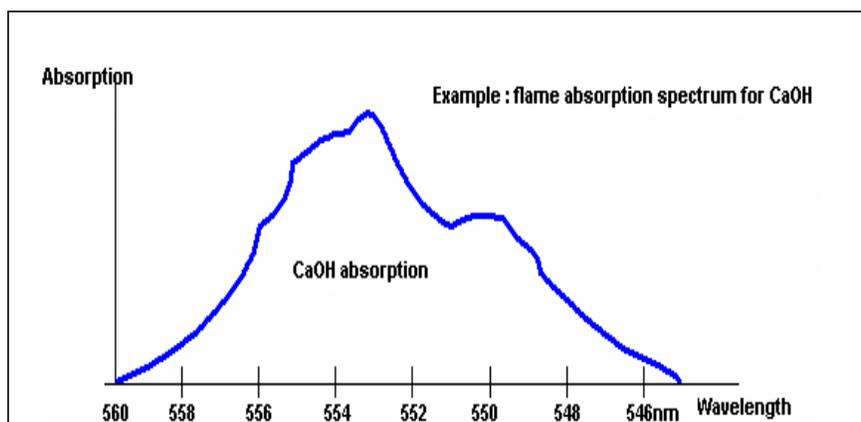
Cor	Espécie emissora	Comprimento de onda
Amarelo	Linha D do sódio, emissão atômica	589 nm
Azul	CuCl, bandas moleculares	Várias bandas intensas entre 403-456 nm. Bandas menos intensas entre 460- 530 nm
Verde	BaCl, bandas moleculares	511-515 nm 524-528 nm 530-533 nm
Vermelho	SrOH, bandas moleculares	600-613 nm
Vermelho	SrCl, bandas moleculares	617-623 nm 627-635 nm 640-646 nm
Laranja	CaCl, bandas moleculares	Várias bandas entre 591-599 nm. Bandas intensas entre 603-608 nm

Em fogos de artifício pode-se observar espectro de emissão de bandas. As cores observadas se devem a uns poucos compostos químicos, ou melhor, às espécies moleculares resultantes desses compostos no momento da explosão. O sódio é exceção, pois a cor amarela que ele origina, vem da excitação de elétrons no átomo de sódio.

A radiação de fundo (background), observada em espectros, se deve a espécies moleculares como: OH, CO, O<sub>2</sub>, CH, C<sub>2</sub>, muitas das quais só tem existência em chamas.

No espectro de emissão do cálcio ocorre uma emissão molecular de 547 a 560 nm. Essa banda apresenta um pico relativamente estreito a 554 nm, que tem praticamente o aspecto de uma linha de emissão atômica, atribuída à espécie CaOH. A transição eletrônica mais provável do átomo de cálcio, ou seja, sua linha de ressonância, ocorre a 422,7 nm envolvendo os orbitais





### 5.11 Perda da energia absorvida

Um átomo, ou uma molécula pode perder sua excitação por diferentes mecanismos. Pode ocorrer a simples re-emissão de um fóton de mesma energia daquele que tinha sido absorvido. Mas nem sempre a energia é devolvida na forma de radiação de comprimento de onda correspondente; uma parte pode ser liberada na forma de calor e a quantidade de energia restante na forma de radiação eletromagnética de maior comprimento de onda. De qualquer forma, essa energia radiante liberada pode ser medida e constitui a base dos métodos de *fluorescência atômica* e *fluorescência molecular*.

## 6 INSTRUMENTOS PARA MÉTODOS ESPECTROSCÓPICOS

Diversos métodos instrumentais se fundamentam na interação da energia radiante com a matéria, através de fenômenos como: absorção, emissão, espalhamento, refração, difração, rotação do plano de polarização da energia radiante.

Originalmente, o termo *métodos óticos* designava métodos instrumentais relacionados à energia radiante da região visível do espectro eletromagnético. Posteriormente, a designação se estendeu às regiões do ultravioleta e infravermelho, envolvendo fenômenos de absorção, emissão de energia, entre outros. Costuma-se considerar os instrumentos empregados nos métodos óticos em conjunto, para, numa visão abrangente, ressaltar as similaridades que existem no esquema básico dos mesmos.

Os componentes comuns dos instrumentos dos métodos óticos são: fonte de radiação, recipiente de amostra, seletor de região espectral, detector de radiação e processador de sinal e leitura. Embora essas partes nem sempre estejam em todos os instrumentos dos métodos óticos, quando presentes desempenham essencialmente as mesmas funções.

### 6.1 Fontes de radiação

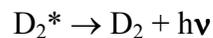
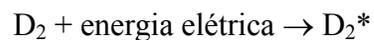
As fontes de radiação estão presentes apenas nos métodos que envolvem medidas de absorção de energia radiante, uma vez que nos métodos de emissão a própria amostra atua como fonte de radiação.

As fontes emissoras podem ser basicamente de radiação contínua ou de linhas, como as lâmpadas de cátodo oco. Na região visível do espectro a principal fonte é a lâmpada de filamento de tungstênio, enquanto que para a região ultravioleta emprega-se a lâmpada de deutério. Para a região do infravermelho podem ser empregadas fontes diversas, entre as quais filamentos de ródio e de níquel cromo.

Na espectrometria de absorção atômica o sinal analítico decorre da absorção de energia de um feixe de radiação. Quanto maior for a concentração do elemento a ser analisado na solução de amostra, maior será a população de átomos desse elemento na chama e maior será a atenuação do feixe luminoso que a atravessa.

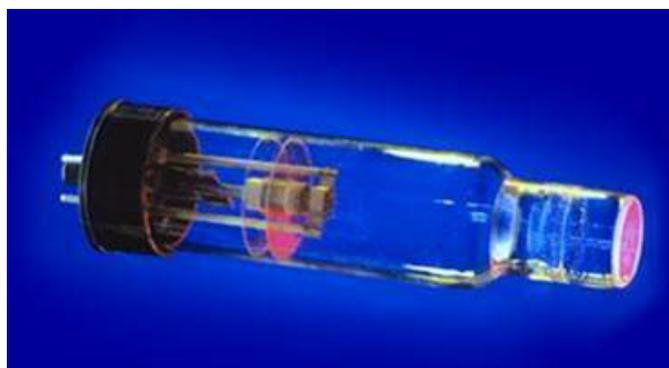
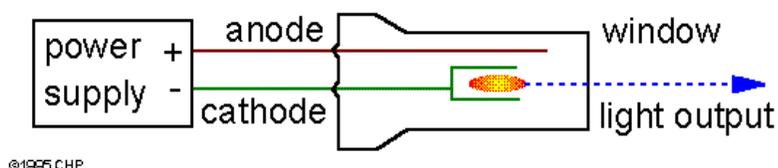


### LAMPADA DE DEUTÉRIO



Faixa = 160 - 360 nm

É óbvio, portanto, que na espectrometria de absorção atômica se deva dispor de uma fonte de energia radiante para excitação dos átomos presentes na chama. Sabe-se que para excitar átomos deve-se fornecer radiação de comprimento de onda bem determinado, que corresponda à energia necessária para levar o átomo do estado fundamental para outro de maior energia. Deste modo, para cada elemento a ser determinado pela espectrometria de absorção atômica será exigida uma fonte de radiação específica. Na fotometria de emissão isso não ocorre, pois os próprios átomos do elemento a ser determinado se constituem em fonte de radiação.



Lâmpada de catodo oco

Em virtude das exigências citadas, compreende-se porque uma opção adequada é a que emprega, por exemplo, a energia radiante emitida por átomos de cálcio contidos numa fonte de radiação, para excitar átomos de cálcio, provenientes da amostra que está sendo analisada, como ocorre nas lâmpadas de catodo oco.

### **Lâmpada de catodo oco**

Uma linha de absorção tem largura espectral entre 0,002 e 0,005 nm. Para tornar viável o método de absorção atômica foi necessário desenvolver uma fonte de linhas estreitas, ou seja, de largura compatível com uma medida de absorção representativa. A fonte de radiação que atende a essa necessidade, e em geral utilizada na espectrometria de absorção atômica, é a lâmpada de catodo oco

Consiste em um cilindro de vidro preenchido com gás nobre, neônio ou argônio, à baixa pressão (7,5 mBar), contendo um catodo na forma de cilindro oco, feito do elemento para cuja determinação a lâmpada se destina, como Fe, Cu, Mn, Ni, ou então o contendo numa liga. Existe ainda, um anodo, na forma de estilete ou aro. Para elementos que emitem linhas na região do ultravioleta, a lâmpada deve ter janela de quartzo, para os demais a janela é de vidro.

Aplicando-se uma voltagem elevada, entre 400 a 600 volts, ocorre descarga elétrica e ionização do gás nobre. Os íons positivos produzidos, dirigidos pelo gradiente de voltagem, colidem com o catodo, deslocando átomos do metal, os quais se excitando por meio de colisões, emitem seu espectro característico ao retornarem ao estado fundamental. O catodo em geral é protegido por um isolamento em vidro ou cerâmica, para que a emissão se dê do interior do catodo, melhorando a intensidade e definição das linhas.

Na operação da lâmpada, aplica-se uma corrente de intensidade específica para cada elemento. Uma corrente elevada aumenta o número de átomos excitados e, conseqüentemente, a intensidade de emissão da lâmpada, oferecendo a vantagem de diminuição do ganho. A elevação da corrente, contudo, causa o alargamento da linha emitida, problemas de linearidade na calibração e diminuição da vida útil da lâmpada. O emprego de corrente muito baixa gera radiação de baixa intensidade, exigindo amplificação excessiva do sinal e aumentando o ruído. O fabricante da lâmpada em geral especifica a corrente ótima e a corrente máxima permitida.

O uso de lâmpadas pode ser um inconveniente da espectrometria de absorção atômica, pois sem a lâmpada específica não se faz a determinação desejada. Além disso, seu custo é relativamente elevado e a vida útil é limitada. Exigem um tempo de aquecimento e isso pode dificultar a determinação de diversos elementos em uma mesma amostra. Existem lâmpadas multi-elementos tais como: Ca+Mg, Ca+Mg+Al, Fe+Cu, que podem facilitar as análises de rotina, mas deve ser considerado que quando uma dessas lâmpadas é danificada, vários elementos deixam de ser determinados.

Além das lâmpadas de cátodo oco, emprega-se em espectrometria de absorção atômica a lâmpada de deutério, que é uma fonte de radiação contínua empregada para medir e corrigir a "absorção de background". Ao ser usada, a lâmpada deve ter seu feixe luminoso perfeitamente alinhado em relação ao sistema detector.

## 6.2 Recipientes de amostra

Em diversos métodos óticos solução da amostra deverá estar contida em um recipiente. A exceção também aqui é para os métodos de emissão. As células destinadas a conter a amostra, devem ser transparentes à radiação na região espectral de interesse. Na região visível são empregadas células ou cubetas de vidro e na região do ultravioleta usam-se cubetas de quartzo. Cubetas descartáveis de plástico podem ser fabricadas para serem usadas tanto na região do visível como UV. Para o infravermelho a amostra é confinada entre janelas de NaCl, ou forma pastilhas com um sal como KBr.



Os intervalos de comprimento de onda em que os diferentes materiais podem ser utilizados são apresentados a seguir

<b>Tipos de material</b>	<b>Intervalo (nm)</b>
Optical Glass	334 – 2500
Special optical Glass	320 – 2500
Pyrex	325 – 2500
UV Sílica	220 – 2500
Far UV Quartz	170 – 2700
Near infra red Quartz	220 – 3800
Far UV - IR Quartz (water free)	170 – 3500
-----	-----
Poliestireno	350 - 900
Polimetil metacrilato (PMMA)	280 - 800

### 6.3 Seletor de região espectral ou de comprimento de onda

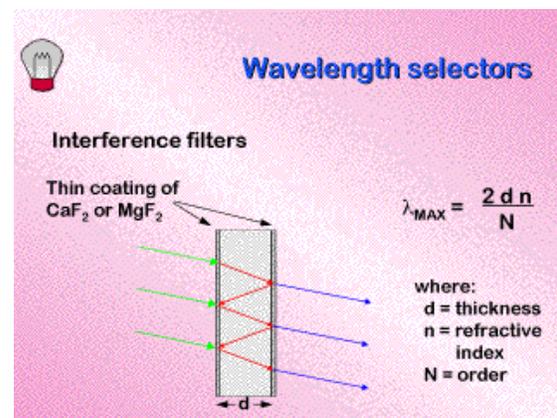
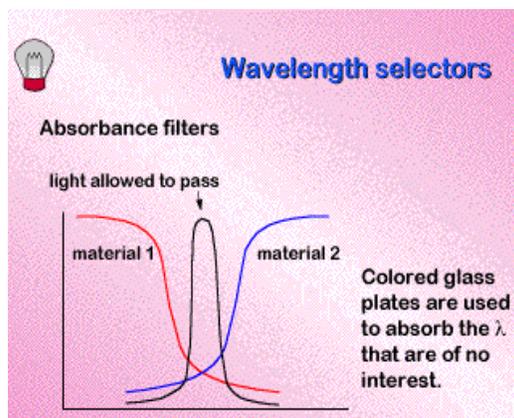
Idealmente nos métodos óticos dever-se ia selecionar uma radiação de um único comprimento de onda, ou *radiação monocromática*. Na prática isso é praticamente impossível, mas consegue-se selecionar bandas por vezes bastante estreitas. O parâmetro que caracteriza uma banda é sua *largura efetiva* medida à meia altura da banda. Quanto mais estreita a largura efetiva da banda melhor é o equipamento.

A seleção dos comprimentos de onda de uma *radiação policromática*, como a emitida por uma lâmpada de filamento de tungstênio, pode ser efetuada por filtros ou monocromadores.

#### Filtros

Filtros são seletores que permitem isolar bandas de comprimentos de onda fixos, ou seja, cada filtro é empregado para selecionar uma banda do espectro eletromagnético. Os dois tipos principais são:

*Filtros de absorção*: materiais coloridos como vidro ou gelatina são capazes de absorver certos comprimentos de onda e deixar passar outros. Valores típicos para a largura de banda efetiva dos filtros de absorção se situam entre 30 e 250 nm. Quanto mais estreita a banda menor a fração de energia radiante que os filtros transmitem.

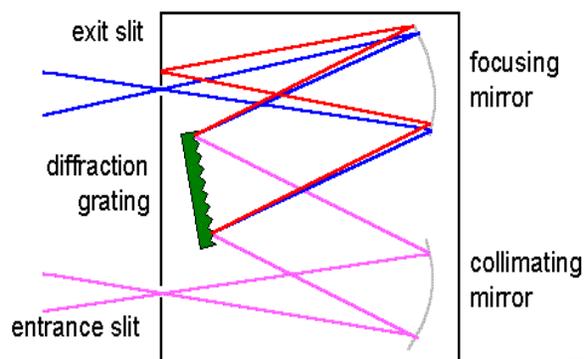
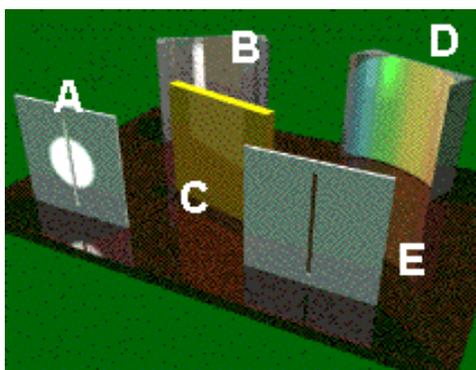


*Filtros de interferência*: constituídos por material dielétrico transparente,  $\text{CaF}_2$  ou  $\text{MgF}_2$ , colocado entre duas películas metálicas semitransparentes e o conjunto colocado entre placas de vidro. A seleção do comprimento de onda se dá por interferência construtiva das ondas da radiação incidente, em função da reflexão sucessiva do feixe de radiação entre as películas metálicas. Filtros de interferência fornecem bandas mais estreitas e transmitem mais energia que os filtros de absorção.

## Monocromadores

Os monocromadores diferem dos filtros, na medida em que permitem obter diferentes comprimentos de onda dentro de um intervalo relativamente amplo. Com monocromadores pode se efetuar o registro, ou a varredura, de um espectro.

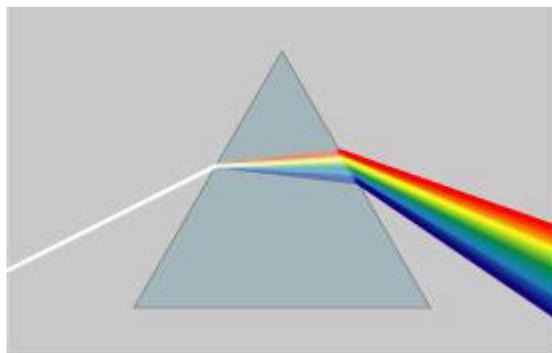
Os componentes de um monocromador típico são: *fenda (slit) de entrada* (A), por onde a radiação policromática é admitida no monocromador; *lentes ou espelhos colimadores* (B), para se obter feixe de radiação paralelo; elemento de dispersão de comprimento de onda (C), em geral um *prisma ou uma grade de difração*; lente ou espelho (D) para focalizar a radiação dispersa sobre uma *fenda (slit) de saída* (E), isolando a região de comprimento de onda desejado.



### Prisma

Quando uma radiação policromática incide e atravessa um prisma, os diferentes comprimentos de onda que a compõem sofrem refração a ângulos diferentes, de modo que a luz branca pode ser decomposta em cores. De modo geral, comprimentos de onda mais curtos apresentam maiores índices de refração, desviando-se mais da direção original, que os comprimentos de onda mais longos.

Cor	Comprimento de onda	Índice de refração
Azul	434 nm	1,528
Amarelo	550 nm	1,517
Vermelho	700 nm	1,510

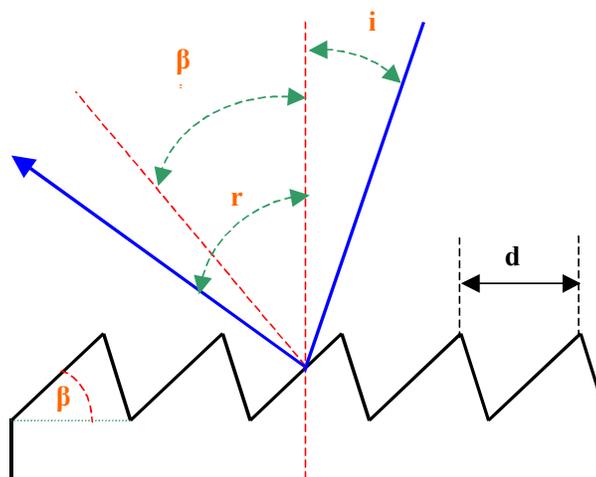


### Grades ou redes de difração

Nas grades de difração, a radiação policromática é separada em diferentes comprimentos de onda por um processo de interferência construtiva de onda. As grades de difração podem ser de transmissão ou de reflexão, sendo estas últimas as mais comuns.

$i$  = ângulo de incidência do raio de luz  
 $r$  = ângulo de reflexão do raio de luz  
 $d$  = distância entre linhas  
 $n$  = ordem de reflexão  
 $\lambda$  = comprimento de onda  

$$n \lambda = d (\sin i + \sin r)$$



Os prismas são peças de custo elevado e devem ser constituídos por material de elevada pureza, pois, como a luz tem que atravessá-lo, pode ocorrer bastante absorção de radiação. Grades são também peças de alta tecnologia, mas como podem ser produzidas como réplicas, seu custo cai e elas substituíram os prismas em muitos dos instrumentos óticos.

Uma grade de reflexão é construída efetuando-se uma série de sulcos paralelos separados por uma distância  $d$  numa superfície refletora. Para um dado ângulo de incidência  $i$  da radiação sobre a grade de reflexão, radiações de comprimento de onda  $\lambda$  serão obtidos por interferência construtiva a um certo ângulo  $r$  de reflexão.

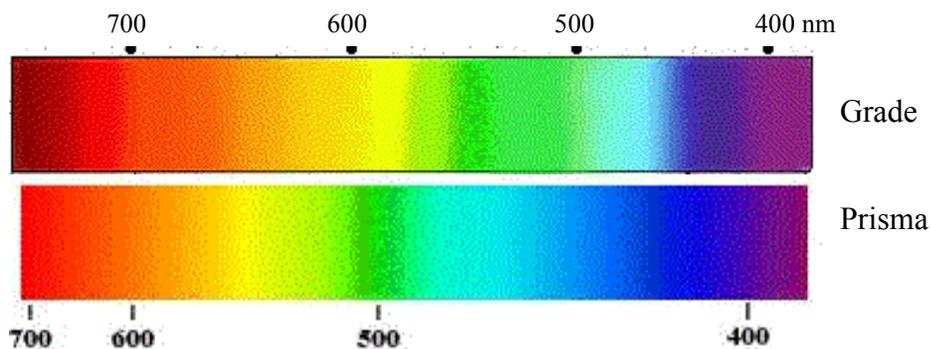
O intervalo de comprimentos de onda selecionados depende da capacidade de dispersão da grade e da distância  $d$ . É necessário considerar que quanto menor  $d$  melhor é a separação mas maior é a redução do poder radiante da radiação.

Suponha-se uma grade construída efetuando-se 2380 sulcos paralelos por centímetro. A distância  $d$  entre os sulcos será de  $4,202 \cdot 10^{-4}$  cm ou 4202 nm. Para uma radiação policromática incidente a um ângulo  $i$  de  $40^\circ$ , qual será o comprimento de onda obtido na direção do ângulo de reflexão  $r$  de  $30^\circ$ ?

$$\lambda = \frac{4202 \cdot (\sin 40 - \sin 30)}{n} = \frac{4202 \cdot (0,6428 - 0,5000)}{n} = \frac{600}{n} \text{ nm}$$

O número  $n$ , ou ordem de reflexão, assume valores inteiros de 1, 2, 3... Portanto na direção de um ângulo de reflexão de  $30^\circ$  seriam obtidos os comprimentos de onda de 600, 300, 200 nm e assim por diante. Ao contrário do que possa parecer, essa superposição não apresenta problemas práticos.

Diferentemente dos prismas, a dispersão promovida pelas grades de difração é linear, de modo que a eficiência de separação de comprimentos de onda pelas grades é praticamente independente do comprimento de onda de interesse.



#### 6.4 Detectores de radiação

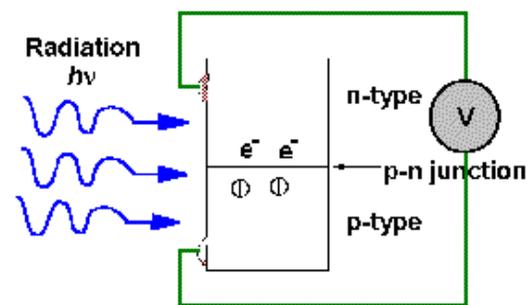
Para se quantificar a energia radiante emitida ou absorvida pela matéria é necessário transformá-la em outra modalidade de energia e isso é o que ocorre nos detectores. Eles podem responder à luz ou ao calor, estes últimos sendo empregados na região do infravermelho. Os detectores que respondem à luz são denominados *detectores fotoelétricos* e são usados na região visível, ultravioleta e infravermelho próximo.

O olho humano é um detector de energia luminosa, mas que é sensível apenas aos comprimentos de onda da região visível do espectro.

As características desejáveis para um bom detector são: alta sensibilidade; alta relação sinal-ruído; resposta constante dentro de faixa ampla de comprimento de onda; sinal elétrico proporcional ao poder radiante da radiação incidente. Os principais detectores fotoelétricos são discutidos a seguir.

### Célula fotovoltaica

A radiação incidente desloca elétrons de um cristal semiconductor, como sulfetos de cádmio e chumbo, ou selênio, criando lacunas que agem como cargas positivas. Prepara-se uma interface entre o semiconductor e um metal, para onde se movem os elétrons em direção oposta às lacunas, gerando uma corrente elétrica. Esta corrente pode ser detectada sem amplificação, sendo a sensibilidade da fotocélula semelhante à do olho humano.



célula fotovoltaica

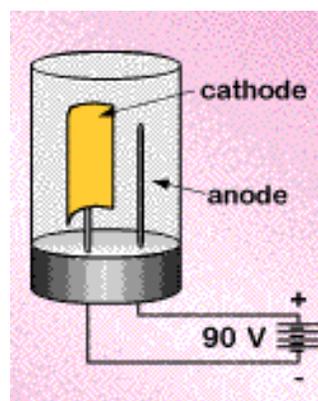


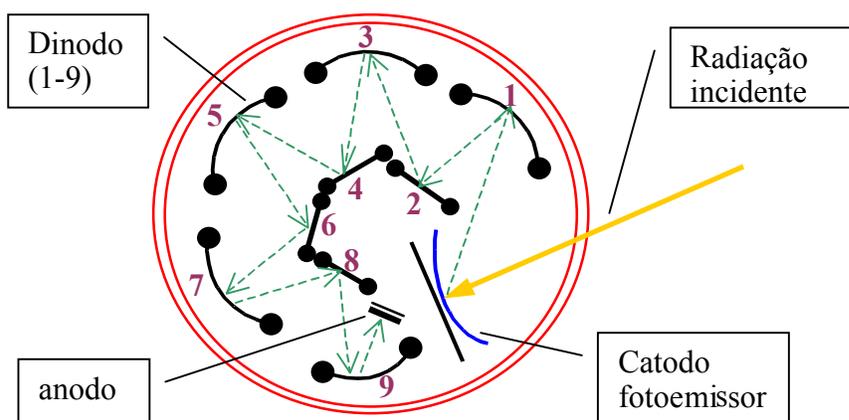
Foto tubo

### Fototubos

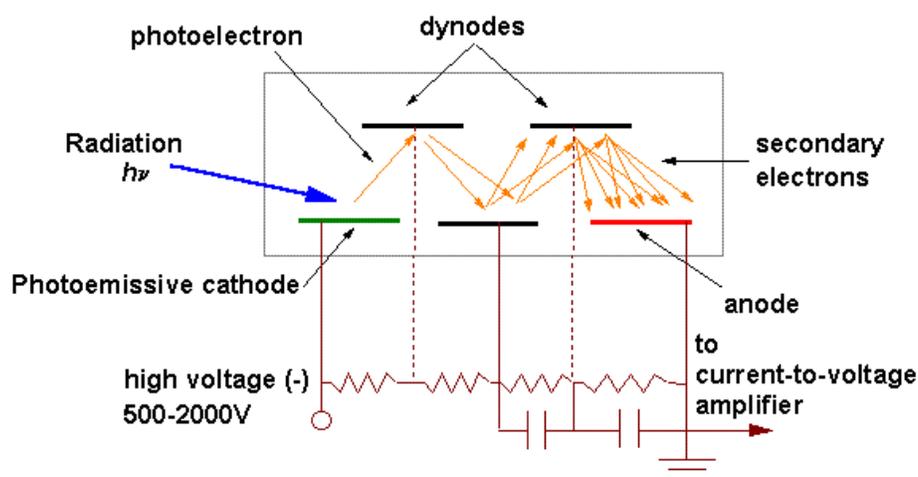
Uma superfície que atua como um cátodo, é recoberta por um material que perde facilmente elétrons sob influência da energia radiante incidente. Um simples fio metálico atua como coletor de elétrons, o ânodo, pois é mantido a um potencial mais positivo que o cátodo. Sob um potencial constante, gera-se uma corrente elétrica proporcional ao poder radiante do feixe de radiação incidente. A sensibilidade do fototubo depende do material emissor de elétrons presente no cátodo, existindo fototubos diferentes para as regiões específicas do espectro.

### Fotomultiplicadoras

O detector fotomultiplicador ou fotomultiplicadora é sensível a radiações entre 190 e 800 nm. A radiação penetra no tubo fotomultiplicador através de uma janela de quartzo e dirige-se para o fotocátodo, uma placa de material fotosensível que emite elétrons sempre que um feixe luminoso incide sobre ela. Quanto maior a intensidade da radiação incidente, maior será a quantidade de elétrons gerada. Adjacente ao fotocátodo, existe um eletrodo mantido a um potencial elétrico mais positivo, chamado dinodo. Os elétrons gerados no fotocátodo dirigem-se ao dinodo, onde a colisão de cada um liberta outros elétrons secundários.



Como existem diversos dinodos arranjados convenientemente, mantidos cada um a um potencial mais positivo que o outro, em cada estágio ocorrerá amplificação de corrente, e a partir dos



elétrons inicialmente emitidos no fotocátodo serão originados um número muito maior de elétrons.

Um arranjo de 9 a 13 dinodos permite uma amplificação da corrente de  $10^8$  a  $10^{10}$  vezes. O

potencial aplicado a tubo fotomultiplicador é também conhecido como *ganho*, e pode ser ajustado automaticamente pelo instrumento.

