

UNIVERSIDADE DE SÃO PAULO

Instituto de Química

Programa de Pós-Graduação em Química

Sidnei Gonçalves da Silva

Desenvolvimento de procedimentos limpos para
extração de íons metálicos em ponto nuvem

São Paulo

Data do depósito na SPG: 22/01/2008

Livros Grátis

<http://www.livrosgratis.com.br>

Milhares de livros grátis para download.

SIDNEI GONÇALVES DA SILVA

Desenvolvimento de procedimentos limpos para extração
de íons metálicos em ponto nuvem

*Dissertação apresentada ao Instituto de
Química da Universidade de São Paulo
para obtenção do Título de Mestre em
Química (Química Analítica)*

Orientador: Prof. Dr. Fábio Rodrigo Piovezani Rocha

São Paulo

2008

Sidnei Gonçalves da Silva

Desenvolvimento de procedimentos limpos para extração de íons metálicos
em ponto nuvem

*Dissertação apresentada ao Instituto de Química
da Universidade de São Paulo para obtenção do
Título de Mestre em Química Analítica*

Aprovado em: _____

Banca examinadora

Prof. Dr. Fábio Rodrigo Piovezani Rocha

Instituição: Universidade de São Paulo

Assinatura: _____

Prof. Dr.: _____

Instituição: _____

Assinatura: _____

Prof. Dr.: _____

Instituição: _____

Assinatura: _____

Dedico

À Deus presente em todos os dias de minha vida.

“Não sou nada, eu bem sei. Tão pequeno, um grão de areia em

Tuas mãos

Barco à vela que se abandona, segue o rumo e vai buscando o

alto mar.

Assim me encontro diante de ti,

Um Deus imenso que por amor se deixa alcançar.”

(Walmir Alencar/Fábio de Melo)

"O trabalho, embora humilde e simples, confere honra e respeito e

sempre será um mérito ante Nosso Senhor".

São Francisco de Assis

AGRADECIMENTOS

Aos meus pais Mauricio e Maria - A maior satisfação ao final de um dia em que todas as experiências deram erradas, trânsito na marginal infernal e aquele sentimento que nada mais me resta, é saber que, sempre ao retornar para casa, vocês estarão me esperando. Mãe e Pai obrigado por não terem me dado a cópia da chave de casa, assim, ao abrir a porta de casa para mim, sempre terei um momento em que os vejo.

Ao Prof. Fábio – Meus sinceros agradecimentos por todo conhecimento transmitido, pela grande amizade e por ter acreditado e confiado em mim desde o princípio. Seus ensinamentos foram muito além da parte acadêmica, contribuindo também para a formação humana.

- À **Andressa** – Durante estes anos pudemos compartilhar inúmeros bons e maus momentos, e o mais importante de tudo é que crescemos e amadurecemos juntos.

- “Amar é sentir na felicidade do outro a própria felicidade”.

Gottfried Wilhelm von Leibniz

- Aos meus irmãos, **Simone** e **Fábio** por todo apoio e minha cunhada **Shirley** e sobrinho **Felipe** por todos bons momentos.

- À **Prof. Maria Encarnacion** pela contribuição no exame de qualificação e pelas sugestões e colaborações que ajudaram a enriquecer o trabalho.

- Ao **Prof. Pedro Vitoriano** pela contribuição no exame de qualificação, pelo empréstimo do forno de microondas, centrífuga e FAAS, além das inúmeras e valiosas sugestões.

- À **Tatiana Marsola** pela amizade, pela contribuição na parte de nutrição de plantas e pelas amostras cedidas.

- Aos meus amigos praticamente irmãos:

Bira - Obrigado pelo apoio e amizade de sempre, mesmo não estando na lista entre seus 10 melhores amigos.

Tamar – Por todos bons momentos, pela amizade e apoio.

Rita - Agradeço pela grande amizade e apoio que se estendem de longa data e pela paciência de ler minha dissertação de mestrado.

- Aos meus amigos:

Sebastian, pela amizade, carinho e companheirismo, e pelas inúmeras orações, acredito que sem elas tudo seria muito mais difícil.

Gustavo – pelas conversas jogadas fora, pelo futebol dos finais de semana, por ter tocado com o Mibebeda e pela tentativa de me tornar menos ocioso.

Graziela Baptista – pela amizade e pela curta, porém, valiosa acolhida.

- Aos amigos de laboratório, aos que partiram por outros rumos e aos que acabaram de chegar – Patrícia, Pedro, Maurício, Carlos, Diogo, Andréa, Mariana, Grazielle, Erlando, Wanessa, Débora e André.
- Aos amigos do Laboratório de Espectrometria de Emissão e Absorção Atômica (LEEAA), pela grande amizade formada e pela contribuição no meu projeto – Angerson, Alexandre, Rafael, Edvan, Patrícia, Fábio, Juliana (também pelos apontamentos da dissertação), Cassiana e Daniele.
 - Aos amigos Marcelo, Ernesto e Luiz Zanolli, e demais amigos do Instituto de Química.
- À Fundação de Amparo à Pesquisa do Estado de São Paulo pela concessão da bolsa de mestrado e pelo apoio financeiro.
- Ao Instituto de Química e seus funcionários.

Resumo

Silva, S.G. **Desenvolvimento de procedimentos limpos para a extração de íons metálicos em ponto nuvem**. 2008. 83p. Dissertação de Mestrado – Programa de Pós-Graduação em Química. Instituto de Química, Universidade de São Paulo, São Paulo.

O presente trabalho enfoca o desenvolvimento de procedimentos analíticos limpos através da extração e pré-concentração de íons metálicos em ponto nuvem para aumento de sensibilidade, melhoria de seletividade e substituição de solventes tóxicos. Cobre(II), ferro(II) e níquel(II) foram extraídos simultaneamente em digeridos de materiais vegetais, utilizando como agente extrator o Triton X-114, após formarem complexos hidrofóbicos com o 1,2-tiazolilazo-2-naftol (TAN). Os analitos foram determinados por espectrometria de absorção atômica com chama (Cu, Fe e Ni) ou por espectrofotometria de absorção molecular (Fe). A determinação de Cu e Ni por espectrofotometria de absorção molecular foi inviabilizada por interferências espectrais causadas pela formação de complexos com diversos íons metálicos encontrados nos digeridos dos materiais vegetais. Nas medidas por FAAS, os limites de detecção (99,7 % de confiança) foram estimados em 1,10 e 5 $\mu\text{g L}^{-1}$ para cobre, ferro e níquel, respectivamente. Respostas lineares foram observadas para cobre e ferro na faixa de concentração de 25-200 $\mu\text{g L}^{-1}$ e para o níquel entre 5 e 80 $\mu\text{g L}^{-1}$. O fator de enriquecimento foi estimado em 30 e a extração dos analitos foi quantitativa, de acordo com medidas efetuadas no sobrenadante após extração. Na determinação de ferro por espectrofotometria de absorção molecular, o limite de detecção foi estimado em 1 $\mu\text{g L}^{-1}$, com resposta linear entre 6 e 60 $\mu\text{g L}^{-1}$ e fator de enriquecimento estimado em 20. Após digestão com ácidos diluídos em forno de microondas, o procedimento proposto foi aplicado à determinação dos analitos em digeridos de materiais de referência certificados, sendo os resultados concordantes com os valores certificados a nível de confiança de 95 %. O consumo de reagentes foi estimado em 50 mg Triton X-114 e 150 μg TAN por determinação.

Palavras chave: química limpa, extração em ponto nuvem, surfactantes, espectrofotometria.

Abstract

Silva, S.G., **Development of green analytical procedures for cloud-point extraction of metal ions**. 2008. 83p. Masters Thesis – Graduate Program in Chemistry. Instituto de Química, Universidade de São Paulo, São Paulo.

This work is focused on the development of green analytical procedures for cloud-point extraction and concentration of metal ions, aiming increasing sensitivity, improving selectivity and avoiding the use of toxic solvents. Copper(II), iron(II) and nickel(II) were simultaneously extracted from plant materials digests, by using Triton X-114 as extracting agent, after formation of hydrophobic complexes with 1,2-tiazolylazo-2-naphthol (TAN). The analytes were determined by flame atomic absorption spectrometry (Cu, Fe and Ni) or by molecular absorption spectrophotometry (Fe). The determination of Cu and Ni by UV-vis spectrophotometry was hindered by spectral interferences caused by the formation of complexes with several metal ions in the sample digests. In the measurements by FAAS, the detection limits (99.7 % confidence level) were estimated as 1, 10 and 5 $\mu\text{g L}^{-1}$ for copper, iron and nickel, respectively. Linear responses were observed in the 25-200 $\mu\text{g L}^{-1}$ range for copper and iron and 5-80 $\mu\text{g L}^{-1}$ for nickel. The enrichment factor was estimated as 30 and the extraction was quantitative, as evaluated by measurements in the supernatant solution after extraction. For iron determination by UV-vis spectrophotometry, the detection limit was estimated as 1 $\mu\text{g L}^{-1}$, with linear response within 6 and 60 $\mu\text{g L}^{-1}$ and enrichment factor of 20. After digestion with diluted acids in microwave oven, the procedure was applied to the determination of the metals in reference materials and the results agreed with the certified values at the 95 % confidence level. The reagent consumption was estimated as 50 mg Triton X-114 and 150 μg TAN per determination.

Keywords: green chemistry, cloud point extraction, surfactants, spectrophotometry

Lista de Tabelas

TABELA 1 – Surfactantes de uso comum em Química Analítica	19
TABELA 2 – Propriedades de alguns surfactantes não iônicos empregados em procedimentos de extração em ponto nuvem	21
TABELA 3 – Algumas aplicações do TAN como reagente cromogênico	27
TABELA 4 – Parâmetros para determinação de Cu, Fe e Ni por FAAS	32
TABELA 5 – Programa de aquecimento empregado na decomposição de materiais vegetais assistida por microondas	36
TABELA 6 – Concentrações máximas de concomitantes esperados nos digeridos de materiais vegetais certificados	40
TABELA 7 – Comprimentos de onda de máxima absorção e absorvidade molar para os complexos de cobre(II), ferro(II) e níquel(II) com TAN	44
TABELA 8 – Valores de absorbância para os complexos de cobre, ferro e níquel com TAN após a adição de EDTA 0,1 mol L ⁻¹	58
TABELA 9 – Variação do sinal analítico de Cu, Fe e Ni, após a extração em ponto nuvem em função da presença de concomitantes (pH = 4,8)	60
TABELA 10 – Constantes de formação de íons complexos com agentes mascarantes.....	61
TABELA 11 – Avaliação da eficiência de separação de ferro(III) em uma coluna preenchida com TAN imobilizado em XAD-7	61
TABELA 12 – Coeficientes de variação estimados nos diferentes procedimentos de inserção de amostras no FAAS	64
TABELA 13 - Variação do sinal analítico de Cu, Fe e Ni na presença de espécies concomitantes, avaliada através de medidas por FAAS	66
TABELA 14 - Determinações de ferro em materiais certificados por espectrofotometria de absorção molecular, empregando o procedimento de extração em ponto nuvem	70
TABELA 15 - Determinação de ferro, cobre e níquel em materiais certificados empregando FAAS após extração em ponto nuvem	73

Lista de Figuras

FIGURA 1 - Representação das regiões de uma molécula genérica de surfactante	18
FIGURA 2 - Representação esquemática da formação de um agregado micelar	20
FIGURA 3 - Estrutura química do surfactante não iônico octilfenoxipolietoxietanol (Triton X-114)	22
FIGURA 4 - Número de artigos sobre extração em ponto nuvem publicados por ano	23
FIGURA 5 - Surfactantes mais empregados em procedimentos de extração em ponto nuvem e distribuição das espécies químicas analisadas em procedimentos de extração em ponto nuvem	24
FIGURA 6 - Distribuição das principais amostras analisadas em procedimentos de extração em ponto nuvem	25
FIGURA 7 - Técnicas analíticas empregadas em procedimento de extração em ponto nuvem	25
FIGURA 8 - Representação dos equilíbrios ácido-base envolvendo as formas do 1-(2-tiazolilazo)-2-naftol	26
FIGURA 9 - Diagrama de distribuição das espécies do 1-(2-tiazolilazo)-2-naftol em função do pH	26
FIGURA 10 - Fluxograma do procedimento para a extração de íons metálicos em ponto nuvem	35
FIGURA 11 - Representação esquemática da extração em ponto nuvem	35
FIGURA 12 - Estratégias para a inserção da amostra no nebulizador	39
FIGURA 13 - Diagrama de fluxos utilizado para a separação de ferro(III) da amostra	41
FIGURA 14 - Espectros de absorção dos complexos de níquel(II), cobre(II) e ferro(II) com TAN e espectro da solução branco	43
FIGURA 15 - Curvas de absorbância x tempo para a reação de complexação de níquel(II), ferro(II) e cobre(II) com TAN	45

FIGURA 16 - Espectros de absorção de soluções de cobre(II), níquel(II) e ferro(II) na presença de TAN em diferentes condições de acidez	47
FIGURA 17 - Absorbância em função do pH para os complexos de TAN com níquel(II), cobre(II) e ferro (II)	48
FIGURA 18 - Efeito da concentração de TAN sobre o sinal analítico para os complexos de níquel(II), cobre(II) e ferro(II)	49
FIGURA 19 - Equação genérica da reação de complexação do 1-(2-tiazolilazo)-2-naftol (TAN)	49
FIGURA 20 - Variação do fator de pré-concentração e da porcentagem da fase micelar em função da concentração de Triton X-114	50
FIGURA 21 - Efeito da concentração de Triton X-114 no procedimento para extração em ponto nuvem	52
FIGURA 22 - Variação do ponto nuvem de soluções aquosas do surfactante não iônico Triton X-114	53
FIGURA 23 - Fotografias de digeridos de material vegetal (crotalária) empregando forno de microondas	55
FIGURA 24 - Fotografia de um digerido de material vegetal após procedimento de extração em ponto nuvem sem a adição de complexante (TAN)	55
FIGURA 25 - Curva de calibração para ferro empregando o procedimento de extração em ponto nuvem	56
FIGURA 26 - Curva de calibração para níquel empregando o procedimento de extração em ponto nuvem	56
FIGURA 27 - Curva de calibração para cobre empregando o procedimento de extração em ponto nuvem	57
FIGURA 28 - Variação do sinal analítico para o Cu em função do volume de amostra injetado	63
FIGURA 29 - Fotografia do injetor-comutador acoplado ao tubo de aspiração do nebulizador para a inserção dos extratos nas determinações por FAAS	65
FIGURA 30 - Sinais transientes para as soluções de referência de Cu	65
FIGURA 31 - Curva de calibração para cobre empregando o procedimento de extração em ponto nuvem e detecção por FAAS.....	68

FIGURA 32 - Curva de calibração para ferro empregando o procedimento de extração em ponto nuvem e detecção por FAAS	68
FIGURA 33 - Curva de calibração para níquel empregando o procedimento de extração em ponto nuvem e detecção por FAAS	69
FIGURA 34 - Fotografia dos digeridos do material certificado NIST 1547 (peach leaves)	70
FIGURA 35 - Espectro de absorção para o digerido do material certificado NIST 1547 (peach leaves)	71
FIGURA 36 - Fotografia do digerido do material certificado NIST 1547 (peach leaves) após a separação em ponto nuvem	72

Lista de Abreviaturas e Siglas

CG – cromatografia gasosa

CMC – concentração micelar crítica

CPE – extração em ponto nuvem (do Inglês *Cloud Point Extraction*)

CP – ponto nuvem (do inglês *Cloud Point*)

CV AAS - espectrometria de absorção atômica com vapor frio (do inglês *Cold-Vapor Atomic Absorption Spectrometry*)

CV – coeficiente de variação

EC – eletroforese capilar

ETAAS – espectrometria de absorção atômica com atomização eletrotérmica (do inglês *Electrothermal Atomic Absorption Spectrometry*)

FAAS – espectrometria de absorção atômica com atomização por chama (do inglês *Flame Atomic Absorption Spectrometry*)

FE – fator de enriquecimento

HPLC – Cromatografia Líquida de Alta Eficiência (do inglês *High Performance Liquid Chromatography*)

ICP OES - espectrometria de emissão óptica por plasma indutivamente acoplado (do inglês *Inductively Coupled Plasma Optical Emission Spectrometry*)

ICP-MS - espectrometria de massa com plasma indutivamente acoplado (do inglês *Inductively Coupled Plasma Mass Spectrometry*)

IUPAC – União Internacional de Química Pura e Aplicada (do inglês *International Union of Pure and Applied Chemistry*)

LD – limite de detecção

N – número de agregação

NIST – *National Institute of Standards and Technology*

NBS - *National Bureau of Standards*

TAN - 1-(2-tiazolilazo)-2-naftol

Triton X-114 - octilfenoxipolietoxetanol

UV-vis – espectrofotometria de absorção molecular no ultravioleta e visível

Sumário

1. INTRODUÇÃO	17
1.1. Extração em ponto nuvem	18
1.2. Micronutrientes em materiais vegetais.....	27
1.3. Digestão ácida assistida por microondas.....	28
2. OBJETIVO.....	31
3. EXPERIMENTAL.....	32
3.1. Equipamentos e acessórios.....	32
3.2. Reagentes e Soluções.....	33
3.3. Procedimentos.....	34
3.3.1. Extração em ponto nuvem	34
3.3.2. Preparo das amostras	36
3.3.3. Espectros de absorção.....	37
3.3.4. Estudo cinético.....	37
3.3.5. Efeito da acidez.....	37
3.3.6. Efeito da concentração de TAN	38
3.3.7. Efeito da concentração de Triton X-114.....	38
3.3.8. Efeito do volume de fase rica na determinação	38
3.3.9. Efeito de espécies concomitantes	39
3.3.10. Efeito da adição de EDTA	41
3.3.11. Características analíticas	42
4. RESULTADOS E DISCUSSÕES	43
4.1. Espectros de absorção	43
4.2. Estudo Cinético.....	45
4.3. Efeito da acidez	46
4.4. Efeito da concentração de TAN	48
4.5. Efeito da concentração de Triton X-114.....	50
4.6. Preparo das amostra	54
4.7. Características analíticas em espectrofotometria UV-vis.....	55
4.8. Efeito da adição de EDTA.....	57
4.9. Avaliação do efeito de concomitantes por espectrofotometria UV-vis	59
4.10. Determinação por espectrometria de absorção atômica por chama.....	62
4.10.1. Avaliação do efeito de concomitantes por FAAS	66
4.10.2. Características analíticas em FAAS.....	67
4.11. Determinação de cobre, ferro e níquel em materiais vegetais certificados... 69	
4.11.1. Determinação em espectrofotometria UV-Vis	69
4.10.2. Determinação por FAAS	70
5. CONCLUSÕES	75
6. ETAPAS FUTURAS	76
7. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS	77

1. INTRODUÇÃO

A Química limpa, também denominada Química verde, Química ambientalmente benigna ou Química auto-sustentável¹, tem como objetivo substituir ou minimizar o uso de produtos e reagentes químicos tóxicos aos seres humanos e ao meio ambiente². Novas rotas sintéticas, baseadas na substituição ou minimização do consumo de solventes e no conceito de economia atômica, têm sido o foco principal das pesquisas nesta área¹. Entretanto, do ponto de vista da Química Analítica, existe um grande número de procedimentos confiáveis, precisos e exatos, mas que não atendem aos requisitos para serem considerados limpos³.

