

**UNIVERSIDADE FEDERAL DE SÃO CARLOS**

**CENTRO DE CIÊNCIAS EXATAS E DE TECNOLOGIA**

**DEPARTAMENTO DE QUÍMICA**

**PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM QUÍMICA**

**DESENVOLVIMENTO DE UM FOTÔMETRO  
PORTÁTIL USANDO LED COMO FOTODETECTOR E  
DE PROCEDIMENTOS ANALÍTICOS AUTOMÁTICOS  
EMPREGANDO MULTICOMUTAÇÃO EM FLUXO**

Milton Batista da Silva\*

Tese apresentada como parte dos requisitos  
para obtenção do título de DOUTOR EM  
CIÊNCIAS, área de concentração: QUÍMICA  
ANALÍTICA

Orientador Prof. Dr. Boaventura Freire dos Reis

\*Bolsista CAPES e CAPES (BEX: 2939/05-3)

São Carlos – SP

2008

**Ficha catalográfica elaborada pelo DePT da  
Biblioteca Comunitária/UFSCar**

S586df

Silva, Milton Batista da.

Desenvolvimento de um fotômetro portátil usando LED como fotodetector e de procedimentos analíticos automáticos empregando multicomutação em fluxo / Milton Batista da Silva. -- São Carlos : UFSCar, 2008.  
83 f.

Tese (Doutorado) -- Universidade Federal de São Carlos, 2008.

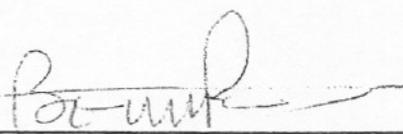
1. Multicomutação. 2. Análise por injeção de fluxo.  
3. Espectrofotometria. 4. Química analítica. 5. LED. I. Título.

CDD: 543.07 (20<sup>a</sup>)

UNIVERSIDADE FEDERAL DE SÃO CARLOS  
Centro de Ciências Exatas e de Tecnologia  
Departamento de Química  
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM QUÍMICA  
Curso de Doutorado

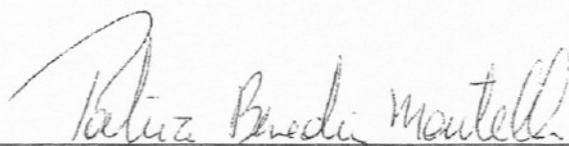
---

Assinaturas dos membros da banca examinadora que avaliaram e aprovaram a defesa de tese de doutorado do candidato **Milton Batista da Silva** realizado em 16 de julho de 2008:



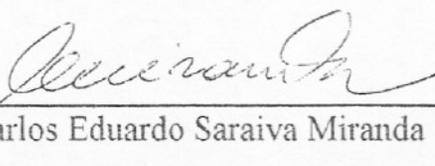
---

Prof. Dr. Boaventura Freire dos Reis



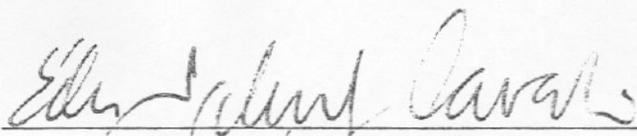
---

Profa. Dra. Patrícia Benedini Martelli



---

Prof. Dr. Carlos Eduardo Saraiva Miranda



---

Prof. Dr. Eder Tadeu Gomes Cavaleiro



---

Prof. Dr. Jarbas José Rodrigues Rohwedder

*A Deus, por fazer-me consciente de sua existência, de seu amor infinito e incondicional. "O Senhor é meu pastor e nada me faltará"*

*Aos meus pais João Batista e Francisca, pela dedicação, amor, compreensão, compromisso à família e pelo exemplo de luta, coragem e determinação.*

*Aos meus irmãos, Maria Daluz,  
Manoel, Eudo, Helda e Gertane  
Naglis, pelo incentivo, confiança e  
amizade e aos meus queridos sobrinhos  
Jéssica, Monara, João Helder e  
Ana Cecília, pelo grande carinho.*

*A minha querida esposa, Francisca  
Dark, pelo amor, compreensão, apoio  
e incentivo em todos os momentos.*

*Dedico*

*Ao Prof. Dr. Boaventura, pela  
orientação, amizade, compreensão nos  
momentos necessários e pela confiança  
a mim depositada.*

*Meu especial agradecimento*

*Aos amigos: Sonia, Lúcia, Edivan,  
Gizele, Beneilde, Rita, Dário,  
Sivanildo, Lindalva e Madalena,  
pela amizade e incentivo durante esta  
caminhada. Respeitando as nossas  
diferenças, concordamos, discordamos,  
aprendemos e evoluímos ao longo de  
nosso convívio, trilhando objetivos  
semelhantes e buscando alcançá-los  
com respeito e ajuda mútua.*

*Amigos para sempre*

## AGRADECIMENTOS

- ❖ À Universidade Federal de São Carlos pela oportunidade proporcionada;
- ❖ À Coordenação de Aperfeiçoamento de Pessoal de Nível Superior (CAPES), pela concessão da bolsa de estudos;
- ❖ Ao Programa de Pós-Graduação em Química pela oportunidade;
- ❖ Aos Professores Ana Rita A. Nogueira (EMBRAPA, São Carlos) e Orlando Fatibello Filho (DQ - UFSCar) pelas sugestões apresentadas no exame de qualificação;
- ❖ À banca examinadora composta pelos Professores: Patricia Benedini Martelli; Carlos Eduardo Saraiva Miranda Bonfim; Éder Tadeu Gomes Cavalheiro; Jarbas José Rodrigues Rohweder e Boaventura Freire dos Reis, pelas sugestões que contribuíram para o enriquecimento deste trabalho;
- ❖ Ao Professor Joaquim, pelos ensinamentos, críticas e profissionalismo;
- ❖ Às funcionárias da Pós-Graduação do PPG-DQ da UFSCar, Ariane, Cristina e Luciani, pela atenção dada nos serviços burocráticos sempre que solicitado;
- ❖ Aos amigos dos Laboratórios de Química Analítica da UFSCar;
- ❖ Aos professores e amigos do Departamento de Química da UFSCar, pela formação e apoio institucional;
- ❖ Aos amigos de graduação Alexandra, Beneildes, Fábio, Gisele, Jorge, Lina, Lúcia, Marciana, Márcia, Márcio, Márcio Cleto, Mírian, Rita, Sônia, Zé Milton, Chico e Janildo, pelo incentivo e sincera amizade;
- ❖ Aos amigos de Mestrado Borges, Clotildes, Marli, Goreti e Vicente;
- ❖ Aos amigos de Doutorado Sivanildo, Ausberta, Carla, Marcos, Clésia, Mário, Gláucia, André, Rejane, Dário, Alexssandra, Mariela, Eva, Julian, Alfredo, Lorena, Vivi, Evandro, Quienly, Tuane, Andréia, Edson e Marcelo;

- ❖ Aos amigos Edivan, Janildo, Naise, Chico, Marcelo, André, Sivanildo, Rogério, Michele, Tuane, Andréia, Ausberta, Lidiana, Leandra, pela saudável convivência de república;
- ❖ Aos amigos Fábio, Máfra, Richard, Izabela, Gabriel, Douglas, Aninha, Priscila e Dyana pelos momentos de descontração;
- ❖ A minha sogra Socorro, pelo incentivo e harmonioso convívio;
- ❖ Aos novos integrantes do grupo e esperança de um futuro melhor Felipe, Lucas, Gabriel, Geovane, João Pedro, Sofia, e Andrey;
- ❖ À Sheila e Fátima pelo profissionalismo e amizade;
- ❖ Aos professores Krug, Zagatto, Boaventura, Fernanda e Zé Santista, pela saudável convivência;
- ❖ Aos professores Miguel de La Guardia e Àngel Morales, pela oportunidade concedida junto ao Laboratório de Investigação da Universidad de València;
- ❖ Aos Técnicos Sheila, Fátima, Tatinha, Otávio e Milão, pela saudável convivência;
- ❖ Ao João Geraldo pelo profissionalismo e pronto atendimento na elaboração dos desenhos;
- ❖ Ao Centro de Energia Nuclear na Agricultura, em particular ao Laboratório de Química Analítica “Henrique Bergamin Filho”, pela disponibilidade de equipamentos e infra-estrutura para o desenvolvimento da parte experimental;
- ❖ E todos que direto ou indiretamente me apoiaram e colaboraram na realização desse trabalho;

*Meu muito obrigado*

## LISTA DE TABELAS

TABELA 1. Seqüência de acionamento das válvulas solenóide. Tis e Tit intervalos de tempo selecionado para acionamento das válvulas $V_1$ (titulante) e $V_2$ (amostra) na primeira tentativa, $\Delta t = \text{Tit}$ (primeiro valor), $\Delta t_1 = 0,01$ (último valor). Os números <b>0</b> e <b>1</b> indicam o estado de acionamento das válvulas, desligada ou ligada, respectivamente. ....	32
TABELA 2. Resultados da titulação usando soluções padrão de HCl e NaOH.....	35
TABELA 3. Volumes das alíquotas das soluções usadas nas titulações	37
TABELA 4. Resultados da titulação para amostras de vinagre tinto e branco. A = amostra; Tis e Tit = Primeiros intervalos de tempo para inserir alíquotas de amostra e titulante respectivamente; Amostras de 1 a 3 = solução de ácido acético e 4 e 5 = vinagre tinto e 6 e 7 = vinagre branco.....	38
TABELA 5. Teste de adição e recuperação.....	57
TABELA 6. Figuras de méritos do sistema proposto.....	58
TABELA 7. Comparação de desempenho dos fotodetectores.....	69
TABELA 8. Resultados dos testes de adição e recuperação usando LED como fotodetector.....	72
TABELA 9. Figuras de méritos do sistema usando o LED vermelho como detector.....	72

## LISTA DE FIGURAS

FIGURA 1. Injetor comutador.....	9
FIGURA 2. (a) Válvula <i>pinch</i> de estrangulamento simples, (b) Válvula <i>Pinch</i> duplo estrangulamento e (c) Válvula de três vias.....	9
FIGURA 3. Mini-bomba solenóide.....	10
FIGURA 4. Modelo do processo de multicomutação em fluxo. Cs = transportador; R = reagente e A = amostra.....	11
FIGURA 5. Diagrama de fluxo de um sistema multicomutado. Cs = solução transportadora; S = amostra ou solução padrão; R = reagente; V <sub>1</sub> , V <sub>2</sub> e V <sub>3</sub> = válvulas solenóide pinch; B = coluna de reação; DET = detector; Pp = bomba peristáltica; W = descarte; T <sub>1</sub> , T <sub>2</sub> e T <sub>3</sub> = tempo de acionamento das válvulas; Si <sub>s</sub> e Ri <sub>s</sub> = inserção de amostra e reagente respectivamente e Sc <sub>0</sub> , Sc <sub>1</sub> , Sc <sub>2</sub> , Sc <sub>3</sub> e Sc <sub>4</sub> = ciclos de amostragem e Sr <sub>s</sub> = Leitura do sinal.....	12
FIGURA 6. Polarização de um LED como fonte de radiação, apresentando emissão constante dependente da fonte, corrente e do resistor R.....	23
FIGURA 7. Polarização de um LED com ajuste da intensidade de emissão.....	23
FIGURA 8. Polarização de um LED com ajuste da intensidade de emissão acoplado a base de um transistor.....	24
FIGURA 9. Circuito de polarização de um LED como fotodetector. I = radiação incidente; AO = amplificador operacional e R = resistor (responsável pelo ganho do sinal).....	25
FIGURA 10. Diagrama eletrônico da unidade de detecção fotométrica. Tr = transistor BC547; LED 1 e LED 2 = diodo emissor de luz verde, $\lambda_{\max} = 531 \text{ nm}$ ; Fc = cela de fluxo, tubo de vidro, 4,0 mm diâmetro interno e 20 mm comprimento; OA <sub>1</sub> e OA <sub>2</sub> = amplificadores operacional OP07; S <sub>0</sub> = saída de sinal em mV. Resistor em $\Omega$ .....	28

- FIGURA 11. Montagem da Cella de fluxo e dos LEDs. Fc = tubo de vidro, 4,0 mm diâmetro interior e 20 mm comprimento; LED<sub>1</sub> e LED<sub>2</sub> = diodos emissores de luz,  $\lambda = 530$  nm; Ph = bloco de PVC; In e Ot = entrada e saída de solução, respectivamente..... 29
- FIGURA 12. Representação esquemática de um modelo de procura binária..... 30
- FIGURA 13. Diagrama do sistema de fluxo. Ti = solução titulante (NaOH); S = amostra; Cs = solução carregadora (água), vazão  $34,0 \mu\text{L s}^{-1}$ ; In = solução de indicador 0,01%; V<sub>1</sub>, V<sub>2</sub>, V<sub>3</sub> e V<sub>4</sub> = válvula solenóide de três vias, x = confluência em acrílico, Ch = câmara de mistura; Mb = barra magnética; Det = fotômetro baseado em LED; Pp = bomba peristáltica; W = descarte..... 31
- FIGURA 14. Perfis dos sinais gerados na titulação. Cada conjunto sinalizado com os números I, II, III, IV e V correspondem a uma titulação..... 36
- FIGURA 15. Cella de fluxo de longo caminho óptico. LED = Diodo emissor de luz,  $\lambda = 640$  nm; Gs = cilindro de vidro, diâmetro 1,8 mm, comprimento 30 mm, Pp = placa de PVC; Si e S<sub>0</sub> = entrada e saída de solução, respectivamente; Gt = tubo de vidro, comprimento 200 mm, diâmetro interno e externo 2,0 e 6,0 mm, respectivamente; Rg = junta de borracha; Det = fotômetro, IPL 10530 DAL; Sg = sinal de saída (mV)..... 46
- FIGURA 16. Diagrama do sistema em fluxo e de tempo do sistema proposto..... 48
- FIGURA 17. Registros dos sinais analíticos. Da esquerda para a direita, quatro replicadas da leitura do sinal do branco; soluções padrões com concentrações de 0,010; 0,020; 0,080; 0,320; 0,500; 0,600 e 0,800 mg L<sup>-1</sup> PO<sub>4</sub><sup>3-</sup> seguido de dez amostras e novamente as soluções padrões em ordem decrescente..... 54

FIGURA 18. Curva analítica de ortofosfato obtida referente os registros da Figura 17, no intervalo de concentração de 0,010 a 0,800 mg L <sup>-1</sup> .....	55
FIGURA 19. Curva analítica de ortofosfato obtida referente os registros do quatros primeiros pontos da curva mostrada na Figura 18, no intervalo de concentração de 0,010 a 0,32 mg L <sup>-1</sup> .....	56
FIGURA 20. Diagrama eletrônico do fotômetro empregando Ti178 como fotodetector. OA <sub>1</sub> e OA <sub>2</sub> = amplificadores operacionais OP07; C <sub>1</sub> ; C <sub>2</sub> ; C <sub>3</sub> e C <sub>4</sub> = capacitores de Tântalo de 2 µF; A0 = Sinal de saída.....	64
FIGURA 21. Diagrama do fotômetro empregando fotodiodos e acoplamento à cela de Fluxo. Fd = fotodiodo OSD15, S1337 e LED (λ = 640 nm).....	65
FIGURA 22. Diagrama de fluxo do módulo de análise. S = amostra; Cs = carregador (H <sub>2</sub> O), vazão de 20 µLs <sup>-1</sup> (V <sub>1</sub> ) e 50 µLs <sup>-1</sup> (V <sub>5</sub> ). V <sub>1</sub> ; V <sub>2</sub> ; V <sub>3</sub> e V <sub>4</sub> = válvulas pinch, V <sub>5</sub> = válvula solenóide de três vias, x , y e z = confluências em acrílico, B= bobina de reação 25 cm, Det = fotômetro baseado em LED; Pp = bomba peristáltica; W = Descarte.....	67
FIGURA 23. Registro do sinal analítico obtido empregando um LED vermelho (λ = 640 nm ) como fotodetector; b = registros do branco; os registros de 0,01 a 0,8 mg L <sup>-1</sup> corresponde às padrão de fosfato expresso em mg L <sup>-1</sup> , seguindo de 10 amostra e 4 padrões. ....	70
FIGURA 24. Curva analítica obtida efetuando regressão linear com os dados das soluções padrão da Figura 23.....	71

## Resumo

DESENVOLVIMENTO DE UM FOTÔMETRO PORTÁTIL USANDO LED COMO FOTODETECTOR E DE PROCEDIMENTOS ANALÍTICOS AUTOMÁTICOS EMPREGANDO MULTICOMUTAÇÃO EM FLUXO. Este trabalho compreende o desenvolvimento de um fotômetro portátil empregando um LED (Light Emitting Diode) como fonte de radiação eletromagnética e outro LED como fotodetector. A viabilidade desta proposta foi demonstrada em um procedimento de titulação fotométrica automática, implementado baseado no processo de procura binária. A melhoria da sensibilidade dos métodos analíticos clássicos para melhorar o limite de detecção é uma demanda atual da química analítica, visando alcançar os limites máximos estabelecidos pelo Conselho Nacional do Meio Ambiente (CONAMA). Em detecção fotométrica um dos meios para isso, é aumentando o caminho óptico da cela de fluxo. Em sistemas de análise em fluxo, a geometria das celas de fluxo comerciais, não permitem o alongamento do caminho óptico. Nesse trabalho, empregou-se um LED com feixe de emissão de alta intensidade e ângulo de espalhamento estreito, o que permite emprego de uma cela de fluxo de 200 mm. A cela de fluxo foi desenhada com uma geometria apropriada permitindo o acoplamento direto da fonte de radiação (LED) e do fotodetector. O ortofosfato está entre as espécies químicas cuja concentração máxima permitida em águas doce é da ordem de  $\mu\text{g L}^{-1}$ , a viabilidade de uso de uma cela de fluxo de caminho óptico longo foi testada na determinação de ortofosfato em águas. O procedimento foi desenvolvido empregando o processo de multicomutação, empregando o método fotométrico baseado na reação com molibdato de amônio e redução com cloreto estânico. Tendo em vista que diferentes fotodetectores têm sido empregados em protótipos de fotômetros e visando avaliar o desempenho destes, desenvolveu-se um conjunto de experimentos, submetendo os fotodetectores às mesmas condições de trabalho. A determinação fotométrica de ortofosfato em águas foi selecionada como modelo para testar as respostas dos fotodetectores usados.

## Abstract

DEVELOPMENT OF PORTABLE PHOTOMETER USING LED PHOTODETECTOR AND AUTOMATIC ANALYTICAL PROCEDURES EMPLOYED MULTICOMMUTATION IN FLOW ANALYSIS. This work involves the development of portable photometer using a LED (Light Emitting Diode) as source of electromagnetic radiation and another one LED as photodetector. The viability of this proposal was demonstrated in an automatic photometric titration procedure, which was implemented based on the binary search process. The sensitivity improvement of the classic analytical methods to improve limit of detection is a current demand of the analytical chemistry, to attain the maximum limits established by the regulatory agencies. In photometric detection a resource to attain this requirement would be the increasing of the optical path of the flow cell. In flow analysis, the geometry of the usual cells flow does not allow the increase of the pathlength. The availability in the market of LED with emission beam high intensity within narrow angle of scattering, allows its use to develop homemade photometer. In this work, a LED with this characteristic was used to allowed the use a flow cell with optical path of 200 mm. The flow cell was designed with geometry appropriate to allow the direct coupling of radiation source (LED) and photodetector. According to CONAMA (National Advice of the Environment), orthophosphate is the chemical species that the maximum concentration allowed in fresh water is in the order of  $\mu\text{g L}^{-1}$  level. The use of flow cell with optical path of 200 mm was evaluated in an automatic procedure for determination of orthophosphate in waters. The procedure was implemented using the multicommutation flow injection analysis process, using the photometric method based on the reaction with ammonium molybdate and reduction with stannous chloride. Different photodetectors have been employed in prototypes of photometers, thus aiming to compare the performance of the usually employed photodetectors, a set of experiments was carried out, submitting the photodetectors to the same work conditions. The photometric determination of orthophosphate in waters was selected as model to test the response of the used photodetectors.

## SUMÁRIO

Considerações gerais.....	1
Objetivos.....	5
<b>Capítulo 1.</b> Multicomutação em sistemas FIA.....	7
1. Introdução.....	8
1.1. Multicomutação em sistemas de análise em fluxo.....	10
<b>Capítulo 2.</b> Emprego de um LED (Light Emitting Diode) como fotodetector em um procedimento de titulação fotométrica baseado em procura binária.....	18
2. Introdução.....	19
3. Parte experimental.....	26
3.1. Reagentes e soluções.....	26
4. Equipamentos e acessórios.....	26
4.1. Montagem do fotômetro.....	27
4.2. Procedimento analítico.....	30
5. Resultados e Discussão.....	34
6. Conclusão.....	39
<b>Capítulo 3.</b> Emprego de uma cela de fluxo de caminho óptico longo com acoplamento direto ao sistema de detecção. Determinação de ortofosfato em água de rios.....	40
7. Introdução.....	41
8. Parte experimental.....	48
8.1. Reagentes e soluções.....	44
8.2. Instrumentos e acessórios.....	45

8.3. Sistema de fluxo e Procedimento.....	46
9. Resultados e Discussão.....	50
9.1. Comentário Geral.....	50
9.2. Otimização das variáveis do sistema em fluxo.....	52
9.3. Análise de amostras e figura de mérito.....	54
10. Conclusão .....	58
<b>Capítulo 4. Avaliação de fotodetectores empregados em protótipos de</b>	<b>60</b>
<b>fotômetros usados em sistemas de análise em fluxo.....</b>	
11. Introdução .....	61
12. Parte experimental.....	62
12.1. Reagentes e soluções.....	62
12.2. Equipamento e acessórios.....	62
12.3. Sistemas de detecção fotométrica e condicionamento de sinais.....	63
12.4. Módulo de análise e procedimento.....	66
12.5. Resultados e discussão.....	68
13. Conclusão.....	73
14. Referências bibliográficas.....	74

# Considerações gerais

---

Diodo emissor de luz conhecido como “LED” (Light Emitting Diode), disponível comercialmente desde os anos sessenta, foi usado como fonte de radiação em detecção fotométrica na década de setenta (BETTERIDGE, *et al.*, 1978 & FLASCHKA, *et al.*, 1973). Uma consulta à literatura mostra que, ao longo desses anos, seu uso tem sido crescente, e, dentre as características favoráveis que potencializam sua utilização, destacam-se: pequena dimensão, alta eficiência na conversão de energia elétrica em radiação eletromagnética, desprezível dissipação de energia na forma de calor, longa vida útil, e resposta rápida, pois não precisa de aquecimento para emitir radiação. Em função destas qualidades, tem sido preferido como fonte de radiação pelos pesquisadores que se dedicam ao desenvolvimento de protótipos em seus laboratórios. Em muitos casos, têm sido obtidos equipamentos com desempenho comparáveis aos espectrofotômetros comerciais (DASGUPTA, *et al.*, 2003; FONSECA & RAIMUNDO, 2004), tendo como vantagem portabilidade e baixo custo.

Desde o trabalho pioneiro de BETTERIDGE, *et al.* (1978), os LEDs tem sido usado como fonte de radiação, entretanto BERRY, *et al.* (1997), considerando que o LED é em si, um fotodiodo, desenvolveram um fotômetro empregando um conjunto de LEDs como fotodetectores usando uma lâmpada de tungstênio-halogênio, como fonte de radiação. Em tempo mais recente, LEDs, como fotodetector foi empregado explorando o efeito capacitivo associado ao LED, o qual decresce com a intensidade do feixe da radiação incidente sobre esse dispositivo. Esta característica foi aproveitada com finalidade analítica, tomando como parâmetro o intervalo de tempo para a diferença de potencial variar de 5,0 para 1,7 V (LAU, *et al.*, 2004 & O'TOOLE, *et al.*, 2005).