A corrente produzida no tubo fotomultiplicador é convertida num sinal de voltagem, em um amplificador de alta impedância.

### **Arranjo linear de diodos**

Uma junção *p-n*, consiste basicamente na zona de transição, entre uma região de material semiconductor cuja condutividade elétrica é dominada por portadores de carga tipo-*n* (elétrons) e uma região cuja condutividade é dominada por portadores de carga tipo-*p* (buracos). A largura e a simetria dessa região, dependem dos processos de fabricação e dos materiais envolvidos.

Um fotodiodo é um conjunto de dois eletrodos, com junção sensível à radiação em um material semiconductor, destinado a transformar luz em energia elétrica. Como ocorre freqüentemente na eletrônica de estado sólido tem-se uma junção *p/n*. Para ser uma boa fonte de corrente este aparato deve funcionar no modo voltagem ou corrente reversa.

Os fotodiodos são feitos com wafers de silício cristalino similar aos dos circuitos integrados, mas eles exigem um nível muito maior de pureza para o silício. Os fotodiodos operam na faixa visível do espectro, podendo ser ainda melhorados para operar nas regiões ultravioleta e infravermelho do espectro. Os fotodiodos são construídos em silício, índio, gálio, arsenide, germânio, nitreto de gálio e carbetto de silício.

Uma série de fotodiodos que atuam como sensores estão arranjados de tal modo, que todos os elementos do feixe de radiação dispersos por uma grade podem ser medidos simultaneamente.

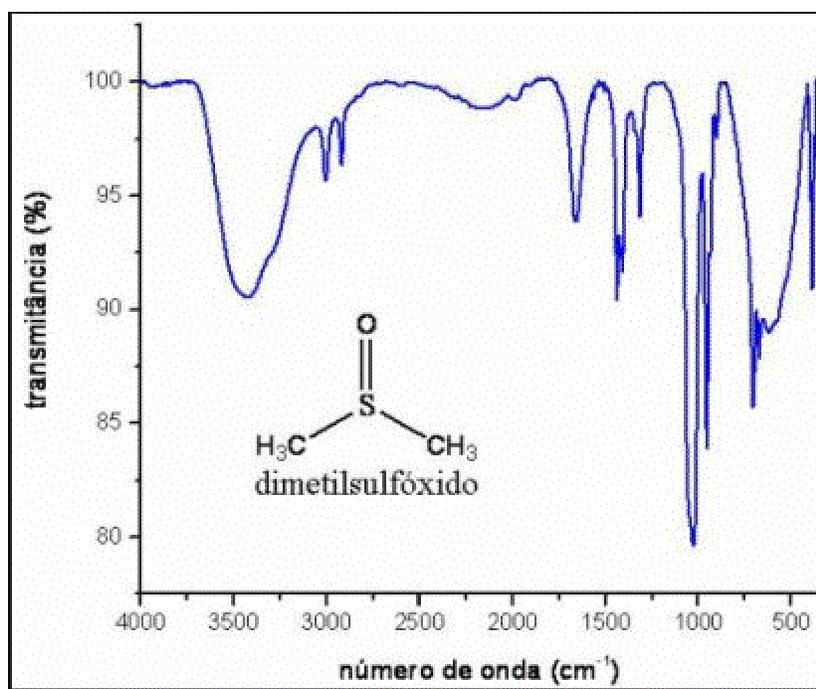
## **6.5 Sistema de leitura**

Este componente capta o sinal amplificado do detector e o apresenta numa forma conveniente ao operador. O sistema mais simples é um medidor analógico, com resolução de 0,1%T. Medidores digitais são mais versáteis e podem operar em conjunto com microprocessador, armazenando informações. Os registradores gráficos, por sua vez, permitem o registro contínuo do sinal em função do tempo ou do comprimento de onda.

## 7 ESPECTROSCOPIA DE ABSORÇÃO MOLECULAR

A espectroscopia molecular está relacionada a processos de absorção e emissão de energia por moléculas, termo esse que engloba espécies químicas poliatômicas como íons inorgânicos e complexos. A espectroscopia de absorção molecular trata em geral da absorção de energia radiante na região de microondas, infravermelho visível e ultravioleta do espectro.

Na região de microondas, a energia da radiação é tão baixa que só se pode analisar as transições entre níveis rotacionais de energia. Num nível mais elevado de energia, a espectroscopia de infravermelho é utilizada, sobretudo com fins qualitativos e envolve alterações nos estados de energia vibracional das moléculas.



O espectro de absorção pelo composto dimetilsulfóxido, como é usual para a região do infravermelho, está apresentado em termos de número de onda, que é o recíproco do comprimento de onda ( número de onda =  $1/\lambda$  )

Nota-se que o composto citado transmite 80% e assim absorve 20% da energia radiante incidente de  $1000\text{ cm}^{-1}$ , ou seja,  $10\text{ }\mu\text{m}$ , ou  $10^{-5}\text{ m}$  de comprimento de onda. A energia correspondente é:

$$E = h c / \lambda$$

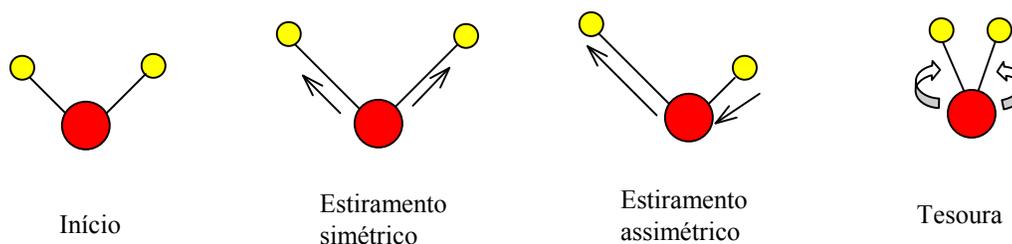
$$h = \text{constante de Planck} = 6,626 \times 10^{-34}\text{ J s}$$

$$E = (6,626 \times 10^{-34} \text{ J}\cdot\text{s} \cdot 3 \times 10^8 \text{ m/s}) / 10^{-5} \text{ m} \quad E = 1,99 \times 10^{-20} \text{ J}$$

Por mol de moléculas de dimetilsulfoxido tem-se:

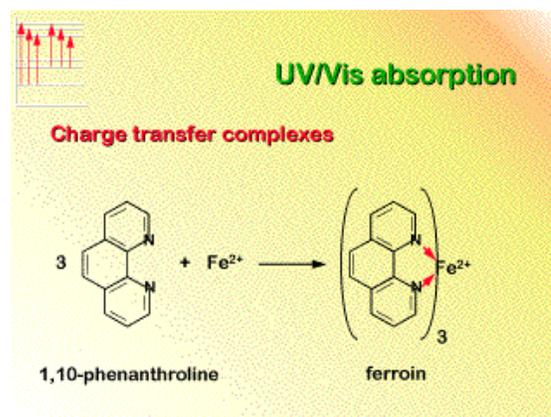
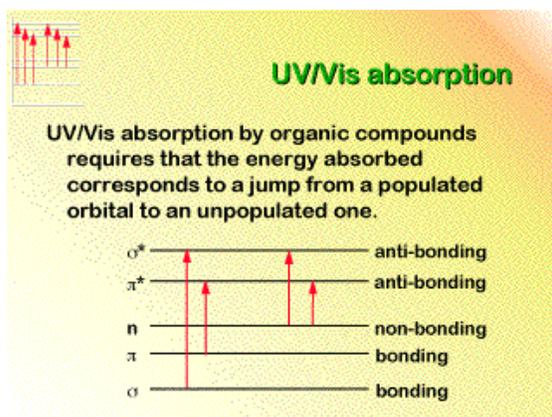
$$E = 1,99 \times 10^{-20} \cdot 6,02 \cdot 10^{23} \text{ J} \quad E = 11,97 \text{ kJ mol}^{-1}$$

Como mencionado no item 5.9 energia da ordem de  $15 \text{ kJ mol}^{-1}$  estão relacionadas a transições de energia vibracional. Da análise dos espectros de absorção de energia na região do infravermelho se obtêm informações sobre as estruturas das moléculas. Cada molécula pode ter vibrar de diferentes modos como nos exemplos:



A espectroscopia UV-visível trata essencialmente de transições entre estados eletrônicos de energia. As duas regiões do espectro, ultravioleta e visível podem ser consideradas em conjunto, pois as interações, informações e equipamentos são bastante similares. O uso mais comum da espectroscopia UV-visível é na análise quantitativa.

Compostos orgânicos saturados não absorvem na região visível ou ultravioleta e absorção de energia radiante nessas regiões é relacionada à uma deficiência de elétrons na molécula.



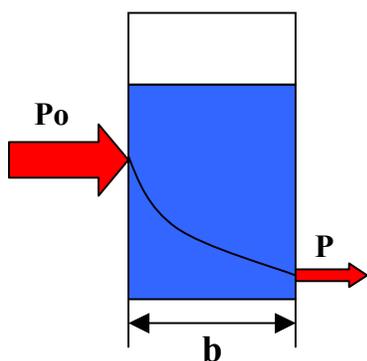
Os complexos inorgânicos têm seus espectros de absorção interpretados pelas teorias de formação de complexos entre metais e ligantes contendo pares de elétrons não compartilhados. Complexos de transferência de carga também exibem absorção na região UV-visível.

## 7.1 Lei de Beer

A energia radiante pode ser absorvida por espécies moleculares em solução. Se a solução for colorida, isso indica absorção de radiação na região visível do espectro eletromagnético.

A absorção de energia radiante é quantificada pelo decréscimo de seu *poder radiante*,  $P_o$ , que significa a *quantidade de energia que incide sobre uma superfície na unidade de tempo*.

O tratamento matemático do processo de absorção de energia por espécies químicas é feito por meio da dedução da Lei de Beer.



Suponha-se uma célula de faces planas e paralelas, separadas pela distância  $b$ , contendo solução de concentração  $c$  de uma espécie absorvente. Radiação monocromática de poder radiante  $P_o$ , incidente numa das faces da célula, apresenta um valor  $P$  após atravessar o percurso  $b$  no interior da solução. Como ocorreu absorção de energia radiante, tem-se  $P < P_o$ .

Considerando-se uma fração  $dx$  muito pequena do percurso  $b$ , tem-se que a variação relativa de poder radiante  $P_x$  neste trecho é diretamente proporcional à concentração  $c$  e a  $dx$ :

$$\frac{dP_x}{P_x} = -k \cdot c \cdot dx$$

O sinal negativo indica decréscimo do poder radiante e  $k$  é uma constante de proporcionalidade. Integrando-se  $P_x$  entre os limites  $P$  e  $P_o$  e  $dx$  entre os limites  $0$  e  $b$  tem-se:

$$-\int_{P_o}^P \frac{dP_x}{P_x} = \int_0^b k \cdot c \cdot dx$$

$$-(\ln P - \ln P_o) = k \cdot c \cdot b$$

$$\ln \frac{P_o}{P} = k \cdot c \cdot b \quad \text{ou} \quad \log \frac{P_o}{P} = a \cdot b \cdot c$$

O parâmetro  $a$  é uma constante característica da espécie absorvente denominada *absortividade*, que engloba o fator de transformação de logaritmos neperianos para logaritmos decimais. Quando a concentração  $c$  é expressa em  $\text{mol L}^{-1}$  e o percurso  $b$  em centímetros, a constante  $a$  recebe o

nome de *absortividade molar*, representada então por  $\epsilon$ . As expressões acima são a representação matemática da chamada lei de Beer.

## 7.2 Absorbância e Transmitância

Define-se Transmitância, T ou T%, como a relação entre P e P<sub>0</sub>:

$$T = \frac{P}{P_0} \quad \text{ou} \quad T\% = \frac{P}{P_0} \cdot 100$$

Por sua vez, Absorbância, A, é definida como:

$$A = \log \frac{1}{T} = \log \frac{P_0}{P}$$

Deste modo, a lei de Beer pode ser expressa como:  $A = a \cdot b \cdot c$

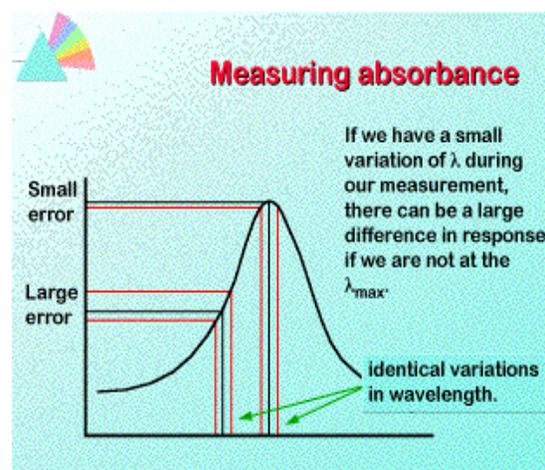
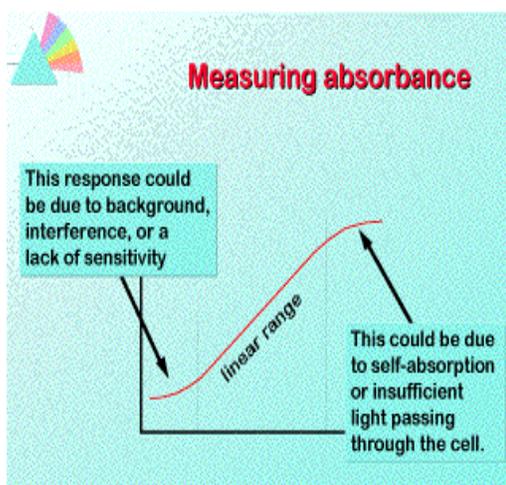
Nos antigos espectrofotômetros analógicos, preferia-se registrar a leitura %T em uma escala linear, para depois converter a medida em absorbância por cálculo. Nos equipamentos digitais pode-se facilmente ler diretamente valores de absorbância. Nota-se que embora a absorbância seja o parâmetro mais conveniente nas aplicações analíticas pela sua relação linear com a concentração, os equipamentos medem efetivamente a transmitância.

A expressão gráfica da lei de Beer é a curva de calibração de um método espectrofotométrico. Determinando-se a equação de regressão da absorbância em função da concentração c, a inclinação da reta, ou seu coeficiente angular, é a estimativa da absortividade da espécie absorvente.

## 7.3 Desvios da lei de Beer

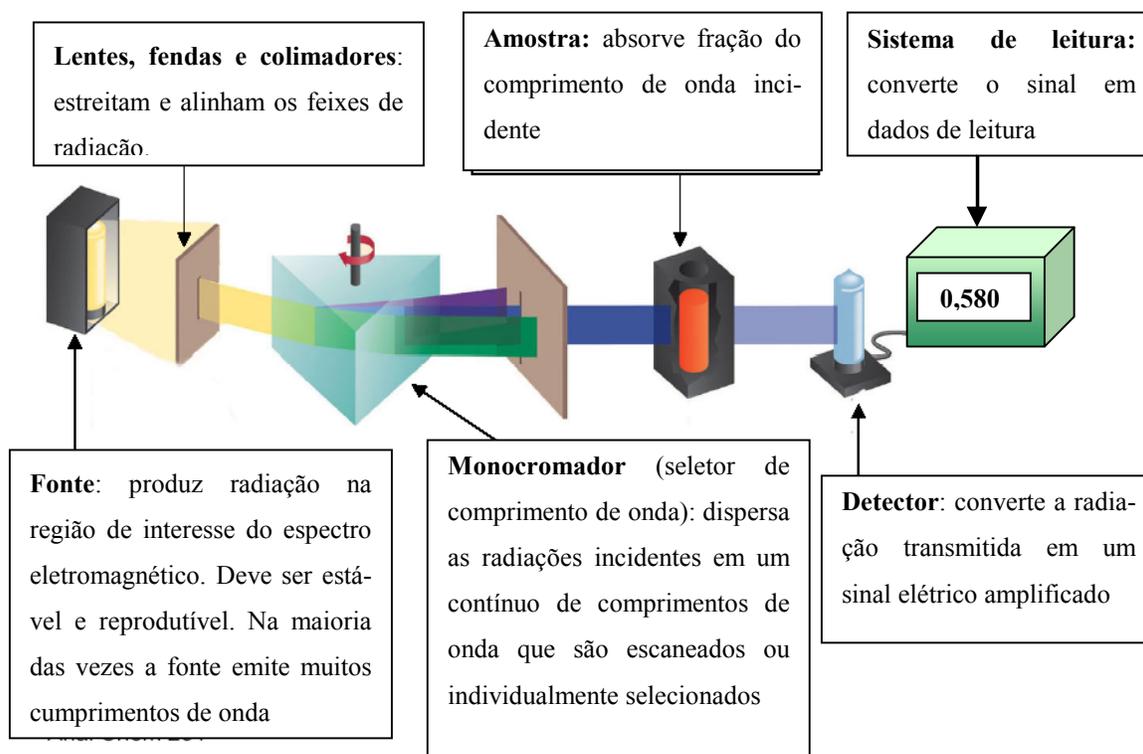
Se o gráfico de absorbância versus concentração não é uma reta tem-se desvio na Lei de Beer. Acima de uma certa concentração, a relação entre absorbância e concentração deixa de ser linear e esse ponto define o limite superior da faixa ótima de trabalho.

Os fatores que causam desvios da lei de Beer são: interação dos centros absorventes da molécula entre si ou com outras espécies; variação do índice de refração com variação da concentração; alteração da posição de equilíbrio químico entre espécies absorventes por diluição e absorção de radiação policromática, ou seja, radiação com largura efetiva de banda relativamente larga. Medidas de absorbância são de preferência efetuadas no comprimento de onda de máxima absorção de energia, para minimizar o erro decorrente de imprecisão no comprimento de onda.



## 7.4 Instrumentos

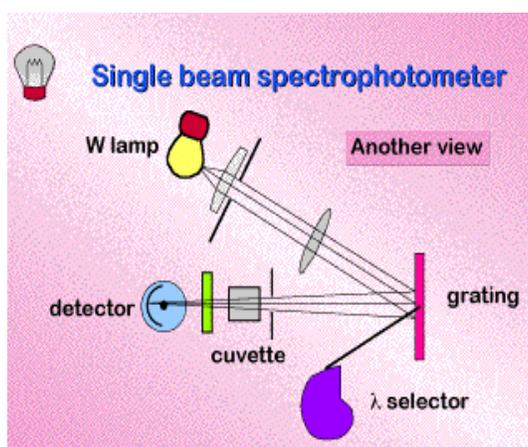
Os instrumentos que medem a absorção de energia radiante na região visível do espectro apresentam os componentes básicos anteriormente citados, que podem ser visualizados no esquema:



Observe-se que a seleção do comprimento de onda é efetuada antes da radiação atravessar a amostra.

A medida de absorção é efetuada a partir de duas leituras de energia transmitida  $P_0$  e  $P$ . No espectrofotômetro de feixe simples inicialmente a célula de leitura contém uma solução de referência, o solvente ou a *prova em branco*, para se medir  $P_0$ . Nessa condição, ajusta-se no aparelho o valor de 100 %T ou 0,000 A, pois toda e qualquer absorção de energia que ocorra na ausência da espécie química que esta sendo determinada será desconsiderada. Feita a calibração do equipamento, coloca-se a solução de amostra na célula de leitura para então quantificarmos  $P$ . O sistema de leitura apresenta então automaticamente o valor de  $100P/P_0$  ou de  $\log P_0/P$ .

O esquema apresentado a seguir de um espectrofotômetro de feixe simples é baseado em um instrumento muito popular, o Spectronic 20 da Baush-Lomb, que atualmente foi dotado de sistema de leitura digital.

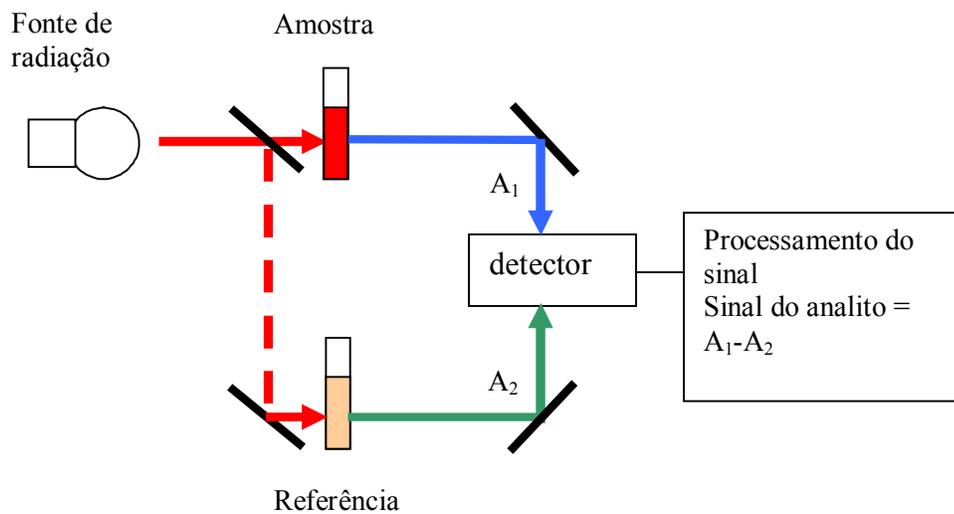


Nos espectrofotômetros de feixe duplo típicos, a solução de amostra e solução de referência são lidas simultaneamente. O feixe de radiação monocromática passa por um disco rotatório, que apresenta setores transparentes e refletores alternados, faz com que a radiação seja alternadamente enviada para a célula de referência e para a célula contendo a amostra.

Equipamentos de feixe duplo apresentam a vantagem de não serem afetados por flutuações no poder radiante da fonte emissora ou na resposta do detector. São também especialmente adequados para o registro de espectros.

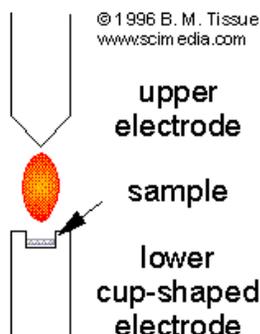
Certos espectrofotômetros podem efetuar uma varredura inicial para registrar as absorbâncias

de uma solução de referência para posteriormente subtraí-las das leituras efetuadas na solução de amostra para assim se obter um espectro.



Esquema de um espectrofotômetro duplo feixe

## 8 FOTOMETRIA DE EMISSÃO DE CHAMA E ESPECTROMETRIA DE ABSORÇÃO ATÔMICA



Diferentes métodos instrumentais envolvem medidas de absorção ou emissão de energia radiante por átomos ou íons atômicos. Estas espécies podem ser obtidas por processos elétricos, como ao passar corrente elétrica de alta voltagem por amostra de substância gasosa contida em um tubo de vidro. Para amostras sólidas, é possível, por exemplo, promover descargas elétricas entre eletrodos de grafite nos quais se depositou o material a ser analisado.

Por outro lado, a produção de átomos de um elemento cuja concentração se quer determinar também pode ser efetuada em uma chama, como ocorre na espectrometria de absorção atômica e na fotometria de emissão de chama, métodos de utilização rotineira nas análises de materiais de interesse agrônômico.

A fotometria de emissão de chama é mais antiga e quando a espectrometria de absorção atômica se difundiu ela ficou restrita à determinação de elementos mais facilmente excitáveis como Na, K e Li, em análises clínicas e agrônômicas. Ao final da década de 60 o uso da fotometria de emissão havia decrescido consideravelmente, parecendo que a espectrometria de absorção atômica ocuparia amplos espaços. Contudo, a fotometria de emissão de chama sempre foi de importância fundamental nas análises agrônômicas, pela sua conveniência na determinação rotineira do potássio. Com o desenvolvimento do plasma de argônio como fonte de excitação, voltou-se empregar em larga escala a medida de emissão de energia de átomos excitados, como técnica analítica.

A fotometria de emissão de chama e a espectrometria de absorção atômica podem ser relacionadas entre si, porque ambas as técnicas utilizam uma chama na etapa de atomização. Assim, se obtém átomos no estado fundamental pelo fornecimento de energia térmica (+Q). A diferença marcante é que na espectrometria de absorção atômica mede-se a fração da energia radiante, fornecida por uma fonte externa (+hν), que é absorvida para excitação dos átomos produzidos.

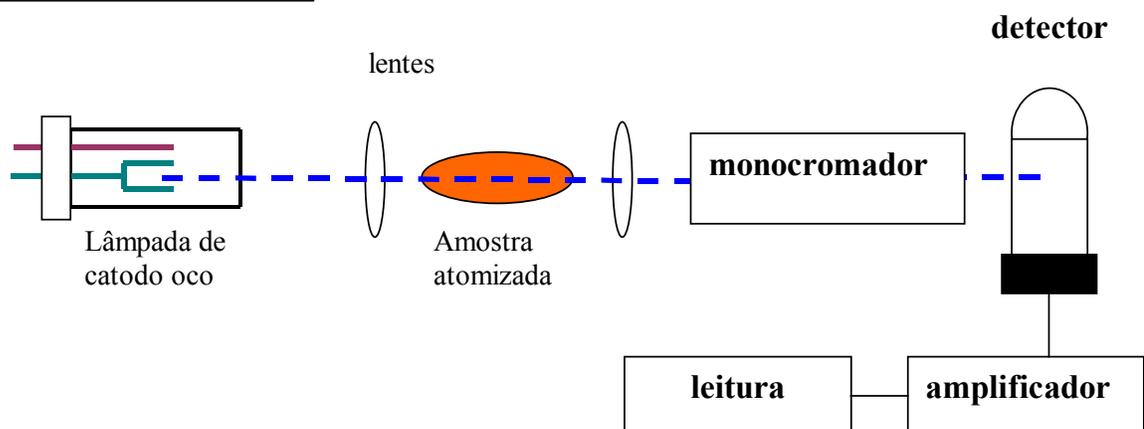


Fotômetro de emissão em chama

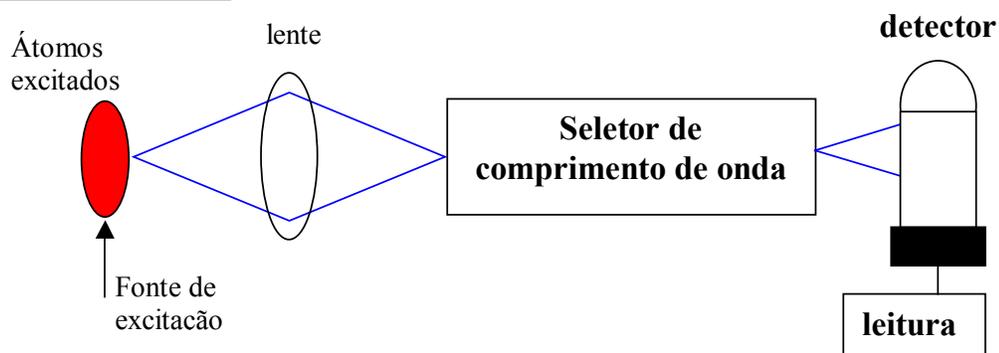


Espectrômetro de absorção atômica

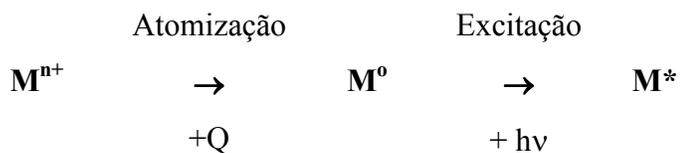
### ABSORÇÃO ATÔMICA



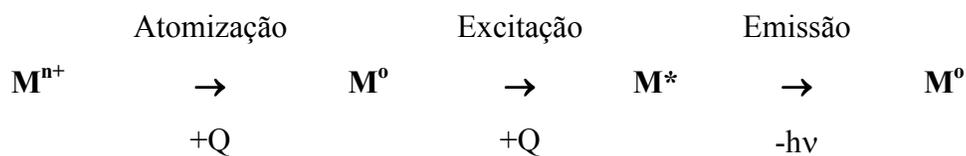
### EMISSÃO ATÔMICA



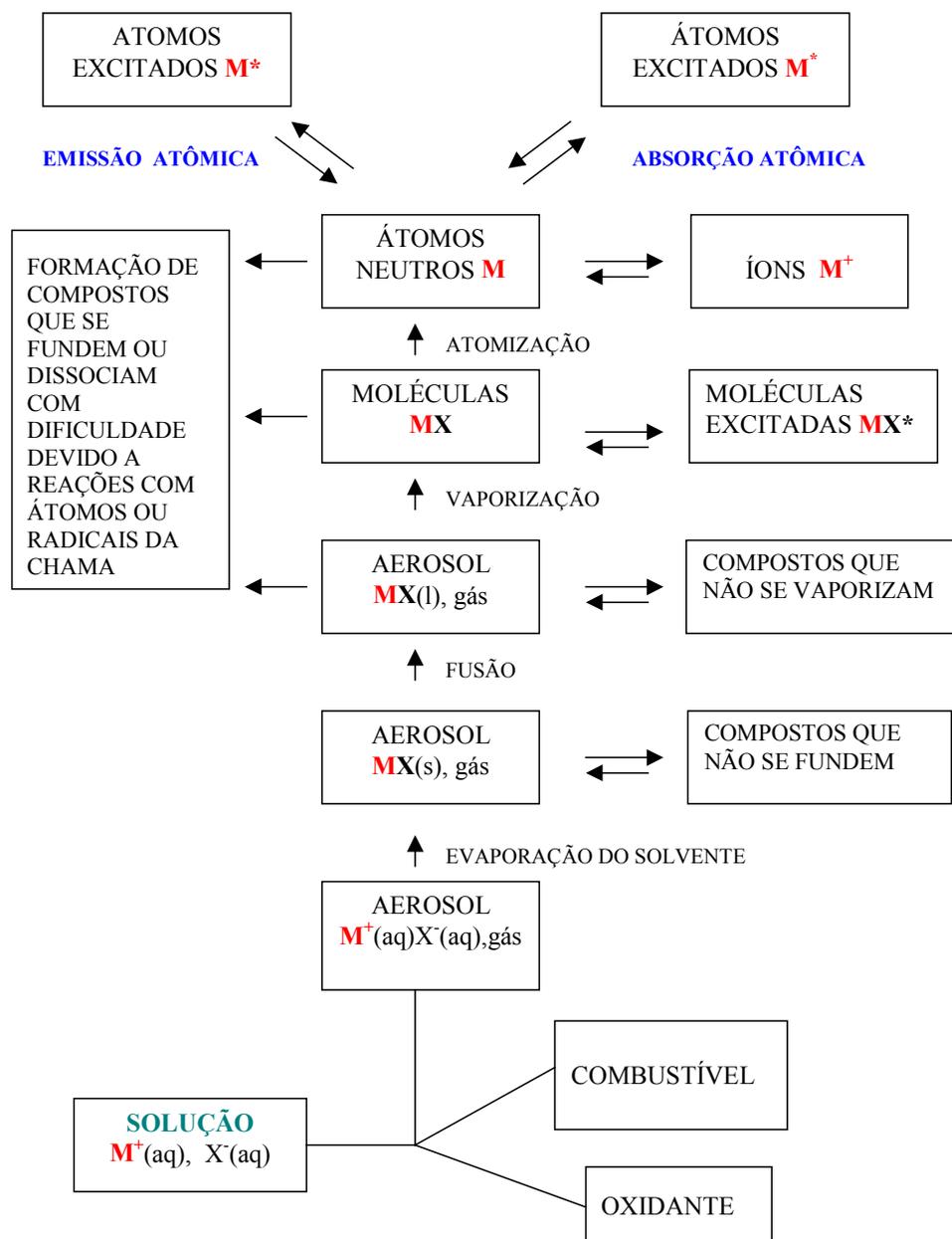
Na fotometria de emissão, o sinal analítico decorre da energia liberada por átomos termicamente excitados ao retornarem ao estado fundamental ( $-h\nu$ ). Esquematicamente, tem-se para a fotometria de emissão:



e na espectrometria de absorção atômica



No presente texto tratou-se paralelamente das técnicas de emissão e de absorção em chama. Quando se consideram os aspectos instrumentais, a ênfase é para os espectrômetros de absorção atômica, pois o equipamento de fotometria emissão de chama aqui considerado são aqueles mais simples, que dispõe de filtros apenas para a determinação de Na, K ou Li.



