



UFAL

Universidade Federal de Alagoas

Instituto de Química e Biotecnologia

Programa de Pós-Graduação em Química e Biotecnologia

PPGQB





IQB

**DESENVOLVIMENTO DE METODOLOGIA ANALÍTICA PARA
DETERMINAÇÃO DE ÍONS COBRE EM AGUARDENTE
EMPREGANDO ANÁLISE POR INJEÇÃO
EM FLUXO COM DETECÇÃO QUIMILUMINESCENTE**

Sônia Maria da Cruz

Novembro de 2009

 UFAL	<p style="text-align: center;">Universidade Federal de Alagoas Instituto de Química e Biotecnologia</p> <p style="text-align: center;"><i>Programa de Pós-Graduação em Química e Biotecnologia</i> PPGQB</p>	 IQB
---	---	--

**DESENVOLVIMENTO DE METODOLOGIA ANALÍTICA PARA
DETERMINAÇÃO DE ÍONS COBRE EM AGUARDENTE
EMPREGANDO ANÁLISE POR INJEÇÃO
EM FLUXO COM DETECÇÃO QUIMILUMINESCENTE**

Sônia Maria da Cruz

Dissertação de Mestrado apresentada ao Programa de Pós-Graduação em Química e Biotecnologia da Universidade Federal de Alagoas, para a obtenção do Título de mestre em Química.

Orientador: Prof. Dr. Paulo César Costa Oliveira

Maceió - Alagoas
Novembro de 2009

Catálogo na fonte
Universidade Federal de Alagoas
Biblioteca Central
Divisão de Tratamento Técnico

Bibliotecária Responsável: Maria Auxiliadora G. da Cunha

C957d Cruz, Sônia Maria da.
Desenvolvimento de metodologia analítica para determinação de íons cobre em aguardente empregando análise por injeção em fluxo com detecção quimiluminescente / Sônia Maria da Cruz, 2009.

146 f. : il. tabs., grafs.

Orientador: Paulo César Costa Oliveira.

Dissertação (mestrado em Química e Biotecnologia) – Universidade Federal de Alagoas. Instituto de Química e Biotecnologia. Maceió, 2009.

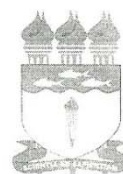
Bibliografia: f. 114-125.

1. Cobre bivalente. 2. Análise por injeção em fluxo (FIA). 3. Quimiluminescência.
I. Título.

CDU: 546.562



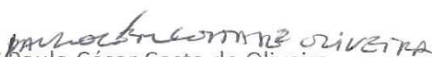
UNIVERSIDADE FEDERAL DE ALAGOAS
INSTITUTO DE QUÍMICA E BIOTECNOLOGIA
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM QUÍMICA E
BIOTECNOLOGIA

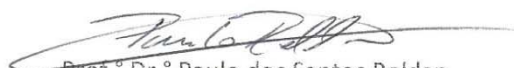


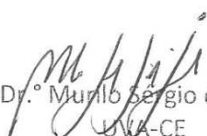
BR 104 Km14, Campus A. C. Simões
Cidade Universitária, Tabuleiro dos Martins
57072-970, Maceió-AL, Brasil
Fone: (82) 3214-1384, Fax: (82) 3214-1384
Email: cpgqb@qui.ufal.br

Membros da Comissão Julgadora da Defesa de Dissertação de Mestrado de *Sônia Maria da Cruz*, intitulada: "Desenvolvimento de Metodologia Analítica para Determinação de Íons Cobre em Aguardente Empregando Análise por Injeção em Fluxo com Detecção Quimioluminescente", apresentada ao Programa de Pós-Graduação em Química e Biotecnologia da Universidade Federal de Alagoas, em 09 de novembro de 2009, às 13h, na Sala de Aulas do PPGQB/UFAL.

COMISSÃO JULGADORA


Prof.º Dr.º Paulo César Costa de Oliveira
Orientador – PPGQB/ IQB /UFAL


Prof.º Dr.º Paulo dos Santos Roldan
PPGQB/IQB/UFAL


Prof.º Dr.º Munilo Sérgio da Silva Julião
UVA-CE

***“ Where theres is a will, there Will
always be a way”***

Anonymous

(Onde há uma vontade, sempre
haverá um caminho)

**DEDICO ESTE TRABALHO A DEUS, A QUEM DEVO TODO SUCESSO
OBTIDO EM MINHA VIDA.
À MINHA VÓ PATERNA (In memorian).
E AOS MEUS PAIS:
“José Geraldo & Maria Jacinto”**

**PELOS EXEMPLOS DE VIDA E POR
TODO APOIO CONCEDIDO.
E A TODOS QUE ACREDITARAM E ACREDITAM EM MIM**

AGRADECIMENTOS

Antes de tudo, agradeço ao meu Deus, pois sempre está ao meu lado em todos os momentos, dando-me força, coragem, serenidade e proteção. Muito obrigada Senhor.

Ao Espírito Santo, fonte de luz e sabedoria me iluminando sempre ajudando a vencer todas as dificuldades as quais são impostas pela vida.

A minha mãe, pai, irmãos, tios, tias, primos, primas e amigos, pelo apoio em todas as horas.

À Universidade Federal de Alagoas (UFAL) pela oportunidade de realização do curso de Mestrado.

Ao Conselho Nacional de Desenvolvimento Científico e Tecnológico (CNPq), pela concessão de bolsa de estudo.

A todos os professores do Programa de Pós-Graduação do Instituto de Química e Biotecnologia – IQB/UFAL que fizeram parte do meu crescimento intelectual. E, em especial ao colegiado do curso de Pós-Graduação na pessoa de Fabiane Caxico de Abreu Galdino, Adriana Santos Ribeiro, Marília Oliveira Fonseca Goulart, Simone Margareti Plentz Meneghetti e Lúcia Maria Conserva, pela dedicação, compreensão e apoio ao pós-graduado desse departamento.

A Prof^a Dr^a Ruth Rufino do Nascimento por toda sua presteza e consideração à minha pessoa.

Ao Prof. Dr. José de Almeida Sales pela síntese e doação da sílica organofuncionalizada, sem a qual não seria possível a realização dessa dissertação.

A meu orientador Prof. Dr. Paulo César Costa de Oliveira, pelo espaço concedido em seu laboratório para o desenvolvimento de minha dissertação, por acreditar em minha capacidade, além da imensurável paciência e compreensão, meu muito obrigado.

Aos meus amigos do Laboratório de Instrumentação e Desenvolvimento Analítico – LINDA: Diógenes Meneses, Arlan Gonsalves e Camila Calado pelos conhecimentos transmitidos entre o grupo, favores concedidos e também pelos momentos de descontração.

E de um modo especial a Ana Paula Benigno por ter sido amiga e pela imensa ajuda concedida. Obrigado, Ana.

A CAPES, CNPq e FAPEAL pelo suporte financeiro.

RESUMO

Neste trabalho é proposto a determinação de íons Cu^{2+} em amostras de cachaça, utilizando um sistema de análise por injeção em fluxo, associado à detecção quimiluminescente. A detecção é baseada no efeito catalítico dos íons Cu^{2+} sobre a reação de oxidação do composto 3-aminofthalhidrazida (luminol) por peróxido de hidrogênio em meio básico. A formação do intermediário instável (emissor) foi monitorada em unidade arbitrária de medida. Ao sistema FIA foi acoplado uma mini-coluna contendo sílica funcionalizada para pré-concentrar os íons Cu^{2+} e com isso garantir maior seletividade e sensibilidade.

Foram realizados estudos de otimização das condições experimentais do sistema em fluxo sendo escolhidos os parâmetros associados à maior sensibilidade e melhor seletividade. A curva de referência obtida para análise da amostra real apresentou faixa linear de trabalho entre 1,0 e 9,0 mg L^{-1} com a seguinte equação da reta $S = 5,3189(\pm 0,2874)C + 0,1814 (\pm 1,5255)$; $r = 0,9992$; $LD = 0,4024 \text{ mg L}^{-1}$. A precisão do método proposto foi avaliado através de oito injeções consecutivas de um padrão de íons cobre contendo 0,5 mg L^{-1} . A ativação da mini-coluna foi executada após oito ciclos de pré-concentração com eluição de 76,9 μL de HCl $5,0 \cdot 10^{-4} \text{ mol L}^{-1}$ através da mesma. Cada ciclo completo de injeção e eluição da amostra levaram 10 minutos nas condições propostas. Apesar do tempo de cada ciclo ser relativamente alto, baixas concentrações pode ser detectada utilizando-se essa técnica.

ABSTRACT

This work proposes the determination of Cu^{2+} ions in samples of Brazilian sugar spirit (cachaça), using a flow injection analysis system coupled with chemiluminescent detection. The detection is based on the catalytic effect of Cu^{2+} ions on the oxidation reaction of the compound 3-Aminophthalhydrazide (luminol) by hydrogen peroxide in basic medium. The formation of unstable intermediate excited state was monitored in arbitrary unit of measure. The FIA system was coupled with a mini-column containing silica functionalized to pre-concentrate the ions Cu^{2+} , aiming to ensure greater selectivity and sensitivity. Studies were realized to optimize experimental conditions of flow system and the parameters of better sensitivity and selectivity were selected. The calibration curve was obtained and linear work range was 1,0 and 9,0 mg L^{-1} to copper ions with equation $S = 5,3189 (\pm 0,2874)C + 0,1814 (\pm 1,5255)$ and correlation coefficient (r) = 0,9992 and detection limit of 0,4024 mg L^{-1} . The accuracy of proposed method was evaluated through eight consecutive injections of a standard copper ions containing 0,5 mg L^{-1} . The activation of mini-column was performed after each eight cycle of pre-concentration with injection of 76,9 μL of hydrochloric acid solution across of mini-column. Each complete cycle of injection of sample and elution delay 10 minutes in proposed conditions. Regardless of large time for each cycle was relatively high, low concentrations can be detected by use of this proposed methodology and the use of mini-column pre-concentration improve great selectivity.

LISTA DE FIGURAS

Figura 1. Alambique de cobre para a fabricação de cachaça.	07
Figura 2. Artefatos em metal produzidos na antiguidade.	12
Figura 3. Cobre nativo, Cu.	14
Figura 4. Síndrome de Menkes.	18
Figura 5. Presença de anel pigmentado na periferia corneana.	19
Figura 6. Clássico de Análise em Fluxo Segmentado (SFA)	27
Figura 7. Inserção da amostra.	28
Figura 8. Bomba peristáltica.	30
Figura 9. Injetor proporcional.	31
Figura 10. Parte fixa e móvel do injetor proporcional.	31
Figura 11. Cassetes com tubos de proporção.	32
Figura 12. Tubos Tygon.	32
Figura 13. Confluências.	32
Figura 14. Tubo de polietileno.	32
Figura 15. Bobina de reação.	33
Figura 16. Detector espectrofotométrico UV-Vis.	33
Figura 17. Cella de fluxo.	33
Figura 18. Configurações elementares de sistema FIA.	34
Figura 19. Compostos quimiluminescentes.	37
Figura 20. Síntese do luminol a partir de baixo custo e acessíveis.	40

Figura 21. Proposta mecanística de Albertin et. al., para a reação quimiluminescente do luminol em meio alcalino.	41
Figura 22. Diagrama esquemático de uma mini-coluna.	45
Figura 23. Distribuição de grupos silanóis na superfície.	52
Figura 24. Diferentes formas de ancoramento dos organossilanos.	55
Figura 25. Esquema ilustrativo do módulo de análise proposto para a otimização do sistema analítico para o estudo da estabilidade dos parâmetros experimentais.	66
Figura 26. Sistema utilizado para a reação de funcionalização da superfície da Sílica gel com o 3-aminopropiltriétoxissilano.	69
Figura 27. Sequencia de reações de modificação da superfície da sílica gel com o 3-aminopropiltriétoxissilano.	70
Figura 28. Sistema de extração do excesso do 3-aminopropiltriétoxissilano na superfície da sílica.	71
Figura 29. Módulo ilustrativo do sistema proposto para a pré-concentração e determinação de Cu (II) em cachaça.	73
Figura 30. Estudo da vazão das soluções.	75
Figura 31. Vista superior do compartimento de detecção.	76
Figura 32. Estudo do volume de amostra.	77
Figura 33. Estudo do comprimento da bobina de reação.	79
Figura 34. Estudo do tampão amoniacal	81
Figura 35. Estudo da concentração da solução de luminol.	83

Figura 36. Estudo da concentração da solução oxidante.	85
Figura 37. Curva analítica do Cu(II) sem pré-concentração na faixa de concentração de 12 a 50 mg.L ⁻¹ .	86
Figura 38. Curva analítica do Cu(II) sem pré-concentração na faixa de concentração de 10 a 20 mg.L ⁻¹ .	87
Figura 39. Tempo de pré-concentração do Cu (II).	91
Figura 40. Tempo de pré-concentração do Cu (II).	91
Figura 41. Estudo da vazão para mini-coluna de sílica.	95
Figura 42. Estudo da influência da concentração do eluente HCl.	97
Figura 43. Estudo do volume do eluente HCl injetado.	99
Figura 44. Estudo da influência da concentração da solução recuperado da mini-coluna.	101
Figura 45. Estudo da influência do pH da solução recuperadora.	102
Figura 46. Curva analítica da metodologia proposta.	103
Figura 47. Curva analítica da amostra real.	108

LISTA DE TABELA

Tabela 1. Técnicas analíticas empregadas na determinação de cobre (II).	23
Tabela 2. Classificação de métodos de análise em fluxo (IUPAC).	25
Tabela 3. Diferença fundamental nos parâmetros de fluxo das técnicas.	27
Tabela 4. Aspectos físico-químicos do luminol.	39
Tabela 5. Parâmetros experimentais para o estudo da influência da vazão das soluções no sistema sem pré-concentração.	75
Tabela 6. Parâmetros experimentais para o estudo do volume de amostra injetada.	77
Tabela 7. Parâmetros experimentais para o estudo da influência do comprimento da bobina de reação.	78
Tabela 8. Parâmetros experimentais para o estudo da influência do tampão no sinal do analítico.	80
Tabela 9. Parâmetros experimentais para o estudo da concentração da solução de luminol.	82
Tabela 10. Parâmetros experimentais para o estudo da concentração da solução oxidante.	84
Tabela 11. Parâmetros experimentais para a construção da curva analítica.	86
Tabela 12. Parâmetros experimentais para o estudo do tempo de	

pré-concentração.	90
Tabela 13. Parâmetros experimentais para o estudo do tempo de pré-concentração.	91
Tabela 14. Estudo da influência do diâmetro interno dos tubos de bombeamento sobre o sinal analítico.	93
Tabela 15. Parâmetros experimentais para o estudo da vazão da solução do analítico na mini-coluna de sílica para a pré-concentração.	94
Tabela 16. Parâmetros experimentais para o estudo da concentração do eluente e sua influência sobre o sinal analítico.	96
Tabela 17. Parâmetros experimentais para o estudo do volume do eluente Injetado.	98
Tabela 18. Parâmetros experimentais para o estudo da influência da concentração da solução recuperadora da mini-coluna.	100
Tabela 19. Condições experimentais para o estudo dos interferentes.	105
Tabela 20. Estudo de possíveis espécies interferentes.	106
Tabela 21. Condições experimentais otimizadas para obtenção da curva analítica.	108
Tabela 22. Estudo de recuperação de cobre (II) em aguardente e cachaça.	110

LISTA DE ABREVIATURAS, SIGLAS E DEFINIÇÕES

A	Amostra
AOAC	do inglês, Association of Official Analytical Chemists, Associação Oficial de Química Analítica
APTES	3-aminopropiltriétoxissilano
B	Bomba peristáltica
C	Solução transportadora ou carregadora
CENA/USP	Centro de Energia Nuclear na Agricultura da Universidade de São Paulo
CFQ	Cela de fluxo quimiluminescente
cm ³	Centímetro cúbico
D	Descarte ou detector
Det	Detector
EDTA	Ácido etilenodiaminotetraacético
EFS	Extração em Fase Sólida
FAAS	Espectrofotometria de Absorção Atômica com Atomização por chama
F	Filtro de lã de vidro
FIA	do inglês, <i>Flow Injection Analysis</i> , Análise por Injeção em Fluxo
GAAS	Espectrofotometria de Absorção Atômica em Forno de grafite

h	Hora
IUPAC	do inglês, <i>International Union of Pure and Applied Chemistry</i> , União Internacional de Química Pura e Aplicada.
K	Kelvin
LD	Limite de detecção
L	Bobina helicoidal
mg.L ⁻¹	Miligrama por litro
mg.min ⁻¹	Miligrama por minuto
mL	mililitro
mM	Milimolar
mol.L ⁻¹	Mol por litro
MSFA	do inglês, <i>Monosegmented Continuous Flow Analysis</i> , Análise em Fluxo Monossegmentado
pKa	Anti-log da constante de dissociação de um ácido fraco
P	Tubo de polietileno
nm	Nanômetro
nm ²	Nanômetro quadrado
R	Reagente
SIA	do inglês, <i>Sequential Injection Analysis</i> , Análise por Injeção Seqüencial
SFA	do inglês, <i>Segmented Flow Analysis</i> , Análise em Fluxo Segmentado
Si-APTES	Sílica aminopropiltriétoxissilano
Si-OH	Silanóis
SiO ₂	Óxido de silício, superfície da sílica gel

Si-O-Si	Siloxanos
S	Material sorvente ou amostra
ST	Solução Transportadora
T	Tubo de bombeamento Tygon
u.a.	Unidade arbitrária
UV	Radiação ultra-violeta
Vis	Radiação visível
XRF	Espectroscopia de Fluorescência de Raio-X
W	Descarte
Δ	Aquecimento
α_{OH}	Área superficial da sílica gel expressa em unidade de área (nm^2)
λ	Comprimento de onda
μL	microlitro

SUMÁRIO

LISTA DE FIGURAS	xiii
LISTA DE TABELAS	xvi
LISTA DE ABREVEATURAS E SÍMBOLOS	xviii
RESUMO	1
ABSTRACT.	2

Capítulo 1 – Introdução

1.1	Cachaça, um drinque a sua origem	03
1.2	Diferença entre Cachaça Artesanal e Aguardente	05
1.3	Produção da Cachaça	06
1.4	Concorrência e Mercado	09
1.5	Cachaça Objeto de Pesquisa	10

Capítulo 2 – Cobre: Histórico, Propriedades, Características, Toxicidade e Metabolismo

2.1	Histórico	12
2.2	Propriedades físicas e químicas	14
2.3	Toxicidade e Essencialidade do Cobre	16
2.4	Alterações Metabólicas e Funcionais do Cobre	17
	2.4.1 Patologias Desenvolvidas por Deficiência ou Excesso de Cobre	18
	2.4.2 Papel Metabólico do Cobre	20

Capítulo 3 – Fundamentos Teóricos

3.1	Metodologias Empregadas na Determinação do Cobre	21
3.2	Métodos Oficiais de Análise	22
3.3	Publicações de Algumas Técnicas e Metodologias Empregadas na Determinação de Cobre (II)	22
3.4	Análise por Injeção em Fluxo	24
3.4.1	Classificação de Sistemas baseados em Análise em Fluxo	24
3.4.2	Evolução do Processo	25
3.4.3	Descrição do Sistema em Fluxo	26
3.4.4	Descrição do Sistema de Análise por Injeção em Fluxo	28
3.4.5	Componentes do Sistema	29
3.4.5.1	Constituintes	30
3.4.6	Classificação dos Sistemas	34
3.4.6.1	Sistema em linha	34
3.4.6.2	Sistema em confluência	35
3.4.6.3	Sistema com zonas coalescentes	35
3.5	Quimiluminescência	36
3.5.1	Breve Histórico	36
3.5.2	Quimiluminescência e Química Analítica	37
3.5.3	Síntese e Caracterização do Luminol	39
3.5.4	Quimiluminescência na Oxidação do Luminol	40
3.5.5	Aplicação Analítica da Quimiluminescência do Luminol	41

Capítulo 4	– Pré-concentração e o Uso da sílica gel organofuncionalizada como agente sequestrante para metais	43
-------------------	---	-----------

4.1 Pré-concentração e Extração em Fase Sólida	43
4.2 Extração da Fase Sólida em Sistema em Fluxo	44
4.3 Fundamentos da Adsorção	46
4.3.1 Materiais adsorventes mais utilizados	48
4.3.2 Equilíbrio de Adsorção	48
4.3.3 Cinética de Adsorção	49
4.4 Aspectos Gerais: Sílica gel	50
4.5 Modificações da superfície da sílica gel	53
4.6 Vantagens do uso da Sílica organofuncionalizados	55
4.7 Materiais modificados organofuncionalizados: Aplicações	56
4.8 Imobilização de Cátions	57
OBJETIVOS: Geral e Específicos	58
Capítulo 5- Metodologia Experimental	59
5.1 Equipamentos e Acessórios	59
5.2 Reagentes e Soluções	59
5.2.1 Reagentes Utilizados no experimento	60
5.2.2 Preparo das Soluções para o Estudo de Otimização	61
5.2.3 Preparo das soluções para o estudo de interferentes	63
5.3 Métodos de Otimização de Parâmetros Experimentais	66
5.4 Preparo da mini-coluna contendo 3-aminopropiltrióxissilano	67
5.4.1 Reagentes	67
5.4.2 Purificação e Ativação da Superfície da Sílica gel	68
5.4.3 Síntese	68
5.5 Sistema FIA – Quiluminescente proposto para a pré-concentração e determinação de traços de cobre (II) em cachaça	71

Capítulo 6- Resultados e Discussões	74
6.1 Otimização do sistema analítico para a determinação de cobre sem sem pré-concentrar.	74
6.1.1 Estudo da influência da vazão das soluções	74
6.1.2 Estudo da influência do volume de amostra	76
6.1.3 Estudo da influência do Comprimento da bobina de reação	78
6.1.4 Estudo da influência do Tampão amoniacal (NH ₄ OH/NH ₄ Cl) sobre o sinal analítico	80
6.1.5 Estudo da Otimização da Concentração da Solução de Luminol	82
6.1.6 Estudo da Concentração da Solução Oxidante H ₂ O ₂ .	84
6.1.7 Curva analítica para a determinação do íon cobre (II)	85
6.2 Otimização do Sistema Desenvolvido para a Determinação e Pré-concentração do íon Cobre (II)	88
6.2.1 Estudo da eficiência da adsorção da mini-coluna	88
6.2.2 Estudo do tempo de pré-concentração.	90
6.2.3 Fator de pré-concentração da sílica 3-aminopropiltriétoxissilano	93
6.2.4 Otimização do diâmetro interno dos tubos de sobre o sinal analítico na mini-coluna de sílica para a pré-concentração do Cobre (II)	93
6.2.5 Otimização da vazão da solução do analito na mini-coluna de sílica para a pré-concentração.	94

6.2.6 Otimização da concentração do eluente e sua influência Sobre o sinal analítico.	97
6.2.7 Otimização do volume do eluente injetado.	98
6.2.8 Estudo da influência da concentração da solução Recuperadora.	99
6.2.9 Estudo do pH da solução recuperadora na mini-coluna de sílica	101
6.3 Curvas analíticas com a metodologia proposta	103
6.4 Estudo de interferentes	104
6.5 Curva de Referência	107
6.6 Teste de Recuperação de Padrão “Spike”	109
Capítulo 7- Conclusão	111
Capítulo 8 – Perspectivas Futuras	113
Capítulo 9 - Referências Bibliográficas	114

Sônia Maria da Cruz

CAPÍTULO I

Introdução

1.1 Cachaça, um drinque a sua origem

Por vários séculos a humanidade saboreou suas bebidas fermentadas como o vinho e a cerveja que nos remetem aos primórdios da civilização. Os babilônicos com a sua cerveja, os gregos com o vinho em suas festas dionisíaco e os índios brasileiros com o cauim, uma bebida fermentada a partir do milho.

A aguardente ou *ácqua ardens* - água que pega fogo, obtida genuinamente pelos gregos era utilizada com propósitos medicinais, foi aprimorado pelos árabes que inventaram o processo de destilação semelhante ao existente hoje. Tal tecnologia se espalhou por diferentes países que começaram a produzir destilados próprios a partir de sua matéria-prima específica (Abrantes, 2008; Pinto, 1991). Assim, a Escócia passou a produzir o *whisky* a partir da cevada sacrificada, Itália a *grappa* a base de uva, Alemanha o *kirsch* a partir do destilado da cereja, Rússia a *vodka* – centeio, México a *tequila* – algave, Japão e China *saké* – arroz, Portugal a *bagaceira* a partir do bagaço de uva, e no Brasil a *cachaça* vinda da cana-de-açúcar (AMPAQ – Associação Mineira dos Produtores de Cachaça de Qualidade, 2009).

A história da cachaça nos leva ao tempo da escravidão quando os escravos trabalhavam na produção do açúcar. O método de produção já era conhecido e consistia em moer a cana, ferver o caldo obtido e, em seguida deixá-lo esfriar em fôrmas, obtendo-se a rapadura com a qual adoçavam as bebidas.

Segundo fontes documentais a descoberta da cachaça teria sido por acaso, nas Capitanias Hereditárias de Pernambuco e São Vicente como subproduto da produção brasileira de açúcar mascavo e rapadura, entre os anos 1530 e 1550. Gabriel Soares relata a existência das primeiras destilarias de cachaça surgirem nos séculos XVI e XVII com o nome de “casas de cozer méis”. A cachaça foi à primeira bebida destilada da America Latina, pois a sua produção se iniciou bem antes dos ingleses iniciarem a produção de rum no Caribe em processo assemelhado. Em 1648, Margrave e Piso, na História Naturalis Brasiliense (História Natural do Brasil), descreviam o método de fabricação de açúcar nos engenhos existentes e

mencionavam o fato da cachaça ser servida como suplemento aos animais domésticos e escravos.

A origem da palavra cachaça é polêmica. Uma versão considera que veio da “cagaça”, garapa azeda ou vinho de cana-de-açúcar, um subproduto da produção de açúcar que se obtém a partir do caldo de cana que era fervido nos tachos, para ser limpo e concentrado em uma massa espessa, sendo retirada a espuma ou borra sobrenadante, através de grandes espumadeiras ou conchas perfuradas. Essa borra, acumulada em cochos de madeira era colocada ao relento para alimentar os animais. Como fermentava com relativa facilidade percebeu-se que essa espuma fermentada era melhor que o cauim (Zeron, 2000, p. 56, 58). O cauim é uma espécie de vinho produzido pelos índios a partir da fermentação do milho ou mandioca no qual todos cospem num enorme caldeirão de barro para ajudar na fermentação. Essa garapa tornou-se conhecida por cachaça. Outra versão para a palavra cachaça leva ao tempo ibérico *cachazza*, tipo de vinho barato consumido em Portugal e Espanha, outra considera que veio da fêmea do “cachaço”, porco selvagem cujas carnes duras eram amaciadas com a pinga (APEX- Agência de Produção de Exportação do Brasil, 2009).