No atual trabalho, foi desenvolvido um instrumento de detecção fotométrica empregando dois LEDs iguais (par casado), sendo um polarizado como fonte de radiação eletromagnética e o outro polarizado como fotodetector. O emprego de um par casado melhora a resposta da unidade de transdução de

sinal, tendo em vista que a absorção de radiação é mais eficiente na mesma faixa de comprimento de onda de emissão. Para demonstrar a viabilidade desse dispositivo como detector fotométrico, o mesmo foi utilizado em um procedimento de titulação fotométrica baseado no processo de multicomutação em fluxo e procura binária (KORN, 1995).

Segundo a lei de Lambert.– Beer, a absorbância é proporcional à concentração da espécie química de interesse e ao comprimento do caminho percorrido pelo feixe de radiação através da solução absorvente. Nesse sentido, seria possível melhorar a sensibilidade de um procedimento analítico, diminuindo o nível de ruído, aumentando o comprimento do caminho óptico da cela de detecção, etc. Em sistemas de análise química por injeção em fluxo comercial, a geometria das celas de detecção dificulta o uso desse recurso, pois o diâmetro das janelas de entrada e saída são da ordem de 2,0 mm ou menos. No caso dos fotômetros baseados em LED como fonte de radiação, tem sido possível empregar celas de fluxo com percurso óptico de 50 a 100 mm. Para isso, os fotômetros foram projetados considerando essa possibilidade. Nesses trabalhos, as celas de fluxo foram feitas empregando um tubo de vidro moldado no formato “U”. Devido à geometria cilíndrica das janelas das celas, ocorria espalhamento de parte do feixe de radiação emitido pelo LED (FERES, *et al.*, 2005 & PIRES, *et al.*, 2007). No presente trabalho, foi desenvolvida uma cela de fluxo com geometria diferenciada visando minimizar as perdas por espalhamento, permitindo o emprego de celas com caminho óptico de 200 mm. O LED usado como fonte de radiação e o fotodiodo foram acoplados na própria cela de fluxo, tornando o sistema mais compacto.

Atualmente, encontram-se no mercado diferentes tipos de fotodetectores, os quais têm sido usados em protótipos de fotômetros, compreendendo duas classes de dispositivos, fototransistor e fotodiodo. Então, neste trabalho, avaliou-se a resposta de alguns desses dispositivos comumente usados em sistemas de análise

por injeção em fluxo e a viabilidade do uso do LED como fotodetector submetendo-o às mesmas condições de trabalho.

# Objetivos

---

- a) Avaliar o emprego de LED como detector e seu uso em um procedimento de titulação fotométrica baseado no processo de multicomutação em fluxo e procura binária.
  
- b) Desenvolver uma cela de fluxo de longo caminho óptico (200 mm) integrada ao fotômetro empregando LED como fonte de radiação eletromagnética, e demonstrar a sua viabilidade em um procedimento para determinação fotométrica de ortofosfato em águas.
  
- c) Avaliar o desempenho de diferentes fotodetectores, incluindo o LED em sistemas de análise em fluxo.

# CAPÍTULO 1

---

## **Multicomutação em sistemas FIA**

## 1.Introdução

O processo de Análise por Injeção em Fluxo foi proposto por RUZICKA & HANSEN, (1975), tendo como fundamento a inserção de uma alíquota da amostra em um fluido transportador, que desloca a alíquota da amostra até um detector, gerando um sinal transiente, sendo que a absorbância do sinal é proporcional à concentração do analito. Todas as etapas envolvidas no processo acontecem em um módulo fechado, proporcionando assim uma minimização dos riscos de contaminação.

O sistema FIA permite a implementação de procedimentos analíticos automáticos baseados nos métodos convencionais, empregando parte dos instrumentos usuais de laboratório, permitindo que o pesquisador desenvolva seu próprio sistema de análise. A difusão do processo FIA no campo da química analítica foi muito rápida, sua consolidação se deve, principalmente, à simplicidade operacional, versatilidade do módulo de análise, minimização da possibilidade de contaminação e ao baixo custo, quando comparado a outras técnicas analíticas.

Desde a proposta inicial, a evolução dos sistemas FIA esteve dependente de novos dispositivos, para bombeamento das soluções e injeção de amostra e reagentes. No primeiro trabalho, foi utilizada uma seringa hipodérmica, entretanto, a robustez do sistema foi alcançada com o injetor de pressão que usava seringa sem agulha (RUZICKA & HANSEN, 1975). No final dos anos setenta, foram propostos dois novos dispositivos para inserção da amostra, válvula rotatória (RUZICKA & HANSEN, 1975) e o injetor comutador (BERGAMIN, *et al.*, 1978), mostrado em detalhe na Figura 1. As válvulas solenóide de 3 vias e as válvulas solenóide de estrangulamento (LAVORANTE, *et al.*, 2006) (Figura 2), as quais são muito utilizadas atualmente, foram propostas na década de noventa (REIS, *et al.*, 1994).

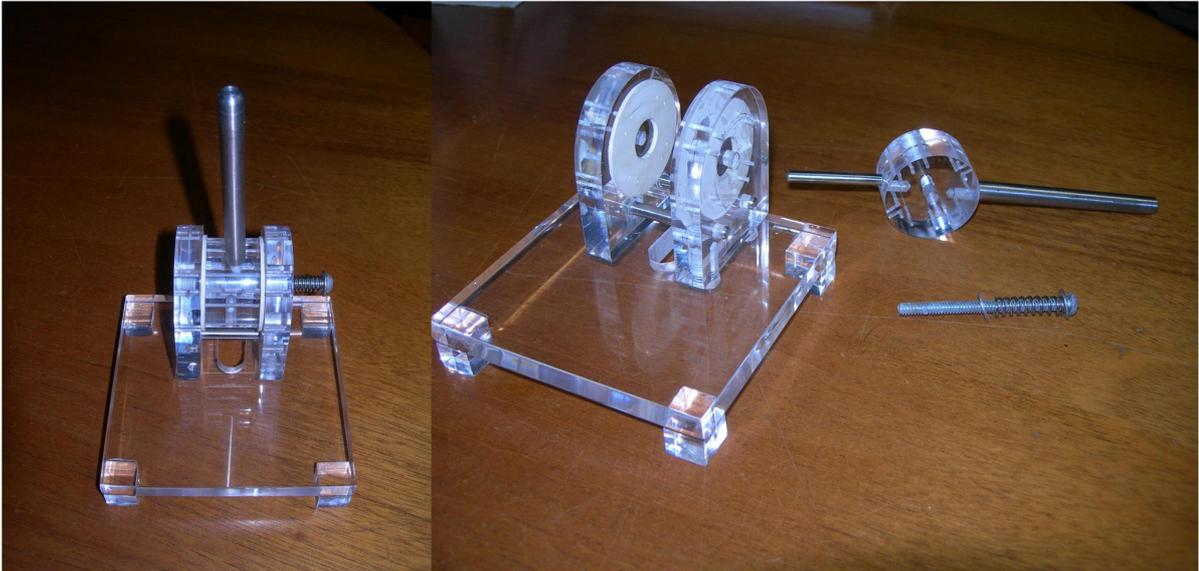


FIGURA 1- Injetor comutador.



(a)

(b)

(c)

FIGURA 2. (a) Válvula *pinch* de estrangulamento simples, (b) Válvula *Pinch* duplo estrangulamento e (c) Válvula de três vias.

Para a propulsão de fluidos em sistema de análise por injeção em fluxo, têm sido empregadas bomba peristáltica, a força da gravidade (VIEIRA *et al.*, 2001), bomba de seringa (ARMAS, *et al.*, 2002) e mini-bomba solenóide (LAPA, *et al.*, 2002). A bomba peristáltica é o dispositivo empregado em maior escala, enquanto que a aceleração da gravidade tem sido empregada em poucas aplicações. O emprego de mini-bomba solenóide (Figura 3) é uma boa alternativa à bomba peristáltica, além do custo muito menor agrega versatilidade ao módulo de análise, pois pode substituir também as válvulas

solenóides em módulo de análise baseado no processo de multicomutação (LAVORANTE, *et al.*, 2007).



FIGURA 3. Mini-bomba solenóide.

### **1.1.Multicomutação em sistemas de análise em fluxo**

Procedimentos analíticos automatizados são cada vez mais requeridos, tendo em vista a crescente demanda de análises de rotina, tendo como usuários o setor industrial, ambiental, alimentício, clínico, etc. (COSANO, *et al.*,1993).

A automação é definida, segundo a IUPAC, como sendo o uso combinado de dispositivos mecânicos e instrumentais para substituir, refinar ou suplementar o esforço e a inteligência humana na execução de um dado processo, no qual pelo menos uma das operações é controlada sem a intervenção humana, ou seja, fazendo uso de um sistema de realimentação (KINGSTON & KINGSTON, 1994). Segundo a mesma organização, a mecanização é o uso de dispositivos para substituir, refinar, ampliar ou

suplementar o esforço humano, não sendo efetuada a realimentação em nenhuma parte do processo (GUILBALT & HJELN, 1989).

O processo de multicomutação foi proposto por REIS, e colaboradores, segundo o modelo mostrado na Figura 4, consiste no uso de dispositivos discretos como unidades de comutação para introdução das alíquotas de amostra e reagente no percurso analítico de forma alternada (denominada amostragem binária).

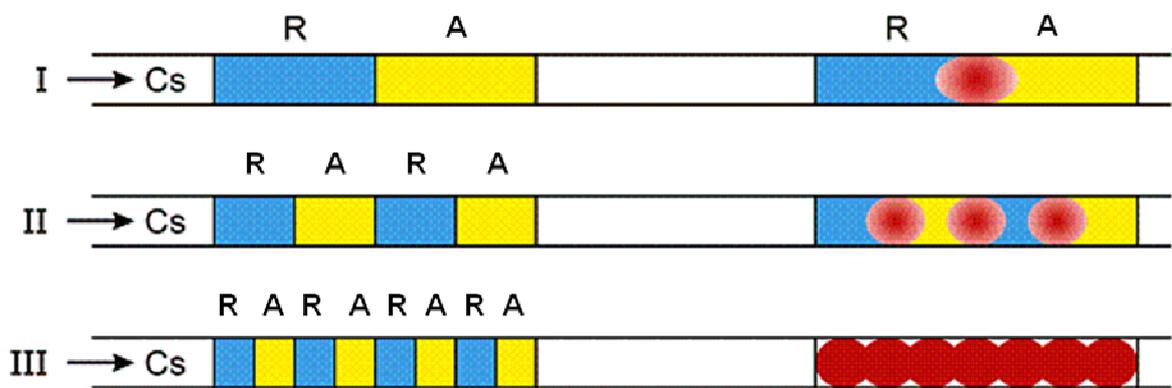


FIGURA 4. Modelo do processo de multicomutação em fluxo. Cs = transportador; R = reagente e A = amostra.

O módulo de análise é constituído por um conjunto de válvulas solenóide (Figura 5), sendo que cada válvula é controlada de forma independente, usando computador e interface de controle. O *software* de controle é desenvolvido em função do procedimento analítico e, desse modo, as condições de funcionamento do módulo de análise podem ser alteradas sem mudar sua estrutura física. Estas características agregam como vantagens, a redução do consumo de reagente e a geração de resíduo. Permite o controle em linha de etapas como diluição controlada, determinação seqüencial, titulação, separação em linha, pré-concentração, além da facilidade de acoplamento a outros tipos de procedimentos e técnicas de detecção (REIS, *et al.*, 1994; ROCHA, *et al.*, 2002 & RÓDENAS-TORRALBA, *et al.*, 2004).

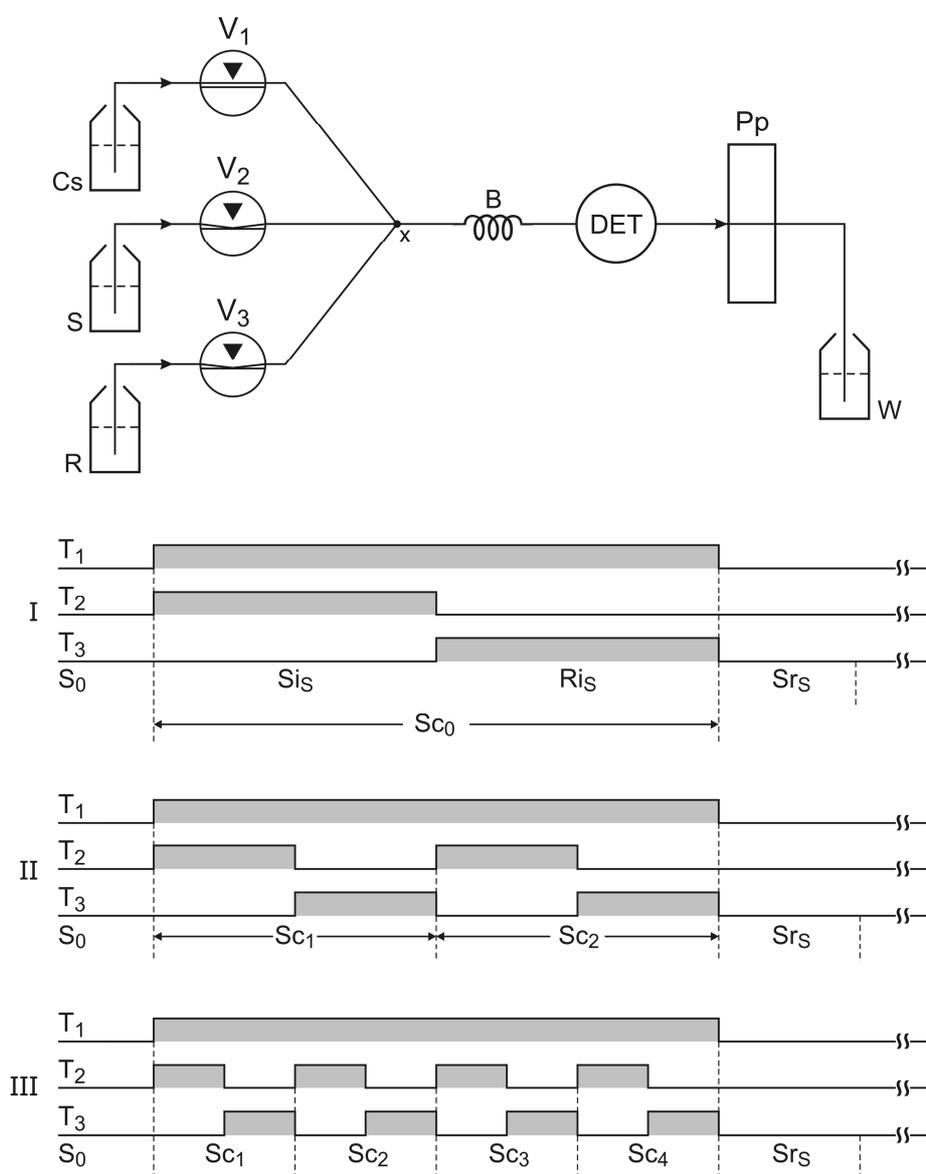


FIGURA 5. Diagrama de fluxo de um sistema multicomutado. Cs = solução transportadora; S = amostra ou solução padrão; R = reagente; V<sub>1</sub>, V<sub>2</sub> e V<sub>3</sub> = válvulas solenóide pinch; B = bobina de reação; DET = detector; Pp = bomba peristáltica; W = descarte; T<sub>1</sub>, T<sub>2</sub> e T<sub>3</sub> = tempo de acionamento das válvulas; Si<sub>s</sub> e Ri<sub>s</sub> = inserção de amostra e reagente respectivamente; e Sc<sub>0</sub>, Sc<sub>1</sub>, Sc<sub>2</sub>, Sc<sub>3</sub> e Sc<sub>4</sub> = ciclos de amostragem e Sr<sub>s</sub> = Leitura do sinal.

O processo de multicomutação em fluxo possibilita automação de metodologias analíticas envolvendo diferentes técnicas de detecção, nas quais o computador pode ser programado para realizar a tomada de decisão a partir da avaliação do resultado obtido durante o processamento da amostra, por exemplo, variar os volumes das alíquotas da amostra e da solução do reagente. Esta facilidade foi empregada para desenvolver um processo de titulação fotométrica automática baseada no conceito de procura binária. Todas as etapas do procedimento foram realizadas pelo computador sem intervenção do operador (KORN, *et al.*, 1995).

A viabilidade do processo de multicomutação foi comprovada na automatização de um procedimento para determinação espectrofotométrica de ferro em digeridos de plantas, tendo apresentado frequência analítica de 220 determinações por hora, e proporcionado baixo consumo de reagente (0,7 mg por determinação). Foram destacadas, nesse trabalho, algumas das potencialidades desse novo processo: versatilidade, manipulação de pequenos volumes de soluções, redução na geração de resíduo. O sistema proposto era composto de uma bomba peristáltica, válvulas solenóides de três vias, controlado pelo computador utilizando um software escrito na linguagem Quick BASIC 4.5. O *software* foi escrito com rotinas para controlar o tempo de acionamento das válvulas solenóides, selecionar a rotação da bomba peristáltica e sincronizar o início da amostragem com a pulsação da bomba de forma a reduzir o efeito de pulsação na precisão das alíquotas de solução inseridas no percurso analítico (REIS, *et al.*, 1994).

Após o primeiro trabalho de multicomutação, uma série totalizando seis artigos foram publicados, consolidando o processo como ferramenta viável para automação de procedimentos analíticos. Os trabalhos em questão envolvendo diferentes matrizes são comentados a seguir.

O segundo artigo da série multicomutação foi proposto por MARTELLI, *et al.* (1995) para a determinação fotométrica de níquel, ferro e

cromo em amostras de aço digeridas em meio ácido. Como reagentes cromogênicos foram usados dimetilglioxima para níquel, ácido salicílico para ferro e difenilcarbazida para cromo. A inserção das soluções no percurso analítico foi feita empregando apenas um canal da bomba peristáltica, explorando a adição intermitente dos reagentes. A inserção intermitente dos reagentes permitia alterar condições reacionais do meio, permitindo a realização de determinações seqüenciais, sem alterar a configuração do módulo de análise.

No terceiro artigo da série ARAÚJO, *et al.* (1995) desenvolveram um procedimento para determinação de creatinina em urina baseada na reação de Jaffé. Neste trabalho, as estratégias de diluição em linha, para compensar o efeito da cor da amostra e parada de fluxo foram implementadas para melhorar a sensibilidade. Em seguida, o processo de multicomutação foi empregado na determinação simultânea de cobre e zinco em digeridos de plantas, usando zincon como agente cromogênico, tomando como base a cinética de complexação destes, no procedimento a zona da amostra foi dividida em duas empregando uma válvula solenóide. O controle do módulo de análise foi elaborado permitindo a inserção das duas zonas de amostra em percursos analíticos distintos, permitindo controlar o tempo de residência. As duas zonas de amostra convergiam para a mesma cela de fluxo, sendo que o primeiro sinal gerado era proporcional a concentração de zinco e o segundo permitia a determinação conjunta dos dois analitos. A concentração de cobre era estabelecida pela diferença entre os dois sinais (OLIVEIRA, *et al.*, 1996)

A determinação simultânea de amônio e ortofosfato em plantas foi desenvolvida empregando o mesmo módulo de análise, baseado na reação do ácido salicílico e hipoclorito de sódio para amônio e molibdato de amônio e ácido ascórbico para ortofosfato. As reações envolvidas na determinação dos dois analitos ocorriam em meios distintos, sendo alcalino para amônio e ácido para ortofosfato. A inserção das soluções dos reagentes de forma intermitente

permitiu que a mudança do meio fosse efetuada em função dos requisitos para o desenvolvimento da reação (KRONKA, *et al.*, 1996).

Finalizando a série VIEIRA, *et al.* (1998) desenvolveram um procedimento para a determinação de sulfato em digerido de plantas por turbidimetria, empregando a clássica reação com bário e detecção da suspensão usando um fotômetro. Embora o espalhamento de radiação eletromagnética seja o fenômeno dominante, a detecção fotométrica foi realizada empregando um espectrofotômetro no modo absorbância, no comprimento de onda de 420 nm.

O controle dos dispositivos via *software* facilita a implementação de várias estratégias: parada de fluxo (ARAÚJO, *et al.*, 1995); inserção de múltiplas zonas de amostragem; aumento do tempo de residência da zona de amostra favorecendo uma maior sensibilidade em reações de cinética lenta (TUMANG, *et al.*, 1998); sistemas mono segmentado por ar visando redução da dispersão, e permitindo também aumentar o tempo de residência da amostra. Essa estratégia permitiu o aumento da frequência analítica em um procedimento com detecção fotométrica baseado em reação de cinética lenta (SMIDERLE, *et al.*, 1999).

O emprego de dispositivos de menor custo também é um atrativo da multicomutação. O sistema de propulsão de fluído é, geralmente, a parte mais cara na maioria dos sistemas em fluxo. O emprego de mini-bombas solenóide é uma alternativa viável para substituir a bomba peristáltica (LAPA, *et al.*, 2002). Esse dispositivo é um propulsor de fluído mono-canal, o qual é também uma unidade de comutação, o que o torna bastante atrativo para o desenvolvimento de procedimentos automáticos baseados no processo de multicomutação em fluxo (LAVORANTE, *et al.*, 2005).

O processo de multicomutação tem como princípio a unicidade de fluxo no tempo, isto é, em cada instante apenas uma solução componente do sistema é inserida no percurso analítico. Essa característica foi empregada por VIEIRA, *et al.* (2001) para desenvolver um procedimento para determinação de

sulfato, empregando a força da gravidade para deslocar as soluções de reagentes e da amostra.

A multicomutação tem sido aplicada em um universo diversificado, tanto no que diz respeito a procedimento quanto à técnica envolvida. MIRANDA, *et al.* (2002) determinou cádmio, níquel e chumbo por espectrometria de emissão atômica em um plasma indutivamente acoplado (ICP-OES), fazendo pré-concentração em linha usando colunas de resina de troca iônica. O processo foi implementado usando um módulo FIA baseado em multicomutação. RÓDENAS-TORRALBA, *et al.*, (2004), determinaram benzeno em gasolina utilizando a técnica de infravermelho com transformada de Fourier sem pré-tratamento da amostra. Esses pesquisadores empregaram um módulo de análise baseado em multicomutação acoplado a um equipamento de fluorescência atômica para geração de hidreto, visando à determinação de telúrio (VI) e telúrio (IV) em amostras de leite (RÓDENAS-TORRALBA, *et al.*, 2005).

Procedimentos analíticos baseados em detecção potenciométrica também têm sido desenvolvidos empregando o processo de multicomutação, (MARTTELI, *et al.*, 1999 & PAIM *et al.*, 2002). No primeiro caso, foi desenvolvido um procedimento de titulação potenciométrica baseado no conceito de procura binária, desenvolvido empregando um sistema de fluxo monosegmentado, e um eletrodo tubular de membrana polimérica sensível ao íon hidrônio como detector. No segundo caso, foi proposto um procedimento de titulação ácido/base automático para determinação de ácido ascórbico em fármacos, baseado na redução do íon iodato, empregando um eletrodo de íon seletivo para iodeto.