## 8.1 Atomização em chama

Tanto na espectrometria de absorção atômica como na fotometria de emissão de chama, a e-

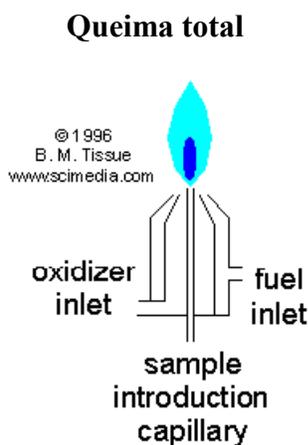
tapa decisiva para o êxito é a produção controlada de átomos do elemento a ser determinado, a atomização. Conforme já citado a chama não é o único meio para obtê-los e nela a maioria dos átomos obtidos permanece no estado fundamental, pois a temperatura atingida é relativamente baixa. Deste modo, apenas linhas espectrais de baixo potencial de excitação, menores que  $9.10^{-19}$  J ou 5,5 eV, serão emitidas.

O esquema apresentado mostra as etapas envolvidas na produção de átomos também indica os processos que contribuem para dificultá-la. Ao final, os átomos produzidos estarão aptos para se excitarem com energia térmica, emitir energia radiante e fornecer um sinal analítico na fotometria de emissão. Alternativamente, podem ser excitados por um feixe de radiação luminosa, absorvendo nesse processo parte da energia radiante, fornecendo uma medida de absorbância na espectrometria de absorção atômica.

### 8.1.1 Aspiração e nebulização da solução de amostra

A situação usual nos métodos de chama é se dispor de uma solução aquosa de amostra, que será aspirada até a chama, através de um conjunto que reúne sistema de aspiração, de nebulização e um queimador.

Normalmente a aspiração se processa através de um sistema pneumático, onde um fluxo de gás, escapando a alta velocidade por um orifício, promove uma queda de pressão e, conseqüentemente, aspiração da solução de amostra por meio de um capilar. A saída do conduto de amostra é posicionada de forma concêntrica à saída do gás. A velocidade de aspiração da amostra se situa entre 2 a 8 mL min<sup>-1</sup> e como afeta a magnitude do sinal analítico é um parâmetro a ser otimizado.



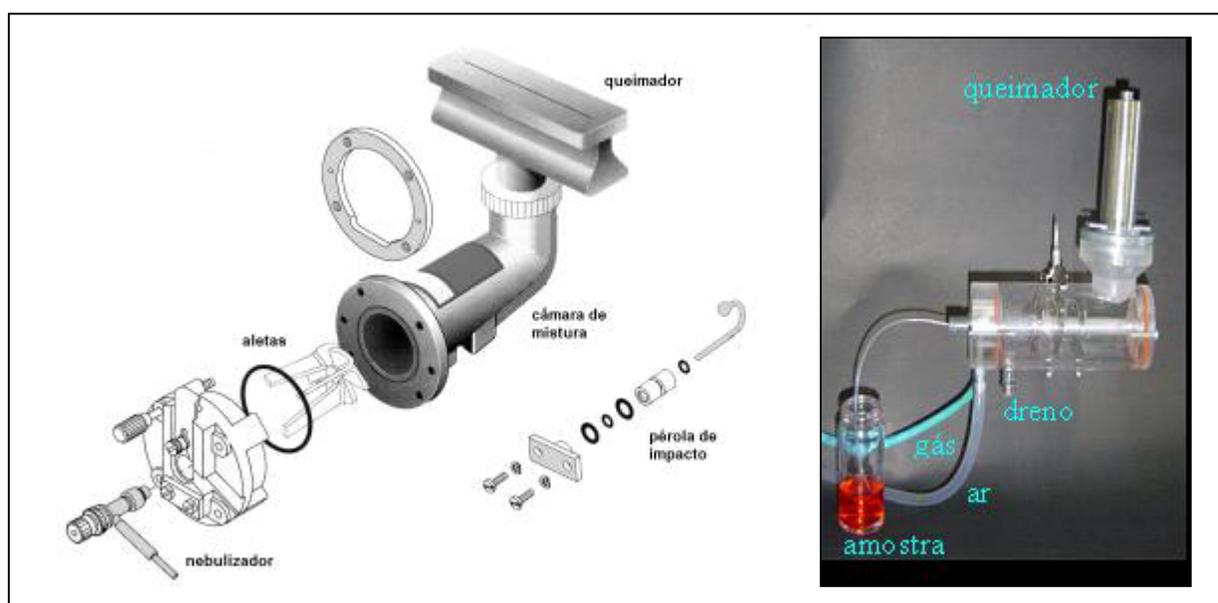
O sistema de nebulização e queima, originalmente empregado, sobretudo nos fotômetros de emissão de chama, era do tipo "queima total", assim denominado porque todo volume de solução aspirado chegava até à chama simultaneamente com os gases combustível e oxidante.

Apresentava vantagens como: construção simples, baixo custo, maior segurança por não haver risco de *flash-back* da chama e possibilidade de utilização de diferentes misturas gasosas. Permitia também, concentrar a chama em uma pequena região, o que era vantajoso na fotometria de emissão, por focalizar uma quantidade máxima de luz no detector.

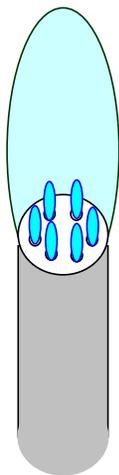
Por outro lado, eram extremamente barulhentos devido à turbulência da chama, não permitiam a otimização independente da nebulização e das condições da chama, nem o descarte das gotas de maior tamanho, que acabavam por ser admitidas na chama.

O sistema queimador típico dos espectrômetros de absorção atômica, também empregado nos fotômetros de emissão, é o denominado "pré-mix". Neste caso, antes da "queima", se efetua a nebulização em uma câmara, onde são admitidos o combustível e o oxidante. A chama é alimentada por uma mistura prévia de gases, o que a torna bastante estável.

É importante que fluxo dos gases seja mantido à velocidade superior à de queima, pois, caso contrário, corre-se o risco de ocorrer retrocesso ou *flash-back* da chama, quando a combustão se dá na câmara de nebulização. Nos instrumentos modernos existem dispositivos de segurança para prevenir esse tipo de acidente.



Após a solução ter sido aspirada no sistema "pré-mix", o filamento líquido é fragmentado em gotas de tamanhos variáveis, visando obter um aerossol com gotículas de diâmetro entre 5 a 7  $\mu\text{m}$ , para máxima eficiência na evaporação do solvente e atomização do componente a ser determinado. Logo após ser aspirada, a solução pode ser projetada contra uma pérola de vidro, colocada a uma distância regulável, para fragmentação das gotas. Com a mesma finalidade, são colocados anteparos no percurso até o queimador. Gotas de maior diâmetro são descartadas através do dreno da câmara de nebulização e apenas 10 a 20 % do volume aspirado contribui para a formação do aerossol.



À saída da câmara de mistura se acopla o queimador. No caso dos espectrômetros de absorção atômica, ele consiste em uma plataforma retangular, com uma fenda central de poucos milímetros de largura e cerca de 10 cm de comprimento (chama de ar/acetileno) onde se localiza uma chama laminar. Obtém-se assim, um máximo percurso através da chama, tornando eficiente a absorção da energia radiante do feixe que a atravessa. A fenda do queimador de óxido nitroso/acetileno é mais curta, para compensar a maior velocidade de queima dessa mistura.

Para os fotômetros de chama, o queimador mais adequado apresenta forma de torre cilíndrica, com orifícios arranjados em circunferência, pois aqui o propósito é concentrar a luz emitida pelos elementos excitados e focalizá-la eficientemente no detector. Menos conveniente seria a chama do tipo laminar, pois a maior área permite maior resfriamento da chama, o que afeta exponencialmente o número de átomos excitados, conforme indicado pela relação de Boltzmann.

### 8.1.2 Otimização do sistema de nebulização e queima

As regulagens que podem ser efetuadas pelo operador no sistema nebulizador-queimador são mais complexas no espectrômetro de absorção atômica do que nos fotômetros de chama comuns, que não permitem maiores ajustes, a não ser a velocidade de aspiração da amostra. Os parâmetros do sistema nebulizador-queimador são regulados para obter maximização do sinal analítico e são os seguintes:

**velocidade de aspiração da amostra:** regulada pelo movimento de uma rosca na parte externa do sistema nebulizador

**posição da pérola de impacto:** ajusta-se a distância entre a pérola e a entrada de solução dentro da câmara de nebulização,

**ajuste horizontal e vertical do queimador:** movimenta-se a cabeça do queimador, para que o feixe de radiação da lâmpada de cátodo oco atravessa o máximo comprimento da chama e na altura conveniente para interagir o mais eficientemente possível com os átomos do elemento a ser determinado.

**rotação do queimador:** esse ajuste pode ser efetuado com o mesmo objetivo anterior, isto é, coincidir o feixe da lâmpada com a chama. Entretanto, para evitar diluições de soluções de amostras

concentradas, o queimador pode ser girado para diminuir a população de átomos que entra em contato com a radiação.

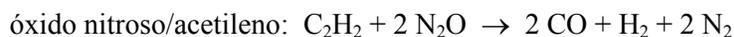


### 8.1.3 A chama

Uma chama é o resultado da reação exotérmica, denominada combustão, entre um combustível e um agente oxidante, ou comburente, que no caso dos métodos analíticos em questão são gases. Os gases produzidos nessa reação tornam-se luminosos pela liberação de energia química.

A energia liberada na reação de combustão eleva a velocidade de moléculas presentes no meio. As colisões inelásticas dessas moléculas com os átomos introduzidos na chama através de um aerossol, promovem transferência de energia e excitação dos átomos.

Os gases mais comumente empregados como combustíveis são: acetileno, propano, butano, gás de cozinha, hidrogênio, enquanto que como oxidantes tem-se: ar, oxigênio, óxido nitroso. As reações de combustão mais empregadas com finalidades analíticas, são as indicadas a seguir:



As principais funções da chama são: vaporização do elemento de interesse, passando-o da fase sólida para a fase gasosa; atomização, ou seja conversão de moléculas em átomos e, na fotometria

de chama, excitação de átomos do estado fundamental para estados de maior energia. Para cumprir essas funções a chama deve apresentar algumas características como estabilidade, condição que depende da perfeita regulagem da pressão dos gases, e temperatura apropriada, definida principalmente pela escolha dos gases combustível e oxidante. Em medidas de emissão, o uso da chama como meio de atomização é restrito a comprimentos de onda superiores a 210 nm, pois o espectro de emissão da própria chama não deve interferir na medida da emissão do elemento analisado.

Com relação ao ambiente químico que prevalece na chama ela se classifica em:

**Estequiométrica:** aquela que é quimicamente balanceada, ou seja, os gases são supridos na proporção definida pela estequiometria da reação.

**Oxidante:** quando a proporção de oxidante é superior à de combustível. É a chama de temperatura mais elevada e tem cor amarela.

**Redutora:** É a mais rica em combustível, e de temperatura mais baixa. Apresenta cor azul claro

A eficiência na atomização não depende apenas da temperatura da chama, pois o ambiente químico exerce influência decisiva. Uma chama ar/acetileno redutora é cerca de 150K mais fria que a chama estequiométrica, mas possibilita menor probabilidade de formação de monóxidos estáveis que prejudicam a formação de átomos. Várias combinações de gases combustíveis e oxidantes foram estudadas e as mais comumente empregadas são as seguintes:

**Ar/acetileno:** ainda a mais utilizada na espectrometria de absorção atômica, apresenta uma velocidade de queima relativamente baixa (160 cm/s), que propicia um bom tempo de residência dos átomos produzidos. Permite atingir em média temperaturas de 2300°C, considerada baixa para permitir a emissão de muitos elementos e para impedir a formação de compostos refratários na chama.

**Óxido nitroso/acetileno:** apresenta temperatura relativamente elevada (2900 a 3000°C) o que favorece a atomização de compostos altamente refratários como os de alumínio, vanádio, molibdênio e titânio. A velocidade de queima é elevada, cerca de 460 cm/s, o que exige para esta chama queimadores com fenda menor que daqueles de ar/acetileno. Como inconveniente favorece a ionização de muitos elementos e apresenta auto-emissão relativamente forte.

**Ar/(propano+butano):** é a chama empregada nos fotômetros de chama mais comuns, que se restringem à determinação de sódio, potássio e de lítio. O ar normalmente é fornecido por um com-

pressor de diafragma, para não se empregar óleo e evitar contaminações, e o combustível é o gás de cozinha comum. Apresenta temperatura baixa (1700 a 1900°C) suficiente apenas para excitar poucos elementos. A velocidade de queima é reduzida, permitindo longo tempo de residência.

Os gases empregados nas técnicas analíticas de chama devem apresentar elevado grau de pureza. Ao contrário da fotometria de chama, na espectrometria de absorção atômica deverão ser empregados os gases manufaturados especialmente para essa finalidade, apesar do elevado preço com que são comercializados.

O acetileno é fornecido dissolvido em acetona, embebido em material poroso e acondicionado em cilindros metálicos, os quais deverão permanecer imóveis por 24 h após serem movimentados. Não se deve utilizar o gás a pressões inferiores a 70 psi (5 bar), para prevenir o arraste de acetona para o espectrômetro de absorção atômica. A linha de gases não pode ser constituída por tubulação de cobre, nem ser submetida a pressões superiores a 15 psi (1 bar), pois se corre o risco de decomposição espontânea ou explosão do acetileno.

Quando se utiliza a mistura óxido nitroso/acetileno ocorrem problemas de congelamento na saída do óxido nitroso dos cilindros, exigindo equipamento especial que promove aquecimento. Começa-se por operar o aparelho com chama ar/acetileno, trocando-se em seguida o oxidante, manual ou automaticamente. Conforme já citado, deve-se utilizar ainda queimador específico para essa mistura.

A otimização da atomização obviamente envolve os fatores já discutidos, como velocidade de aspiração de amostra e ajustes de posicionamento do queimador. Com relação à chama especificamente, deve ser mencionada a importância do ajuste da velocidade de fluxo dos gases, a qual determina a natureza química, ou estequiometria, da chama.

Enquanto que para alguns elementos, como o cobre, o sinal praticamente independe da estequiometria da chama, outros como o cádmio, que tem a absorbância altamente dependente do fluxo de acetileno, que deve ser ajustado em função da máxima sensibilidade obtida na leitura.

## **8.2 Seleção de comprimento de onda e leitura do sinal**

Na fotometria de emissão de chama, a função do sistema monocromador é selecionar uma determinada linha do espectro de emissão do elemento que esta sendo analisado. Normalmente se empregam filtros de interferência, que são eficientes na seleção de linhas de espectros relativamente simples, como os dos metais alcalinos.

Na espectrometria de absorção atômica o sistema monocromador tem por função selecionar a *linha de ressonância* das demais linhas emitidas pela lâmpada de catodo oco e pelo gás inerte. Linha de ressonância é corresponde a transição entre o estado fundamental e o estado excitado de mais baixa energia. Certos elementos, como o cobre, apresentam espectro de absorção simples e a seleção não apresenta problemas. Para outros, o isolamento da linha de interesse é difícil, como é o caso da linha a 232 nm do níquel.

Nas aplicações mais comuns é suficiente que o monocromador possa separar regiões espectrais de até 0,2 nm de largura ou, em outras palavras, que apresente poder de resolução de pelo menos 0,2 nm.

Um sistema monocromador comum nos espectrômetros de absorção atômica é o que utiliza a configuração de CZERNY-TURNER. Nele, o feixe de radiação proveniente da lâmpada de catodo oco atravessa a chama, penetra no sistema monocromador através de uma fenda, conhecida por *slit* de entrada, e atinge um espelho esférico que o direciona sobre uma grade de difração. Dependendo do ângulo de rotação da grade será selecionada radiação de um determinado comprimento de onda, que será direcionada a uma outra fenda, o *slit* de saída, através de um segundo espelho esférico. O controle de abertura do *slit* permite selecionar, por exemplo, trechos de 0,2, 0,5, 1,0 ou 2,0 nanômetros do espectro, conforme seja necessário. Os *slit* de entrada e saída devem ter a mesma abertura.

A escolha da largura de banda espectral, ou *slit*, depende de uma solução de compromisso. Uma largura de banda estreita seleciona mais acuradamente a linha de emissão, mas a quantidade de energia que chega até o detector será relativamente baixa e as variações de sinal, ou ruído, que normalmente ocorrem, tornam-se proporcionalmente maiores. Além disso, será necessário maior amplificação do sinal e a contribuição da parte eletrônica do equipamento para o ruído será aumentada. Por outro lado, selecionando-se uma largura de banda maior, transmite-se uma alta intensidade de radiação, tem-se boa relação sinal/ruído, mas a seleção da linha de ressonância será ineficiente, comprometendo-se a linearidade da curva de calibração.

O sistema de leitura mede a intensidade de radiação da lâmpada de catodo oco, de comprimento de onda selecionado no sistema monocromador, quantificando a corrente elétrica gerada no tubo fotomultiplicador. Na ausência de átomos do elemento analisado tem-se na chama o sinal de referência, de intensidade  $P_0$ . A aspiração e nebulização da solução de amostra, seguida da atomização, resultarão em uma população de átomos proporcional à concentração do elemento na amostra, posicionada no percurso do feixe de radiação emitida pela lâmpada de catodo oco. Os átomos absor-

vem parte da radiação emitida pela lâmpada e nessa condição o sinal detectado no sistema de leitura terá intensidade reduzida de  $P_0$  para  $P$ .

O sistema de detecção poderia registrar outras radiações além daquela proveniente da lâmpada de catodo oco, resultando em erro na determinação analítica. Esse problema é contornado codificando a emissão da lâmpada por modulação, que consiste basicamente na variação da intensidade de radiação numa frequência constante, por meios mecânicos ou eletrônicos. No primeiro caso, um disco segmentado rotatório interrompe periodicamente o feixe de radiação, enquanto que na segunda alternativa a lâmpada é ligada e desligada rapidamente numa frequência constante. Deste modo, isola-se a emissão intermitente da lâmpada de catodo oco da emissão contínua originada da chama e o sistema de leitura não identificará como sinais analiticamente válidos a radiação emitida por espécies produzidas pela chama, ou por demais átomos e espécies presentes.

Na fotometria de emissão de chama, não existe possibilidade de discriminar sinais por modulação, pois tanto a emissão do elemento de interesse como a radiação de fundo provem da chama, o que é uma séria limitação para essa técnica analítica.

Nos equipamentos modernos, o sinal de absorção atômica corresponde a integração de sinais durante um período determinado de tempo. A precisão do resultado é inversamente proporcional à raiz quadrada do tempo de integração.

### **8.3 Interferências**

A exatidão dos resultados em fotometria de emissão e espectrometria de absorção atômica, como ocorre nos métodos não-estequiométricos de maneira geral, depende fundamentalmente da calibração. O êxito do procedimento requer que o elemento de interesse se atomize do modo mais similar possível, nas soluções de amostra e nas soluções padrões.

Analisando-se as etapas que se sucedem, desde a aspiração da solução de amostra até a manifestação do sinal analítico, nota-se que diferentes processos podem prejudicar a transformação dos íons do elemento de interesse em átomos, bem como a interação destes com a radiação luminosa.

#### **8.3.1 Interferências espectrais**

Ao se medir a radiação emitida pelo elemento que está sendo analisado, pode ocorrer que outra radiação de mesmo comprimento de onda coincida ou se sobreponha, constituindo uma interferência espectral. Esse tipo de interferência é bastante prejudicial às determinações por fotometria

de emissão de chama.

A interferência espectral mais drástica é quando uma linha de emissão coincide com a linha de emissão do elemento determinado, sendo ambas detectadas conjuntamente. É o caso do alumínio e vanádio a 308,2 e do antimônio e níquel a 231,2 nm. Para contornar o problema, deve-se selecionar outras linhas de emissão não coincidentes, ou dispor de sistemas monocromadores de maior eficiência.

Uma ocorrência mais comum é a coincidência de bandas do espectro de emissão de moléculas ou fragmentos, com as linhas de emissão de espectros atômicos. Assim, a banda de cálcio, de 543 a 589,6 nm, afeta as emissões do sódio a 589,0 nm, bem como a de bário a 553,6 nm.

A emissão do átomo do analito pode ser absorvida por outros átomos no estado fundamental, presentes em grande número na chama, antes de ser detectada, resultando no fenômeno denominado de auto-absorção. Este processo diminui a intensidade do sinal quando se aumenta a concentração do elemento emissor na solução de amostra, evidenciando uma curvatura na curva de calibração.

Diferentes autores chegam a afirmar que espectrometria de absorção atômica praticamente não ocorrem interferências espectrais, pelo menos em extensão similar à descrita para emissão, pois seria improvável a sobreposição de linhas de absorção. Também, a codificação da radiação da lâmpada de catodo oco, dificulta o registro de radiações interferentes pelo sistema de leitura.

A medida de absorção atômica pode, contudo, ser afetada pela absorção de "background". Neste caso, a medida de absorção por átomos da espécie de interesse, que ocorre em uma faixa muito estreita de comprimento de onda, e afetada por absorção contínua, ou de fundo. Essa absorção de background, ou não específica, se deve, sobretudo ao espalhamento de radiação e à absorção molecular.

Quando a solução de amostra apresenta concentração elevada de sólidos dissolvidos, partículas sólidas podem ocorrer na chama, sobretudo quando sua temperatura é insuficiente para completar a atomização. Neste caso, haverá espalhamento da radiação e, conseqüentemente, a atenuação da radiação da lâmpada de catodo oco, que será interpretada como absorção atômica pelo sistema de leitura do instrumento. O espalhamento da luz, de acordo com a lei de Rayleigh, é inversamente proporcional à quarta potência do comprimento de onda, o que agrava este tipo de interferência quando o referido parâmetro apresenta valores inferiores a 300 nm.

Se a temperatura da chama for insuficiente para dissociação de moléculas em átomos, bandas

de absorção molecular poderão se sobrepor as linhas de absorção atômica do elemento de interesse, causando erro em sua determinação. A formação de moléculas é favorecida quando um elemento presente em alta concentração na matriz reage com gases da chama formando óxidos ou hidróxidos. O problema de absorção molecular se torna mais sério abaixo de 250 nm.

A correção da "absorção de background" é feita comumente dispondo-se de uma lâmpada de deutério, ou de maneira mais eficiente através do efeito "Zeemann". A lâmpada de deutério apresenta um espectro de radiação contínua, que sendo atenuada pela absorção de *background*, também contínua, permite esta última seja quantificada e subtraída do sinal detectado de "absorção de *background* + absorção atômica".

### **8.3.2 Influência das propriedades físicas da solução de amostra**

Suponha-se a determinação de cobre por espectrometria de absorção atômica em aguardente, considerando-a como uma solução hidro-alcoólica a 50% de etanol em volume. Se a calibração do instrumento for efetuada com soluções padrões aquosas, ter-se-á uma condição de atomização diferente daquela obtida ao se aspirar a solução de amostra, contendo etanol. A forma mais simples de se eliminar essa interferência é preparar soluções padrões e de amostra com propriedades físicas comparáveis.

Soluções com diferentes viscosidades e tensões superficiais serão aspiradas e nebulizadas diferentemente, resultando em diferentes populações de átomos para uma mesma concentração do elemento de interesse. Cita-se que a viscosidade afeta a velocidade de entrada da solução no nebulizador, enquanto que a tensão superficial afeta o número de gotículas formadas, ou seja, a eficiência da nebulização.

A situação é especialmente crítica na fotometria de emissão de chama, onde o aumento da velocidade de aspiração de solução de amostra diminui a intensidade de radiação de fundo (*background*) da chama, em função do maior resfriamento.

Na determinação de metais em óleos lubrificantes, a solução de amostra é preparada por dissolução em solventes orgânicos como xileno e metilisobutilcetona (MIBK). Para se preparar soluções padrões, deve-se dispor de compostos organometálicos que possam ser considerados como padrões primários, solúveis nos mesmos solventes, obtendo-se assim soluções padrões e de amostra com propriedades físicas similares. Quando se empregam solventes orgânicos, há que se levar em conta que eles atuam também como combustíveis, devendo ser alterada portanto a relação combus-

tível/oxidante, aumentando-se o fluxo deste último.

### 8.3.3 Interferências químicas

Componentes da amostra podem reagir com o elemento de interesse formando compostos que se fundem, vaporizam, ou que se dissociam com graus variados de dificuldade, denominados compostos refratários, que evidentemente prejudicam a atomização. Os processos descritos afetam tanto a fotometria de emissão como a espectrometria de absorção atômica.

O exemplo mais relacionado com as análises agronômicas se refere à determinação de cálcio e de magnésio em matrizes que contém íons fosfato, sulfato e alumínio, como solo, material vegetal, misturas de fertilizantes, entre outros. A formação de  $\text{CaAl}_2\text{O}_4$ , por exemplo, prejudica a transformação do cálcio presente na amostra em átomos.