A cachaça acompanhou todas as mudanças ocorridas em cinco séculos de Brasil, participando da Revolução Pernambucana e da Inconfidência Mineira. A cachaça também foi escolhida para brindar a Independência do Brasil por D. Pedro I, que significava lutar contra a opressão colonial (Cascudo, 1968).

No decorrer do século XX, importantes intelectuais como Luís Câmara Cascudo, Gilberto Freire, Mauro Souto Maior e Mario de Andrade com a obra “Os Eufemismo da Cachaça”, entre outros, estudaram a cachaça e sua relevância cultural, econômica e histórica para o Brasil.

Segundo a Legislação Brasileira, Instrução Normativa n. 13 de 29/06/2005 e o decreto n. 4072, 03/01/2002, que aprova o regulamento técnico para fixação dos padrões de identidade e qualidade para aguardente de cana e para cachaça o termo aguardente de cana refere-se a:

[...] bebida com graduação alcoólica de 38 a 54% em volume a 20°C, obtida do destilado alcoólico simples de cana-de-açúcar ou destilado do mosto fermentado do caldo de cana-de-açúcar, podendo ser adicionada de açúcar em até 6 g.L⁻¹, expresso em sacarose.

Na mesma Instrução Normativa, cachaça refere-se a:

[...] denominação típica e exclusiva da aguardente de cana produzida no Brasil, com graduação alcoólica de 38 a 48% em volume a 20°C, obtido pela destilação do mosto fermentado do caldo de cana-de-açúcar com características sensoriais peculiares, podendo ser adicionada de açúcares em 6 g.L⁻¹, expresso em sacarose (Brasil, 2005).

O Decreto nº 4.602/01 pelo Presidente da República Fernando Henrique Cardoso assinou, o que registra o nome cachaça como bebida tipicamente brasileira, com características próprias e produção exclusiva do Brasil e a Lei da Propriedade Industrial nº9279/96 (Brasil, 2001 e Brasil, 1996).

1.2 Diferença entre cachaça artesanal e aguardente

Segundo o Inmetro (Instituto Nacional de Metrologia), a diferença básica entre a cachaça de alambique e a aguardente de cana ou cachaça branca está no processo de produção que pode ser artesanal por batelada ou no processo industrial de coluna contínua onde há um volume maior de produção, com fluxo constante, a todo o momento entra por um lado o mosto fermentado e do outro sai a cachaça já destilada, acelerando a produção da bebida (Boza e Horii, 1998).

A cachaça de alambique pode ter uma qualidade um pouco superior à de coluna, desde que se tenha um controle de produção e qualidade, o que na maioria dos alambiques distribuídos no interior do Brasil não acontece. A melhoria da qualidade ocorre porque o alambique favorece a formação de alguns componentes voláteis do produto final (Labanca e Glória, 2006). Além disso, o cobre presente nos condicionadores dos alambiques funciona como um catalisador, favorecendo a formação de aroma e sabor. Entretanto, este artifício é também usado em muitas destilarias de colunas no Brasil, passando pelo mesmo processo de formação de aromas (SEBRAE/MG – Serviço Brasileiro de Apoio a Micro e Pequenas Empresas de Minas Gerais, 2004).

Portanto, a grande vantagem da cachaça artesanal em relação à industrial é o sabor e o aroma agradável, enquanto a vantagem da cachaça industrial em relação à artesanal é a padronização do produto, requisito básico para uma bebida que começa a ganhar espaço na exportação e aparece cada vez mais na mídia nacional

e internacional. Na indústria há um controle em cada etapa do processo, desde a quantidade de açúcar, a temperatura na fermentação e controle da acidez do produto final, que por Lei pode chegar até 150 mg L^{-1} de álcool anidro (SEBRAE/MG, 2004).

A cachaça artesanal apresenta um sabor suave, apesar de geralmente ter uma graduação alcoólica mais elevada, podendo atingir os 54% de teor alcoólico (Bogusz Junior *et al.*, 2006). A suavidade da bebida está diretamente relacionada ao seu envelhecimento.

Segundo a Legislação Brasileira, Instrução Normativa nº 13 de 29/06/2005, o tempo mínimo para uma cachaça ser considerada envelhecida é um ano, porém este tempo pode chegar a 10 anos. O envelhecimento da cachaça ocorre em vários tipos de tonéis de madeira como: bálsamo, cedro, jequitibá e o mais tradicional de carvalho. Cada tipo de madeira oferece permeabilidade e aroma diferentes ao produto. Os tonéis têm capacidade máxima de 700 litros (Parazzi *et al.*, 2008).

Outra variação é a cachaça “amarela”, dourada como as envelhecidas, porém, tem coloração devido à adição de extratos de madeira ou calda de caramelo nas cachaças brancas, tornando seu sabor levemente adocicado. Este produto não envelhecido é denominado de aguardente composta ou preparado (PBDAC, 2004).

Apesar desta distinção técnica, não há uma diferenciação clara entre os dois tipos de bebidas disponíveis no mercado, já que ambas são oriundas do chamado vinho de cana que é o caldo de cana fermentado (Labanca e Glória, 2006).

1.3 Produção da cachaça

A cana-de-açúcar, espécie de vegetal originária da Ásia e Oceania deu origem a cachaça que pertence à família das aguardentes.

A cachaça é um destilado feito à base de cana-de-açúcar, leveduras e água.

O processo produtivo da cachaça pode ser resumido conforme as seguintes etapas: plantio, colheita e moagem ou prensagem da cana, forma-se o caldo no qual se adiciona água, resultando no mosto. Sob a ação das leveduras, o mosto entra em processo de fermentação. O seu resultado é levado à destilação (Novaes, 1996 e Bogusz Junior *et al.*, 2006) que pode ser por meio de uma coluna de destilação ou alambique. Essa etapa é muito importante, pois é nela que se define a boa cachaça

durante o processo, onde são formados todos os compostos. De nada adianta o cuidado nas outras etapas da produção, se houver a falta de cuidado durante a fermentação. No modo artesanal utiliza-se o fermento natural para iniciar o processo. Costuma-se adicionar fubá de milho, farelo de soja, milho moído cru ou tostado, farelo de arroz, entre outros ao caldo deixando a mistura fermentar durante cinco a vinte dias. Segundo o pesquisador Carlos Rosa da UFMG (Universidade Federal de Minas Gerais), pouco importa o que vai ser adicionado ao caldo no tocante ao desenvolvimento de microorganismos presentes no ambiente. Os grãos adicionados para auxiliar o desempenho da fermentação não servem de fonte nutricional para o levedo, mas possivelmente como suporte para a sua proliferação e ajudar na decantação. Na indústria esse processo é mais rápido durando cinco horas, pois se adiciona a levedura *Saccharomyces cerevisae* fermento biológico que possui a função de produzir CO₂ mediante o consumo de carboidratos na forma de glicose, isso por ser um fungo altamente adaptável ao álcool, quase sempre domina a fermentação de bebidas alcoólicas, além disso, adicionam vitaminas e outras substâncias para auxiliar o crescimento e a atividade da levedura. Entretanto, existem atualmente várias linhas de pesquisas de fermentação com diversas enzimas que podem conduzir o processo (Faria, 1995; Novaes, 2000).

Depois da decantação, separam-se as borras, processa-se a destilação do vinho da cana num alambique de cobre tipo cebolão ou espiral como mostra a Figura 1 abaixo se for ao modo artesanal.



Figura 1. Alambique de Cobre para a fabricação de cachaça.

Nessa parte do processo, ocorre a separação de substâncias e algumas reações químicas dentro do destilador (Boza e Horii, 1998). O destilado é separado em três porções: o primeiro corte, ou “cachaça de cabeça” (10% do destilado), apresenta sabor forte, o segundo corte ou “coração” (80% do destilado) é o que será industrializado, e o corte terceiro ou “cauda” (10% do destilado), contém substâncias tóxicas. A cabeça e cauda são descartadas ou incorporadas em um novo vinho a ser destilado, enquanto a cachaça de coração quase não apresenta gosto ou cheiro e apresenta aproximadamente 47,5% v/v de etanol, a 20°C. O teor de etanol no destilado é medido utilizando um densímetro que expressa em °GL (1° GL é aproximadamente igual a 1% v/v) ou em unidades Cartier (Novaes, 2000).

A cachaça produzida de forma artesanal em alambique de cobre confere uma melhor qualidade ao produto quando comparado aos alambiques manufaturados com outros materiais, como aço inox, alumínio e porcelana, entretanto, pode contaminar a bebida prejudicando a sua qualidade quando o manejo da higienização do equipamento da produção for inadequado (Nascimento *et al.*, 1998; Novaes, 2000). A contaminação da cachaça por cobre ocorre durante o processo da destilação, de modo que o metal constituinte do equipamento, quando exposto ao ar úmido contendo gás carbônico se oxida lentamente ficando coberto por uma substância esverdeada nas paredes dos alambiques denominada “azinhavre” que é composta por carbonato básico de cobre $[\text{CuCO}_3 \text{Cu}(\text{OH})_2]$. Esta camada resultante de sua oxidação é então dissolvida pelos vapores alcoólicos ácidos, contaminando assim o produto final (Novaes, 2000; Nascimento *et al.*, 1998; Labanca e Glória, 2006).

Recomenda-se que a assepsia dos alambiques de cobre seja feita com água e suco de limão ou vinagre devido à ação ácida destes, contribuírem para a dissolução do “azinhavre” (carbonato básico de cobre solúvel), atenuando, assim, os níveis de contaminação do metal na cachaça, uma vez que a limpeza dos equipamentos usados na produção de cachaça influi diretamente na qualidade da bebida (Novaes, 2000; Cavalheiro *et al.*, 2003).

1.4 Mercado e concorrência

Devido a sua grande aceitação, hoje a cachaça é objeto de pesquisa científica, inovações tecnológicas e faz parte de programas de exportação do Governo Federal como o PBDAC (Programa Brasileiro de Desenvolvimento da Aguardente de Cana) criado em 1997 pela Associação Brasileira de Bebidas (ABRABE) em conjunto com os produtores de cachaça e os Ministérios da Agricultura e Abastecimento, do Desenvolvimento, Indústria e Comércio Exterior e da Ciência e Tecnologia, e o PEE (Programa Especial de Exportação), lançado em 1998 pelo, então, Presidente da República Fernando Henrique Cardoso dentre outros programas de fomentação (Cavalheiro *et al.*,2003).

Foi a partir da criação do PBDAC que a cachaça vem conquistando o mercado internacional em conjunto com uma ação de marketing interna e externa do produto promovida pelo Ministério da Agricultura, que internamente sofre as barreiras do preconceito por ser um produto consumido por pessoas de baixa renda. No exterior surge à inevitável comparação com outra bebida já bem conhecida no mercado mundial, o rum primo da cachaça é também fabricado a partir da destilação da cana-de-açúcar. O rum, destilado do mosto de cana fermentado sai do alambique com mais de 80% de teor alcoólico sendo este diluído para aproximadamente 40%. A matéria-prima é parecida, mas o processo gera um produto diferente. Esta semelhança faz com que diversos dicionários e artigos na mídia mundial ignorem a cachaça por achá-la semelhante ao rum, apresentando inconveniência e dificultando a entrada da bebida no mercado norte-americano (Cavalheiro *et al.*, 2003).

De acordo com o sistema de designação da Organização Mundial das Alfândegas (OMA) na categoria bebida, a cachaça não tem uma classificação única, como o Uísque, Vodka, Vinho, Grappa, Tequila, Conhaque, etc., sendo esse o primeiro empecilho enfrentado, a sua classificação como rum, permite que a cachaça seja tributada por litro exportado. Se ingressar a lista dos “outros destilados alcoólicos”, como ocorrida antes de 2000, a bebida seria isenta de tributação. O segundo motivo é que essa classificação dificulta sua disseminação no mercado

norte-americano, porque impede campanha de divulgação que dêem à cachaça uma imagem ligada ao Brasil, provocando um baixo desempenho mercadológico.

O Decreto nº 2314, de 04/09/1997, estabelece o limite máximo para os teores de cobre em aguardente em 5 mg L^{-1} de produto (BRASIL, 1997). Embora, no mercado interno não ocorram barreiras fiscais para o excesso de cobre, quando se trata de exportação a situação muda, há países em que a legislação não permite mais que 2 mg L^{-1} de cobre nos destilados alcoólicos, sendo mais um entrave à exportação da cachaça (Azevedo *et al.*, 2003).

1.5 Cachaça objeto de pesquisa

A quantidade de cobre na cachaça oriundo da destilação tem sido hoje objeto de pesquisa científica e inovação tecnológica por parte dos pesquisadores brasileiros devido aos efeitos tóxicos do excesso do cobre sobre a saúde humana (Labanca e Glória, 2006). A utilização dos destiladores de cobre é muito freqüente na obtenção da cachaça artesanal, pois ao metal cobre atribui-se o papel de catalisador no decorrer da destilação, fato esse que reduz a acidez e os níveis de aldeídos, além de minimizar determinado defeito organoléptico dos compostos sulfurados apresentados nas cachaças destiladas em alambiques de aço inox quando comparados com a presença do metal no destilado (Boza e Horii, 1998; Nascimento *et al.*, 1998).

A presença de cobre nas aguardentes é uma preocupação antiga dos cientistas brasileiros, por isto existem vários trabalhos de pesquisa comparando as vantagens e desvantagens da presença do cobre na construção de aparelhos destilatórios com a finalidade de minimizar essa contaminação, assim como outros métodos com essa mesma finalidade. Portanto, vários procedimentos analíticos diferentes já foram descritos para a determinação do cobre, quer seja por: espectrofotometria de absorção atômica (Cavalheiro *et al.* 2003; Boza e Horii, 2000; Garbin, *et al.* 2005), espectrofotometria na região do visível (Azevedo *et al.*, 2003), eletroquímica (Küchler e Silva, 1998), cromatografia (Nascimento *et al.*, 1998) e adsorção (Lima *et al.*, 2006). Alguns desses métodos como a extração do íon cobre

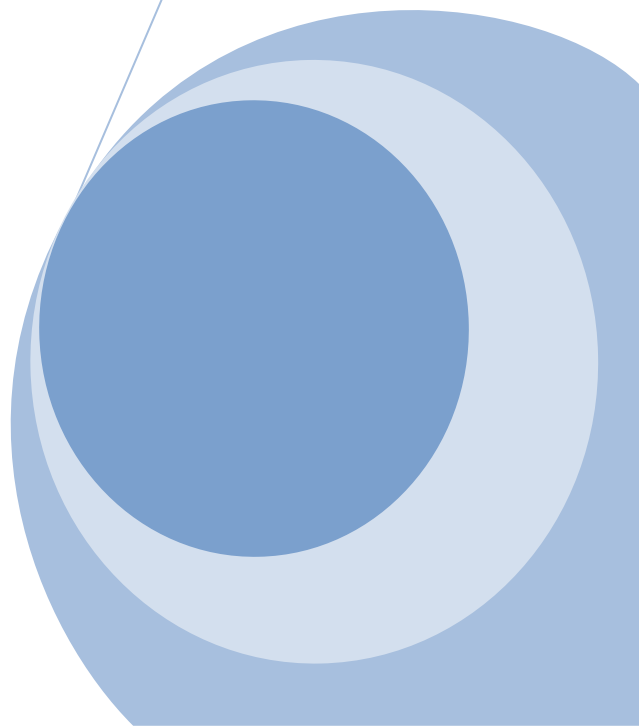
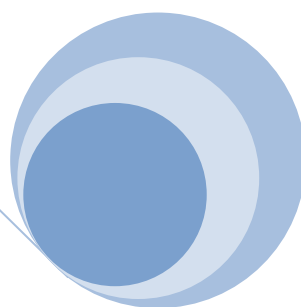
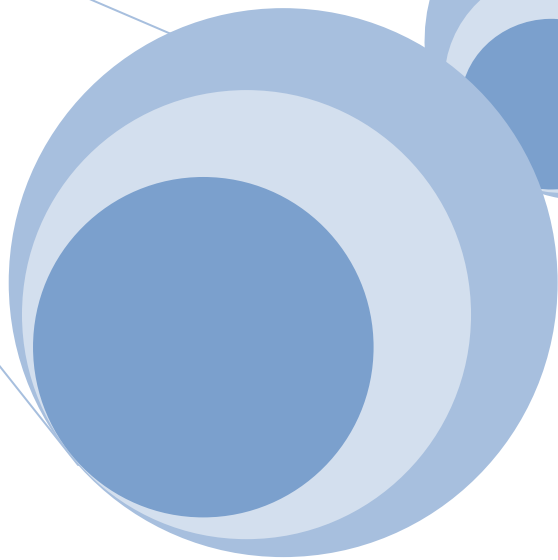
utilizando resina de troca iônica ou carbono ativo não há uma conservação das características sensorial da cachaça, a bidestilação da cachaça diminui a concentração de compostos tóxicos, mas encarece o produto lá na ponta para o consumidor (Novaes, 1997 e 2000; Nascimento *et al.*,1998).

Os avanços tecnológicos da instrumentação analítica têm proporcionado a obtenção de procedimentos rápidos, que apresentam maior precisão e têm aberto novos caminhos para o acoplamento com técnicas de separação e analisadores automáticos. Dentro desse contexto, a análise por injeção em fluxo (FIA) tem se mostrado como um procedimento analítico de grande utilidade para análises de amostras de interesse farmacológico, alimentício, clínico e ambiental. Essa técnica pode ser implementada com instrumentação de baixo custo, mesmo quando se utiliza computadores para efetuar o controle e aquisição de dados. Ademais, empregam-se reduzidas quantidades de reagentes e pouca vidraria de laboratório, pois essas são substituídas em grande parte pelo o sistema fluxo (Fatibello-Filho *et al.*, 1994; Reis, 1996).

Sônia Maria da Cruz

CAPÍTULO II

Cobre



Cobre: Histórico, Propriedades, Características, Toxicidade e Metabolismo

2.1 Histórico

Conhecido pelo o homem desde a era neolítica, pois a idade do cobre segue a idade da pedra. Provavelmente a utilização do cobre veio antes do ferro para manufaturar utensílios em geral e instrumentos de guerra como mostra a Figura 2 abaixo. Atribui-se a esse fato de que o cobre é um dos poucos metais que podem ser encontrados na natureza em estado puro numa forma que não necessita de tratamento metalúrgico complexo (Mellor, 1967).



Figura 2. Artefatos em metal produzidos na Antiguidade.

O cobre foi um dos metais utilizados na antiguidade como moeda no Egito por volta de 3400 A.C.. Há registro de que em torno de 3000 A.C. a liga formada por cobre e estanho passou a ser utilizada na Índia, Grécia e Mesopotâmia marcando o início da “Idade do Bronze”. No entanto, foram os romanos que mais utilizaram o metal como adornos e armas de guerra (Sargentelli, 1996). Segundo Mellor (1967), o cobre foi chamado *aes cyprium* (i. é, latão de Chipre) pelos romanos por ser obtido pela primeira vez da Ilha de Chipre; o termo *aes cyprium* logo foi encurtado para *cuprum*, cujo símbolo na Tabela Periódica é “Cu”.

Esse metal na forma de sulfato era comumente utilizado pelos romanos em suas festas para provocar vômitos quando ingerido após uma comilança e assim continuar com o exagero durante a festa (Sargentelli *et al.*, 1996; Mellor, 1967).

Nos dias de hoje o cobre é usado na produção de materiais condutores de eletricidade (fios e cabos), radiadores de automóveis, telefonia, e em ligas metálicas como o latão e o bronze.

Atualmente o sulfato de cobre (CuSO_4) e os óxidos de cobre são utilizado como pesticidas, algicidas e fungicidas e na produção de preservativos para a madeira, couro e tecidos. O hidróxido cúprico amoniacal ($\text{Cu}(\text{NH}_3)(\text{OH})_2$) é utilizado no laboratório e na indústria mecânica.

No organismo humano o cobre não pode ser produzido por esse sendo obtido através dos alimentos e suplementos dietéticos a partir de uma alimentação balanceada.

Encontrado naturalmente em solos, rochas, águas, sedimentos e no ar com concentração média na crosta terrestre de 50 ppm (partes por milhão) tem 90% das reservas mundiais localizadas em quatro regiões: nos Andes Chile e Peru; montanhas rochosas e área dos grandes lagos nos Estados Unidos; planalto central africano Congo (ex Zaire) e Zâmbia e na América do Norte Canadá e estado do Michigan, Estados Unidos.

O cobre como mostra a Figura 3 é obtido em larga escala, sendo o vigésimo quinto elemento mais abundante, em peso, da crosta terrestre. É encontrado em minas na forma de sulfetos, óxidos e carbonatos (Mellor, 1967).



Figura 3. Cobre nativo, Cu

2.2 Propriedades físicas e químicas

O cobre é um elemento químico metálico de símbolo **Cu** (do latim *cuprum*), tem densidade $8,93 \text{ g cm}^{-3}$ e funde-se a $1.083,4^\circ\text{C}$. Número atômico 29 possui dois isótopos estáveis, de massa 63,546 e 65 g mol^{-1} , e nove radioativos, de massa, 58, 59, 60, 61, 62, 64, 66, 67, e 68, possuindo configuração $[\text{Ar}] 3d^{10}4s^1$. À temperatura ambiente, o cobre encontra-se no estado sólido. Cristaliza no sistema cúbico e não possui formas alotrópicas (Mellor, 1967).

Metal de transição de coloração avermelhada é um dos metais mais importantes na indústria por apresenta alta condutividade elétrica e térmica, só superada pela da prata, além de ser dúctil e maleável.

O cobre possui estado de oxidação (+I), (+II) e (+III), no entanto o único íon hidratado é o Cu^{+2} na forma de penta-aquocomplexo. O íon monovalente Cu^+ sofre desproporcionamente em água e, conseqüentemente só existe em compostos sólidos insolúveis ou em complexos. O Cu^{+3} é um oxidante tão forte que consegue oxidar a água. Só ocorre em poucos compostos quando estabilizado como complexos ou com compostos insolúveis não apresentando relevância industrial. Na

maioria de seus compostos estáveis apresenta estado de oxidação mais comum de valência +1 (cuproso) e +2 (cúprico). O cobre não se inflama ao ar, mas quando aquecido a coloração avermelhada do metal que é causada por uma fina camada de óxido cuproso (Cu_2O) torna-se enegrecida posteriormente devido à formação do óxido cúprico (CuO) (Mellor, 1967). O óxido de cobre (I), Cu_2O , se origina de transições eletrônicas ocorridas em nível atômico, nas camadas d do elemento, essas transições ocorrem após absorção de energia na forma de fótons na região espectral entre o azul e o verde, com posterior emissão de luz na região entre o amarelo e vermelho (Rayner, 2003). Por o cobre possuir uma configuração eletrônica semelhante a dos gases nobres, tendo um orbital 3d completo apresenta-se mais estável (Mahan, 1977).

Embora à temperatura ambiente o cobre não seja atacado pelo ar seco, quando exposto ao ar úmido que contenha dióxido de carbono forma-se uma capa aderente e impermeável de carbonato básico (azinhavre) de coloração esverdeada (Mellor, 1967). Como o azinhavre é tóxico, os utensílios de cobre usados na cozinha devem ser estanhados ou mantidos limpos, pois na cocção de alimentos são bastante freqüentes as intoxicações alimentares, devido à ação dos ácidos da comida que originam óxidos, contaminando assim os alimentos.

O cobre reage facilmente com o ácido nítrico formando óxidos de nitrogênio, porém não é atacado a frio pelo ácido clorídrico e sulfúrico; a quente produz com esses ácidos, cloreto cuproso e sulfato de cobre, respectivamente (Mellor, 1967). O cobre é atacado com facilidade pelos os halogênios especialmente em presença de umidade sendo que no seco o cloro e o bromo não produzem efeito e o flúor só ataca a temperaturas elevadas. Os oxiácidos atacam o cobre (Ohlweiler, 1973).

O cobre apresenta duas séries de sais, que correspondem aos óxidos cuprosos e cúpricos, assim como seus sais. O óxido cuproso Cu_2O é um pó vermelho muito utilizado na indústria do vidro para colori-lo na respectiva cor e o cloreto cuproso CuCl , quando em solução amoniacal é reativo do acetileno. O óxido cúprico CuO , negro, usa-se em esmalte e vidros para a coloração verde e sulfato de cobre CuSO_4 para azul (Mellor, 1967).

2.3 Toxicidade e Essencialidade do Cobre

No início do século XIX, o cobre era considerado um metal tóxico, não existindo ainda pesquisas sólidas com relação às alterações metabólicas e funcionais do cobre nos organismos vivos (Sargentelli *et al.*, 1996).

Na química quando um metal se associa a um material orgânico este forma uma substância chamada organo-metálica, que devido a sua lipossolubilidade atravessa com extrema facilidade a membrana biológica. Os compostos organo-metálicos por terem processos de biotransformação lentos no interior do organismo retardam a sua excreção (Oga, 1996).

A forma tóxica biológica ativa de um metal depende da capacidade deste se ligar às proteínas, ou ainda, da sua distribuição nos eritrócitos e plasma (Oga, 1996; Sargentelli *et al.*, 1996). Ocorrendo a ingestão de metais, esses logo são distribuídos por todo o organismo afetando diversos órgãos.

A intoxicação pelo cobre pode ocorrer de diversos modos, através da alimentação, ingestão de bebidas contaminadas, pela respiração e pelo contato da pele com compostos do metal. Sendo, a intoxicação aguda mais comum ocorre após a ingestão de sulfato de cobre que pode ser encontrado em algicidas aplicados aos reservatórios de água, piscinas, corantes industriais de várias cores, na conservação de alimentos, inseticidas, germicidas, na indústria para a conservação de madeiras, tinturas de cabelo e etc. A ingestão desse sal em altas doses pode causar danos ao fígado e aos rins, causando a necrose hepática podendo levar o indivíduo a morte, assim como o consumo de outro sal de cobre (Sargentelli *et al.*, 1996).

Entre os sintomas característicos que ocorrem após a exposição a altas doses de cobre estão à irritação do nariz, boca e dos olhos, essa intoxicação pode provocar fibrose pulmonar, dores de cabeça, tonturas, náuseas, diarreias e cólicas abdominais (Sargentelli *et al.*, 1996).

Intoxicação com bebidas alcoólica pode ocorrer na cachaça brasileira devido a elevada concentração indesejável de cobre.

A toxicidade do cobre está intimamente relacionada à forma livre do metal no meio e ao tempo de exposição sobre o organismo. O cobre pode se apresentar sob diversas formas tóxicas como CuCO_3 , $\text{Cu}_2(\text{OH})^{+2}$, CuOH^+ e Cu^{+2} sendo a última a mais tóxica (Mellor, 1967).