Uma ordem de prioridade pode ser estabelecida para o desenvolvimento de procedimentos analíticos mais limpos²: (i) os procedimentos não devem gerar resíduos; (ii) os resíduos produzidos não devem ser tóxicos; (iii) a quantidade de resíduos deve ser minimizada; (iv) os resíduos tóxicos devem ser reciclados e, se possível, reutilizados e (v) os procedimentos devem incluir uma etapa de tratamento dos resíduos gerados. A diminuição das quantidades de resíduos permite que os procedimentos existentes sejam adaptados, visando minimizar o impacto ao ambiente.

Os progressos alcançados no desenvolvimento de técnicas e instrumentação analítica têm resultado em procedimentos altamente sensíveis, seletivos e com limites de detecção cada vez menores. Apesar disso, poucas são as técnicas que permitem analisar uma amostra bruta, sem qualquer tratamento prévio. Dessa forma, separação e pré-concentração são procedimentos usuais em Química Analítica, particularmente pelas possibilidades de eliminação de interferências e de utilização de uma técnica analítica menos onerosa, que inicialmente não apresentava limite de detecção suficientemente baixo para a quantificação do analito⁴. Entre as técnicas

de separação e extração, destacam-se a extração líquido-líquido, a extração sólido-líquido e a precipitação. Na extração líquido-líquido, é usualmente utilizado um solvente no qual a espécie de interesse, ou uma espécie gerada a partir desta, possui maior solubilidade, para favorecer a transferência de fase da amostra para o solvente. Como consequência, pode ocorrer a separação e a concentração do analito⁵. Uma maneira de estimar a eficiência de extração é através do fator de enriquecimento (FE), que é dado pela razão entre os coeficientes angulares das curvas de calibração antes e após o procedimento de pré-concentração.

1.1. Extração em ponto nuvem

Uma proposta para a substituição de solventes tóxicos para separação e pré-concentração é a utilização de surfactantes, também conhecidos como tensoativos ou detergentes. A palavra surfactante é derivada da expressão em inglês “surface-active agent”, e refere-se a substâncias que diminuem a tensão superficial do meio no qual são dissolvidas. As moléculas de surfactante (ou tensoativo) apresentam a estrutura R-X, onde R é uma cadeia de hidrocarboneto (normalmente linear) variando de 8 a 18 átomos de carbono e X é um grupo polar (Figura 1). Os surfactantes são classificados de acordo com o grupo polar como aniônicos, catiônicos, não iônicos e anfóteros⁶.

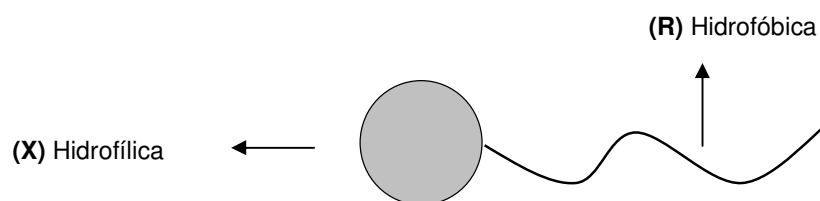


Figura 1: Representação das regiões de uma molécula genérica de surfactante.

Surfactantes são importantes em Química Analítica devido, principalmente, à sua capacidade de modificar algumas propriedades reacionais, com conseqüente melhoria em sensibilidade e/ou seletividade, pela formação de ambientes organizados, também conhecidos como ambientes micelares. Na Tabela 1 são indicados alguns dos principais agentes tensoativos empregados visando melhoria de desempenho de métodos analíticos

Tabela 1: Surfactantes de uso comum em Química Analítica (adaptada da referência 6).

Classificação	Surfactante
Catiônicos	Brometo de cetiltrimetil amônio (CTAB)
	Brometo de dodeciltrimetil amônio (DTAB)
	Cloreto de cetilpiridínio
Aniônicos	Dodecil sulfato de sódio (SDS)
	Bis(2-etilhexil) sulfosuccinato de sódio (aerosol OT)
	Fosfato de dihexadecil (DHF)
Não iônicos	Polioxietileno (9-10) p-tercotil fenol (Triton X-100)
	Polioxietileno (23) dodecacol (Brij 35)
Anfóteros	3-(dodecildimetil amônio) propano 1-sulfato (SB-12)
	4-(dodecildimetil amônio) butirato (DAB)

Micelas são estruturas supramoleculares de dimensões coloidais, formadas a partir de moléculas de surfactantes, que se agregam espontaneamente em solução aquosa quando a concentração micelar crítica (CMC) é atingida. A CMC de um surfactante depende de uma série de fatores, como sua estrutura molecular e condições experimentais, como intensidade iônica, presença de contra íons e temperatura. Abaixo da CMC, o surfactante está predominantemente na forma de monômeros não associados. Porém, quando a CMC é ultrapassada, o processo de

formação de agregados micelares é favorecido. O número de monômeros necessários para a formação de uma micela é conhecido com número de agregação (N). Uma característica das micelas é que elas não são estruturas estáticas, existindo em equilíbrio com seus próprios monômeros em solução (Figura 2) ⁷.

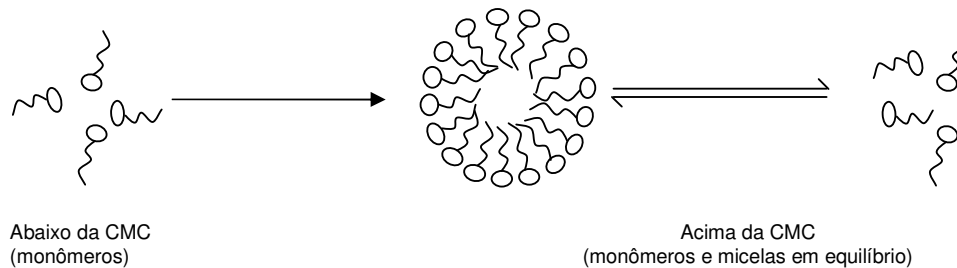


Figura 2: Representação esquemática da formação de um agregado micelar.

Separação por formação de micelas é uma das aplicações mais importantes de surfactantes, podendo também ser explorada para pré-concentração. Soluções aquosas de surfactantes não iônicos, quando submetidas ao aquecimento, tornam-se turvas em uma estreita faixa de temperatura, conhecida como ponto nuvem. Acima do ponto nuvem, o sistema separa-se em duas fases isotrópicas, sendo uma constituída pela solução do surfactante em concentração próxima à concentração micelar crítica e a outra pela fase rica em surfactante. Espécies hidrofóbicas presentes em solução podem ser extraídas e concentradas na fase rica em surfactante⁸. Extração em ponto nuvem de complexos hidrofóbicos formados com metais foi descrita primeiramente por Watanabe e colaboradores⁹ na determinação de Ni(II) usando como ligante o 1-(2-tiazolilazo)-2-naftol (TAN) e Triton X-100 [OPE₉₋₁₀, polioxietileno(9-5)-4-terc-octilfenol] como sistema extrator anfifílico.

O mecanismo de formação do ponto nuvem não está completamente elucidado e ainda é motivo de controvérsias na literatura científica. Alguns autores

sugerem que o fenômeno ocorre em função do aumento no número de agregação da micela quando a temperatura é aumentada¹⁰. Segundo Kjellander e colaboradores¹¹, em temperaturas abaixo do ponto nuvem, cada molécula de surfactante é envolvida por uma camada de moléculas de água bem organizada, formando pontes de hidrogênio com os grupos polares (e.g. unidades de óxido de etileno) dos surfactantes não iônicos. Em temperaturas elevadas, o aumento da entropia causa a desidratação das cadeias de polioxietileno, destruindo a camada de moléculas de água, predominando então as fracas forças de van der Waals entre as moléculas de surfactante. Isto leva à formação de aglomerados micelares e, conseqüentemente, à separação das fases¹¹. Corti e Mineiro¹² propuseram um mecanismo baseado na mudança nas interações micelares, que são repulsivas a baixas temperaturas e atrativas em altas temperaturas.

Para um surfactante ser empregado na extração por ponto nuvem, são desejáveis algumas características como, por exemplo, baixa temperatura de indução do ponto nuvem, alta densidade, disponibilidade comercial, baixo custo e toxicidade¹³. Alguns surfactantes utilizados em procedimentos de extração em ponto nuvem e algumas de suas propriedades são apresentados na Tabela 2.

Tabela 2: Propriedades de alguns surfactantes não iônicos empregados em procedimentos de extração em ponto nuvem. Adaptada da referência 14.

Surfactante	CMC ^a (mmol L ⁻¹)	N ^b	Ponto nuvem(°C)
Triton X-100	0,17-0,30	120-140	64-65
Triton X-114	0,20-0,35	-	23-25
Brij 30	0,02-0,06	40	2-7
Brij 56	0,0006	-	64-69
PONPE-7,5	0,085	-	5-20
PONPE-10	0,070-0,085	100	62-65

(a) concentração micelar crítica, (b) número de agregação.

O Triton X-114 (Figura 3) apresenta ponto nuvem em uma faixa de temperatura muito conveniente, entre 23 e 25 °C, é disponível comercialmente e tem sido explorado para a determinação de várias espécies¹⁵⁻¹⁸.

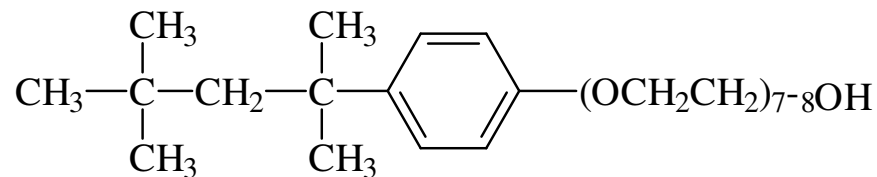


Figura 3: Estrutura química do surfactante não iônico octilfenoxipolietoxietanol (Triton X-114).

Os sistemas micelares oferecem algumas vantagens⁴ em relação à extração líquido-líquido convencional^{4,18}:

- Alta capacidade de pré-concentração - fatores de pré-concentração da ordem de 10 a 100 são usuais;
- Maior eficiência de extração - são requeridas menores quantidades de amostras para se obter os mesmos fatores de pré-concentração alcançados em extração líquido-líquido convencional;
- No caso de extração de produtos reacionais, a reação e a extração podem ser realizadas em fase única, tornando o procedimento de extração mais simples e conveniente e contribuindo para aumentar a eficiência de extração;
- O uso de pequenas quantidades de surfactante (que apresentam menor toxicidade) elimina a manipulação de grandes volumes de solventes orgânicos tóxicos e/ou inflamáveis e minimiza os custos, tornando os procedimentos mais seguros e econômicos.

Em técnicas analíticas que utilizam introdução de amostras na forma de aerossol (como FAAS, ICP OES e ICP-MS), a presença de surfactantes pode aumentar a eficiência de nebulização e conseqüentemente o sinal analítico, devido à baixa tensão superficial das soluções dos surfactantes.

A principal limitação da extração em ponto nuvem surge dos baixos coeficientes de distribuição de espécies hidrofílicas, os quais podem ser aumentados apenas explorando a formação de um produto altamente hidrofóbico. A fase rica em surfactante possui alta viscosidade, dificultando sua introdução direta no sistema de medida. Geralmente, um solvente apropriado é adicionado à fase rica para diminuir a viscosidade do meio, o que resulta na diluição da amostra. Os surfactantes absorvem radiação na região ultravioleta, dificultando a determinação espectrofotométrica de espécies nesta região.

Uma pesquisa foi realizada na base de dados *Analytical Abstracts* em novembro de 2007, no período de 1987-2007 com a palavra chave: *cloud point*. Um gráfico com o número de publicações por ano é apresentado na Figura 4.

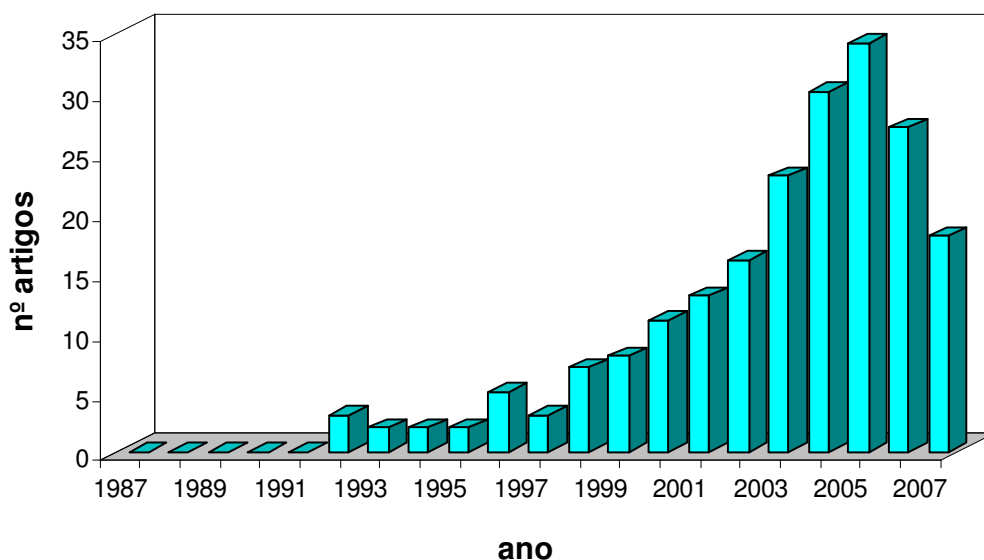


Figura 4: Número de artigos sobre extração em ponto nuvem publicados por ano, de acordo com a pesquisa no banco de dados do *Analytical Abstracts*.

A partir do ano de 1999 é possível observar um crescente aumento no número de publicações que utilizam a extração em ponto nuvem para fins analíticos, sendo 2005 o ano em que ocorreu o maior número de publicações sobre o tema, com cerca de 35 artigos.

Diversos surfactantes são empregados como sistema extrator, sendo predominante o uso do Triton X-114 o surfactante mais empregado (cerca 53% dos artigos), seguido do Triton X-100 (com 25%) (Figura 5A). Entre as espécies analisadas, predominam a extração de espécies inorgânicas, com 60% (Figura 5B).

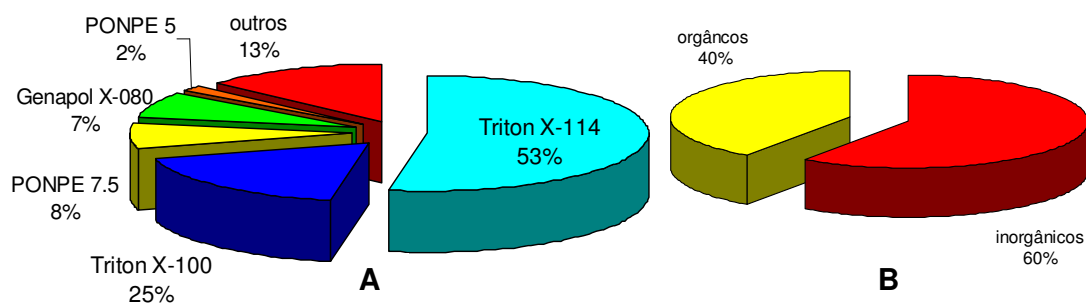


Figura 5: (A) Surfactantes mais empregados em procedimentos de extração em ponto nuvem e (B) distribuição das espécies químicas analisadas, de acordo com a base de dados *Analytical Abstracts*.

Como pode ser observado na Figura 6, as amostras mais analisadas por extração em ponto nuvem foram águas (rio, mar, lagos), com cerca de 56% e amostras biológicas (cabelo, sangue, etc) com 23 %. O procedimento de extração em ponto nuvem também foi empregado em amostras ambientais (9%), como sedimentos e solos. Amostras de alimentos, bebidas e amostras sintéticas foram analisadas em 12 % dos procedimentos.

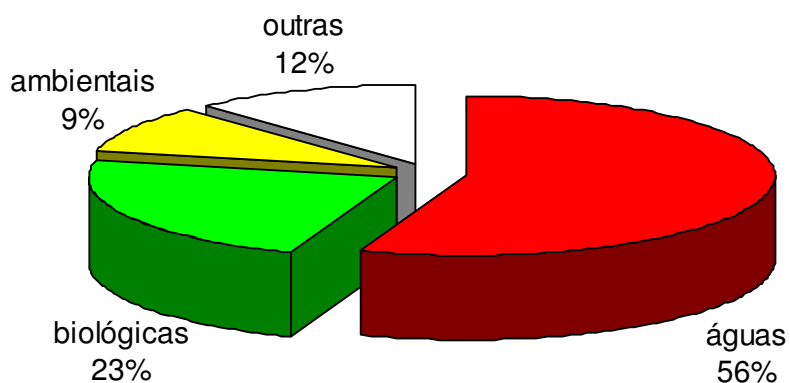


Figura 6: Principais amostras analisadas em procedimentos de extração em ponto nuvem, de acordo com a base de dados *Analytical Abstracts*.

Após o procedimento de extração e separação em ponto nuvem, diversas técnicas analíticas têm sido empregadas para a quantificação, demonstrando que a extração em ponto nuvem é uma ferramenta com elevada potencialidade em diversas áreas da química analítica. A Figura 7 apresenta a distribuição das técnicas analíticas mais empregadas em procedimentos de extração em ponto nuvem. Determinação por HPLC representa 30 % dos trabalhos, seguida por FAAS (23 %) e espectrofotometria UV-vis (14 %).