Para contornar o problema, em geral adiciona-se ao meio um elemento que forma compostos refratários mais facilmente que o elemento de interesse, como o lantânio ou o estrôncio. Cita-se ainda a possibilidade de se quelatar com EDTA o elemento que se está determinando, de modo que não se formem compostos refratários com íons fosfato ou sulfato. Finalmente, uma chama de temperatura conveniente pode dissociar compostos refratários eventualmente formados.

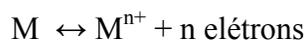
Espécies produzidas na chama a partir dos gases, ou de compostos da amostra, também podem exercer o mesmo papel.

### 8.3.4 Interferência de ionização

A formação de íons diminui o número de átomos disponíveis para a produção do sinal analítico e, conseqüentemente, a sensibilidade analítica. Isso ocorre porque o íon apresenta um espectro de absorção completamente diferente do átomo que lhe deu origem.

A ionização é mais intensa a concentrações mais baixas e é afetada também pela presença de outros elementos. Ao se determinar potássio em amostra com elevados teores de sódio, a ionização do potássio será reprimida.

A ionização do elemento M que está sendo determinado, ocorre segundo o equilíbrio:



Se for adicionado ao meio um elemento, denominado supressor de ionização, que se ioniza mais facilmente que M, por apresentar um menor potencial de ionização, o maior número de elé-

trons presentes deslocará o equilíbrio de ionização do elemento M para a esquerda, dificultando a formação de íons  $M^{n+}$ .

A determinação de cálcio e de magnésio por espectrometria de absorção atômica, em chama de ar/acetileno, é afetada pela formação de compostos refratários com íons fosfato, sulfato e alumínio. Esse problema não ocorre na chama de óxido nitroso/acetileno, mas neste caso a temperatura mais elevada aumenta a ionização do cálcio de 3 para 43%. Deverá ser adicionado à solução de amostra um supressor de ionização, que poderá ser o íon potássio, lítio, entre outros, para que a ionização do cálcio não represente problema. Os supressores são adicionados à solução de amostra em concentrações elevadas, da ordem de alguns  $g L^{-1}$ .

#### **8.4 Atomização sem chama**

Uma chama é um meio conveniente para atomização de um elemento mas existem limitações. Ela requer um agente oxidante e assim não fornece um ambiente quimicamente inerte, pois as espécies que nela se originam levam à formação de compostos refratários. Os processos de nebulização de solução e queima, promovem uma diluição da solução de amostra aspirada e os átomos formados permanecem pouco tempo no percurso da radiação. Esses fatores contribuem para que a eficiência da atomização não seja satisfatória. Estima-se que, dos  $10^{15}$  íons  $Cu^{2+}$  existentes em 1 mL de solução de cobre  $1 mg L^{-1}$ , apenas  $10^3$  são atomizados na chama de ar acetileno. Conseqüentemente, é compreensível que a sensibilidade não seja adequada para certas aplicações, como na determinação de metais pesados, caracterizados como contaminantes, normalmente efetuadas a concentrações inferiores a  $1 mg L^{-1}$ .

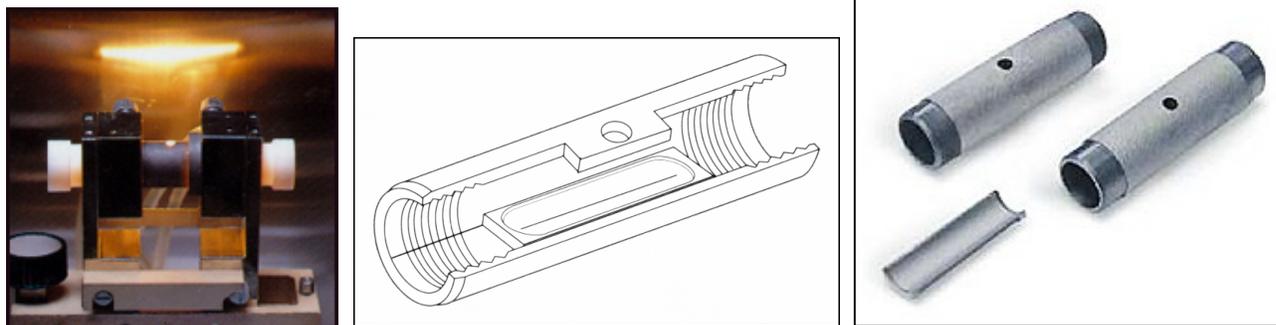
Para contornar os problemas citados foram desenvolvidas técnicas mais eficientes de atomização, possibilitando que uma população significativa de átomos fosse originada diretamente no percurso do feixe de radiação da lâmpada de catodo oco, a partir de uma quantidade muito pequena de amostra. Com esse recurso aumentou-se bastante a sensibilidade analítica.

##### **8.4.1 Forno de grafite**

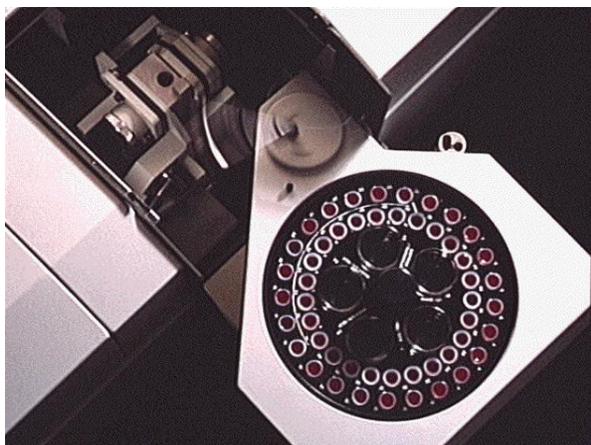
Na técnica de atomização por forno de grafite, um volume de 1 a 100  $\mu L$  de solução de amostra é introduzido no orifício de um tubo de grafite oco, o forno de grafite, de preferência através de um sistema automático, para garantia de reprodutibilidade.

A introdução de um volume de solução diretamente no tubo elimina os problemas devido à viscosidade, tensão superficial, densidade, que afetavam significativamente a nebulização na atomi-

zação em chama. O cilindro de grafite é montado entre dois eletrodos, acomodados em um bloco de metal, por onde circula água para refrigeração, conforme indicado na figura. O tubo é aquecido pela passagem de uma corrente de grande intensidade e baixa voltagem, obedecendo-se a uma escala progressiva de aumento de temperatura, relacionada às diferentes etapas do processo.



A primeira etapa objetiva-se essencialmente a evaporação do solvente. O aquecimento é lento e gradual para evitar a formação de bolhas e borrifos, permitindo a formação de um filme delgado e uniforme nas paredes do tubo, contendo praticamente todos os componentes da amostra.



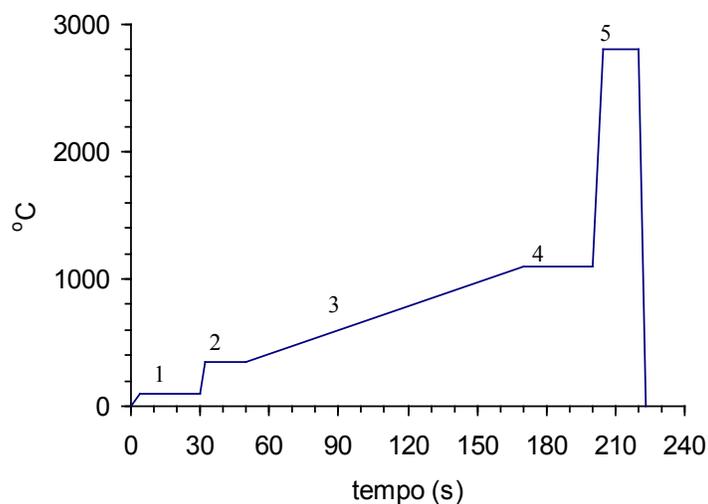
A seguir vem o estágio de carbonização, durante o qual são removidos os componentes orgânicos da matriz analisada. Assim, serão removidas substâncias que exerceriam um ativo papel como interferentes na técnica de chama. Pode-se dizer que a carbonização deixa o elemento de interesse isolado, em situação ideal para ser atomizado.

Desde o início do processo, circula através do interior do tubo um fluxo de gás inerte, o argônio, promovendo uma atmosfera inerte, que contrasta com o ambiente altamente reativo de uma chama, onde os átomos do elemento de interesse tinham ocasião de reagir com moléculas, radicais, íons e demais espécies provenientes dos gases.

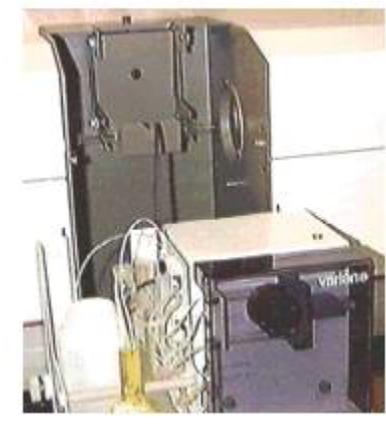
Após os estágios de secagem (1) e carbonização para decomposição da matriz (2, 3 e 4), promove-se uma rápida elevação da temperatura, até 2000-3000K, para se efetuar a atomização.

Nesta fase se interrompe o fluxo de gás inerte para que a população de átomos formados se acumule em um volume relativamente pequeno. Tem-se, portanto, uma maior população de átomos,

disponíveis para interagir eficientemente com o feixe da radiação luminosa da lâmpada de catodo oco, cujo eixo coincide com o eixo longitudinal do tubo de grafite. Todo o volume de solução de amostra é empregado para produção de átomos concentrados no caminho da radiação, gerando um sinal analítico de intensidade suficiente para permitir a determinação de baixas concentrações. O tempo de atomização é baixo, pois deve ser menor que o tempo de residência dos átomos no tubo.



Obtém-se um sinal analítico transiente, ou seja, dependente do tempo, na forma de pico, do qual se pode medir a altura ou a área, para se correlacionar com a concentração. Cita-se que a técnica de atomização por forno chega a atingir sensibilidade 10000 vezes superior à técnica de chama.



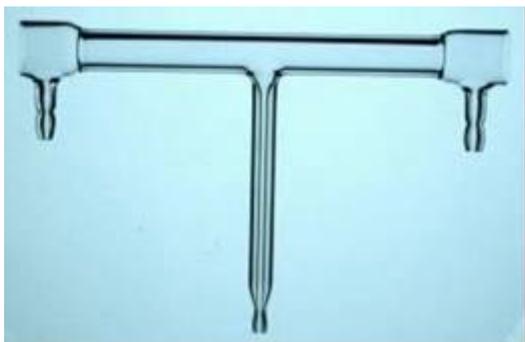
### Geração de hidretos e de vapor

Além dos processos de chama e eletrotérmico pode-se empregar outros meios de atomização. Elementos como antimônio, arsênio e estanho reagem com borohidreto de sódio e formam hidretos metálicos. Esses compostos evoluem da solução de amostra carregados por gás inerte, como nitrogênio ou argônio, até um tubo de quartzo cujo eixo coincide com o feixe de radiação da lâmpada de catodo oco. Aquecendo-se o tubo de quartzo com a chama do queimador de ar/acetileno convencional, os hidretos se decompõem e liberam átomos no estado fundamental. Note-se que a chama não é empregada com as mesmas finalidades descritas na técnica de atomização em chama.



Na determinação de mercúrio, utiliza-se o mesmo equipamento descrito para geração de vapor, mas não há necessidade de formação de hidreto volátil, nem de aquecimento pela chama, pois o mercúrio elementar já é volátil. Necessita-se apenas reduzir o mercúrio presente na forma iônica, empregando-se solução de cloreto estanoso. Uma corrente de nitrogênio ou de argônio conduzirá os átomos de mercúrio até o tubo de quartzo para produção do sinal.

Comparando-se a atomização com e sem chama, observa-se que na atomização com chama, o sinal é grandemente afetado pela composição, fluxo e pressão dos gases e pela estabilidade na nebulização. Entretanto, é relativamente simples de se operar, oferece boa estabilidade e em grande parte dos casos oferece sensibilidade adequada.



Com os devidos cuidados, uma precisão de 0,2% pode ser obtida e o efeito dos interferentes é controlado pela escolha da chama apropriada. A atomização sem chama proporciona grande sensibilidade, em função do maior tempo de residência dos átomos no percurso do feixe de radiação, o ambiente é quimicamente inerte e se requer quantidade pequena de amostra. Entretanto, o processo é complicado do ponto de vista operacional, se destina exclusivamente à determinação de traços e a precisão dificilmente é melhor que 1%, variando segundo alguns autores entre 5 a 10%.

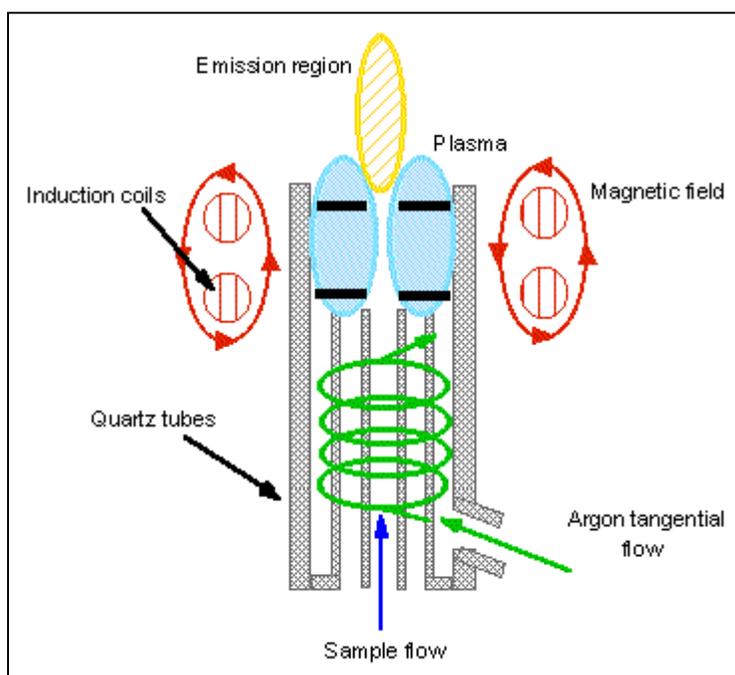
#### **8.4.3 Espectroscopia de emissão atômica em plasma**

O enfoque neste item é para a emissão de radiação visível e ultravioleta em decorrência da excitação térmica de átomos. Aplicações quantitativas da espectroscopia de emissão atômica em arco elétrico foram desenvolvidas por Norman Lockyer (1836–1920) no começo de 1870, e a aplicação quantitativa baseada na emissão em chama foi iniciada por H. G. Lundegardh em 1930. A emissão atômica baseada em plasma se iniciou em 1964.

Conforme já discutido, a emissão atômica pode ser observada pelas linhas e um espectro de emissão, sendo a intensidade de cada linha proporcional ao número de átomos excitados.

Um espectrômetro de absorção atômica pode ser usado em medidas de emissão, em chama simplesmente desligando-se lâmpada de catodo oco. Mas comumente, contudo, espectrômetros de emissão são construídos para tirar partido das características vantajosas das medidas de emissão atômica como análise multielementar. Embora fontes de excitação como arcos e centelhas e lasers sejam utilizados, atualmente a fonte de excitação mais empregada na rotina de emissão atômica é o plasma.

Plasma é um gás aquecido parcialmente ionizado, contendo alta concentração de elétrons e cátions, o que o torna um condutor elétrico. A elevada temperatura de um plasma resulta do aquecimento resistivo do movimento de elétrons e íons de argônio. Como o plasma opera a temperaturas muito mais elevadas que uma chama, ele pode produzir mais átomos e excitá-los em maior quantidade. A temperatura mais elevada produz também íons do elemento de interesse.



A tocha de plasma consiste de três tubos de quartzo concêntricos, rodeados no topo por uma espiral de indução por rádio-freqüência. A solução de amostra é misturada com uma corrente de argônio em uma câmara de nebulização e carregada até o plasma pelo tubo central da tocha.

A formação do plasma é iniciada por uma centelha elétrica obtida em uma bobina Tesla. Uma corrente alternada de rádio freqüência cria um campo magnético flutuante que induz um movimento circular aos elétrons e íons argônio.

Como resultado de inúmeras colisões com o gás não ionizado se origina um calor resistivo que promove temperaturas da ordem de 10000 K na base do plasma e de 6000 a 8000K a cerca de 15 a 20 cm da bobina, onde a emissão é efetivamente medida. Nessas temperaturas elevadas, a parte externa da tocha deve ser termicamente isolada, o que é feito por meio de um fluxo tangencial de argônio.

A espectroscopia atômica de emissão é apropriada para análises multi-elementares porque vários componentes da amostra são excitados simultaneamente. Um monocromador pode ser pro-

gramado para fazer uma varredura localizando várias linha de emissão e medindo sua intensidade e assim quantificando 3 ou 4 componentes por minuto. È o que se chama de análise seqüencial.

Numa outra abordagem, vários detectores podem ser posicionados para efetuar leituras simultâneas de varias linhas de emissão. Então, neste caso, uma grade de difração pode direcionar energia radiante, referentes a linhas de emissão selecionadas, para 48 ou 60 fendas em arranjo semicircular, cada uma delas posicionada frente a um detector. Neste caso se denomina análise simultânea.

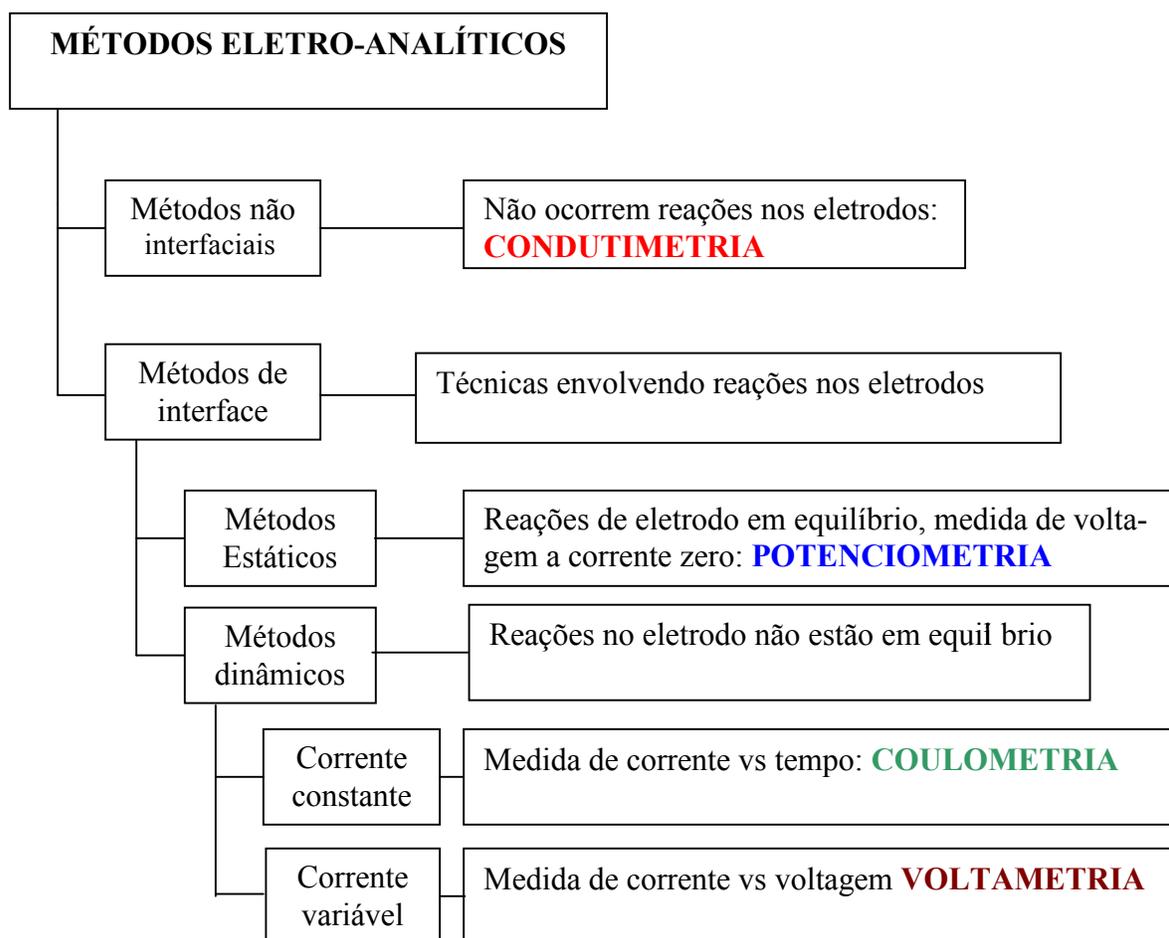
Comparada à excitação em chama, o plasma permite limites de detecção muito menores, com exceção dos elementos sódio e potássio, além de minimizar interferências químicas e espectrais.

A seleção de um comprimento de onda depende da necessidade de sensibilidade da análise e da eliminação de interferência. Como os espectros atômicos de emissão, particularmente no plasma, contém muitas linhas é inevitável que uma certa sobreposição ocorra. Aberturas de slit mais estreitas melhoram a resolução. Deve-se, portanto, examinar o espectro de emissão e selecionar as linhas mais intensas e mais resolvidas.

A interferência espectral mais importante na emissão atômica são as bandas de emissão de espécies moleculares. Essa radiação contínua de background é particularmente severa nas chamas. No plasma, a temperatura muito elevada torna a interferência de background menos problemática. Pelo mesmo motivo as interferências químicas do plasma são também menos expressivas que na emissão em chama.

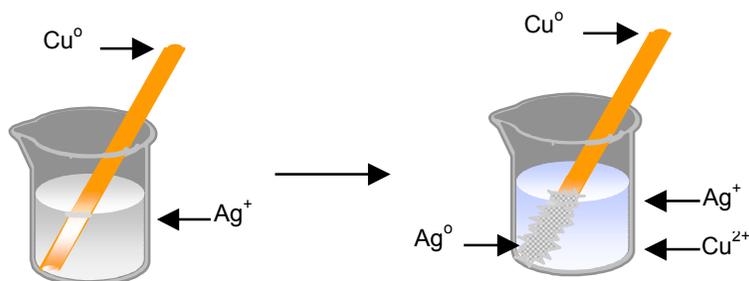
## 9 POTENCIOMÉTRIA E CONDUTIMETRIA

A química eletroanalítica compreende um grupo de métodos analíticos baseado nas propriedades elétricas das soluções: corrente, resistência e diferença de potencial. Em alguns casos as propriedades elétricas são medidas em função do tempo. As características desses métodos são: baixos limites de detecção, possibilidade de especificação química e instrumentação relativamente barata. Os métodos potenciométricos e condutimétricos se inserem dentro da categoria dos métodos eletroanalíticos.

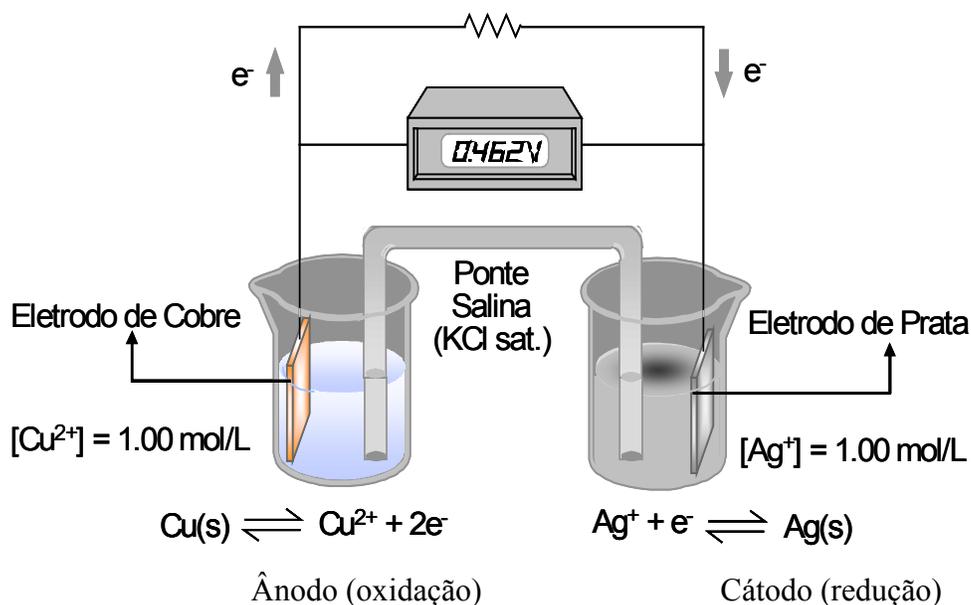


### 9.1 Noções de Eletroquímica

Reações de oxidação-redução são aquelas em que ocorrem transferência de elétrons entre as espécies participantes, de modo que sempre existe pelo menos uma espécie doando e outra recebendo elétrons. É o que ocorre quando uma barra de cobre metálico fica recoberta de prata metálica ao ser imersa numa solução de íon  $\text{Ag}^+$ .



Essa mesma reação de oxidação-redução pode ser estudada em uma célula eletroquímica, denominada célula galvânica, na qual o fluxo de elétrons percorre um condutor, gerando uma diferença de potencial que pode ser utilizada para produzir trabalho mecânico. Na figura a seguir tem-se uma célula eletroquímica envolvendo eletrodos de cobre e prata mergulhados nas soluções de seus cátions.



Os componentes de uma célula eletroquímica são em geral: dois condutores imersos em uma solução contendo eletrólitos (eletrodos); um condutor eletrônico externo para permitir o fluxo de elétrons e um condutor iônico, a ponte salina, para evitar o contato direto dos reagentes e permitir o fluxo de íons. A diferença de potencial é a medida da tendência da reação ocorrer em direção ao equilíbrio

Note-se que elétrons migram do eletrodo de cobre metálico para o eletrodo de prata metálico.

O íon  $\text{Ag}^{+2}$  se reduz a prata metálica e o cobre metálico se oxida a íon cúprico. Uma ponte salina, contendo um sal como KCl e conectando os dois recipientes, é necessária para garantir a eletroneutralidade das soluções que formam o sistema. Ela contrabalança a deficiência de cargas positivas decorrentes do consumo de íons  $\text{Ag}^{+}$  no recipiente da direita, liberando ali íons  $\text{K}^{+}$ . No frasco da esquerda, a liberação de íons  $\text{Cl}^{-}$  contrabalança o excesso de cargas positivas, decorrentes da formação de íon  $\text{Cu}^{+2}$ .

As espécies químicas envolvidas nesse sistema, estão representadas nas semi-reações indicadas a seguir, ambas escritas por convenção como redução:



Experimentalmente sabe-se que as reações que ocorrem são:

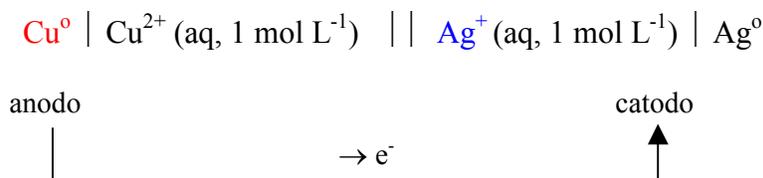


A reação completa é:  $\text{Cu}^0 + 2\text{Ag}^{+} \leftrightarrow \text{Ag}^0 + \text{Cu}^{2+}$

O cobre metálico doou 2 elétrons e se oxidou, dando origem ao íon  $\text{Cu}^{2+}$ , enquanto que o íon prata  $\text{Ag}^{+}$  recebeu 1 elétron por íon e se reduziu, produzindo prata metálica. O cobre metálico atua portanto como redutor pois reduziu o íon prata, enquanto que o íon prata é o oxidante. Essa reação que ocorre na pilha eletroquímica é espontânea, sendo que os elétrons caminham do eletrodo de cobre para o eletrodo de prata. O eletrodo onde ocorre a oxidação é chamado **anodo** enquanto que aquele em que ocorre a redução é chamado **catodo**. No caso da célula eletroquímica exemplificada, esse as concentrações das soluções de  $\text{Ag}^{+}$  e de  $\text{Cu}^{+2}$  for  $1 \text{ mol L}^{-1}$ , a diferença de potencial medida é  $\Delta E = 0,462 \text{ Volts}$

Se no circuito externo for inserida uma fonte de potencial de 0,462 Volts em oposição ao fluxo de elétrons a reação é paralisada. Se a diferença de potencial for superior a 0,46 Volts o sentido da reação se inverte, ocorre então uma eletrólise e a célula eletroquímica será denominada de célula eletrolítica. Na célula galvânica o trabalho químico gera uma diferença de potencial, enquanto que na célula eletrolítica uma diferença de potencial aplicada à mesma gera trabalho químico.