2.4 Alterações Metabólicas e Funcionais do Cobre no Homem

O cobre é um oligoelemento essencial para várias formas de vida, dentre elas, o organismo humano, que deve existir em quantidades mínimas, ele ajuda a produzir os glóbulos vermelhos e a formar a hemoglobina. Também importante na formação de glóbulos branco, para o desenvolvimento do cérebro, além de fortalecer o sistema imunológico, nervos e ossos. Encontra-se nos lugares mais recônditos do corpo, tende a concentrar-se nos órgãos com alta atividade metabólica, como o fígado, cérebro, rins e coração, sendo, portanto um transtorno congênito. Segundo Sargentelli (1996), sua necessidade para o corpo humano data de 1921 quando Badansky identificou o cobre no cérebro humano, depois foi reconhecido como essencial a partir de 1928, quando Hart mostrou experimentalmente que uma suplementação de cobre era necessária para combater a anemia por falta de ferro em ratos nutridos exclusivamente com regime lácteo, sendo o cobre necessário na mobilização de ferro para a síntese de hemoglobina (Pedrosa e Cozzolino, 1999). A partir desse momento inúmeros pesquisadores se debruçaram em estudos científicos a mostrarem o importante papel exercido pelo cobre sobre o metabolismo das enzimas fundamentais e suas reações redoxes.

2.4.1 Patologias Desenvolvidas por Deficiência ou Excesso de Cobre

Sua deficiência ou excesso no organismo é nocivo devido à afinidade do cobre solúvel com o grupo S-H de algumas proteínas interferindo nas atividades catalíticas normais de muitas enzimas causando algumas doenças como: a epilepsia, artrite reumatóide, melanomas, diabetes mellitus, aceruloplasminemia, esclerose, doenças de Alzheimer, de Menkes e a de Wilson (Sargentelli *et al.*, 1996).

A síndrome de Menkes é um distúrbio hereditário que resulta em uma mutação que leva a produção de uma forma não funcional da principal proteína citosol encarregada da absorção do cobre no intestino e seu transporte para o interior do organismo. Esta doença é uma desordem de origem genética associada ao cromossomo X recessivo. O sintoma está relacionado à deterioração mental progressiva, cabelos frágeis, retorcidos ou enroscados como mostra a figura 8, além das alterações esqueléticas. A morte ocorre geralmente no decorrer dos primeiros anos de vida (Giugliani *et al.*, 1986).



Figura 4. Síndrome de Menkes: enfermidade neurodegenerativa rara provocada, pela afecção dos cabelos e do couro cabeludo, provocada pela falta de cobre no organismo denominada hipocupremia.

A doença de Wilson foi descrita em 1912 por Samuel A. Kinnier Wilson como uma degeneração hepatolenticular progressiva.

É um transtorno hereditário com modo de transmissão autossômico recessivo do cromossomo 13, isto é, é necessário que os pais sejam portadores e transmitam o gene da doença para que essa se manifeste. Essa doença caracteriza-se por uma anormalidade do metabolismo do cobre, devido à deficiência de ceruloplasmina, a enzima que elimina esse mineral do organismo, ao se acumular, o cobre se deposita inicialmente no fígado depois no cérebro, córnea e rins (Prado e Fonseca, 2004).

Uma manifestação oftalmológica bastante trivial e importante associada à doença de Wilson é o anel de Kayser-Fleisher, caracterizada pela deposição de granulações de cobre de tamanhos e formas variadas na córnea e predominam na periferia corneana. A presença de anéis pigmentados na córnea nem sempre é diagnóstico de anéis de Kayser-Fleisher, devendo ser diferenciados de outras alterações pigmentadas da córnea não ligada à doença de Wilson (Sargentelli *et al.*, 1996).

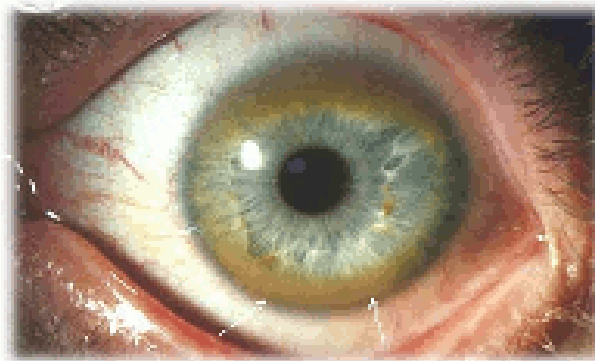


Figura 5. Presença de anel pigmentado na periferia corneana demonstrando um Anel de Kayser-Fleisher.

2.4.2 Papel Metabólico do Cobre

O cobre é especialmente importante para manter as células saudáveis e contribuir no desenvolvimento neurológico, tendo papel fundamental na correta formação dos órgãos. A mutação das proteínas transportadoras de cobre está envolvida em inúmeras doenças (Azevedo *et al.*, 2003).

Em torno de 20 enzimas têm funcionalidades que dependem do cobre. Entre elas se incluem: superóxido dismutase, que é uma enzima que se encontra presente na maioria das células humanas e que protege o corpo da oxidação. Além de se encontrar em altas concentrações no tecido do cérebro, na tireóide e no fígado; lisil-oxidase é outra enzima que favorece a reticulação do colágeno e da elastina. Uma menor atividade desta enzima se vincula a numerosas anormalidades estruturais em muitos tecidos, incluindo o sistema ósseo e cardiovascular; citocromo-oxidase, uma enzima que catalisa a redução de oxigênio da água, sendo essencial na respiração celular. Apresenta elevada atividade no coração, cérebro e fígado; a ceruloplasmina, proteína que permite o transporte do cobre e do ferro; as transaminases participam no metabolismo dos aminoácidos; a tirosinase tem um papel na pigmentação da pele (Pedrosa e Cozzolino, 1999).

Sônia Maria da Cruz

The page features a decorative graphic consisting of several overlapping circles in various shades of blue (dark, medium, and light) and thin blue lines that intersect to form a triangular shape on the right side of the page.

CAPÍTULO III

FUNDAMENTOS TEÓRICOS

3.1 Metodologias Empregadas na Determinação do Cobre

A Química Analítica é o ramo da ciência que se debruça na identificação ou quantificação de espécie ou elementos químicos existente numa substância através de seus métodos. Os métodos qualitativos geram informações quando se pretendem determinar ou identificar as espécies atômicas, moleculares ou grupos funcionais presentes numa amostra que pode ser de origem mineral, vegetal ou animal. Já os métodos quantitativos fornecem resultados numéricos direcionados à quantidade dos componentes numa amostra. Sendo utilizada para a determinação de concentrações, volume ou massa exata da substância, técnicas como: gravimetria, volumetria instrumentais, dentre outras (Skoog, 1992; Baccan, 1988).

As técnicas de análise estão baseadas em características físicas e químicas de uma numerosa quantidade de analitos. Com isso, é preciso que se tenha uma fonte de energia para estimular as propriedades físicas ou químicas relativas ao analito de tal forma que se obtenha dados mensuráveis. Como exemplo, os métodos Espectrofotométricos que utilizam informações relacionadas com as interações entre a luz e a matéria, onde o instrumento permite comparar a radiação absorvida ou transmitida por uma solução que contém uma quantidade desconhecida de soluto, e uma quantidade conhecida da mesma substância. Entre esses métodos podemos citar a Espectrofotometria de Absorção Atômica, Espectrofotometria de Absorção Molecular, Espectrofotometria de Emissão Atômica, entre outras técnicas (Skoog, 1992; Laitinen *et al.*, 1975).

3.2 Métodos Oficiais de Análise

No Brasil, o método oficial aceito para a quantificação de cobre em aguardente é a seguida pelas normas analíticas do Instituto Adolfo Lutz que utilizam a técnica de Espectrofotometria de Absorção Molecular (EAM), sendo que o reagente cromógeno é o 2,2-diquinolilo em álcool amílico ou dietilditiocarbamato em álcool amílico (Adolfo Lutz, 1985). Nos Estados Unidos o método oficialmente recomendado pela Associação dos Químicos Analíticos Oficiais (AOAC – Association of Official Analytical Chemists, 1985) é a espectrofotometria de absorção atômica com chama (FAAS), com os padrões preparados numa mistura 50% v/v de etanol e água, pois este método além de ser mais rápido apresenta a vantagem de ter o menor limite de detecção e ser aceito mundialmente.

3.3 Algumas Técnicas e Metodologias Empregadas na Determinação de Cobre

Na busca por técnicas analíticas mais eficientes com a finalidade de um controle de qualidade ainda maior, diversas metodologias continuam sendo desenvolvidas para auxiliar na determinação de cobre em cachaça. Dentre a ampla lista de metodologias para esse metal, encontram-se alguns artigos de revisão apresentados na Tabela 1, a qual informa algumas técnicas analíticas empregadas na detecção de cobre e fundamentadas nas características e propriedades físico-químicas da amostra.

Tabela 1. Técnicas analíticas empregadas na determinação de cobre (II).

Analito	Técnica Analítica	Matriz da amostra	Faixa Linear mg L ⁻¹	Limite de detecção	Referência
Cobre	FAAS ^a	Aguardente	0,50- 4,00	0,05 mg L ⁻¹	Labanca <i>et al.</i> , 2006.
Cobre	Potenciometria	Cachaça	0,063- 6,3	0,03 mg L ⁻¹	Küchler <i>et al.</i> , 1999
Cu e Zn	FAAS ^a	Cachaça	0,0-5,0	0,06 mg L ⁻¹	Pinto <i>et al.</i> , 2005
Cu e Fe	FAAS ^a	Aguardente	0,0-10,0	0,04 mg L ⁻¹	Catarino <i>et al.</i> , 2003.
Cobre	Espectrometria UV-vis ^b	Cachaça	0,2-20,0	0,05 mg L ⁻¹	Rocha <i>et al.</i> , 2008.
Cu, Fe e Zn	XRF ^c	Cachaça	0,0-18,0	10,9 ng mL ⁻¹	Cunha <i>et al.</i> , 2004.
Cobre	FAAS ^a	Aguardente	0,0-20,0	0,001 mg L ⁻¹	Lima Neto <i>et al.</i> , 1994
As, Cu e Pb	GFAAS ^d	Cachaça	20-200 µg L ⁻¹	9,2 µg L ⁻¹	Caldas <i>et al.</i> , 2007

FAAS^a (Espectrofotometria de Absorção de Atômica por Chama), Vis^b (Visível); UV (Ultravioleta), GFAAS^d (Espectrofotometria de Absorção Atômica em Forno de grafite) e XRF^c (Espectroscopia de Fluorescência de Raio – X).

A partir da Tabela 1, dispomos de uma série de ferramentas para realizar análises, tornando a escolha dentre elas um tanto difícil. Para selecionar um método analítico de forma coerente é indispensável definir claramente a natureza do problema analítico. Esta definição requer conhecimentos prévios, tais como: a exatidão necessária, a quantidade de

amostra disponível, a faixa de concentração do analito, os componentes da amostra que podem causar interferência, as propriedades físicas e químicas da matriz da amostra e a quantidade de amostra a ser analisada.

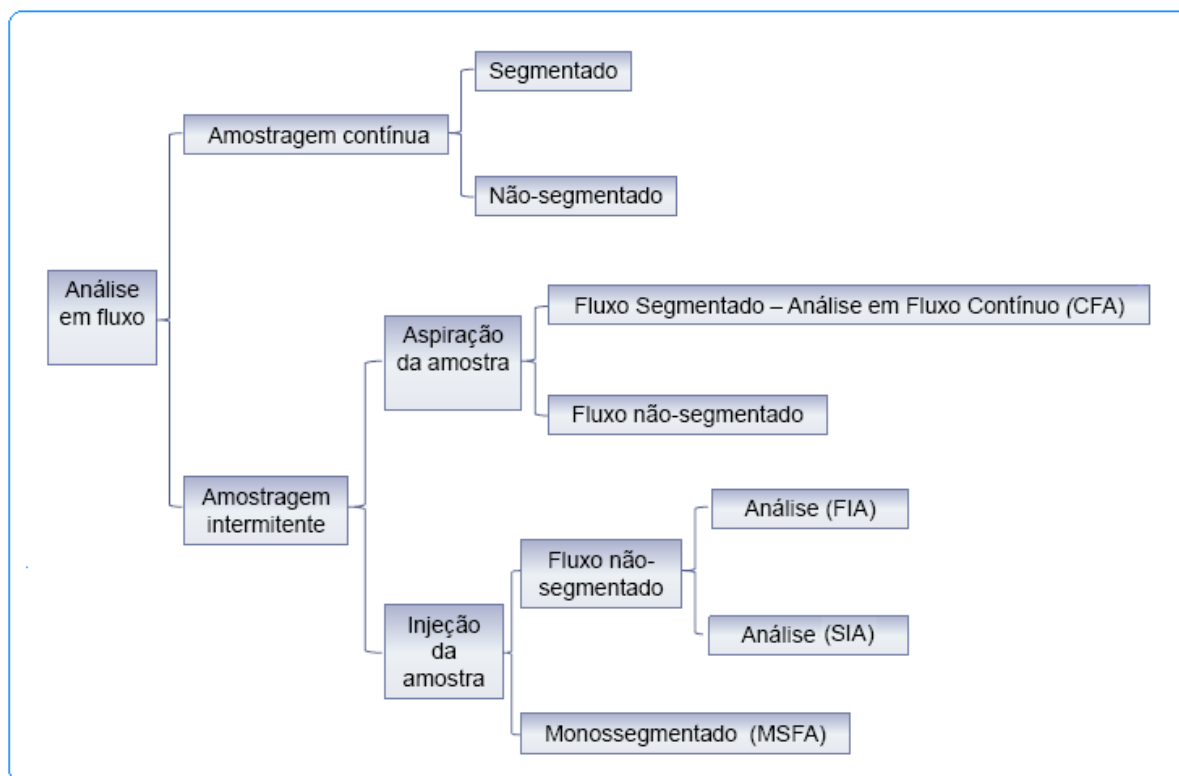
3.4 Análise por Injeção em Fluxo

Sistemas de análise em fluxo vêm sendo utilizado para a mecanização e automatização de análises químicas. Esses sistemas são bastantes atraentes por ser possível a aplicação de praticamente todas as etapas que envolvem o processo de análise química, tais como: amostragem, separações, diluições, pré-concentrações, adição de reagentes e por apresentarem grande potencialidade para a determinação de parâmetros físico-químicos, como coeficientes de difusão, viscosidade, capacidade complexante de ligantes, parâmetros cinéticos e estequiométrico de reações (Rocha *et. al.*, 2000).

3.4.1 Classificação de Sistemas baseados em Análise em Fluxo

Os métodos de análise em fluxo compreendem todos os métodos analíticos que são baseados na introdução e processamento de amostras em fluxos.

Tabela 2. Classificação de métodos de análise em fluxo (IUPAC)



FONTE: Zagatto *et. al.*, 1994.

3.4.2 Evolução do Processo

Dentro deste contexto encontra-se a Análise por Injeção em Fluxo (do inglês, *flow injection analysis - FIA*) caracterizado por sua simplicidade, versatilidade, baixo consumo de amostras e reagentes, aliadas a uma facilidade extrema de implantação em qualquer laboratório em relação às metodologias convencionais.

A técnica FIA foi descrita pela primeira vez por Ruzicka e Hansen em 1975 (Reis, 1996). Os métodos de injeção em fluxo são uma consequência dos procedimentos em fluxo segmentados por bolhas de ar, que eram muito usados em laboratórios de análise clínica nos anos 1960 e 1970 para determinação automática de uma variedade de espécies químicas em amostras de sangue e de urina (Skoog, 2002).

As primeiras aplicações de FIA ocorreram no Brasil (1975), em virtude principalmente da colaboração científica entre a Agência Internacional de Energia Atômica e o Centro de

Energia Nuclear na Agricultura (CENA) da Universidade de São Paulo, que permitiu a permanência de Ruzicka por um ano no CENA, o qual em trabalho conjunto com pesquisadores da seção de Radioquímica e Química Analítica, instalou o primeiro sistema FIA para análise rotineiras. Desde o princípio houve a participação de pesquisadores brasileiros, porém estes só aparecem como co-autores a partir do terceiro artigo da série, mas a maior parte dos experimentos que resultaram nas primeiras publicações, foram realizados no CENA (Reis, 1996).

Desde o seu aparecimento até o momento, a análise por injeção em fluxo é amplamente adotada como uma ferramenta de auxílio na quantificação de espécies químicas em diversos tipos de amostras, destacando-se: águas, biológicas, farmacológicas, alimentos, bebidas, entre outros. A sua aplicação abrange mais de 8000 artigos publicados nas mais diferentes áreas (Miranda, 2002).

O encanto desta técnica é que ela possibilita trabalhar com microvolumes, e assim, o sistema economiza amostras e reagentes e contribui muito para a química limpa.

3.4.3 Descrição do Sistema em Fluxo

A Análise por Injeção em Fluxo (FIA) é uma técnica proveniente do melhoramento de Sistema de Análise em Fluxo Segmentado (SFA), metodologia desenvolvida por Skeggs em 1957 e em alguns sistemas de fluxo não-segmentado nos quais alíquotas de amostras percorrem o sistema em direção ao detector, espaçadas aproximadamente por bolhas de ar. A presença dessas bolhas de ar no percurso analítico era essencial para limitar a dispersão excessiva da amostra, para melhorar as condições de mistura entre amostra e reagente e para minimizar os efeitos de memória e lavar as paredes dos tubos de extensão, evitando desta forma a intercontaminação entre amostras sucessivas (Arruda e Collins, 2005), Figura 6.

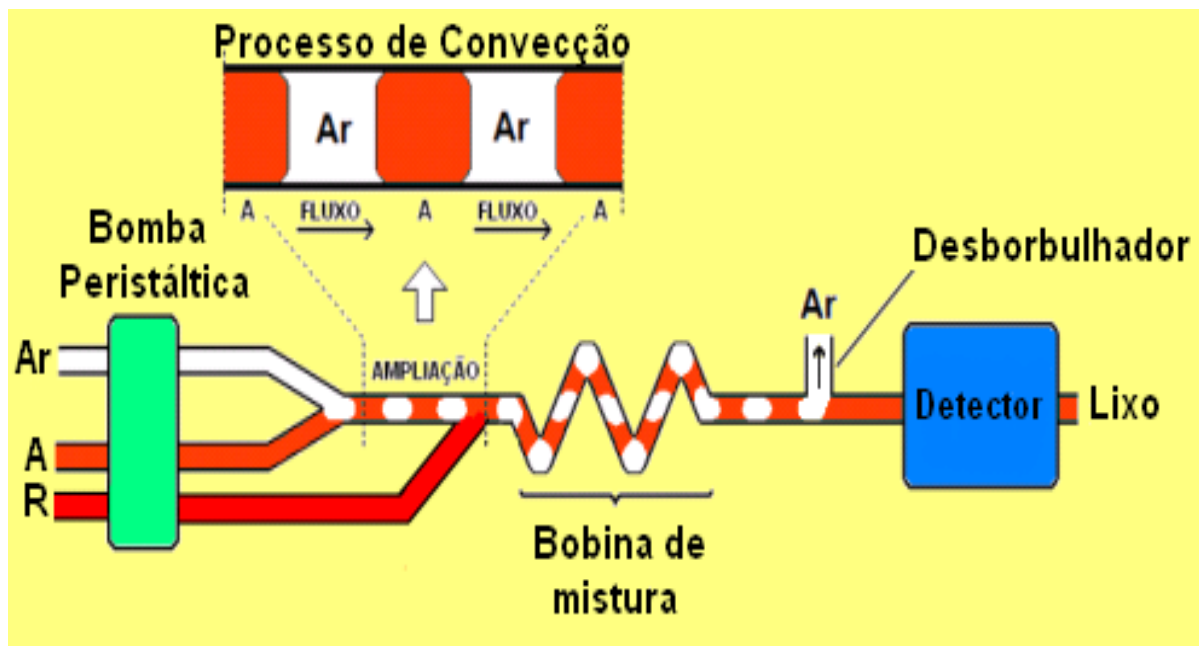


Figura 6. Demonstração do processo de mistura por convecção no módulo clássico de Análise em Fluxo Segmentado (SFA). A= amostra; R= reagente.

As diferenças entre as técnicas de Análise em Fluxo Segmentado (SFA) e Análise por Injeção em Fluxo (FIA) estão explícitas na Tabela 2 (Arruda e Collins, 2005).

Tabela 3. Diferença fundamentada nos parâmetros de fluxo das técnicas.

Parâmetro	SFA	FIA
Introdução de amostra	Aspiração	Injeção
Volume da amostra	Mililitros (mL)	Microlitros (μ L)
Tipo de Fluxo	Segmentado	Não-segmentado
Processo de mistura	Convecção	Dispersão

Com a proposta do conceito FIA, demonstrou-se que estas funções também poderiam ser obtidas sem segmentação por ar. O desenvolvimento posterior indicou que a ausência de bolhas de ar não somente leva a um sistema mais simples como também expande as potencialidades da análise em fluxo resolvendo os problemas de dispersão e contaminação da amostra, assim nasce o FIA.

Análise por Injeção Seqüencial em Fluxo (do inglês, *Sequential Injection Analysis* – SIA) é tida como a segunda geração de sistemas de Análise por Injeção em Fluxo. Foi proposta em 1990 por Ruzicka e Marshall com a finalidade de simplificar mecanicamente os sistemas FIA (Masini, 2008). A partir de 1977, ocorreu um desenvolvimento muito rápido da metodologia FIA a começar do próprio conceito e definição da técnica que tem evoluído ao longo desses trinta e dois anos devido a sua grande versatilidade de aplicações (Reis, 1995).

3.4.4 Descrição do sistema de Análise por Injeção em Fluxo

A técnica de Análise por Injeção em Fluxo está fundamentada em três conceitos básicos: a injeção de um volume de amostra, a dispersão controlada da amostra injetada e a reprodutibilidade do sinal no tempo dos eventos que ocorrem desde a injeção até a chegada ao detector como ilustra a Figura 7 (Skoog, 2002).

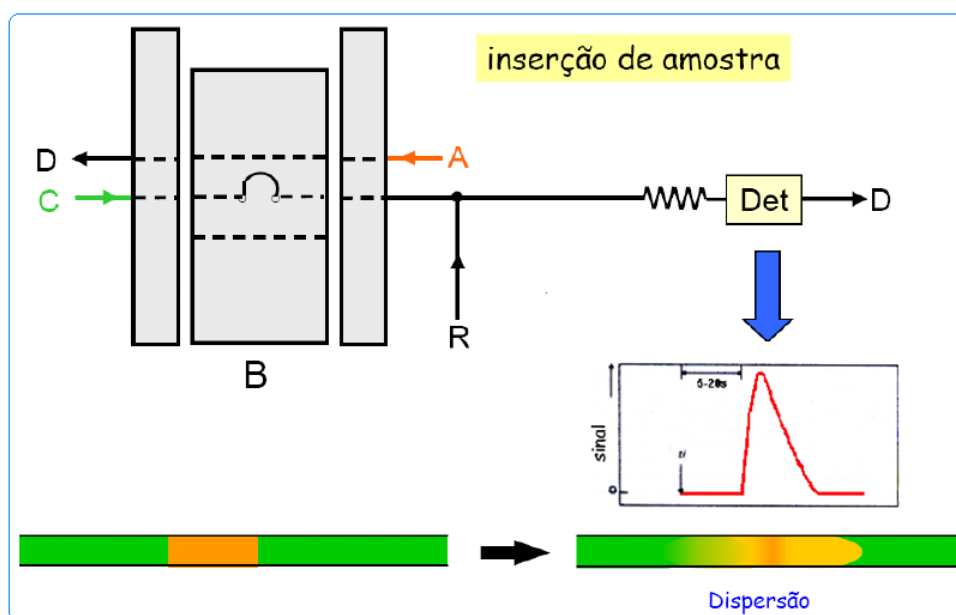


Figura 7. Após seleção de um volume de solução da amostra (A), este é introduzido em uma solução transportadora (C) da amostra. Imediatamente, forma-se uma zona de amostra a qual sofre dispersão contínua enquanto é transportada em direção ao detector. O sinal medido pode ser registrado no instante da injeção da amostra. B: Bomba peristáltica; D: Descarte; R: Reagente.

O processo analítico consiste na inserção de um volume discreto e reprodutível de uma amostra em fluido carregador não segmentado de uma solução transportadora através do percurso analítico em direção a um detector. No entanto, uma ou mais soluções contendo reagentes confluem continuamente com o carregador, antes da detecção. No decorrer do processo, a amostra sofre dispersão na solução transportadora, produzindo uma zona de amostra caracterizada pela existência de gradientes de concentração, fator esse responsável pela mistura entre reagentes e amostras (Rocha *et al.*, 2000). É essencial controlar a dispersão da amostra injetada para se evitar diminuição da sensibilidade visto que, a dispersão controlada compreende um processo reprodutível de diluição e mistura física que a amostra sofre durante todo o percurso analítico. O controle da dispersão também denominado de diluição da zona de amostra pode ser controlada pela otimização de vários fatores, tais como: volume injetado da amostra, as vazões do fluido transportador e dos reagentes, o comprimento da bobina de reação e o diâmetro interno da tubulação (Arruda e Collins, 2005). Contudo a dispersão em sistemas FIA é um processo físico-químico dependente de um grande número de parâmetros, não podendo, portanto ser quantificada em termos de um único valor.

Com relação à unidade de detecção podem ser empregados praticamente todos aqueles usuais em química analítica como espectrofotômetros na região do espectrômetros de absorção atômica, potenciômetros, condutivímetros, entre outros. Parte importante no sistema de injeção em fluxo é o registro do sinal analítico que é geralmente registrado em forma de pico como demonstra a Figura 7, cuja área ou altura de pico é proporcional ao teor da espécie química a ser determinada.

3.4.5 Componentes do Sistema FIA

Para a montagem de um sistema FIA, alguns componentes principais e característicos da técnica são indispensáveis: unidade de propulsão de fluido, tubos de propulsão, extensão e conexão, injetor e cela de fluxo adaptada ao detector. Além desses, alguns acessórios são utilizados como: alças de amostragem, bobinas de mistura e confluências. A depender do tipo e finalidade das análises, outros dispositivos podem se tornar necessários, tais como: desborbulhadores, celas de difusão gasosa, extratores líquido-líquido, celas de diálise, colunas de pré-concentração e banho termostáticos.

Desta forma, efeitos de contaminação são minimizados, já que não há contato direto entre a atmosfera do laboratório e o local onde se processa o método analítico (Arruda e Collins, 2005).