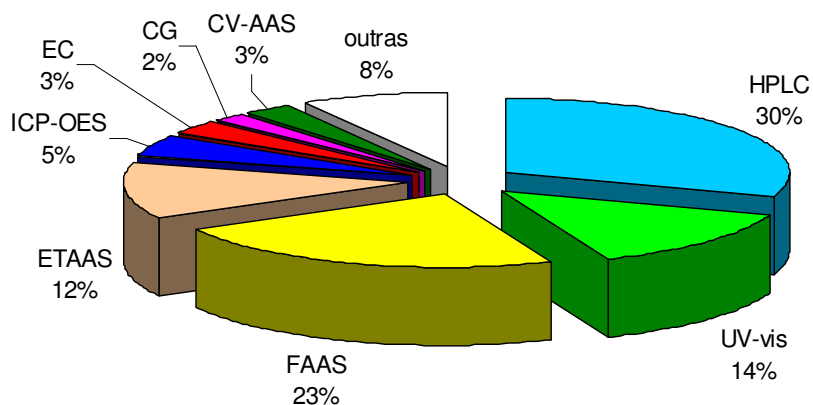


Figura 7: Técnicas analíticas empregadas em procedimento de extração em ponto nuvem, de acordo com a base de dados *Analytical Abstracts*.

Compostos com o grupo tiazolilazo, tais como o 1-(2-tiazolilazo)-2-naftol (TAN), têm sido amplamente utilizados em Química Analítica¹⁹. O TAN é um reagente pouco solúvel em meio aquoso, entretanto solúvel em solventes orgânicos. Apresenta coloração amarelo-alaranjada, dependendo do pH da solução, conforme a representação esquemática envolvendo as formas deste reagente apresentada na Figura 8. O diagrama de distribuição das diferentes espécies de TAN é apresentado na Figura 9. Este reagente tem sido empregado principalmente em metodologias que envolvem separações através de extração líquido-líquido e determinações espectrofotométricas de vários metais, por permitir boa seletividade e sensibilidade.

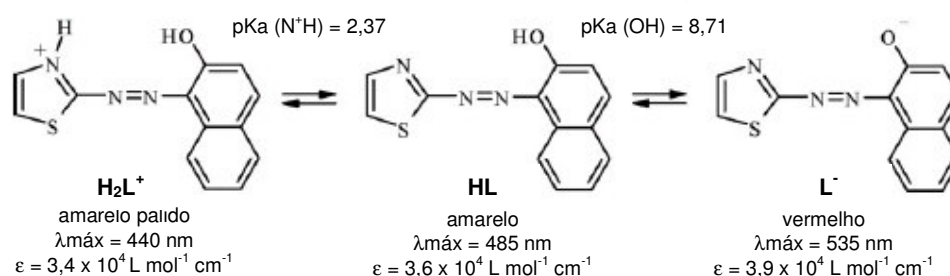


Figura 8: Representação dos equilíbrios ácido-base envolvendo as formas do 1-(2-tiazolilazo)-2-naftol²⁰.

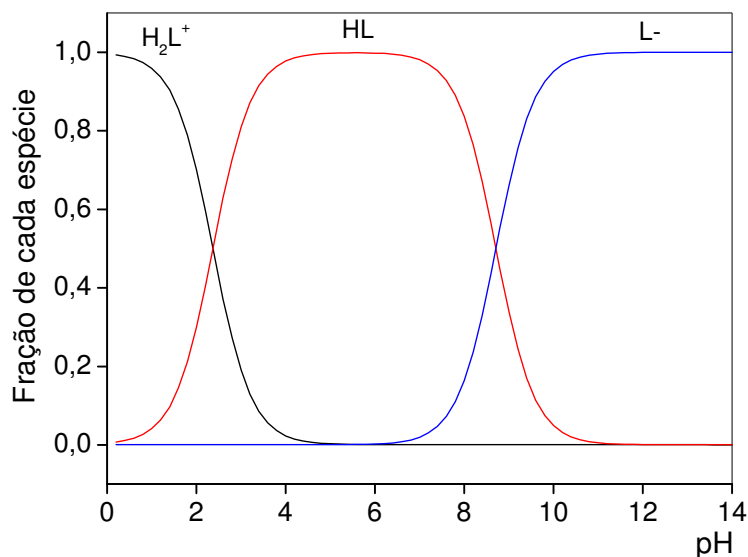


Figura 9: Diagrama de distribuição das espécies do 1-(2-tiazolilazo)-2-naftol em função do pH.

O inconveniente para a utilização do TAN em espectrofotometria convencional é a sua baixa solubilidade em meio aquoso, que pode ser contornada com a utilização de surfactantes para solubilização do reagente e seus complexos ou com uso de solventes orgânicos. A baixa solubilidade do reagente em água, entretanto, torna-se uma vantagem em procedimentos que envolvem pré-concentração por co-precipitação ou extração líquido-líquido com solventes orgânicos ou em ponto nuvem. Na Tabela 3 são citadas algumas aplicações do TAN como reagente cromogênico.

Tabela 3: Algumas aplicações do TAN como reagente cromogênico²¹.

Metal	Faixa de pH	λ_{\max} (nm)	$\epsilon(10^4 \text{ L mol}^{-1} \text{ cm}^{-1})$	Solvente	Faixa de trabalho (mg L^{-1})
Co(III)	2,5-6,0	619	2,7	CHCl ₃	0,5-2,0
Cu(II)	8,0-9,0	580	3,2	CHCl ₃	0,5-2,0
Mn(II)	9,0-11,0	570	4,1	CHCl ₃	0,5-2,0
Ni(II)	4,0-10,0	595	4,0	CHCl ₃	0,5-2,0
Ni(II)	6,4-7,0	595	3,9	H ₂ O/Triton X-100	< 1,4
Tl(III)	1,5-3,5	580	3,5	H ₂ O	–
Zn(II)	6,0-8,0	580	5,0	CHCl ₃	0,5-2,0

1.2. Micronutrientes em materiais vegetais

Cobre, ferro e níquel são metais importantes para a nutrição de plantas, apresentando concentrações nas faixas 2-50, 20-600 e 0,05-5 $\mu\text{g g}^{-1}$, respectivamente²². São classificados como micronutrientes, possuindo funções específicas e estão presentes em algumas proteínas, enzimas e co-enzimas em vegetais.

O cobre participa de diversas enzimas, atuando no metabolismo de carboidratos, do nitrogênio e na síntese de lignina e clorofila. O íon cobre em concentrações elevadas é altamente tóxico, sendo encontrado em quase todas as plantas na forma complexada o cobre aumenta a resistência das plantas a diversas doenças fúngicas e bacterianas²².

Ferro é encontrado em proteínas e nos cloroplastos, exercendo funções catalíticas e estruturais, entre elas: metabolismo de ácidos nucleicos, transferência de elétrons e redução de nitratos e sulfatos. A formação de clorofila é também influenciada por esse elemento²².

Níquel é considerado essencial para plantas, porém, em altas concentrações, certos compostos formados por esse metal são carcinogênicos e podem causar reações alérgicas. Níquel está presente na enzima urease, que catalisa a degradação da uréia a dióxido de carbono e amônia. A carência de níquel nas plantas pode levar ao baixo aproveitamento de nitrogênio e à necrose de pontas das folhas novas. Concentrações elevadas deste metal também podem ocasionar a queima de folhas novas²².

1.3. Digestão ácida assistida por microondas

Os primeiros experimentos com fornos de microondas para a decomposição de amostras foram realizados em 1975²³, utilizando-se frascos fechados em fornos domésticos com resultados muito promissores. Embora os fornos domésticos não fossem apropriados para se trabalhar em ambientes agressivos, particularmente quando os frascos de reação deixavam escapar vapores ácidos corrosivos, era notória a diminuição do tempo de decomposição das amostras, comparativamente

aos procedimentos convencionais utilizando-se placas aquecedoras ou blocos digestores.

Na decomposição de amostras empregando radiação microondas, o tipo de ácido, assim como sua quantidade, são importantes parâmetros a serem considerados, seja por razões de segurança, seja pela eficiência de digestão. Ácido nítrico é o mais utilizado, sendo normalmente adicionado na forma concentrada e indicado para a decomposição de amostras orgânicas²⁴. Dependendo dos teores de matéria orgânica da matriz da amostra, entre 0,4 e 2,0 mL são empregados por 200 mg de amostra²⁵. A diminuição da quantidade de reagentes adicionados durante a digestão é atrativa por diversos fatores, entre eles a segurança, a geração de resíduos, os custos e a minimização de riscos de contaminação. Além disso, soluções com menor acidez são também interessantes do ponto de vista do sistema de detecção, prevenindo danos aos equipamentos. O emprego de ácidos diluídos em procedimentos de decomposição de amostras por microondas é interessante, em função da alta capacidade calorífica da água, que favorece o aquecimento. Ademais, pode prevenir a formação de sais insolúveis, que poderia ocorrer com o emprego de HNO₃ concentrado e elevações bruscas de pressão e temperatura em sistemas com cavidade²⁶.

Além do ácido nítrico, peróxido de hidrogênio 30% (m/v) é normalmente utilizado como agente oxidante auxiliar durante a decomposição assistida por radiação microondas. Resíduos orgânicos resultantes dessas decomposições, analisados por espectroscopia de ressonância magnética nuclear (RMN)²⁶, confirmaram que em função das altas temperaturas obtidas nos sistemas fechados, um ambiente oxidante foi obtido, mesmo em soluções de ácido nítrico diluído.

Araújo e colaboradores²⁶ comparando os espectros de RMN obtidos com

ácidos diluídos e concentrados, mostraram que o espectro após a digestão com HNO_3 2 mol L^{-1} é mais simples que o obtido com HNO_3 14 mol L^{-1} , indicando que o emprego de ácidos concentrados resulta na formação de produtos de decomposição mais complexos.

2. OBJETIVO

O objetivo deste trabalho foi desenvolver procedimentos analíticos limpos baseados na extração líquido-líquido não-convencional em ponto nuvem para extração e pré-concentração de cobre(II), ferro(II) e níquel(II), após a complexação com 1-(2-tiazolilazo)-2-naftol (TAN), utilizando o surfactante Triton X-114 como meio extrator. As possibilidades de detecção por espectrofotometria de absorção molecular e atômica foram avaliadas. Estes procedimentos foram aplicados à determinação de cobre, ferro e níquel em digeridos de materiais vegetais.

3. EXPERIMENTAL

3.1. Equipamentos e acessórios

Um espectrofotômetro HITACHI U-3000 com cubeta de plástico de volume reduzido e 1 cm de caminho ótico foi empregado para obtenção dos espectros de absorção e medida dos sinais em função do tempo. Um espectrofotômetro FEMTO 700S foi utilizado nas demais medidas espectrofotométricas.

Foi utilizado um espectrofotômetro de absorção atômica com chama da Analytical Jena (modelo AAS vario 6). Os parâmetros de operação do equipamento para a determinação dos 3 elementos, apresentados na Tabela 4, foram os mesmos recomendados pelo fabricante.

Tabela 4: Parâmetros para determinação de Cu, Fe e Ni por FAAS.

Parâmetro	Cu	Fe	Ni
Resolução espectral (nm)*	0,8	0,2	0,2
λ (nm)	324,8	248,3	232,0
Vazão de combustível (L/h)	50	65	55
Vazão de oxidante (L/h)	430	430	430
Taxa de aspiração (mL min ⁻¹)	5,0	5,0	5,0
Altura do queimador (mm)	5	7	5

*Definida pelo ajuste da fenda de saída do monocromador

Para a digestão das amostras vegetais, foi utilizado um forno de microondas com cavidade, modelo Multiwave 3000 (Anton Paar) e frascos fechados de Teflon PFA.

O sistema de aquecimento para a indução do ponto nuvem consistiu em um Becker de 800 mL preenchido com água e aquecido em chapa elétrica à temperatura de 60 °C. As amostras foram processadas em tubos de polietileno de 15 mL, com graduação mínima de 0,1 mL. Para acelerar o processo de separação de fases, foi utilizada uma centrífuga para tubos Quimis (modelo Q222T).

3.2. Reagentes e Soluções

Todas as soluções foram preparadas utilizando reagentes de grau analítico e água deionizada. Soluções estoque 1000 mg L⁻¹ de Al(II), Ca(II), Cd(II), Co(II), Fe(II), Mg(II), Mn(II), Ni(II), Pb(II), V(IV), Zn(II), Cu(II) e Hg(II) (Titrisol, Merck, Alemanha) foram utilizadas para preparar as soluções analíticas de referência e soluções para avaliação do efeito de espécies concomitantes, a partir de diluições sucessivas. Soluções tampão hexamina 0,5 mol L⁻¹ foram preparadas dissolvendo-se 7 g de hexametilenotetramina (Acros Organics) em 80 mL de água, ajustando-se o pH com ácido clorídrico ou hidróxido de sódio e completando o volume para 100 mL com água. Solução tampão acetato pH 4,8 foi preparada a partir de ácido acético concentrado (Merck), ajustando-se o pH com hidróxido de sódio. Solução de ácido ascórbico 1% (m/v) foi preparada diariamente, dissolvendo-se 1 g do reagente (Merck) em 100 mL de água. Solução 0,02% (m/v) TAN em meio de Triton X-100 foi preparada dissolvendo-se 0,01 g de 1-(2-tiazolilazo)-2-naftol (Sigma) em 5 mL de etanol (Merck) e em seguida adicionando 0,7 g de Triton X-100 (Rohm and Hass) e completando o volume para 50 mL. Solução 0,05 % (m/v) TAN foi preparada dissolvendo-se 0,025 g de 1-(2-tiazolilazo)-2-naftol em 50 mL de etanol. Solução Triton X-114 5% (m/v) foi preparada dissolvendo-se 2,5 g do reagente em 50 mL de água.

3.3. Procedimentos

3.3.1. *Extração em ponto nuvem*

O fluxograma do procedimento empregado para extração em ponto nuvem é apresentado na Figura 10. O procedimento é dividido em três etapas. A primeira consiste na mistura da amostra e dos reagentes, 0,450 mL de solução 0,05% (m/v) TAN, 1 mL de Triton X-114 (5% m/v) 1 mL de ácido ascórbico (1% m/v) e 1 mL de tampão acetato 1 mol L⁻¹. A segunda etapa é a de geração do ponto nuvem e separação das fases. As soluções foram submetidas a aquecimento em banho de água em torno de 60 °C por 15 minutos e posteriormente centrifugadas por 20 minutos a 2000 rpm. A fase rica em surfactante, por diferença de densidade, permanece no fundo do tubo, o qual é levado para um banho de gelo. Com a diminuição da temperatura, a fase rica em surfactante torna-se viscosa como um gel e a sua separação da fase aquosa foi efetuada simplesmente invertendo os tubos ou por aspiração do sobrenadante com uma bomba de vácuo. Solução aquosa residual foi removida com o auxílio de uma pipeta de Pasteur. Após a separação, a fase rica foi diluída para 0,5 ou 1 mL com etanol, com a finalidade de diminuir a viscosidade e permitir a transferência para a cela de medida para posterior determinação. A de etanol adicionada à fase rica em tensoativo variou de 150 a 600 µL. A última etapa consiste na medida por espectrofotometria UV-vis ou de absorção atômica com chama. O procedimento de extração, representado na Figura 11, foi otimizado pelo método univariado, utilizando medidas por espectrofotometria UV-vis.

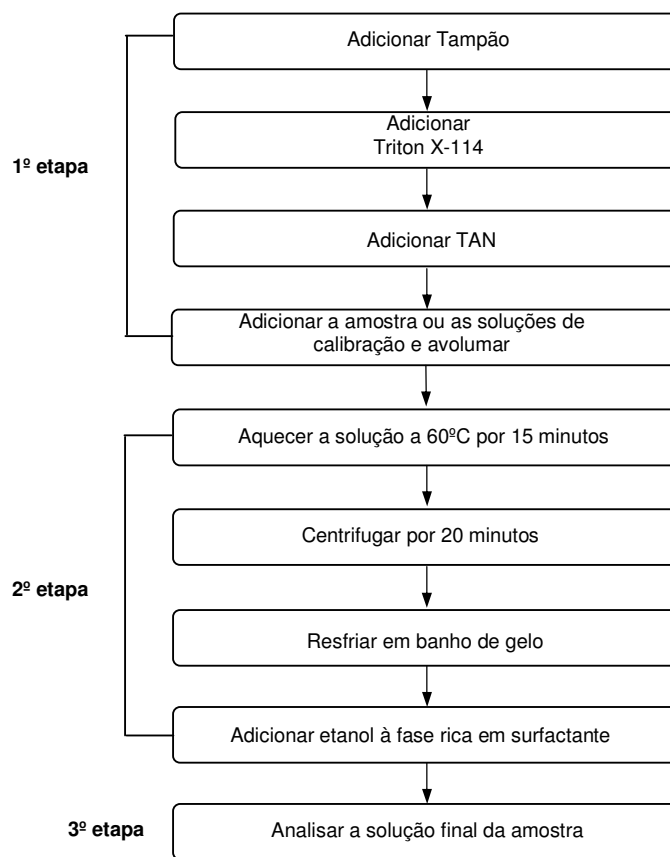


Figura 10: Fluxograma do procedimento para a extração de íons metálicos em ponto nuvem.

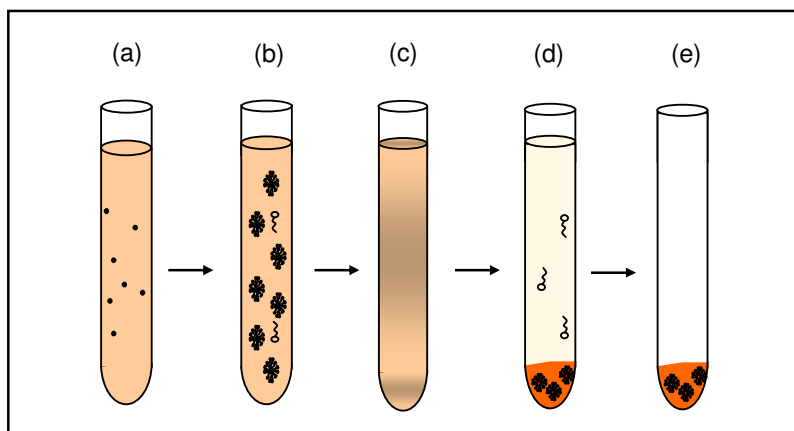


Figura 11: Representação esquemática da extração em ponto nuvem: (a) solução inicial contendo os complexos hidrofóbicos metal/TAN a serem extraídos; (b) situação após a adição do surfactante (concentração de Triton X-114 superior à CMC); (c) formação do ponto nuvem após o aquecimento; (d) situação após centrifugação; (e) situação após remoção da fase aquosa.