O processo de multicomutação tem sido associado a várias técnicas de detecção, entretanto a técnica predominante é a espectrofotométrica UV-Vis. Neste campo, é oportuno observar que a associação de módulos de análise baseados nesse processo e acoplados a protótipos de laboratório, empregando LED como fonte de radiação, tem possibilitado o desenvolvimento de

equipamentos integrados de tamanho reduzido, alto desempenho e baixo custo (FERES & REIS, 2005; PIRES, *et al.*, 2007 & RODENAS-TORRALBA, *et al.*, 2006).

## CAPÍTULO 2

---

**Emprego de um LED (Light Emitting Diode) como fotodetector em um procedimento de titulação fotométrica baseado em procura binária**

## 2.Introdução

Titulação volumétrica é a denominação usada em análise química quantitativa quando se utiliza um volume de uma solução, cuja concentração é exatamente conhecida (titulante), reagindo quantitativamente com um volume conhecido da solução que contém a substância a ser determinada (titulado) (LIAO, *et al.*, 2007). O ponto no qual ocorre a estequiometria da reação é denominado ponto de equivalência ou ponto final teórico. Pode ser identificado por uma mudança abrupta em uma propriedade física ou química da solução. Nesse ponto no caso de uma titulação de neutralização, se o ácido e a base forem eletrólitos fortes, a solução será neutra e terá pH 7. Se o ácido e a base forem eletrólito fraco, o sal será parcialmente hidrolisado e o ponto de equivalência apresentará um caráter ligeiramente ácido ou básico, podendo o pH neste ponto ser calculado prontamente a partir da constante de ionização do ácido ou da base fraca, e da concentração da solução. O ponto final correto caracteriza-se por um valor definido da concentração de íons hidrogênio na solução, valor este dependente da natureza do ácido, da natureza da base e da concentração da solução. Apesar de ser um procedimento indispensável em química, o procedimento titulométrico geralmente depende da habilidade do operador, além de apresentar baixa sensibilidade (HONORATO, *et al.*, 2000; LIAO, *et al.*, 2007; MARCOS, *et al.*, 1992 & MARTELLI, *et al.*, 1999).

O ponto de equivalência ou estequiométrico pode ser detectado monitorando parâmetros tais como: medida da diferença de potencial elétrico entre o eletrodo indicador e o eletrodo de referência, e neste caso recebe a denominação de titulação potenciométrica (VAHL, *et al.*, 2008); mudança na condutividade elétrica da solução, sendo conhecida como titulação condutimétrica (GRUDPAN, *et al.*, 1998); medida da intensidade de corrente que circula entre o eletrodo indicador e o eletrodo de referência,

conhecida como titulação amperométrica (HE, *et al.*, 2000); e variação na absorvância da solução conhecida como titulação espectrofotométrica (HONORATO, *et al.*, 2000; JYONOSONO, *et al.*, 2001 & LIAO, *et al.*, 2007).

O primeiro processo de titulação espectrofotométrica em sistema de análise por injeção em fluxo foi proposto por RUZICKA, *et al.* (1977). A solução do titulante e a alíquota da solução da amostra eram inseridas no fluido transportador. Em virtude da dispersão da zona da amostra no fluido transportador ocorria dois pontos de estequiometria. O intervalo de tempo tomado considerando a meia-altura do máximo do registro do sinal tinha uma relação quantitativa com a concentração da amostra. Amostra mais concentrada gerava um intervalo de tempo mais longo. Tendo em vista que a geração de gradiente de concentração era o parâmetro que governava o processo, os autores acoplaram uma câmara no percurso analítico para melhorar a geração do gradiente de concentração.

Em 1992, MARCOS e colaboradores publicaram dois artigos de titulação fotométrica baseado na geração linear de gradiente de concentração e, em 1993, YARNITZKY e colaboradores publicaram um procedimento baseado na geração exponencial do gradiente de concentração. Segundo os autores, neste procedimento a condição de estequiometria era alcançada em um menor intervalo de tempo em comparação com a variação linear. Nos trabalhos propostos por MARCOS, *et al.* (1992) e YARNITZKY, *et al.* (1993), a geração de gradientes de concentrações foi obtida empregando duas bombas peristálticas com vazões variáveis. Nesses procedimentos de titulação fotométrica e também no proposto por RUZICKA, *et al.* (1977), a determinação da concentração da espécie de interesse com o emprego de uma curva analítica, obtida processando soluções de referência nas mesmas condições da solução da amostra. Portanto, não compreendia o conceito clássico de titulação, em que a partir dos volumes das alíquotas das soluções da amostra e do titulante, encontra-se a concentração da espécie de interesse, tendo em vista que a concentração da solução titulante é

conhecida. Em vista disso, esse tipo de procedimento tem sido chamada de pseudo-titulação, considerando os argumentos apresentados por PARDUE & FIELDS, 1981.

O processo de multicomutação em sistema de análise em fluxo permite a inserção intermitente das alíquotas das soluções da amostra e dos reagentes no percurso analítico (REIS *et al.*, 1994). Mantendo a vazão de bombeamento constante, o volume de cada alíquota de solução é dependente do intervalo de tempo que o dispositivo de comutação é mantido ligado (válvula solenóide). Nessas condições, é possível variar de forma independente os volumes das alíquotas das soluções envolvidas no processo. Lançando mão destas facilidades KORN, *et al.* (1995) propuseram um procedimento para titulação fotométrica, em que a determinação da concentração da espécie química de interesse era encontrada sem uso de uma curva analítica. Este procedimento foi chamado de titulação por procura binária, tendo como conceito um algoritmo de aproximação sucessiva de base 2. Empregando o mesmo conceito MARTELLI, *et al.* (1999) desenvolveram um procedimento para titulação potenciométrica empregando um sistema de fluxo monosegmentado por ar.

O diodo emissor de luz conhecido como LED (Light Emitting Diode) foi disponibilizado no mercado a partir de 1960. Inicialmente era usado como indicador em painéis e mostradores (*Display*) de instrumentos. O emprego deste dispositivo como fonte de radiação em fotometria foi proposto por BETTERIDGE, *et al.* (1978) em um sistema FIA.

A partir desse trabalho pioneiro, o uso de LEDs com propósito analítico aumentou consideravelmente, e tem sido empregado em diversos procedimentos analíticos (DASGUPTA *et al.*, 1993). Pequeno tamanho, baixo custo, alta estabilidade de radiação e longo tempo de vida são as principais características, as quais têm norteado a escolha de LEDs como fonte de radiação em procedimentos analíticos (JAMBUNATHAN *et al.*, 1999 & ROCHA *et al.*, 2005). A possibilidade do desenvolvimento de equipamentos

portáteis, possibilitando que amostras sejam analisadas em campo com rapidez e baixo custo, além de minimizar a possibilidade de contaminação e gastos com conservação e transporte de amostra, também é um atrativo de equipamentos usando esses dispositivos (MARLE & GREEWAY, 2005). A disponibilidade comercial de LEDs com comprimentos de onda na faixa do ultravioleta ( $\lambda \approx 380$  nm) ao infravermelho ( $\lambda \approx 900$  nm) é também considerado um incentivo adicional para o desenvolvimento de instrumentos fotométricos (FERES & REIS, 2005; FONSECA & RAIMUNDO, 2004). Equipamento com detecção fluorimétrica tem sido projetado empregando LED como fonte de radiação (MULLER & HAUSER, 1996; ZANG *et al.*, 2005), embora a fotometria seja o campo de aplicação predominante (DASGUPTA *et al.*, 2003). A facilidade de se conseguir LEDs de pequeno tamanho e rápida resposta de seu estado ligado/desligado tem sido levada em conta na sua escolha para uso no desenvolvimento de procedimentos analíticos baseados em análise em fluxo (FERNANDES & REIS, 2002 & LUCA & REIS, 2004) e na especificação química (FERES & REIS, 2005; PIRES, *et al.*, 2007 & ROCHA & REIS, 2000).

A intensidade da radiação emitida pelo LED pode ser controlada usando uma malha eletrônica apropriada (IN-YONG EOM & DASGUPTA *et al.*, 2006 & RODENAS-TORRALBA *et al.*, 2006). Esta facilidade foi empregada na construção de um fotômetro projetado para trabalhar com uma cela de fluxo de 100 mm de caminho óptico, usado em um procedimento fotométrico para especificação de cromo (PIRES *et al.*, 2007).

Nas Figuras 6, 7 e 8 são mostrados os esquemas das formas empregadas para a polarização de um LED como emissor de radiação. Na montagem da Figura 6, a emissão é constante e a intensidade do feixe de radiação depende do valor do resistor, desde que a diferença de potencial da fonte seja constante. Nos esquemas das Figuras 7 e 8 a intensidade do feixe de radiação pode ser ajustada através do resistor variável. Em aplicações em que o LED trabalha com alta intensidade (intensidade de corrente  $>10$  mA) é mais seguro empregar a

montagem mostrada na Figura 8. Na condição, mostrada na Figura 7 pode ocorrer aquecimento do resistor variável, o que pode alterar a intensidade de corrente através do LED e afetar a estabilidade do feixe de radiação.

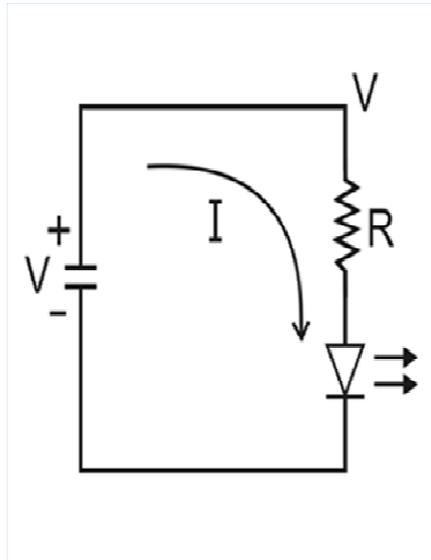


FIGURA 6. Polarização de um LED como fonte de radiação, apresentando emissão constante dependente da fonte, corrente e do resistor R.

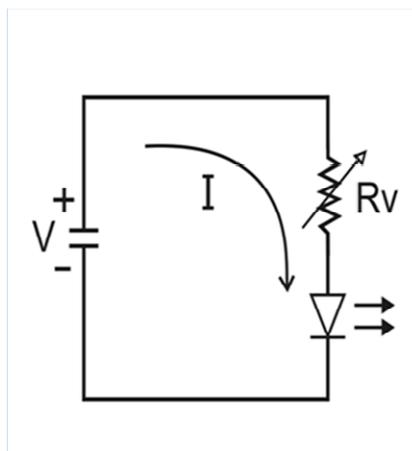


FIGURA 7. Polarização de um LED com ajuste da intensidade de emissão.

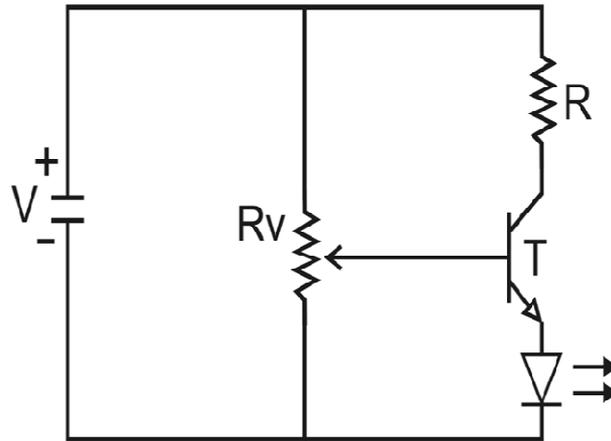


FIGURA 8. Polarização de um LED com ajuste da intensidade de emissão acoplado a base de um transistor.

Atualmente, os LEDs têm uso generalizado como fonte de radiação em fotometria (DASGUPTA *et al.*, 2003), entretanto há trabalhos publicados que citam seu uso como fotodetector (LAU *et al.*, 2004 & O'TOOLE *et al.*, 2005). Nesses trabalhos, as medidas foram realizadas explorando o efeito capacitivo do LED, relacionando o tempo de descarga e a intensidade da luz proveniente do LED polarizado como fonte de radiação. Esse efeito ocorre quando o comprimento de onda da luz do LED emissor é idêntico ao do LED configurado como fotodetector. A detecção era feita determinando o intervalo de tempo decorrido para a diferença de potencial do LED polarizado como fotodetector decrescer de 5V a 1,7 V (O'TOOLE *et al.*, 2005).

Considerando que o LED em si é um fotodiodo, portanto poderia gerar uma fotocorrente somente quando iluminado com radiação tendo comprimento de onda na banda de emissão do LED, BERRY, *et al.* (1997) desenvolveu um fotômetro usando 6 LEDs configurados como fotodetectores. Como fonte de radiação foi usada uma lâmpada de tungstênio-halogênio sem emprego de

monocromador. Os LEDs foram selecionados para cobrir a faixa de comprimentos de onda do azul ao vermelho.

No presente trabalho, foi desenvolvido um fotômetro empregando um par de LEDs casados ( $\lambda = 530 \text{ nm}$ ) um polarizado como fonte de radiação e o outro, polarizado como fotodetector acoplado a uma malha de transdução de sinal constituída por um amplificador operacional com entrada FET (alta impedância) mostrado na Figura 9. Nesta configuração, é esperado que a saída de sinal em mV apresentasse uma relação com a intensidade de radiação vinda do LED emissor independente do tempo. Para provar a eficiência do fotômetro proposto com essa configuração, foi desenvolvido um procedimento de titulação fotométrica automática baseada no processo de procura binária (KORN *et al*, 1995).

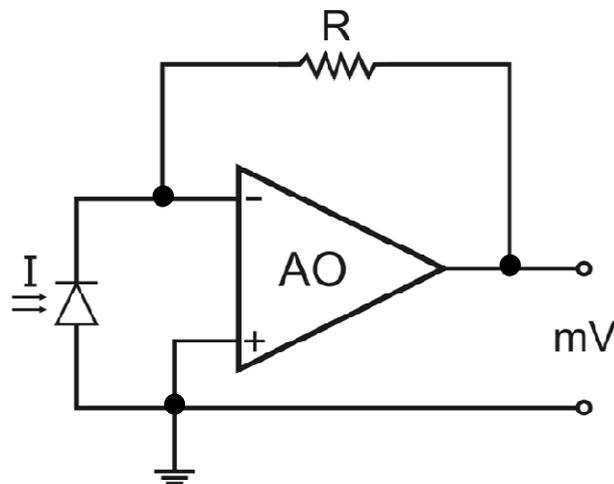


FIGURA 9. Circuito de polarização de um LED como fotodetector. I = radiação incidente; AO = amplificador operacional e R = resistor (responsável pelo ganho do sinal).

### **3. Parte experimental**

#### **3.1. Reagentes e soluções**

Água purificada com condutividade elétrica menor que  $0,1 \mu\text{S cm}^{-1}$  foi utilizada na lavagem da vidraria e no preparo das soluções.

Uma solução de hidróxido de sódio  $0,1 \text{ mol L}^{-1}$  foi preparada por diluição a partir de uma solução estoque de NaOH  $10 \text{ mol L}^{-1}$ , e padronizada usando uma solução de biftalato de potássio e uma solução de fenolftaleína a 0,01% (m/v) como indicador.

Uma solução de ácido clorídrico  $0,01 \text{ mol L}^{-1}$  foi preparada a partir de uma solução estoque de  $1 \text{ mol L}^{-1}$  diluindo-se com água.

Uma solução de ácido acético  $0,01 \text{ mol L}^{-1}$  foi preparada a partir de uma solução estoque de  $1 \text{ mol L}^{-1}$  diluindo-se com água.

Uma solução de fenolftaleína 1% (m/v). Foi preparada pesando-se 1g de fenolftaleína e dissolvendo-se em 100 mL de álcool etílico a 95% (v/v). Esta solução foi mantida refrigerada e a solução de trabalho (0,01%) era preparada diariamente, diluindo-se com água.

Amostras de vinagre branco e tinto foram adquiridas de um mercado local. Antes de serem processadas foram diluídas com água 10 vezes.

#### **4. Equipamentos e acessórios**

Os equipamentos e acessórios compreenderam um fotômetro de LED construído no laboratório; um microcomputador equipado com uma interface eletrônica PCL-711S (Advantech Corp, OH, USA), contendo portas de saída digital de 8 bits e conversor analógico/digital com resolução de 12 bits; uma bomba peristáltica Ismatec IPC-4 com tubos de bombeamento de Tygon; quatro

válvulas solenóides de três vias (161T031, Nresearch, New Jersey, USA); uma interface de potência para fornecer diferença de potencial de 12 V e a intensidade de corrente requerida para o funcionamento das válvulas solenóides (RODENAS-TORRALBA *et al.*, 2006), uma câmara de mistura com barra magnética construída em acrílico, volume interno de 500  $\mu\text{L}$ , um agitador magnético, uma cela de fluxo construída com um tubo de vidro de 20 mm de comprimento e 4,0 mm de diâmetro interno, dois LEDs de alto brilho idênticos com máximo de emissão em  $\lambda = 531 \text{ nm}$ , dois amplificadores operacionais (OP07), outros componentes eletrônicos como capacitores, resistores, placa de circuito impresso em fibra de vidro, etc.

#### **4.1.Montagem do fotômetro**

Na Figura 10, é mostrado o esquema eletrônico do fotômetro, no qual pode ser visto que o LED<sub>1</sub> foi instalado como fonte de radiação. A intensidade de radiação emitida por este LED pode ser controlada por meio do resistor variável (10 k $\Omega$ ) acoplado à base do transistor (Tr). O LED<sub>2</sub> foi acoplado ao amplificador operacional (OA<sub>1</sub>) para trabalhar como fotodetector. Nessa configuração, o sinal (mV) monitorado na saída do amplificador operacionais (pino 6) apresenta uma relação proporcional à intensidade do feixe de radiação proveniente do LED<sub>1</sub>. O segundo amplificador operacional (OA<sub>2</sub>) foi configurado como amplificador de sinal com ganho de 5 vezes. O resistor variável acoplado à entrada não inversora permite o ajuste da linha de base. Os capacitores acoplados em paralelo com os resistores de realimentação funcionam como filtros de ruído.

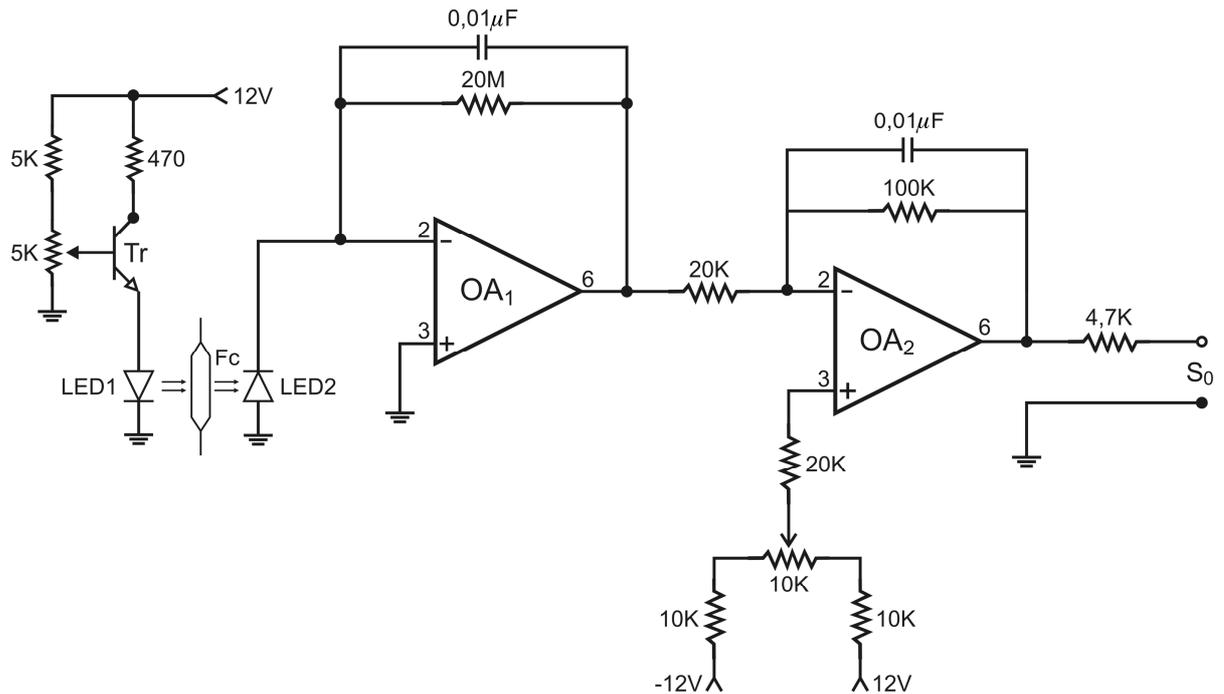


FIGURA 10. Diagrama eletrônico da unidade de detecção fotométrica. Tr = transistor BC547; LED 1 e LED 2 = diodo emissor de luz verde,  $\lambda_{\text{max}} = 531 \text{ nm}$ ; Fc = cela de fluxo, tubo de vidro, 4,0 mm diâmetro interno e 20 mm comprimento; OA<sub>1</sub> e OA<sub>2</sub> = amplificadores operacional OP07; S<sub>0</sub> = saída de sinal em mV. Resistor em  $\Omega$ .

A cela de fluxo constituída por um tubo de vidro de 4,0 mm de diâmetro interno, foi montada usando como suporte um bloco de PVC. Como mostrado na Figura 11, os dois LEDs foram acoplados no suporte em posição ortogonal à da cela de fluxo. Nesta configuração, a radiação emitida pelo LED<sub>1</sub> atravessa a cela de fluxo e incide sobre o LED<sub>2</sub>. Neste sentido, quando a solução fluía pela cela de fluxo, o feixe de radiação atravessa a solução, e ocorrendo absorção de radiação, a intensidade é atenuada. Esse efeito é detectado pela malha de transdução do sinal composta pelo LED<sub>2</sub> e pelo primeiro amplificador operacional (OA<sub>1</sub>) e convertida em diferença de potencial (mV).

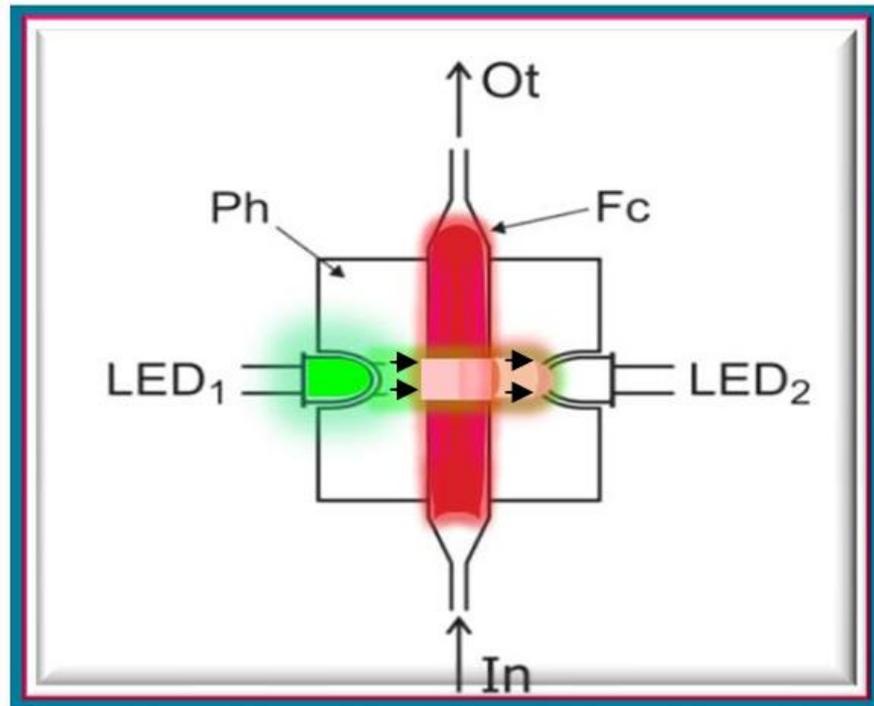


FIGURA 11. Montagem da Cella de fluxo e dos LEDs. Fc = tubo de vidro, 4,0 mm diâmetro interior e 20 mm comprimento; LED<sub>1</sub> e LED<sub>2</sub> = diodos emissores de luz,  $\lambda = 530$  nm; Ph = bloco de PVC; In e Ot = entrada e saída de solução, respectivamente.