3.4.5.1 Constituintes

Os sistemas FIA é basicamente constituído por uma unidade propulsora de fluidos, de inserção de amostra, de reação/mistura e de detecção. Opcionalmente, estas unidades podem ser controladas por uma unidade de controle e aquisição de dados a qual pode estar acoplada a uma unidade de processamento e arquivo (Reis, 1989).

a) Unidade propulsora de fluidos:

A unidade propulsora como mostra a Figura 8, é em geral, uma bomba peristáltica que possui torque suficiente para manter a vazão constante e controlada para propeler a solução transportadora e os reagentes, mesmo que ocorram variações na impedância hidrodinâmica do sistema. O emprego de outros dispositivos propulsores como pressão através de gás comprimido, bombas de pistão e ação gravitacional tem sido propostos em aplicações específicas (Arruda e Collins, 2005).



Figura 8. Bomba peristáltica com 4 canais com cassetes e tubos de propulsão.

b) Injetor

O injetor é o dispositivo fundamental do sistema de análise química por injeção em fluxo. É através dele que se introduz a amostra no percurso analítico

Para garantir uma elevada repetibilidade de sinal é importante inserir rápida e reprodutivelmente um volume fixo de amostra no fluxo da solução transportadora, evitando-se ao máximo sua perturbação (Skoog *et al*, 2006).

Vários tipos de injetores foram apresentados na literatura, sendo os mais comuns os de válvula rotatória desenvolvido por Ruzicka e Hansen e o injetor proporcional (ou injetor comutador) desenvolvido pelos pesquisadores do CENA/USP. Este último, além de ser muito versátil, é muito fácil de ser construído. Consiste em três peças de acrílico, sendo duas fixas e um móvel. A peça central pode ser deslocada em relação às laterais, um passo para frente ou para trás, ou vice-versa. Por meio desse movimento o injetor coleta a amostra e a insere no percurso analítico (Reis, 1999).



Figura 9. Injetor proporcional de 6 vias com alça de amostragem.

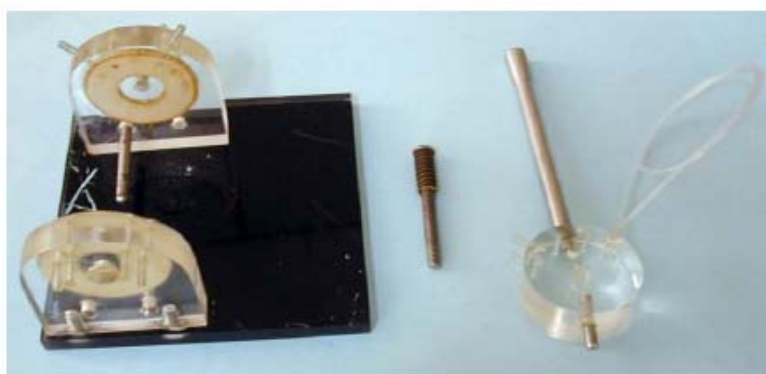


Figura 10. Parte fixa e móvel do injetor proporcional.

c) *Sistema de transporte, Mistura e Reação:*

O percurso analítico constituído de tubo de polietileno Figura 14 é a unidade do sistema FIA onde ocorrem às etapas de reação e/ou mistura. Em sistemas simples, os conectores empregados para entrada de reagentes, confluências e coalescências Figura 13 e reatores (ou bobinas) helicoidais Figura 15, além de cassetes e tubo Tygon como mostra as Figuras 11 e 12, são os dispositivos mais comuns empregados, nesta unidade. Sistemas mais elaborados incluem colunas empacotadas com reagentes em estado sólido, geralmente imobilizado em resinas, câmaras de diluição e agitação, câmaras de separação de fases, extração com solvente, resinas de troca iônicas, sílicas-gel, fornos de microondas, reamostragem de zona dispersa e fluxo intermitentes (Arruda e Collins, 2005).

Tubos, acessórios e conectores:



Figura 11. Cassetes com tubo de propulsão.



Figura 12. Tubo Tygon.



Figura 13. Confluências polietileno



Figura 14. Tubo de polietileno

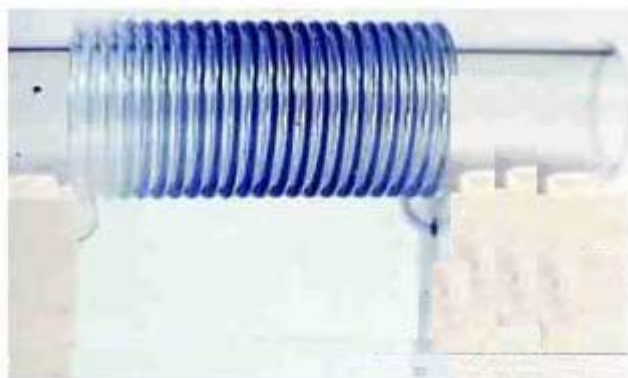


Figura 15. Bobina de Reação.

d) Detector e Celas de Fluxo:

No que diz respeito à unidade de medida, os detectores devem apresentar volume morto e tempo de respostas compatíveis com o sistema de detecção na Análise por Injeção em Fluxo. De acordo com a espécie a ser quantificada, tem sido empregados, praticamente, todas as técnicas usuais em química analítica: espectroscopia e eletroquímica (Arruda e Collins, 2005).



Figura 16. Detector Espectrofotométrico UV-Vis.

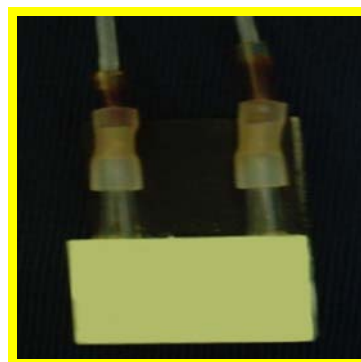


Figura 17. Cella de fluxo.

3.4.6 Classificação dos Sistemas

As configurações de sistemas de Análise por Injeção mais elementar são os sistemas de linha única, sistemas em confluência e sistemas de zonas coalescentes com mostra a figura 18. O sistema FIA também pode ser executado com outras variáveis nos sistema elementares. Exemplos dessas implementações são os sistemas com fluxo alternativos, fluxos intermitentes, aprisionamento de zona de amostra e outros (Reis, 1996).

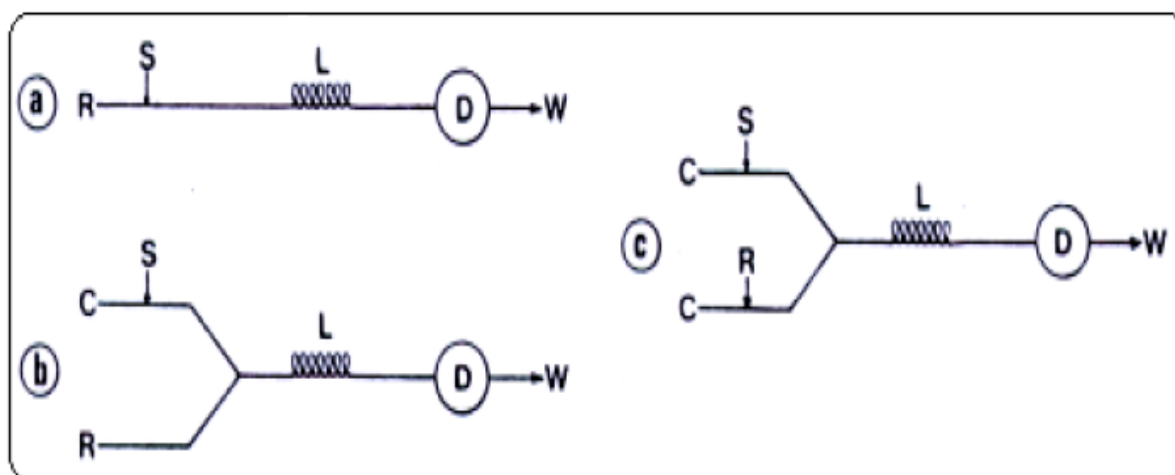


Figura 18. Configurações elementares de sistema FIA. (a) sistema linha única, (b) sistema em confluência, (c) sistema com zonas coalescentes. R, reagente; S, amostra; L, bobina helicoidal; C, carregador; D, detector e W, descarte (Reis, 1996).

3.4.6.1 Sistema em linha única

É o sistema mais simples (Figura 18.a), o qual não apresenta pontos de confluência no percurso analítico, conforme a proposta original em 1975. O fluido carregador é em geral, uma solução quimicamente inerte, cuja função principal é transportar a amostra injetada até a unidade de detecção, promovendo dispersão controlada da amostra e posteriormente lavando o percurso analítico. Eventualmente, o

fluido carregador pode ser uma solução reagente, o qual reage com a amostra devido ao fenômeno de dispersão. Entretanto, nessa situação o reagente não é idealmente utilizado.

Sistemas de linha única são freqüentemente empregados em conexão com espectrometria de absorção atômica, potenciometria, métodos que não requerem adição de reagentes ou naqueles envolvendo alta diluição da amostra (Reis, 1996).

3.4.6.2 Sistema em confluência

A amostra é injetada em um fluido carregador quimicamente inerte, o qual apresenta características matriciais semelhantes à amostra. A adição de reagentes ocorre via pontos de confluência (Figura 18.b).

As limitações dos sistemas em linha única foram resolvidas, adotando-se a adição do reagente por confluência. O reagente adicionado por confluência, logo após o injetor, permite que cada fração da amostra receba a mesma quantidade de reagente. Evidentemente, adição seqüencial de reagentes pode ser conseguida em sistemas em confluência.

A partir da confluência somam-se as vazões do carregador e do reagente, então a amostra é distribuída em um espaço maior que o ocupado anteriormente, o qual corresponde a uma diluição. Neste caso, a amostra ocupa uma alça de amostragem mais longa, e isso aumenta a dispersão. É conveniente que se conheça em que extensão a intensidade do fluxo confluyente afeta a magnitude da medida (Reis, 1996).

3.4.6.3 Sistema com zonas coalescentes

Nestes sistemas, tanto a amostra como o reagente são introduzidos simultaneamente, com sua interação ocorrendo por confluência dos respectivos fluidos carregadores (Figura 18.c).

O emprego de zonas coalescentes leva a uma economia significativa de reagentes, uma vez que o reagente somente é consumido em presença da amostra, sendo

recuperado durante a lavagem do percurso analítico pelos fluidos carregadores. Zonas coalescentes tem sido utilizada ainda, visando: maior estabilidade da linha base com conseqüente melhoria na precisão da medida, determinações simultâneas utilizando um único módulo de análise, síntese de reagentes instáveis fora do percurso analítico, mecanização do método das adições de padrão, verificação do grau de interferência em métodos analíticos sem a necessidade de se preparar um número excessivo de soluções padrão misto, determinação de altas concentrações de espécies químicas sem pré-diluição de amostras (Reis,1996).

3.5 Quimiluminescência

3.5.1 Breve Histórico

A Quimiluminescência é conhecida desde a antiguidade, fenômenos de emissão de luz eram descritos em diferentes culturas e foram por muito tempo associados a mitos e fantasias. Sendo os Gregos (Aristóteles, 384 – 322 A.C) e romanos os primeiros a classificar e relatar as peculiaridades intrínsecas de seres luminosos como peixes abissais, bactérias e fungos bioluminescentes.

Em 1669, o médico Hennig Brand, a partir da destilação exaustiva de uréia com salitre, álcool e areia, produziu fósforo branco que, devido a sua interação oxidativa pelo oxigênio do ar, produzia quimiluminescência (Stevani & Baader, 1999; Albertin *et al.*, 1998).

O primeiro composto orgânico sintético luminescente descrito foi a lofina (2,4,5-trifenilimidazol), obtida em 1887 por Bronislau Radiziszewski que afirmou “a lofina não emite luz quando aquecida” na ausência de oxigênio, mas a sua reação de auto-oxidação é acompanhada por quimiluminescência. A partir destes resultados, em 1888, E. Wiedemann conseguiu distinguir a quimiluminescência da incandescência, definindo incandescência como “a emissão de radiação pelo corpo negro” que não é um processo químico, mas físico e a quimiluminescência como “a emissão de luz que ocorre junto a processos químicos”.

Em 1928, H. O. Albrecht elucida o mecanismo reacional da primeira reação quimiluminescente oxidativa do luminol com peróxido de hidrogênio em meio básico (Albertin *et al.*, 1998).

Além da lofina e do luminol existem outras substâncias como lucigenina, isoluminol, etanodioato de bis (2,4,6-triclorofenila), pirogalol e a luciferina participam também como substratos de reações quimiluminescentes, cujas fórmulas estruturais são apresentadas na Figura 19.

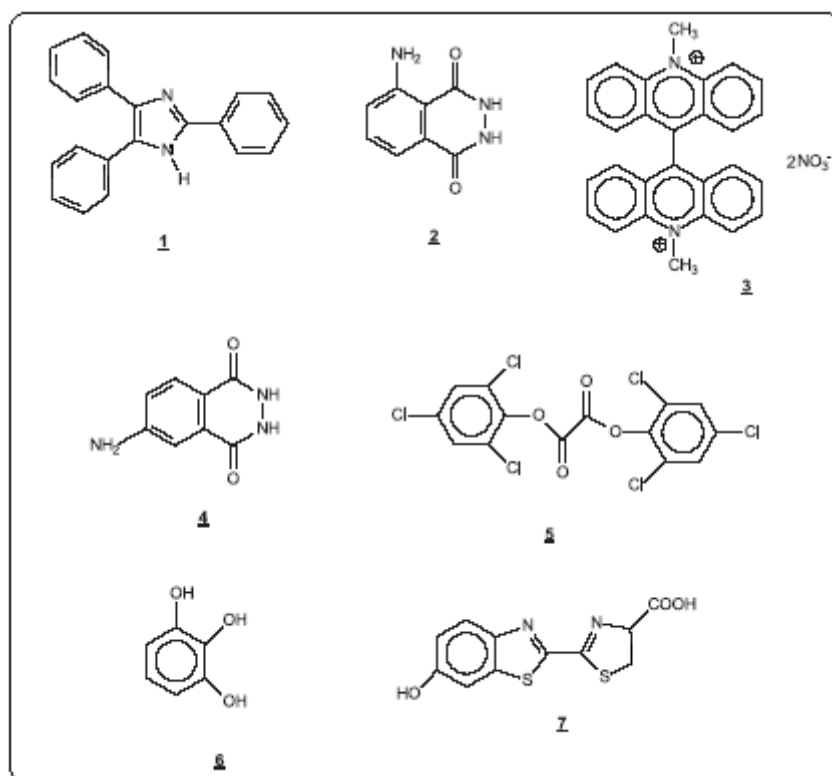


Figura 19. Compostos que participam como substrato de reações quimiluminescentes: lofina, 2. Luminol, 3. Lucigenina, 4. Isoluminol, 5. Etanodioato de bis (2,4,6-triclorofenila), 6. Pirogalol e 7. Luciferina.

3.5.2 Quimiluminescência e Química Analítica

A Quimiluminescência pode ser definida como: processo em que moléculas emitem radiação eletromagnética com comprimentos de onda do ultravioleta ao infravermelho. Diferentemente da maioria das reações que liberam apenas calor, essas reações geram

produtos eletronicamente excitados, que emitem luz quando retornam ao estado fundamental. Tais reações são mais comuns em sistemas biológicos ou dele derivado, onde este fenômeno é denominado de bioluminescência (Albertin, *et al.*, 1998).

As reações quimiluminescentes podem ocorrer em fase sólida, líquida ou gasosa. Esta última tem sido aplicada para determinação de poluentes inorgânicos na atmosfera, explorando reações com compostos de enxofre e de fósforo em chama rica em hidrogênio, ou ainda, reações de óxidos de nitrogênio com ozônio (Stevani & Baader, 1999). Atualmente, as principais aplicações da quimiluminescência como meio de detecção em procedimentos analíticos, utilizam reações em fase líquida em meio aquoso e não-aquoso em matrizes de interesse em diversas áreas como biomédica, toxicológica e ambiental (Ferreira & Rossi, 2002).

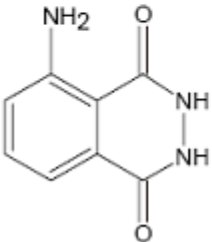
A quimiluminescência destaca-se dos demais métodos devido à ampla faixa de resposta linear em função da concentração. A precisão e a sensibilidade em geral são altas devido à ausência de fonte de radiação externa, reduzindo ou eliminando assim problemas como luz difusa, espalhamento de luz, e ruídos provenientes da fonte. As condições do meio reacional têm uma eficiência significativa na quimiluminescência como o tempo de reação e a duração da radiação emitida que oscilam de períodos curtos em menos de 1 s até períodos mais longo cerca de 1 dia. A mudança de parâmetros experimentais físicos e químicos tais como maneira de mistura dos reagentes, temperatura, concentrações de espécies reacionais ou interferentes, pH entre outros fatores podem alterar na íntegra a emissão, podendo até mesmo extingui-la. Geralmente não necessita de discriminação de comprimentos de onda, a instrumentação necessária para sua implementação é relativamente simples, quando comparada com a de outros métodos ópticos (Ferreira & Rossi, 2002).

Para uma reação ser quimiluminescente, uma molécula no estado excitado deve ser produzida durante o curso da reação. Três fatores essenciais estão associados ao fenômeno: a reação deve ser exotérmica, a fim de gerar energia suficiente para a formação do estado eletrônico excitado; deve existir um caminho de reação para a formação do estado excitado; a molécula no estado eletrônico excitado deve ser capaz de perder energia como um fóton ou capaz de passar esta energia para uma outra molécula ativador (Nery & Baader, 2001).

Se uma molécula ou o seu produto de oxidação for fluorescente, logo existe a possibilidade de sua oxidação gerar quimiluminescência. Mas há várias exceções para este princípio, e geralmente uma reação de quimiluminescência não pode ser prevista.

Portanto a exploração dessas reações na visão da química analítica é restrita a um limitado número de sistemas já estabelecidos, podendo ser destacados as reações com o luminol (5-amino-2,3-diidro-1,4-ftalazinadiona) e as reações com peróxi-oxalatos. (Ferreira & Rossi, 2002).

Tabela 4. Aspectos físico-químicos do luminol.

Fórmula Estrutural	Fórmula Molar	Massa Molecular	Solubilidade	Conservação
	C ₈ H ₇ N ₃ O ₂	177,16 g/mol	Solventes próticos Solventes dipolares apróticos	Em recipiente hermético e opaco.

3.5.3 Síntese e Caracterização do Luminol

O luminol foi primeiramente descrito na literatura em 1928 por H. O. Albrecht e, apesar de ser o composto luminescente mais familiar e com diversas aplicações, seu mecanismo de reação de oxidação não é inteiramente estabelecido. Sua reação com oxidantes fortes, em meio aquoso alcalino, gera uma luminescência azul, com comprimento de onda em torno de 431 nm. O oxidante mais utilizado é o peróxido de hidrogênio e a reação em meio aquoso só ocorre na presença de um catalisador (Ferreira & Rossi, 2002).

Metodologia:

A reação de nitração do anidrido ftálico **1** com uma mistura sulfonítrica forneceu uma mistura dos ácidos 4-nitroftálico e 3-nitroftálico **2**. O ácido 3-nitroftálico **2**, após separação por recristalização, foi convertido no composto 5-nitroftalhidrazina **3** através do aquecimento na presença de sulfato ácido de hidrazina em dietilenoglicol. A posterior redução do composto **3** com estanho e ácido clorídrico concentrado sob aquecimento, forneceu o luminol **4** (5-amino-2,3-diidro-1,4-ftalazinadiona)(Albertin et al., 1998).

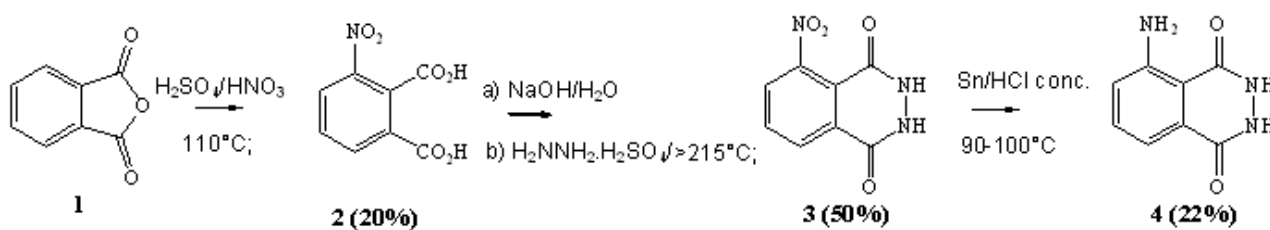


Figura 20. Síntese do luminol a partir de reagentes de baixo custo e acessíveis.

3.5.4 Quimiluminescência na Oxidação do Luminol

A reação quimiluminescente mais utilizada em aplicações analíticas é a oxidação de 5-amino-2,3-diidro-1,4-ftalazidiona (luminol). Além do luminol, é necessário para ocorrência de quimiluminescência um reagente oxidante como o peróxido de hidrogênio, oxigênio molecular ou hipoclorito e geralmente um catalisador. A reação é mais eficiente em meio alcalino, podendo ser realizada em solventes próticos como a água ou solventes apróticos como o dimetilsulfóxido dentre outros. No entanto, o mecanismo da reação é diferente nos dois tipos de solvente. A reação de luminol com peróxido de hidrogênio em água necessita de um catalisador redox; como existe uma grande variedade de metais de transição esse pode ser utilizado com essa finalidade. Este catalisador oxida a base

correspondente do luminol **1** em duas etapas de um elétron para a diazoquinona **2** a qual sofre ataque pelo ânion de peróxido de hidrogênio, formando o endo-peróxido **3**. Este último perde nitrogênio uma molécula muito estável e forma o diânion do ácido 3-aminoftálico estado excitado **4**, o qual decai para o estado fundamental, acompanhado pela emissão de fluorescência do 3-aminoftalato a 431 nm como mostra a figura 25 (Albertin et al., 1998).

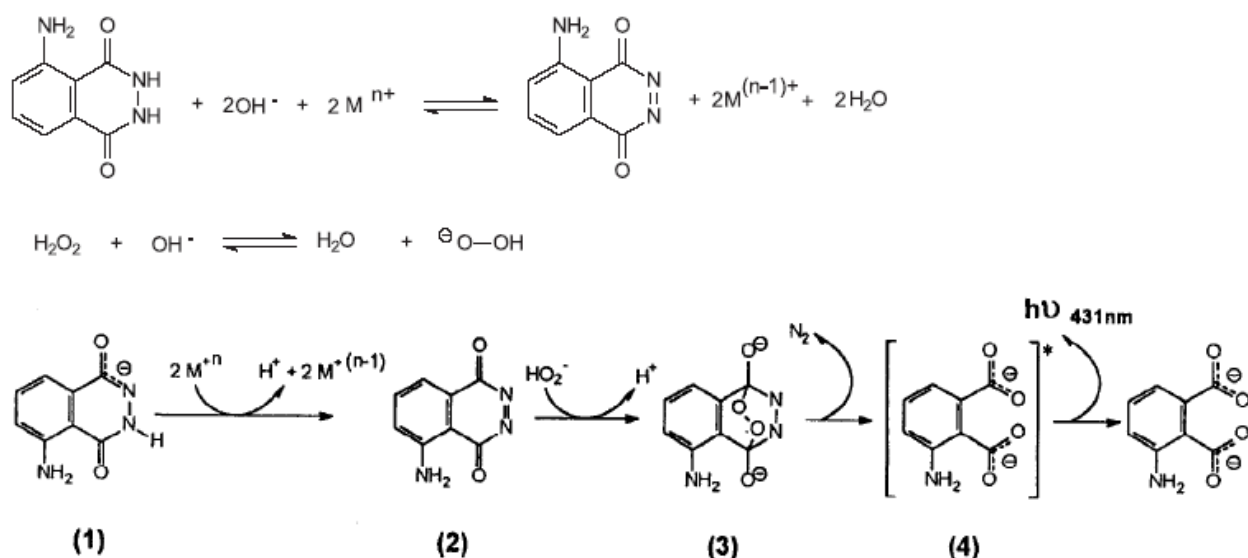


Figura 21. Proposta mecânica de Albertin et al. Para a reação quimiluminescente do luminol em meio alcalino e na presença de um íon de metal de transição (M^{n+}), utilizando o peróxido de hidrogênio como agente oxidante.

3.5.5 Aplicação Analítica da Quimiluminescência do Luminol

As principais aplicações analíticas da quimiluminescência envolvem reações nas quais o analito participa diretamente da reação quimiluminescente como reagente, catalisador ou modificador, há casos nos quais a análise é feita de maneira indireta, isto é, o analito participa da geração ou consumo de espécies que participam da reação. Dentre as principais aplicações analíticas destacam-se as determinações de íons metálicos,

ânions inorgânicos, biomoléculas, substâncias carcinogênicas e drogas em diferentes matrizes ambientais e clínicas, sendo que as análises apresentam resultados bastante precisos e com baixos limites de detecção (Ferreira & Rossi, 2002).

São inúmeras as técnicas analíticas que utilizam a detecção de intensidade de quimiluminescência. As técnicas que mais utilizam a quimiluminescência do luminol são os métodos de análise por injeção em fluxo, inclusive com reagente imobilizado, os métodos de separação cromatográfica e os métodos de imunoenaios. Outras técnicas que recebem destaque são aquelas que utilizam o monitoramento estático de quimiluminescência, biossensores e eletroquimiluminescência (Ferreira & Rossi, 2002).

Sônia Maria da Cruz



CAPÍTULO IV

Pré-concentração e o uso da Sílica-gel
organofuncionalizada como agente
sequestrante para metais

Pré-concentração e o uso da Sílica-gel Organofuncionalizada como agente seqüestrante para metais

4.1 Pré - concentração e Extração em fase sólida

Apesar dos avanços instrumentais ocorridos nas últimas décadas, a determinação dos analitos diretamente na solução da amostra apresenta vários inconvenientes e por isso, o desenvolvimento de metodologias analíticas de separação e pré-concentração da amostra demonstra ser uma área muito promissora (Bianchin, *et al.*, 2008; Stalikas, 2002).

A extração em fase sólida (EFS) é uma técnica muito empregada para extração e/ou pré-concentração de analitos presentes em matrizes complexas. O princípio da EFS envolve a partição do analito entre duas fases, uma fase líquida (amostra) e uma fase sólida (sorvente) (Barrionuevo & Lanças, 2001). A EFS ocorre em 5 etapas: ativação do sorvente para deixar os sítios ativos disponíveis; condicionamento do sorvente com solvente adequado para ajustar as forças do solvente de eluição com o solvente da amostra; introdução da amostra, quando ocorre a retenção do analito e às vezes de alguns interferentes; limpeza da coluna para retirar os interferentes menos retidos que o analito e por fim a eluição do analito (Queiros *et al.*, 2001).

A pré-concentração de analitos em fases sólidas utiliza processos que, primeiramente, envolvem a retenção dos mesmos em materiais adsorventes, ou seja, esse analito é retirado de uma solução diluída passando para a superfície de um material adsorvente.