3.3.2. Preparo das amostras

As amostras de materiais vegetais foram digeridas em forno de microondas com cavidade, utilizando ca. 0,25 g de amostra pesada em balança analítica, 1,0 mL de HNO₃ concentrado, 1,1 mL de H₂O₂ (30% v/v) e 4,4 mL de água deionizada, sendo utilizado um programa de aquecimento previamente empregado para a decomposição de materiais vegetais em sistema fechado²⁴. Após a digestão e resfriamento dos frascos à temperatura ambiente, as amostras foram diluídas com água deionizada e seu volume completado para 10 mL de solução, seguida da neutralização do ácido remanescente com NaOH. Para a determinação de ferro foi retirada uma alíquota de 100 µL, e o restante da solução é utilizada para a determinação de níquel e cobre. O programa de aquecimento do forno microondas está apresentado na Tabela 5.

Tabela 5: Programa de aquecimento empregado na decomposição de materiais vegetais assistida por microondas. Pressão máxima atingida: 32 bar; potência máxima atingida: 1400 W.

Etapa	Temperatura (°C)	Rampa (min)	Patamar (min)
1	140	5	1
2	180	4	5
3	220	4	10
4	25	0	20

3.3.3. Espectros de absorção

Espectros de absorção dos complexos metálicos com TAN foram obtidos sem a extração em ponto nuvem. Foram adicionados diretamente em frascos de 15 mL, 1 mL da solução tampão hexamina 0,5 mol L⁻¹ (pH 6,5), 1 mL de solução de TAN 0,02% (m/v) em meio de Triton X-100 e 1,5 mL de solução 10 mg L⁻¹ do íon metálico. Para a solução contendo Fe(III), foi também adicionado 1 mL de solução 1 % (m/v) ácido ascórbico. Soluções branco foram obtidas de forma análoga, porém sem a adição das soluções dos íons metálicos. Os espectros de absorção (450-800 nm) foram obtidos em cubeta de quartzo, com velocidade de varredura de 600 nm/min.

3.3.4. Estudo cinético

Para avaliar o tempo mínimo necessário para a formação dos complexos metálicos, foram misturadas diretamente em uma cubeta de quartzo, 200 µL de solução estoque de TAN 0,02% preparada em meio de Triton X-100, 1400 µL de água deionizada, 200 µL de tampão hexamina (pH 6,5) e 200 µL de solução estoque do íon metálico 10 mg L⁻¹. Após rápida homogeneização, a cubeta foi posicionada no espectrofotômetro para monitoramento da absorbância em função do tempo, no comprimento de onda de máxima absorção de cada complexo.

3.3.5. Efeito da acidez

As condições experimentais adotadas neste estudo foram semelhantes às empregadas para a obtenção dos espectros das soluções dos complexos (item 3.3.3), sendo os valores de pH das soluções ajustados para: 1,0; 2,0 ou 3,0 com

HCl; 5,0; 5,5; 6,0; 6,5; 7,0; 7,5 ou 8,0 com tampão hexamina $0,05 \text{ mol L}^{-1}$ e pH 4,8 com tampão acetato.

3.3.6. Efeito da concentração de TAN

Foram mantidas as mesmas condições experimentais descritas no item 3.3.3, sendo a concentração de TAN variada no intervalo $0,021$ a $0,117 \text{ mmol L}^{-1}$. Este experimento foi realizado separadamente para cada íon metálico. As medidas foram realizadas por espectrofotometria.

3.3.7. Efeito da concentração de Triton X-114

Para este experimento, foram misturados diretamente em frascos de 15 mL, 1 mL de tampão acetato (pH 4,8), $450 \mu\text{L}$ de solução $0,05 \%$ (m/v) TAN (concentração final igual a $0,06 \text{ mmol L}^{-1}$), $150 \mu\text{L}$ de solução 10 mg L^{-1} de íon metálico (concentração final igual a $100 \mu\text{g L}^{-1}$). Estes volumes foram mantidos fixos, enquanto foi variada a concentração de Triton X-114. Após o procedimento de extração em ponto nuvem, o volume da fase rica foi completado para 1 mL com etanol.

3.3.8. Efeito do volume de fase rica na determinação

Para determinar o volume mínimo de solução necessário para a medida por espectrofotometria de absorção molecular, foram adicionadas em uma cubeta de acrílico de volume reduzido, alíquotas de 200, 250, 300, 350, 400 e $500 \mu\text{L}$ de solução 80 mg L^{-1} permanganato de potássio. A absorbância foi medida em 525 nm.

O efeito do volume injetado sobre o sinal medido por FAAS foi avaliado utilizando uma solução 1 mg L^{-1} Cu(II), preparada com composição similar a da fase

rica em surfactante. Diferentes alíquotas foram inseridas em uma ponteira de micropipeta acoplada ao nebulizador, gerando um sinal transiente (Figura 12A).

Também foram avaliadas outras duas estratégias para a inserção de amostra, utilizando um injetor-comutador com barra deslizante, usualmente empregado em análise por injeção em fluxo. Foi utilizada uma alça de amostragem com volume de 150 μL (Figura 12B) ou uma ponteira de micropipeta conectada na posição de alça de amostragem para armazenar a amostra inserida através de uma micropipeta (Figura 12C). Assim, quando o injetor era comutado, a amostra era inserida no nebulizador gerando um sinal transiente.

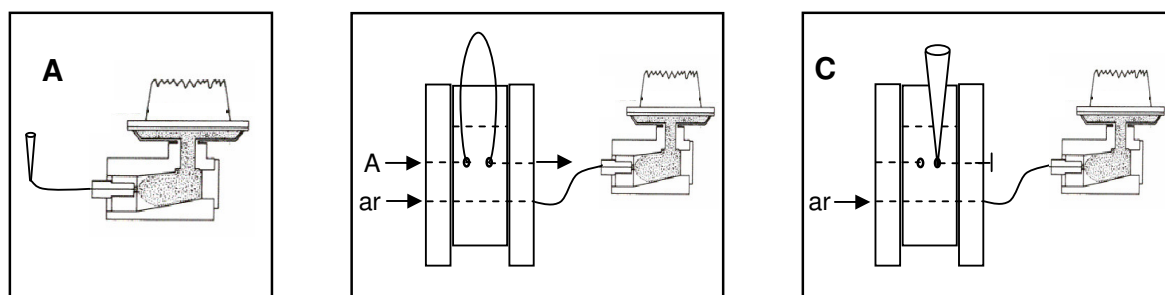


Figura 12: Estratégias para a inserção da amostra no nebulizador: (A) ponteira de micropipeta acoplada na saída do nebulizador; (B) com injetor comutador e alça de amostragem de 150 μL e (C) ponteira de micropipeta substituindo a alça de amostragem.

3.3.9. Efeito de espécies concomitantes

Foram avaliados os efeitos da presença de diversas espécies esperadas em digeridos de materiais vegetais sobre o sinal analítico de cobre, ferro e níquel. As concentrações dos concomitantes foram baseadas na quantidade máxima destes elementos nos materiais de referência certificados *Apple leaves* (NIST, SRM 1515), *Peach leaves* (NIST, SRM 1547), *Tomato leaves* (NIST, SRM 1573a) e *Citrus leaves* (NBS 1572). Este estudo foi realizado separadamente para cada analito e para cada

concomitante. As concentrações dos concomitantes avaliadas estão apresentadas na Tabela 6. As concentrações de Cu, Fe e Ni foram fixadas em 25, 100 e 25 $\mu\text{g L}^{-1}$, respectivamente.

Tabela 6: Concentrações máximas de concomitantes esperados nos digeridos de materiais vegetais certificados.

Elemento	Concentração (mg L^{-1})	Elemento	Concentração ($\mu\text{g L}^{-1}$)
Al	9	Co	9
Ca	800	Ni	26
Mg	20	Cu	95
Fe	6	Cd	25
Mn	4	Pb	14
Zn	500	V	14
P	10	Hg	0,7

Para a supressão da interferência de ferro na determinação de níquel foi avaliada a adição de agentes mascarantes: 1 mL de solução de fluoreto ou fosfato ($0,015 \text{ mol L}^{-1}$) foi adicionado a uma solução contendo Fe(III) (concentração final igual $9 \times 10^{-7} \text{ mol L}^{-1}$), posteriormente seguindo o procedimento de extração em ponto nuvem. Uma solução de referência foi preparada, na mesma concentração de Fe(III) sem a adição dos agentes mascarantes. As medidas espectrofotométricas foram realizadas no comprimento de onda de máxima absorção do complexo Ni/TAN.

Também foi avaliada a possibilidade de separação de ferro(III) da amostra utilizando uma coluna preenchida com TAN imobilizado em resina XAD-7. Este procedimento foi avaliado para dois valores de pH da amostra, em meio de tampão hexamina (pH = 6,5) e de tampão acetato (pH = 4,8). Após a retenção do níquel na

coluna, o injetor foi comutado de forma que o eluente (HNO_3 $0,05 \text{ mol L}^{-1}$) passasse somente pela coluna 2. A solução contendo os íons Ni(II) eluídos foi submetida ao procedimento de extração em ponto nuvem. Medidas espectrofotométricas foram realizadas no comprimento de onda de máxima absorção do complexo Ni/TAN . O diagrama de fluxo utilizado está apresentado na Figura 13.

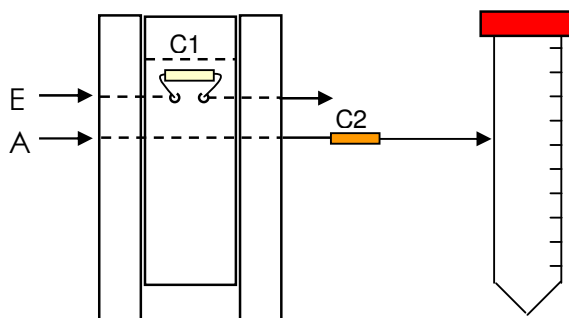


Figura 13: Diagrama de fluxo utilizado para a separação de ferro(III) da amostra. C1 = coluna preenchida com lã de vidro; C2 = coluna preenchida com TAN immobilizado em XAD-7; e A = amostra. Vazão das soluções igual a $0,5 \text{ mL min}^{-1}$. Concentração de níquel e ferro iguais a $25 \mu\text{g L}^{-1}$ e 6 mg L^{-1} respectivamente. Na etapa de eluição a amostra é substituída pelo eluente (volume de HNO_3 $0,05 \text{ mol L}^{-1}$ utilizado na eluição igual a $4,0 \text{ mL}$).

3.3.10. Efeito da adição de EDTA

Neste experimento, foi adicionada uma alíquota de 1 mL de solução contendo o íon metálico complexado com TAN e tampão em $\text{pH } 4,8$ diretamente na cubeta. Os volumes de solução $0,1 \text{ mol L}^{-1}$ EDTA ($0,1$ a $0,9 \text{ mL}$) e água deionizada foram variados, de forma que o volume adicionado fosse igual a 1 mL . A solução do branco foi obtida de maneira similar, porém sem a adição dos analitos. Foi também medida a absorvância de uma solução sem a adição de EDTA para avaliar a eficiência do procedimento. A absorvância foi medida nos comprimentos de onda de máxima absorção de cada complexo com TAN.

3.3.11. Características analíticas

As características analíticas foram avaliadas empregando as concentrações otimizadas de cada solução: 0,06 mmol L⁻¹ TAN; 6 mmol L⁻¹ Triton X-114 e tampão acetato 0,07 mol L⁻¹, pH 4,8. O limite de detecção (LD) foi estimado como: $LD = 3 \times s_B / m$; onde s_B é o desvio padrão para a solução branco (n=8), medido nos comprimentos de onda de máxima absorção e m é o coeficiente angular da curva analítica. O fator de enriquecimento foi calculado pela razão dos coeficientes angulares das curvas de calibração com e sem pré-concentração. A repetibilidade foi estimada a partir dos desvios entre as medidas de absorbância (n=8) de cada elemento, sendo as concentrações de metais fixadas em 100 µg L⁻¹.

4. RESULTADOS E DISCUSSÕES

4.1. Espectros de absorção

A aplicação de reagentes cromogênicos do tipo tiazolilazo, como o 1-(2-tiazolilazo)-2-naftol (TAN), em espectrofotometria é baseada na formação de complexos coloridos resultantes da reação com íons metálicos¹⁹; em geral, esses complexos são estáveis.

Foram obtidos espectros de absorção de cobre(II), ferro(II) e níquel(II) após complexação com TAN Figura 14, a partir dos quais foi identificado o comprimento de onda de máxima absorção de radiação (λ_{MAX}). A partir destes resultados, foi também estimada a absorvidade molar dos complexos formados (Tabela 7).

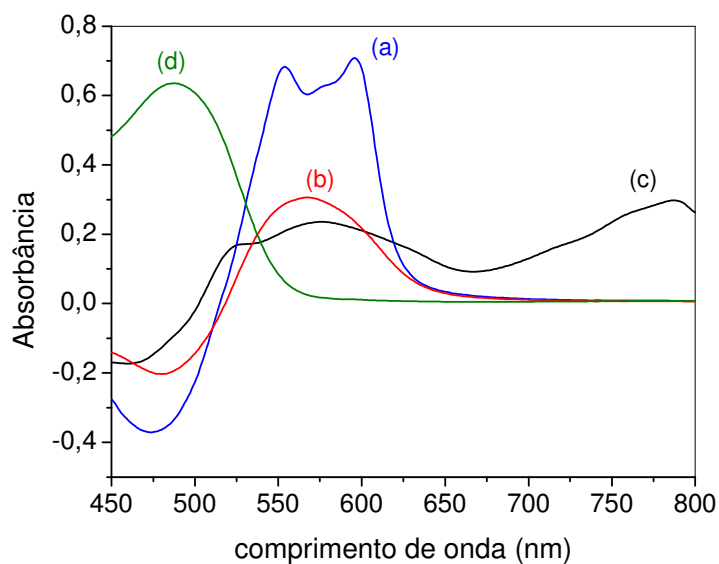


Figura 14: Espectros de absorção dos complexos de (a) níquel(II), (b) cobre(II) e (c) ferro(II) com TAN e (d) espectro da solução branca.

Tabela 7: Comprimentos de onda de máxima absorção e absortividade molar para os complexos de cobre(II), ferro(II) e níquel(II) com TAN.

Complexo	Absortividade molar ($L mol^{-1} cm^{-1}$)	λ_{MAX} (nm)
Cobre	$1,94 \times 10^4$	567
Ferro	$1,66 \times 10^4$	787
Níquel	$4,16 \times 10^4$	596

O complexo formado com o ferro(II) apresenta dois máximos de absorção, um na região de 550 nm e outro em 787 nm. O complexo de níquel(II) também apresenta dois máximos de absorção, em 554nm e 596 nm. Já o complexo formado com o cobre(II) apresenta máximo de absorção em 567 nm. Ferreira e Nano²⁷ desenvolveram um método para determinação de ferro em matrizes geológicas, empregando reação com TAN em pH entre 4,0 e 6,2. A solução de TAN foi preparada em meio de etanol 10% (v/v) e Triton X-100 (10% v/v) e a absortividade molar foi estimada em $1,41 \times 10^4 L mol^{-1} cm^{-1}$ ($\lambda_{m\acute{a}x} = 787$).

A absortividade molar para o complexo de cobre em meio de clorofórmio foi estimada em de $3,2 \times 10^4 L mol^{-1} cm^{-1}$ ²⁸ ($\lambda_{m\acute{a}x} = 580$ e pH entre 8 – 9) e de níquel em $4,0 \times 10^4 L mol^{-1} cm^{-1}$ ²⁸ ($\lambda_{m\acute{a}x} = 595$ e pH entre 6,4 – 7,0). De acordo com a Tabela 7, com exceção do complexo de Cu/TAN, os resultados obtidos foram concordantes com os apresentados na literatura, mesmo em condições experimentais (pH e meio de preparo do reagente) diferentes das empregadas neste trabalho. De acordo com a Figura 14, no comprimento de onda de 787 nm, é possível determinar ferro sem a interferência espectral de cobre e níquel, o que não seria possível caso as medidas fossem feitas em 550 nm. Apenas selecionando o comprimento de onda de máxima

absorção não é possível determinar seletivamente cobre e níquel, devido a interferências espectrais.

4.2. Estudo Cinético

A velocidade de formação dos complexos é um parâmetro que deve ser considerado para maximizar a eficiência de extração, visto que os metais somente são extraídos na forma de complexos hidrofóbicos. Foi realizado um estudo cinético da reação de formação dos complexos, para determinar o tempo necessário para que as reações de complexação de cobre(II), ferro(II) e níquel(II) com TAN atingissem o equilíbrio. A absorbância foi monitorada em função do tempo, gerando os gráficos mostrados na Figura 17.

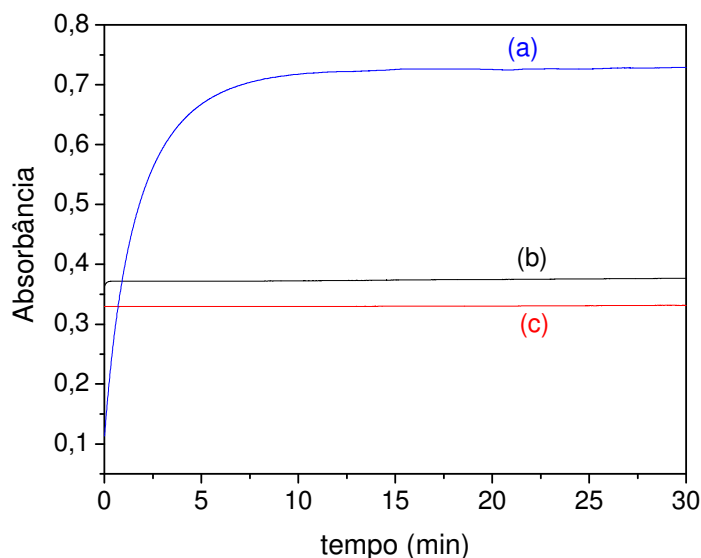


Figura 15: Curvas de absorbância x tempo para a reação de complexação de (a) níquel(II), (b) ferro(II) e (c) cobre(II) com TAN.

É possível observar que a reação de complexação entre o TAN e o ferro(II) ou cobre (II) atinge o equilíbrio quase que instantaneamente. Entretanto, a reação de complexação do TAN com níquel(II) apresenta menor velocidade, levando em torno

de 10 minutos para atingir o equilíbrio, nas condições experimentais adotadas. Entretanto, os três íons metálicos formam complexos com TAN em tempo suficientemente curto para se utilizar este complexante em procedimentos de extração em ponto nuvem.