Quando o *software* de controle e aquisição de dados era colocado em operação o microcomputador requeria a calibração do fotômetro. Nesse passo, o LED<sub>1</sub> foi mantido apagado, a saída de sinal Figura 10 foi ajustado para 0V através do resistor variável (10 k $\Omega$ ) instalado na entrada não inversora do amplificador operacional OA<sub>2</sub>. Em seguida, o LED<sub>1</sub> foi ligado e ajustado através do resistor acoplado à base do transistor (Tr). A intensidade de emissão foi ajustada com a cela cheia de água para obter na saída do amplificador operacional (OA<sub>2</sub>) uma diferença de potencial ( $S_0$ ) de 2000 mV.

No software foi introduzido o comando para ler a saída de sinal ( $S_0$ ) antes de começar a titulação. Esta medida foi usada como referência para detectar a variação de sinal causada pela amostra ao passar através da cela de fluxo. O

sinal analítico é o valor máximo da diferença entre  $S_0$  e o sinal gerado com a presença da amostra na cela de fluxo.

## 4.2.Procedimento analítico

O processo de titulação por procura binária segue o modelo representado na Figura 12, conforme proposto por (KORN *et al*, 1995).

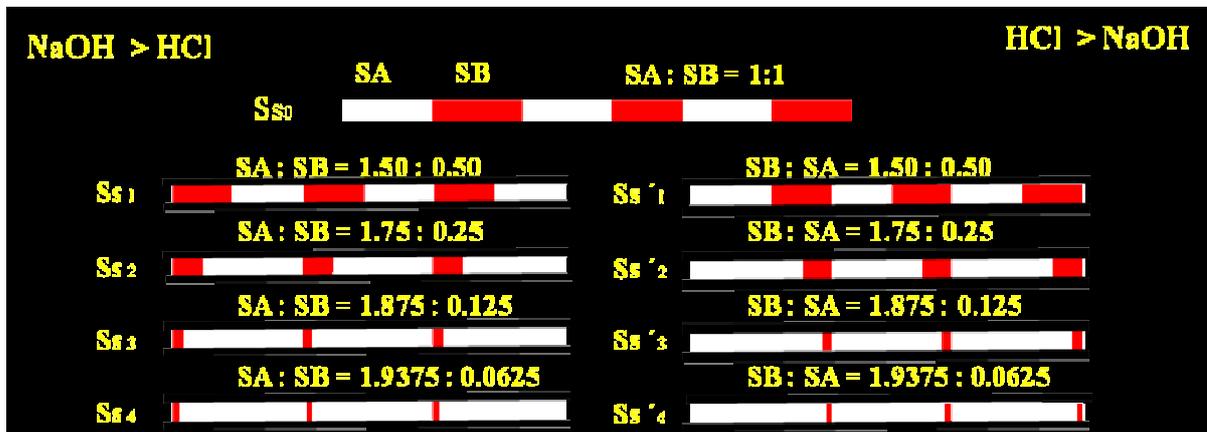


FIGURA 12. Representação esquemática de um modelo de procura binária.

Neste modelo, cinco tentativas foram feitas até encontrar o ponto final da titulação.  $S_{s0}$  = Primeira variável formada;  $S_{s'1}, \dots, S_{s'4}$  = variável formada quando a concentração da solução ácida é maior que a da base;  $S_{s1}, \dots, S_{s4}$  = variável formada quando a concentração da solução básica é maior que a do ácido; SA = alíquota da amostra; SB = alíquota de reagente.

No presente trabalho, foi desenvolvido o módulo de análise baseado no processo de multicomutação representado pelo diagrama de fluxo mostrado na Figura 13. O *software* de controle e aquisição de dados foi escrito em

Quick BASIC 4.5 e permite que o computador controle o funcionamento do módulo para implementar o processo de procura binária segundo o modelo mostrado na Figura 12.

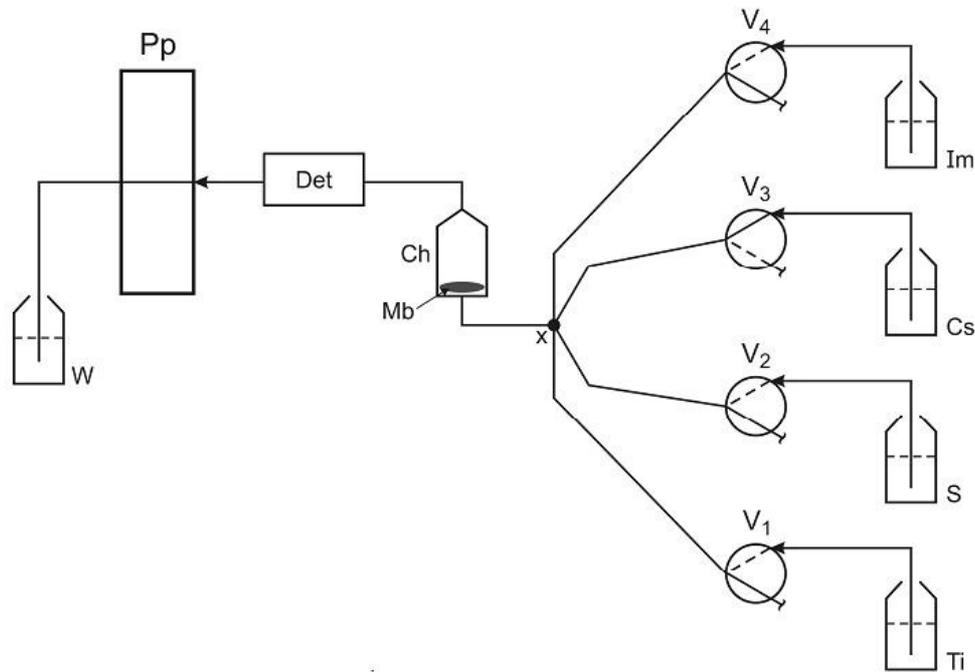


FIGURA 13. Diagrama do sistema de fluxo. Ti = solução titulante (NaOH); S = amostra; Cs = solução carregadora (água), vazão  $34,0 \mu\text{L s}^{-1}$ ; Im = solução de indicador 0,01%;  $V_1$ ,  $V_2$ ,  $V_3$  e  $V_4$  = válvula solenóide de três vias, x = confluência em acrílico, Ch = câmara de mistura; Mb = barra magnética; Det = fotômetro baseado em LED; Pp = bomba peristáltica; W = descarte.

As linhas sólidas dentro do símbolo das válvulas indicam o percurso do fluido quando as válvulas estão ligadas e o pontilhadas quando se encontram desligadas, exceto para a válvula  $V_3$  cuja entrada de solução é feito ao inverso das demais, ou seja, na posição normalmente aberta da válvula de três vias, nesta posição o percurso é interrompido quando a válvula é ligada e as setas indicam o sentido de propulsão das soluções.

Na configuração mostrada na Figura 13, as válvulas  $V_1$ ,  $V_2$  e  $V_4$  estão desligadas, assim o fluido transportador (Cs) está sendo aspirado através do percurso analítico em direção à bomba peristáltica (Pp). Quando o software de

controle era colocado em operação, o microcomputador requer os valores dos seguintes parâmetros: vazão de bombeamento; intervalos de tempo inicial Tis e Tit (Tabela 1) para manter as válvulas V<sub>1</sub> e V<sub>2</sub> ligadas para inserir amostra e titulante, respectivamente; intervalo de variação do tempo inicial Δt; e a faixa de diferença de potencial elétrico (mínimo e máximo) a ser avaliado para decidir o curso da titulação. Em seguida, o microcomputador começa a titulação ligando e desligando as válvulas solenóides segundo a seqüência mostrada na Tabela 1 até concluir a titulação.

TABELA 1. Seqüência de acionamento das válvulas solenóide. Tis e Tit intervalos de tempo selecionado para acionamento das válvulas V<sub>1</sub> (titulante) e V<sub>2</sub> (amostra) na primeira tentativa, Δt = Tit (primeiro valor), Δt<sub>1</sub> = 0,01 (último valor). Os números **0** e **1** indicam o estado de acionamento das válvulas, desligada ou ligada, respectivamente.

Etapas	Ação a ser executada	V <sub>1</sub>	V <sub>2</sub>	V <sub>3</sub>	V <sub>4</sub>	Tempo (s)	Ciclos
0	Encher o percurso da solução transportadora (água)	0	0	0	0	60	-
A	Inserção de amostra	0	1	1	0	Tis	10
B	Inserção de solução titulante	1	0	1	0	Tit	10
C	Inserção de solução indicador	0	0	1	1	0,2	10
D	Deslocamento da zona de amostra até o detector e leitura do sinal	0	0	0	0	50	-
F	Sinal > Mínimo Δt = Δt /2 ⇒ Tit = Tit-Δt; Tis =Tis+Δt	0	0	0	0	0	-
G	Sinal < Máximo Δt = Δt /2 ⇒ Tis = Tis-Δt; Tit =Tit+Δt	0	0	0	0	0	-
H	Mínimo < Sinal < Máximo ⇒ Fim da titulação	0	0	0	0	0	-

\*Etapas A, B e C foram repetidos seqüencialmente 10 vezes.

Ao iniciar o processo, são definidos os volumes iniciais das soluções da amostra, estabelecendo os intervalos de tempos ( $T_{is}$  e  $T_{it}$ ; Tabela 1) para manter ligadas as válvulas  $V_1$  e  $V_2$ . Em seguida, o *software* faz a primeira tentativa mantendo os volumes estabelecidos. Não sendo encontrado o ponto final, verifica se havia excesso de hidróxido ou de ácido para decidir o passo seguinte. Se o meio era alcalino, dividia o volume da alíquota de hidróxido por dois, subtraía este valor do volume de hidróxido usado e acrescentava o mesmo valor à alíquota da amostra. Sendo detectado que o meio era ácido, a ação tinha sentido oposto, o volume da alíquota da solução da amostra era dividido por dois, e o valor era subtraído da alíquota da amostra e adicionado à alíquota do titulante. O processo de inserção das alíquotas das soluções e leitura do sinal era executado novamente. O sinal detectado era avaliado, considerando o valor máximo e o mínimo previamente estabelecido (Tabela 1). Se a condição de finalização não fosse alcançada, o computador decidia qual das possibilidades descritas acima seria executada. Dessa etapa em diante, era dividida por dois a última alíquota somada e subtraída dos volumes usados na etapa anterior.

O *software* foi designado para reconhecer o fim da titulação, comparando o sinal gerado com os presentes valores indicado nos passos F, G e H (Tabela 1). Neste sentido, quando a condição estabelecida no passo H não era obtida, o microcomputador variava o intervalo de tempo para inserir amostra e titulante como indicado nos passos F e G e retomava os passos A, B, C e D.

A dimensão do sistema de fluxo e a vazão de bombeamento foram mantidas constantes. Para os ajustes iniciais do funcionamento do sistema foram usadas soluções de HCl  $0,1 \text{ mol L}^{-1}$  e de NaOH  $0,1 \text{ mol L}^{-1}$ .

Segundo o modelo da amostragem binária, no primeiro ciclo de amostragem, as alíquotas das soluções da amostra e do titulante tinham o mesmo volume, entretanto, o *software* foi estabelecido de modo que os volumes iniciais pudessem ser distintos. Os experimentos foram efetuados estabelecendo-se as seguintes razões entre os intervalos de tempos, 1:1; 1:1,5; 1:2; 1:3 e 1:4.

No modelo é mostrado um ciclo de amostragem, mas na Tabela 1 está indicado que foram programados 10 ciclos de amostragem. Nessa condição, o volume da zona da amostra era suficiente para encher o percurso analítico, evitando a geração de gradiente de concentração.

Após os ajustes dos parâmetros de controle do sistema, uma série de amostras de vinagre branco e tinto foi processada. Para verificar a exatidão as amostras foram tituladas empregando procedimento manual. Para verifica a estabilidade do sistema como um todo, o processo de titulação usando soluções ácida e alcalina foi efetuado durante vários dias.

## 5. Resultados e Discussão

Nesse trabalho, foi avaliada a viabilidade do uso de LED como fotodetector (LED verde  $\lambda_{\text{máx}} = 531\text{nm}$ ), e para isso foi desenvolvido um procedimento de titulação fotométrica baseado no processo de procura binária. Na Tabela 1 (passo H) está indicado que a titulação pode ser finalizada quando a seguinte condição é alcançada: Mínimo < Sinal < Máximo. Ensaios preliminares mostraram que os limites mínimos e máximos poderiam ser fixados em 300 e 400 mV, respectivamente. Nestas condições, quando a variação de sinal  $\Delta V = S_0 - V$  ( $S_0 = 2000$  mV) obtido no passo D (Tabela 1) era menor que 300 mV, indicava que a zona da amostra era ácida, então as condições presentes no passo G eram selecionadas previamente para iniciar a titulação. A condição apresentada no passo F foi selecionada quando  $\Delta V = S_0 - V$  era maior que 400 mV, o que indica a alcalinidade da zona da amostra.

Os experimentos foram realizados mantendo em 1,0 s o intervalo de tempo para inserção da alíquota da solução da amostra e variando de 1,5 a 4,0 s o intervalo de tempo para inserção da solução do titulante. A vazão de bombeamento foi mantida para este experimento em  $37,04 \mu\text{L s}^{-1}$ , então, o

volume de cada alíquota da solução da amostra na primeira tentativa era 37,04  $\mu\text{L}$ . O intervalo de tempo para inserção de solução titulante variou de 1,5 para 4,0 s, então o volume das alíquotas titulante variou de 57,77 a 151,4  $\mu\text{L}$ . Para cada titulação foram programados 10 ciclos de amostragem, portanto, o volume da zona de amostra variou de 920,0 a 1884,0  $\mu\text{L}$ . O volume da câmara Figura 13 era de 500  $\mu\text{L}$ , portanto, a atenuação do sinal por dispersão foi amenizada. Os experimentos foram realizados usando soluções de HCl ( $0,1 \text{ mol L}^{-1}$ ) e NaOH ( $0,1 \text{ mol L}^{-1}$ ) os resultados obtidos são mostrados na Tabela 2.

TABELA 2. Resultados da titulação usando soluções de padrão de HCl e NaOH.

Procedimento	Tis (s)	Tit (s)	Sv ( $\mu\text{L}$ )	Tv ( $\mu\text{L}$ )	Procedimento automático ( $\text{mol L}^{-1}$ )	Procedimento manual ( $\text{mol L}^{-1}$ )	Comparação aut/man (%)
1	1,00	1,50	47,87	46,75	0,0959 $\pm$ 0,0021	0,0956 $\pm$ 0,0020	100,3
2	1,00	2,00	57,28	55,25	0,0935 $\pm$ 0,0031	0,0956 $\pm$ 0,0030	97,8
3	1,00	2,50	59,94	61,54	0,0930 $\pm$ 0,0023	0,0956 $\pm$ 0,0022	97,3
4	1,00	3,00	76,96	74,44	0,0954 $\pm$ 0,0010	0,0956 $\pm$ 0,0011	99,7
5	1,00	4,00	102,2	97,20	0,0938 $\pm$ 0,0040	0,0956 $\pm$ 0,0041	98,1

Cada resultado representa a média de 5 titulações consecutivas.

Na tabela 2, Sv( $\mu\text{L}$ ) e Tv( $\mu\text{L}$ ) volumes encontrados para as alíquotas das soluções da amostra e do titulante respectivamente. Tis(s) e Tit(s) intervalo de tempo de acionamento das válvulas de amostra e titulante respectivamente.

O resultado mostrado nas colunas quatro e cinco da Tabela 2 corresponde aos volumes das soluções do titulante e da amostra encontrados quando os pontos finais foram alcançados, na titulação automática. O resultado da coluna seis mostra que este tem uma relação entre o volume final da amostra e alíquota

de solução titulante, que são independentes do volume inicial estabelecido para a solução titulante. Os resultados da coluna oito mostram que os resultados obtidos no sistema proposto se encontram muito bem relacionados com o procedimento manual (coluna 7). Esses resultados mostram que o sistema conseguiu convergir para a condição estequiométrica independente do volume inicial, portanto, o volume inicial pode ser estabelecido de forma arbitrária dentro da faixa de volumes testados, sem risco de comprometer os resultados.

Na Figura 14, são mostrados os registros de 5 titulações executadas seqüencialmente usando uma solução de HCl para simular uma amostra e uma solução de NaOH como titulante.

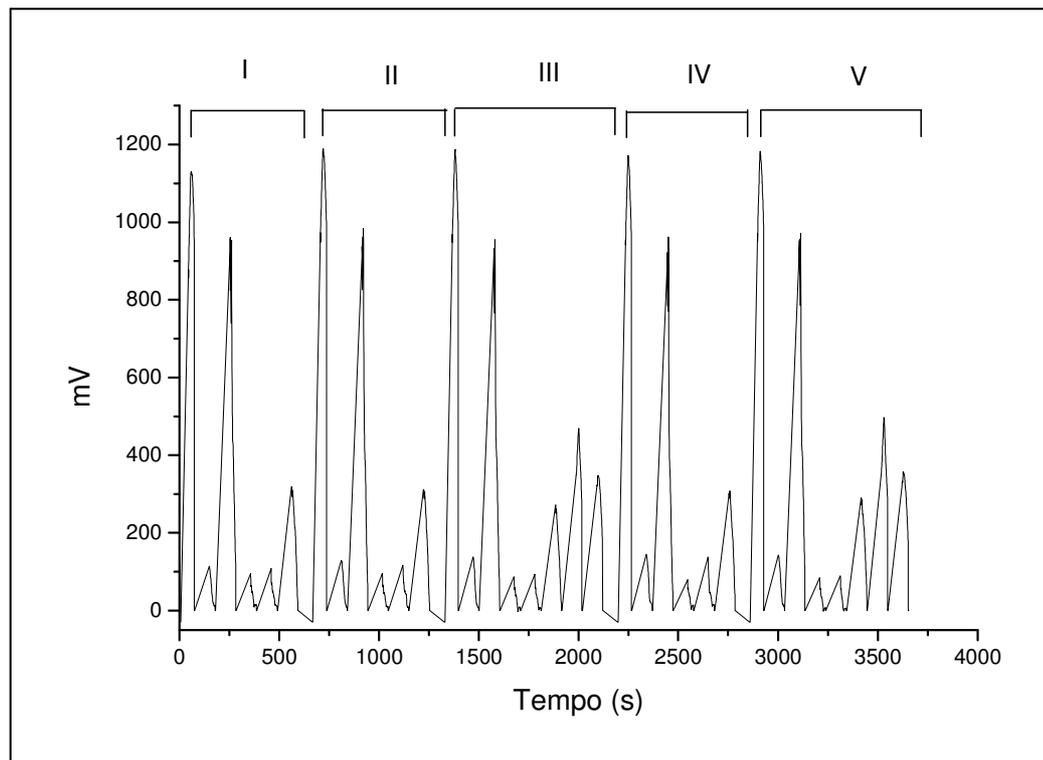


FIGURA 14. Perfis dos sinais gerados na titulação. Cada conjunto sinalizado com os números I, II, III, IV e V correspondem a uma titulação.

Os intervalos de tempo iniciais para inserção das alíquotas da amostra e do titulante foram estabelecidos em 1,0 e 1,0 s, portanto, os volumes iniciais das

alíquotas eram de 37,04  $\mu\text{L}$  e 37,04  $\mu\text{L}$  para amostra e titulante, respectivamente. A condição estabelecida para finalizar a titulação (linha H, Tabela 1) foram valor mínimo = 300 mV e valor máximo = 400 mV. Analisando os registros dessa figura verifica-se que as titulações representadas pelos registros I, II e IV foram finalizadas na sexta tentativa. A Tabela 3 mostra que os volumes finais encontrados foram 43,35 e 24,31  $\mu\text{L}$  para a solução ácida e alcalina, respectivamente. Os registros III e V mostram na sexta tentativa o sinal era superiores a 400 mV, então o processo continuou até a oitava tentativa, e os respectivos volumes da amostra e do titulante são mostrados na linha 8 da Tabela 3. A diferença entre estes valores e os encontrados para as titulações I, II e IV foi 0,795 e 0,977  $\mu\text{L}$  para a amostra e para o titulante, respectivamente, portanto, indica que sistema conseguiu se aproximar dos resultados anterior. As médias dos valores encontrados foram  $44,14 \pm 0,43$  e  $23,33 \pm 0,53$ , para amostra e para o titulante, respectivamente, portanto o erro relativo em cada caso foi de 0,2 %. Este resultado mostra que a divergência das titulações III e V em relação às outras está dentro da margem de erro aceitável.

TABELA 3. Volumes das alíquotas das soluções usadas nas titulações mostradas na Figura 14.

Tentativas	Volume da solução ácida ( $\mu\text{L}$ )	Variação do volume ( $\mu\text{L}$ )	Volume da solução alcalina ( $\mu\text{L}$ )
1	34	0	34
2	51	17	17
3	42,5	8,5	25,5
4	46,75	4,25	21,25
5	44,71	2,125	23,29
6	43,35	1,062	24,31
*7	43,881	0,531	23,599
*8	44,146	0,2655	23,333

Tendo sido verificado o bom desempenho do sistema, foi analisado um conjunto de amostras de vinagre branco e tinto. Visando verificar a exatidão dos resultados, as amostras foram também tituladas empregando um procedimento manual, e os resultados são mostrados na Tabela 4. Nesse caso, foi usada como titulante uma solução de hidróxido de sódio com concentração de  $0,1 \text{ mol L}^{-1}$ , a qual foi padronizada antes do uso com uma solução de biftalato de potássio.

TABELA 4. Resultados da titulação para amostras de vinagre tinto e branco. A = amostra; Tis e Tit = Primeiros intervalos de tempo para inserir alíquotas de amostra e titulante respectivamente; Amostras de 1 a 3 = solução de ácido acético e 4 e 5 = vinagre tinto e 6 e 7 = vinagre branco.

A	Tis (s)	Tit (s)	Volume de amostra ( $\mu\text{L}$ )*	Volume de titulante ( $\mu\text{L}$ )*	Titulação automática ( $\text{mol L}^{-1}$ )	Titulação manual ( $\text{mol L}^{-1}$ )	Comparação automático/ manual (%)
1	1,00	1,50	$57,49 \pm 0,72$	$56,06 \pm 0,71$	$0,0959 \pm 0,0012$	$0,0961 \pm 0,0012$	99,8
2	1,00	1,50	$57,43 \pm 0,74$	$56,12 \pm 0,73$	$0,0964 \pm 0,0012$	$0,0961 \pm 0,0012$	100,3
3	1,00	1,50	$57,90 \pm 0,67$	$55,65 \pm 0,52$	$0,0948 \pm 0,0019$	$0,0961 \pm 0,0089$	98,6
4	1,00	1,50	$65,55 \pm 0,91$	$47,99 \pm 0,82$	$0,7225 \pm 0,0100$	$0,7289 \pm 0,012$	99,1
5	1,00	1,50	$69,34 \pm 0,86$	$44,21 \pm 0,41$	$0,6292 \pm 0,0078$	$0,6134 \pm 0,0056$	102,5
6	1,00	1,50	$59,39 \pm 0,71$	$43,84 \pm 0,45$	$0,7285 \pm 0,0087$	$0,7225 \pm 0,012$	100,8
7	1,00	1,50	$69,41 \pm 0,33$	$49,92 \pm 0,55$	$0,7098 \pm 0,0037$	$0,7237 \pm 0,0079$	98,0

\*Cada resultado é média de 5 titulações consecutivas.