Posteriormente, a retenção do analito ocorre a eluição do mesmo através da utilização de um solvente apropriado, só que em menor volume, quando comparado com o volume inicial de amostra, desta forma, ocorrendo a pré-concentração.

Mais especificamente é possível dizer que a pré-concentração ocorre quando existem interações de quimiossorção através da formação de ligação iônica originando

processos de troca iônica ou formação de ligação covalente (quelação) entre o adsorvente e adsorbato (Ruthven, 1984).

Utiliza-se o processo de quelação para formar um complexo envolvendo o analito e um ligante, o complexo formado pode ser então pré-concentrado utilizando-se uma coluna preenchida com material adsorvente que retira esse complexo da suspensão incorporando-o temporariamente para posterior eluição com um solvente apropriado (Bianchin, *et al.*, 2008).

Estas diferentes possibilidades permitem uma melhor seletividade para os analitos, possibilitando a separação e a pré-concentração de uma espécie de interesse numa matriz de natureza mais complexa (Queiros *et al.*, 2001).

As principais vantagens da pré-concentração empregando extração em fase sólida são: a concentração do analito é significativamente aumentada, melhorando o limite de detecção; a sensibilidade e/ou a seletividade; separação prévia das espécies interferentes na matriz da amostra; possibilita a automação empregando sistemas em fluxo e diferentes sorventes podem ser utilizados como: resinas poliméricas trocadoras de íons, materiais modificados como: cerâmicas, feltros, membranas contendo grupos quelantes, zeólitas, sílica gel funcionalizada com grupos quelantes como a aminopropilsilano dentre outros sorventes (Prado & Faria, 2005).

4.2 Extração da fase sólida em Sistema de Fluxo

A espectrofotometria UV-vis não apresenta sensibilidade considerável para a quantificação de metais em baixas concentrações, requerendo desta forma, estratégias para melhorar seu desempenho analítico. Para solucionar esta limitação, etapas de pré-concentração têm sido empregadas com êxito ao longo dos anos.

A fácil adaptação de mini-coluna para pré-concentração em sistema em fluxo recebeu grande destaque devido à facilidade operacional em relação às demais técnicas e à robustez dos equipamentos (Facchin & Pasquini, 1997).

No Sistema de Análise por Injeção em Fluxo (FIA), um volume adequado da solução da amostra em condições previamente otimizadas, é injetada no sistema através de uma bomba peristáltica. A espécie analítica presente na amostra ao passar pela mini-coluna preenchida por sílica gel é extraída pelos sítios ativos do material extrator e a quantidade de analito retido na coluna é proporcional à vazão da amostra e ao tempo de pré-concentração. O analito é extraído da mini-coluna com o auxílio de um eluente apropriado, onde a solução resultante contendo o analito é deslocado até um detector e o sinal analítico é monitorado (Bianchin *et al.*, 2008).

O uso de mini-coluna (como pode ser vista na Figura 22) é um procedimento utilizado para a extração de elementos traços em vários tipos de amostras. As vantagens mais importantes deste método são a fácil adaptação em sistema de pré-concentração em linha, o uso de pequenas quantidades de eluente e a disponibilidade de vários sorventes (Bianchin *et al.*, 2008).

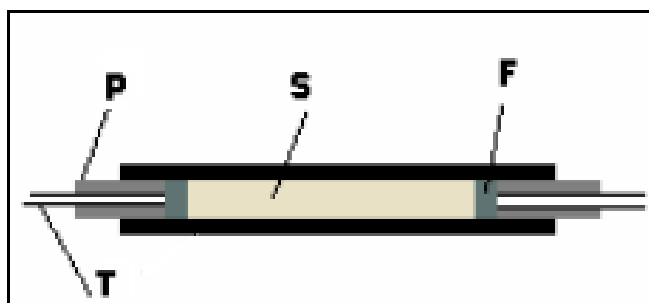


Figura 22. Diagrama esquemático de uma mini-coluna típica onde: T é o tubo de Tygon e P é o tubo de polietileno usado como conexão, S é o material sorvente, F é o filtro (lã de vidro).

4.3 Fundamentos da Adsorção

A adsorção é definida como sendo um processo de transferência de massa no qual uma ou mais substâncias (adsorvato) presente em uma corrente gasosa ou líquida é transferida de forma seletiva para a superfície de um sólido poroso (adsorvente). Chama-se de adsorvente a fase que adsorve e de adsorvato, o material concentrado ou adsorvido (Alves, 2007).

A adsorção está intimamente ligada à tensão superficial das soluções e a intensidade deste fenômeno depende da temperatura, da natureza e da concentração da substância adsorvida, da natureza e estado de agregação do adsorvente (o sólido finamente dividido) e do fluido em contato com o adsorvente (o adsorvato) (Ruthven, 1984).

Levando-se em conta que a tensão superficial é um fenômeno de superfície, então a influência do soluto na tensão superficial de uma solução dependerá da maior ou menor concentração deste soluto na superfície da solução. Quanto maior a presença de soluto na superfície da solução, menor a tensão superficial da solução e mais facilmente o soluto será adsorvido pelo sólido. Se for o inverso, quanto menor a concentração do soluto na superfície da solução, maior a tensão superficial e dificilmente o soluto será adsorvido pelo sólido. Desta forma, quanto maior for a tendência de um soluto em diminuir a tensão superficial, maior será a tendência do mesmo em se dirigir a superfície da solução (Ruthven, 1984).

Na prática, porém, não se faz necessária a presença de um sólido adsorvente para que se possa dizer que está havendo adsorção. O fato de o soluto ter a capacidade de diminuir a tensão superficial da solução em relação à do solvente puro já faz com que ele possua tendência espontânea de dirigir-se para a superfície da solução, e só esse simples fato já caracteriza o fenômeno de adsorção. Então, o soluto está sendo adsorvido pela superfície da solução.

No campo da sorção sólida, podem-se distinguir os processos químicos e físicos, dependendo da natureza das forças que provocam a adsorção.

A adsorção química, ou quimissorção, é assim denominada porque neste processo envolve a transferência ou compartilhamento de elétrons entre o adsorvato e o adsorvente, como em compostos químicos. Como uma reação química ocorre entre o adsorvato e o adsorvente, um novo composto é formado na superfície do sólido. A ligação de uma substância quimissorvida sobre a superfície do adsorvente é em geral muito forte o que torna o processo praticamente irreversível. Assim a substância quimissorvida não pode retornar a condição inicial através da dessorção, seja pelo aumento da temperatura ou pela diminuição da pressão do sistema. Durante a quimissorção as moléculas das substâncias removidas são ligadas à superfície do sólido de modo que somente a camada superficial reage e as camadas internas do adsorvente permanecem inutilizadas (Ruthven, 1997).

A adsorção física, de acordo com Bretschneider e Kurfurst (1987), ocorre quando as moléculas de uma substância são retidas na superfície de um sólido adsorvente, devido à existência de forças físicas, em especial as de Van der Waals (dipolo-dipolo, dipolo induzido-dipolo e dispersão), sem a ocorrência de reação química. Neste tipo de adsorção, a superfície do adsorvente é coberta com uma camada de moléculas do adsorvato e sobre esta camada outras podem ser depositadas. Este tipo de fenômeno é muito rápido e permite a recuperação do adsorvato através do processo inverso (dessorção), por diminuição da pressão ou aumento da temperatura do sistema, permitindo assim a recuperação do adsorvato e regeneração do adsorvente para posterior reutilização. Segundo Rousseau (1987), a recuperação do adsorvato através da dessorção é possível porque na física as forças de atração envolvidas são mais fracas que as ligações químicas.

Na adsorção, a escolha do sólido adsorvente é um ponto determinante para se alcançar alta eficiência no processo. Em geral, todo material sólido tem alguma capacidade de adsorção. Entretanto, existem poucos sólidos que possuem propriedades adequadas para serem usados com adsorventes, em processos industriais de separação ou no tratamento de efluentes (Heumann, 1997).

4.3.1 – Materiais adsorventes mais utilizados

De uma maneira geral, um bom adsorvente deve aliar características como baixo custo, seletividade, alta área superficial interna, resistência mecânica, etc.

Como a adsorção é um fenômeno essencialmente de superfície e para que um adsorvente tenha uma capacidade adsorptiva significativa esse deve apresentar uma grande área superficial específica, o que implica em uma estrutura altamente porosa. As propriedades adsorptivas dependem do tamanho dos poros, da distribuição do tamanho dos poros e da natureza da superfície sólida. Adsorventes comerciais mais utilizados atualmente são: zeólitas, o carvão ativado sendo o mais comumente utilizado, a sílica-gel, a alumina ativada e as peneiras moleculares (Ruthven, 2000).

Os adsorventes amorfos como: carvão ativado, sílica-gel e alumina – apresentam áreas específicas entre 200-1000m²/g, e uma faixa de distribuição de tamanho de poros bem ampla, enquanto que as peneiras moleculares, por serem materiais cristalinos apresentam um tamanho de poros de ordem de grandeza molecular definido pela estrutura cristalina, e que praticamente não varia.

4.3.2 Equilíbrio de Adsorção

A tecnologia de adsorção exige certo conhecimento tanto dos processos de equilíbrio como dos cinéticos.

O tempo necessário para que o sistema atinja o equilíbrio é o primeiro passo para a investigação do comportamento deste, e pode ser verificado através do estudo da cinética da adsorção.

O comportamento do sistema em equilíbrio pode ser investigado através das isotermas de adsorção.

Para elucidar o processo adsorptivo, diversas equações de estado foram propostas para descrever o equilíbrio termodinâmico, denominado isotermas de

adsorção, que correlaciona à temperatura, a pressão e a concentração da fase adsorvida (massa adsorvida/massa de adsorvente) em um sistema fechado. As teorias básicas mais conhecidas são: **Lei de Henry**, válida para processos adsorptivos de baixa concentração em uma superfície uniforme, onde o equilíbrio entre a concentração do fluido e da fase adsorvida pode ser considerado linear; **Modelo de Langmuir**, que considera o processo de adsorção em camadas monomoleculares e em equilíbrio dinâmico, ou seja, a taxa de adsorção das moléculas é igual à taxa de dessorção na superfície; **Teoria de Gibbs**; que se baseia na lei dos gases ideais, na qual o adsorvato é tratado como microscópio e bidimensional, ou seja, o volume é trocado pela superfície e a pressão pela, então chamada, pressão bidimensional (Ruthven, 1997).

4.3.3 Cinética de Adsorção

Depois de conhecido o equilíbrio de adsorção entre os componentes da mistura a ser separado, o próximo passo para a modelagem e projeto de tal processo é conhecer as resistências à transferência de massa na partícula do adsorvente.

Um adsorvente poroso em contato com uma fase fluida pode apresentar três diferentes resistências de massa: resistência no filme externo à partícula, resistência à difusão nos macroporos e resistência à difusão nos microporos. Dependendo das características de cada sistema particular, uma destas resistências pode ser dominante, sendo as demais desprezíveis, ou pode ter-se a necessidade de considerar uma combinação de tais fatores (Ruthven, 1984).

A resistência à transferência de massa no fluido externo relaciona-se com as características hidrodinâmicas do sistema, que determinam a camada laminar que envolve a partícula sólida. Na região macroporos os mecanismos de difusão podem ser diversos, entre os quais: difusão molecular, difusão Knudsen, difusão na superfície e fluxo Poiseuille. Em fase gasosa a difusão Knudsen e a difusão na superfície são os mecanismos dominantes, enquanto que em fase líquida a difusão molecular parece ser a mais importante (Ruthven, 1984). A difusão nos microporos esta associada com

efeitos estéricos e interações de campo potencial entre a molécula e os canais microporos que tomam a mesma ordem de grandeza. São vários métodos experimentais e/ ou correlações existem na literatura para estimular parâmetros de transporte de massa. Deve-se ter um conhecimento prévio das características do sistema que se está trabalhando para que tais efeitos de resistência a transferência de massa possam ser avaliados. É comum em sistemas reais agrupar os efeitos acima em uma única constante de transferência de massa, considerando-se resistências em série.

4.4 Aspectos gerais: Sílica gel

Nos últimos anos, o estudo das propriedades de superfície de sólidos inorgânicos, principalmente dos porosos, tem aumentado consideravelmente. Vários trabalhos vêm sendo desenvolvidos visando modificar a superfície de sólidos, com o objetivo de dotá-los de propriedades específicas. O que atrai os pesquisadores em modificar a superfície de um sólido, aparentemente inerte, é aproveitar-se dessas propriedades físicas e químicas específicas, tornando possível que se utilizem essas matrizes sólidas modificadas em diversas aplicações tecnológicas (Sousa *et al.*, 2007).

O interesse nesses materiais é devido a diversidade de aplicações encontradas nos diversos campos da ciência como a pré-concentração de traços; catálise; separação cromatográfica; troca iônica; biotecnologia; indústria de vidro entre outras áreas (Arakaki e Airoidi, 1999).

Os sólidos utilizados como suportes nas modificações envolvem materiais orgânicos, como celulose e quitosana, e inorgânicos como o vidro, a argila e a sílica.

Dentre os mais variados materiais porosos, grande atenção está sendo dada à sílica gel funcionalizada com grupos que apresentam caráter ligante. A imobilização desses grupos geralmente é efetuada através da reação entre os grupos silanóis (Si-OH) da superfície da sílica e os compostos orgânicos derivados de alquil/aryltrimetóxisilano. Um dos procedimentos mais comuns nessas modificações é a reação química com organossilanos (X_3SiR), onde R é um radical orgânico contendo

grupos funcionais com características específicas, e X é o grupo $-\text{OC}_2\text{H}_5$ ou $-\text{OCH}_3$ (Arakaki e Airoidi, 1999). Tanto a qualidade como a durabilidade desses materiais silanizados dependem da natureza da ligação dos organossilanos com as superfícies, e as suas propriedades determinam as possíveis aplicações já mencionadas.

As modificações ocorrem na superfície da sílica-gel de acordo com os grupos funcionais existentes no material de origem, no caso os grupos hidroxilas (Airoidi e Farias, 2000).

Entre os materiais obtidos da modificação da superfície da sílica-gel, os mais estudados e usados em maior escala, possuem moléculas orgânicas dispostas em uma monocamada sobre a superfície, estando estas moléculas ligadas covalentemente ao suporte.

Os adsorventes inorgânicos modificados vêm ganhando destaque devido ao fato físico de apresentarem características cinéticas mais favoráveis e estabilidade termodinâmica superior aos adsorventes inorgânicos. Dentre esses adsorventes, a sílica-gel modificada quimicamente com compostos orgânicos tem sido objeto de muita pesquisa por apresentar-se sob uma grande variedade, com diferentes áreas superficiais e diâmetros de poros, além de possuir certa facilidade no que se refere às suas modificações químicas de superfícies. Por esse motivo, e diante da diversidade desses materiais, as investigações das características químicas desse sorbente, tanto em meio aquoso como não aquoso, e a elucidação das muitas leis que ministram os processos de quimissorção com a participação dos centros da sílica-gel, são de grande importância (Airoidi e Farias, 2000).

Outra aplicação dos compostos de silício são os zeólitos, uma subclasse de peneiras moleculares, que são exemplos de aluminossilicatos com grande importância, já que podem ser utilizados amplamente como catalisadores heterogêneos.

A sílica gel é um polímero inorgânico, constituído de grupos siloxanos (Si-O-Si) em seu interior e de grupos silanóis (Si-OH) em sua superfície.

Como a superfície da sílica gel (SiO_2) é recoberta por grupos silanóis, que são responsáveis pelo comportamento químico de sua superfície, estes, exercem importante função nos processos de adsorção.

A presença destes grupos silanóis foi detectada pela primeira vez em 1936 por Kiselev. Muitos estudos foram desenvolvidos, no intuito de se verificar o número de

grupos presentes na superfície da sílica gel, representado por α_{OH} , que normalmente é expresso por unidade de área superficial em nm^2 .

Zhuravlev, ao estudar amostras de sílica, utilizando o método de troca de deutério acoplado à espectrometria de massa, chegou a um valor aproximado de α_{OH} que é $5,0 \text{ OH}/\text{nm}^2$. Este valor é considerado como uma constante físico-química da sílica, uma vez que este resultado independente da origem do material ou das suas características estruturais, como área superficial, tipos de poros, empacotamento das partículas e tamanho dos poros. Este valor é confirmado pela gravimetria (Farias & Airoidi, 2000).

Um dos principais fatores determinantes da reatividade da superfície da sílica é a distribuição dos grupos silanóis que não se apresenta de forma regular, cuja representação esquemática de distribuição aleatória pode ser vista na Figura 23, gerando uma irregularidade na densidade eletrônica, acarretando um comportamento ácido, conhecido como ácido de Brønsted, cuja acidez exibe um $\text{p}K_a \sim 7$. Os sítios ácidos assim formados são responsáveis pelo controle de reatividade que ocorre na superfície da sílica (Farias & Airoidi, 2000).

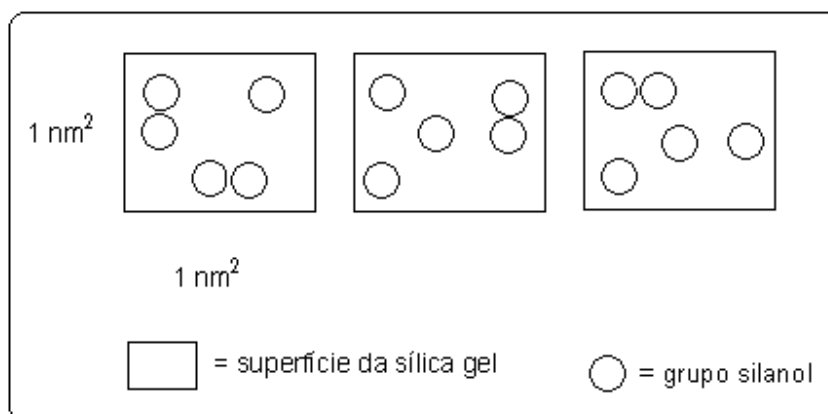


Figura 23. Distribuição de grupos silanóis na superfície de 1 nm^2 de sílica.

4.5 Modificações da superfície da sílica gel

As modificações da superfície da sílica gel através de ligação química envolvem uma reação entre este material, através da reatividade química dos grupos silanóis e um agente modificador adequado. Essas reações com agentes modificadores envolvem em geral, moléculas de organossilanos (alcoxissilanos e clorossilanos). Esta reação de silanização da superfície possibilita a introdução de moléculas orgânicas, que possuem grupos funcionais coordenantes. Neste trabalho foi realizada reação de modificação da superfície da sílica gel, utilizando como agente modificador (agente sililante) a molécula 3-aminopropiltrimetoxissilano. Na reação entre aminopropiltriétoxissilano (APTES), que é um dos agentes sililantes mais utilizados com sílica, uma monocamada é formada pela rápida adsorção de moléculas do silano na superfície, independente da concentração inicial de APTES, sendo que cada molécula deste agente sililante cobre uma área de $0,64 \text{ nm}^2$ (Farias & Airoidi, 2000).

Aminas e compostos de estanho são catalisadores para a reação de alcoxissilanos com superfícies de minerais. Silanos aminofuncionais são auto-catalisadores, mas alcoxissilanos não aminados são mais facilmente ligados na presença de pequenas quantidades de amina orgânica ou de um organossilano aminofuncional.

Alguns cuidados devem ser tomados na ativação da sílica, pois a temperatura acima de 200°C (473K) os grupos silanóis se condensam formando os grupos siloxanos (Airoidi e Farias, 2000; Sousa *et. al.*, 2007).

À baixa temperatura de pré-tratamento a superfície da sílica apresenta uma pequena quantidade de grupos silanóis, mas aquecendo-se até cerca de 700°C , a superfície passa a ser formada basicamente por hidroxilas livres, sendo que, acima de 800°C , a condensação dos silanóis é irreversível.

Os grupos silanóis, para a maior parte das moléculas adsorvidas, costumam apresentarem-se como sítios de adsorção mais fortes, e às baixas pressões, estes sítios são responsáveis pela maior parte dos processos de adsorção ocorridos. Os siloxanos também podem mostrar-se reativos em alguns tipos de reações, como na

adsorção dissociativa do diborano, B_2H_6 , sendo que após essa adsorção do diborano nos grupos siloxanos, o borano reage com os silanóis da sílica liberando hidrogênio (Farias & Airoidi, 2000).

Pode-se preparar sílica gel pura, dopada ou funcionalizada, através do método sol-gel, podendo-se controlar o diâmetro das esferas e área superficial da sílica obtida. Pode-se também preparar sílica partindo de soluções supersaturadas de ácido silícico. A desidratação ou presença de moléculas quimissorvidas, exercem um efeito que fica evidenciado nas propriedades da sílica gel (Arakaki & Airoidi, 1999).

Na reação de modificação da superfície da sílica gel, o agente modificador, genericamente representado por $(RO)_3Si(CH_2)_3X$, sendo R um radical alquila e X representa uma função orgânica do tipo Cl, SH, NH_2 , NCO, $NH(CH_2)_2$, dentre outros, pode ligar-se aos grupos silanóis de diferentes maneiras, formando ligações monodentada, bidentadas ou tridentadas, conforme pode ser visto na figura 26. No entanto as formas mais comuns de ligação são do tipo mono e bidentadas (Airoidi & Farias, 2000).

Os suportes inorgânicos sintéticos ou naturais contêm dispersos por toda superfície uma elevada densidade de grupos silanóis sensíveis ao efeito de reação que pode provocar o agente sililante. Desta forma, a sílica gel provinda de várias fontes sintéticas é uma das superfícies inorgânicas mais extensivamente investigadas. A esse fato que impulsionou o notável avanço no campo da imobilização, superando facilmente os demais materiais inorgânicos (Arakaki e Airoidi, 1999).

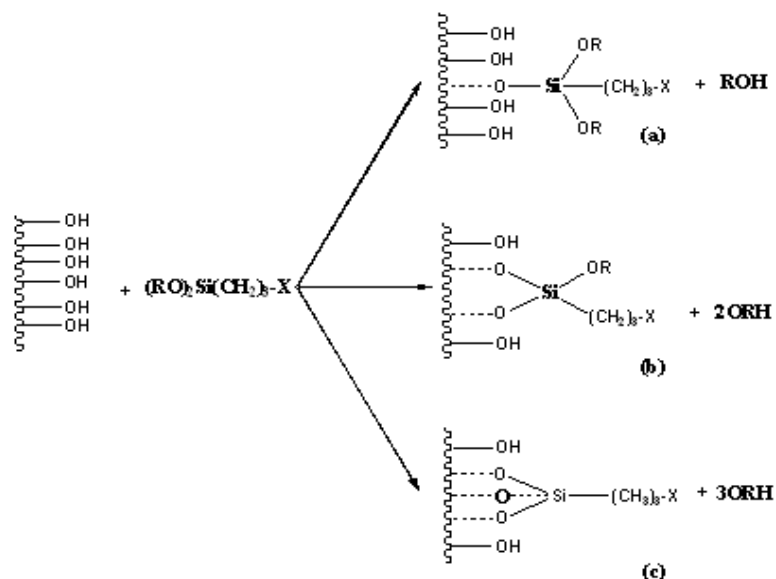


Figura 24. Diferentes formas de ancoramento dos organossilanos na superfície de um suporte contendo grupos silanóis: a) monodentados; b) bidentados e c) tridentados. Onde o X representa o grupo funcional pendente na cadeia do organossilano e R representa o grupo alcóxido.

4.6 Vantagens do uso da sílica organofuncionalizados

A sílica gel (SiO_2) está entre os adsorventes inorgânicos mais utilizados. A vantagem do uso da sílica é ser térmica e mecanicamente estável, podendo ser submetida a altas pressões sem danificar sua estrutura. Uma outra vantagem é o fato de ser disponível comercialmente com alto grau de pureza, a custos relativamente baixos e ter dimensões de áreas e poros variados. Isso vem a facilitar a obtenção de sílicas quimicamente modificadas com os mais variados grupos funcionais.

A utilização de sílica gel como suporte para imobilizar grupos organofuncionais apresenta algumas vantagens quando comprada com os suportes orgânicos. Podem-se destacar alguns aspectos, como: i) a sílica pode ser modificada por uma variedade de agentes sililantes; ii) os grupos organofuncionais ancorados na sílica reagem mais rapidamente do que quando ancorados em suportes orgânicos; iii) a sílica tem pequena

tendência ao inchamento, quando comparado aos suportes orgânicos poliméricos; iv) a sílica organofuncionalizada possui uma elevada estabilidade térmica, mecânica e resistência à radiação.

Essas propriedades são importantes para a aplicação específica do material para fins analíticos, como a sorção de metais, cromatografia, troca iônica, entre outros (Arakaki & Airoidi, 1999).

4.7 Materiais modificados organofuncionalizados: Aplicações

O desenvolvimento do campo de síntese de novos agentes sililantes impulsionou o processo de organofuncionalização da superfície de sílica gel, sendo envolvida uma variedade de funções orgânicas inseridas nas cadeias e ancoradas covalentemente ao suporte (Arakaki & Airoidi, 1999).

A presença de centros nucleofílicos nos agentes sililantes confere à superfície da sílica organofuncionalizada a capacidade de seqüestrar metais, uso em catálise, como trocador de íons, aplicação em cromatografia, aplicação industrial, como exemplo separação de misturas, processos catalíticos, purificação da água e tratamento de efluentes industriais, entre outros processos.

Entre os agentes sililantes mais simples, o 3-mercaptopropiltrimetoxissilano tem sido muito utilizado na adsorção de cátions. Porém as sílicas ancoradas com o cloropropil e o aminopropil são mais amplamente utilizados pelas facilidades em ampliar não só a cadeia orgânica, como também em aumentar o número de centros básicos nas mesmas (Airoidi & Farias, 2000).

4.8 Imobilização de cátions

Uma aplicação bastante importante está direcionada em modificar a superfície de um suporte com grupos funcionais com características quelantes para a pré-concentração de metais. O procedimento consiste em percolar a solução que contém os íons a serem analisados numa coluna contendo a sílica funcionalizada ou dispersar o suporte na solução contendo os íons sob agitação. A etapa seguinte é a análise dos íons retidos que pode ser feita através de espectrofotometria de absorção atômica ou ainda por titulação complexométrica com EDTA (Arakaki, *et al.*, 2002).

A imobilização de cátions metálicos sobre a superfície da sílica gel ocorre quando este suporte tem a sua superfície modificada, geralmente através de processos sucessivos de reações dotados de características especiais.

O uso de amins primárias ligadas covalentemente à superfície da sílica gel desperta bastante interesse devido às possíveis e subseqüentes reações que podem ser feitas no intuito de conferir mais especificidade à sílica gel. A sílica modificada com grupo orgânico, no caso aminopropiltrimetoxissilano – APTES confere à superfície a capacidade de sequestrar metais devido à presença do par de elétrons livres do átomo de nitrogênio. A mais essa superfície pode sofrer reações subseqüentes substituintes nucleofílicas, com a finalidade de aumentar essa capacidade de adsorção de metais (Espínola *et al.*, 2002).