A representação esquemática da célula galvânica citada é:



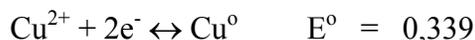
Para qualquer célula:

$$\Delta E = E_{\text{catodo}} - E_{\text{anodo}}$$

Se o eletrodo de prata fosse substituído por outro de zinco ocorreria uma mudança no processo, pois o zinco que passaria a atuar como doador de elétrons e o cobre como receptor. Nota-se, portanto, que uma espécie atua como agente oxidante ou agente redutor, dependendo de como se relaciona com a outra espécie envolvida no sistema.

As reações de oxidação-redução podem ser desmembradas em semi-reações, referentes aos processos de oxidação e de redução. Assim, a célula eletroquímica é composta de 2 reações de meia-cela e cada reação de meia-cela possui um potencial de eletrodo, associado, medido em relação a um padrão de referência

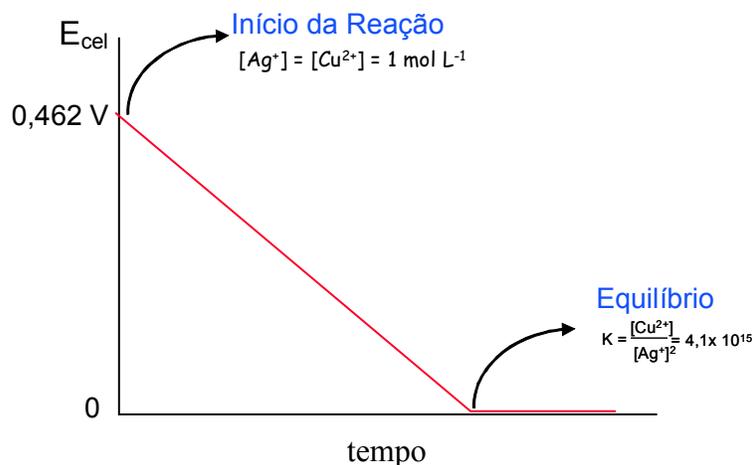
Potencial de Eletrodo: Potencial de uma cela onde o eletrodo em questão atua como cátodo e o EPH atua como ânodo Se as atividades de todos os reagentes e produtos é igual a 1 tem-se Potencial de Eletrodo Padrão ( $E^\circ$ ). O potencial padrão de eletrodo,  $E^\circ$ , se refere a uma condição especial das espécies químicas envolvidas: sólidos na sua forma mais estável, espécies em solução com atividade unitária, ou, de modo simplificado, na concentração de  $1 \text{ mol L}^{-1}$  e gases na pressão de 1 atmosfera. Para se prever qual espécie química vai atuar como oxidante e qual vai atuar como redutor deve-se consultar uma tabela de potenciais padrão de eletrodo, nas quais as semi-reações são normalmente representadas sempre como processos de redução:



No processo de oxidação-redução uma dessas semi-reações terá que ser invertida, ou seja, escrita como oxidação. Para a reação de oxidação-redução ocorrer como um processo espontâneo, a variação de potencial padrão da célula,  $\Delta E^\circ$ , resultante da soma algébrica dos potenciais padrão, deverá ser positiva. A única possibilidade de se obter valor positivo para  $\Delta E^\circ$  será:



$$\Delta E^\circ = 0,460 \text{ V}$$



À medida que a reação espontânea ocorre na célula eletroquímica o potencial da célula decresce até que atinge o valor zero e o sistema entra em equilíbrio

Início da Reação

$$[Ag^+] = 1,00\text{ mol L}^{-1}$$

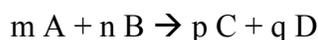
$$[Cu^{2+}] = 1,00\text{ mol L}^{-1}$$

Equilíbrio

$$[Ag^+] = 1,9 \times 10^{-8}\text{ mol L}^{-1}$$

$$[Cu^{2+}] = 1,50\text{ mol L}^{-1}$$

A equação de Nernst fornece a relação entre potencial da célula,  $\Delta E$ , e as atividades das espécies em solução, sob qualquer condição:



$$\Delta E = \Delta E^{\circ} - \frac{RT}{nF} \cdot \ln \frac{(a_D)^p (a_C)^q}{(a_B)^n (a_A)^m}$$

onde:

$F$  = constante de Faraday: 96500 coulombs eq.

$R$  = constante dos gases perfeitos  $8,316\text{ J mol}^{-1}\text{ grau}^{-1}$

$E^{\circ}$  = potencial padrão de eletrodo

$E$  = potencial do eletrodo

$n$  = número de elétrons envolvidos

Para temperatura de  $25^{\circ}\text{C}$ , trabalhando-se com logaritmos decimais e concentração no lugar de atividade tem-se:

$$\Delta E = \Delta E^{\circ} - \frac{0,0592}{n} \cdot \log \frac{[D]^q [C]^p}{[A]^m [B]^n}$$

Quando for atingido o equilíbrio,  $\Delta E = 0$  e assim:

$$\Delta E^{\circ} = \frac{0,0592}{n} \cdot \log K$$

## 9.2 Potenciometria

Métodos potenciométricos de análise baseiam-se na medida do potencial de uma cela eletroquímica na ausência de corrente. A equação de Nernst fornece uma relação simples entre o potencial de eletrodo e concentração de espécies iônicas em solução, evidenciando a possibilidade de uso analítico das medidas de potencial. O potencial de um eletrodo não pode ser definido isoladamente, devendo sempre estar associado a um outro eletrodo numa célula galvânica.

Num fio de metal, imerso em uma solução de seus íons, desenvolve-se um potencial proporcional à concentração desses íons e o potencial de eletrodo é calculado por meio da equação de Nernst. Considerando-se a reação:



$$E = E^{\circ} - \frac{0,0592}{n} \cdot \log \frac{a(M^{\circ})}{a(M^{n+})}$$

mas  $a(M^{\circ}) = 1$

$$E = E_{(M/M^{n+})}^{\circ} + \frac{0,0592}{n} \cdot \log a(M^{n+})$$

Para que seja possível efetuar a medida de concentração, deve-se associar ao eletrodo em que se mede efetivamente a concentração da espécie de interesse um outro eletrodo de potencial constante. Suponha-se assim, que um fio de prata está imerso em uma solução de íons prata, cuja, atividade ou concentração deseja-se avaliar e que este eletrodo de prata esteja ligado a outro eletrodo de potencial constante 0,246 V.

Verifica-se experimentalmente que, nessa situação o eletrodo de prata é o eletrodo positivo, para onde se dirige o fluxo de elétrons, ou seja o catodo. Assim, sendo a medida do potencial da célula 0,400 V, tem-se:

$$E_{\text{cel}} = E_{\text{Ag}} - E_{\text{ref}}$$

$$0,400 = E_{\text{Ag}} - 0,246\text{V}$$

$$E_{\text{Ag}} = 0,400 + 0,246 = 0,646\text{V}$$

sendo o valor tabelado de  $E^{\circ}_{\text{Ag}/\text{Ag}^+}$  igual a 0,799V, tem-se :

$$E_{\text{Ag}} = E^{\circ}_{(\text{Ag}/\text{Ag}^+)} + \frac{0,0592}{1} \cdot \log[\text{Ag}^+]$$

$$\log[\text{Ag}^+] = \frac{E_{\text{Ag}} - E^{\circ}_{\text{Ag}}}{0,0592}$$

$$\log[\text{Ag}^+] = \frac{0,646 - 0,779}{0,0591} = -2,25$$

$$[\text{Ag}^+] = 0,0057 \text{ mol L}^{-1}$$

Na verdade esse procedimento é pouco utilizado porque um eletrodo desse tipo é pouco seletivo, respondendo a outros cátions que podem ser reduzidos presentes na solução. Além disso, podem dissolver em meio ácido ou básico e também podem ser facilmente oxidados em algumas soluções. Esse eletrodo será definido posteriormente como eletrodo indicador de primeira classe.

### 9.2.1 Eletrodos

Nas medidas potenciométricas são utilizados essencialmente dois tipos de eletrodos: referência e indicadores.

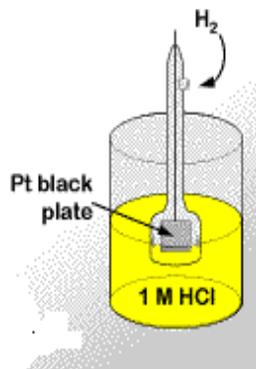
#### **Eletrodos de referência:**

Em aplicações eletro-analíticas, é desejável que um dos eletrodos tenha potencial conhecido e constante, ou seja, completamente insensível à composição da solução em estudo. O eletrodo de referência ideal é reversível; obedece a equação de Nernst; exibe potencial constante com o tempo; retorna ao seu potencial original após submetido a pequenas correntes e exibe baixa histerese com variações de temperatura.

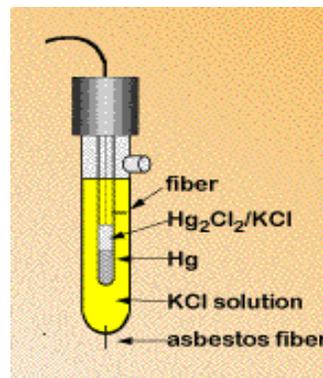
#### **Eletrodo padrão de hidrogênio (EPH)**

Como um eletrodo padrão, o EPH é extremamente reprodutível e o potencial medido se aproxima bastante do teoricamente esperado, mas não é conveniente para medidas de rotina.

Consiste de uma peça de platina recoberta por platina finamente dividida (negro de platina), que se encontra imersa em uma solução onde a atividade de  $\text{H}^+$  é 1,0, e através do qual se passa hidrogênio a pressão de 1 atmosfera. A platina absorve o  $\text{H}_2$ , devido a grande área superficial proporcionada pelo negro de platina. No eletrodo desenvolve-se um potencial determinado pela tendência relativa do  $\text{H}^+$  se reduzir e do  $\text{H}_2$  se oxidar, ao qual se atribui o valor zero a qualquer temperatura.



Eletrodo padrão de hidrogênio

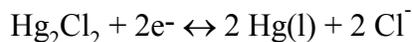


Eletrodo de calomelano saturado

Quando numa célula galvânica está ligado ao EPH um eletrodo de zinco, imerso em solução onde a atividade do íon  $Zn^{2+}$  é 1, ocorre oxidação do Zn. O eletrodo de zinco é o cátodo ou eletrodo negativo. À voltagem medida nessa condição se atribui sinal negativo, isto é -0,761V.

### Eletrodo de calomelano saturado (ESC)

Consta de um fio de platina imerso em cuja ponta se adere suspensão de  $Hg_2Cl_2$  sólido misturado a mercúrio líquido, sendo o conjunto imerso em solução saturada de KCl.

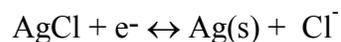
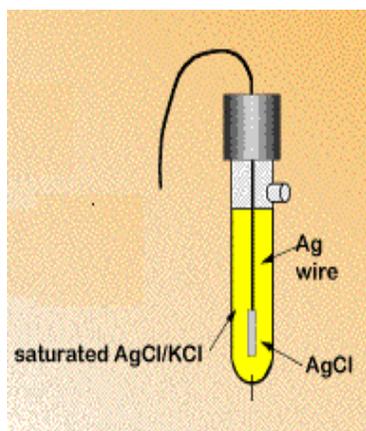


$$E = E_{Hg_2Cl_2/Hg}^0 - \frac{0,0592}{2} \cdot \log a(Cl^-)^2$$

O potencial do eletrodo depende da concentração de  $Cl^-$ , mas como a solução de KCl é saturada, cerca de  $4,2 \text{ mol L}^{-1}$ , o potencial permanece constante. Podem ser empregadas também soluções 1,0 ou  $0,1 \text{ mol L}^{-1}$  KCl.

### Eletrodo Ag/AgCl:

Consiste em um fio de prata, recoberto com AgCl, imerso em solução de KCl saturada com AgCl.



$$E = E_{AgCl/Ag}^0 - \frac{0,0592}{1} \cdot \log a(Cl^-)$$

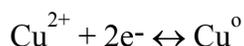
### Eletrodos indicadores

Nos eletrodos indicadores o potencial é sensível à concentração da espécie química de interesse. É o eletrodo, portanto, onde efetivamente se determina espécie química de interesse.

Podem ser de dois tipos: eletrodos indicadores de metal, ou eletrodos baseados em sistema de oxidação-redução, nos quais se desenvolve-se um potencial determinado por uma semi-reação de oxidação-redução na superfície do eletrodo e eletrodos indicadores de membrana onde o potencial determinado por diferença de concentração entre os dois lados de uma membrana especial.

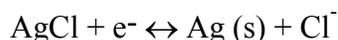
Os seguintes tipos de eletrodo indicador de metal podem ser enumerados:

**Eletrodos de primeira classe:** metal em contato com a solução de seus íons:



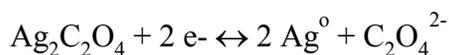
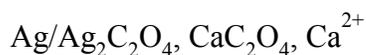
**Eletrodos de segunda classe:** Metal, sal insolúvel do metal, em contato com solução do ânion do metal.

Como exemplo temos o eletrodo de Ag/AgCl, que pode ser usado de forma a responder à concentração de íon cloreto em solução:



$$E = E^\circ - \frac{0,0592}{1} \cdot \log a(\text{Cl}^-)$$

**Eletrodos de terceira classe:** metal, sal pouco solúvel do metal, sal contendo ânion do primeiro sal, solução de cátion do segundo sal



$$E = E^\circ - \frac{0,0592}{2} \cdot \log a(\text{C}_2\text{O}_4^{2-})$$

como  $K_s = a(\text{C}_2\text{O}_4^{2-}) \cdot a(\text{Ca}^{2+})$ :

$$E = E^\circ - \frac{0,0592}{2} \cdot \log \frac{K_s}{a(\text{Ca}^{2+})}$$

$$E = \text{Constante} + 0,0296 \log a(\text{Ca}^{2+})$$

**Eletrodos inertes:** metal inerte em contato com solução contendo formas oxidada e reduzida de um sistema de oxidação redução. O fio metálico é um simples condutor de elétrons.



$$E = E^\circ - \frac{0,0592}{1} \cdot \log \frac{a(\text{Fe}^{2+})}{a(\text{Fe}^{3+})}$$

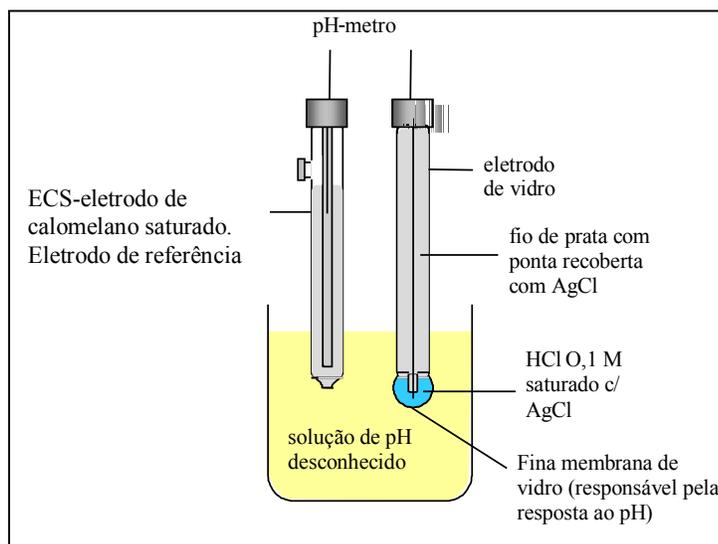
na forma genérica a equação do eletrodo inerte se torna:

$$E = E^\circ - \frac{0,0592}{n} \cdot \log \frac{a(\text{red})}{a(\text{ox})}$$

### Eletrodos indicadores de membrana

Permitem a determinação rápida e seletiva de vários cátions e ânions através de medida potenciométrica direta. Diferentemente de um eletrodo metálico, no qual o potencial no eletrodo metálico deriva da tendência de uma reação redox ocorrer na superfície do metal, em eletrodos de membrana o potencial se deve a um potencial de junção entre a membrana que separa a solução do eletrodo da solução da espécie a ser analisada. Em outras palavras, o potencial neste tipo de eletrodo resulta da manifestação desigual de cargas elétricas dos dois lados de uma membrana especial.

A grande vantagem desse tipo de eletrodo é a possibilidade de se operar com membranas que apresentam considerável seletividade em relação à íons específicos, produzindo potenciais que obedecem à equação de Nernst. Por esse motivo são conhecidos como eletrodos seletivos.



### Eletrodos de vidro para pH

A medida de pH é efetuada com base na medida da diferença de potencial através de uma membrana de vidro que separa a solução desconhecida de uma solução de referência cuja  $[\text{H}^+]$  é conhecida

Uma membrana vidro especial, seletiva a íons  $\text{H}^+$ , separa duas soluções de íons  $\text{H}^+$ , uma interna de concentração constante

e outra externa, cuja concentração variável se quer determinar, o que faz ocorrer uma diferença de potencial. É bastante seletivo ao íon  $H^+$ , não sofrendo interferências de substâncias oxidantes ou redutoras. As interferências são, devidas a substâncias presentes no próprio vidro: Na, K, etc. A sequência de seletividade é:  $H^+ \gg \gg Na^+ > K^+, Rb^+, Cs^+, \gg Ca^{2+}$ .

Observe-se que para medir a diferença de potencial que ocorre na membrana é necessário se dispor de um eletrodo interno denominado eletrodo de referência interno, que no exemplo é um eletrodo Ag/AgCl. Além desse, é claro, também se necessita de um eletrodo de referência externo, para compor a célula galvânica.

A diferença de potencial devido à diferença de concentrações de íons  $H^+$  não é a única detectável. Como as superfícies interna e externa da membrana não são exatamente iguais, isso faz aparecer uma diferença de potencial adicional, denominada potencial assimétrico. A equação de Nernst para o eletrodo de vidro pode ser então escrita como:

$$E = K + 0,0592 a(H^+)$$

onde K é uma constante representa a soma dos potenciais assimétrico e do eletrodo de referência.

Muito embora o eletrodo de vidro seja altamente seletivo em relação ao íon  $H^+$ , a valores elevados de pH ele começa a responder ao sódio, dependendo da composição do vidro empregado para se construir a membrana. Vejamos como isso interfere na medida de pH de soluções alcalinas: para  $[H^+] = 10^{-12} \text{ mol L}^{-1}$  e  $[Na^+] = 0,1 \text{ mol L}^{-1}$ , como  $k_{H,Na} = 10^{-11}$  temos:

$$E = \text{constante} + 0,0592 \log (aH^+ + k_{H,Na} aNa^+)$$

$$E = \text{constante} + 0,0592 \log (10^{-12} + 10^{-11} \cdot 10^{-1})$$

$$E = \text{constante} + 0,0592 \log (2 \cdot 10^{-12})$$

Portanto em vez de pH 12 tem-se pH = 11,7, caracterizando o que se denomina *erro alcalino*.

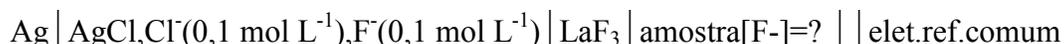
Na rotina da determinação do pH em soluções aquosas, se emprega geralmente um *eletrodo de vidro combinado*, onde eletrodo indicador e eletrodo de referência são montados em uma mesma estrutura. O esquema de célula é:



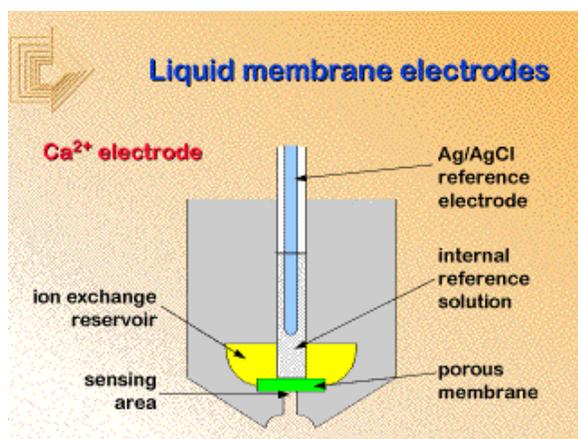
Neste exemplo, a célula tem-se um eletrodo de Ag,AgCl como eletrodo de referência interno

e um eletrodo de referência externo de calomelano. Para trabalhos de precisão recomenda-se a utilização de eletrodos de vidro simples, separados do eletrodo de referência externo.

**Eletrodos de membrana sólida:** o exemplo mais interessante é o eletrodo de fluoreto, contendo como membrana sólida um cristal de  $\text{LaF}_3$  dopado com  $\text{Eu(II)}$ , respondendo até concentração de  $2 \cdot 10^{-6} \text{ mol L}^{-1} \text{ F}^-$ . A qualidade do eletrodo depende da pureza do cristal: quanto mais puro melhor ele funciona. O esquema da célula é:



o eletrodo  $\text{Ag} \mid \text{AgCl}$  é, no caso, o eletrodo de referência interno.



**Eletrodos de membrana líquida:** o mais interessante é o eletrodo de cálcio, no qual o composto bis-(2 etil hexil) ácido fosfórico, é um composto orgânico trocador líquido de íons  $\text{Ca}^{2+}$ . O eletrodo de membrana líquida em geral funcionam pior que os de membrana sólida

*Eletrodo de membrana sensíveis à gases:* não se trata de um eletrodo de gás no sentido clássico,

são construídos com membranas permeáveis a gases como  $\text{CO}_2$  e  $\text{NH}_3$ , por exemplo.

**Eletrodo de enzima (biossensores):** são constituídos basicamente por uma eletrodo de vidro recoberto por uma matriz enzima. Podem ser empregados, por exemplo, na determinação de açúcares.

## 9.2.2 Características dos eletrodos indicadores de membrana

*Vantagens:* são de baixo custo, apresentam simplicidade operacional e instrumental e se constituem em boa opção para íons que são difíceis de se determinar por métodos alternativos.

*Desvantagens:* apresentam desvantagens como a instabilidade na leitura em um determinado sentido (drift)

*Resposta nernstiana:* a relação potencial concentração pode ser expressa pela fórmula geral:

$$E = K \pm S \log a_i$$

quando o valor de  $S$  se encontra próximo a  $0,0591 \text{ V}$ , ou seja entre  $0,055$  e  $0,063 \text{ V}$ , diz-se que a

resposta do eletrodo é nernstiana. Pelo envelhecimento a resposta do eletrodo pode ficar abaixo do limite inferior desse deste intervalo.

*Seletividade*: indicada pela intensidade com que o eletrodo responde à concentração de outros íons A, B, etc., que não o analito M:

$$E = E_{(M/M^{n+})}^{\circ} + \frac{0,0592}{n} \cdot \log [a(M^{n+}) + K_A \cdot a(A)^{ra} + K_B \cdot a(B)^{rb} \dots\dots]$$

o coeficiente de seletividade k expressa a ordem de grandeza da interferência, quanto maior seu valor menos seletivo é o eletrodo

*Tempo de resposta*: é o tempo que a leitura do sinal demora a se estabilizar; um eletrodo bom para uso deve ter um tempo de resposta de no máximo 10 minutos.

### **Medidas potenciométricas**

Na prática raramente se avalia a concentração de uma espécie de interesse em função da medida de potencial de eletrodo, com base na aplicação direta da equação de Nernst, pois seria necessário conhecer todas as propriedades do eletrodo, o qual deveria ter ainda um comportamento ideal.

Quando um eletrodo é mergulhado em uma solução, contendo a espécie i ao qual é sensível, desenvolve-se um potencial que, medido contra um eletrodo de referencia está relacionado à atividade dessa espécie:

$$E = K \pm S \log a_i$$

mas :  $a_i = \gamma c_i$ , onde  $\gamma$  é o coeficiente de atividade iônica, por sua vez altamente dependente da força iônica I da solução. Se a força iônica for mantida elevada e constante em relação à concentração  $c_i$  pode-se escrever que:

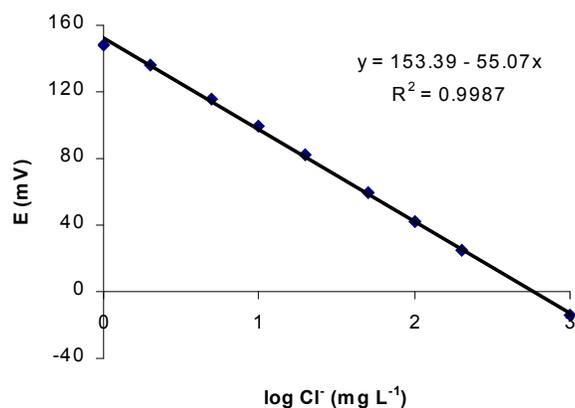
$$E = K \pm S \log c_i$$

Assim, na determinação do íon cloreto recomendação a adição de 2mL de solução 5 mol L<sup>-1</sup> de NaNO<sub>3</sub> a cada 100 mL de solução padrão e de amostra. Se as amostras tiverem forças iônicas superiores a 0,1 mol L<sup>-1</sup> as soluções padrão deverão ser ajustadas às condições das amostras.

Como o eletrodo responde ao nível da espécie na forma livre em solução, a determinação da concentração total pode exigir mais que o ajuste da força iônica. Na determinação do íon fluoreto pode-se recomendar a adição de solução contendo: tartarato de sódio para complexar íons ferro e alumínio, os quais formariam complexos com o íon fluoreto, além de HCl e TRIS (hidroxi metil

aminometano) para controle do pH. Caso a formação de complexos não fosse problema, o emprego de uma solução tampão de acetato pH 5,0-5,5 é suficiente.

Uma técnica comumente empregada é a curva de calibração, medindo-se o potencial para uma série de soluções padrão, devendo-se lembrar que, devido à natureza logarítmica de equação de Nernst, a concentração dos padrões deve variar por um fator de 10, por exemplo 1, 10, 100, 1000 mg L<sup>-1</sup>. Note-se a resposta nernstiana do eletrodo empregado, bem como a ampla faixa de trabalho obtida para a determinação potenciométrica de cloreto.



A sensibilidade não é constante e depende da magnitude da concentração considerada. É dada pela derivada  $dE/d[Cl^-]$  e para o exemplo em questão será  $23,91/[Cl^-]$ :

A técnica de adição de padrão é facilmente empregada em métodos potenciométricos pois alíquotas de solução padrão podem ser adicionadas consecutivamente ao mesmo volume inicial de solução de amostra, considerando-se o efeito de diluição, registrando o valor do potencial para cada adição. Em geral se admite o emprego de uma única adição de padrão.

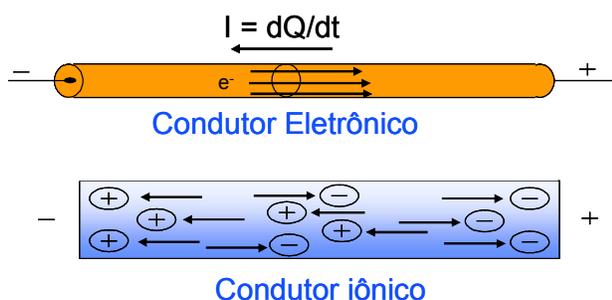
### Medida do pH

Na medida direta do pH de soluções aquosas nos equipamentos denominados **pH-metros** emprega-se uma escala em unidades de pH estabelecida segundo a equação de Nernst que é calibrada antes das medidas das amostras. Emprega-se para tanto como padrão uma solução tampão na qual a atividade de íons H<sup>+</sup> é conhecida, 10<sup>-7</sup> mol L<sup>-1</sup> por exemplo, e através de um controle converte-se a medida de potencial em milivolts para 7,00.

Este seria o caso de uma calibração de pH de ponto único, ainda encontrada em equipamentos antigos. Essa calibração só será válida se a resposta do eletrodo for perfeitamente *nernstiana*.

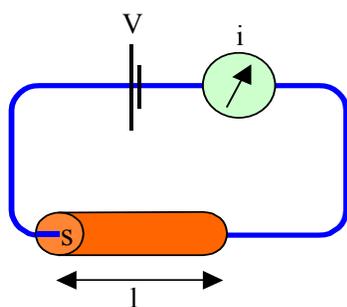
Nos equipamentos modernos, executa-se uma segunda calibração com uma outra solução tampão,  $10^{-4} \text{ mol L}^{-1} \text{ H}^+$  por exemplo, acertando-se na escala do aparelho o valor de pH 4,00. Essa calibração de dois pontos não requer que o eletrodo tenha resposta *nernstiana*, e garante que a relação entre pH e concentração de  $\text{H}^+$  é linear no intervalo de pH 4 a 7. Os padrões de calibração de pH devem ser escolhidos de modo que o intervalo de calibração inclua as amostras a serem analisadas.