Aplicando o teste-*t* aos resultados mostrados nesta tabela encontrou-se o valor de 0,01216. O valor tabelado no intervalo de confiança de 95 % é 2,365, portanto, os resultados obtidos não apresentam diferença significativa neste nível de confiança.

## 6. Conclusão

A magnitude da variação do sinal pode afetar os resultados em titulação fotométrica. Mesmo empregando uma cela de fluxo com caminho óptico 4 mm, a variação do sinal gerado pelo fotômetro permitia identificar variações de volume da ordem de 0,26  $\mu\text{L}$  (Tabela 3), indicando boa sensibilidade e baixo nível de ruído.

O *software* de controle e aquisição de dados tinha flexibilidade para alterar os parâmetros iniciais, sem afetar a convergência para a condição de estequiometria.

A robustez do sistema como um todo, incluindo o módulo de análise, o sistema de detecção e software de controle e aquisição de dados foi verificada mantendo o sistema em funcionamento durante 4 horas em vários dias seguidos. Não foi verificada falha de funcionamento e os resultados obtidos foram sempre concordantes entre si.

Considerando estes resultados podemos concluir que o emprego de LED como fotodetector é uma opção viável em fotometria, possibilitando o desenvolvimento de protótipos de baixo custo com desempenho similar aos equipamentos comerciais.

## CAPÍTULO 3

---

**Emprego de uma cela de fluxo de caminho óptico longo com acoplamento direto ao sistema de detecção. Determinação de ortofosfato em água de rios**

## 7.Introdução

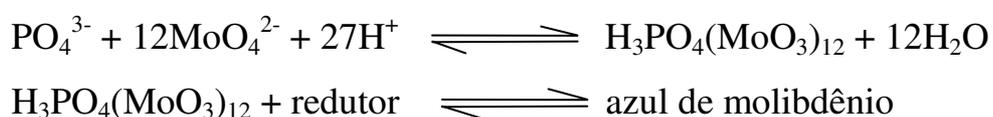
Os estudos realizados por Lambert (1760) e por Beer (1852) referente à absorção de radiação eletromagnética resultou na conhecida equação: Absorbância =  $-\log(T/T_0) = kxc$ , em que  $k$  é uma constante que é característico da substância e pode variar em função de meio,  $x$  é caminho percorrido pela radiação e  $c$  é a concentração da espécie química de interesse. Segundo essa equação, a sensibilidade de método espectrofotométrico pode ser melhorada aumentando o espaço percorrido pela radiação dentro da cela de detecção. Contudo, em equipamentos comerciais, dificuldades técnicas impedem o uso deste recurso em química analítica, principalmente em procedimentos empregando sistema de análise por injeção em fluxo (FIA). Nesse caso, as celas de fluxo tem janelas de entrada e saída com diâmetro entre 1 e 3 mm, e usualmente tem caminho óptico de 10 mm. Percurso óptico mais longo reduz a intensidade do feixe de radiação, o que dificulta o emprego deste recurso. Visando contornar essa dificuldade, celas de fluxo com diferentes desenhos para aumentar o caminho óptico foram propostos (MELCHERT & ROCHA, 2008). O melhor resultado foi obtido com uma cela de fluxo tubular construída com um tubo de teflon AF (DALLAS & DASGUPTA, 2004). Esse material tem índice de refração menor que o da água (1,33), podendo ser utilizado como guia de onda, mantendo a propagação do feixe de radiação através da solução no interior da cela. Essa propriedade permitiu a construção de cela de fluxo com 100 mm de comprimento. Esta cela é um produto comercial indisponível no mercado nacional. A Ocean Optics (<http://www.oceanoptics.com/>, acessado em 27 de junho de 2008), fabricante deste tipo de cela de fluxo não fornece para equipamentos de outros fabricantes.

O diodo emissor de luz (LED) foi empregado pela primeira vez em detecção fotométrica nos anos setenta (BETTERIDGE, *et al.*, 1978). Atualmente, o LED tem uso generalizado como fonte de radiação para

equipamentos fotométricos, tendo como vantagens baixo custo, alta eficiência de conversão de energia, efeito de ruído insignificante e longo tempo de vida (DASGUPTA, *et al.*, 2003). A disponibilidade de LED com alta intensidade de emissão (20.000 mcd) possibilitou o emprego de cela de fluxo com caminho óptico de 100 mm em um protótipos de fotômetros para especificação de cromo Cr(III)/Cr(VI) em águas, tendo alcançado um limite de detecção de  $2,0 \mu\text{g L}^{-1}$  Cr (PIRES, *et al.*, 2007).

A determinação de fósforo em ambiente aquático é importante, pois esta espécie química se encontra diretamente ligada à vida aquática, considerado essencial para o desenvolvimento dos organismos vivos, porém em concentrações elevadas é considerada como poluente, pois favorece a proliferação de algas, e conseqüentemente a eutrofização do corpo d'água (GOULDEN & BROOKSBANK, 1975). O fosfato inorgânico corresponde a uma pequena fração do fósforo total, apresentando-se, predominantemente na forma de ortofosfato. A forma inorgânica é denominada fósforo reativo ou solúvel (STRICKLAND & PARSONS, 1960). Em vista disso, constitui um problema atual, tendo em vista que sua procedência está ligada, principalmente aos efluentes provenientes de descargas antrópicas (KUZIEMSKA, 1979).

Um dos métodos mais usados para determinação de fosfato é o baseado na reação do azul de molibdênio, o qual foi introduzido por Denigès (1920) e Atkins (1923), e complementado por Murphy e Riley (1958), com a introdução do antimônio como agente catalisador para desenvolvimento da reação (JONGE & VILLERIUS, 1980), a reação tem como princípio a reação do ortofosfato em meio ácido formando o ácido molibdofosfórico, o qual por intermédio de um agente redutor sofre redução do seu estado de oxidação de +VI a +V, produzindo um complexo de coloração azul, segundo a reação abaixo.



Hoje em dia, tem sido dada atenção a prevenção da poluição das fontes de águas naturais, incluindo nutrientes que participam da fotossíntese das algas (GIMBERT, *et al.*, 2007). Nesse sentido, o fósforo é considerado um dos agentes poluentes que contribuem para a eutrofização de águas naturais (GILBERT, *et al.*, 2007; SAULYS & BASTIENTE, 2007 & TRÉPANIER, *et al.*, 2007). As atividades industriais e agrícolas, bem como as domésticas também são potenciais fontes poluentes de compostos de fósforo (DUKES & EVANS, 2006; MALE & GREEMWAY, 2005; MALLIN & CAHOON, 2003 & VRHOVSEK, *et al.*, 1996;). O ortofosfato é uma das espécies constituintes do fósforo total presente em águas superficiais, sendo considerado um nutriente essencial para os plânctons contribuindo para o crescimento destes (DEGOBBIS, *et al.*, 2005 & MALLIN, *et al.*, 2001). Devido à sua importância, a legislação brasileira estabeleceu como concentração máxima aceitável o limite de  $20 \mu\text{g L}^{-1} \text{P-PO}_4^{3-}$  para águas de classe 1, (RESOLUÇÃO CONAMA nº357 DE 17 DE MARÇO DE 2005 <http://www.mma.gov.br/port/conama/legiabre.cfm?codlegi=459>, acessado em 2 de junho de 2008). Considerando-se que essa concentração é muito baixa, torna-se necessário o uso de procedimentos analíticos de alta sensibilidade.

Diversas técnicas e metodologias têm sido utilizadas na determinação e quantificação de ortofosfato na forma inorgânica. A espectrofotometria UV-Vis é a técnica mais usadas para a determinação de ortofosfato (BUANUAM, *et al.*, 2007; LI, *et al.*, 2002 & MOTOMIZU & LI, 2005), principalmente, empregando o processo de análise por injeção em fluxo (FERNANDES & REIS, 2002 & PONS, *et al.*, 2006). Embora, outras técnicas de detecção como quimiluminescência (MORAIS, *et al.*, 2004), amperometria (UDNAN, *et at.*, 2005) também tem sido empregada. Em procedimentos empregando análise por injeção em fluxo (FIA), recursos tais como parada da zona da amostra (stopped flow), (FERNANDES & REIS, 2002), associação de par-iônico como verde de malaquita (MOTOMIZU & LI, 2005), resina de troca

iônica (ROCHA, *et al.*, 2001), têm sido empregados para melhorar a sensibilidade. Nesses casos, o ganho de sensibilidade obtido, tem como contrapartida o aumento da complexidade do sistema em fluxo.

Nesse trabalho, desenvolveu-se um instrumento dedicado e um procedimento automático para determinação fotométrica de ortofosfato em águas, visando atender aos requerimentos regulatórios do CONAMA (2005), empregando o método do azul de molibdênio (FERNANDES & REIS, 2002). O módulo de análise baseado no processo de multicomutação e o sistema de detecção por fotometria foram projetados para formar uma unidade compacta, permitindo o acoplamento de uma cela de fluxo com caminho óptico de 200 mm.

## **8. Parte experimental**

### **8.1. Reagentes e soluções**

Todos os reagentes usados foram de grau analítico. Na preparação das soluções foi usada água purificada com condutividade elétrica menor que  $0,1 \mu\text{S cm}^{-1}$ .

Uma solução de molibdato de amônio a 1,0 % (m/v) em  $\text{H}_2\text{SO}_4$  0,6 mol  $\text{L}^{-1}$  foi preparada dissolvendo 5,0 g do reagente em água (50 mL). Após a dissolução foram adicionados 17,5 mL de  $\text{H}_2\text{SO}_4$  concentrado, e o volume final completado para 500 mL com água.

Uma solução de cloreto estanoso 0,02 % (m/v) e sulfato de hidrazina 0,2 % (m/v) em  $\text{H}_2\text{SO}_4$  0,5 mol  $\text{L}^{-1}$  foram preparadas dissolvendo-se cada reagente em 50 mL de água. Após total dissolução foram transferidos para um balão de 500 mL, adicionados 14 mL de  $\text{H}_2\text{SO}_4$  concentrado completando-se o volume com água.

Solução estoque de  $1000 \text{ mg L}^{-1} \text{ PO}_4^{3-}$  foi preparada dissolvendo 0,7168 g de  $\text{KH}_2\text{PO}_4$  em 500 mL com água. Esta solução foi mantida em refrigerador. Soluções padrão com concentrações de 0,0; 0,010; 0,020; 0,080; 0,100; 0,200; 0,320; 0,500; 0,600 e 0,800  $\text{mg L}^{-1} \text{ PO}_4^{3-}$  em água. Estas soluções eram preparadas diariamente, usando uma solução de trabalho a  $10 \text{ mg L}^{-1} \text{ PO}_4^{3-}$ , preparada por diluição da solução estoque  $1000 \text{ mg L}^{-1} \text{ PO}_4^{3-}$ .

Amostras de água foram coletadas de diferentes pontos dos rios Piracicaba e Corumbataí, filtradas posteriormente, utilizando filtros  $0,45 \mu\text{m}$  (Whatman) e estocadas em frascos âmbar à temperatura de  $4^\circ\text{C}$  (MOZETO, *et al.*, 2006).

## 8.2. Instrumentos e acessórios

Os equipamentos e acessórios empregados foram três válvulas solenóides de estrangulamento (pinch) normalmente fechada (61P011, NResearch), uma normalmente aberta (161P021 NResearch); uma válvula solenóide de três vias (161T031 NResearch); uma bomba peristáltica Ismatec IPC4 equipada com tubos de bombeamento Tygon; um microcomputador Pentium IV equipado com uma interface conversora analógica/digital com 12 bits de resolução (PCL-711S, Advantech Corp, OH, USA); uma fonte de alimentação de (12V) para alimentação das válvulas solenóide; tubos de polietileno (0,8 mm i.d.) para as linhas de fluxo e reator helicoidal; confluência feita em acrílico; uma interface eletrônica para controle das válvulas solenóide (RODENAS-TORRALBA, *et al.*, 2006); um fotômetro equipado com um fotodiodo IPL10530DAL (RS), e um LED vermelho ( $\lambda = 640 \text{ nm}$ ) de alto brilho; uma cela de fluxo com caminho óptico de 200 mm constituída em vidro de borosilicato com diâmetro interno de 2,0 mm e externo de 6,0 mm.

O controle do módulo de análise e a aquisição de dados foram executados empregando um *software* escrito em linguagem de programação Quick BASIC 4.5.

### 8.3.Sistema de fluxo e Procedimento

Na Figura 15, é mostrado em detalhe a cela de fluxo e o acoplamento do LED e do fotodetector.

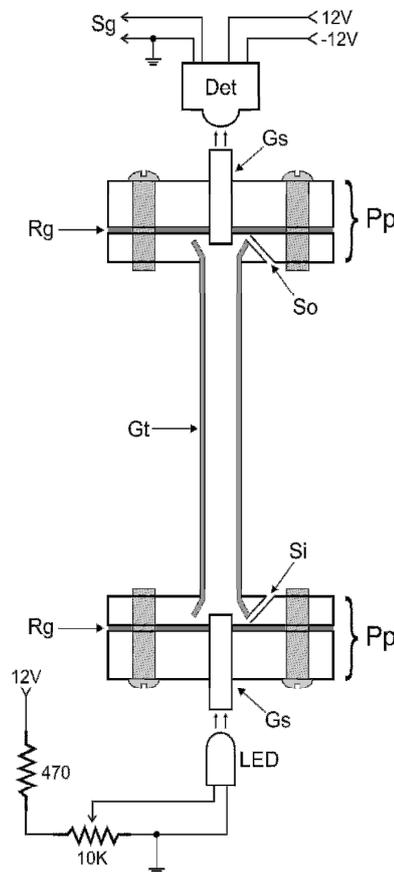


FIGURA 15. Cela de fluxo de longo caminho óptico. LED = Diodo emissor de luz,  $\lambda = 640 \text{ nm}$ ; Gs = cilindro de vidro, diâmetro 1,8 mm, comprimento 30 mm, Pp = placa de PVC; Si e S<sub>0</sub> = entrada e saída de solução, respectivamente; Gt = tubo de vidro, comprimento 200 mm, diâmetro interno e externo 2,0 e 6,0 mm, respectivamente; Rg = junta de borracha; Det = fotômetro, IPL 10530 DAL; Sg = sinal de saída (mV).

A cela de fluxo foi instalada na posição vertical para evitar a retenção de bolhas de ar ao longo do caminho óptico. Os cilindros de vidro (Gs) funcionam como guia de onda e conduz em feixe de radiação à entrada cela de fluxo desta para o fotodetector. Esta geometria melhora o aproveitamento do feixe de radiação, pois minimiza perdas por espalhamento observadas em celas feitas com tubo de vidro moldado no formato U cujas extremidades formam um ângulo de noventa graus (PIRES *et al*, 2007). O diagrama de fluxo do módulo de análise mostrado na Figura 16. Nesta configuração todas as válvulas estão desligadas, desta forma a solução transportadora (Cs) é bombeada em direção ao descarte (W). Quando o *software* de controle era colocado em operação, o microcomputador solicita a calibração do fotômetro, que é feita em duas etapas. Na primeira com o LED apagado é feita a leitura do sinal no escuro (Ds). Na segunda, o LED era ligado e a intensidade de emissão é ajustada através do resistor variável acoplado à base do transistor Figura 10. Foi estabelecido como parâmetro a saída de sinal (Sg) em 2000 mV, o ajuste foi feito com a cela cheia com água. Essa medida era armazenada como referência e usada para o cálculo da absorbância.

Após calibração, as soluções padrões ou amostras eram introduzidas no percurso analítico através das válvulas solenóide, as quais eram ligadas e desligadas seqüencialmente. O computador enviava os sinais de controle para ligar e desligar as válvulas através da interface digital (RODENAS-TORRALBA, *et al.*, 2006), mantendo na seqüência mostrada no diagrama de tempos da Figura 16. Durante a etapa de amostragem a válvula  $V_1$  era mantida ligada, enquanto que as válvulas  $V_2$ ,  $V_3$  e  $V_4$  eram ligadas e desligadas seqüencialmente. Conforme indicado no diagrama de fluxo dessa figura, enquanto a válvula  $V_1$  é mantida ligada, o fluxo da solução transportadora (Cs) é interrompido.

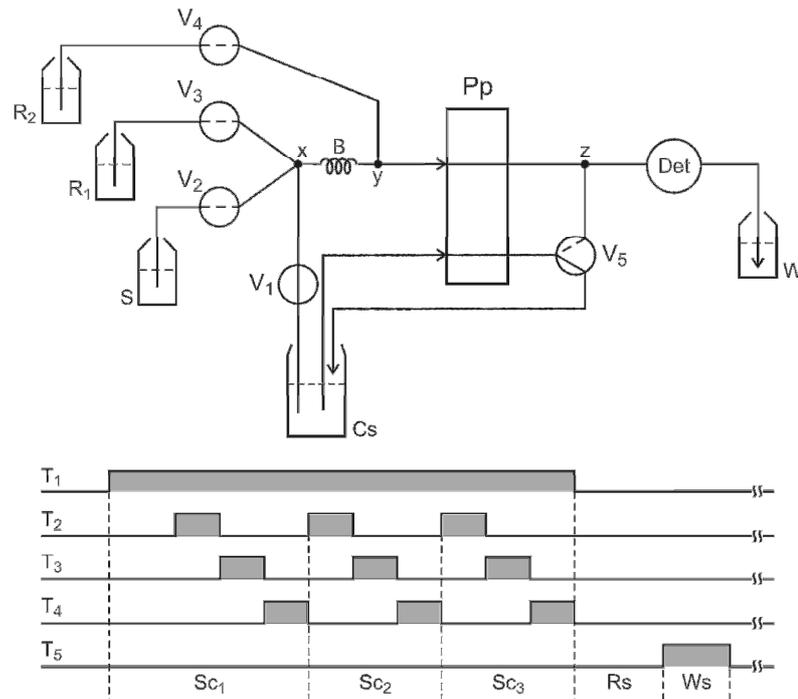


FIGURA 16. Diagrama do sistema em fluxo e de tempo do sistema proposto.

Na Figura 16,  $V_1$  = válvula solenóide de estrangulamento (pinch) normalmente aberta;  $V_2$ ,  $V_3$  e  $V_4$  = válvulas solenóide estrangulamento (pinch) normalmente fechada;  $V_5$  = válvula solenóide de três vias;  $Cs$  = carregador (água), vazão do fluxo de 20,0 e 50,0  $\mu\text{L s}^{-1}$  para válvulas  $V_1$  e  $V_5$ , respectivamente;  $S$  = amostra ou solução padrão;  $R_1$  e  $R_2$  = soluções de molibdato de amônio e cloreto estânico, respectivamente;  $x$ ,  $y$  e  $z$  = pontos de confluência;  $B$  = coluna de mistura, comprimento de 20 cm e diâmetro interno de 0,8 mm;  $Pp$  = bomba peristáltica;  $Det$  = fotômetro,  $\lambda = 660$  nm;  $W$  = descarte; e as setas indicam a direção de bombeamento das soluções. Linhas sólidas dentro dos símbolos das válvulas indicam o fluxo das soluções quando mantidas desligadas, quando pontilhadas indicam que a solução é propelida quando as válvulas forem mantidas ligadas.  $T_1$ ,  $T_2$ ,  $T_3$ ,  $T_4$  e  $T_5$  = esquema de tempo de acionamento das válvulas ligadas e desligadas as válvulas  $V_1$ ;  $V_2$ ;  $V_3$ ;  $V_4$  e  $V_5$ , respectivamente. A sombra abaixo da linha indica que a válvula correspondente se encontra na posição ligada.

$Sc_1$ ,  $Sc_2$  e  $Sc_3$  = ciclos de amostragem;  $Rs$  = leitura do sinal e  $Ws$  = lavagem da cela de fluxo.

O acionamento seqüencial das outras válvulas permitia a inserção de alíquotas das soluções da amostra e dos reagentes. Ao finalizar a amostragem ( $Sc_1+Sc_2+Sc_3+...$ ), todas as válvulas eram desligadas e a solução transportadora fluía novamente e deslocava a zona da amostra através do reator (B) para a confluência  $y$ . A mistura entre as alíquotas da amostra e da solução de molibdato de amônio ocorria durante o deslocamento até a confluência  $x$ , e a mistura com a solução de cloreto estanhoso ( $R_2$ ) ocorria a partir da confluência  $y$ . Nesse módulo de análise, o tubo de bombeamento foi usado como um segundo reator. O desenvolvimento da reação ocorria durante o deslocamento da zona da amostra para o fotômetro (Det). Após a leitura do sinal ( $Rs$ ), a válvula  $V_5$  era ligada para aumentar a vazão da solução transportadora para abreviar o tempo requerido para a limpeza da cela de fluxo.

Para definir os intervalos de tempo a ser usados para inserir as alíquotas das soluções dos reagentes  $R_1$  e  $R_2$  deve-se considerar que, a vazão de amostragem foi mantida em  $20,0 \mu\text{L s}^{-1}$ . Portanto, o volume de cada alíquota de solução inserida no percurso analítico era função do intervalo de tempo em que a respectiva válvula era mantida ligada. Um conjunto de experimentos foram realizados, mantendo-se o intervalo de tempo da válvula  $V_2$  em 1,0 s e variando os intervalos tempos de acionamento das válvulas  $V_3$  e  $V_4$  de 0,2 a 1,2 s.

O diagrama de tempos de acionamento das válvulas mostra que  $V_2$ ,  $V_3$  e  $V_4$  foram ligadas e desligadas uma após a outra. Uma seqüência de acionamento nessa ordem é chamada ciclo de amostragem. O diagrama de tempos Figura 16, contem 3 ciclos de amostragens ( $Sc_1+Sc_2+ Sc_3$ ), entretanto este número pode ser variado em função do procedimento analítico. Nos experimentos para definir os intervalos de tempo para acionamento das  $V_3$  e  $V_4$ , o número de ciclos de amostragem ( $Sc$ ) foi mantido em 25. O volume da zona da amostra é função do número de ciclos de amostragem. A dispersão

diminui com o aumento da zona da amostra, então visando maximizar o sinal analítico, um conjunto de experimentos foi realizado variando o número ciclos de amostragem de 15 a 30, mantendo as válvulas  $V_2$ ,  $V_3$  e  $V_4$  acionadas durante 1,0; 0,5 e 0,5 s, respectivamente. Nesse experimento, foram usados soluções padrão de ortofosfato com concentração na faixa de 0,010 a 0,800 mg L<sup>-1</sup>.

Após estabelecer as condições operacionais, um lote de amostras de águas dos Rios Piracicaba e Corumbataí foram analisadas. Visando verificar a exatidão foi feito teste de adição e recuperação usando uma solução de ortofosfato.