Objetivos

OBJETIVO GERAL

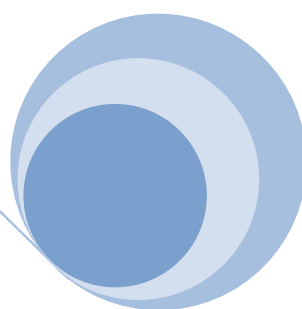
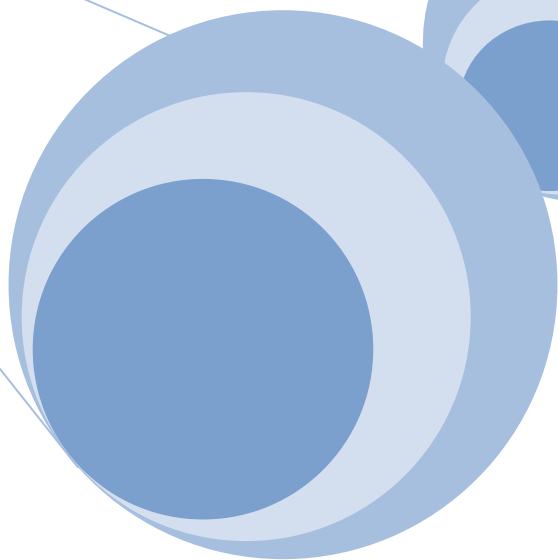
Desenvolver uma metodologia analítica alternativa a metodologia oficial sugerido pela AOAC para determinação do teor de cobre (II) em amostra de cachaça usando pré-concentração em mini-coluna com sílica organofuncionalizada, associado a FIA com detecção Quimiluminescente.

OBJETIVOS ESPECÍFICOS

Analisar a estabilidade do sinal do luminol, reagente quimiluminescente nas condições experimentais para obtenção de maior sensibilidade, vida útil do reagente e a obtenção da curva analítica;

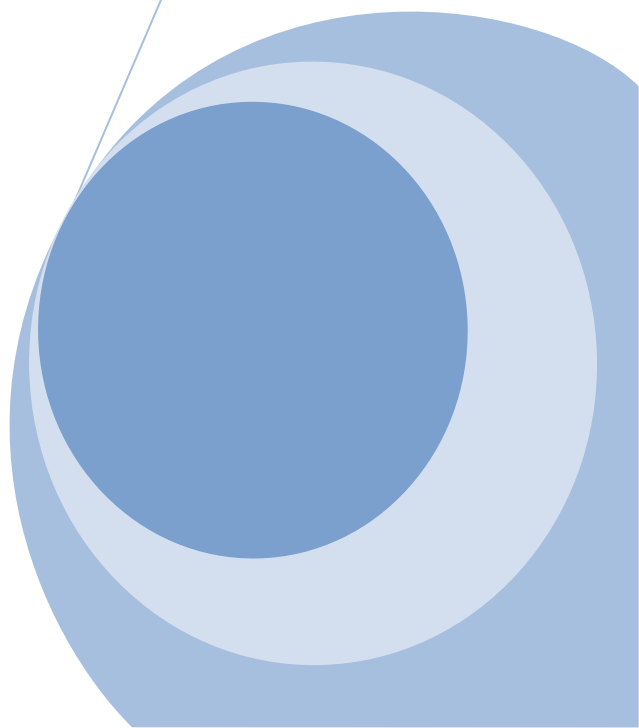
O estudo da variação da eficiência da sílica 3-aminopropiltrimetoxissilano (APTES) em cachaça, otimizando o tempo de pré-concentração, a vazão com a pré-concentração do eluente e da solução transportadora e suas influências no sinal analítico, o volume do eluente injetado e obtenção da curva analítica.

Sônia Maria da Cruz



CAPÍTULO V

Metodologia Experimental



Metodologia Experimental

5.1 Equipamentos e Acessórios:

- Espectrofotômetro Fento 600 S;
- Cella de fluxo em espiral;
- Tubos de bombeamento Tygon® de: 0,76; 1,30 e 1,52 mm de diâmetro interno;
- Pipetas Eppendorf de volume variável;
- Ponteiros de pipetas Eppendorf;
- Balança analítica MICRONAL MARK 200;
- Bomba peristáltica ISMATEC DIGITAL com 8 roletes;
- pHmetro MARTE MARK 2000;
- Vidrarias em geral;
- Espátulas de aço inox.

5.2 Reagentes e Soluções

Todos os reagentes utilizados são de grau analítico, P. A., da Vetec e as soluções foram preparadas com água destilada devido à indisponibilidade da água mais pura como a deionizada para análise, pois a água pura minimiza o efeito de interferência, contudo, a análise do sinal obtido pelo uso das soluções sem a presença do analito (branco) não apresentou valores detectáveis.

5.2.1 Reagentes utilizados no experimento

1. Ácido clorídrico concentrado, HCl, MM = 36,46 g mol⁻¹;
2. Álcool etílico, C₂H₅OH, MM = 46,07 g mol⁻¹;
3. Bicarbonato de sódio, NaHCO₃, MM = 84,01 g mol⁻¹;
4. Carbonato de sódio, Na₂CO₃, MM = 105,99 g mol⁻¹;
5. Cloreto de amônio, NH₄Cl, MM = 53,49 g mol⁻¹;
6. Cloreto de ferro (III) hexa hidratado, FeCl₃. 6H₂O, MM = 270,30 g mol⁻¹;
7. Cloreto de potássio, KCl, MM = 74,56 g mol⁻¹;
8. Cloreto de sódio, NaCl, MM = 58,44 g mol⁻¹;
9. Hidróxido de amônio, NH₄OH, MM = 35,05 g mol⁻¹;
10. Luminol, C₈H₇N₃O₂, MM = 177,16 g mol⁻¹;
11. Nitrato de níquel hexa hidratado, NiSO₄. 6H₂O, MM= 262,86 g mol⁻¹;
12. Nitrato de sódio, NaNO₃, MM = 84,99 g mol⁻¹;
13. Sulfato de amônio, (NH₄)₂SO₄, MM = 132,14 g mol⁻¹;
14. Sulfato de cobre penta hidratado, CuSO₄.5H₂O, MM = 249,69 g mol⁻¹;
15. Sulfato de cromo (III) Básico, Cr₄(SO₄)(OH)₂, MM = 722,31 g mol⁻¹;
16. Sulfato de ferro (II) hepta hidratado, FeSO₄. 7H₂O, MM = 272,02 g mol⁻¹.

5.2.2 Preparo das soluções para o estudo de otimização do sistema de análise da amostra real

- **Solução hidroalcoólica estoque de íons Cu (II) 500,00 mg L⁻¹:**

A solução estoque foi preparada a partir da dissolução de 1,9646g de sulfato de cobre pentahidratado em 200mL de álcool etílico e o volume final completado com água destilada, obtendo-se solução com concentração de cobre de 500 mg L⁻¹ e teor alcoólico de 40% em volume a 25°C. A partir da solução estoque foram preparadas as soluções-trabalho pela diluição com solução hidroalcoólica a 40% em volume a temperatura ambiente. A solução foi armazenada em frasco âmbar, sob temperatura ambiente.

- **Solução eluente hidroalcoólica (30% v/v) de ácido clorídrico 0,5 mol L⁻¹:**

A solução foi preparada por adição de 8,30 mL ácido clorídrico concentrado, densidade ($d = 1,18 \text{ g mL}^{-1}$) e 36,5% (m/m) em banho com gelo, em balão volumétrico contendo 100 mL de água destilada e, após resfriamento, foi ajustado com 60 mL de álcool etílico P. A., sendo completado com água destilada para 200,00 mL. A solução foi armazenada em frasco de âmbar, sob temperatura ambiente.

- **Solução estoque de peróxido de hidrogênio 1,0 mol L⁻¹:**

Preparada por adição de 10 mL de peróxido de hidrogênio concentrado, $MM = 34,01 \text{ mol L}^{-1}$, $d = 1,11 \text{ Kg L}^{-1}$ e 35 % (m/m) em balão volumétrico e ajustado com água destilada para 100,00 mL. As outras soluções de concentrações mais

baixas foram preparadas a partir da solução estoque após diluição. A solução foi armazenada em frasco âmbar, sob temperatura ambiente.

● **Solução tampão amoniacal $\text{NH}_4\text{OH}/ \text{NH}_4\text{Cl}$ $0,1 \text{ mol L}^{-1}$, pH 9,26:**

A solução tampão foi preparada por adição de 6,75 mL de NH_4OH (da Vetec) concentrado e 5,350 g de NH_4Cl em balão volumétrico contendo aproximadamente 900 mL de água destilada que após ajuste do pH da solução feito com o auxílio de um pHmetro fazendo a correção com algumas gotas da base concentrada NH_4OH , a solução tampão teve seu menisco ajustado com água destilada para 1000,00 mL. A solução foi armazenada em frasco de âmbar sob temperatura ambiente.

● **Solução tamponada de luminol 1 mM :**

A solução tamponada de luminol foi preparada por adição de 0,0355 g de luminol MP Biomedicals, LLC em balão volumétrico contendo um pouco da solução tampão amoniacal. Após a dissolução foi ajustada com a solução tampão para 200,00 mL. A solução foi armazenada em frasco âmbar, sob temperatura ambiente.

● **Solução Carbonato de sódio $0,1 \text{ mol L}^{-1}$, pH 9,5:**

Preparada por adição de 2,1198 g de Na_2CO_3 em balão volumétrico contendo aproximadamente 150 mL de água destilada para dissolver o sal. Após a dissolução com o auxílio do pHmetro foi ajustado o pH da solução fazendo a adição com algumas gotas de ácido clorídrico concentrado até o pH da mesma estabilizar em 9,5. Posteriormente, ajustado o menisco com água destilada para 200,00 mL.

5.2.3 Preparo das soluções para o estudo de íons interferentes:

- **Solução estoque de NH_4Cl contendo $500,00 \text{ mg L}^{-1}$ em íons Cl^- :**

Preparada a partir da pesagem de 0,0754 g de NH_4Cl seguida de dissolução em água destilada e ajusta para 100,00 mL com solução hidroalcoólica (40% v/v). A solução foi armazenada em frasco âmbar, sob temperatura ambiente.

- **Solução estoque de NaNO_3 contendo $500,00 \text{ mg L}^{-1}$ em íons NO_3^- :**

Obtida a partir da pesagem de 0,0685 g de NaNO_3 seguido de dissolução em solução hidroalcoólica (40% v/v) e ajustado para 100,00 mL em balão volumétrico. A solução foi armazenada em frasco de âmbar, sob temperatura ambiente.

- **Solução estoque de $(\text{NH}_4)_2\text{SO}_4$ contendo $500,00 \text{ mg L}^{-1}$ em íons SO_4^{2-} :**

Preparada a partir da pesagem de 0,0687 g de $(\text{NH}_4)_2\text{SO}_4$ seguido de dissolução em solução hidroalcoólica (40% v/v) e o volume final ajustado com a solução para 100,00 mL em balão volumétrico. A solução foi armazenada em frasco âmbar, sob temperatura ambiente.

- **Solução estoque de Na_2CO_3 contendo $500,00 \text{ mg L}^{-1}$ em íons CO_3^{2-} :**

Preparada a partir da pesagem de 0,0883 g de Na_2CO_3 seguido de dissolução em solução hidroalcoólica (40% v/v) e ajustado para 100,00 mL com em

balão volumétrico. A solução foi armazenada em frasco âmbar, sob temperatura ambiente.

• **Solução estoque de NaHCO_3 contendo $500,00 \text{ mg L}^{-1}$ em íons HCO_3^- :**

Preparada a partir da pesagem de 0,0688 g de NaHCO_3 seguido de dissolução em solução hidroalcoólica (40% v/v) e ajustado para 100,00 mL em balão volumétrico. A solução foi armazenada em frasco âmbar, sob temperatura ambiente.

• **Solução estoque de NaCl contendo $500,00 \text{ mg L}^{-1}$ em íons Na^+ :**

Preparada a partir da pesagem de 0,1271 g de NaCl seguido de dissolução em solução hidroalcoólica (40% v/v) e ajustado para 100,00 mL em balão volumétrico. A solução foi armazenada em frasco âmbar, sob temperatura ambiente.

• **Solução estoque de KCl contendo $500,00 \text{ mg L}^{-1}$ em íons K^+ :**

Preparada a partir da pesagem de 0,0953 g de KCl seguido de dissolução em solução hidroalcoólica (40% v/v) e ajustado para 100,00 mL em balão volumétrico. A solução foi armazenada em frasco âmbar, sob temperatura ambiente.

• **Solução estoque de $\text{FeSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$ contendo $500,00 \text{ mg L}^{-1}$ em íons Fe^{2+} :**

Preparada a partir da pesagem de 0,2435 g de $\text{FeSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$ seguido de dissolução em solução hidroalcoólica (40% v/v) e ajustado para 100,00 mL em

balão volumétrico. A solução foi armazenada em frasco âmbar, sob temperatura ambiente.

• **Solução estoque de $\text{FeCl}_3 \cdot 6\text{H}_2\text{O}$ contendo $500,00 \text{ mg L}^{-1}$ em íons Fe^{3+} :**

Preparada a partir da pesagem de 0, 2420 g de $\text{FeCl}_3 \cdot 6\text{H}_2\text{O}$ seguido de dissolução em solução hidroalcoólica (40% v/v) e ajustado para 100,00 mL em balão volumétrico. A solução foi armazenada em frasco âmbar, sob temperatura ambiente.

• **Solução estoque de $\text{NiSO}_4 \cdot 6\text{H}_2\text{O}$ contendo $500,00 \text{ mg L}^{-1}$ em íons Ni^{2+} :**

Preparada a partir da pesagem de 0, 2239 g de $\text{NiSO}_4 \cdot 6\text{H}_2\text{O}$ seguido de dissolução em solução hidroalcoólica (40% v/v) e ajustado para 100,00 mL em balão volumétrico. A solução foi armazenada em frasco âmbar, sob temperatura ambiente.

• **Solução estoque de $\text{Cr}_4 (\text{SO}_4)_5(\text{OH})_2$ contendo $500,00 \text{ mg L}^{-1}$ em íons Cr^{3+} :**

Preparada a partir da pesagem de 0, 2239 g de $\text{Cr}_4 (\text{SO}_4)_5(\text{OH})_2$ seguido de dissolução em solução hidroalcoólica (40% v/v) e ajustado para 100,00 mL em balão volumétrico. A solução foi armazenada em frasco âmbar, sob temperatura ambiente.

/

5.3 Métodos de otimização de parâmetros experimentais

O método de otimização mais comumente usada no desenvolvimento de metodologias analíticas é a otimização univariada. Neste método, fixam-se todos os fatores que estão sendo pesquisados em certo nível, menos um deles. Este último é então variado até que se encontre a melhor resposta, passando então esta condição a ser fixada e um novo fator sofre variação, sendo cada variável otimizada separadamente. O processo se repete até que todos os fatores tenham sido adequados para fornecer a melhor resposta. Este tipo de otimização oferece como principal vantagem a fácil interpretação de dados obtidos, principalmente por se tratar de gráficos bidimensionais, relacionando a resposta analítica com a variável que está sendo otimizada. Entretanto, as interações entre as variáveis não são consideradas durante os experimentos desenvolvidos e o número de experimentos aumenta consideravelmente com o aumento do número de fatores. Ver figura 25.

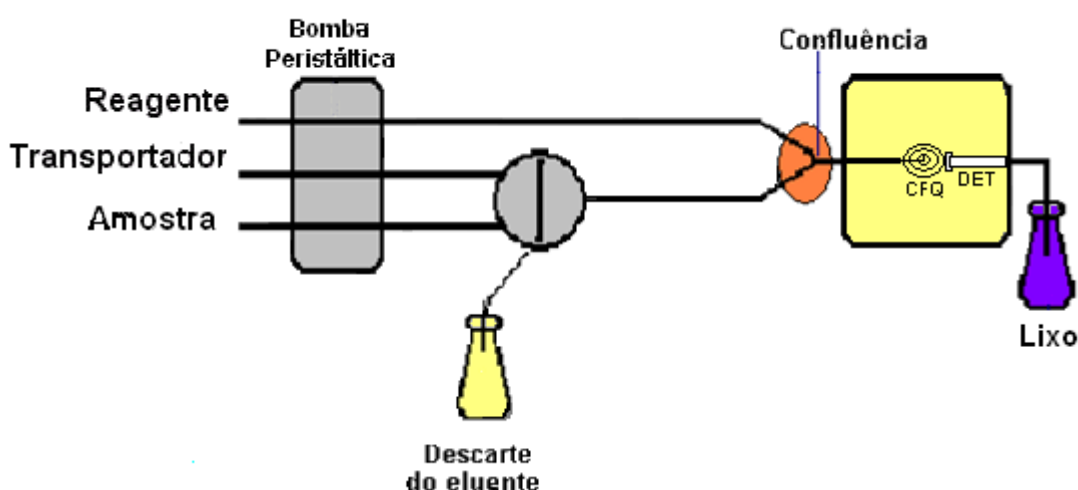


Figura 25. Esquema ilustrativo do módulo de análise proposto para a otimização do sistema analítico

para o estudo da estabilidade dos parâmetros experimentais.

O esquema proposto pela figura 25 é de fácil montagem e operação uma vez que apresenta três vias de fluxo para otimização dos parâmetros experimentais.

5.4 Preparo da mini-coluna contendo 3-aminopropiltriethoxissilano

O Prof. Dr. José Almir de Almeida Sales, bolsista do projeto de Desenvolvimento Científico Regional (DCR), sintetizou a sílica 3-aminopropiltriethoxissilano (APTES) na UFAL no laboratório de Catalise e Reatividade Química - GCA coordenado pelos Professores Doutores Mario Meneghetti e Simone Meneghetti.

5.4.1 Reagentes

O 3-aminopropiltriethoxissilano (APTES 99 %, $\text{Si}(\text{OCH}_2\text{CH}_3)_3\text{-(CH}_2)_3\text{-NH}_2$), foi obtido da ACRÕS ORGANICS e usado sem purificação prévia. A sílica comercial e de grau cromatográfico foi adquirida da DINÂMICA com tamanho de poro de 70 – 230 mesh. Os solventes: Etanol Anidro, 99,8 % foi obtido do fabricante SYNTH e usado sem purificação prévia e Tolueno, 99,5 % da marca VETEC foi previamente tratado e seco com sódio metálico. Água destilada foi utilizada para neutralização durante o procedimento de lavagem da superfície da sílica gel. Ácido clorídrico concentrado, 37% do fornecedor VETEC foi usado para preparar a solução $2,0 \text{ mol L}^{-1}$.

5.4.2 Purificação e Ativação da Superfície da Sílica Gel

A superfície da sílica gel de origem comercial, normalmente, contém certas impurezas metálicas em quantidades traços que podem interferir no resultado final quando se deseja utilizá-la como adsorvente metálico. Entretanto, recomenda-se um tratamento ácido para retirada destes metais traços na superfície do suporte. O procedimento de purificação e ativação foi realizado pesando 10,0 g de sílica e adicionada a um balão de duas bocas de 500 mL e a essa massa foram adicionados 100 mL de uma solução de HCl 2,0 mol L⁻¹ que permaneceu sob agitação mecânica por 24 h à temperatura ambiente. Em seguida, o sólido foi filtrado em funil de placa porosa e lavado exaustivamente até que o filtrado atingisse o mesmo pH da água destilada e, finalmente lavado com etanol. O material foi ativado em linha de vácuo a uma temperatura de 150°C por 12 h.

5.4.3 Síntese

Sílica modificada com 3-aminopropiltriétoxissilano

Em um balão de fundo redondo de duas bocas de 250 mL foi conectada uma haste de agitação, presa a ela uma pá de teflon para agitação da suspensão, conforme mostra a Figura 26.

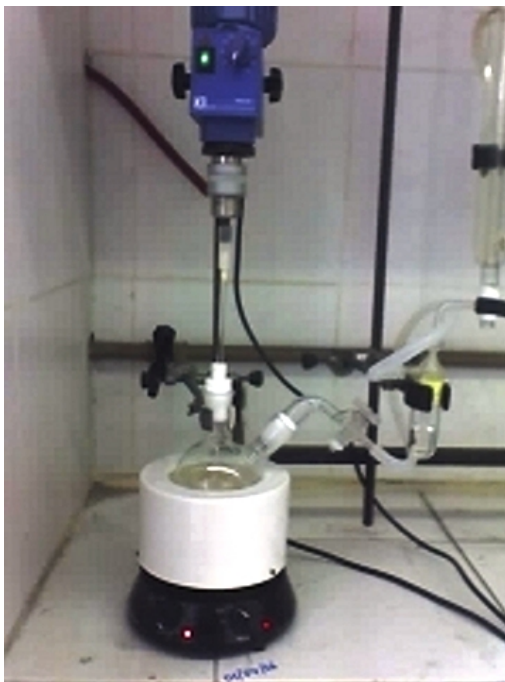


Figura 26. Sistema utilizado para a reação de funcionalização da superfície da sílica gel com o 3-aminopropiltrióxissilano.

A reação de funcionalização da superfície da sílica gel foi preparada adicionando 10,0 g de sílica previamente seca no balão de 250 mL e, em seguida, pela adição de 80 mL de tolueno seco. O sistema foi mantido em atmosfera inerte através da passagem de fluxo de argônio e mantido a temperatura próxima a de refluxo do solvente. Após 10 minutos, foram adicionados no meio reacional 10,0 mL (42,6 mmol) do APTES e a reação permaneceu por 72 h nas condições descritas acima para garantir uma completa cobertura da superfície da sílica pelo aminoalcoxissilano. Findo este tempo, o sólido foi filtrado em funil de placa porosa e lavado com três porções de tolueno e por fim com etanol.

O Esquema abaixo mostra as etapas de reação entre a superfície da sílica e o 3-aminopropiltrimetoxissilano.

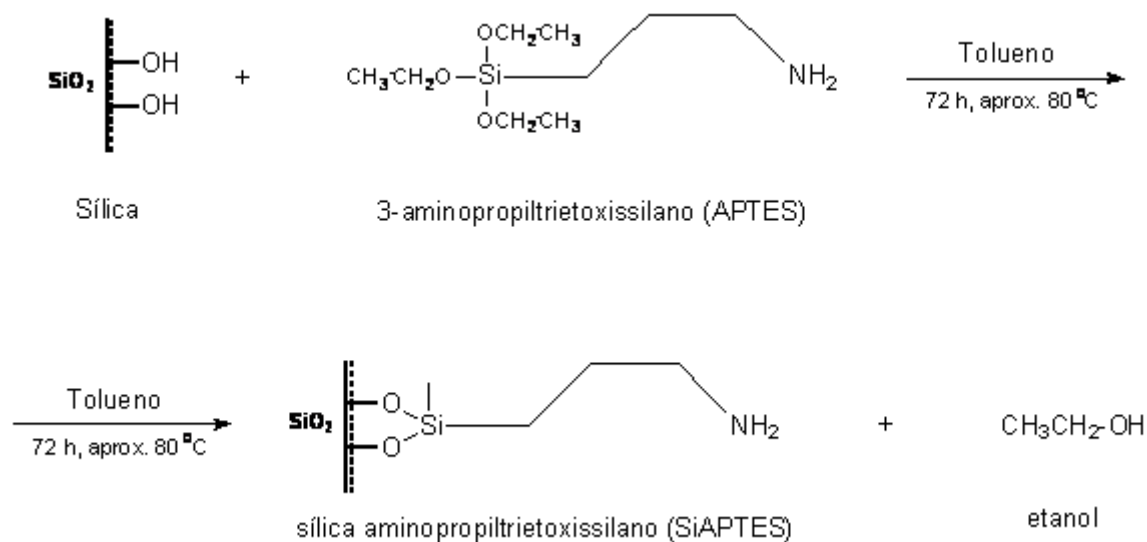


Figura 27 . Sequência de reações de modificação da superfície da sílica gel com o 3-aminopropiltriétoxissilano.

O sólido foi submetido a uma extração utilizando um aparelho Soxhlet com etanol por 6 h para garantir a completa remoção do APTES que não reagiu. A Figura 27 mostra o esquema do equipamento utilizado para a extração. Finalmente, a sílica modificada e denominada Si-APTES foi seca em linha de vácuo por 12 h sem aquecimento e por mais 12 h a uma temperatura de 60°C .



Figura 28. Sistema utilizado para a extração do excesso do 3-aminopropiltriétoxissilano na superfície da sílica.

5.5 Sistema FIA – Quimiluminescente proposto para a pré-concentração e determinação de traços de cobre (II) em cachaça.

O sistema FIA apresenta características bastante específicas, sendo que uma delas é apresentar o módulo de análise fechado, onde quando introduzido a alíquota da amostra no percurso analítico, as reações químicas e a detecção ocorrem sem nenhum contato com o meio externo. Esta característica é de grande importância, pois evita o contato do analito com a atmosfera do ambiente, minimizando as perdas e riscos de contaminação do mesmo (Santos, 2008).

A metodologia experimental para a pré-concentração e determinação do cobre (II) em cachaça no procedimento foi realizada com as seguintes condições físico-químicas: tubo de polietileno (d. i. 0,8 mm) e tubos Tygon com diferentes diâmetros internos. A vazão do sistema $5,5 \text{ mL min}^{-1}$, solução transportadora como luminol tamponado (1 mM) e o peróxido de hidrogênio (9,0 mM). O eluente (HCl 0,5 molar) com volume de 1,8 mL injetado in-line, solução condicionadora (Na_2CO_3 , pH

9,5) para sílica APTES em fluxo por 5 min. antes da pré-concentração, tempo de pré-concentração de Cu (II) de 5 min. sendo o sinal analítico monitorado em unidade arbitrária.

Etapas experimentais utilizando o sistema proposto:

1. Após montagem do sistema, promover lavagem com água destilada por 10 minutos proporcionando a limpeza do percurso analítico e verificar possíveis vazamentos nas juntas durante as análises;
2. Colocar em fluxo contínuo as soluções contendo reagentes que confluem continuamente com o carregador para estabilizar o sinal do analítico simultaneamente seguindo as etapas:
3. Tamponar in-line a sílica APTES (3-aminopropiltriétoxissilano) com a solução Na_2CO_3 com pH 9,5 para condicioná-la em meio básico tornando-a seletiva para a adsorver apenas a espécie cobre (II) em fluxo por 5 min.;
4. Pré-concentrar o cobre (II) na sílica APTES (3-aminopropiltriétoxissilano) em fluxo contínuo por 5 min.;
5. Eluição do analito adsorvido na sílica funcionalizada injetando no fluxo contínuo 1,8 mL de HCl (30% v/v) a 0,5 molar;
6. Em fluxo contínuo a solução luminol tamponado conflui com a solução hidroalcoólica de ácido clorídrico a 0,5 molar proveniente da dessorção da mini-coluna com o íon cobre (II).
7. O fluxo carregador segue o percurso analítico confluindo com a solução peróxido de hidrogênio a 9,0 mM antes de ser transportada até o detector no UV-vis, seguindo para o descarte;

O módulo proposto de pré-concentração e determinação de cobre (II) em níveis de traços em cachaça empregando FIA-acoplado ao espectrofotômetro de absorção molecular com detecção quimiluminescente apresenta entre as vantagens

características da injeção em fluxo, a economia de reagentes, baixo custo e minimização de contaminantes. Na figura 29 está representado o módulo de Análise por Injeção em Fluxo desenvolvido para aplicação da metodologia proposta.