### 9.3 Condutimetria



A condução da eletricidade pode-se se dar por meio de condutores eletrônicos e condutores iônicos. Nos condutores eletrônicos a diferença de potencial está relacionada ao movimento de elétrons, enquanto que nos condutores iônicos ela se relaciona ao movimento de íons.

Assim, ao contrário da água pura, soluções de eletrólitos são capazes de conduzir corrente elétrica pela migração de íons sob a influência de um campo elétrico. Uma solução de eletrólito pode conduzir eletricidade como um fio metálico, mas com uma diferença marcante: sofre um forte efeito da temperatura.



Considerando-se um condutor elétrico metálico de comprimento  $l$  e seção  $s$ , fazendo parte de um circuito elétrico e aplicando-se a lei de Ohm, tem-se a expressão:

$$V = R \cdot i$$

onde  $R$  é a resistência do condutor em ohms,  $i$  a intensidade da corrente em amperes que percorre o circuito e  $V$  a voltagem em volts aplicada ao condutor. A resistência pode ser expressa em função de suas dimensões,  $l$  e  $s$ , e de uma propriedade do material do condutor, a *resistência específica* ou *resistividade*, representada por  $\rho$ .

$$R = \rho \cdot \frac{l}{s}$$

Quanto maior o comprimento do condutor maior é a dificuldade para o caminhar dos elétrons; do mesmo modo, quanto maior a seção do condutor mais fácil é o caminhar dos elé-

trons.

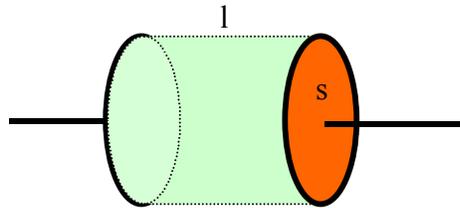
De modo análogo, podemos definir *condutância*,  $C$ , como o inverso da resistência para exprimir a capacidade de um condutor em conduzir corrente elétrica e também a *condutância específica* ou a *condutividade* do condutor,  $c$ , através das expressões:

$$C = \frac{1}{R} \quad c = \frac{1}{\rho}$$

de modo que:

$$c = C \cdot \frac{l}{s}$$

Soluções de eletrólitos obedecem a lei de Ohm para baixos valores de corrente. Neste caso, contudo, não existe um condutor sólido e mede-se a resistência à movimentação de elétrons promovida por um volume de solução, compreendido entre as placas paralelas de um eletrodo:



Essas placas são de platina platinizada, ou seja, recobertas por uma camada de platina negra, depositada eletroliticamente a partir de uma solução de cloreto de platina

O aparelho denominado *condutivímetro* mede a resistência do segmento de solução, cujo volume é definido pelo sensor, que é célula de medida desse aparelho. Esse equipamento consiste essencialmente de uma ponte de Wheatstone, do tipo corrente alternada, apropriada para medidas de condutividade.

Na verdade, não se está interessado nas características desse segmento de solução, mas sim na condutividade ou condutância específica,  $c$ , que é característica da solução que estamos avaliando. A resistência da solução fornece o valor de condutância,  $C$ , que será utilizado para calcular  $c$  pela expressão:

$$c = C \cdot \frac{l}{s}$$

O quociente  $l/s$  é um valor constante, característico do eletrodo ou célula de leitura emprega-

da e denominado *constante de célula*,  $\theta$ , portanto:

$$c = C \cdot \theta$$

A unidade de resistência é o ohm e a de condutância é o Siemens (S). Empregam-se comumente submúltiplos como mili-ohm, mili-Siemens (mS) e deci-Siemens (dS). Não são mais utilizados símbolos como  $\Omega$ , equivalente a ohm para resistência, ou mho, equivalente a Siemens, para condutividade elétrica. A unidade mais comum para constante de célula é o  $\text{cm}^{-1}$ , mas  $\text{m}^{-1}$  é preferível para atender ao SI. A condutividade elétrica pode ser expressa em unidades como:  $\mu\text{S cm}^{-1}$  ou  $\text{dS m}^{-1}$  (o mesmo que  $\text{mS cm}^{-1}$ ).

Exemplo: Uma solução de KCl  $0,01 \text{ mol L}^{-1}$  cuja condutividade é  $1,409 \text{ mS cm}^{-1}$  apresenta resistência de  $161,8 \text{ ohm}$ , quando medida em determinada célula. Quando essa mesma célula é preenchida com solução  $0,005 \text{ mol L}^{-1}$  NaOH, determina-se uma condutância de  $5,263 \text{ mS}$ . Qual a condutividade elétrica da solução de NaOH?

A condutância da solução de KCl é o inverso de sua resistência, igual a:

$$C = \frac{1}{R} = \frac{1}{116,8} = 0,00618\text{S} = 6,18\text{mS}$$

Sabendo-se a condutividade elétrica calcula-se a constante da célula utilizada:

$$c = C \cdot \theta$$

$$\theta = 1,409 \text{ mS cm}^{-1} / 6,18 \text{ mS} = 0,228 \text{ cm}^{-1}$$

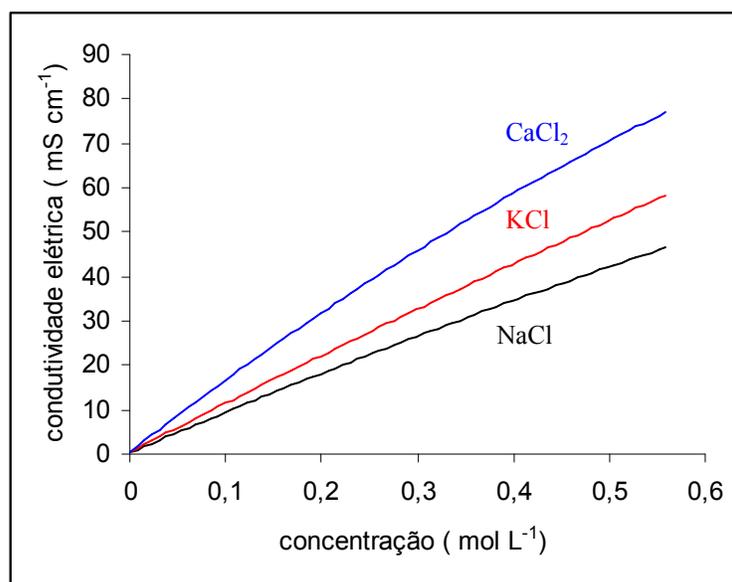
A condutividade elétrica da solução de NaOH:

$$c = C \cdot \theta = 0,228 \cdot 5,263 = 1,20 \text{ mS cm}^{-1}$$

Modelos mais antigos de condutímetro fornecem a leitura de resistência ou condutância da solução que preenche uma determinada célula, de constante  $\theta$  conhecida, cabendo ao operador calcular a condutividade elétrica da amostra. Em aparelhos modernos, a solução padrão de KCl é lida numa etapa inicial de calibração e em seguida, durante a leitura das amostras, se lê diretamente na escala do aparelho a condutividade elétrica das mesmas.

A condutividade elétrica é proporcional, embora em relação não linear, à concentração iônica de uma solução, pois quanto maior a quantidade de íons na solução, maior o número de unidades condutoras de eletricidade.

Na figura a seguir pode-se observar valores de condutividade elétrica de três soluções salinas, para a temperatura de 25°C. Soluções de NaCl e de KCl de mesma concentração molar têm o mesmo número de íons por unidade de volume, mas as condutividades elétricas são diferentes. Isso ocorre porque o íon potássio tem maior habilidade em conduzir a corrente elétrica do que o sódio, por ter maior mobilidade. Por outro lado, soluções de CaCl<sub>2</sub> tem, obrigatoriamente, maior condutividade elétrica do que soluções de NaCl e de KCl de igual concentração molar, pois apresenta maior número de íon por unidade de volume.



Normalmente, a constante de uma célula não é determinada ou aferida diretamente, a partir da área e da distância entre seus eletrodos. Para tanto, utiliza-se uma solução padrão de KCl da qual se conhece a condutividade elétrica: por exemplo, a solução 0,01 mol L<sup>-1</sup> KCl (7,456 g L<sup>-1</sup>) que apresenta condutividade de 1423 mS cm<sup>-1</sup> a 25°C.

A escolha do valor da constante de célula é feita em função da concentração iônica da solução a ser analisada. Soluções com baixa concentração de eletrólitos apresentarão baixos valores de condutância e para se obter valores mais confiáveis desse parâmetro, serão mais adequadas células com baixos valores de  $\theta$ , ou seja, placas de área relativamente grande, separadas por uma pequena distância. Por outro lado, soluções concentradas exigirão células com elevado valor de constante de célula. Como recomendação, podem ser citados os valores:

Conductividade (mS cm <sup>-1</sup> )	Constante de célula (mS cm <sup>-1</sup> )
0,01 a 2	0,01
0,1 a 20	0,10

1 a 200

1,0

É muito importante observar que a condutividade elétrica não é uma medida específica pois reflete a contribuição de todos os íons presentes, em função da concentração e das características de cada um deles. Apenas quando um dos íons em uma solução aquosa esta presente em concentração bem maior que os demais, a condutividade elétrica pode servir como forma de estimativa da concentração desse elemento na solução.

De forma aproximada, a medida de condutividade de uma solução, pode ser empregada para estimar:

$$\text{Concentração de cátions ou ânions totais (mg L}^{-1}\text{)} = 10 \times c$$

$$\text{Concentração salina (mg L}^{-1}\text{)} = 640 \times c$$

$$\text{Pressão osmótica (bar)} = 0,39 \times c$$

A medida da condutividade elétrica de soluções de eletrólitos sofre forte efeito da temperatura, aumentando em média 1,9% para cada grau centígrado de aumento de temperatura. Como cada íon, tem seu coeficiente de temperatura característico, o melhor é padronizar uma temperatura para se efetuar as medidas, usualmente 25°C.

Os condutímetro podem operar com um sensor de temperatura que promove correção automática para 25°C através de um fator de correção sobre a leitura obtida à temperatura ambiente.

Na determinação da condutividade elétrica do solo, como na determinação de pH, está-se referindo à uma condição particular, na qual se mede um extrato ou uma suspensão de solo preparada obedecendo a um determinado critério. Assim, pode-se ter a condutividade de extratos preparados em relação solo:água de 1:1 ou 1:5, ou outras proporções. Recomenda-se, contudo, que se trabalhe com o *extrato de saturação*, obtido a partir de uma pasta saturada preparada com uma relação solo:água definida pelas características físicas da amostra de solo sob análise. Como referência, se condutividade elétrica de extrato de saturação estiver entre 4 e 8 mS cm<sup>-1</sup> a produtividade de plantas sensíveis é restringida.

## 10 CROMATOGRAFIA GASOSA

### 10.1 Introdução à cromatografia

Cromatografia é o processo de separação que envolve a interação entre constituintes de uma amostra (solutos) e duas fases: a *fase móvel*, um gás ou um líquido e a *fase estacionária*, um sólido ou um líquido que não se move, que pode estar confinada em uma coluna. Um dos critérios empregados para se definir os diferentes tipos de cromatografia é baseado na natureza da fase móvel e da fase estacionária:

fase móvel	fase estacionária	tipo de cromatografia
Gás	sólida, adsorvente em coluna	cromatografia gás-sólido
gás	líquida	cromatografia gás-líquido
líquido	sólida, adsorvente	cromatografia líquido-sólido
líquido	sólido, resina de troca iônica	cromatografia de troca iônica
líquido	líquida	cromatografia líquido-líquido
líquida	líquido ligado a papel	cromatografia de papel
líquida	sólida, adsorvente em placa	cromatografia de camada delgada



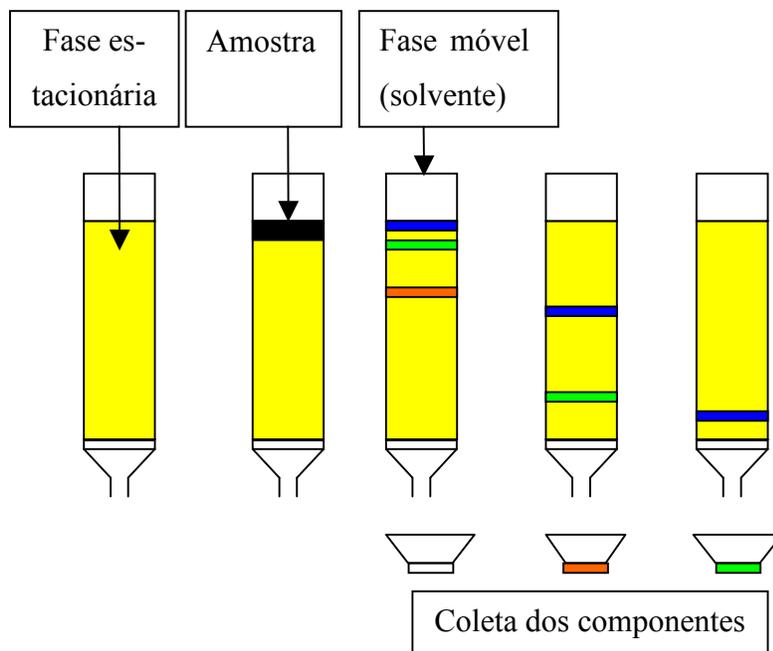
Mikhail Semenovich Tswett, nascido em Asti, Itália, a 14 de Maio de 1872,

A cromatografia, formada pela junção das palavras *escrita* e *cor*, foi originalmente descrita por Tswett em 1906, que separou pigmentos de plantas usando tubo preenchido com  $\text{CaCO}_3$ .

No processo de separação, os componentes da amostra são carregados pela fase móvel que passa através de um leito de fase estacionária. Esses componentes têm seu deslocamento retardado pela fase estacionária, através de interações como: adsorção, solubilidade diferencial, carga elétrica,

entre outros.

Dos tipos de separação possíveis, o processo denominado eluição é o que interessa ao abordar a cromatografia gás-líquido, no qual ocorre distribuição do soluto entre duas fases, estabelecendo-se um equilíbrio de partição; a separação ocorre com base na retenção relativa, e, em princípio, quanto mais longa a coluna maior o grau de separação.

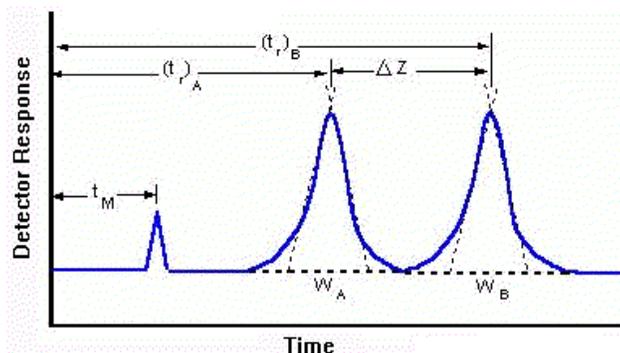


Na eluição ocorrem diversos tipos de competição entre as fases pelo soluto. Na cromatografia gás-líquido, por exemplo, o processo se baseia no confronto entre a pressão do vapor do soluto (tendência de se volatilizar e passar para a fase móvel) contra a solubilidade do soluto na fase estacionária.

Na cromatografia gasosa, uma mistura de componentes, solutos, é vaporizada sobre uma superfície relativamente grande de sorvente ativo, a fase estacionária, contida em coluna. Um fluxo de gás, a fase móvel, arrasta os vapores dos solutos ao longo da coluna, os quais interagem diferencialmente com a fase estacionária, fazendo com que a velocidade de chegada ao final da coluna seja variável, o que, em suma, promove a separação.

No interior da coluna o deslocamento dos componentes da amostra ocorre na forma de uma banda na qual, em geral com boa aproximação, a concentração se distribui de forma gaussiana.

Quando o componente sai da coluna, o perfil de concentração é registrado na forma de um pico. O objetivo fundamental no processo é se obter um pico para cada componente de interesse presente na amostra, com máxima altura e mínima largura, num período de tempo conveniente em termos de método analítico. Os picos cromatográficos são caracterizados pelo tempo de retenção, altura e área, conforme ilustrado.



$t_M$  é o tempo de retenção de um material que não interage com a fase estacionária contida na coluna, ou seja, é o tempo que a fase móvel demora a sair da coluna desde a injeção.

$t_{r_A}$  e  $t_{r_B}$  são os tempos de retenção dos componentes A e B da amostra.

Esses tempos devem ser corrigidos em relação a  $t_M$ : o tempo de retenção corrigido é dado por  $t_{r_A} - t_M$  e  $t_{r_B} - t_M$ .

Para a separação ter êxito é necessário que os picos produzidos estejam bem separados ou resolvidos. A resolução,  $R$ , é dada pela expressão:

$$R = \frac{\Delta Z}{\frac{(w_A + w_B)}{2}} = \frac{w_A + w_B}{2(t_{r_B} - t_{r_A})}$$

Para se obter uma separação  $R$  deve ser teoricamente igual a 1, embora na prática se exijam valores um pouco superiores, em torno de 1,5.

### Modelo dos pratos teóricos

Este modelo supõe que a coluna cromatográfica seja constituída por um numero de segmentos chamados pratos teóricos e foi estabelecido por Martin & Synge em 1941. Admite-se que ocorrem equilíbrios individuais da amostra entre a fase móvel e a fase estacionária em cada prato teórico. Dessa concepção surgiram os termos prato teórico e altura de prato teórico que tomados da teoria da destilação, ainda persistem na terminologia da cromatografia. Em outras palavras, o prato teórico é o

comprimento de segmento de coluna necessário para que ocorra equilíbrio do soluto entre as fases cromatográficas.

O processo de separação na cromatografia pode ser comparado à destilação e à extração líquido-líquido e assim uma coluna cromatográfica pode também ser comparada a uma série de funis de separação. O problema principal é que na extração líquido-líquido atinge-se o equilíbrio em cada etapa de extração ou em cada funil, o que não ocorre na cromatografia. Ainda, a extração líquido-líquido consiste de uma série de etapas individuais e descontínuas em contraste com o caráter contínuo da cromatografia. É importante ressaltar que na coluna não existem pratos; eles são um artifício que ajudam a entender o processo que ocorre na coluna. Portanto, considerar uma coluna cromatografia como um conjunto de funis de separação pode ser interessante do ponto de vista didático, mas não corresponde à realidade.

Para avaliar separação entre os componentes de um sistema é necessário comparar o centro do perfil de concentração ou banda, com a extensão do alargamento desse perfil, que obrigatoriamente ocorre. A teoria da cromatografia se ocupa basicamente em considerar os fatores que contribuem para esse alargamento.

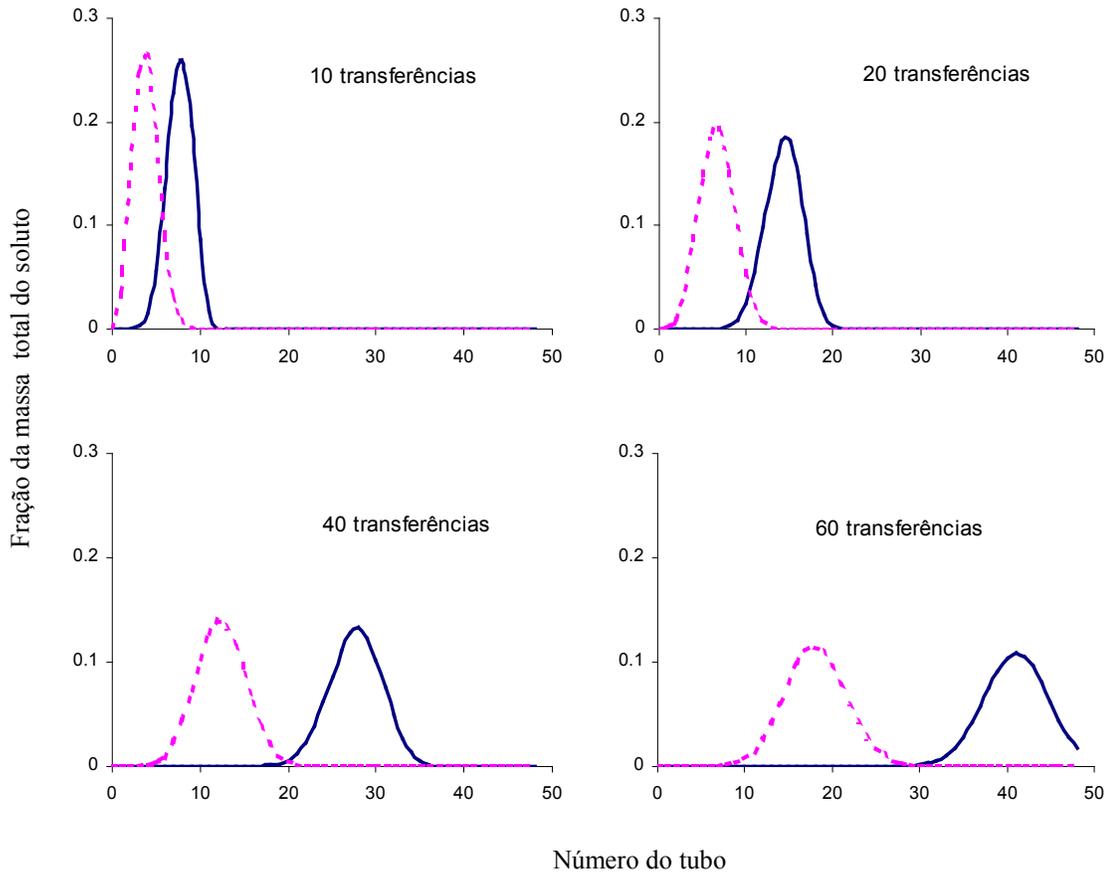
Na teoria dos pratos o equilíbrio do soluto entre fase móvel e fase estacionária é definido através de um coeficiente de partição  $K$  dado pela fórmula:

$$K = \frac{\text{concentração do soluto na fase estacionária}}{\text{concentração do soluto na fase móvel}}$$

Quanto maior o valor de  $K$ , mais tempo o soluto demora a percorrer a coluna. Essa característica pode ser expressa como pelos parâmetros volume e tempo de retenção, definidos respectivamente como volume de fase móvel e o tempo necessário para eluir o soluto da coluna. Pode-se demonstrar a equação citada a seguir, através da qual se observa que a velocidade  $v$  do soluto na coluna é diminuída (ou a retenção do soluto aumentada), com o aumento do volume de fase estacionária,  $V_s$ , e a diminuição do volume da fase móvel,  $V_m$ . Por outro lado, a retenção será diminuída quanto maior for a velocidade  $u$  da fase móvel:

$$v = u \left[ \frac{1}{1 + \frac{K \cdot V_s}{V_m}} \right]$$

Volumes de fase móvel e fase estacionária,  $V_m$  e  $V_s$ , serão conseqüências do volume e do diâmetro da coluna. A velocidade da fase móvel é ajustada pelo controle de seu fluxo na coluna. Finalmente, cada soluto terá seu valor de coeficiente de partição  $K$ , e, quanto maior seu valor, mais demorada será a saída do soluto da coluna.



A eficiência de separação na extração em contra corrente está relacionada ao número de etapas de equilíbrio, ou seja, o número de tubos ou funis de separação empregados. Na cromatografia a eficiência de separação está igualmente relacionada ao número de etapas de equilíbrio, ou em outras palavras, ao número de pratos de teóricos,  $N$ , ou a altura dos pratos teóricos,  $H$ , que uma coluna de comprimento  $L$  teria. Assim:

$$H = L/N$$

Conforme mencionado anteriormente, quando uma das fases está sempre em movimento, como no caso a fase móvel gasosa, o equilíbrio entre ela e a fase estacionária não pode ser rigorosamente estabelecido, como admitido no modelo dos pratos teóricos.

O número de pratos teóricos de uma coluna é calculado com base no pico cromatográfico ob-

tido após a eluição:

$$N = \frac{5,55 \cdot (t_R)^2}{(w_{1/2})^2}$$

onde  $w_{1/2}$  é a largura do pico cromatográfico a meia altura.

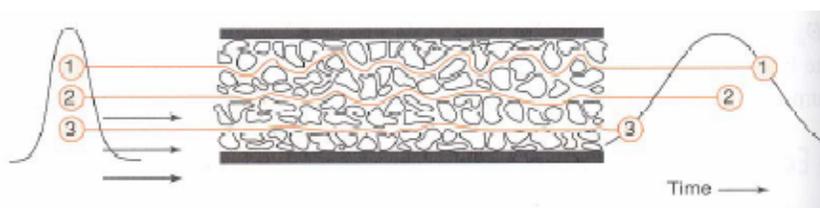
### Teoria da velocidade cromatográfica

Um tratamento mais realista do processo cromatográfico leva em consideração o tempo para o soluto se equilibrar entre as fases móvel e estacionária, em contraste com a teoria dos pratos que admite que esse equilíbrio é instantâneo.

As características do pico cromatográfico são afetadas pela velocidade de eluição  $u$  e também outros fatores como os diferentes percursos disponíveis para o soluto percorrer entre as partículas da fase estacionária. Considerando-se ainda, a contribuição dos diferentes fatores de alargamento da banda A, B e C, a altura de prato teórico  $H$  é obtida através da equação de Van Deemter:

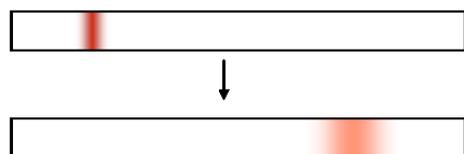
$$H = A + B / u + C u$$

*A* – Efeitos dos percursos múltiplos



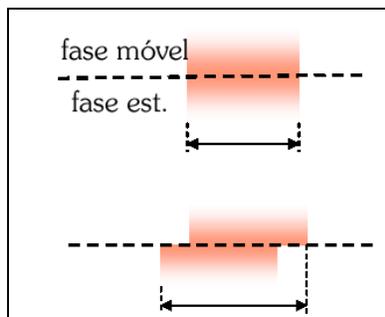
A fase móvel se move através de uma coluna empacotada com fase estacionária. As moléculas do soluto tomaram diferentes percursos ao acaso através dela. Isto causa alargamento de pico do soluto porque diferentes caminhos apresentam diferentes comprimentos.

*B* – Difusão Longitudinal

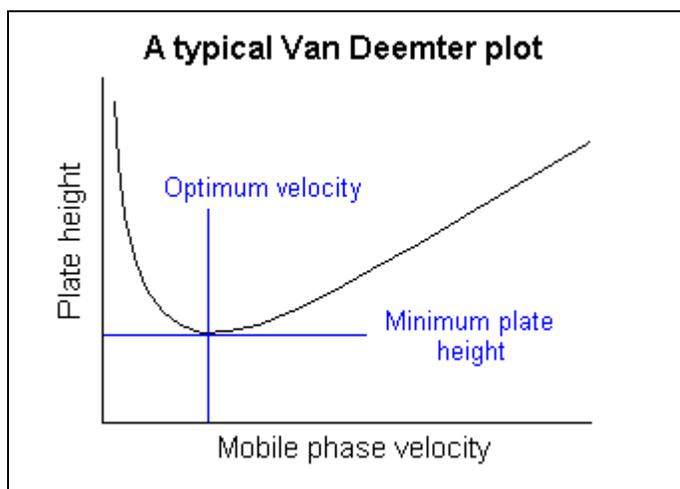


A concentração do soluto é menor nos limites da banda do que no centro. O soluto se difunde do centro para as margens e isso causa alargamento do pico. Se a velocidade da fase móvel é elevada o soluto passa menos tempo na coluna e isso diminui os efeitos da difusão longitudinal.

### C – Resistência à transferência de massa



O soluto demora um certo tempo para se equilibrar entre as fases móvel e estacionária. Se a velocidade da fase móvel é elevada e o soluto apresenta afinidade forte com a fase estacionária o soluto na fase móvel se moverá mais a frente do que o soluto na fase estacionária e isso causará alargamento do pico. Quanto maior a velocidade da fase móvel pior o alargamento se torna



Um gráfico que relaciona a altura de prato e a velocidade de fase móvel permite determinar a velocidade ótima que corresponde à mínima altura de prato e resulta em maior eficiência na separação.

O alargamento da banda cromatográfica pode ser analisado considerando as mudanças de concentração, à medida que o soluto se move através da coluna, por meio de um *balanço de massa*, ou a nível molecu-

lar pelo chamado modelo do *percurso casual* ou *percursos múltiplos*. O modelo do percurso casual estabelece que o alargamento do pico cromatográfico, que, considerado como expressão da lei de Gauss, será quantificado pelo desvio padrão,  $\sigma$ , e calculado pela expressão:

$$\sigma^2 = H \cdot L$$

que evidencia que o alargamento da banda cromatográfica é proporcional à raiz quadrada da distância percorrida pelo soluto na coluna, ou seja, do tempo de retenção.