## **9.Resultados e Discussão**

### **9.1.Comentário Geral**

O objetivo deste procedimento foi desenvolver uma cela de fluxo de caminho óptico longo com geometria adaptável a um fotômetro empregando LED como fonte de radiação e um fotodiodo como detector. Além de melhorar a sensibilidade do método de detecção, visava também integrar o módulo de análises e o sistema de detecção fotométrica para obter um equipamento compacto e portátil. A cela de fluxo com caminho óptico de 200 mm, foi construída com geometria projetada para permitir o acoplamento do LED e do fotodetector direto às janelas de entrada e saída de radiação. Como janelas de entrada e saída de radiação foram empregados dois cilindros de vidro, os quais foram instalados nas extremidades do tubo de vidro que constitui o corpo da cela, alinhados com o eixo longitudinal do tubo. Estes cilindros funcionavam como guias de onda. Como mostrado na Figura 15, o feixe de radiação proveniente do LED era conduzido pelo guia de onda (Gs) instalado na extremidade inferior da cela de fluxo, atravessava a coluna de solução dentro da cela e na extremidade superior era coletado pelo outro guia de onda (Gs) que

fazia o acoplamento óptico com o fotodiodo. Este arranjo permitiu melhor aproveitamento da radiação transmitida através da cela de fluxo, pois, minimiza perdas por espalhamento, efeito observado quando se emprega celas de fluxo feitas com tubo de vidro moldada no formato de U (PIRES *et al*, 2007).

A ocorrência de bolhas de gás no interior da solução causa distorção no sinal analítico, o que invalida o resultado daquela amostragem. Além disso, muitas vezes a bolha fica retida na cela de fluxo, o que obriga a interrupção do processamento da amostra para removê-la. Visando contornar este inconveniente, DALLAS & DASGUPTA, propuseram, como estratégia, a detecção em dois diferentes comprimentos de onda, sendo um centrado na faixa de absorção do composto de interesse, e outro em uma região do espectro em que a absorção era desprezível (DALLAS & DASGUPTA, 2004).

No presente trabalho, a cela de fluxo foi instalada na posição vertical, facilitando o deslocamento caso ocorresse a presença de uma eventual bolha, esta se deslocaria para a extremidade superior, como mostra a Figura 15. O diâmetro interno do tubo de vidro era de 2,0 mm, e nas extremidades foi alargado para 3 mm. Esta geometria permitia que o fluxo ascendesse através da cela, evitando a retenção de bolhas nas extremidades dos guias de onda em contato com a solução.

Quando uma cela de fluxo de caminho óptico longo é usada, a atenuação da radiação causada pelo espalhamento tem sido uma dificuldade apontada na literatura (DALLAS & DASGUPTA, 2004). Nesse procedimento proposto, para contornar essa dificuldade foi usado um LED de alto brilho ( $\lambda_{\text{máx}} = 640 \text{ nm}$ ) acoplado a um transistor, o que permitia o controle da intensidade de emissão do LED. Empregando esse recurso, o fundo de escala desejado era obtido com a cela cheia com a solução transportadora (água), evitando o efeito citado.

Como relatado na parte experimental, quando o *software* é colocado em operação calibrava-se o fotômetro e o microcomputador armazenava a medida

feita no escuro ( $D_s$ ) e a do fundo de escala estabelecido ( $S_g$ ) era ajustado para 2000 mV, mantendo a cela de fluxo cheia com a solução carregadora. Quando a solução padrão ou a solução da amostra era processada, o sinal gerado pelo fotômetro era menor que 2000 mV (limitado pelo fundo de escala da PCL-711S) e a absorvância era calculada usando a relação  $Abs = -\text{Log}[(S_g - D_s)/(2000 - D_s)]$ . Esta foi incorporada ao subprograma de aquisição, assim o arquivo de resultado era gerado em absorvância. Enquanto a solução da amostra era processada, um registro do sinal era gerado em função do tempo e mostrado na tela do computador permitindo sua visualização em tempo real.

## 9.2.Otimização das variáveis do sistema em fluxo

Na parte experimental, foi descrito que o intervalo para manter a válvula da amostra acionada foi mantido em 1,0 s, a vazão de bombeamento das soluções foi mantida em  $20,0 \mu\text{L s}^{-1}$ , portanto o volume da alíquota da solução da amostra inserido em cada ciclo de amostragem ( $S_c$ ) era  $20,0 \mu\text{L}$ . Os intervalos de tempo para acionamento das válvulas  $V_3$  e  $V_4$  foram variados de 0,2 a 1,2 s, com incrementos de 0,2 s, portanto, os volumes das alíquotas das soluções de molibdato de amônio e cloreto estânico variaram de 4,0 a  $24,0 \mu\text{L}$ . Esses experimentos foram realizados usando um conjunto de soluções padrão de ortofosfato com concentrações variando de 0,010 a  $0,800 \text{ mg L}^{-1}$ . Tomando a altura do pico como um parâmetro de medida, foi observado para os intervalos de resposta linear com  $r = 0,999$  para todos os ensaios, contudo, a melhor sensibilidade (coeficiente angular =  $1,4318 \pm 0,0138$ ) foi obtida com volumes de reagentes na faixa de 8,0 a  $16,0 \mu\text{L}$ . Considerando esses resultados, foi selecionado o intervalo de tempo de 0,5 s para manter as válvulas  $V_3$  e  $V_4$  acionada durante o ciclo de amostragem. Nessa condição, o volume de cada alíquota de solução inserida era  $10,0 \mu\text{L}$ .

Considerando que o volume da zona da amostra pode afetar a sensibilidade, experimentos foram realizados para encontrar a melhor condição, e, para isso, o número de ciclo de amostragem foi variado de 15 a 30. Em todos os casos, foi obtida resposta linear. Quanto à sensibilidade, foi observado aumento até 20 ciclos de amostragem (coeficiente angular =  $1,4339 \pm 0,0142$ ), sendo que a partir desse valor o aumento não foi significativo. Os intervalos de tempo de acionamento das válvulas  $V_2$ ,  $V_3$  e  $V_4$  em cada ciclo de amostragem foram mantidos em 1,0; 0,5 e 0,5 s, respectivamente. Então, em cada ciclo de amostragem, era inserido um volume de 40  $\mu\text{L}$ . Nestas condições, o volume da zona de amostra variou de 600 a 1200  $\mu\text{L}$ .

Em sistemas de análise em fluxo, a sensibilidade guarda uma relação intrínseca entre o volume da zona da amostra e o volume do percurso analítico. O efeito da dispersão tende a ser desprezível quando o volume da zona da amostra é da mesma ordem ou maior que o do percurso analítico. O volume da cela de fluxo, em geral, é muito menor que o do percurso analítico, então não é considerado sua contribuição na dispersão. O diagrama de fluxo do módulo de análise (Figura 16) mostra que para a mistura da alíquota da amostra e a alíquota da solução de molibdato de amônio foi usada uma bobina de reação com volume de 100  $\mu\text{L}$ . A mistura com a solução de cloreto estânico ocorria no tubo de bombeamento, que tinha diâmetro interno de 1,0 mm e comprimento de 250 mm. Considerando esses parâmetros, o volume calculado do percurso analítico era 300  $\mu\text{L}$ . A cela de fluxo empregada neste trabalho tinha um volume de 640  $\mu\text{L}$ , portanto contribuía para a dispersão da zona da amostra. Este fato explica o ganho em sensibilidade até o volume de 800  $\mu\text{L}$ . A zona com volume maior que a cela de fluxo, minimiza a dispersão. Volumes maiores tendiam à condição de volume infinito, em que o aumento do volume não incrementa a sensibilidade. Em vista destes resultados, 20 ciclos de amostragem foram selecionados para a continuação do trabalho.

### 9.3. Análise de amostras e figuras de mérito

Após estabelecer a melhor condição operacional, amostras de água dos Rios Piracicaba e Corumbataí foram analisadas. Para verificar a exatidão empregou-se o método de adição e recuperação.

Na Figura 17, são mostrados os registros dos sinais analíticos referentes as soluções de referência e às soluções das amostras. Considerando-se a magnitude dos registros referentes às soluções padrão e a repetibilidade, incluindo os registros relacionados às amostras, observa-se que há uma boa repetibilidade. Esses parâmetros podem ser interpretados como um indicativo de bom desempenho do sistema como um todo.

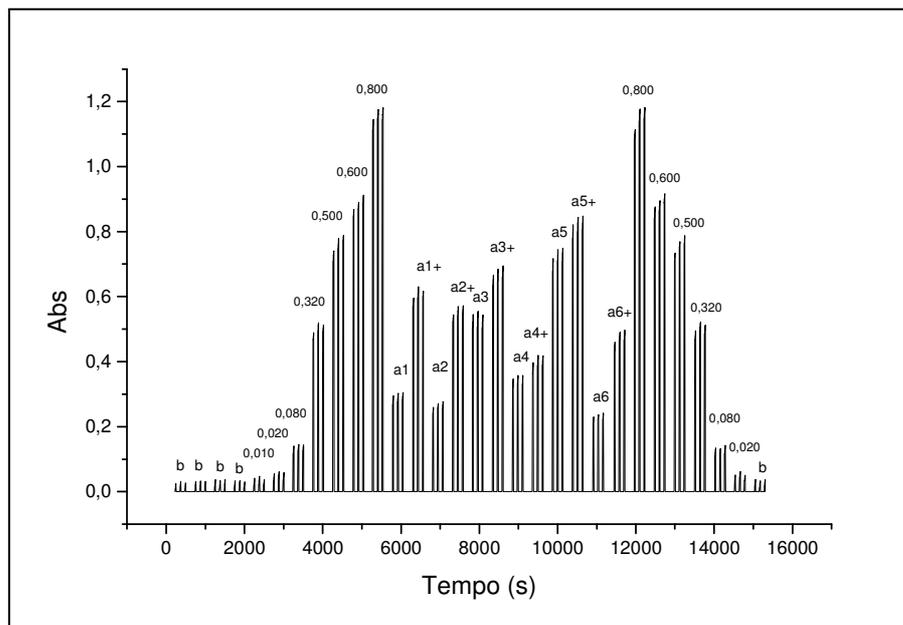


FIGURA 17. Registros dos sinais analíticos. Da esquerda para a direita, quatro replicadas da leitura do sinal do branco; soluções padrões com concentrações de 0,010; 0,020; 0,080; 0,320; 0,500; 0,600 e 0,800  $\text{mg L}^{-1} \text{PO}_4^{3-}$  seguido de doze amostras e novamente as soluções padrões em ordem decrescente.

Tomando como parâmetro analítico a altura máxima dos registros referentes às soluções padrão, obteve-se a curva analítica mostrada na Figura 18,

a qual apresentou uma boa linearidade considerando, demonstrado pelo valor do coeficiente de correlação linear alcançado  $r = 0,9997$ .

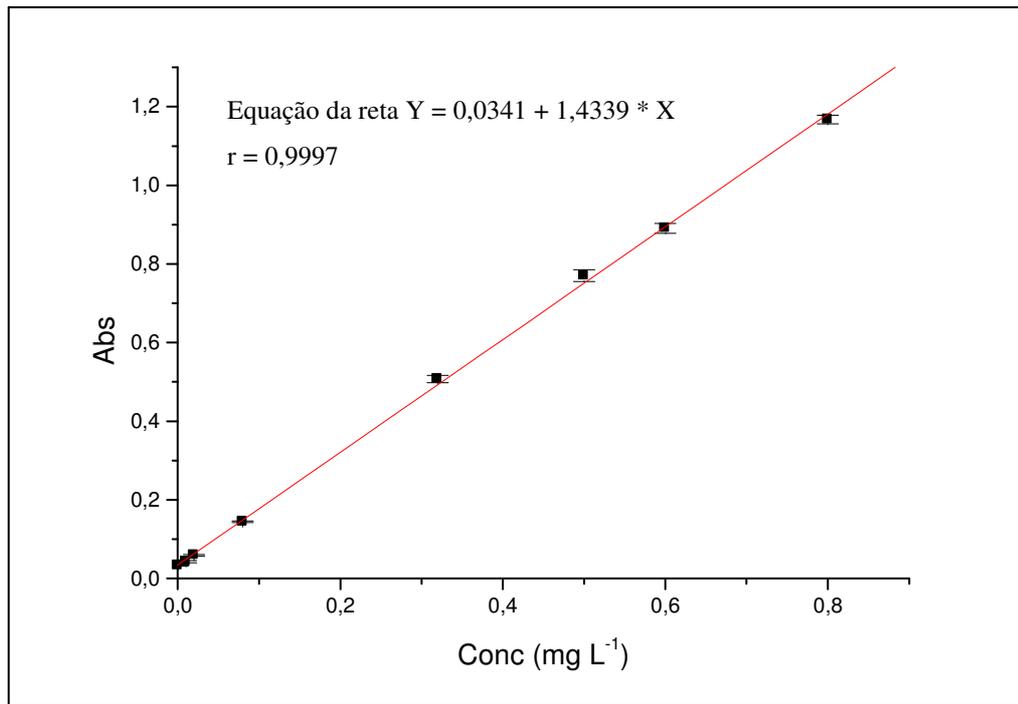


FIGURA 18. Curva analítica de ortofosfato obtida referente os registros da Figura 17, no intervalo de concentração de 0,010 a 0,800 mg L<sup>-1</sup>.

Tomando os quatro primeiros pontos da curva analítica apresentada na figura 18, obteve-se a curva mostrada na figura 19. Analisando esta figura, verifica-se que nesta faixa de concentração a linearidade e o coeficiente angular são mantidos, indicando que o sistema proposto permite trabalhar na faixa de concentrações de 0,010 a 0,800 mg L<sup>-1</sup>, sem comprometer a qualidade dos resultados referentes às amostrar de menor concentrações.

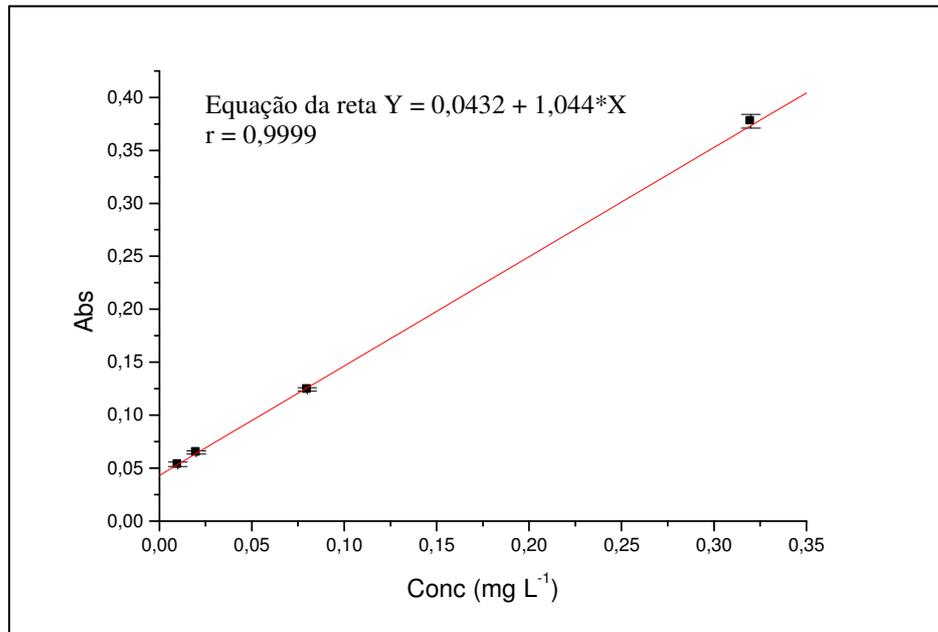


FIGURA 19. Curva analítica de ortofosfato obtida referente os registros dos quatro primeiros pontos da curva mostrada na Figura 18, no intervalo de concentração de 0,010 a 0,32 mg L<sup>-1</sup>.

As concentrações das amostras foram obtidas por interpolação à curva de regressão linear da Figura 18 e os resultados são mostrados na Tabela 5. Observa-se que a recuperação obtida está na faixa de 90,0 % a 109,1%, para amostras na faixa de concentração trabalhada.

TABELA 5. Teste de adição e recuperação.

Amostra	Concentração $\text{PO}_4^{3-}$ ( $\text{mg L}^{-1}$ ) $\pm$ SD	Adição $\text{PO}_4^{3-}$ ( $\text{mg L}^{-1}$ ) $\pm$ SD	Concentração amostra + Adição $\text{PO}_4^{3-}$ ( $\text{mg L}^{-1}$ ) $\pm$ SD	Valor recuperado $\text{PO}_4^{3-}$ ( $\text{mg L}^{-1}$ ) $\pm$ SD	Rec. (%)
1	<b>0,186 <math>\pm</math> 0,003</b>	<b>0,200</b>	<b>0,404 <math>\pm</math> 0,001</b>	<b>0,218 <math>\pm</math> 0,004</b>	<b>109,1</b>
2	<b>0,159 <math>\pm</math> 0,004</b>	<b>0,200</b>	<b>0,368 <math>\pm</math> 0,010</b>	<b>0,208 <math>\pm</math> 0,006</b>	<b>104,3</b>
3	<b>0,190 <math>\pm</math> 0,001</b>	<b>0,200</b>	<b>0,402 <math>\pm</math> 0,001</b>	<b>0,212 <math>\pm</math> 0,003</b>	<b>106,2</b>
4	<b>0,131 <math>\pm</math> 0,004</b>	<b>0,100</b>	<b>0,238 <math>\pm</math> 0,004</b>	<b>0,106 <math>\pm</math> 0,004</b>	<b>106,5</b>
5	<b>0,085 <math>\pm</math> 0,001</b>	<b>0,100</b>	<b>0,189 <math>\pm</math> 0,001</b>	<b>0,103 <math>\pm</math> 0,003</b>	<b>103,3</b>
6	<b>0,085 <math>\pm</math> 0,001</b>	<b>0,100</b>	<b>0,189 <math>\pm</math> 0,001</b>	<b>0,103 <math>\pm</math> 0,002</b>	<b>103,3</b>
7	<b>0,141 <math>\pm</math> 0,004</b>	<b>0,160</b>	<b>0,312 <math>\pm</math> 0,013</b>	<b>0,171 <math>\pm</math> 0,002</b>	<b>107,0</b>
8	<b>0,224 <math>\pm</math> 0,006</b>	<b>0,050</b>	<b>0,269 <math>\pm</math> 0,005</b>	<b>0,045 <math>\pm</math> 0,002</b>	<b>90,0</b>

Os resultados são a média de três replicatas.

Os dados da Tabela 6 representam as figuras de mérito do sistema proposto, e indicam que o desempenho do sistema como um todo é comparável com trabalho encontrado na literatura (GIMBERT, *et al.*, 2007).

TABELA 6. Figuras de méritos do sistema proposto

Parâmetros	Referência GINBERT, <i>et al</i> , 2007	Procedimento proposto
Faixa linear (mg L <sup>-1</sup> )	2,6 – 88,3	0,010 – 1,0
Coefficiente de correlação linear (r)	0,9986	0,9997
Coefficiente Angular	0,7264	1,4339 ± 0,0142
Coefficiente linear	0,7264	0,0341
Desvio padrão do branco (mg L <sup>-1</sup> )	-	6,06x10 <sup>-4</sup>
Limite de detecção (mg L <sup>-1</sup> ), 3σ	0,0009	0,0013
Limite de quantificação (mg L <sup>-1</sup> ), 10σ	-	0,0042
Consumo de cloreto estanoso por determinação (mg)	0,14	0,05
Consumo de molibdato de amônia por determinação (mg)	7,2	1,8
Consumo de sulfato de hidrazina por determinação (mg)	1,4	0,36
Número de determinação por hora	25	20
Efluente gerado (mL/determinação)	4,3	3,6

O trabalho tomado como referência utilizou o mesmo método de determinação, e foi implementado empregando-se uma cela de fluxo com caminho óptico de 1000 mm de comprimento. Os dados dessa tabela mostram que, globalmente, em termos de economia de reagente o sistema proposto foi consideravelmente superior a do procedimento tomado como referência.

## 10. Conclusão

O emprego de cela de fluxo com a geometria proposta é um recurso viável e de fácil implementação para melhorar o limite de detecção de procedimentos fotométricos.

O acoplamento LED e fotodetector à cela de fluxo empregando guias de onda para fazer o acoplamento óptico com solução no interior da cela fluxo, minimiza as perdas de radiação por espalhamento.

As extremidades alargadas do tubo de vidro que constituía a cela de fluxo permitiram que eventuais bolhas de ar fossem deslocadas para fora, o que não acontece com celas de fluxo convencionais na forma de U. Em nenhuma ocasião foi necessário interromper o processo de análises para removê-las, portanto pode-se concluir que esta geometria é vantajosa.

## CAPÍTULO 4

---

**Avaliação de fotodetectores empregados em protótipos de fotômetros usados em sistemas de análise em fluxo**

## 11.Introdução

O transistor foi desenvolvido nos laboratórios da Bell Telephone em 1947 ([http://www.porticus.org/bell/belllabs\\_transistor.html](http://www.porticus.org/bell/belllabs_transistor.html), acessado em 30 de junho de 2008). A partir de então, surgiu uma nova família de dispositivos eletrônicos, e dentre esses os fotodetectores, os quais permitiram um grande avanço da instrumentação analítica. Atualmente, há disponível no mercado uma grande variedade de fotodetectores, sendo que entre os de fácil aquisição e aplicação se pode citar o LDR, o fototransistor e o fotodiodo.

O LDR (Ligth Dependent Resistor) é um dispositivo de estado sólido que tem como propriedade a variação da resistência elétrica em função da absorção de radiação eletromagnética. Essa característica tem sido empregada em sistema de detecção fotométrica de baixo custo (TUBINO & SOUZA, 2006). Esse dispositivo tem resposta logarítmica, portanto o sinal gerado tem relação linear com a concentração do analito. O fototransistor funciona como amplificador de corrente controlada pela absorção de radiação eletromagnética, e o fotodiodo, quando polarizado de maneira conveniente, funciona como um gerador de foto-corrente. Esses dois últimos dispositivos têm sido empregados em maior escala em protótipos de laboratórios (BORGES, *et al* 2006; ROCHA *et al.*, 2004 & LAVORANTE, *et al.*, 2007), sendo que o fotodiodo também tem sido empregado em equipamentos comerciais.

Quanto à resposta espectral relacionada aos fotodiodos, foco desse trabalho, os dispositivos encontrados no mercado possuem uma faixa de resposta cobrindo toda a região do espectro do ultravioleta ( $\lambda \approx 390$  nm) até o infravermelho ( $\lambda \approx 1100$  nm).

Neste trabalho, foram avaliados cinco tipos de fotodetectores visando comparar os seus respectivos desempenho quando,

submetidos às mesmas condições de trabalho. Os circuitos de condicionamento de sinais foram projetados em função das características dos fotodetectores. Os testes para estabelecer os parâmetros de comparação, foram implementados usando um procedimento analítico baseado no processo de multicomutação em fluxo para determinação fotométrica de ortofosfato em águas.

## **12. Parte experimental**

### **12.1. Reagentes e soluções**

Todos os reagentes químicos foram de grau analítico e as soluções foram preparadas com água purificada, tendo condutividade elétrica menor que  $0,1 \mu\text{S cm}^{-1}$ . O procedimento no preparo das soluções e faixas de concentração foram as mesmas apresentados no capítulo 3.