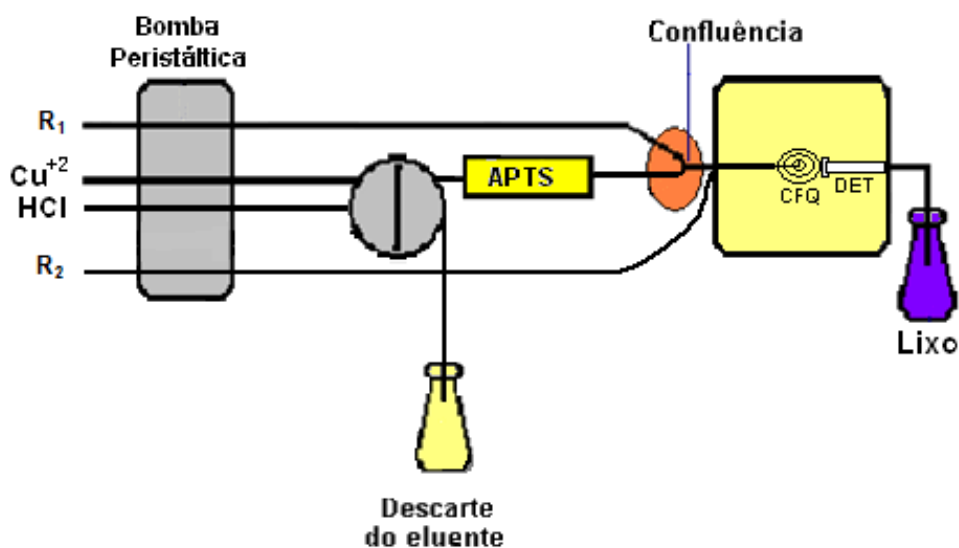


Figura 29. Módulo ilustrativo do sistema proposto para a pré-concentração e determinação de Cu (II) em cachaça por FIA-acoplado a Espectroscopia de Absorção Molecular com detecção quimiluminescente, onde R_1 = Luminol ($\text{NH}_4\text{OH}/\text{NH}_4\text{Cl}$) e R_2 = H_2O_2 .

A montagem de um sistema FIA depende da metodologia empregada, do detector utilizado, de etapas adicionais que em certas circunstâncias o sistema pode exigir a remoção de gás produzido no interior dos tubos, separação de fases imiscíveis ou pervaporação. O analista pode acrescentar procedimentos com objetivo de aumentar o desempenho do sistema tais como: pré-concentração, diálise de amostras, aquecimento ou resfriamento da mistura reacional dentre outras técnicas. Em virtude destas variáveis, sistemas simples ou extremamente complexos podem ser desenvolvidos envolvendo a Análise por Injeção em Fluxo (Gonsalves, 2007).

Sônia Maria da Cruz



CAPÍTULO IV

Pré-concentração e o uso da Sílica-gel
organofuncionalizada como agente
sequestrante para metais

Pré-concentração e o uso da Sílica-gel Organofuncionalizada como agente seqüestrante para metais

4.1 Pré - concentração e Extração em fase sólida

Apesar dos avanços instrumentais ocorridos nas últimas décadas, a determinação dos analitos diretamente na solução da amostra apresenta vários inconvenientes e por isso, o desenvolvimento de metodologias analíticas de separação e pré-concentração da amostra demonstra ser uma área muito promissora (Bianchin, *et al.*, 2008; Stalikas, 2002).

A extração em fase sólida (EFS) é uma técnica muito empregada para extração e/ou pré-concentração de analitos presentes em matrizes complexas. O princípio da EFS envolve a partição do analito entre duas fases, uma fase líquida (amostra) e uma fase sólida (sorvente) (Barrionuevo & Lanças, 2001). A EFS ocorre em 5 etapas: ativação do sorvente para deixar os sítios ativos disponíveis; condicionamento do sorvente com solvente adequado para ajustar as forças do solvente de eluição com o solvente da amostra; introdução da amostra, quando ocorre a retenção do analito e às vezes de alguns interferentes; limpeza da coluna para retirar os interferentes menos retidos que o analito e por fim a eluição do analito (Queiros *et al.*, 2001).

A pré-concentração de analitos em fases sólidas utiliza processos que, primeiramente, envolvem a retenção dos mesmos em materiais adsorventes, ou seja, esse analito é retirado de uma solução diluída passando para a superfície de um material adsorvente.

Posteriormente, a retenção do analito ocorre a eluição do mesmo através da utilização de um solvente apropriado, só que em menor volume, quando comparado com o volume inicial de amostra, desta forma, ocorrendo a pré-concentração.

Mais especificamente é possível dizer que a pré-concentração ocorre quando existem interações de quimiossorção através da formação de ligação iônica originando

processos de troca iônica ou formação de ligação covalente (quelação) entre o adsorvente e adsorbato (Ruthven, 1984).

Utiliza-se o processo de quelação para formar um complexo envolvendo o analito e um ligante, o complexo formado pode ser então pré-concentrado utilizando-se uma coluna preenchida com material adsorvente que retira esse complexo da suspensão incorporando-o temporariamente para posterior eluição com um solvente apropriado (Bianchin, *et al.*, 2008).

Estas diferentes possibilidades permitem uma melhor seletividade para os analitos, possibilitando a separação e a pré-concentração de uma espécie de interesse numa matriz de natureza mais complexa (Queiros *et al.*, 2001).

As principais vantagens da pré-concentração empregando extração em fase sólida são: a concentração do analito é significativamente aumentada, melhorando o limite de detecção; a sensibilidade e/ou a seletividade; separação prévia das espécies interferentes na matriz da amostra; possibilita a automação empregando sistemas em fluxo e diferentes sorventes podem ser utilizados como: resinas poliméricas trocadoras de íons, materiais modificados como: cerâmicas, feltros, membranas contendo grupos quelantes, zeólitas, sílica gel funcionalizada com grupos quelantes como a aminopropilsilano dentre outros sorventes (Prado & Faria, 2005).

4.2 Extração da fase sólida em Sistema de Fluxo

A espectrofotometria UV-vis não apresenta sensibilidade considerável para a quantificação de metais em baixas concentrações, requerendo desta forma, estratégias para melhorar seu desempenho analítico. Para solucionar esta limitação, etapas de pré-concentração têm sido empregadas com êxito ao longo dos anos.

A fácil adaptação de mini-coluna para pré-concentração em sistema em fluxo recebeu grande destaque devido à facilidade operacional em relação às demais técnicas e à robustez dos equipamentos (Facchin & Pasquini, 1997).

No Sistema de Análise por Injeção em Fluxo (FIA), um volume adequado da solução da amostra em condições previamente otimizadas, é injetada no sistema através de uma bomba peristáltica. A espécie analítica presente na amostra ao passar pela mini-coluna preenchida por sílica gel é extraída pelos sítios ativos do material extrator e a quantidade de analito retido na coluna é proporcional à vazão da amostra e ao tempo de pré-concentração. O analito é extraído da mini-coluna com o auxílio de um eluente apropriado, onde a solução resultante contendo o analito é deslocado até um detector e o sinal analítico é monitorado (Bianchin *et al.*, 2008).

O uso de mini-coluna (como pode ser vista na Figura 22) é um procedimento utilizado para a extração de elementos traços em vários tipos de amostras. As vantagens mais importantes deste método são a fácil adaptação em sistema de pré-concentração em linha, o uso de pequenas quantidades de eluente e a disponibilidade de vários sorventes (Bianchin *et al.*, 2008).

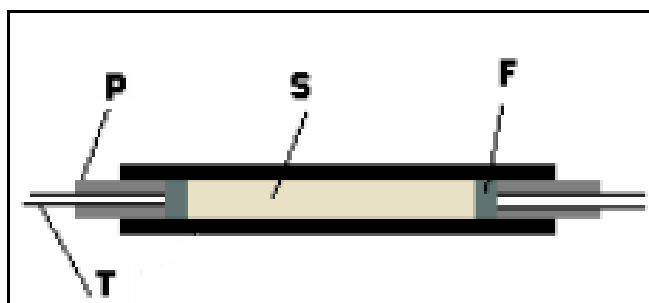


Figura 22. Diagrama esquemático de uma mini-coluna típica onde: T é o tubo de Tygon e P é o tubo de polietileno usado como conexão, S é o material sorvente, F é o filtro (lã de vidro).

4.3 Fundamentos da Adsorção

A adsorção é definida como sendo um processo de transferência de massa no qual uma ou mais substâncias (adsorvato) presente em uma corrente gasosa ou líquida é transferida de forma seletiva para a superfície de um sólido poroso (adsorvente). Chama-se de adsorvente a fase que adsorve e de adsorvato, o material concentrado ou adsorvido (Alves, 2007).

A adsorção está intimamente ligada à tensão superficial das soluções e a intensidade deste fenômeno depende da temperatura, da natureza e da concentração da substância adsorvida, da natureza e estado de agregação do adsorvente (o sólido finamente dividido) e do fluido em contato com o adsorvente (o adsorvato) (Ruthven, 1984).

Levando-se em conta que a tensão superficial é um fenômeno de superfície, então a influência do soluto na tensão superficial de uma solução dependerá da maior ou menor concentração deste soluto na superfície da solução. Quanto maior a presença de soluto na superfície da solução, menor a tensão superficial da solução e mais facilmente o soluto será adsorvido pelo sólido. Se for o inverso, quanto menor a concentração do soluto na superfície da solução, maior a tensão superficial e dificilmente o soluto será adsorvido pelo sólido. Desta forma, quanto maior for a tendência de um soluto em diminuir a tensão superficial, maior será a tendência do mesmo em se dirigir a superfície da solução (Ruthven, 1984).

Na prática, porém, não se faz necessária a presença de um sólido adsorvente para que se possa dizer que está havendo adsorção. O fato de o soluto ter a capacidade de diminuir a tensão superficial da solução em relação à do solvente puro já faz com que ele possua tendência espontânea de dirigir-se para a superfície da solução, e só esse simples fato já caracteriza o fenômeno de adsorção. Então, o soluto está sendo adsorvido pela superfície da solução.

No campo da sorção sólida, podem-se distinguir os processos químicos e físicos, dependendo da natureza das forças que provocam a adsorção.

A adsorção química, ou quimissorção, é assim denominada porque neste processo envolve a transferência ou compartilhamento de elétrons entre o adsorvato e o adsorvente, como em compostos químicos. Como uma reação química ocorre entre o adsorvato e o adsorvente, um novo composto é formado na superfície do sólido. A ligação de uma substância quimissorvida sobre a superfície do adsorvente é em geral muito forte o que torna o processo praticamente irreversível. Assim a substância quimissorvida não pode retornar a condição inicial através da dessorção, seja pelo aumento da temperatura ou pela diminuição da pressão do sistema. Durante a quimissorção as moléculas das substâncias removidas são ligadas à superfície do sólido de modo que somente a camada superficial reage e as camadas internas do adsorvente permanecem inutilizadas (Ruthven, 1997).

A adsorção física, de acordo com Bretschneider e Kurfurst (1987), ocorre quando as moléculas de uma substância são retidas na superfície de um sólido adsorvente, devido à existência de forças físicas, em especial as de Van der Waals (dipolo-dipolo, dipolo induzido-dipolo e dispersão), sem a ocorrência de reação química. Neste tipo de adsorção, a superfície do adsorvente é coberta com uma camada de moléculas do adsorvato e sobre esta camada outras podem ser depositadas. Este tipo de fenômeno é muito rápido e permite a recuperação do adsorvato através do processo inverso (dessorção), por diminuição da pressão ou aumento da temperatura do sistema, permitindo assim a recuperação do adsorvato e regeneração do adsorvente para posterior reutilização. Segundo Rousseau (1987), a recuperação do adsorvato através da dessorção é possível porque na física as forças de atração envolvidas são mais fracas que as ligações químicas.

Na adsorção, a escolha do sólido adsorvente é um ponto determinante para se alcançar alta eficiência no processo. Em geral, todo material sólido tem alguma capacidade de adsorção. Entretanto, existem poucos sólidos que possuem propriedades adequadas para serem usados com adsorventes, em processos industriais de separação ou no tratamento de efluentes (Heumann, 1997).

4.3.1 – Materiais adsorventes mais utilizados

De uma maneira geral, um bom adsorvente deve aliar características como baixo custo, seletividade, alta área superficial interna, resistência mecânica, etc.

Como a adsorção é um fenômeno essencialmente de superfície e para que um adsorvente tenha uma capacidade adsortiva significativa esse deve apresentar uma grande área superficial específica, o que implica em uma estrutura altamente porosa. As propriedades adsortivas dependem do tamanho dos poros, da distribuição do tamanho dos poros e da natureza da superfície sólida. Adsorventes comerciais mais utilizados atualmente são: zeólitas, o carvão ativado sendo o mais comumente utilizado, a sílica-gel, a alumina ativada e as peneiras moleculares (Ruthven, 2000).

Os adsorventes amorfos como: carvão ativado, sílica-gel e alumina – apresentam áreas específicas entre 200-1000m²/g, e uma faixa de distribuição de tamanho de poros bem ampla, enquanto que as peneiras moleculares, por serem materiais cristalinos apresentam um tamanho de poros de ordem de grandeza molecular definido pela estrutura cristalina, e que praticamente não varia.

4.3.2 Equilíbrio de Adsorção

A tecnologia de adsorção exige certo conhecimento tanto dos processos de equilíbrio como dos cinéticos.

O tempo necessário para que o sistema atinja o equilíbrio é o primeiro passo para a investigação do comportamento deste, e pode ser verificado através do estudo da cinética da adsorção.

O comportamento do sistema em equilíbrio pode ser investigado através das isotermas de adsorção.

Para elucidar o processo adsortivo, diversas equações de estado foram propostas para descrever o equilíbrio termodinâmico, denominado isotermas de

adsorção, que correlaciona à temperatura, a pressão e a concentração da fase adsorvida (massa adsorvida/massa de adsorvente) em um sistema fechado. As teorias básicas mais conhecidas são: **Lei de Henry**, válida para processos adsorptivos de baixa concentração em uma superfície uniforme, onde o equilíbrio entre a concentração do fluido e da fase adsorvida pode ser considerado linear; **Modelo de Langmuir**, que considera o processo de adsorção em camadas monomoleculares e em equilíbrio dinâmico, ou seja, a taxa de adsorção das moléculas é igual à taxa de dessorção na superfície; **Teoria de Gibbs**; que se baseia na lei dos gases ideais, na qual o adsorvato é tratado como microscópico e bidimensional, ou seja, o volume é trocado pela superfície e a pressão pela, então chamada, pressão bidimensional (Ruthven, 1997).

4.3.3 Cinética de Adsorção

Depois de conhecido o equilíbrio de adsorção entre os componentes da mistura a ser separado, o próximo passo para a modelagem e projeto de tal processo é conhecer as resistências à transferência de massa na partícula do adsorvente.

Um adsorvente poroso em contato com uma fase fluida pode apresentar três diferentes resistências de massa: resistência no filme externo à partícula, resistência à difusão nos macroporos e resistência à difusão nos microporos. Dependendo das características de cada sistema particular, uma destas resistências pode ser dominante, sendo as demais desprezíveis, ou pode ter-se a necessidade de considerar uma combinação de tais fatores (Ruthven, 1984).

A resistência à transferência de massa no fluido externo relaciona-se com as características hidrodinâmicas do sistema, que determinam a camada laminar que envolve a partícula sólida. Na região macroporos os mecanismos de difusão podem ser diversos, entre os quais: difusão molecular, difusão Knudsen, difusão na superfície e fluxo Poiseuille. Em fase gasosa a difusão Knudsen e a difusão na superfície são os mecanismos dominantes, enquanto que em fase líquida a difusão molecular parece ser a mais importante (Ruthven, 1984). A difusão nos microporos esta associada com

efeitos estéricos e interações de campo potencial entre a molécula e os canais microporos que tomam a mesma ordem de grandeza. São vários métodos experimentais e/ ou correlações existem na literatura para estimular parâmetros de transporte de massa. Deve-se ter um conhecimento prévio das características do sistema que se está trabalhando para que tais efeitos de resistência a transferência de massa possam ser avaliados. É comum em sistemas reais agrupar os efeitos acima em uma única constante de transferência de massa, considerando-se resistências em série.

4.4 Aspectos gerais: Sílica gel

Nos últimos anos, o estudo das propriedades de superfície de sólidos inorgânicos, principalmente dos porosos, tem aumentado consideravelmente. Vários trabalhos vêm sendo desenvolvidos visando modificar a superfície de sólidos, com o objetivo de dotá-los de propriedades específicas. O que atrai os pesquisadores em modificar a superfície de um sólido, aparentemente inerte, é aproveitar-se dessas propriedades físicas e químicas específicas, tornando possível que se utilizem essas matrizes sólidas modificadas em diversas aplicações tecnológicas (Sousa *et al.*, 2007).

O interesse nesses materiais é devido a diversidade de aplicações encontradas nos diversos campos da ciência como a pré-concentração de traços; catálise; separação cromatográfica; troca iônica; biotecnologia; indústria de vidro entre outras áreas (Arakaki e Airoidi, 1999).

Os sólidos utilizados como suportes nas modificações envolvem materiais orgânicos, como celulose e quitosana, e inorgânicos como o vidro, a argila e a sílica.

Dentre os mais variados materiais porosos, grande atenção está sendo dada à sílica gel funcionalizada com grupos que apresentam caráter ligante. A imobilização desses grupos geralmente é efetuada através da reação entre os grupos silanóis (Si-OH) da superfície da sílica e os compostos orgânicos derivados de alquil/aryltrimetóxisilano. Um dos procedimentos mais comuns nessas modificações é a reação química com organossilanos (X_3SiR), onde R é um radical orgânico contendo

grupos funcionais com características específicas, e X é o grupo $-\text{OC}_2\text{H}_5$ ou $-\text{OCH}_3$ (Arakaki e Airoidi, 1999). Tanto a qualidade como a durabilidade desses materiais silanizados dependem da natureza da ligação dos organossilanos com as superfícies, e as suas propriedades determinam as possíveis aplicações já mencionadas.

As modificações ocorrem na superfície da sílica-gel de acordo com os grupos funcionais existentes no material de origem, no caso os grupos hidroxilas (Airoidi e Farias, 2000).

Entre os materiais obtidos da modificação da superfície da sílica-gel, os mais estudados e usados em maior escala, possuem moléculas orgânicas dispostas em uma monocamada sobre a superfície, estando estas moléculas ligadas covalentemente ao suporte.

Os adsorventes inorgânicos modificados vêm ganhando destaque devido ao fato físico de apresentarem características cinéticas mais favoráveis e estabilidade termodinâmica superior aos adsorventes inorgânicos. Dentre esses adsorventes, a sílica-gel modificada quimicamente com compostos orgânicos tem sido objeto de muita pesquisa por apresentar-se sob uma grande variedade, com diferentes áreas superficiais e diâmetros de poros, além de possuir certa facilidade no que se refere às suas modificações químicas de superfícies. Por esse motivo, e diante da diversidade desses materiais, as investigações das características químicas desse sorbente, tanto em meio aquoso como não aquoso, e a elucidação das muitas leis que ministram os processos de quimissorção com a participação dos centros da sílica-gel, são de grande importância (Airoidi e Farias, 2000).

Outra aplicação dos compostos de silício são os zeólitos, uma subclasse de peneiras moleculares, que são exemplos de aluminossilicatos com grande importância, já que podem ser utilizados amplamente como catalisadores heterogêneos.

A sílica gel é um polímero inorgânico, constituído de grupos siloxanos (Si-O-Si) em seu interior e de grupos silanóis (Si-OH) em sua superfície.

Como a superfície da sílica gel (SiO_2) é recoberta por grupos silanóis, que são responsáveis pelo comportamento químico de sua superfície, estes, exercem importante função nos processos de adsorção.

A presença destes grupos silanóis foi detectada pela primeira vez em 1936 por Kiselev. Muitos estudos foram desenvolvidos, no intuito de se verificar o número de

grupos presentes na superfície da sílica gel, representado por α_{OH} , que normalmente é expresso por unidade de área superficial em nm^2 .

Zhuravlev, ao estudar amostras de sílica, utilizando o método de troca de deutério acoplado à espectrometria de massa, chegou a um valor aproximado de α_{OH} que é $5,0 \text{ OH}/\text{nm}^2$. Este valor é considerado como uma constante físico-química da sílica, uma vez que este resultado independente da origem do material ou das suas características estruturais, como área superficial, tipos de poros, empacotamento das partículas e tamanho dos poros. Este valor é confirmado pela gravimetria (Farias & Airoidi, 2000).

Um dos principais fatores determinantes da reatividade da superfície da sílica é a distribuição dos grupos silanóis que não se apresenta de forma regular, cuja representação esquemática de distribuição aleatória pode ser vista na Figura 23, gerando uma irregularidade na densidade eletrônica, acarretando um comportamento ácido, conhecido como ácido de Brønsted, cuja acidez exibe um $\text{pK}_a \sim 7$. Os sítios ácidos assim formados são responsáveis pelo controle de reatividade que ocorre na superfície da sílica (Farias & Airoidi, 2000).

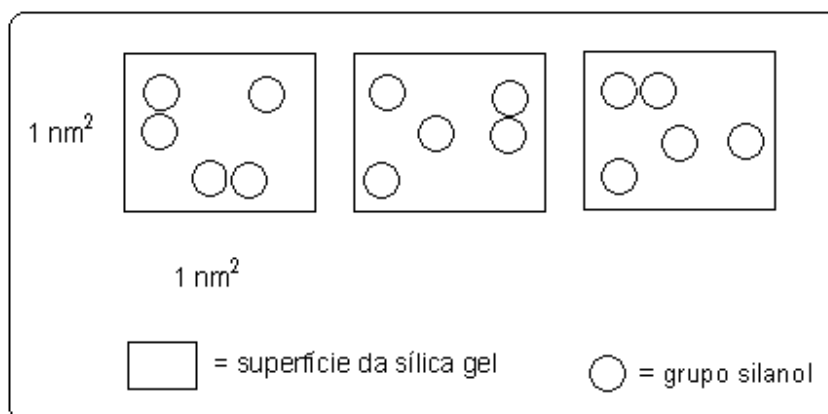


Figura 23. Distribuição de grupos silanóis na superfície de 1 nm^2 de sílica.

4.5 Modificações da superfície da sílica gel

As modificações da superfície da sílica gel através de ligação química envolvem uma reação entre este material, através da reatividade química dos grupos silanóis e um agente modificador adequado. Essas reações com agentes modificadores envolvem em geral, moléculas de organossilanos (alcoxissilanos e clorossilanos). Esta reação de silanização da superfície possibilita a introdução de moléculas orgânicas, que possuem grupos funcionais coordenantes. Neste trabalho foi realizada reação de modificação da superfície da sílica gel, utilizando como agente modificador (agente sililante) a molécula 3-aminopropiltrimetoxissilano. Na reação entre aminopropiltriétoxissilano (APTES), que é um dos agentes sililantes mais utilizados com sílica, uma monocamada é formada pela rápida adsorção de moléculas do silano na superfície, independente da concentração inicial de APTES, sendo que cada molécula deste agente sililante cobre uma área de $0,64 \text{ nm}^2$ (Farias & Airoidi, 2000).

Aminas e compostos de estanho são catalisadores para a reação de alcoxissilanos com superfícies de minerais. Silanos aminofuncionais são auto-catalisadores, mas alcoxissilanos não aminados são mais facilmente ligados na presença de pequenas quantidades de amina orgânica ou de um organossilano aminofuncional.

Alguns cuidados devem ser tomados na ativação da sílica, pois a temperatura acima de 200°C (473K) os grupos silanóis se condensam formando os grupos siloxanos (Airoidi e Farias, 2000; Sousa *et. al.*, 2007).

À baixa temperatura de pré-tratamento a superfície da sílica apresenta uma pequena quantidade de grupos silanóis, mas aquecendo-se até cerca de 700°C , a superfície passa a ser formada basicamente por hidroxilas livres, sendo que, acima de 800°C , a condensação dos silanóis é irreversível.

Os grupos silanóis, para a maior parte das moléculas adsorvidas, costumam apresentarem-se como sítios de adsorção mais fortes, e às baixas pressões, estes sítios são responsáveis pela maior parte dos processos de adsorção ocorridos. Os siloxanos também podem mostrar-se reativos em alguns tipos de reações, como na

adsorção dissociativa do diborano, B_2H_6 , sendo que após essa adsorção do diborano nos grupos siloxanos, o borano reage com os silanóis da sílica liberando hidrogênio (Farias & Airoidi, 2000).

Pode-se preparar sílica gel pura, dopada ou funcionalizada, através do método sol-gel, podendo-se controlar o diâmetro das esferas e área superficial da sílica obtida. Pode-se também preparar sílica partindo de soluções supersaturadas de ácido silícico. A desidratação ou presença de moléculas quimissorvidas, exercem um efeito que fica evidenciado nas propriedades da sílica gel (Arakaki & Airoidi, 1999).

Na reação de modificação da superfície da sílica gel, o agente modificador, genericamente representado por $(RO)_3Si(CH_2)_3X$, sendo R um radical alquila e X representa uma função orgânica do tipo Cl, SH, NH_2 , NCO, $NH(CH_2)_2$, dentre outros, pode ligar-se aos grupos silanóis de diferentes maneiras, formando ligações monodentada, bidentadas ou tridentadas, conforme pode ser visto na figura 26. No entanto as formas mais comuns de ligação são do tipo mono e bidentadas (Airoidi & Farias, 2000).

Os suportes inorgânicos sintéticos ou naturais contêm dispersos por toda superfície uma elevada densidade de grupos silanóis sensíveis ao efeito de reação que pode provocar o agente sililante. Desta forma, a sílica gel provinda de várias fontes sintéticas é uma das superfícies inorgânicas mais extensivamente investigadas. A esse fato que impulsionou o notável avanço no campo da imobilização, superando facilmente os demais materiais inorgânicos (Arakaki e Airoidi, 1999).