4.3. Efeito da acidez

No desenvolvimento de métodos que utilizam a extração em ponto nuvem, deve-se avaliar o efeito de diversos parâmetros operacionais, tal como proposto por Paleólogos et al²¹. Desta forma, o pH final da solução da amostra, a concentração do surfactante e do agente complexante adicionado à solução da amostra foram otimizados e os resultados estão apresentados a seguir.

Embora a extração em ponto nuvem seja pouco dependente do pH do meio, quando o surfactante utilizado é do tipo não iônico (como o Triton X-114)²⁹, a complexação dos metais (Cu, Fe e Ni) com TAN é bastante dependente do pH. No procedimento desenvolvido por Ferreira e Nano²⁷ para a determinação de ferro em matrizes geológicas, utilizando o TAN como reagente cromogênico, os autores avaliaram o efeito da acidez na formação do complexo ferro(II)-TAN, obtendo máxima sensibilidade na faixa de pH entre 4,0 – 6,2. Tampão ácido acético/acetato foi selecionado para ajuste de acidez.

De acordo com os espectros de absorção mostrados na Figura 16 (I), pode-se observar que em pH 1,0 nenhum dos metais forma complexo com o TAN. O cobre começa a formar complexo em pH igual a 2,0 (Figura 16 (II)) e em pH 3,0 os complexos com ferro e níquel começam a ser formados (Figura 16 (III)). Entretanto, os valores de absorbância são bastante inferiores aos obtidos em pH 4,8 (Figura 16 (IV)).

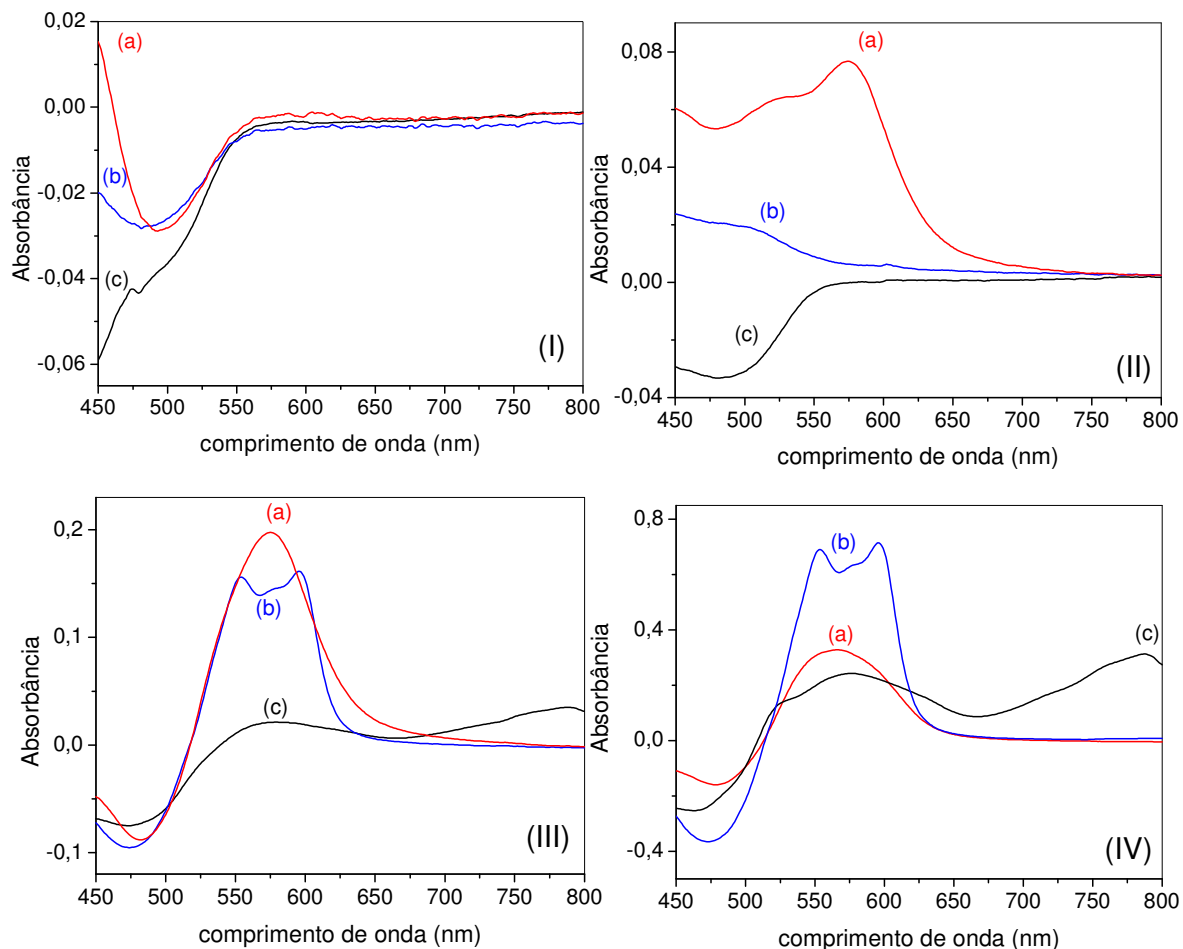


Figura 16: Espectros de absorção de soluções de (a) cobre(II), (b) níquel(II) e (c) ferro(II) na presença de TAN em diferentes condições de acidez: em meio de HCl pH=1,00 (I); pH=2,00 (II) ou pH=3,00 (III) e em meio de tampão acetato pH=4,8 (IV).

Na Figura 17, é possível observar que, para os três metais em estudo, a absorbância não varia significativamente para soluções com pH maior que 5,5 e que valores próximos de absorbância foram obtidos na presença de tampão hexamina ou acetato. Desta forma, foi adotado pH igual a 4,8, ajustado com tampão acetato para estudos posteriores. Valores mais altos de pH foram evitados por questões de seletividade. Por exemplo, com base em resultados preliminares e informações da literatura³⁰, é possível concluir que em valores de pH menores que 5,0, Mn^{2+} e Zn^{2+} não formam complexos com TAN. Estes dois metais são micronutrientes e estão

presentes nos materiais vegetais em concentrações que podem interferir na determinação de cobre, ferro e níquel, uma vez que concorrem com estes analitos para formarem complexos com o TAN. No caso de medidas por espectrofotometria UV-vis, interferência positiva deve também ser esperada para a determinação de cobre e níquel, visto que os complexos formados com manganês(II) e zinco(II) absorvem radiação nos comprimentos de onda de medida.

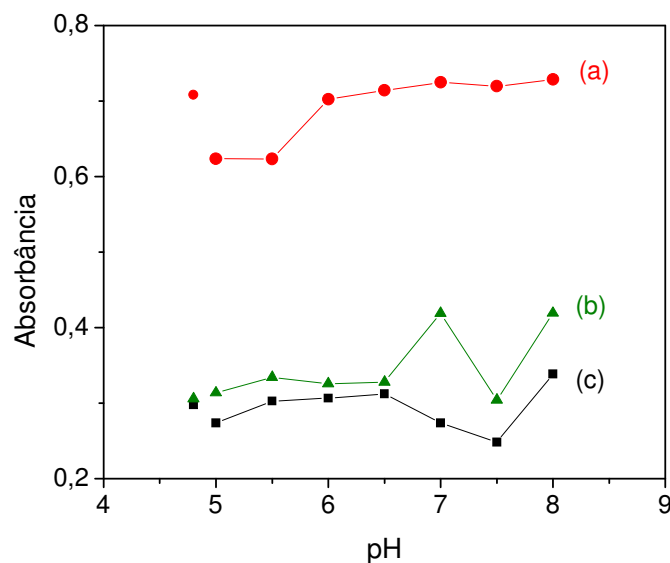


Figura 17: Absorbância em função do pH para os complexos de TAN com (a) níquel(II) (b) cobre(II) e (c) ferro(II). Todas as soluções foram preparadas em tampão hexamina, exceto a de pH 4,8, preparada com tampão acetato.

4.4. Efeito da concentração de TAN

O efeito da concentração de TAN foi avaliado separadamente para cada íon metálico, tendo a finalidade de determinar a mínima concentração de reagente em que a absorbância (e portanto a sensibilidade) seria máxima. Os resultados estão apresentados na Figura 18. A Figura 19 apresenta a equação genérica da reação de complexação dos íons metálicos com o 1-(2-tiazolilazo)-2-naftol.

A absorbância máxima para os três analitos foi observada em concentração superior a $0,06 \text{ mmol L}^{-1}$ TAN. Esta foi a concentração adotada para estudos posteriores, pois acima deste valor ocorre um consumo desnecessário de reagente. Nestas condições, $150 \text{ } \mu\text{g}$ de TAN são consumidos por determinação. Medidas realizadas por FAAS comprovaram que concentrações acima de $0,06 \text{ mmol L}^{-1}$ a variação do sinal analítico não é significativa.

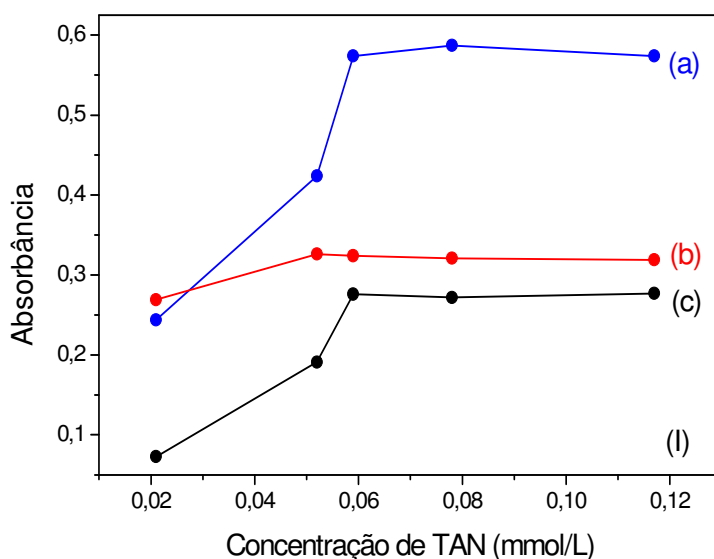


Figura 18: Efeito da concentração de TAN sobre o sinal analítico ((I) em espectrofotometria UV-vis e (II) por FAAS), para os complexos de (a) níquel, (b) cobre e (c) ferro. A concentração dos íons metálicos foi mantida em 1 mg L^{-1} ($C_{Cu} = 16$, $C_{Fe} = 18$ e $C_{Ni} = 17 \text{ } \mu\text{mol L}^{-1}$).

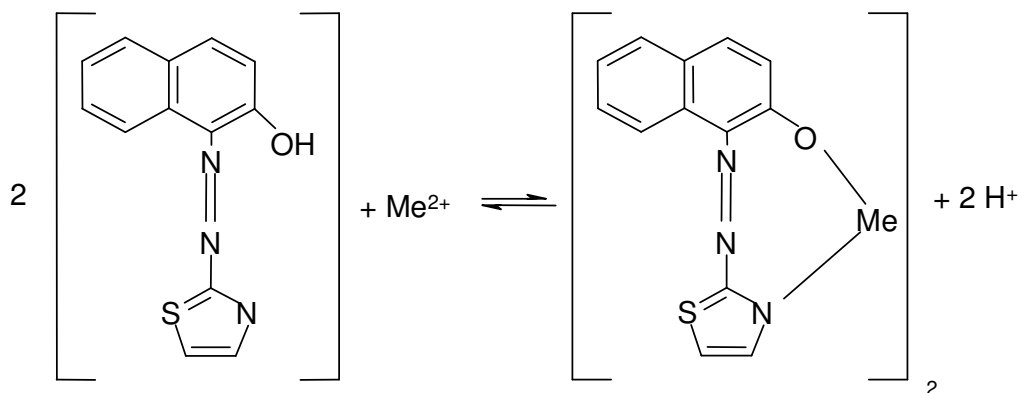


Figura 19: Equação genérica da reação de complexação do 1-(2-tiazolilazo)-2-naftol (TAN). Adaptado da referência³¹.

4.5. Efeito da concentração de Triton X-114

O fator de pré-concentração de um analito em procedimentos de extração em ponto nuvem depende fundamentalmente de dois fatores: da transferência de massa da substância extraída para a fase micelar (eficiência de extração) e da razão do volume de fases⁴. Considerando-se que a extração seja quantitativa, pode-se dizer que, quanto maior for o volume da fase micelar obtido, menor será o fator de pré-concentração. A Figura 20³² apresenta a porcentagem da fase rica em surfactante obtida e o fator de pré-concentração teórico, em função da concentração de Triton X-114. Esta é uma generalização teórica, pois existe um limite mínimo prático de surfactante que pode ser usado na extração de uma dada substância.

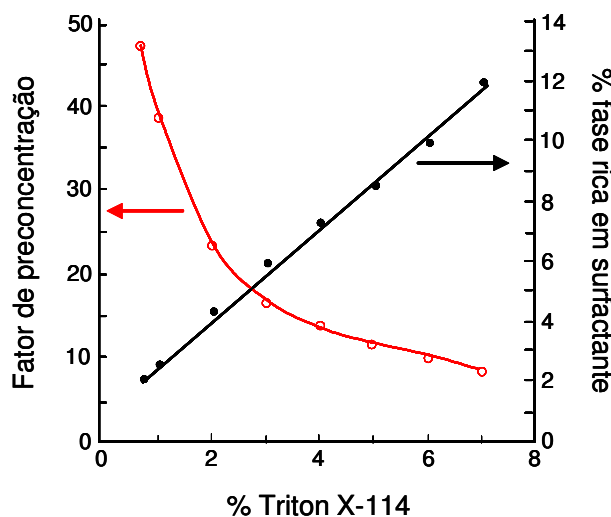


Figura 20: Variação do fator de pré-concentração e da porcentagem da fase micelar em função da concentração de Triton X-114. Adaptada da referência 34.

A concentração de surfactante exibe um intervalo no qual a quantidade de fase rica é adequada para separação e a extração é eficiente. Acima deste intervalo, ocorre a diluição do analito na fase rica em surfactante, pois a concentração de surfactante determina o volume desta fase. Abaixo deste intervalo, a eficiência de

extração (e portanto a precisão e a exatidão do procedimento) podem ser afetadas, pois nem todo complexo formado é extraído. O efeito de diluição é mascarado no procedimento proposto, visto que o volume da fase rica é ajustado com etanol previamente à medida. Entretanto, o emprego de excesso de surfactante resulta em consumo desnecessário, podendo também afetar o valor de branco analítico e a eficiência de nebulização nas medidas por FAAS.

Uma das maiores dificuldades durante o processo de extração em ponto nuvem é a separação das fases, pois parte da fase micelar pode ser removida com o sobrenadante ou quantidades variáveis de fase aquosa podem permanecer na fase rica em surfactante. Na literatura, são encontradas diferentes alternativas para separar a fase rica em surfactante da fase aquosa. Em geral, após a centrifugação, os tubos contendo as duas fases são imersos em banho de gelo, para aumentar a viscosidade da fase rica em surfactante, facilitando a separação da fase pobre³³, removida simplesmente invertendo os tubos. Este procedimento foi adotado para a determinação de Cd, Pb e Pd³⁴ e na determinação de colbalto(II)³⁵. Wuilloud e colaboradores^{36,37} submeteram a fase rica em surfactante em um banho de gelo com NaCl por 5 minutos; em seguida a fase aquosa foi removida com o auxílio de uma bomba peristáltica. Manzoori e colaboradores³⁸, após aquecimento e centrifugação, submeteram a amostra a uma mistura de gelo e acetona por 15 minutos e em seguida, removeram a fase aquosa com uma seringa. Em outro trabalho³⁹, após o resfriamento da amostra na mistura de gelo-acetona, os autores inverteram os tubos contendo a amostra, descartando a fase aquosa. Em seguida, a fase rica em surfactante foi submetida ao aquecimento por 100 °C para a remoção de água remanescente.

Os primeiros resultados obtidos no estudo da variação da concentração de Triton X-114 não foram satisfatórios devido a dificuldades na separação das fases e no ajuste de volume final da solução com etanol. Durante a remoção da fase aquosa, parte da fase rica em surfactante pode ser removida e, como o volume final ajustado com etanol é muito pequeno (500 μL), pequenas variações podem ocasionar em desvios significativos. Depois dos ajustes experimentais para a remoção da fase pobre em surfactante (procedimento descrito na parte experimental), foi avaliado o efeito da concentração de Triton X-114 para a extração de cobre, ferro e níquel, sendo os resultados apresentados na Figura 21. Também foi avaliada a concentração de Triton X-114 igual a 1,28 mmol L^{-1} , entretanto, a quantidade de fase rica em surfactante obtida (inferior a 50 μL) dificultou a separação reprodutível das fases.

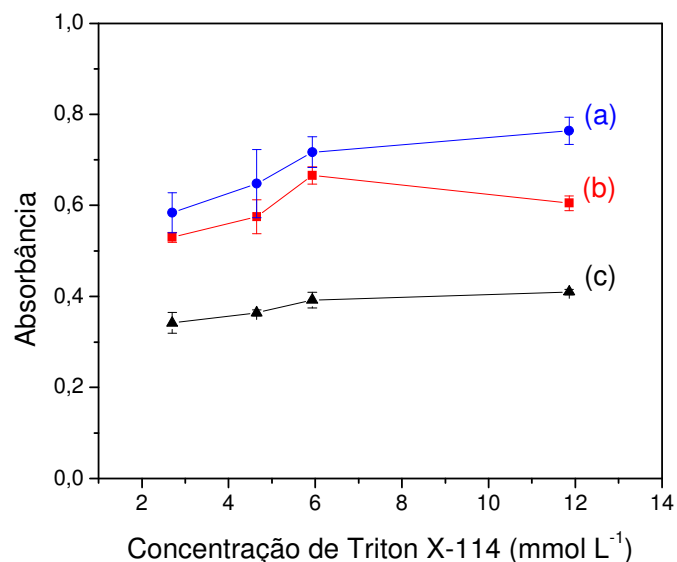


Figura 21: Efeito da concentração de Triton X-114 no procedimento para extração em ponto nuvem de: (a) níquel, (b) cobre e (c) ferro.