### **12.2. Equipamento e acessórios**

Os equipamentos e acessórios empregados foram três válvulas solenóides de estrangulamento (pinch) normalmente fechada (61P011, NResearch), uma normalmente aberta (161P021 NResearch); uma válvula solenóide de três vias (161T031 NResearch); uma bomba peristáltica Ismatec IPC4 equipada com tubos de bombeamento tygon; um microcomputador Pentium IV equipado com uma interface com conversor analógica/digital com 12 bits de resolução (PCL711S, Advantech Corp); uma fonte de (12V) para alimentação das válvulas solenóides; uma fonte de alimentação de -12V e +12V

estabilizada para alimentação do fotômetro; tubos de polietileno (0,8 mm i.d.) para as linhas de fluxo e reator helicoidal; confluência feita em acrílico; uma interface eletrônica para controle das válvulas solenóide (RODENAS-TORRALBA, *et al.*, 2006); uma cela de fluxo com caminho óptico de 200 mm constituída usando um tubo de vidro de borossilicato com diâmetro de 2,0 e externo de 6,0 mm; um fototransistor Til78; um fotodiodo OSD15-E/RS CF3; um fotodiodo S1337-1010BR; um fotodiodo IPL 10530 DAL (RS); e um LED com máximo de emissão em 640 nm; dois amplificadores operacionais OP07; dois soquetes de 8 pinos torneados, duas placas de circuito impresso (20 x 20 cm) em fibra de vidro com furação padrão para circuito integrado; capacitores e resistores; fio elétrico e solda.

O controle do módulo de análise e a aquisição de dados foram executado empregando um *software* escrito em linguagem de programação Quick BASIC 4.5.

### **12.3.Sistemas de detecção fotométrica e condicionamento de sinais**

Na Figuras 20, é mostrado o circuito eletrônico utilizado apenas substituindo os detectores, para os quais foram utilizados como detectores o fototransistor Til78 e os fotodiodos OSD15, LED e S1337, respectivamente. No caso do fotodiodo IPL 10530 DAL, o acoplamento foi o mesmo da Figura 15.

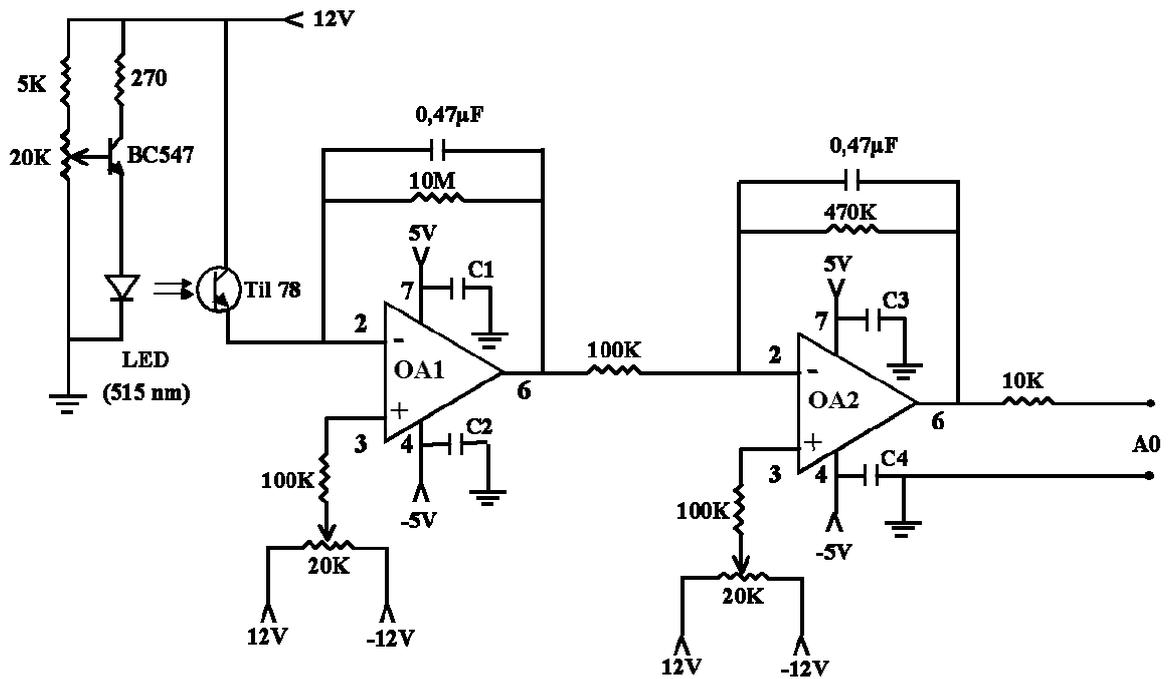


FIGURA 20. Diagrama eletrônico do fotômetro empregando TI178 como fotodetector. OA<sub>1</sub> e OA<sub>2</sub> = amplificadores operacionais OP07; C<sub>1</sub>; C<sub>2</sub>; C<sub>3</sub> e C<sub>4</sub> = capacitores de Tântalo de 2 μF; A0 = Sinal de saída.

A cela de fluxo não está presente nesta figura, mas foi a mesma da Figura 15 e foi instalada entre o LED e o fototransistor.

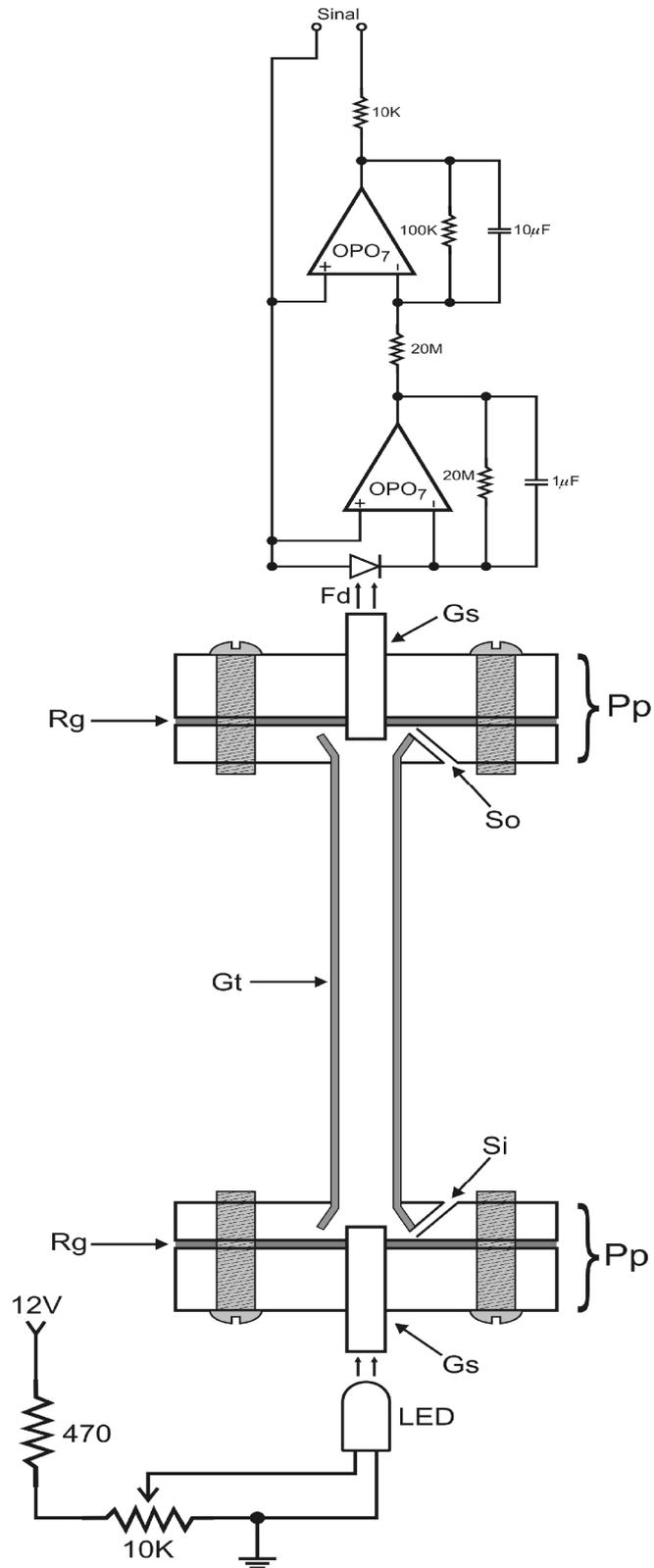


FIGURA 21. Diagrama do fotômetro empregando fotodiodos e acoplamento à cela de Fluxo. Fd = fotodiodo OSD15, S1337 e LED ( $\lambda = 640 \text{ nm}$ ).

Os demais componentes da cela de fluxo foram definidos nas Figuras 15 e 16. No diagrama eletrônico mostrado na Figura 20 e 21 o primeiro amplificador operacional  $OA_1$  foi configurado para compor a malha de conversão da radiação eletromagnética em diferença de potencial e o segundo faz parte da malha de amplificação de sinal com ganho de 5 vezes. A intensidade de emissão do LED era ajustada através do resistor variável para obter o fundo de escala desejado. A parte eletrônica da Figura 21 é mostrada de forma simplificada, mas foi utilizada a mesma apresentada na Figura 20, exceto pelo fato de que, em lugar do fototransistor, foram usados os fotodiodos OSD15 e S1337.

#### **12.4. Módulo de análise e procedimento.**

Na Figura 22, é mostrado o diagrama do módulo de análise, que é o mesmo da Figura 16. O procedimento experimental empregando os protótipos mostrados na Figuras 20, 21 e 22, compreendeu o processamento das soluções padrões das amostras mantendo as condições estabelecidas no Capítulo 3.

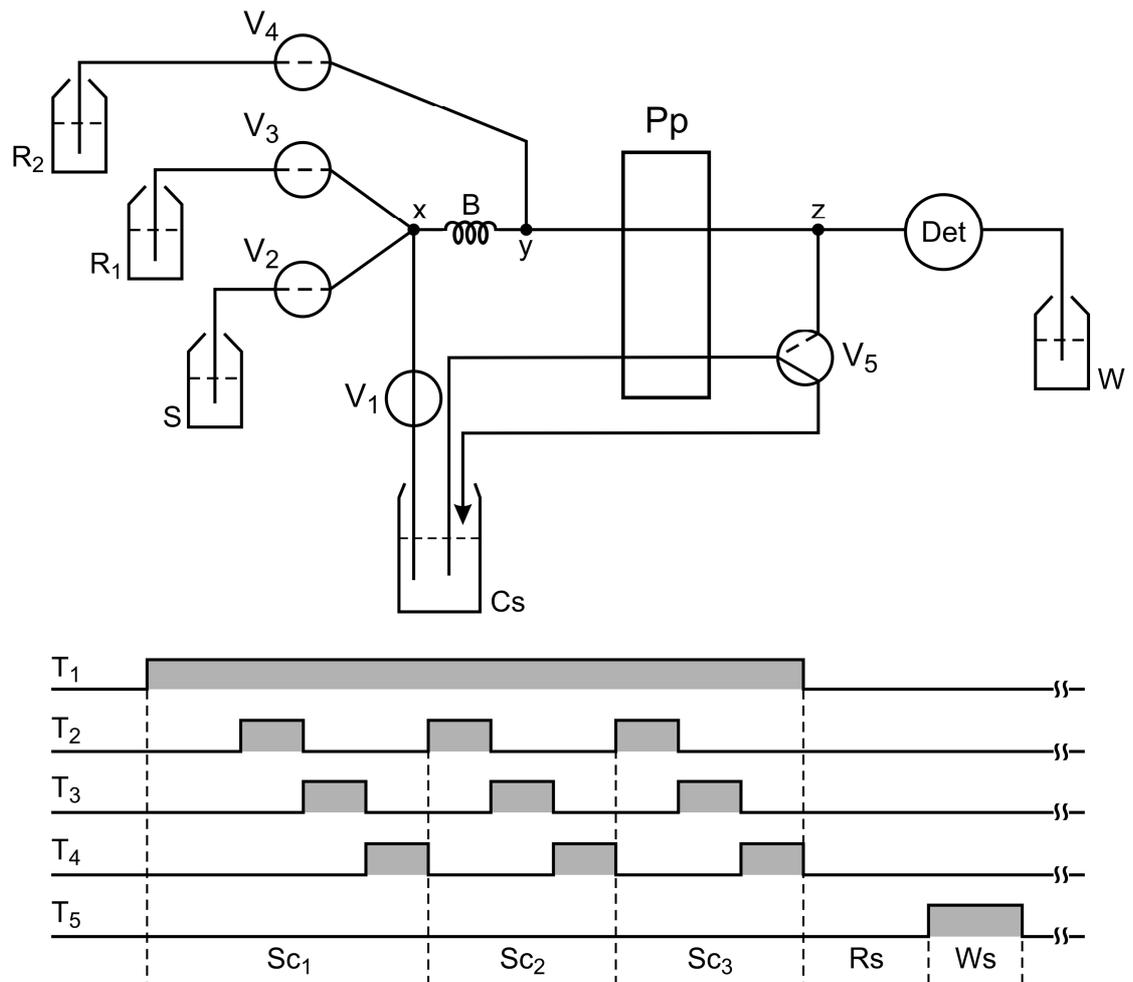


FIGURA 22. Diagrama de fluxo do módulo de análise. S = amostra; Cs = carregador ( $\text{H}_2\text{O}$ ), vazão de  $20 \mu\text{Ls}^{-1}$  ( $V_1$ ) e  $50 \mu\text{Ls}^{-1}$  ( $V_5$ ).  $V_1$ ;  $V_2$ ;  $V_3$  e  $V_4$  = válvulas pinch,  $V_5$  = válvula solenóide de três vias, x, y e z = confluências em acrílico, B = bobina de reação 25 cm, Det = fotômetro baseado em LED; Pp = bomba peristáltica; W = Descarte.

Tendo em vista que o módulo de análise era o mesmo, o *software* de aquisição de dados, descrito no Capítulo anterior, foi usado sem modificação. Quando o *software* era colocado em funcionamento, o computador solicitava a calibração do fotômetro. Mantendo-se o LED (Figura 21) apagado, o sinal de saída (A0) era ajustado para 0V ( $S_0$ ) usando o resistor variável (20 k) acoplado à entrada não inversora do amplificador operacional  $\text{OA}_2$ . Em seguida, a

intensidade de emissão do LED era ajustada usando o resistor variável acoplado à base do transistor. O processo de ajuste é feito com a cela cheia de água e finalizado quando o sinal de saída alcançava o valor de 2000 mV ( $S_f$ ). Os sinais  $S_0$  e  $S_f$  eram armazenados e usados como referência para calcular a absorbância. No circuito da Figura 21, não foi mostrado o circuito de ajuste da leitura no escuro, o qual era idêntico ao da Figura 20, e a calibração era efetuada do mesmo modo.

Os intervalos de tempo de acionamento das válvulas  $V_2$ ,  $V_3$  e  $V_4$  em cada ciclo de amostragem foram estabelecidos em 1,0; 0,5; e 0,5 s, respectivamente, e foram programados 20 ciclos de amostragem. Nessas condições, o volume da zona de amostra era 800  $\mu\text{L}$ , e as condições para o desenvolvimento da reação e aquisição de dados foram as mesmas descritas no Capítulo 3.

## **12.5. Resultados e discussão**

Os experimentos efetuados para comparar o desempenho dos fotodetectores envolveram o processamento do mesmo conjunto de soluções padrão. Para a avaliação dos fotodetectores, foram considerados como parâmetros a faixa de resposta linear, coeficiente angular das curvas analíticas obtidas, e os limites de detecção. Estes dados são mostrados na Tabela 7.

TABELA 7. Comparação de desempenho dos fotodetectores.

	<b>Fotodetectores</b>				
	<b>OSD15- E/RS CF3</b>	<b>TIL 78</b>	<b>S1337- 1010BR</b>	<b>10530 DAL</b>	<b>LED vermelho</b>
Faixa de resposta* (nm)	390-800	400-900	320-1100	390-1150	630-650
Coefficiente angular	1,3237	0,5548	1,3163	1,4339	1,3816
Coefficiente de correlação (r)	0,9996	0,9983	0,9990	0,9997	0,9997
faixa linear (mg L <sup>-1</sup> )	0,01 – 0,80	0,01 -0,60	0,01 – 0,80	0,01 - 1,0	0,01 – 0,80
LD (mg L <sup>-1</sup> )	0,010	0,038	0,003	0,001	0,002
LQ (mg L <sup>-1</sup> )	0,035	0,171	0,010	0,004	0,007

\* Dados obtidos dos respectivos “*data sheets*”.

Para todos os detectores a resposta foi semelhante em relação à faixa de resposta linear, menos para o fototransistor TIL78, que apresentou faixa de resposta linear mais estreita e pior limite de detecção. Em relação ao coeficiente angular com exceção do TIL78 não houve diferença significativa, o que significa que todos apresentaram sensibilidade semelhante.

O IPL10530 DAL tem amplificação interna e foi testado sem passar pelo circuito de amplificação, sendo a sua faixa de resposta linear Tabela 7, foi mais ampla que os demais. Esse detector tem baixo nível de ruído, e não precisa de amplificação externa, necessitando apenas de alimentação (+12 V, -12 V), o torna um dispositivo bastante atrativo para fins de montagens de protótipos de fotômetros, pois, emprega uma eletrônica externa mais simples. Observa-se que o limite inferior das faixas de respostas é idêntico, diferenciando quanto ao limite superior.

O TIL78 foi o que apresentou o pior resultado entre os detectores avaliados, tanto na faixa de resposta, quanto no que diz respeito ao coeficiente angular, explicado em função de suas características físicas, como a presença de um filtro para a faixa do infravermelho em sua superfície de detecção.

Os detectores IPL10530 DAL (22 libras) e OSD15-E/RS CF3(5,0 dolares) são de valor mais elevado, e sua aquisição depende de importação, aumentando

os custos e tempo para aquisição. O LED é o de menor custo e é facilmente encontrado no mercado, o que potencializa sua viabilidade em ser usado como fotodetector.

O emprego de LED, como fotodetector, não é usual, entretanto seu desempenho foi semelhante ao observado para os demais detectores, ao serem utilizadas as mesmas condições operacionais.

Após a otimização das variáveis do sistema proposto, visando testar a viabilidade do uso do LED como fotodetector em um procedimento de rotina, foram analisadas amostras de águas de rio. Na Figura 23 são mostrados registros referentes às soluções padrão e às amostras.

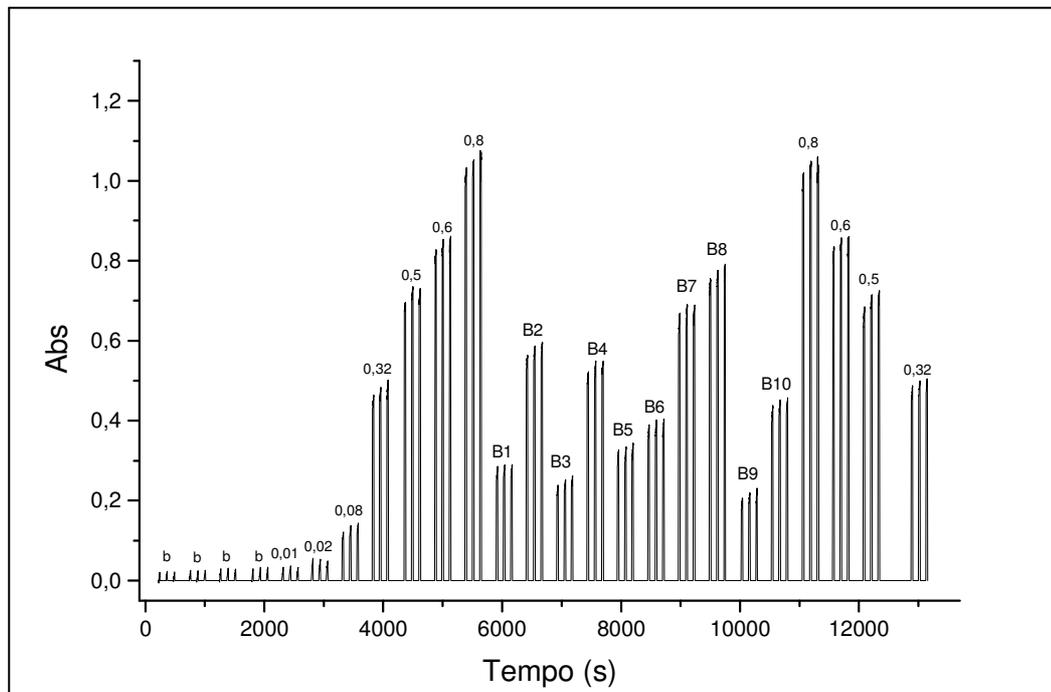


FIGURA 23. Registro do sinal analítico obtido empregando um LED vermelho ( $\lambda = 640 \text{ nm}$ ) como fotodetector; b = registros do branco; os registros de 0,01 a 0,8  $\text{mg L}^{-1}$  corresponde às padrão de fosfato expresso em  $\text{mg L}^{-1}$ , seguindo de 10 amostra e 4 padrões.

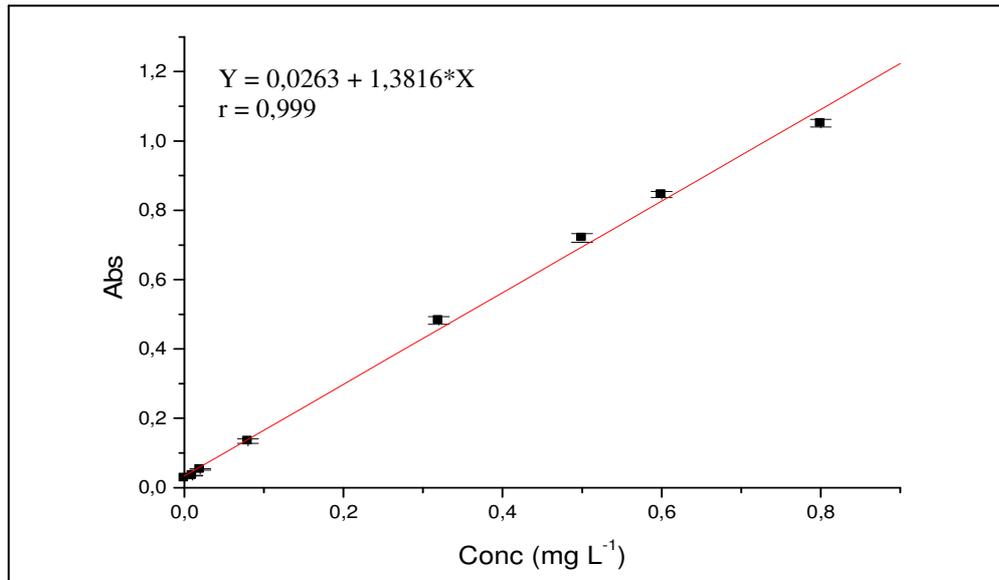


FIGURA 24. Curva analítica obtida efetuando regressão linear com os dados das soluções padrão da Figura 23.

Comparado os perfis dos registros dessa figura com os apresentados na Figura 17, verifica-se sua semelhança em termo de magnitude e repetibilidade. O registro da Figura 23, também é semelhante ao da Figura 17, o que pode ser considerado uma vantagem, pois estando comparados resultados obtidos com um dispositivo de custo reduzido em comparação, com os obtidos com um componente feito com requisitos para instrumentação comercial. Na Tabela 8 são mostrados os resultados obtidos analisando as amostras de águas, para as quais é possível observar que a precisão dos resultados e também a faixa de recuperação são semelhantes às obtidas empregando fotodiodo IPI 10530 DAL (Tabela 5), que é um dispositivo de alta qualidade.