Por esse motivo, o emprego de coluna mais longa não significa obrigatoriamente melhor eficiência de separação, uma vez que a resolução depende do compromisso entre a distância entre os picos, e a largura dos mesmos,  $w$ , dada por  $4\sigma$  pela distribuição de Gauss. Daí vem uma expressão para se calcular o número de pratos teóricos,  $N$ , de uma coluna:

A *teoria da velocidade cromatográfica*, que se opõe a dos *pratos teóricos*, leva em conta os conceitos de difusão do soluto e os caminhos de percurso da fase móvel pela coluna e permite prever o efeito sobre a separação de fatores como: tamanho e porosidade das partículas do suporte, es-

pessura da fase estacionária, velocidade de fluxo da fase móvel, entre outros. A equação de Van Deemter permite prever que a altura do prato teórico pode ser minimizada:

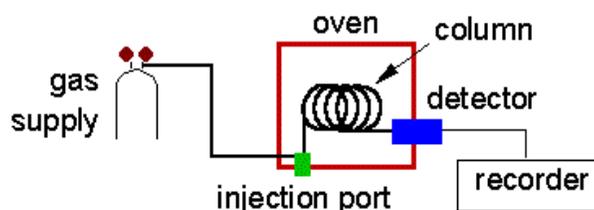
- com empacotamento com partículas de tamanho regular, de pequeno diâmetro, e sem permitir espaço morto na coluna.
- a velocidade da fase móvel deve ser mantida tão elevada quanto possível para diminuir o tempo de difusão do soluto, mas, por outro lado, ela deveria ser tão baixa quanto possível para permitir que o soluto atinja o equilíbrio entre as fases móvel e estacionária. Assim existe uma velocidade de fluxo ótima que permite obter a altura mínima de prato teórico
- empregar um filme fino de fase estacionária pouco viscosa sobre suporte sólido.

## 10.2 Cromatografia gasosa

A cromatografia gasosa é uma técnica analítica importante, pois é: eficiente; seletiva; largamente usada; rápida, simples, barata; de fácil quantificação; requer pequena quantidade de amostra e é uma técnica não destrutiva.

Dentre as desvantagens pode ser comentado que as amostras têm que ser voláteis ou volatilizáveis; a técnica não é apropriada para amostras termicamente lábeis; a base teórica não é adequada e requer ações de tentativa e erro.

Do ponto de vista de aplicações de interesse agrônomico, uma classe importante da cromatografia gasosa é a cromatografia gás-líquido (CGL), na qual uma fase estacionária, um líquido não volátil, se mantém como uma camada fina sobre um suporte sólido, idealmente inerte com relação ao processo de separação.

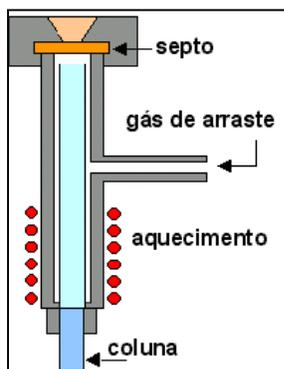


Representação esquemática de um cromatógrafo a gás

Um cromatógrafo gasoso apresenta as seguintes partes principais:

### 10.2.1 Controle de fluxo

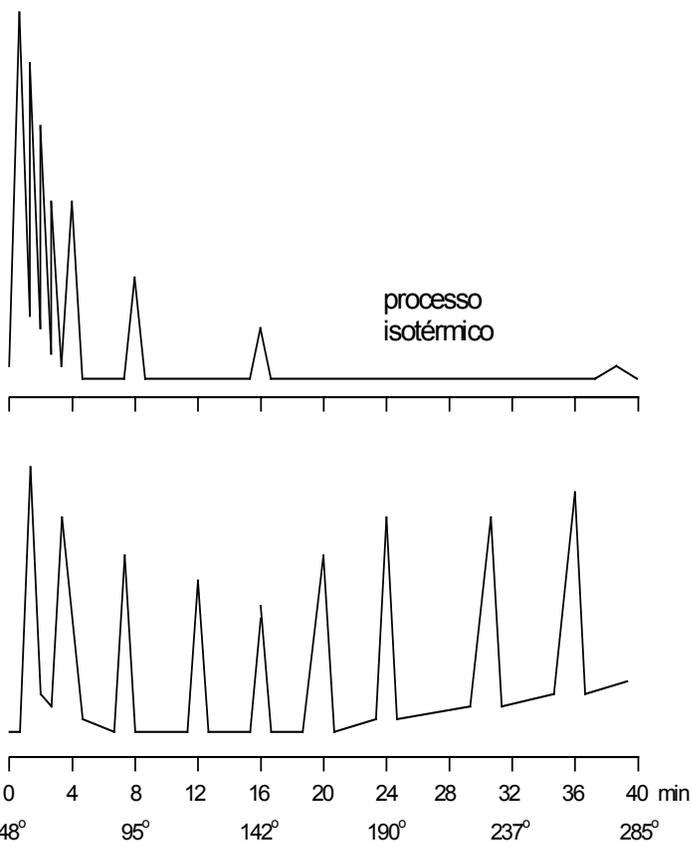
A vazão da fase móvel deve ser controlada cuidadosamente o que pode ser feito de modo relativamente fácil. Dos sistemas disponíveis o mais simples é o medidor de bolha, que é colocado após a coluna. A medição do fluxo pode ser efetuada antes da coluna por rotâmetro, um tubo calibrado no interior do qual flutua uma bolinha.



### 10.2.2 Introdução de amostras

As amostras devem ser materiais voláteis ou volatilizáveis. A introdução de amostra é uma etapa crítica da cromatografia gasosa pois a amostra deve entrar rapidamente na coluna, como um “plug” de vapor, não podendo ocorrer decomposição ou fracionamento da amostra.

Uma amostra líquida é introduzida por uma micro-seringa que perfura um septo de borracha, que dá acesso a uma câmara aquecida, em geral a uma temperatura 50°C superior a da coluna, onde a amostra é volatilizada instantaneamente. Volumes injetados de amostras líquidas variam na faixa de 0,1 a 2 µL



A injeção pode ser efetuada por meio de válvulas, que permitem uma precisão de cerca de 0,1% contra 1% das seringas. Em colunas capilares o volume da amostra pode ser excessivo e pode usar a *split injection* quando apenas uma fração precisa da amostra, entre 0,1 a 10% do volume injetado, efetivamente chega a entrar na coluna.

### 10.2.3 Forno

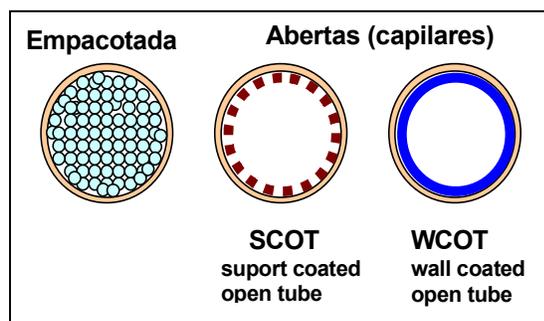
As colunas são instaladas no interior de um forno para controle da temperatura na separação.

A separação pode ser isotérmica, mas como, em geral, a solubilidade de um gás em um líquido diminui com o aumento de temperatura sob variação programada de temperatura diminui-se o tempo de retenção e

o alargamento dos picos mais tardios, aumenta-se a altura dos picos, favorecendo sua detecção.

Os fatores que devem ser considerados são as variações na solubilidade, volatilidade e estabilidade dos solutos as alterações no fluxo do gás de arraste e na estabilidade da fase estacionária. Obviamente a programação de temperatura deve se localizar entre os limites de temperatura máxima e mínima da fase estacionária. Um programa simples é definido por períodos inicial e final de temperatura constante entre os quais se efetua uma rampa de aquecimento.

#### 10.2.4 Colunas



O processo de cromatografia gás-líquido ocorre no interior de colunas, as quais são basicamente de dois tipos:

*empacotadas*: tubos de vidro, aço, cobre ou alumínio de comprimento entre 0,5 a 5 m e diâmetro interno entre 2 a 4 mm, preenchidas com filme de 1 a

10  $\mu\text{m}$  de estacionária sobre suporte (CGL) ou com sólido adsorvente (CGS). O fluxo de gás de arraste varia de 10 a 60  $\text{mL min}^{-1}$  e pressão de 10 a 40 psig na cabeça da coluna. São simples, baratas de baixa resolução (4000 pratos teóricos) e alta capacidade ( $10\mu\text{g pico}^{-1}$ )

*capilares*: tubos de sílica, vidro ou aço inox, com 5 a 100 m de comprimento e 0,1 a 0,7 mm de diâmetro interno, nos quais um filme de 0,1 a 8  $\mu\text{m}$  de fase estacionária se adere à parede (WCOT) ou sobre um suporte aderido à parede (SCOT). O fluxo de gás de arraste varia de 0,5 a 15  $\text{mL min}^{-1}$  e pressão de 3 a 40 psig na cabeça da coluna. São de alta tecnologia, caras, alta resolução (250.000 pratos teóricos) e baixa capacidade ( $0,1\mu\text{g pico}^{-1}$ ).

Picos de mesma área aparecem mais altos e mais estreitos em colunas capilares o que determina maior sensibilidade e melhor relação sinal ruído.

#### 10.2.5 Suportes

Os materiais para empacotamento das colunas na cromatografia gás-sólido, incluindo carvão ativado, são empregados para separação cromatográfica de substâncias em misturas com base nos processos de adsorção-desorção, que ocorrem na interface entre a fase móvel gasosa (gás de arraste) e a superfície sólida sorvente. A retenção e a seletividade são largamente dependentes da área superficial do sorvente.

Por outro lado, na cromatografia gás-líquido a separação é baseada na distribuição de substâncias entre duas fases. Neste caso, o material de preenchimento da coluna atua como mero suporte da fase líquida a qual determina as propriedades de seletividade da coluna cromatográfica. Assim o suporte deve ser tão inerte quanto possível e não deve apresentar atividade de superfície muito embora em alguns casos essa atividade do suporte possa até ter um efeito benéfico para a separação.

Vários tipos de terra diatomácea calcinada (kieselguhr) são empregados na cromatografia gasosa sob os nomes de Chromosorb® A, G, P e W. os quais apresentam as seguintes propriedades:

Parâmetro	Chromosorb®			
	<b>A</b>	<b>G</b>	<b>P</b>	<b>W</b>
densidade aparente [g/ml]	0,40-0,48	0,47-0,58	0,38-0,47	0,18-0,24
superfície específica [m <sup>2</sup> /g]	2,7	0,5	4,0	1,0
Carga máxima	25 %	5 %	30 %	15 %

Chromosorb tipo G, muito inerte, mecanicamente estável, e tipo W (white) são apropriadas para separações analíticas. Os tipos A e P (pink) são destinados para separações em escala preparativa.

Os suportes sofrem tratamento para maximizar a inércia como a lavagem com ácidos e a silanização. Nesse sentido são empregadas as designações: AW, lavagem com ácido; AW-DMCS, lavagem com ácido e tratamento com dimetildiclorosilano; HMDS, lavagem com ácido para remoção de ferro; HP, tratamento com hexametildisilazano que confere "high performance" com relação a inativação da superfície e NAW, somente calcinação sem lavagem com ácido e portanto com reação alcalina.

Em resumo os suportes em cromatografia gás-líquido não devem interagir com a amostra, apresentar grande superfície, partículas regulares para empacotamento uniforme, mecanicamente resistente, fáceis de recobrir e de manter a fase estacionária. Além das terras diatomáceas são usados: tijolos refratários, celite, polímeros porosos, pérolas de vidro, etc.

### 10.2.6 Fase móvel

A fase móvel, gás de arraste, deve ser altamente pura, quimicamente inerte, facilmente disponível e de baixo custo e adequada para o detector empregado. As principais são: nitrogênio, usado no detector de ionização de chama (DIC); hidrogênio, que é inflamável, usado no detector de condu-

tividade térmica (DCT); hélio, de alto custo usado em DIC e DCT e a mistura argônio-5% e metano CH<sub>4</sub>, para o detector de captura de elétrons (DCE).

### 10.2.7 Fase estacionária

O principal papel da fase estacionária é garantir a seletividade na separação. Assim devem dissolver diferencialmente os componentes da amostra, mas não reagir irreversivelmente com eles. Deve proporcionar boa separação em tempo razoável, não pode degradar e nem introduzir impurezas na coluna.

As vantagens do uso de fases estacionárias líquidas são o grande número de opções existentes; o alto grau de pureza em que são encontradas; possibilidade de se usar quantidades variáveis e a simplicidade do preparo. A principal desvantagem é a volatilidade, que pode ser contornada com fases que se ligam quimicamente a um suporte sólido. Frequentemente na prática, a fase líquida é escolhida devido a sua baixa pressão de vapor, de modo que líquidos de alta temperatura de ebulição e polímeros são escolhidos. O limite mínimo de temperatura é o ponto de solidificação do líquido ou uma temperatura na qual a viscosidade aumenta tanto que altera as características do solvente. As fases estacionárias podem ser:

- *não polares*: hidrocarbonetos ramificados (Esqualano) ou com grupos aromáticos (Apie-son L), metilsiliconas (DC200), polímeros de carborano-silicone (Dexil 300 GC);
- polaridade baixa a moderada;
- *polaridade média*: polímero de etileno-glicol (Carbowax 20M);
- *polaridade elevada*: EGA 90-220, DEGS 20-200, etc

A escolha da fase estacionária baseia-se na sua seletividade, a qual pode ser avaliada pelo seu grau de retenção de solutos em relação a uma fase não polar. Como regra geral, a escolha inicial deve recair sobre uma fase não polar e caso esta não funcione, passa-se para fase pouco polar. Alguns conselhos gerais podem ser sugeridos: conversar com quem já tentou uma separação similar; perguntar levando dados preliminares obtidos em alguma coluna; com amostras líquidas começar com fase apolar e pouco polar; consultar a literatura e...rezar

Em relação à concentração da fase estacionária, valores abaixo de 10% em geral permitem maior eficiência, menor sangramento, menor tempo de determinação. Concentrações de 15 a 20% permitem analisar um maior número de amostras e maior facilidade em reproduzir a coluna. O recobrimento do suporte pela fase estacionária é feito pela dissolução desta em um solvente orgânico

como acetona, clorofórmio, metanol, diclorometano, que é misturado ao suporte, promovendo-se posteriormente a volatilização do excesso de solvente.

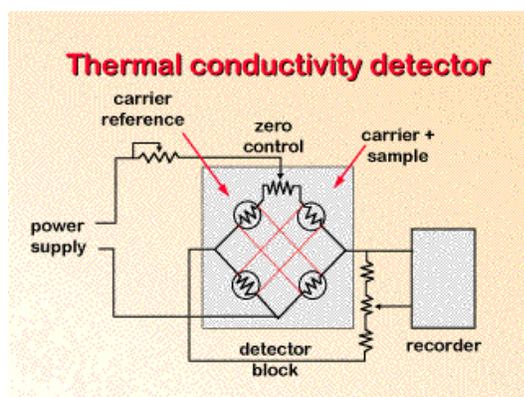
### 10.2.8 Detectores

O detector é o elemento do cromatógrafo que responde à presença do componente no momento em que ele sai da coluna. Podem responder à concentração de uma substância, como o detector de condutividade térmica (DCT), ou à unidade de massa que passa por ele na unidade de tempo, como o detector de ionização de chama (DIC). As características desejáveis de um detector são:

- *sensibilidade*: relação entre resposta ou sinal e a quantidade (ou concentração) do componente determinado.
- *estabilidade*: é a capacidade de produzir uma linha de base estável e de baixa intensidade. É difícil se obter adequada estabilidade em detectores muito sensíveis (DIC e DCE)
- *linearidade*: intervalo no qual para cada incremento mínimo de concentração corresponde um incremento proporcional no sinal.
- *faixa de temperatura*: o detector deve tolerar temperaturas altas o suficiente para impedir condensação em seu interior.
- Além disso, devem ter pequeno volume interno, pequeno tempo de resposta, serem fáceis de usar, a prova de erros e robusto.

Os detectores mais importantes são:

#### Detector de condutividade térmica (DCT):

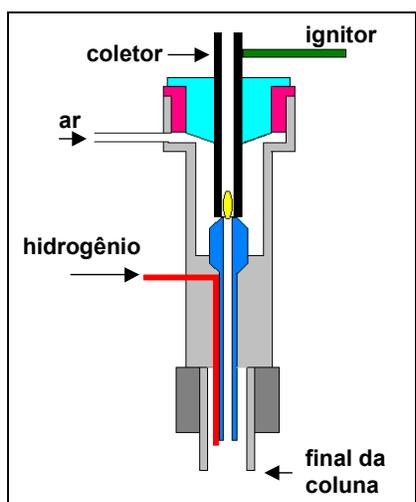


É um detector de uso geral, simples robusto, não destrutivo, barato, mas de moderada sensibilidade. Um gás de arraste, como hidrogênio ou hélio, que sendo ótimos condutores de calor são os ideais governa a transmissão de calor entre um filamento aquecido e um bloco metálico. A condutividade térmica do gás hidrogênio é mais favorável, mas o hélio pode ser escolhido em função de ser menos reativo.

Quando um componente está presente na fase móvel, a condutividade térmica é diminuída e

o componente detectado. Para o benzeno, por exemplo, a condutividade térmica é 9,9% da do hélio. Variações na transmissão de calor são detectadas por termistores (sensores cuja resistência elétrica varia com a temperatura) que constituem os braços de uma *ponte de Wheatstone*.

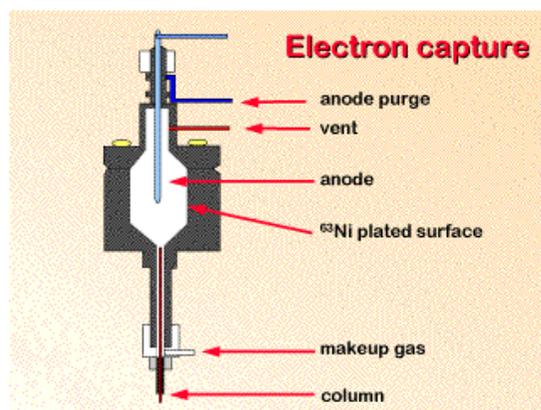
O sinal do DCT é dependente da concentração do soluto, o que condiciona uma relação inversa entre sinal e fluxo do gás de arraste. Como a resposta é em função da condutividade térmica de cada substância, deve-se ter um padrão para cada soluto de interesse.



### Detector de ionização de chama (DIC)

Este detector funciona com dois gases, hidrogênio e oxigênio, para produzir uma chama, a qual vem ter acesso o fluxo de gás de arraste, Nitrogênio ou Hélio, por exemplo. As reações que ocorrem na chama idealmente não produzem elétrons e assim não ocorre corrente elétrica entre os eletrodos existentes. Uma alta voltagem é aplicada aos eletrodos e quando os componentes da amostra saem da coluna, hidrocarbonetos por exemplo, sua queima produz íons e elétrons que são coletados pelos eletrodos gerando uma corrente elétrica, cuja intensidade é proporcional à quantidade de espécies carregadas formadas, por sua vez proporcional à quantidade de substância queimada. Como a corrente gerada é de baixa intensidade, entre  $10^{-12}$  a  $10^{-9}$  A, ela tem que ser amplificada para ser detectada.

Como a corrente gerada é de baixa intensidade, entre  $10^{-12}$  a  $10^{-9}$  A, ela tem que ser amplificada para ser detectada.



O detector de ionização de chama apresenta alta sensibilidade, mas requer dois gases a mais que o detector de condutividade térmica, necessita amplificador e trabalha com alta voltagem, sendo por isso mais complexo.

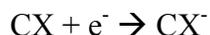
### Detector de captura de elétrons (DCE)

O efluente da coluna passa por câmara que contém dois eletrodos. Nela, moléculas do gás de arraste, em geral 90% argônio + 10% metano, sob a ação de uma fonte ionizante radioativa (inicialmente o trítio e atualmente  $\text{Ni}^{63}$ ) produzem íons e elétrons livres:



Como os eletrodos são polarizados as espécies carregadas se dirigem até eles, se descarregam, originando uma corrente constante entre os mesmos.

Quando moléculas com forte afinidade por elétrons presentes na amostra entram no detector elas capturam elétrons, diminuindo o número deles que seriam coletados pelo eletrodo, diminuindo portanto a intensidade da corrente elétrica de referência:



Se ocorrer uma tensão constante entre os eletrodos, os elétrons seriam acelerados e isso diminuiria a frequência de choque com as espécies do analito. Por isso são aplicados pulsos de tensão de duração e frequência adequadas, durante os quais os elétrons não são acelerados, o que aumenta a probabilidade de interação e o sinal analítico também. O metano permite trabalhar com pulsos extremamente rápidos ( $\approx 1\text{ms}$ ), criando um meio que favorece a desaceleração dos elétrons.

A sensibilidade do DCE é extrema para compostos com alta afinidade eletrônica, o que o torna especialmente adequado para a detecção de compostos halogenados, como pesticidas. O sinal do detector varia com a temperatura, para mais ou para menos, conforme a substância, o que requer controle de  $\pm 0,3^\circ\text{C}$ .

Exige-se precaução por se trabalhar com um radioisótopo, perfeita limpeza de tubulações, septos e colunas e ter um cromatógrafo dedicado apenas ao DCE.

### 10.2.9 Quantificação

A cromatografia, separa componentes, indica a presença de uma substância mas não a identifica. Mesmo assim, a análise qualitativa pode ser efetuada empregando-se, por exemplo, os valores de tempo de retenção, que são característicos das substâncias. A análise quantitativa abrange vários métodos, aplicáveis quando se tem idealmente um ou mais picos bem resolvidos, ou seja, nos quais se possa definir o começo, o fim e o máximo.

Em colunas capilares pode-se relacionar a altura de pico com a concentração do analito, com a vantagem de ser um processo simples e rápido, mas que fornece menor precisão que a medida de área. A medida de área de pico é mais empregada, sendo determinada por métodos manuais de corte e pesagem, triangulação e por meios automáticos, como integração mecânica ou digital e por computador. Uma vez obtida a medida de pico, altura ou área, deve-se estabelecer sua relação com a

concentração do elemento de interesse.

*Método do padrão externo:* ao aplicar este método deve-se dispor de soluções padrões contendo todos os componentes da amostra a serem determinados e em concentrações similares a destes últimos. Soluções padrão e amostra deverão ser tão similares quanto possível. O cálculo baseia-se na expressão abaixo, assumindo que a resposta seja linear na faixa de trabalho e que o mesmo volume foi injetado tanto para amostras como para os padrões.

$$[A]_{\text{amostra}} = \frac{\text{ÁREA}_{\text{amostra}}}{\text{ÁREA}_{\text{padrão}}} \cdot [A]_{\text{padrão}}$$

A relação entre concentração de padrão e área de pico pode ser obtida por meio de uma curva de calibração.

*Método do padrão interno:* Uma substância conhecida é adicionada sob concentração fixa tanto às soluções de padrões como de amostras. Como o padrão interno está presente em quantidade constante, ele pode contornar variações de volume injetado, variações na coluna e no detector. O padrão interno deve ser estável e mensurável sob as condições da análise sem interferir nela nem eluir juntamente com os componentes da amostra.

Prepara-se solução contendo  $11,3 \text{ mg L}^{-1}$  de padrão X e  $12 \text{ mg L}^{-1}$  de um padrão interno I. Injetando-se volumes de  $2 \mu\text{L}$  desse padrão e de solução de amostra mais padrão interno obtém-se:

Componente	Área de pico	
	Solução padrão	Solução de amostra
X	635	990
I	1009	1071

$$[X] = \frac{1009}{1071} \cdot \frac{990}{635} \cdot 11,3 = 16,60 \text{ mg L}^{-1}$$

Note-se que neste exemplo o sinal do padrão interno I variou em 6,1% denunciando alguma alteração das condições do sistema cromatográfico. Esta variação é computada no cálculo da concentração de X como um fator de correção.

Existem variações do procedimento de calibração com padrão interno, inclusive empregando curva de calibração.

São apresentados a seguir, resultados de análise de aguardente por cromatografia gasosa com detector de ionização de chama, sob as condições de temperatura: detector, 250°C, injetor 200°C, coluna: 95°C. Fluxo de gases em mL min<sup>-1</sup>: Nitrogênio (gás de arraste), 40; Hidrogênio, 40 e ar sintético, 400.

pico	compo- nente	----- solução padrão -----				----- amostra 1 -----			----- amostra 2 -----		
		tempo (min)	área	mg/ 100mL	fator A/C	tempo (min)	área	mg/ 100mL	tempo (min)	área	mg/ 100mL
1	aldeído	1.83	4082	7.72	0.001891	1.85	5572	10.54	1.86	3391	7.43
2	acetona	2.75	2064	1.97	0.000954	2.71	522	0.5	2.78	661	0.63
	?	3.14	781	-	-	3.18	734	-	3.19	-	-
3	éster	3.45	3412	8.96	0.002626	3.49	5622	14.76	3.51	5089	13.36
4	metanol	3.79	3340	3.93	0.001177	3.80	5893	6.93	3.81	4217	4.96
	ETANOL	4.26	8.56 10 <sup>6</sup>	-	-	4.29	1.05 10 <sup>7</sup>	-	-	-	-
5	propanol	7.15	64591	19.80	0.000307	6.88	5779	1.77	6.84	1485	0.46
	propanol	-	-	-	0.000307	7.28	43945	13.49	7.27	31285	9.59
	?	7.54	28931	-	-	7.68	15486	-	7.69	15462	-
6	isobutanol	9.69	20915	12.03	0.000575	9.86	38550	22.17	9.87	29857	17.17
7	n-butanol	13.12	2898	2.01	0.000694	13.33	636	0.44	13.32	943	0.65
8	isoamílico	18.99	61670	40.10	0.000650	19.26	111680	72.61	19.19	106730	69.40
9	n-amílico	23.92	6081	4.01	0.000659	-	-	-	-	-	-

## 11 SISTEMAS DE ANÁLISES POR INJEÇÃO EM FLUXO – FIA

### 11.1 Introdução

A técnica de análise por injeção em fluxo, conhecida pela sigla FIA, do inglês *Flow Injection Analysis*, foi desenvolvida em 1974 por J. Ruzicka e E.H. Hansen na Universidade Técnica da Dinamarca, Lungby, como uma forma especial de análises em fluxo. FIA difere de outra técnica de análise em fluxo que se denomina *Segmented Flow Analysis* (SFA), na qual bolhas de ar separam os segmentos individuais de solução de amostra, resultando em intensa mistura entre amostra e reagentes.

No sistema FIA, um volume conhecido e reproduzível de solução de amostra é injetado em um fluxo contínuo de uma solução transportadora. Em pontos definidos do sistema soluções reagentes são introduzidas e se misturam, possibilitando reações químicas com a amostra à medida em esta vai sendo transportada até o detector. A diferença fundamental com o procedimento manual é que, nem a mistura, nem a reação entre amostra e reagentes, tem que ser completa. Entretanto, para ser obter um sinal analítico reproduzível, o tempo de residência e a dispersão da zona de amostra têm que ser precisamente controlados. O conceito do FIA de baseia em três princípios:

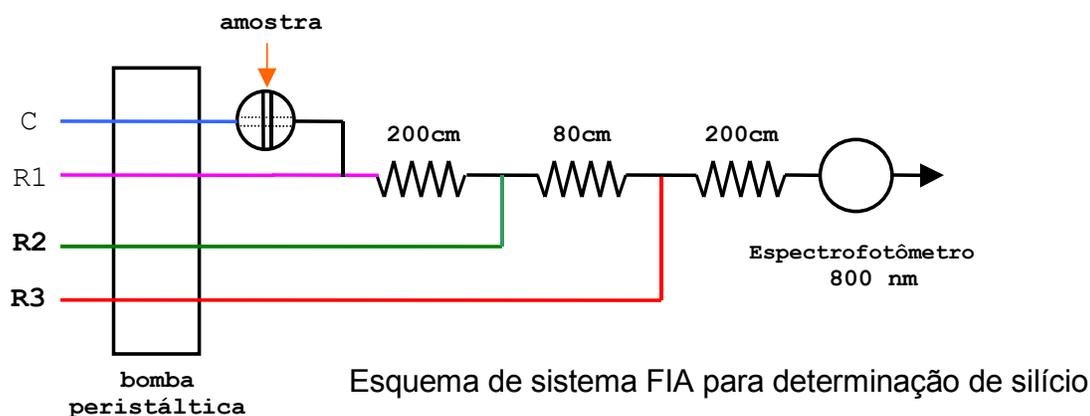
- reprodutibilidade na injeção de uma solução de amostra em um fluxo contínuo (não segmentado);
- reprodutibilidade no tempo de residência da zona de amostra no sistema e nos processos que afetam a amostra;
- controle da dispersão da amostra, e, conseqüentemente, de sua mistura com a solução reagente entre o injetor e o detector.