A concentração ótima de Triton X-114 foi 6 mmol L^{-1} que é entre 17 a 30 vezes superior à CMC do surfactante⁴⁰ e equivale a 50 mg de Triton X-114 por

determinação. Medidas por espectrofotometria UV-vis foram realizadas na fase pobre em surfactante, no comprimento de onda de máxima absorção dos complexos de cobre, ferro e níquel com TAN, após a extração e separação das fases. Foi verificado que o sinal obtido não foi significativamente diferente ao sinal do branco, indicando extração quantitativa. Cabe ressaltar que os resultados obtidos no procedimento proposto são diferentes dos esperados considerando a Figura 21 pois, após na extração, o volume de fase rica foi ajustado para um volume fixo (1 mL) com etanol. A adição do solvente orgânico foi necessária para reduzir a viscosidade da fase rica em surfactante e permitir a transferência para a cela de medida. De acordo com o diagrama de fases do Triton X-114, apresentado na Figura 22⁴¹, nesta concentração de surfactante o ponto nuvem ocorre entre 21 e 22 °C.

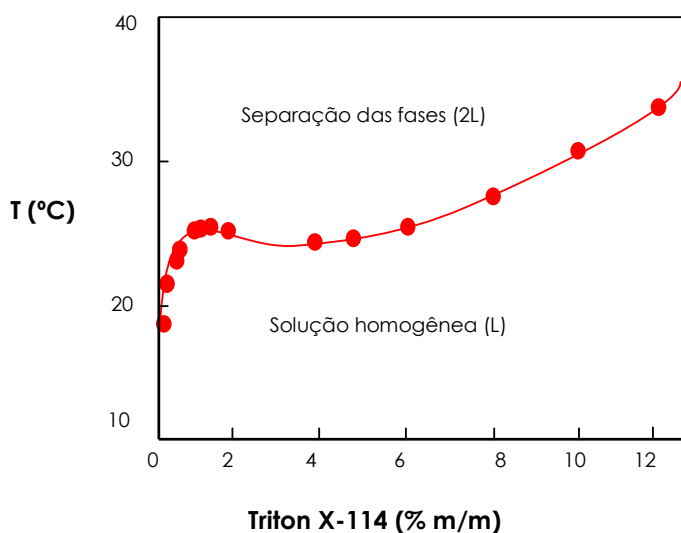


Figura 22: Variação do ponto nuvem de soluções aquosas do surfactante não iônico Triton X-114. Adaptada da referência 43.

4.6. Preparo das amostras

Para a determinação de Cu, Fe e Ni em materiais vegetais, foi realizada uma digestão ácida assistida por microondas, em sistema fechado, no qual se trabalha com pressões e temperaturas relativamente elevadas, diminuindo o tempo de decomposição, o consumo de reagentes e o risco de contaminações. Ácido nítrico diluído foi utilizado devido aos excelentes resultados obtidos anteriormente para amostras de materiais vegetais^{24,28} e para facilitar o ajuste de acidez do digerido previamente ao procedimento de extração em ponto nuvem. As quantidades de ácido nítrico e de peróxido de hidrogênio utilizadas para a decomposição da amostra foram avaliadas para melhorar a eficiência de decomposição e diminuir o consumo destes reagentes. O programa empregado na decomposição de material vegetal assistida por microondas (Tabela 4) foi utilizado anteriormente por Maruchi para a decomposição de folhas de *Crotalaria Juncea* (planta empregada como adubo verde) para a determinação de fósforo total⁴². Este estudo foi realizado utilizando massa fixa de crotalaria igual a 250 mg. Quando foram utilizados volumes inferiores a 0,4 mL de ácido nítrico, os extratos apresentaram resíduos sólidos e coloração amarelada, indicando decomposição incompleta da amostra (Figura 23a). Utilizando 0,4 mL de ácido nítrico a solução não apresentou resíduos sólidos, entretanto, apresentava coloração amarelada (Figura 23b). Para avaliar se as espécies remanescentes poderiam interferir nas determinações, foi realizado o procedimento de extração em ponto nuvem, sem a adição do complexante (TAN). Foi observado visualmente que as espécies que conferiam coloração amarelada à solução se concentravam na fase rica em surfactante (Figura 24), podendo interferir na medida espectrofotométrica. Desta forma, foi avaliada a adição de H₂O₂ para favorecer a decomposição da amostra, com conseqüente eliminação das espécies que conferem

coloração amarelada à solução. Verificou-se visualmente (Figura 23c) que, empregando 1,0 mL de peróxido de hidrogênio, o digerido obtido não apresentava coloração. Devido às variações na composição dos materiais vegetais a serem analisados, optou-se por utilizar 0,5 mL de ácido nítrico concentrado e 1,1 mL de H_2O_2 (30 %v/v).

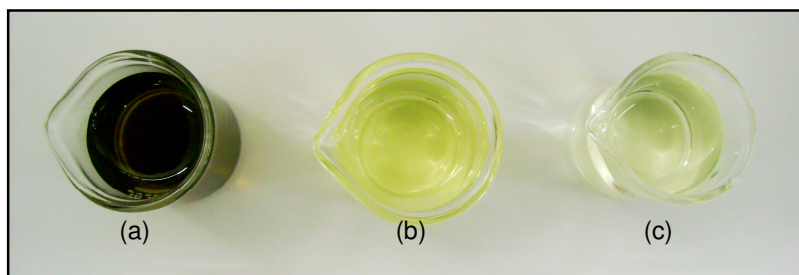


Figura 23: Fotografias de digeridos de material vegetal (crotalária) empregando forno de microondas, empregando: (a) 0,3 mL de HNO_3 ; (b) 0,4 mL de HNO_3 e (c) 0,4 mL de HNO_3 e 1,0 mL H_2O_2 .

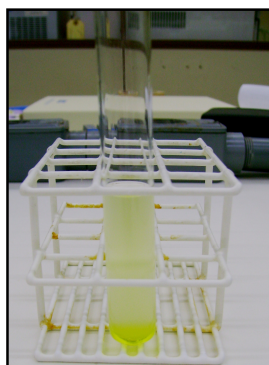


Figura 24: Fotografia de um digerido de material vegetal após procedimento de extração em ponto nuvem, sem a adição de complexante (TAN). Decomposição empregando 0,4 mL de HNO_3 .

4.7. Características analíticas em espectrofotometria UV-vis

Foi avaliado que o volume de 300 μ L de solução foi suficiente para a medida espectrofotométrica (item 3.3.8.). Desta forma após a extração em ponto nuvem o

volume da fase rica foi ajustado para 500 μL com etanol. Nestas condições, foram avaliadas algumas características analíticas do procedimento para a extração de ferro, cobre e níquel. Respostas lineares foram observadas nas faixas de concentração de 10-50 $\mu\text{g L}^{-1}$ Cu(II), 6-60 $\mu\text{g L}^{-1}$ Fe(II) e 3-33 $\mu\text{g L}^{-1}$ Ni(II), representadas pelas equações: $A = 0,0934 + 0,0046 \times C_{\text{Cu}}$ ($r=0,991$); $A = 0,0038 + 0,0055 \times C_{\text{Fe}}$ ($r=0,999$); $A = 0,0371 + 0,0181 \times C_{\text{Ni}}$ ($r=0,990$), sendo as curvas analíticas mostradas nas Figuras 25, 26 e 27.

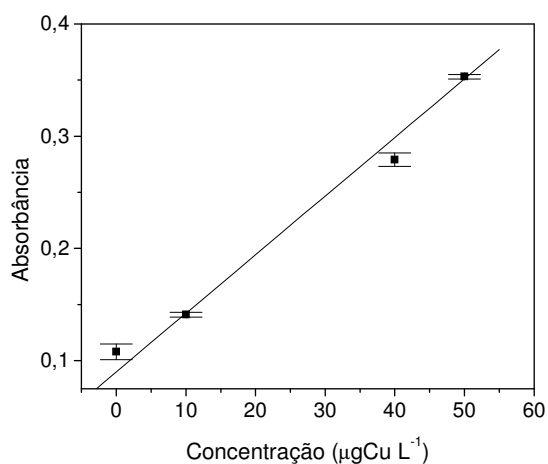


Figura 25: Curva de calibração para cobre empregando o procedimento de extração em ponto nuvem.

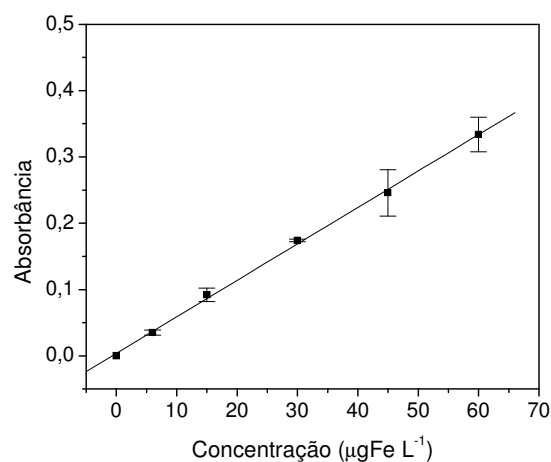


Figura 26: Curva de calibração para ferro empregando o procedimento de extração em ponto nuvem.

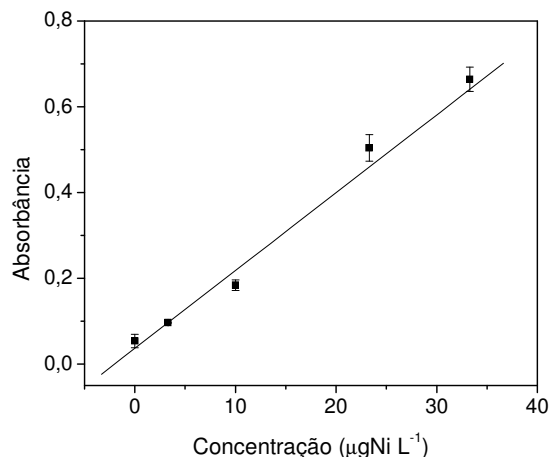


Figura 27: Curva de calibração para níquel empregando o procedimento de extração em ponto nuvem.

Para os três analitos o fator de enriquecimento foi estimado em 20, com extração quantitativa dos complexos para a fase rica em surfactante, avaliada por medidas de absorbância no sobrenadante. Estes resultados foram obtidos com ajuste de volume de fase rica para 0,5 mL com etanol.

Os limites de detecção (99,7% de confiança) foram estimados de acordo com o procedimento recomendado pela IUPAC⁴³ em $10 \mu\text{g L}^{-1}$, $1 \mu\text{g L}^{-1}$ e $6 \mu\text{g L}^{-1}$ para cobre, ferro e níquel, respectivamente. Os coeficientes de variação foram estimados (n=5) em 0,8% (cobre), 2,3% (ferro), 2,6% (níquel).

4.8. Efeito da adição de EDTA

Na Figura 14 é possível observar que os complexos de Cu, Fe e Ni formados com o TAN absorvem radiação em uma mesma região espectral. Complexos de cobre, ferro e níquel com EDTA são mais estáveis que os formados com TAN. Desta forma, do ponto de vista termodinâmico, com a adição de EDTA a uma solução dos complexos com TAN, espera-se o rompimento das ligações metal/TAN e formação

dos complexos com EDTA. Entretanto, a velocidade da reação de complexação de níquel com EDTA é menor do que a de complexação com outros íons metálicos. Essa característica pode ser explorada para determinar níquel sem a interferência de outros íons, como cobre e ferro, por exemplo. Primeiramente, este estudo foi realizado para os complexos de cobre, ferro e níquel, sendo os resultados obtidos apresentados na Tabela 8.

Tabela 8: Valores de absorvância para os complexos de cobre ferro e níquel com TAN após a adição de EDTA 0,1 mol L⁻¹.

Metal	Volume de EDTA 0,1 mol L⁻¹ (mL)	Absorvância (branco)	Absorvância sem adição de EDTA	Absorvância com adição de EDTA
Ni ²⁺	1,0	0,011	0,167	0,166
Cu ²⁺	0,1	0,010	0,080	0,010
Fe ²⁺	0,1	0,009	0,117	0,117
Fe ²⁺	1,0	0,009	0,117	0,116
Fe ³⁺	0,2	0,012	0,100	0,100
Fe ³⁺	0,3	0,011	0,100	0,080
Fe ³⁺	1,0	0,012	0,100	0,100

As medidas foram realizadas imediatamente após a mistura dos reagentes e os resultados apresentados na Tabela 8 confirmam que o complexo de níquel(II) com TAN é inerte e a reação de troca de ligantes não acontece imediatamente após a adição de EDTA. A reação de complexação de cobre ocorre imediatamente após a adição de EDTA e a adição de 0,1 mL de solução 0,1 mol L⁻¹ foi suficiente para se obter o valor de absorvância igual a do branco. Como pode ser observado na Tabela 8, a reação de complexação de ferro(II) com o EDTA não ocorreu imediatamente após a mistura, ou seja, na determinação de níquel, não seria possível eliminar a

interferência de ferro(II). O mesmo experimento foi repetido utilizando ferro(III), pois caso o ferro(III) formasse rapidamente complexo com EDTA, todo ferro presente na amostra poderia ser oxidado a ferro(III), eliminando a interferência desta espécie na determinação de níquel(II). Entretanto, ferro(II) ou (III) não formaram complexos com EDTA imediatamente após a mistura, não sendo possível empregar esta estratégia para eliminar a interferência desta espécie na determinação de níquel.

4.9. Avaliação do efeito de concomitantes por espectrofotometria UV-vis

Digeridos de materiais vegetais apresentam em sua composição diversos íons metálicos que podem formar complexos com o TAN ocasionando interferências espectrais, além de competirem com os analitos pelo reagente complexante. Desta forma, tanto interferências positivas quanto negativas poderiam ser esperadas na presença de outros íons metálicos na amostra. Os resultados obtidos na avaliação do efeito de espécies concomitantes estão apresentados na Tabela 9 em termos de porcentagem de variação do sinal analítico.

Como pode ser observado na Tabela 9, somente o ferro pode ser determinado a partir do procedimento espectrofotométrico, sem que ocorram interferências devido à formação de complexos de outros metais com o TAN que absorvem radiação na mesma região. Devido à concentração relativamente elevada em materiais vegetais, o Fe é o elemento que apresenta maior interferência na determinação de Cu e Ni. Elementos como o Ni e o Zn também causaram variação significativa do sinal analítico para cobre. Para a determinação de níquel, a presença de Cd, Co, Vn, Zn e Cu também resultou em variações maiores que 5%.

Tabela 9: Variação do sinal analítico para Cu, Fe e Ni, após a extração em ponto nuvem em função da presença de concomitantes (pH = 4,8). As concentrações de Cu, Fe e Ni foram mantidas em 25, 100 e 26 $\mu\text{g L}^{-1}$, respectivamente.

Elemento	Concentração($\mu\text{g L}^{-1}$)	Variação do sinal analítico (%)		
		Cu	Fe	Ni
Al	9×10^3	-3,7	-2,9	+5,1
Ca	8×10^5	+0,1	+4,2	+4,2
Cd	25	-1,2	+4,4	+10,5*
Co	9	-1,1	+0,3	+16,8*
Fe	6×10^3	+252,2		+172,8*
Hg	0,7	+2,6	+0,7	+2,1
Mg	2×10^4	-2,7	-2,4	+6,2
Mn	4×10^3	+6,2	-0,1	+4,0
Ni	26	+85,1	+3,0	
P	1×10^4	+4,3	-4,7	+3,3
Pb	14	+3,3	-3,8	+1,6
V	14	-2,5	+1,7	+28,8
Zn	500	+27,1	-1,7	+31,6*
Cu	95		+0,6	+8,2*

* com a adição de 200 μL de EDTA 0,1 mol L^{-1} , de acordo com procedimento descrito no item 3.3.10.

Uma estratégia avaliada para a eliminação da interferência de ferro na determinação de Ni e Cu foi a adição de F^- e PO_4^{3-} como agentes mascarantes⁴⁴. Entretanto, não foi observada variação significativa na absorvância da solução de ferro com a adição dos agentes mascarantes Isso ocorre pois os complexos formados com TAN são mais estáveis e o mascaramento é desfavorecido mesmo na presença de excesso dos complexantes (Tabela 10).

Tabela 10: Constantes de formação de íons complexos com TAN

Metais	TAN (β_2)
Cu(II)	$6,3 \times 10^{10(20)}$, $1,0 \times 10^{22(28,45)}$
Fe(III)*	$6,3 \times 10^9(20)$
Ni(II)	$2,5 \times 10^{10(20)}$, $1,0 \times 10^{21(28)}$

* β_3 (Fe(III)/F) = $5,5 \times 10^{13}$; β_4 (Fe(III)/PO₄³⁻) = $5,6 \times 10^9$ (referência 44)

Teixeira³⁰ em sua tese de doutorado realizou estudos de retenção de metais em uma coluna preenchida com TAN imobilizado em sílica funcionalizada C18, em valores de pH entre 5,5 a 7,5. Foi verificado que Fe³⁺ não era retido na coluna, enquanto a retenção de Ni²⁺ ocorria, porém sendo fortemente influenciada pela vazão. Dessa forma, uma coluna preenchida com TAN imobilizado em XAD-7 foi avaliada para a separação de ferro(III), visando a determinação de níquel(II). Os resultados obtidos estão apresentados na Tabela 11.

Tabela 11: Avaliação da eficiência de separação de ferro(III) em uma coluna preenchida com TAN imobilizado em XAD-7. Absorbância monitorada em 596 nm.

Solução	Absorbância (pH = 4,8)	Absorbância (pH = 6,5)
Branco	0,057	0,058
Complexo Ni/TAN (sem passar pela coluna)	0,333	0,332
Solução A* eluída	0,230	0,690
Solução B** eluída	0,134	0,290

Solução A*: 25 $\mu\text{g L}^{-1}$ níquel(II) e 8 mg L^{-1} ferro(III) em meio tamponado.

Solução B**: 25 $\mu\text{g L}^{-1}$ níquel(II) em meio tamponado.

Comparando os valores de absorbância da solução que contém somente níquel (solução B) passando pela coluna, e da solução do complexo Ni/TAN sem

passar pela coluna, nos dois valores de pH avaliados, é possível observar que o Ni presente na solução B não fica totalmente retido na coluna, e em pH 4,8 o sinal analítico diminui a metade. Os valores de absorvância da solução A, quando comparados com os valores obtidos para a solução B, indicam que o Fe^{3+} fica apenas parcialmente retido na coluna. O aumento do sinal medido, quando foi utilizado o tampão hexamina (pH = 6,5) pode ser justificado pela hidrólise do Fe^{3+} . Desta forma, foi utilizada uma coluna preenchida com lã de vidro para reter o precipitado formado previamente à passagem pela coluna contendo TAN imobilizado em XAD-7. Com este estudo, foi possível concluir que nas condições estudadas, além do níquel não ficar totalmente retido na coluna preenchida com TAN imobilizado em XAD-7, quantidades significativas de ferro(III) permaneceram no eluato inviabilizando a utilização desta estratégia para a separação e eliminação de interferência de ferro(III) na determinação de níquel(II).