TABELA 8. Resultados dos testes de adição e recuperação usando LED como fotodetector

Amostra	Faixa de concentração (mg L <sup>-1</sup> ) ± SD	Adição (mgL <sup>-1</sup> )	Adição de padrão (mgL <sup>-1</sup> )	Recuperado (mgL <sup>-1</sup> )	Rec (%)
A1	0,1904 ± 0,0015	0,2000	0,4024 ± 0,0119	0,2119	105,9
A2	0,1626 ± 0,0073	0,2000	0,3711 ± 0,0043	0,2083	104,1
A3	0,1395 ± 0,0089	0,1600	0,3055 ± 0,0073	0,1660	103,7
A4	0,2240 ± 0,0063	0,0500	0,2695 ± 0,0054	0,0455	91,0
A5	0,1854 ± 0,0066	0,0500	0,2391 ± 0,0053	0,0537	107,0

Na Tabela 9, são mostradas as figuras de mérito do sistema usando o LED como fotodetector. Comparando com as dos outros detectores avaliados (Tabela 6), observa-se que os parâmetros têm valores semelhantes.

TABELA 9. Figuras de méritos do sistema usando o LED vermelho como detector.

Figuras de mérito	Valores
Comprimento de onda ( $\lambda$ )	640 nm
Coeficiente angular	1,382 ± 0,013
Equação linear	Y = 0,026 + 1,382*X
Coeficiente de regressão linear (r)	0,9998
Coeficiente de variação	0,0014 – 0,020
Frequência de amostragem (determinação/hora)	20
Limite de detecção (mg L <sup>-1</sup> )	2,42x10 <sup>-3</sup>
Limite de quantificação (mg L <sup>-1</sup> )	7,27 x10 <sup>-3</sup>
Faixa de recuperação (%)	91,0 – 107,0
Consumo de cloreto estânico por determinação (mg)	0,036
Consumo de molibdato de amônio por determinação (mg)	1,8

Os experimentos iniciais utilizando o LED como detector, em um processo de titulação fotométrica, para a qual o parâmetro analítico era a transição de sinal quando a condição de estequiometria era alcançada. A repetibilidade da magnitude do sinal não tinha relação com a determinação da

concentração do analito. Em procedimento fotométrico em que a determinação da espécie de interesse é obtida usando curva analítica, é necessário que o sinal gerado seja função da concentração da espécie de interesse. Os experimentos executados nesta parte do trabalho, usando LED como fotodetector, visaram verificar se este dispositivo poderia ser empregado com essa finalidade. Os resultados obtidos demonstram que LEDs podem ser empregados como detectores fotométricos em instrumentação analítica.

### **13. Conclusão**

A faixa de trabalho utilizada (0,01 a 1mg L<sup>-1</sup>) mostra que sistemas construídos com todos esses dispositivos podem ser usados para determinações de espécies químicas em baixa concentração, com exceção do TIL78, cujos resultados não foram inferiores.

Embora, o LED não seja usualmente empregado como fotodetector, os resultados mostraram resposta semelhante à apresentada pelos fotodiodos. Em vista desse resultado, o uso de LED como detector fotométrico pode ser recomendado, permitindo a construção de sistemas portáteis de baixo custo e fácil acesso no mercado.

---

## **Referências bibliográficas**

## 14. Referências bibliográficas

ARAÚJO, A. N.; LIMA, J. L. F. C., REIS, B. F. & ZAGATTO, E. A. G. Multicommutation in flow analysis. Part 3. Spectrophotometric kinetic determination of creatinine in urine exploiting a novel zone sampling approach. *Analytica Chimica Acta* **310**: 447, 1995.

ARMAS, G.; MIRÓ, M.; CLADERA, A.; ESTELA, J. M. & CERDÀ, V. Time-based multisyringe flow injection system for the spectrofluorimetric determination of aluminium. *Analytica Chimica Acta*, **455**: 149, 2002.

BERGAMIN, H. F.; ZAGATTO, E. A. G.; KRUG, F. J. & REIS, B. F. Merging zones in flow injection analysis. *Analytica Chimica Acta*, **101**: 17, 1978.

BERRY, R.; HARRIS, J. E. & WILLIAMS, R. R. Light-emitting diodes as sensors for colorimetric analyses. *Applied Spectroscopy*, **51**(10): 1521, 1997.

BETTERIDGE, D.; DAGLESS, E. L.; FIELDS, B. & GRAVES, N. F. Highly sensitive flow-through phototransducer for unsegmented continuous-flow analysis demonstrating high-speed spectrophotometry at parts per 10<sup>9</sup> level and a new method of refractometric determinations. *The Analyst*, **103**(1230): 897, 1978.

BORGES, S. S.; FRIZZARIN, R. M. & REIS, B.F. An automatic flow injection analysis procedure for photometric determination of ethanol in red wine without using a chromogenic reagent. *Analytical & Bioanalytical Chemistry*, **385**: 197, 2006.

BUANUAM, J.; MIRÓ, M.; HANSEN, E. H.; SHIOWATANA, J.; ESTELA, J. M. & CERDÀ, V. A multisyringe flow-through sequential extraction system for on-line monitoring of orthophosphate in soils and sediments. *Talanta*, **71**: 1710, 2007.

COSANO, J. S.; CASTRO, M. D. L. & VALCÁRCEL, M. Flow injection analysis of water. Part 1: Automatic preconcentration determination of sulphate, ammonia and iron (II)/ iron (III). *Journal of Automatic chemistry*, **15** (4): 141, 1993.

DALLAS T. & DASGUPTA, P. K. Light at the end of the tunnel: recent analytical applications of liquid-core waveguides. *Trends in Analytical Chemistry* **23** (5): 385, 2004.

DASGUPTA, P. K.; BELLAMY, H. S.; LIU, H.; LOPEZ, J. L.; LOREE, E.; MORRIS, K.; PETERSEN, K. & MIR, K. A. Light emitting diode based flow-through optical absorption detector. *Talanta*, **40**(1): 53, 1993.

DASGUPTA, P. K.; EOM, I.; MORRIS, K. J. & LI, J. Light emitting diode-based detectors: absorbance, fluorescence and spectroelectrochemical measurements in a planar flow-through cell. *J. Analytical Chimica Acta*, **500** (1-2): 337, 2003.

DEGOBBIS, D.; PRECALI, R. & FERRARI, C. R. Changes in nutrient concentration and ratios during mucilage events in the period 1999-2002. *Science of the Total Environment*, **353** (1-3): 103, 2005.

DUKES, M. D. & EVANS, R. O. Impact of agriculture on water quality in the North Carolina middle coastal plain. *Journal of Irrigation and Drainage Engineering-ASCE*, **132** (3): 250, 2006.

EOM, I. & DASGUPTA, P. K. Frequency-selective absorbance detection: refractive index and turbidity compensation with dual-wavelength measurement. *Talanta*, **69**: 906, 2006.

FERES, M. A. & REIS, B. F. A downsized flow set up based on multicommutation for the sequential photometric determination of iron(II)/iron(III) and nitrite /nitrate in surface water. *Talanta*, **68** (2): 422, 2005.

FERNANDES, R. N.; REIS, B. F. Flow system exploiting multicommutation to increase sample residence time for improved sensitivity. Simultaneous determination of ammonium and *ortho*-phosphate in natural water. *Talanta*, **58** (4): 729, 2002.

FLASCHKA, H.; MCKEITHAN, C. & BARNES, R. Light emitting diodes and phototransistors in photometric modules. *Analytical Letters*, **6** (7): 585, 1973.

FONSECA, A. & RAIMUNDO, I. M. A multichannel photometer based on an array of light emitting diodes for use in multivariate calibration. *Analytica Chimica Acta*, **522** (2): 223, 2004.

GIMBERT, L. J. G.; PHILIP M. H. & PAUL J. W. Determination of nanomolar concentrations of phosphate in natural waters using flow injection with a long path length liquid waveguide capillary cell and solid-state spectrophotometric detection. *Talanta* **71**: 1624, 2007.

GOULDEN, P. D. & BROOKSBANK, P. The determination of total phosphate in natural Waters. *Analytica Chimica Acta*. **80**: 183, 1975.

GRUDPAN, K.; SRITHARATHIKHUN, P. & JAKMUNEE, J. Flow injection conductimetric or spectrophotometric analysis for acidity in fruit juice. *Analytica Chimica Acta*, **363**: 199, 1998.

GUILBAULT, G. G. & HJELN, M. Nomenclature for automated and mechanized analysis. *Pure and Applied Chemistry*, **61**: 1657, 1989.

HE, Z. K.; FUHRMANN, B. & SPOHN, U. Coulometric microflow titrations with chemiluminescent and amperometric equivalence point detection bromimetric titration of low concentrations of hydrazine and ammonium. *Analytica Chimica Acta*, **409**: 83, 2000.

History of the transistor (The "Crystal Triode"). Disponível em [http://www.porticus.org/bell/belllabs\\_transistor.html](http://www.porticus.org/bell/belllabs_transistor.html), acessado em 30 de junho de 2008.

HONORATO, R. S.; ZAGATTO, E. A. G.; LIMA, R. A. C. & ARAÚJO, M. C. U. Prior assay as na approach to flow tritrations. Spectrophotometric determination of iron in alloys and ores. *Analytica Chimica Acta*, **416**: 231, 2000.

JAMBUNATHAN, S.; DASGUPTA, P. K.; WOLCOTT, D. K.; MARSHALL, G. D. & OLSON, D. C. Optical fiber coupled light emitting diode based absorbance detector with a reflective flow cell. *Talanta*, **50**: 481, 1999.

JONGE, V. N. & VILLERIUS, L. A. Interference of sulphide in inorganic phosphate determination in natural waters. *Marine Chemistry*, **9**: 191, 1980.

JYONOSONO, K.; IMATO, T.; IMAZUMI, N.; NAKANISHI, M. & YAGI, J. Spectrophotometric flow-injection analysis of the total base number in lubricants by using acid-base buffers. *Analytica Chimica Acta*. **438**: 83, 2001.

KINGSTON, H. M. & KINGSTON, M. L. Nomenclature in laboratory robotics and automation. *Journal of Automatic Chemistry*, **16**: 43, 1994.

KORN, M.; GOUVEIA, L. F. B. P.; OLIVEIRA, E. & REIS, G.F. Binary search in flow titration employing photometric end-point detection. *Analytica Chimica Acta*, **313**: 177, 1995.

KRONKA, A. M.; REIS, B. F.; KORN, M. & BERGAMIN, H. F. Multicommutation in flow analysis. Part 5: Binary sampling for sequential spectrophotometric determination of ammonium and phosphate in plant digests. *Analytica Chimica Acta*, **334**: 287, 1996.

KUZIEMSKA, I. Application of water extract of Brown coal fly ash to phosphate precipitation from polluted waters. *Water Research*. **14**: 1289, 1979.

LAPA, R. A. S.; LIMA, J. L. F. C.; REIS, B. F.; SANTOS, J. L. M. & ZAGATTO, E. A. G. Multi-pumping in flow analysis: concepts, instrumentation, potentialities. *Analytica Chimica Acta*, **466**: 125, 2002.

LAU, K. T.; BALDWIN, S.; SHEPHERD, R. L.; DIETZ, P. H.; YERZUNIS, W. S. & DIAMOND, D. Novel fused-LEDs devices as optical sensors for colorimetric analysis. *Talanta*, **63**: 167, 2004.

LAVORANTE, A. F.; MORALES-RUBIO, Á.; de la GUARDIA & REIS, B. F. A multicommutated stop-flow system employing LEDs-based photometer for the sequential determination of anionic and cationic surfactants in water. *Analytica Chimica Acta*, **600**: 58, 2007.

LAVORANTE, A. F., FERES, M. A. & REIS, B. F. Multi-commutation in flow analysis: A versatile tool for the development of the automatic analytical procedure focused on the reduction of reagent consumption. *Spectroscopy Letters* **39** (6): 631, 2006.

LAVORANTE, A. F.; MORALES-RUBIO, A. de La GUARDIA, M. & REIS, B. F. Micro-pumping flow system for spectrophotometric determination of anionic surfactants in water. *Analytical & Bioanalytical Chemistry*, **381**: 1305, 2005.

LIAO, L.; YANG, J. & YUAN, J. Process monitored spectrophotometric titration coupled with chemometrics for simultaneous determination of mixtures of weak acids. *Analytica Chimica Acta*. **591**: 123, 2007.

LUCA, G. C. & REIS, B. F. Simultaneous photometric determination of albumin and total protein in animal blood plasma employing a multicommutated flow system to carried out on line dilution and reagents solutions handling. *Spectrochimica Acta part A: Molecular and Biomolecular Spectroscopy*, **60** (3): 579, 2004.

MALLIN, M. A. & CAHOON, L. B. Industrialized animal production – a major source of nutrient and microbial pollution to aquatic ecosystems. *Population and Environment* **24** (5): 369, 2003.

MALLIN, M. A.; CAHOON, L. B. & PARSONS, D. C. Effect of nitrogen and phosphorus loading on plankton in coastal plain blackwater rivers. *Journal of Freshwater Ecology*, **16** (3): 455, 2001.

MARCOS, J.; RÍOS, A. & VALCÁRCEL, M. Automatic titrations in unsegmented flow systems based on variable flow-rate patterns. Part 1. Principles and applications to acid-based titrations. *Analytica Chimica Acta*, **261**:489, 1992.

MARLE, L. & GREENWAY, G. M. Microfluidic devices for environmental monitoring. *Trends in Analytical Chemistry*, **20**(9): 795, 2005.

MARTELLI, P. B.; REIS, B. F.; KORN, MAURO & LIMA, J. L. F. C. Automatic potentiometric titration in monosegmented flow system exploiting binary search. *Analytica Chimica Acta*, **387**: 165, 1999.

MARTELLI, P. B.; REIS, B. F.; KRONKA, E. A. M.; BERGAMIN, H. F.; KORN, M. ZAGATTO, E. A. G.; LIMA, J. L. F. C. & ARAÚJO, A. N. Multicommutation in flow analysis. Part 2. Binary sampling for spectrophotometric determination of nickel, iron and chromium in steel alloys. *Analytica Chimica Acta*, **308**: 397, 1995.

MELCHERT, W. R. & ROCHA, F. R. P. Construção de uma cela de fluxo de longo caminho óptico para medidas espectrofotométricas. *Química Nova*, **31**(2): 427, 2008.

MINISTÉRIO DO MEIO AMBIENTE, CONSELHO NACIONAL DO MEIO AMBIENTE-CONAMA. RESOLUÇÃO Nº. 357, DE 17 DE MARÇO DE 2005. <http://www.mma.gov.br/port/conama/legiabre.cfm?codlegi=459> acessado em 2 de junho de 2008 10:35 am.

MIRANDA, C. E. S.; REIS, B. F.; BACCAN, N.; PACKER, A. P. & GINÉ, M. F. Automated flow analysis system based on multicommutation for Cd, Ni and Pb on-line pré-concentration in a cationic Exchange resin with determination by inductively coupled plasma atomic emission spectrometry. *Analytica Chimica Acta*, **453**: 301, 2002.

MORAIS, I. P. A.; MIRÓ, M.; MANERA, M.; ESTELA, J. M.; CERDÁ, V.; SOUTO, M. R. S. & RANGEL, O. S. S. Flow-through solid-phase based optical sensor for the multisyringe flow injection trace determination of orthophosphate in Waters with chemiluminescence detection. *Analytica Chimica Acta*, **506**: 17, 2004.

MOTOMIZU, S. & LI, Z. Trace and ultratrace analysis methods for the determination of phosphorus by flow-injection techniques. *Talanta*, **66**: 332, 2005.

MOZETO, A. A.; UMBUZEIRO, G. A. & JARDIM, W. F. Métodos de coletas, análises físico-químicas e ensaios biológicos e ecotoxicológicos de sedimentos de água doce. Cubo Editora, São Carlos, 2006. P. 63

MULLER, M. & HAUSER, P. C. Fluorescence optical sensor for low concentrations of dissolved carbon dioxide. *The Analyst*, **121** (3): 339, 1996.

Ocean Optics. Disponível no site (<http://www.oceanoptics.com/>), acessado em 27 de junho de 2008.

O' TOOLE, M.; LAU, T. K. & DIAMOND, D. Photometric detection in flow analysis systems using integrated PEDDs. *Talanta*, **66**: 1340, 2005.

OLIVEIRA, C. C.; SARTINI, R. P.; REIS, B. F. & ZAGATTO, E. A. G. Multicommutation in flow analysis. Part 4. Computer-assited splitting for spectrometric determination of copper and zinc in prants. *Analytica Chimica Acta*, **332**: 173, 1996.

PAIM, A. P. S.; ALMEIDA, C. M. N. V.; REIS, B. F.; LAPA, R. A. S.; ZAGATTO, E. A. G. & LIMA, J. L. F. C. Automatic potenciometric flow titration procedure for ascorbic acid determination in pharmaceutical formulations. *Journal of Pharmaceutical and Biomedical Analysis*, **28**: 1221, 2002.

PARDUE, H. L. & FIELDS, B. Kinetic treatment of unsegmented flow systems Part 1. Subjective and semiquantitative evaluations of flow-injection systems with gradient chamber. *Analytica Chimica Acta*, **124**: 39, 1981.

PIRES, C. K., REIS, B. F.; MORALES-RUBIO, Á; DE LA GUARDIA, M. Speciation of chromium in natural waters by micropumping multicommutated light emitting diode photometry. *Talanta*, **72**: 1370, 2007.

PONS, C.; TÓTH, I. V.; RANGEL; A. O. S. S.; FORTEZA, R. & CERDÀ, V. Multi-pumping flow system for the determination For dissolved ortophosphate and dissolved organic phophorus in water samples. *Analytical Chimica Acta*, **572**: 148, 2006.

REIS, B. F.; GINÉ, M. F.; ZAGATTO, E. A. G.; LIMA, J. L. F. C. & LAPA, R. A. Multicommutation in flow analysis. Part 1. Binary sampling: concepts, instrumentation and spectrophotometric determination of iron in plant digests. *Analytica Chimica Acta*, **293**: 129, 1994.

ROCHA, F. R. P. & REIS, B. F. A flow exploiting multicommutation for speciation of inorganic nitrogen in waters. *Analytica Chimica Acta*, **409** (1-2): 227, 2000.

ROCHA, F. R. P. & TEIXEIRA, L. S. G. Estratégias para aumento de sensibilidade em espectrofotometria UV-VIS. *Química Nova*, **27** (5): 807, 2004.

ROCHA, F. R.P.; RÓDENAS-TORRALBA, E.; REIS, B. F.; MORALES-RUBIO, Á & de la GUARDIA, M. A portable and low cost equipment for flow injection chemiluminescence measurements. *Talanta*, **67**: 673, 2005.

ROCHA, F. R. P.; MARTELLI, P. B. & REIS, B. F. An improved flow system for spectrophotometric determination of anions exploiting multicommutation and multidetection. *Analytical Chimica Acta*, **438** (1-2): 11, 2001.

ROCHA, F. R. P.; MARTELLI, P. B. & REIS, B. F. Simultaneous In-line concentration for spectrophotometric determination of cations and anions. *Journal of Brazilian Chemical Society*. **15**(1): 38, 2004.

ROCHA, F. R. P.; REIS, B. F.; ZAGATTO, E. A. G.; LIMA, J. L. F. C.; LAPA, R. A. S. & SANTOS, J. L. M. Multicommutation in flow analysis: concepts, applications and trends. *Analytica Chimica Acta*, **468**: 119, 2002.

RÓDENAS-TORRALBA, E.; MORALES-RUBIO, A. & de La GUARDIA, M. Multicommutation hydride generation atomic fluorescence determination of inorganic tellurium species in Milk. *Food Chemistry*. **91**: 181, 2005.

RÓDENAS-TORRALBA, E.; ROCHA, F. R. P.; REIS, B. F.; MORALES-RUBIO, Á & de la GUARDIA, M. Evaluation of a multicommutated flow system for photometric environmental measurements. *Journal of Automated Methods and Management in Chemistry*: ART. Nº. 20384:1, 2006.

RÓDENAS-TORRALBA, E.; VENTURA-GAYETE, J.; MORALES-RUBIO, A.; GARRIGUES, S. & de La GUARDIA, M. Multicommutation Fourier transform infrared determination of benzene in gasoline. *Analytica Chimica Acta*, **512**: 215, 2004.

RUZICKA, J. & HANSEN, E. H. Flow injection analyses: parte 1. a new concept of fast continuous flow analysis. *Analytica Chimica Acta*, **78**: 145, 1975.

RUZICKA, J.; HANSEN, E. H. & MOSBAEK, H. Flow injection analysis. Part IX. A new approach to continuous flow titrations. *Analytica Chimica Acta*, **92**: 235, 1977.

SAULYS, V. & BASTIENE, N. The impact of lime admixture into trench backfill on the variation of phosphorus in drainage outflow. *Irrigation and Drainage* **56**: 99, 2007.

SMIDERLE, M.; REIS, B. F. & ROCHA, F. R. P. Monosegmented flow system exploiting multicommutation applied to spectrophotometric determination of manganese in soybean digests. *Analytica Chimica Acta*, **386**: 129, 1999.

STRICKLAND, J. D. H. & PARSONS, T. R. A manual of seawater analysis. *Bull. Fish. Res. Board can.* **125**: 1, 1960.

TRÉPANIÉ, C.; PARENT, S.; COMEAU, Y. & BOUVRETTE, J. Phosphorus budget as a water quality management tool for closed aquatic mesocosms. *Water Research*, **36**: 1007, 2007.

TUBINO, M. & SOUZA, R. L. Determination of diclofenac in pharmaceutical preparations by diffuse reflectance photometry. *Talanta*, **68**: 776, 2006.

TUMANG, C. A.; LUCA, G. C.; FERNANDES, R. N.; REIS, B. F. & KRUG, F. J. Multicommutation in flow analysis exploiting a multizone trapping approach: spectrophotometric determination of boron in plants. *Analytica Chimica Acta*, **374**: 53, 1998.

UDNAN, Y.; MCKELVIE, I. D. & GRACE, M. R. Evaluation of on-line preconcentration and flow-injection amperometry for phosphate determination in fresh and marine waters. *Talanta*, **66**: 461, 2005.

VAHL, K.; KAHLERT, H.; GOTTCHE, D.; WARDENGA, R.; KOMORSKY-LOVRIC, U.; BORNSCHEUER, U. & SCHOLZ, F. A potential high-throughput method for the determination of lipase activity by potentiometric flow injection titrations. *Analytica Chimica Acta*, **610**: 44, 2008.

VIEIRA, J. A.; RAIMUNDO Jr, I. M. & REIS, B. F. Turbidimetric determination of sulphate employing gravity flow-based systems. *Analytica Chimica Acta*, **438**: 75, 2001.

VIEIRA, J. A.; REIS, B.F.; KRONKA, E. A. M.; PAIM, A. P. S. & MARIA, F. G. Multicommutation in flow analysis. Part 6. Binary sampling for wide concentration range turbidimetric determination of sulphate in plant digests. *Analytica Chimica Acta*, **366**: 251, 1998.

VRHOVSEK, D.; KUKANJA, V. & BULC, T. Constructed wetland (CW) for industrial waste water treatment. *Water Research* **30**: 2287, 1996.

YARNITZKY, C. N.; KLEIN, N. K. & COHEN, O. Automated titrations with an alternate flow exponential speed variation system. *Talanta*, **40**(12): 1937, 1993.

ZANG, T.; FANG, Q.; WANG, S. L.; QIN, L. F.; WANG, P.; WU, Z. Y. & FANG, Z. L. Enhancement of signal-to noise level by synchronized dual wavelength modulation for light emitting diode fluorimetry in a liquid-core-waveguide microfluidic capillary electrophoresis system. *Talanta*, **68** (1): 19, 2005.