Mantendo-se constantes parâmetros como velocidade de fluxo, comprimento e diâmetro de tubos, obtém-se reprodutibilidade em um processo dinâmico, onde os parâmetros da reação devem ser mantidos constantes. O sistema FIA difere dos sistemas estacionários, pois nestes os processos físicos e químicos devem atingir o equilíbrio.

Os métodos espectrofotométricos na região UV-visível constituem a maior parte dos métodos analíticos aplicados em sistemas FIA. Entretanto, a potenciometria, condutimetria e espectrometria de absorção e emissão atômica são também usadas.

Pode-se considerar que, em princípio, o sistema FIA reproduz as etapas de uma marcha analítica de um método manual. Ele apresenta vantagens de maior precisão nos resultados, menor consumo de reagentes, maior frequência analítica, menor suscetibilidade a erros humanos e a contaminações, menor geração de resíduos, possibilidade de gerenciamento de dados por computador e finalmente, a possibilidade de emprego de procedimentos inviáveis ou muito difíceis de serem conduzidos manualmente.

Como exemplo, para determinação de silício por um método espectrofotométrico, uma alíquota de amostra é transferida para um balão de 100mL e adiciona-se solução de molibdato de amônio em ácido sulfúrico e espera-se 10 minutos para a formação do complexo entre silício e molibdato de cor amarela. Se o íon fosfato estiver presente, o complexo entre fósforo e molibdato também irá se formar, resultando em interferência do mesmo. Em seqüência, adiciona-se solução de ácido oxálico que destrói o complexo formado com o íon fosfato, eliminando sua interferência. Finalmente, adiciona-se solução de ácido ascórbico para reduzir o complexo amarelo de silício para um complexo de cor azul, o que aumenta a sensibilidade do método. Espera-se um tempo suficiente para que a reação se complete, ajusta-se o volume a 100 ml com água destilada e mede-se a absorbância da solução azul obtida a 800 nm. Observe-se como essas etapas da marcha analítica estão reproduzidas em um sistema FIA..



Um volume de solução de amostra é injetado na solução transportadora (C), no caso é água destilada. A solução de molibdato de amônio em ácido sulfúrico (R1) é admitida no fluxo e entra em contato com a amostra na primeira bobina de reação com 200 cm de per-

curso. Em seguida são admitidas no fluxo as soluções de ácido oxálico (R2) e ácido ascórbico (R3) e após cada ponto de confluência é colocada uma bobina de reação. O complexo azul formado passa então pelo espectrofotômetro onde a absorbância é detectada como um sinal transiente na forma de pico.

A reação de formação do complexo azul não se completa, mas mesmo assim um sinal de absorbância reprodutível e proporcional à concentração de silício é obtido. A determinação quantitativa é possível, pois amostras e soluções padrões de calibração reagem da mesma forma no sistema.

## 11.2 Componentes do sistema FIA

### 11.2.1 Sistema propulsor das soluções

A solução carregadora, que recebe a amostra, e as soluções reagentes incorporadas posteriormente, são continuamente bombeadas em direção ao detector através de uma tubulação plástica. Nesse percurso, o controle exato do tempo entre injeção da amostra e detecção do sinal analítico é imprescindível. Bombas peristálticas com vários canais são as mais usadas em sistemas FIA para essa finalidade, permitindo bombear diferentes soluções ao mesmo tempo.



Soluções reagentes nunca entram em contato com partes da bomba, pois são propelidas pela compressão de tubos plásticos flexíveis que as transportam. A vazão de cada solução é estabelecida em função da velocidade de rotação da bomba e do diâmetro dos tubos usados e um código de cores dos segmentos que os prendem à bomba facilita a identifica-

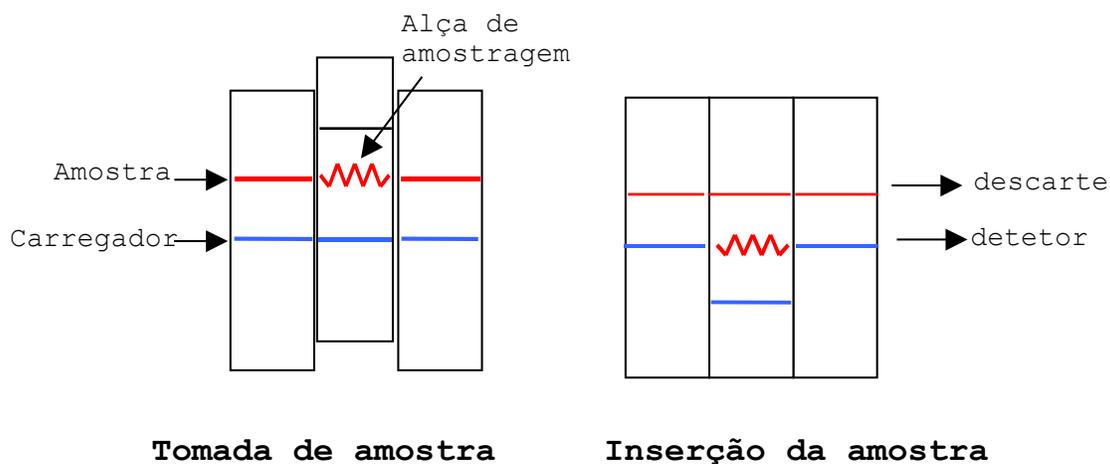
ção da vazão, conforme se exemplifica na tabela a seguir, para de tubos de Tygon.

Código de cores	Diâm. Int. (mm)	----- Vazão (mL min <sup>-1</sup> ) -----			
		50 rpm	75 rpm	100 rpm	120 rpm
	0,19	0,12	0,17	0,23	0,29
	0,38	0,40	0,60	0,79	0,96
	1,14	2,80	4,33	5,67	7,00
	2,06	7,20	10,60	14,0	16,80

### 11.2.2 Injetor da amostra

Um volume de amostra deve ser inserido na solução carregadora ou no fluxo de reagente e isso pode ser efetuado através de um injetor manual. Equipamentos comerciais para análise em fluxo empregam válvulas automaticamente controladas.

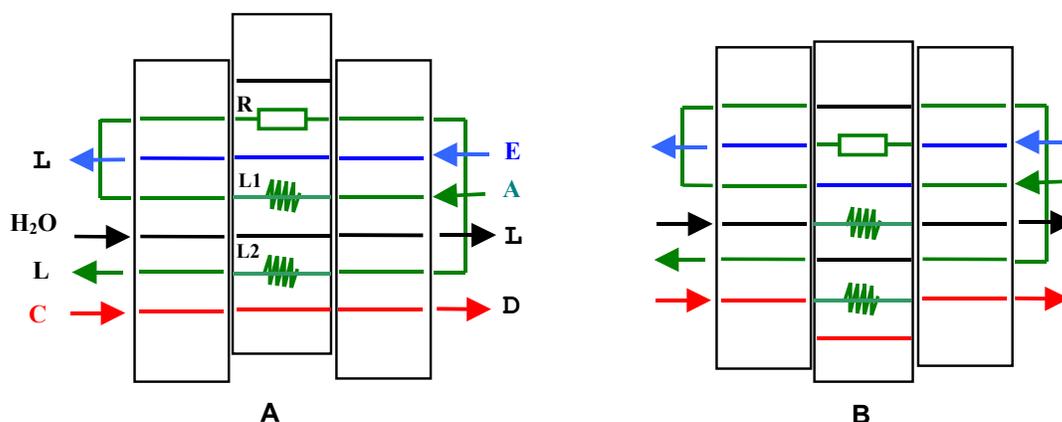
Esquema de um injetor manual simples



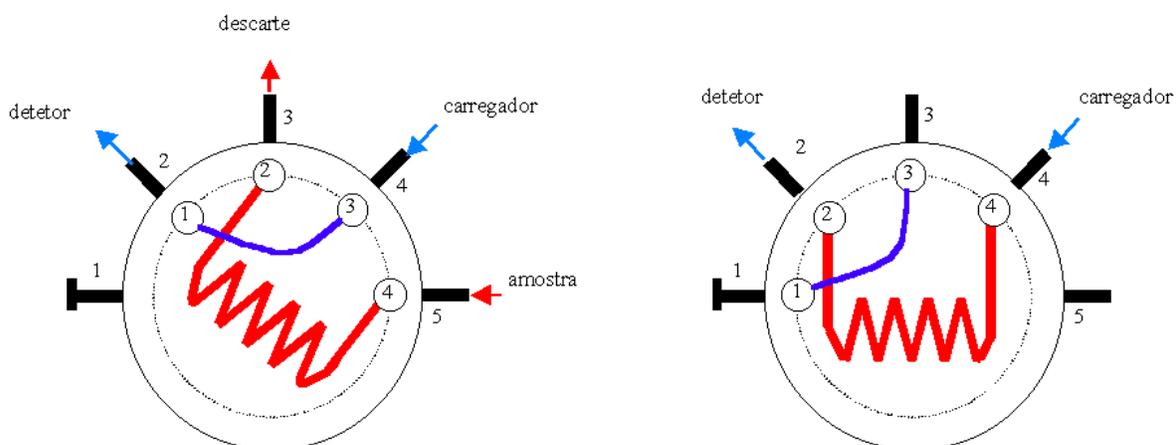
O volume de solução de amostra é definido por uma alça de amostragem, um segmento de tubo plástico que fornece volumes variáveis, na maioria das vezes entre 30 a ou 200  $\mu\text{L}$ .

Durante a injeção da amostra outros processos podem ocorrer simultaneamente no

injetor. Na figura a seguir, ilustra-se um processo de remoção de interferentes por resina de troca iônica em um injetor manual.



A amostra A é aspirada, passa pela resina R, onde os interferentes são retidos antes do preenchimento da alça de amostragem L<sub>2</sub>, que define o volume de amostra a ser injetado no sistema. Enquanto isso, uma solução eluente E passa pelo injetor e vai a direção ao descarte L e a solução carregadora C flui através da tubulação e passa pelo detector D. Quando o injetor é movimentado para a posição de injeção, a amostra é inserida no fluxo de carregador, se mistura aos reagentes e vai para o detector, enquanto o eluente E passa pela resina recuperando-a, deixando-a apta para reter os interferentes da próxima amostra.



válvula de injeção automática, mostrando as posições de carregamento (A) da amostra e injeção (B)

### 11.2.3 Tubulação

Entre o injetor e o detector existe no sistema FIA um conjunto de tubos que transportam e acessórios que reúnem ou separam os fluxos de soluções carregadoras e reagentes. Nesse percurso são intercaladas bobinas de reação e de mistura de soluções, com comprimentos variáveis, em geral entre 30 e 200 cm. Esse conjunto por vezes é designado pelo termo em inglês *manifold*.

Os tubos usados são em geral de polietileno ou teflon com diâmetro interno entre 0,3 e 1,0 mm, comumente 0,8 mm. Conforme será visto mais adiante, existem vários esquemas de tubulação nos quais podem ser inseridas colunas de redução ou de troca de íons, células para difusão gasosa e unidades de extração por solvente, entre outros.

#### 11.2.4 Detector



Qualquer sensor que possa ser inserido em uma linha de fluxo pode ser empregado em sistemas FIA. Os detectores óticos são os mais comuns, efetuando medidas de absorção molecular na faixa UV-visível e absorção atômica, mas também são comuns os sensores para medidas eletroquímicas.

Qualquer espectrofotômetro que possa ser acomodar células de fluxo contínuo pode ser empregado. O volume dessas células varia entre 8 a 40  $\mu\text{L}$  e o percurso ótico é, em geral, de 10mm.

#### 11.2.5 Avaliação do sinal

O sinal obtido em sistemas FIA é do tipo transiente, registrado na forma de pico. A avaliação do sinal é feita comumente pela medida altura, mas pode ser feita pela área de pico, ambos em relação a uma linha de base, referente à concentração zero de amostra, ou seja, ao sinal das soluções reagentes. Medidas de área de pico são mais recomendadas para sinais de baixa magnitude.

A altura do pico registrado graficamente em papel pode ser medida manualmente com régua, mas em sistemas comerciais a medida é eletrônica e pode incluir correção de desvios da linha de base.

### 11.3 Parâmetros característicos de sistemas FIA

### 11.3.1 Dispersão, tempo de residência, tempo de lavagem e frequência analítica

Desde quando introduzida no fluxo de solução carregadora e à medida que se mistura às soluções reagentes, a zona de amostra se alarga durante o percurso até o detector. O termo usado em sistemas FIA para se avaliar esse alargamento é dispersão, a qual traduz ao mesmo tempo o quanto amostra se dilui e o quanto se mistura com as soluções reagentes. Numericamente a dispersão é quantificada através de um coeficiente de dispersão,  $D$ , definido pela expressão:

$$D = \frac{C_o}{C_{\max}} = \frac{H_o}{H_{\max}}$$

onde  $C_o$  é a concentração do constituinte na amostra e  $C_{\max}$  é a concentração do constituinte no elemento de volume correspondente ao máximo do pico.

Na determinação experimental do coeficiente de dispersão se utiliza uma solução de um pigmento no lugar da amostra e água no lugar das soluções carregadora e de reagentes. Injetando-se um volume definido de solução de pigmento registra-se o pico de absorvância e determina-se a sua altura máxima  $H_{\max}$  a qual é então relacionada à absorvância  $H_o$  da solução de amostra não diluída. Coeficientes de dispersão entre 3 a 10 são classificados como médios e indicam que o centro da zona de amostra estará efetivamente misturado aos reagentes como requerido na maioria das reações de formação de compostos coloridos. Coeficientes menores que 3 são indicativos de dispersão limitada e usados em detectores seletivos, como eletrodo íon seletivo ou em absorção atômica e aqueles acima de 10 são utilizados para diluições.

Outro parâmetro importante é o tempo de residência,  $T_r$ , que corresponde ao tempo entre a injeção da amostra e o máximo do sinal analítico, ou seja, o ápice do pico. O tempo de lavagem,  $T_l$ , corresponde ao tempo entre o máximo do sinal até o ponto de retomada da linha de base e ele define a frequência analítica, ou seja, o número de amostras analisadas por hora. Se  $T_l$  é medido em segundos a frequência analítica será  $3600/T_l$ . Com base na frequência analítica, vazões e concentrações das soluções reagentes calcula-se o consumo de reagentes por amostra analisada.

Em sistemas FIA a dispersão, ou a forma do pico, pode ser afetada pelos fatores es-

pecificados a seguir, os quais devem otimizados para definir sistemas FIA para diferentes determinações analíticas.

### 11.3.2 Velocidade de fluxo

A velocidade de fluxo é determinada pelo diâmetro interno do tubo e pela velocidade de rotação da bomba peristáltica. À medida que a velocidade diminui aumenta-se o tempo de residência da amostra no sistema e a reação se aproxima do equilíbrio; a sensibilidade aumenta, pois picos com maiores alturas são obtidos. Contudo, como o rendimento analítico vai decrescendo, deve-se buscar um compromisso entre esses parâmetros visando obter uma determinação rápida e sensível.

### 11.3.3 Volume de amostra injetado

Em uma experiência cujos resultados são mostrados na tabela a seguir, injetaram-se diferentes volumes de solução de um pigmento colorido.

Volume ( $\mu\text{L}$ )	H max (absorbância)	Dispersão	Tempo de residência (s)
50	0,131	2,14	5,7
100	0,169	1,65	6,5
200	0,207	1,35	7,8
400	0,257	1,09	12,6

Maiores volumes de amostra promovem menor dispersão: a altura de pico é maior e a sensibilidade aumenta. Entretanto, a largura do pico também aumenta e igualmente o tempo de residência, resultando em menor rendimento analítico.

### 11.3.4 Volume da célula

Para células de fluxo contínuo de 8 e 18  $\mu\text{L}$ , as mais empregadas em espectrofotometria não existem diferenças apreciáveis de sensibilidade e tempo de residência. Para volumes muito maiores, como 160  $\mu\text{L}$ , o pico diminui a altura e se alarga, ou seja, a sensibilidade diminui e o tempo de residência aumenta.

### 11.3.5 Comprimento de bobina de reação

Injetando-se como amostra um volume de solução colorida em um fluxo de água como solução carregadora num sistema FIA simples, observa-se que quanto maior o com-

primento L de uma bobina de reação colocada no sistema, menor será a altura e maior a largura do pico de absorvância obtido, resultando em menor sensibilidade, e maior o tempo de residência, causando queda do rendimento analítico.

Quando se tem uma reação química formando um composto colorido, contudo, o comprimento da bobina define o tempo de reação de formação do mesmo. Assim sendo a escolha do comprimento L é uma solução de compromisso.

#### **11.3.6 Número de espiras da bobina de reação.**

Um mesmo comprimento L de tubo pode resultar em bobinas com números variáveis de espiras. O maior número de espiras aumenta a dispersão da zona de amostra, o que no caso de uma reação química resulta em melhor mistura entre amostra e reagentes, conseqüentemente em maior sensibilidade.

#### **11.3.7 Diâmetro interno dos tubos**

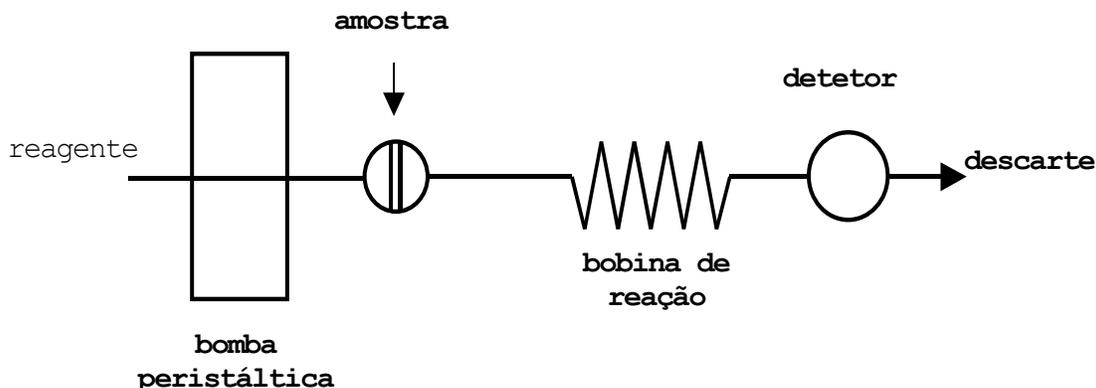
Maior dispersão é obtida para tubos condutores de solução com maiores diâmetros internos, entre 0,5 a 1,0 mm. Para se obter uma dispersão limitada são usados tubos de 0,3 ou 0,4 mm de diâmetro interno,

#### **11.3.8 Pontos de turbulência**

Pontos de turbulência na tubulação dos sistemas FIA causam dispersão da zona de amostra e alargamento do pico. Esses pontos de turbulência ocorrem nas mudanças bruscas entre um tubo e outro, como nos injetores, conectores e cubetas; dobras nos tubos e na conexão entre tubos de diferentes diâmetros.

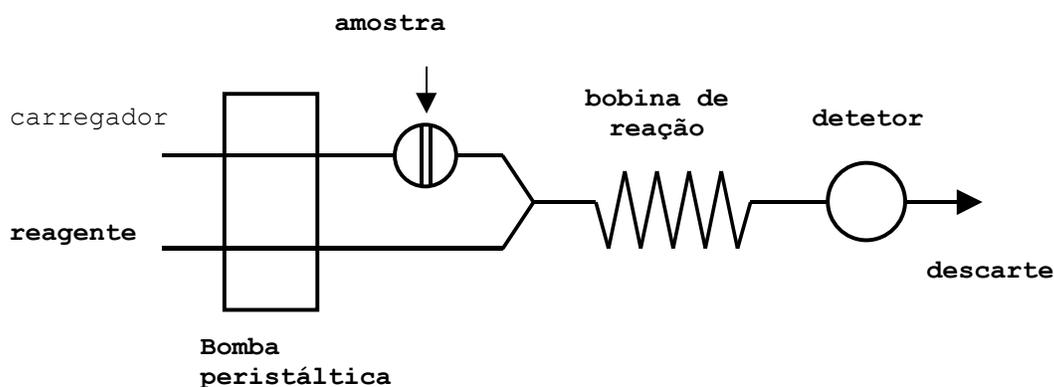
### **11.4 Variações em sistemas em FIA**

#### **11.4.1 Sistema FIA não ramificado**



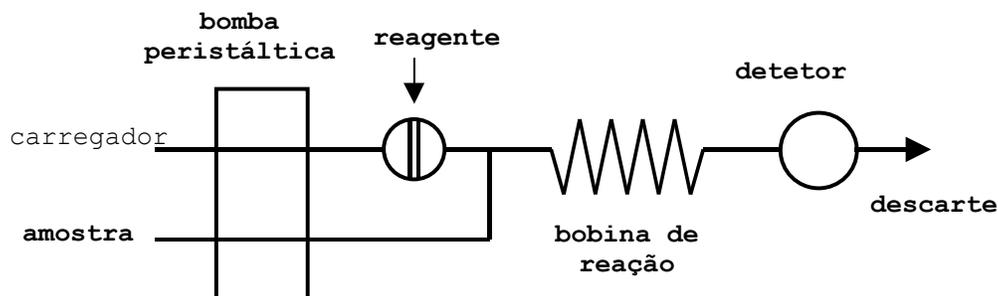
A solução de amostra é injetada diretamente no fluxo de solução reagente. Este sistema não permite uma mistura eficiente entre soluções de amostra e de reagente, necessária para que uma reação ocorra e seria mais adequado para medida de propriedades básicas da solução de amostra como pH e condutividade elétrica.

#### 11.4.2 Sistema FIA ramificado



Nos sistemas FIA convencionais, a solução de amostra é injetada diretamente no fluxo de carregador, ou então continuamente bombeada, seguindo-se mistura com uma ou mais soluções de reagentes e finalmente a detecção do produto da reação. A concentração do analito é diminuída devido à dispersão da zona de amostra durante o percurso para atingir o detector e, conseqüentemente, a sensibilidade é reduzida. O inevitável alargamento do pico é compensado pela mistura entre as soluções de reagentes e amostra.

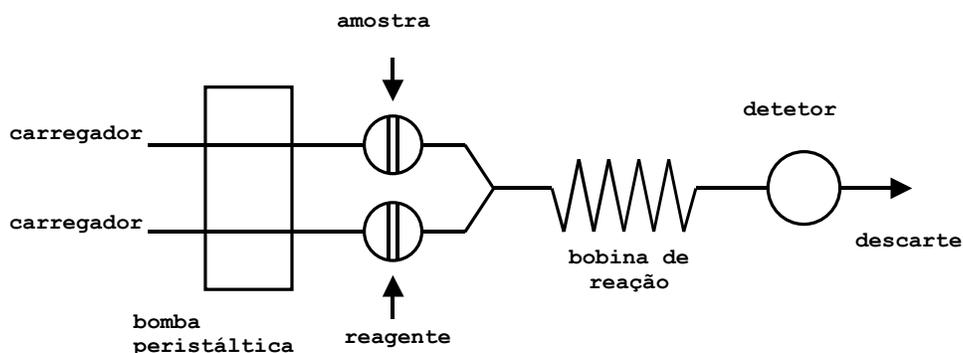
#### 11.4.3 Sistema FIA reverso



A amostra é usada como fluxo carregador e o reagente é introduzido no sistema por uma válvula de injeção; a zona de reagente é diluída pelo fluxo de amostra. A amostra entra progressivamente em contato com o reagente à medida que caminha para o detector.

Quando a cinética da reação é lenta, o aumento do percurso até o detector, ou seja, do tempo de residência, não causa diluição da amostra. O volume de reagente injetado deve garantir a quantidade necessária para a reação; o reagente é usado em pequenas quantidades mas a solução de amostra deve estar disponível em grande quantidade.

#### 11.4.4 Mistura de zonas



Soluções de amostra e de reagentes são introduzidas simultaneamente, ou a diferentes intervalos de tempo, em dois fluxos de soluções carregadoras. O fluxo dos dois carregadores deve ser precisamente sincronizado de maneira que reagente e amostra se encontrem no ponto exato para que a reação entre eles ocorra. Esta técnica é apropriada quando se pretende efetuar determinações simultâneas de diferentes componentes em diferentes amostras, evitando a perda de tempo de troca de soluções. As quantidades usadas de reagentes e amostra são bastante reduzidas.

#### 11.4.5 Sistemas FIA em duas fases

Os sistemas FIA anteriormente descritos sempre envolveram apenas soluções aquosas, mas é possível se trabalhar com sistemas em duas fases. A extração por solventes orgânicos pode ser conduzida em sistemas FIA, com a vantagem de se trabalhar em sistema fechado e utilizar menor quantidade de solvente. Neste caso, uma unidade de extração é posicionada antes do detector para separação da fase orgânica, a qual pode ser de diferentes tipos como separação por gravidade, separador T ou por membranas.

A técnica de difusão de gás pode ser descrita brevemente através de um exemplo bastante interessante, a determinação de nitrogênio amoniacal. Uma solução de amostra contendo íon  $\text{NH}_4^+$  é injetada em uma solução carregadora, a qual se mescla a solução de NaOH. A elevação de pH promove a formação de  $\text{NH}_3$  gasoso, que se difunde através de uma membrana de PTFE para uma solução aquosa de indicadores, promovendo a formação de um composto colorido.

A difusão gasosa pode ser ainda empregada na determinação de  $\text{CO}_2$  e de sulfito, entre outros. A diálise é outro tipo de método de separação que também pode ser empregado em sistemas FIA..

#### 11.5 Reatores

No esquema dos sistemas FIA podem ser usados reagentes sólidos para finalidades específicas, contidos em colunas tais como: cádmio metálico para redução de íon  $\text{NO}_3^-$  a  $\text{NO}_2^-$ , resinas de troca iônica que podem reter interferentes ou concentrar o analito, enzimas imobilizadas, entre outros.

#### 11.6 Determinação espectrofotométrica de algumas espécies em sistemas FIA .

A maior parte das determinações em sistemas FIA faz uso de métodos espectrofotométricos na região visível do espectro eletromagnético.

*Amônio:* O íon  $\text{NH}_4^+$  presente na amostra reage com NaOH e a amônia produzida se difunde através de uma membrana de PTFE para um fluxo que contém um indicador ácido base causando uma mudança de cor.

*Boro:* O íon borato forma um complexo amarelo com azometina H em tampão de fosfato pH 7.

**Cloreto:** O íon  $\text{Cl}^-$  reage com  $\text{Hg}(\text{SCN})_2$  formando  $\text{HgCl}_2$  ou  $\text{HgCl}_4^{2-}$ , enquanto o íon  $\text{SCN}^-$  liberado reage com íons  $\text{Fe}^{3+}$  formando um complexo vermelho.

**Ferro:** Redução do íon  $\text{Fe}^{3+}$  para  $\text{Fe}^{2+}$  seguindo-se reação deste com 1,10 - fenantrolina resultando num complexo laranja-vermelho.

**Fosfato:** O íon  $\text{PO}_4^{3-}$  reage com molibdato de amônio em meio contendo ácido sulfúrico para formar um complexo, fosfo-molibdato, que é posteriormente reduzido com cloreto estânico ou ácido ascórbico, resultando em complexo de coloração azul.

**Nitrato e Nitrito:** O íon  $\text{NO}_3^-$  é reduzido a  $\text{NO}_2^-$  reagindo com Cd metálico contido em uma coluna. O íon nitrito forma um composto diazônio com sulfanilamida e um pigmento vermelho-violeta é produzido pela reação com dicloreto de N-(1-naftil) etilenodiamina.

**Sulfato:** Leitura de absorvância resultante da turvação decorrente da formação de  $\text{BaSO}_4$

*Sulfito:* A reação do íon  $\text{SO}_3^{2-}$  com  $\text{H}_2\text{SO}_4$  dá origem a  $\text{SO}_2$ , o qual se difunde através de uma membrana de PTFE para entrar em contato com um fluxo de solução de p-rosanilina e formaldeído, formando um composto colorido.

*Silicato:* O íon  $\text{SiO}_3^{2-}$  reage com molibdato de amônio em meio contendo ácido sulfúrico para formar um complexo, sílico-molibdato, que é posteriormente reduzido com ácido ascórbico, resultando em complexo de coloração azul. O íon fosfato é um interferente pois também forma um complexo inicial, mas ele pode ser destruído por meio da adição de ácido oxálico.