4.10. Determinação por espectrometria de absorção atômica por chama

A espectrometria de absorção atômica por chama é uma técnica que apresenta alta seletividade, sendo menos vulnerável às interferências espectrais que a espectrofotometria UV-vis. Dessa forma, esta técnica foi também avaliada para a determinação dos analitos após extração em ponto nuvem.

Surfactantes são bastante empregados para aumentar a sensibilidade em FAAS⁷, alguns autores sugerem que este ganho se dá pelo aumento da eficiência de nebulização, em razão da diminuição da tensão superficial da solução provocada pela presença de surfactantes^{46,47}, que ocasiona a formação de gotas menores melhorando a eficiência de nebulização e aumentando o sinal analítico.

Após o procedimento de extração e pré-concentração em ponto nuvem, o volume final de amostra do extrato, após a adição de etanol à fase rica em surfactante foi de 0,5 mL. Assim, foi avaliada a possibilidade de determinar os três analitos por FAAS com uma única extração. A dificuldade de se trabalhar com volumes pequenos de amostra ocorre durante a introdução da amostra no espectrômetro, visto que bolhas de ar podem misturar-se com a amostra, alterando o perfil dos sinais transientes e prejudicando a precisão. Utilizando uma ponteira de micropipeta conectada diretamente ao tubo de aspiração do nebulizador (Figura 12A), volumes variáveis de amostra foram inseridos, através de uma micropipeta. Os resultados obtidos neste experimento (Figura 28) foram comparados com o obtido por aspiração direta da amostra ($A = 0,17$).

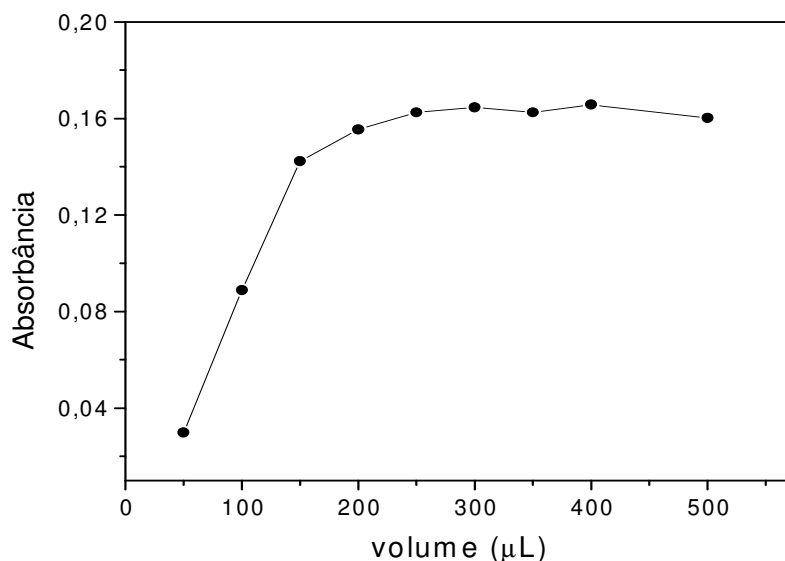


Figura 28: Variação do sinal analítico para o Cu em função do volume de amostra injetado. Concentração de Cu igual a 1 mg L^{-1} , $\text{pH}=4,8$.

Para volume de amostra inserido de 150 µL , o sinal foi aproximadamente 82 % do sinal obtido por aspiração direta da amostra. A utilização de 150 µL de extrato permite que a partir de um único procedimento de extração possa se determinar as

três espécies de interesse (Cu, Fe e Ni), evitando assim que se tenha que realizar aberturas de amostras separadas para a determinação destes elementos e, portanto, a precisão pode ser afetada pela habilidade do operador. A Tabela 12 apresenta os coeficientes de variação estimados considerando as três estratégias avaliadas para inserção da amostra no nebulizador.

Tabela 12: Coeficientes de variação (n=8) estimados nos diferentes procedimentos de inserção de amostras no FAAS.

	CV (%)
Aspiração direta	1,5
Ponteira na entrada do nebulizador	3,4
Injetor comutador (alça de amostragem)	3,2
Injetor comutador (ponteira)	1,2

Com a introdução direta é necessário que a amostra seja dispensada da ponteira mais rápido que a aspiração da mesma pelo nebulizador. Com a utilização do injetor comutador para a inserção da amostra no nebulizador (Figura 12B e C), a repetibilidade foi melhor, pois a taxa de inserção da amostra é condicionada à taxa de aspiração do nebulizador, o que não ocorre quando o volume de amostra é dispensado na ponteira, sendo necessário um controle maior na taxa com que a amostra é dispensada. A substituição da alça de amostragem por uma ponteira de pipeta (Figura 29) é mais vantajosa, pois permite diminuir a impedância hidrodinâmica e melhorar a precisão das medidas. A Figura 30 apresenta os sinais transientes para as soluções de referência de cobre, obtidos pela inserção de 150 μL de solução empregando esta estratégia.



Figura 29: Fotografia do injetor-comutador acoplado ao tubo de aspiração do nebulizador para a inserção dos extratos nas determinações por FAAS.

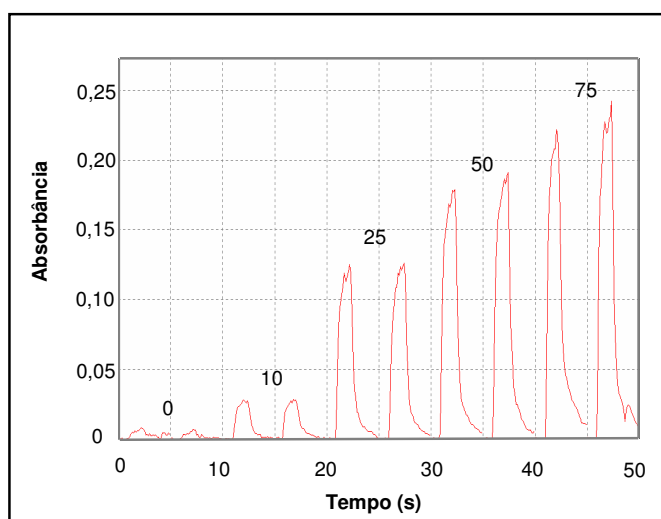


Figura 30: Sinais transientes para as soluções de referência de Cu (concentrações em $\mu\text{g L}^{-1}$).

4.10.1. Avaliação do efeito de concomitantes por FAAS

Os resultados referentes à avaliação do efeito de espécies concomitantes estão apresentados na Tabela 13. Para todas as espécies avaliadas, a interferência foi menor que 5%.

Tabela 13: Variação do sinal analítico para Cu, Fe e Ni na presença de espécies concomitantes, avaliada através de medidas por FAAS. Concentrações de Cu, Fe e Ni fixadas em 25, 100 e 26 $\mu\text{g L}^{-1}$, respectivamente.

Elemento	Concentração ($\mu\text{g L}^{-1}$)	Variação do sinal analítico (%)		
		Cu	Fe	Ni
Al	9×10^3	-2,2	-0,1	+2,1
Ca	8×10^5	-3,8	+4,9	+4,6
Cd	25	-1,9	-1,5	+4,7
Co	9	+4,9	-1,3	+2,5
Fe	6×10^3	+3,7	–	+3,9
Hg	0,7	+3,4	+0,7	+4,9
Mg	2×10^4	+0,3	-2,4	+4,9
Mn	4×10^3	+1,2	-0,8	+1,3
Ni	26	+4,9	+3,0	–
P	1×10^4	+4,8	-4,7	+0,6
Pb	14	+1,8	-4,2	+4,8
V	14	-1,5	+1,7	+3,3
Zn	500	+3,8	-1,7	+3,2
Cu	95	-	-3,7	+4,0

A interferência causada pela presença de concomitantes foi pouco pronunciada, quando estes elementos foram estudados separadamente, o que mostra que a extração em ponto nuvem para íons metálicos com posterior determinação em FAAS é bastante viável. Com o procedimento de extração, íons como Na^+ , K^+ , Ca^{2+} e Mg^{2+} , que podem causar interferências espectrais e de ionização em absorção atômica por chama, são separados da fase rica em surfactante, por não formarem complexos com TAN.

4.10.2. Características analíticas em FAAS

Algumas características analíticas do procedimento para a extração de ferro, cobre e níquel e detecção por FAAS foram avaliadas. Respostas lineares foram observadas para cobre e ferro na faixa de concentração de 25-200 $\mu\text{g L}^{-1}$, e para o níquel entre 5 e 80 $\mu\text{g L}^{-1}$. As retas obtidas são descritas pelas equações $A = 0,0150 + 0,0028 \times C_{\text{Cu}}$ ($r=0,999$); $A = 0,0644 + 0,0051 \times C_{\text{Fe}}$ ($r=0,996$); $A = 0,0195 + 0,0011 \times C_{\text{Ni}}$ ($r=0,999$), sendo as curvas analíticas mostradas nas Figuras 31, 32 e 33.

O fator de enriquecimento foi estimado em 30, maior que o estimado em espectrofotometria (20), com extração quantitativa dos complexos para a fase rica em surfactante, avaliada por medidas de absorbância no sobrenadante. Estes resultados foram obtidos com ajuste de volume de fase rica para 0,5 mL com etanol.

Os limites de detecção (99,7% de confiança) foram estimados de acordo com o procedimento recomendado pela IUPAC⁴³ em 1 $\mu\text{g L}^{-1}$, 10 $\mu\text{g L}^{-1}$ e 5 $\mu\text{g L}^{-1}$ para cobre, ferro e níquel, respectivamente. Os Limites de detecção obtidos por FAAS foram 10 vezes menor para cobre, 10 maior para ferro e igual ao obtido por espectrofotometria para níquel.

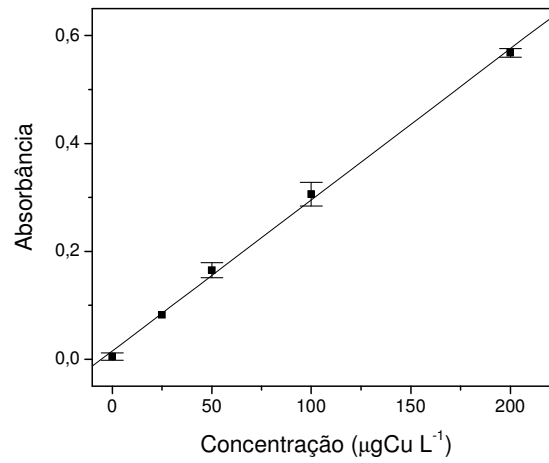


Figura 31: Curva de calibração para cobre empregando o procedimento de extração em ponto nuvem e detecção por FAAS.

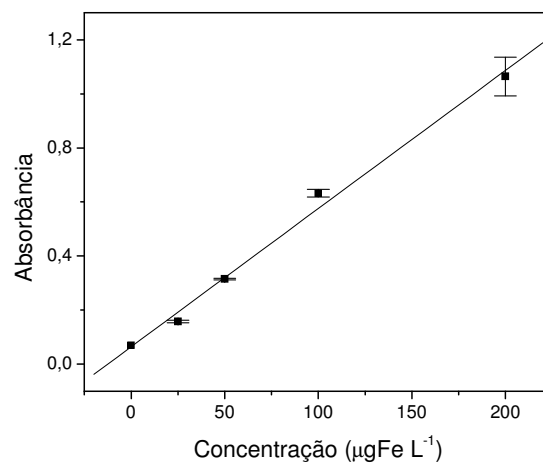


Figura 32: Curva de calibração para ferro empregando o procedimento de extração em ponto nuvem e detecção por FAAS.

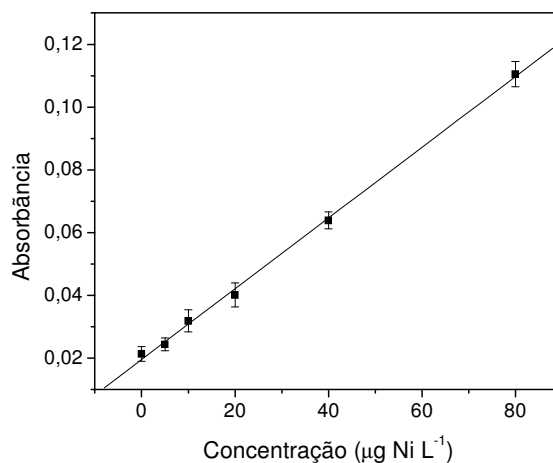


Figura 33: Curva de calibração para níquel empregando o procedimento de extração em ponto nuvem e detecção por FAAS.

4.11. Determinação de cobre, ferro e níquel em materiais vegetais certificados

4.11.1. Determinação em espectrofotometria UV-Vis

Utilizando o procedimento proposto para a extração em ponto nuvem com detecção por espectrofotometria UV-vis, somente foi possível a determinação de ferro, devido às interferências discutidas anteriormente, este metal está presente em materiais vegetais em concentrações relativamente elevadas, causando interferências consideráveis na determinação de cobre e níquel. Os valores de absorbância de cobre e níquel obtidos para as amostras excederam os valores obtidos para as soluções de referência mais concentradas e a aplicação deste procedimento para a determinação destes metais por espectrofotometria de absorção molecular se tornou inviável. Os resultados das análises de ferro estão apresentados na Tabela 14.

Tabela 14: Determinações de ferro em materiais certificados por espectrofotometria de absorção molecular, empregando o procedimento de extração em ponto nuvem.

Material	Concentração ($\mu\text{g g}^{-1}$)	
	Certificado	Encontrado
NIST 1547 Peach Leaves	218 ± 14	209 ± 21
NIST 1573a Tomato Leaves	368 ± 7	356 ± 6
NIST 1515 Apple Leaves	83 ± 5	81 ± 1
NBS 1572 Citrus leaves	90 ± 10	93 ± 9

O procedimento proposto para a determinação de ferro apresentou resultados concordantes com os valores certificados com nível de confiança de 95 %.

4.10.2. Determinação por FAAS

Após a digestão da amostra, o excesso remanescente de ácido foi neutralizado com uma solução de NaOH e, em seguida, o pH foi ajustado com uma solução tampão acetato (pH=4,8). Entretanto, os digeridos de alguns materiais de referência certificados (NIST 1547 peach leaves e NIST 1515 apple leaves) apresentaram coloração amarelada após o ajuste de pH, que antes não era observada (Figura 34)

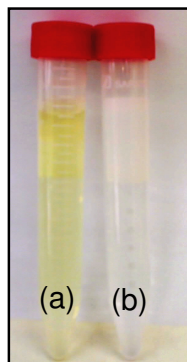


Figura 34: Fotografia dos digeridos do material certificado NIST 1547 (peach leaves). (a) pH = 4,8 e (b) antes na neutralização com NaOH.

Um espectro de absorção molecular de um digerido de material vegetal (NIST 1547 peach leaves), após o ajuste de pH, está apresentado na Figura 35.

Observando o espectro de absorção do digerido do material certificado NIST 1547 na Figura 35, é possível observar bandas de absorção na região do ultravioleta, os valores de absorbância são elevados mesmo após diluição de 1:10. Estes resultados são um indicativo de presença de substâncias orgânicas presentes no digerido que podem causar interferência na determinação de níquel.

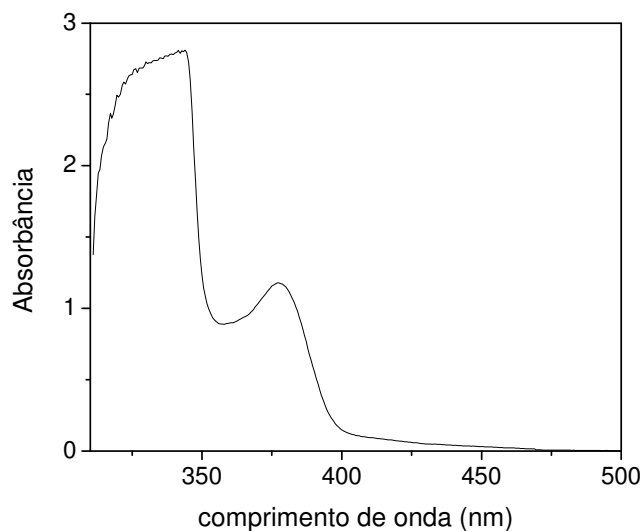


Figura 35: Espectro de absorção para o digerido do material certificado NIST 1547 peach leaves após diluição 1:10 com água deionizada. pH=4,8.

Apesar disto, as amostras foram submetidas ao procedimento de extração em ponto nuvem desenvolvido e os resultados para cobre e ferro foram concordantes com os valores certificados com nível de confiança de 95 % (Tabela 15). Entretanto, foi observada elevada interferência positiva na determinação de níquel, com valores

de absorbância acima do valor obtido para a solução mais concentrada empregada para a construção da curva de calibração.

Uma estratégia avaliada para a eliminação da interferência na determinação de níquel por FAAS foi de realizar a extração em ponto nuvem sem a adição de TAN, para a remoção da matéria orgânica remanescente após a digestão ácida. Com este procedimento as espécies que causaram coloração amarelada nos digeridos foram removidas da solução, concentrando-se na fase rica em surfactante, conforme pode ser observado na Figura 36. Após a separação das fases, a fase aquosa foi submetida novamente ao procedimento de extração e ponto nuvem, com a adição do complexante TAN. Em seguida, as amostras foram analisadas por FAAS e os resultados obtidos para a determinação de níquel estão também apresentados na Tabela 15.

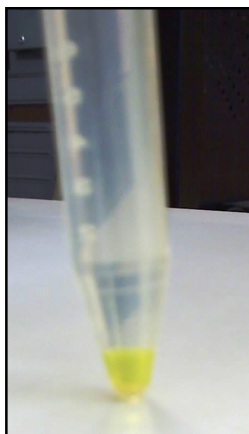


Figura 36: Fotografia do digerido do material certificado NIST 1547 peach leaves após a separação em ponto nuvem.

Tabela 15: Determinação de ferro, cobre e níquel em materiais certificados empregando FAAS após extração em ponto nuvem .

Analito	Amostra	Concentração ($\mu\text{g g}^{-1}$)	
		Certificado	Encontrado
Cu	NIST 1573a Tomato Leaves	$4,70 \pm 0,14$	$4,69 \pm 0,19$
	NIST 1515 Apple Leaves	$5,64 \pm 0,24$	$5,56 \pm 0,12$
Fe	NIST 1547 Peach Leaves	218 ± 14	210 ± 3
	NIST 1573a Tomato Leaves	368 ± 7	376 ± 6
	NIST 1515 Apple Leaves	83 ± 5	84 ± 1
	NBS 1572 Citrus leaves	90 ± 10	96 ± 2
Ni*	NIST 1547 Peach Leaves	$0,69 \pm 0,09$	$0,74 \pm 0,04$
	NIST 1515 Apple Leaves	$0,91 \pm 0,12$	$1,03 \pm 0,29$

* após procedimento de pré-tratamento por extração em ponto nuvem sem a adição de TAN.

Na literatura, é apresentado um trabalho em que os autores realizam a determinação de níquel em amostras de águas por extração líquido-líquido após complexação com TAN⁴⁸, sendo utilizados 25 mL de clorofórmio para a extração de níquel. Espectrofotometria derivativa foi utilizada para melhoria de seletividade e o limite de quantificação foi estimado em $120 \mu\text{g L}^{-1}$.

Chen e Teo⁴⁹ realizaram extração em ponto nuvem para a determinação de cobalto e níquel em amostras de águas por FAAS, partindo de 50 mL de amostra, com fator de pré-concentração igual a 65 para o níquel e limite de detecção de $0,44 \mu\text{g L}^{-1}$. A concentração de TAN foi igual a $0,02 \text{ mmol L}^{-1}$ (3 vezes inferior à empregada neste trabalho) e concentração de Triton X-114 igual a 0,05% (m/v), sendo que no presente trabalho a concentração de Triton X-114 foi igual a 0,33% (m/v). Os menores fatores de pré-concentração e menores limites de detecção obtidos nestes trabalhos podem ser justificado pelo emprego de maior volume de amostra no procedimento de extração. Vale ressaltar que em amostras

de águas os metais que podem formar complexos com o TAN estão presentes em concentrações mais elevadas, quando comparadas com amostras de materiais vegetais.

Fallahi e Farajzadeh⁵⁰ propuseram um método para extração simultânea de nove íons metálicos, entre eles Cu^{2+} , Fe^{3+} e Ni^{2+} com posterior determinação em amostras de águas por FAAS, utilizando o Triton X-114 como surfactante. Partindo de 100 mL de amostra os fatores de enriquecimento obtidos foram de 115, 79 e 75 para o cobre, ferro e níquel, respectivamente, adicionando etanol à fase rica para um volume final de 1 mL. A concentração de Triton X-114 em que a extração foi máxima para os nove cátions foi igual a 1% (m/v).

5. CONCLUSÕES

Neste trabalho, foram desenvolvidos procedimentos analíticos para a determinação de cobre, ferro e níquel em materiais vegetais, apresentado resultados satisfatórios, quando a detecção foi feita por FAAS, confirmando que a extração em ponto nuvem é uma excelente estratégia para a substituição de solventes tóxicos em procedimentos de extração líquido-líquido convencionais.

A determinação destas espécies após complexação com o TAN e posterior detecção por espectrofotometria UV-vis não foi possível para duas espécies (cobre e níquel) devido a interferências espectrais causadas por outros metais presentes na matriz, principalmente o ferro. Entretanto, devido aos complexos de ferro com TAN apresentarem dois máximos de absorção, sendo um deles em uma região diferente dos outros metais presentes, a determinação e deste elemento foi possível, e os resultados obtidos foram concordantes com os valores certificados.

A etapa de preparação da amostra é fundamental para transferir os analitos para solução e para a remoção da matéria orgânica. Interferências na determinação de níquel foram observadas, mesmo depois da amostra ser submetida à digestão ácida. O emprego da extração em ponto nuvem para o pré-tratamento da amostra, visando a eliminação da matéria orgânica remanescente mostrou que procedimento também pode ser utilizado para a separação de interferentes no meio.

6. ETAPAS FUTURAS

Com base nos resultados obtidos durante a realização deste projeto, algumas propostas poderão ser avaliadas em trabalhos futuros, tais como:

(i) Estudo de interferências em FAAS na determinação de níquel em materiais vegetais e avaliação de procedimentos de extração em ponto nuvem para separação de substâncias orgânicas.

(ii) Utilização da extração em ponto nuvem em estudos de fracionamento de íons metálicos em materiais vegetais.

(iii) Utilização da estratégia de inserção de amostras em FAAS, empregadas neste trabalho, para adicionar pequenos volumes de amostras em ICP-OES, evitando a extinção do plasma em matrizes que contenham elevadas concentrações de orgânicos.

(iv) Acoplamento da extração em ponto nuvem em sistemas de análise em fluxo.

7. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

1. ANASTAS, P.T.; KIRCHHOFF, M.M. Origins, current status, and future challenges of green chemistry, **Accounts of Chemical Research**, 35, p.686-694, 2002.
2. ROCHA, F.R.P.; NÓBREGA, J.A.; FATIBELLO-FILHO, O. Flow injection strategies to greener analytical chemistry, **Green Chemistry**, 3, p.216-220, 2001.
3. ANASTAS, P.T. Green Chemistry and the role of analytical methodology development, **Critical Reviews in Analytical Chemistry**, 29, p.167-175, 1999.
4. BEZERRA, M.A.; FERREIRA, S.L.C. **Extração em ponto nuvem: princípios e aplicações em química analítica**, Vitória da Conquista: Edições Uesb, 2006, 165p.
5. ROCHA, F.R.P.; TEIXEIRA, L.S.G. Estratégias para o aumento de sensibilidade em espectrofotometria UV-VIS, **Química Nova**, 27, p.807-812, 2004.
6. MANIASSO, N. Ambientes micelares em química analítica, **Química Nova**, 24, p.83-93, 2001.
7. SANZ-MEDEL, A.; CAMPA, M.R.F.; GONZALEZ, E.B.; FERNANDEZ-SANCHEZ, M.L. Organized surfactant assemblies in analytical atomic spectrometry, **Spectrochimica Acta B**, 54, p.251-287, 1999.
8. FRANKWICH, R.P.; HINZE, W.L. Evaluation and optimization of the factors affecting nonionic surfactant-mediated phase separations, **Analytical Chemistry**, 66, p.944-954, 1994.
9. ISHII, H.; MIURA, J.; WATANABE, H. Extraction of nickel with 1-(2-thiazolylazo)-2-naphthol into nonionic surfactant as solvent, **Bunseki Kagaku**, 26, p.252-256, 1977, apud referência 4.

-
10. LINDMAN, B.; WENNESTROM, H.J. Nonionic micelles grow with increasing temperature, **Physical Chemistry**, 95, p.6053-6054, 1991.
 11. TOERNE, K. JACKSON, R.; WANDRUSZKA, R.V. Chain length selectivity in the clouding of a Triton surfactant, **Journal of Colloid and Interface Science**, 257, p.412-414, 2003.
 12. CORTI, M.; MINERO, C. Cloud point transition in nonionic micellar solutions, **Journal of Physical Chemistry**, 88, p.309-317, 1984.
 13. STALIKAS, C.D. Micelle-mediated extraction as a tool for separation and preconcentration in metal analysis, **Trends in Analytical Chemistry**, 21, p.343-355, 2002.
 14. QUINA, F.H.; HINZE, W.L. Surfactant-mediated cloud point extractions: An environmentally benign alternative separation approach, **Industrial e Engineering Chemistry Research**, 38, p.4150-4168, 1999.
 15. BEZERRA, M.A.; CONCEIÇÃO, A.L.B.; FERREIRA, S.L.C. Doehlert matrix for optimization of procedure for determination of nickel in saline oil-refinery effluents by use of flame atomic absorption spectrometry after pre-concentration by cloud-point extraction, **Analytical and Bioanalytical Chemistry**, 378, p.798-803, 2004.
 16. ZAREI, A.R. Cloud point formation based on mixed micelle in the presence of electrolyte for extraction, preconcentration, and spectrophotometric determination of trace amounts of hydrazine in water and biological samples, **Analytical Biochemistry**, 369, p.161-167, 2007.
 17. LING, W.; GUI-BIN, J.; YA-GI, C.; BIN, H.; YA-WEI, W.; DAZHONG, S. Cloud point extraction coupled with HPLC-UV for the determination of phthalate esters in

environmental water samples, **Journal of Environmental Sciences**, 19, p.874–878, 2007.

18. TANG, A.N.; JIANG, D.Q.; JIANG, Y.; WANG, S.W.; YAN, X.P. Cloud point extraction for high-performance liquid chromatographic speciation of Cr(III) and Cr(VI) in aqueous solutions, **Analytical Chimica Acta**, 507, p.199-204, 2004.

19. LEMOS, V.A.; SANTOS, E.S.; SANTOS, M.S.; YAMAKI, R.T. Thiazolylazo dyes and their application in analytical methods, **Microchimica Acta**, 158, p.189-204, 2007.

20. OMAR, M.M.; MOHAMED, G.G. Potentiometric, spectroscopic and thermal studies on the metal chelates of 1-(2-thiazolylazo)-2-naphthol, **Spectrochimica Acta Part A**, 61, p.929-936, 2005.

21. UENO, K.; IMAMURA, T.; CHENG K.L., **Handbook of Organic Analytical Reagents**, CRC Press; Florida, p.203, 1992.

22. EPSTEIN, E.; BLOOM, A.J. **Mineral nutrition of plants: principles and perspective**, Sinauer Associates; Califórnia, p. 212, 2005.

23. ABU-SAMRA, A.; MORRIS, J.S.; KOIRTYOHANN, S.R., Wet ashing of some biological samples in a microwave oven, **Analytical Chemistry**, 47, p.1475-1477, 1975.

24. MARUCHI, A.K.; ROCHA, F.R.P. An improved procedure for phosphorous fractionation in plant materials exploiting sample preparation and monosegmented flow analysis, **Microchemical Journal**, 82, p.207-213, 2006.

25. KINGSTON, H.M.; HASWELL, S.J. **Microwave-enhanced chemistry**, Washington, American Chemical Society, p.772, 1997.

-
26. ARAÚJO, G.V.L.; GONZALEZ, M.H.; FERREIRA, A.G.; NOGUEIRA, A.R.A.; NÓBREGA, J.A. Effect of acid concentration on closed-vessel microwave-assisted digestion of plant materials, **Spectrochimica Acta B**, 57, p.2121-2132, 2002.
27. FERREIRA, S.L.; NANO, R.M.W. Use of 1-(2-thiazolylazo) 2-naphthol in rapid determination of iron in geological matrices, **Talanta**, 41, p. 1937-1941, 1994.
28. UENO, K.; IMAMURA, T.; CHENG K.L., **Handbook of Organic Analytical Reagents**, CRC Press; Florida, 1992, 203.
29. BEZERRA, M.A.; ARRUDA, M.A.Z.; FERREIRA, S.L.C. Cloud point extraction as a procedure of separation and preconcentration for metal determination using spectroanalytical techniques: A review, **Applied Spectroscopy Reviews**, 40, p.269-299, 2005.
30. TEIXEIRA, L.S.G. **Aplicações de 1-2-(Tiazolilazo)-2-Naftol imobilizado em sílica funcionalizada C18 em espectrofotometria em fase sólida**, p.96, Tese de Doutorado, Instituto de Química, Universidade Federal da Bahia, Salvador, 2000.
31. QUEIROZ, Z.F.; ROCHA, F.R.P.; KNAPP, G.; KRUG, F.J. Flow system with in-line separation/preconcentration coupled to graphite furnace atomic absorption spectrometry with W-Rh permanent modifier for copper determination in seawater, **Analytica Chimica Acta**, 463, p.275-282, 2002.
32. CORDERO, B.M.; PAVÓN, J.L.P.; PINTO, C.G.; LAESPADA, M.E.F. Cloud point methodology: a new approach for preconcentration and separation in hydrodynamic systems of analysis, **Talanta**, 40, p.1703-1710 1993.
33. SILVA, M.F.; CERUTTI, E.S.; MARTINEZ, L.D. Coupling cloud point extraction to instrumental detection systems for metal analysis, **Microchimica Acta**, 155, p.349-364, 2006.

-
34. BORGES, D.L.G.; VEIGA, M.A.M.S.; FRESCURA, V.L.A.; WELS, B.; CURTIUS, A.J. Cloud-point extraction for the determination of Cd, Pb and Pd in blood by electrothermal atomic spectrometry, using Ir or Ru as permanent modifiers, **Journal of Analytical Atomic Spectrometry**, 18, p.501-507, 2003.
35. VEIGA, M.A.M.S.; ROCHA, F.R.P. Unconventional liquid-liquid extraction in undergraduate laboratories: cloud-point separation and preconcentration, **Chemical Educator**, 11, p.187-189, 2006.
36. WILLOUD, J.C.A.; WILLOUD, R.G.; SILVA, M.F.; OLSINA, R.A.; MARTINEZ, L.D. Sensitive determination of mercury in tap water by cloud point extraction preconcentration and flow injection-cold vapor inductively coupled plasma optical emission spectrometry, **Spectrochimica Acta B**, 57, p.365-374, 2002.
37. WILLOUD, G.M.; WILLOUD, J.C.A.; WILLOUD, R.G.; SILVA, M.F.; OLSINA, R.A.; MARTINEZ, L.D. Cloud point extraction of vanadium in parenteral solutions using a nonionic surfactant (PONPE 5.0) and determination by flow injection-inductively coupled plasma optical emission spectrometry, **Talanta**, 58, p.619-627, 2002.
38. MANZOORI, J.L.; BAVILI-TABRIZI, A. Cloud point preconcentration and flame atomic absorption spectrometric determination of Cd and Pb in human hair, **Analytica Chimica Acta**, 470, p.215-221, 2002.
39. MANZOORI, J.L.; NEZHAD-KARIM, G. Sensitive and simple cloud-point preconcentration atomic absorption spectrometry: Application to the determination of cobalt in urine samples, **Analytical Sciences**, 19, p.579-583, 2003.
40. HINZE, W.L.; PRAMAURO, E. A critical review of surfactant-mediated phase separations (cloud point-extractions): Theory and applications, **Critical Reviews in Analytical Chemistry**, 24, p.133-177, 1993.

-
41. LAESPADA, M.E.F.; PAVON, J.L.P.; CORDERO, B.M. Micelle-mediated methodology for the preconcentration of uranium prior to its determination by flow injection, **Analyst**, 118, p.209-212, 1993.
42. MARUCHI, A.K. **Fracionamento de fósforo em plantas empregando diferentes procedimentos de preparo de amostra e sistema de análise em fluxo monossegmentado**, p.27, Dissertação de Mestrado, Instituto de Química, Universidade de São Paulo, São Paulo, 2005.
43. THOMPSON, M.; BEE, H.M.; CHEESEMAN, R.V.; EVANS, W.H.; LORD, D.W.; RIPLEY, B.D.; WOOD, R.; WILSON J.J. Recommendations for the definition, estimation and use of the detection limit, **Analyst**, 112, p.199-204, 1987.
44. LURIE, J. **Handbook of Analytical Chemistry**, Mir Publishers, Moscow, p.293, 1978.
45. ANDERSON, R.G.; NICKLESS, G. Heterocyclic azo dyestuffs in analytical chemistry: A review, **Analyst**, 92, p.207-237, 1967.
46. KODOMA, M.; MIYAGAWA, S. Enhancing and suppressing effects of surfactants in atomic absorption flame spectrometry, **Analytical Chemistry**, 52, p.2358-2361, 1980.
47. RUIZ, A.I.; CANAIS, A.; HERNANDIS, V. Effects of surfactants in flame atomic absorption spectrometry with pneumatic nebulization: influence of hydrophobic chain length, **Journal of Analytical Atomic Spectrometry**, 8, p.109-114, 1993.
48. MALINOWSKA, E.; KASIURA, K. Extraction – spectrophotometric determination of nickel with 2-(2-thiazolylazo)-1-naphthol using derivative spectrophotometry, **Chemia Analityczna**, 31, p.797-809, 1986, apud Analytical Abstracts, disponível em:

<http://web5s.silverplatter.com/webspirs/start.ws?customer=capex>. Acesso em 7 de janeiro de 2008.

49. CHEN, J.; TEO, K.C. Determination of cobalt and nickel in water samples and their determination by flame atomic absorption spectrometry, **Analytica Chimica Acta**, 434, p.325-330, 2001.

50. FARAJZADEH, M.A. FALLAHI, M.R. simultaneous cloud-point extraction of nine cations from water samples and their determination by flame atomic absorption spectrometry, **Analytical Sciences**, 22, p.635-639, 2006.

Livros Grátis

(<http://www.livrosgratis.com.br>)

Milhares de Livros para Download:

[Baixar livros de Administração](#)

[Baixar livros de Agronomia](#)

[Baixar livros de Arquitetura](#)

[Baixar livros de Artes](#)

[Baixar livros de Astronomia](#)

[Baixar livros de Biologia Geral](#)

[Baixar livros de Ciência da Computação](#)

[Baixar livros de Ciência da Informação](#)

[Baixar livros de Ciência Política](#)

[Baixar livros de Ciências da Saúde](#)

[Baixar livros de Comunicação](#)

[Baixar livros do Conselho Nacional de Educação - CNE](#)

[Baixar livros de Defesa civil](#)

[Baixar livros de Direito](#)

[Baixar livros de Direitos humanos](#)

[Baixar livros de Economia](#)

[Baixar livros de Economia Doméstica](#)

[Baixar livros de Educação](#)

[Baixar livros de Educação - Trânsito](#)

[Baixar livros de Educação Física](#)

[Baixar livros de Engenharia Aeroespacial](#)

[Baixar livros de Farmácia](#)

[Baixar livros de Filosofia](#)

[Baixar livros de Física](#)

[Baixar livros de Geociências](#)

[Baixar livros de Geografia](#)

[Baixar livros de História](#)

[Baixar livros de Línguas](#)

[Baixar livros de Literatura](#)
[Baixar livros de Literatura de Cordel](#)
[Baixar livros de Literatura Infantil](#)
[Baixar livros de Matemática](#)
[Baixar livros de Medicina](#)
[Baixar livros de Medicina Veterinária](#)
[Baixar livros de Meio Ambiente](#)
[Baixar livros de Meteorologia](#)
[Baixar Monografias e TCC](#)
[Baixar livros Multidisciplinar](#)
[Baixar livros de Música](#)
[Baixar livros de Psicologia](#)
[Baixar livros de Química](#)
[Baixar livros de Saúde Coletiva](#)
[Baixar livros de Serviço Social](#)
[Baixar livros de Sociologia](#)
[Baixar livros de Teologia](#)
[Baixar livros de Trabalho](#)
[Baixar livros de Turismo](#)