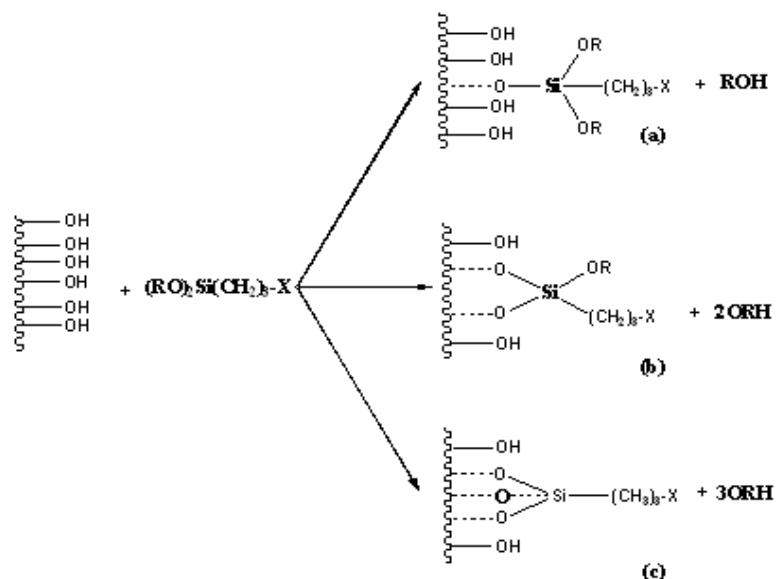


Figura 24. Diferentes formas de ancoramento dos organossilanos na superfície de um suporte contendo grupos silanóis: a) monodentados; b) bidentados e c) tridentados. Onde o X representa o grupo funcional pendente na cadeia do organossilano e R representa o grupo alcóxido.

4.6 Vantagens do uso da sílica organofuncionalizados

A sílica gel (SiO_2) está entre os adsorventes inorgânicos mais utilizados. A vantagem do uso da sílica é ser térmica e mecanicamente estável, podendo ser submetida a altas pressões sem danificar sua estrutura. Uma outra vantagem é o fato de ser disponível comercialmente com alto grau de pureza, a custos relativamente baixos e ter dimensões de áreas e poros variados. Isso vem a facilitar a obtenção de sílicas quimicamente modificadas com os mais variados grupos funcionais.

A utilização de sílica gel como suporte para imobilizar grupos organofuncionais apresenta algumas vantagens quando comprada com os suportes orgânicos. Podem-se destacar alguns aspectos, como: i) a sílica pode ser modificada por uma variedade de agentes sililantes; ii) os grupos organofuncionais ancorados na sílica reagem mais rapidamente do que quando ancorados em suportes orgânicos; iii) a sílica tem pequena

tendência ao inchamento, quando comparado aos suportes orgânicos poliméricos; iv) a sílica organofuncionalizada possui uma elevada estabilidade térmica, mecânica e resistência à radiação.

Essas propriedades são importantes para a aplicação específica do material para fins analíticos, como a sorção de metais, cromatografia, troca iônica, entre outros (Arakaki & Airoidi, 1999).

4.7 Materiais modificados organofuncionalizados: Aplicações

O desenvolvimento do campo de síntese de novos agentes sililantes impulsionou o processo de organofuncionalização da superfície de sílica gel, sendo envolvida uma variedade de funções orgânicas inseridas nas cadeias e ancoradas covalentemente ao suporte (Arakaki & Airoidi, 1999).

A presença de centros nucleofílicos nos agentes sililantes confere à superfície da sílica organofuncionalizada a capacidade de seqüestrar metais, uso em catálise, como trocador de íons, aplicação em cromatografia, aplicação industrial, como exemplo separação de misturas, processos catalíticos, purificação da água e tratamento de efluentes industriais, entre outros processos.

Entre os agentes sililantes mais simples, o 3-mercaptopropiltrimetoxissilano tem sido muito utilizado na adsorção de cátions. Porém as sílicas ancoradas com o cloropropil e o aminopropil são mais amplamente utilizados pelas facilidades em ampliar não só a cadeia orgânica, como também em aumentar o número de centros básicos nas mesmas (Airoidi & Farias, 2000).

4.8 Imobilização de cátions

Uma aplicação bastante importante está direcionada em modificar a superfície de um suporte com grupos funcionais com características quelantes para a pré-concentração de metais. O procedimento consiste em percolar a solução que contém os íons a serem analisados numa coluna contendo a sílica funcionalizada ou dispersar o suporte na solução contendo os íons sob agitação. A etapa seguinte é a análise dos íons retidos que pode ser feita através de espectrofotometria de absorção atômica ou ainda por titulação complexométrica com EDTA (Arakaki, *et al.*, 2002).

A imobilização de cátions metálicos sobre a superfície da sílica gel ocorre quando este suporte tem a sua superfície modificada, geralmente através de processos sucessivos de reações dotados de características especiais.

O uso de aminas primárias ligadas covalentemente à superfície da sílica gel desperta bastante interesse devido às possíveis e subseqüentes reações que podem ser feitas no intuito de conferir mais especificidade à sílica gel. A sílica modificada com grupo orgânico, no caso aminopropiltrimetoxissilano – APTES confere à superfície a capacidade de sequestrar metais devido à presença do par de elétrons livres do átomo de nitrogênio. A mais essa superfície pode sofrer reações subseqüentes substituintes nucleofílicas, com a finalidade de aumentar essa capacidade de adsorção de metais (Espínola *et al.*, 2002).

Objetivos

OBJETIVO GERAL

Desenvolver uma metodologia analítica alternativa a metodologia oficial sugerido pela AOAC para determinação do teor de cobre (II) em amostra de cachaça usando pré-concentração em mini-coluna com sílica organofuncionalizada, associado a FIA com detecção Quimiluminescente.

OBJETIVOS ESPECÍFICOS

Analisar a estabilidade do sinal do luminol, reagente quimiluminescente nas condições experimentais para obtenção de maior sensibilidade, vida útil do reagente e a obtenção da curva analítica;

O estudo da variação da eficiência da sílica 3-aminopropiltrimetoxissilano (APTES) em cachaça, otimizando o tempo de pré-concentração, a vazão com a pré-concentração do eluente e da solução transportadora e suas influências no sinal analítico, o volume do eluente injetado e obtenção da curva analítica.

7.0 Conclusão

Após estudos realizados constatamos que o método proposto apresentou uma boa sensibilidade, seletividade para a mini-coluna de pré-concentração, sendo de baixo custo e de fácil manuseio na determinação do íon cobre (II) em nível de traços em cachaça.

O estudo da sílica 3-aminopropiltrietoxissilano como adsorvedor para íons cobre (II) tornou o método mais seletivo e sensível na determinação do metal supracitado. A seletividade da sílica está ligado ao condicionamento dela através da solução recuperadora em pH (9,5) básico. A sensibilidade do método está relacionada ao tempo de pré-concentração e ao volume de amostra que passa pela a mini-coluna ou massa de eloato retido na substância adsorvedora, pois quanto maior for o tempo e o volume de pré-concentração maior a sensibilidade do sinal detectado.

No estudo do tempo de pré-concentração realizado nesta dissertação encontrou os seguintes fatores de pré-concentração e concentração do padrão usado: 806 vezes, usando um padrão de $1,0 \text{ mg L}^{-1}$ em um tempo de pré-concentração de 10 minutos; 403 vezes, usando um padrão de $0,35 \text{ mg L}^{-1}$ em um tempo de pré-concentração de 5 minutos; 161 vezes, usando um padrão de $2,0 \text{ mg L}^{-1}$ em um tempo de pré-concentração de 2 minutos.

O estudo de interferentes, os quais foram escolhidos devido à probabilidade de encontrá-los em água potável essa que entra no processo industrial no preparo do mosto fermentado de cana de açúcar que em concentrações na ordem de 10 vezes a de cobre (II) os íons.

O desenvolvimento da metodologia analítica envolvendo pré-concentração e determinação do íon Cu (II) em cachaça com detecção quimiluminescente acoplada ao FIA, deixa comprovado seu potencial para quantificação de íons de cobre em cachaça.

A cachaça envelhecida em tonéis de madeira ou na presença de corantes ou raízes não apresentou resultado satisfatório, pois o corante se impregna nos sítios ativo da coluna impedindo a pré-concentração. Portanto o método desenvolvido para a determinação de cobre (II) é aplicável somente diretamente para cachaça ou aguardente branca.

8.0 Perspectivas Futuras

- ✚ Estudar métodos de minimização das espécies interferentes sobre o sinal analítico na determinação de cobre (II) pelo método proposto nessa dissertação;
- ✚ Avaliar a seletividade e a pré-concentração do procedimento proposto frente ao analito de interesse visando aumentar a frequência analítica do procedimento proposto desenvolvido;
- ✚ Validação da metodologia proposta comparando com o método oficial do Brasil e o internacional pela AOAC.

Sônia Maria da Cruz

CAPÍTULO IX

Referência Bibliográfica

9.0 REFERÊNCIA BIBLIOGRAFICA

1. ABRANTES, Antônio. Cachaça Disponível em <http://www.inova.unicamp.br/inventabrasil/cachaça.htm>. Capturado em 20/10/2008.
2. AIROLDI, C. e FARIAS, R. F., O uso de sílica gel organofuncionalizada como agente sequestrante para metais, **Química Nova**, v. 23, n. 4, 2000.
3. ARAKAKI, L. N. H., SOUSA, A. N., ESPÍNOLA, J. G. P., OLIVEIRA, S. F. and AIROLDI, C., Chemisorption and Thermodynamic Data of the Interaction between a Chelate Free Acidic Center with Basic Group Attached to Grafted Silicas, **Journal of Colloid and Interface Science**, v. 249, n. 2, p. 290-294, 2002.
4. ARAKAKI, N. H. e AIROLDI, C., O relevante papel do agente sililante na modificação de superfícies de polímeros, *Química Nova*, v. 22, n. 2, 1999.
5. ALBERTIN, R.; ARRIBAS, M.A.G.; BASTOS, E.L.; RÖPKE, S.; SAKAI, P.N.; SANCHES, A.M.M.; STEVANI, C.V.; UMEZU, I.S.; YU, J.; BAADER, W.j., Quimiluminescência orgânica: alguns experimentos de demonstração para a sala de aula, **Química Nova**, v. 21, n. 06, 1998.
6. ALCÂNTARA, I. L., ROLDAN, P. S., MARGIOTAEA, M. A. L., CASTRO, G. R., PADILHA, C. C. F., FOLRETINO, A. O., PADILHA, P. M., Determination of Cu, Ni and Pb in Aqueous Medium by FAAS After Pre-Concentration on 2-Aminothiazole Modified Silica Gel, **J. Braz. Chem. Soc.**, v. 15, p. 366-371, 2004.
7. AOAC; **Official Methods of Analysis** 15th Ed.; Association of Official Analytical Chemists; Arlington 1990.
8. ALVES, A. C. M., Avaliação do Tratamento de Efluentes Líquidos contendo Cobre e Chumbo por adsorção em Carvão Ativado, Tese de Mestrado em Recursos Hídricos e Saneamento, Universidade Federal de Alagoas, Maceió – Al, p. 69, 2007.
9. ARAKAKI, L. N. H. e AIROLDI, C., O relevante papel do agente sililante na modificação de superfícies de polímeros, **Química Nova**, v. 22, n. 2, 1999.

10. AZEVEDO, S. M. *et al* .Levantamento da contaminação por cobre nas aguardentes de cana-de-açúcar produzidas em Minas Gerais. **Ciência Agrotecnologia**, Lavras. v. 27, nº. 3, p. 618-624, 2003.
11. BACCAN, N., ALEIXO, L. M., STEIN, E., GODINHO, O. E. S., **Introdução à Semimicroanálise Qualitativa**, Editora da Unicamp, 1988.
12. BARRIONUEVO, W. R. & LANÇAS, F. M., Extração em fase sólida (SPE) e micro extração em fase sólida (SPME) de piretróides em água, **Química Nova**, v. 24, n. 2, p. 172-175, 2001.
13. BIANCHIN, J. N., MIOR, R., MARTENDAL, E., CARLETO, J. S. e CARASEK, E., Otimização multivariada e aplicação do sorvente SiO₂-Nb₂O₅ para determinação em linh de Ni(II) em matriz aquosa, **Eclética**, v. 33, n. 4, 2008.
14. BOGUSZ JUNIOR, S.; KETZER, D.C.M., GUBERT, R.; ANDRADES, L. e GOBO, A. B., Composição Química da Cachaça Produzida na Região Noroeste do Rio Grande do Sul, Brasil, **Ciência e Tecnologia de Alimentos**, Campinas, v. 26, n. 4, p. 793-798, 2006.
15. BORGES, E.P.; FERNANDES, E.N.; ROCHA, F.R.P., Desenvolvimento de um dispositivo de baixo custo para medidas por quimiluminescência, **Química Nova**, v. 25, n. 6B, p. 1191-1193, 2002.
16. BOZA, Y. e HORII, J. Influência da destilação sobre a composição e a qualidade sensorial da aguardente de cana-de-açúcar, **Ciência e Tecnologia de Alimentos**, v. 18, p. 391-396, 1998.
17. BOZA, Y e HORII, J. Influência do grau da acidez do destilado sobre o teor de cobre na aguardente de cana. **Ciência e Tecnologia de Alimentos**, Campinas, v.20, n. 03, p. 279-284, Set.-Dez, 2000.
18. BRASIL. Lei nº. 9279 de 14 de Maio de 1996. Publicado no **Diário Oficial da União** de 15/05/1996. Capturado em 23/10/2008. Online. Disponível na internet: <http://WWW.peduti.com.br/legislação/marcas-1.asp>.
19. BRASIL. Decreto nº. 4062, de 21 de dezembro de 2001. Publicado no **Diário Oficial da União** de 26/12/2001. Capturado em 23/10/2008. Online. Disponível na internet:<http://oc4j.agricultura.gov.br/agrolegis/do/consultaLei?op=vewTextual&codigo=1014>.

20. BRASIL. Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento. Decreto nº. 4851 de 02 de outubro de 2003. Publicado no **Diário Oficial da União** de 03/10/2003, Brasília, seção 1, p.6.
21. BRASIL. Ministério da Agricultura. Instrução n. 13, de 29 de junho de 2005. Aprova o Regulamento Técnico para Fixação dos Padrões de Qualidade para Aguardente de Cana e para Cachaça. **Diário Oficial da República Federativa do Brasil**, Brasília, DF, 30 de junho de 2005, Seção 1, p.3.
22. BRASIL. Ministério da Agricultura. Decreto n. 4072 de 3 de janeiro de 2002. Dispõe sobre a Padronização, a classificação, o registro, a inspeção, a produção e a fiscalização de bebidas. **Diário Oficial da República Federativa do Brasil**, Brasília, DF, 3 de janeiro de 2002.
23. BRASIL, Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento. Decreto nº. 2314, de 04 de setembro de 1997. Publicado no **Diário Oficial da União** de 05/09/1997, Brasília, seção 1, p. 19549.
24. BRETSCHNEIDER, B. & KURFURST, J., Air pollution control technology, Prague: **Elsevier**, p. 296, 1987.
25. BRUCE H., Mahan **Química: um curso Universitário**, 2ª edição, Edgard Blucher Ltda. São Paulo, 1977.
26. CALDAS, N.M., AMORIM, V.R.F., GOMES NETO, J.A., Direct and simultaneous determination of As, Cu and Pb in Brazilian sugar cane spirits by graphite furnace AAS using Tungsten permanent modifier with Co-injection of Pd/Mg (NO₃)₂, **Atomic Spectroscopy**, v. 28, p. 189-194, 2007.
27. CAMPOS, M.L.A.M.; MELLO, L.C.; ZANETTE, D.R.; SIERREA, M.M.S. e BENDO, A., Construção e Otimização de um Reator de baixo custo para a Fotodegradação da Matéria Orgânica em Águas Naturais e suas Aplicações no estudo da especiação do cobre por voltametria, **Química Nova**, v. 24, n. 2, p. 257-261, 2001.
28. CANTANHEDE, L. B.; LIMA, J. B.; LOPES, R. F. F. e BEZERRA, C. W. B., Uso de Sílica e Sílica-Titânia Organofuncionalizadas para a Remoção de Cu(II) em Aguardentes, **Ciência e Tecnologia de Alimentos** v. 20, n. 03, p. 500-505, 2005.

29. CARDOSO, D.R.; LIMA-NETO, B.S.; FRANCO, D.W. e NASCIMENTO, R.F.,
Influência do Material do destilador na Composição química das aguardentes de
cana Parte II, **Química Nova**, v. 26, n. 2, p. 165-169, 2003.
30. CASCUDO, L. C. Prelúdio da cachaça: etnografia, história e sociologia da
aguardente no Brasil. Rio de Janeiro: **Instituto do Açúcar e do Alcool**, 1968.
31. CATARINO, S., PINTO, D. e A.S. Curvelo-Garcia, Validação e Comparação de
métodos de Análise em espectrometria de absorção atômica com chama para
dosamento de Cobre e Ferro em vinho e aguardente, **Ciência Téc. Vitiv.**, v. 18, n.
2, p. 65-76, 2003.
32. CATTARUZZA, E.; BATTAGLIN, P.; CANTON, P.; FINOTTO, T.; SADA, C., Copper -
based nanocluster composite silica films by rf-sputtering deposition, **Materiais
Science Engineering C** v. 26, p. 1092-1096, 2006.
33. CAVALHEIRO, S. F. L.; ANDRADE SOBRINHO, L. G.; FARIAS, J. B.; CARDELLO,
H. M. A. B. , Influência do Envelhecimento no Teor de Cobre em Cachaça,
B.CEPPA, v. 21, nº. 1, p. 99-108, 2003.
34. CHIMPALEE, N.; CHIMPALEE, D.; SRITHAWEPOON, S.; PATJARUT, T.;
THORBURN BURNS, D., Flow – injection spectrophotometric determination of
copper using bis(cyclohexanone) oxalyldihydrazone, **Analytica Chimica Acta**, v.
304, p. 97-100, 1995.
35. COSTA, C. C. R. e ARAUJO, A. N. Determinação de baixas concentrações de cobre
águas naturais por espectrofotometria de absorção atômica usando um sistema SIA
com uma coluna de poli(etilenimina). **Química Nova**, v. 24, n. 5, p. 588-591, 2001.
36. CUNHA e SILVA, R.M; ALMEIDA, E.; VALENCIA, E.P.E.; NASCIMENTO FILHO,
V.F., Determination of Fe, Cu and Zn in sugar-cane spirits commercialized in
Southeastern Brazil by TXRF, **Journal of Radioanalytical and Nuclear Chemistry**,
v. 260, n.1, p. 3-7, 2004.
37. ESPÍNOLA, J. G. P., FREITAS, J. M. P., OLIVEIRA, S. F. and AIROLDI, C.,
Chemisorption of some Divalent Cations on Silica Modified Through the Reaction of
Pentane-2,4-dione with 3-propylethenediamine Silica Gel, **Colloids and Surfaces**, v.
68, n. 4, p. 261, 1992.

38. FACCHIN, I. e PASQUINI, C., Extração líquido-líquido em sistema, **Química Nova**, v. 21, n. 1, 1997.
39. FARIA, J. B. Sobre a produção de aguardente de cana. **O engarrafador Moderno**, nº. 40, p. 9-16, 1995.
40. FARIAS, R. F. e AIROLDI, C., Síntese e Reatividade de Sílica Lamelar, **Química Nova**, v. 23, n. 1, 2000.
41. FATIBELLO-FILHO, O. *et al.* Flow injection potentiometric determination of saccharin in dietary products with relation of filtration unit. **Talanta**, v. 41, p. 731-734, 1994.
42. FATIBELLO-FILHO, O.; LEITE, O.D; ROCHA, F. R. P., Um experimento de análise em fluxo envolvendo reações enzimáticas e quimiluminescência, **Química Nova**, v. 27, n.2, p. 337-341, 2004.
43. FERNÁNDEZ-ARGÜELLES, M. T.; JIN, W.J.; COSTA-FERNÁNDEZ, J.M.; PEREIRO, r.; SANZ-MENDEL, A., Surface -modified CdSe quantum dots for the sensitive and selective determination of Cu(II) in aqueous solutions by luminescent measurements, **Analytica Chimica Acta**, v. 549, p. 20-25, 2005.
44. FERREIRA, C. F. e ROSSI, A. V., A quimiluminescência como ferramenta analítica: do mecanismo a aplicação da reação do luminol em métodos cinéticos de análise, **Química Nova**, v. 25, n. 06, p. 1003-1011, 2002.
45. FRANCO, D. W.; ANDRADE-SOBRINHO, L. G.; BOSCOLO, M.; LIMA-NETO, B. S. dos S. Carbamato de etila em bebidas alcoólicas(cachaça,tequila, uísque e grapa). **Química Nova**, São Paulo, v. 25, nº. 6B, p. 1074-1077, 2002.
46. GARBIN, R.: GOGUSZ, S.: MONTANO, M. A., Níveis de cobre em amostras de cachaça produzidas na região noroeste do Rio Grande do Sul, Brasil, **Ciência Rural**, Santa Maria, v.35, n. 06, p. 1436-1440, Nov.-Dez, 2005.
47. GHASEMI, Jahanbakhsh; SHAHABADI, Nahid; SERAJI, HAMID, R., Spectrophometric determination simultaneous of cobalt, copper and nickel using nitroso-R-salt in alloys by partial least squares, **Analytica Chimica Acta**, v. 510, p. 121-126, 2004.
48. GHIASVAND, A.R.; GHADERI, R.; KAKANEJADIFARD, A., Seletive preconcentration of ultra trace copper (II) using octadecyl silica membrane disk

- modified by a recently synthesized glyoxime derivative, **Talanta**, v. 62, p. 287-289, 2004.
49. GIUGLIANI, R., ROTTA, N., LASER, L.F.L., COSTA, A.C., WOJCIECHOWSKI, M., FLORES, R.Z and DRACHLER, M.L., Menkes Disease: Report of a Case, **Rev. Brazil. J. Genetics**, Ano IX, n. 3, p. 512-520, 1986.
50. GOMES, L. A.M.; PADILHA, P.M.; MOREIRA, J.C.; FILHO, N.L.D. and GUSHIKEM, Yoshitaka, Determination of Metal Ions in fuel Ethanol after Preconcentration on 5-Amino-1,3,4-Thiadiazole-2-Thiol Modified Silica Gel, **J. Braz. Chem. Soc.**, v. 9, n. 5, p. 494-498, 1998.
51. GONSALVES, A. A, Desenvolvimento de Procedimento Analítico para Determinação de Paracetamol em Formulações Farmacêuticas Empregando Análise por Injeção em Fluxo e Detecção Espectrofotométrica, Maceió 2007, Dissertação, Universidade Federal de Alagoas.
52. HEUMANN, W. L., Industrial air pollution control systems. McGraw- Hill, p. 620, 1997.
53. ILER, R. K., The Chemistry of Sílica, John Wiley & Son, New York, 1979.
54. Instituto Adolfo Lutz; **Normas Analíticas do Instituto Adolfo Lutz**, São Paulo, v. 1, 3.ed., p. 533, São Paulo, 1985.
55. KESSLER, Manfred A., Determination of copper at ng mL⁻¹ – levels based on quenching of the europium chelate luminescence, **Analytica Chimica Acta**, v. 364, p. 125-129, 1998.
56. KIM, Young-Sang; IN, Gyo; HAN, Cheol-Woo e CHOI, Jong-Moon, Studies on synthesis and application of XAD-4-salen chelate resin for separation and determination of trace elements by solid phase extraction, **Microchemical Journal**, v. 80, p. 151-157, 2005.
57. KISELEV, A. V., **Kolloidn. Zh.** , 2, 17, 1936.
58. KORN, M. das G. A.; JÚNIOR, A. de F. S.; JAEGER, H. V.; SILVA, N. M. S. S. e COSTA, A. C. S., Determinação de Mn, Cu e Zn em matrizes salinas após separação e pré-concentração usando amberlite XAD-7 impregnada com vermelho de alizarina S. **Química Nova**, v. 25, n. 6B, p. 1086-1090, 2002.

59. KÜCHLER, Ivo L. e SILVA, Fernando Antônio M., Método potenciométrico para determinação de cobre em cachaça, **Química Nova**, v. 22, n. 03, p. 339-341, 1999.
60. LABANCA, R. A.; GLÓRIA, M. B. A., Determinação dos teores de cobre e grau alcoólico em aguardentes de cana produzidas no Estado de Minas Gerais. **Química Nova**, v. 29, nº. 5 p. 1110-1113, 2006.
61. LAITINEN, H. A., EDGARD, W., **Chemical Analysis: na advanced text and reference**, Mc Graw-Hill, 1975.
62. LEMOS, V.A.; SANTOS, J. and BALIZA, P.X.; Me-BTABr Reagent in Cloud Point Extration for Spectrophometric Determination of Copper in Water Samples, **J. Braz. Chem. Soc.**, v. 17, n.1, p. 30-35, 2006.
63. LI, Jianzhong; DASGUPTA, Purnendu, K., Chemiluminescence detection with a liquid core waveguide Determination of ammonium with eletrogenerated hypochlorite based on the luminol-hypochlorite reaction, **Analytica Chimica Acta**, v. 398, p. 33-39, 1999.
64. LIMA, A. de J. B.; CARDOSO, M. das G.; Guerreiro, M. C.; Pimentel, F. A. Emprego do carvão ativado para a remoção de cobre em cachaça. **Química Nova**, Lavras – MG, v. 29, n.02, p. 247-250, 2006.
65. LIMA, A.K.S. e NÓBREGA, I.C.C., Avaliação de parâmetros de qualidade em aguardente de cana produzidas no estado da Paraíba, **B. CEPPA**, v.22, n. 01, p. 85-96, 2004.
66. LIMA NETO, B.S.; BEZERRA, C.W.B.; POLASTRO, L.R.; CAMPOS, P.; NASCIMENTO, R.F.; FURUYA, S.M.B.; FRANCO, D. W., O cobre em aguardentes brasileiras: sua quantidade e controle, **Química Nova**, v. 17, n. 3, 1994.
67. LIN, Jin-Ming e HOBBO, Toshiyuki, Flow -injection analysis whit chemiluminescent detection of sulphite using $\text{Na}_2\text{CO}_3 - \text{NaHCO}_3 - \text{Cu}^{2+}$ system, **Analytica Chimica Acta**, v. 323, p. 69-74, 1996.
68. LUNVONGSA, S.; TAKAYANAGI, T.; OSHIMA, M. e MOTOMIZU, S., Novel catalytic oxidative coupling reaction of N,N – dimethyl-p-phenylenediamine with 1,3-phenylenediamine and its applications to the determination of copper and iron at trace levels by flow injection technique, **Analytica Chimica Acta**, v. 576, p. 261-269, 2006.

69. MASINI, J. C., Demonstrando os Fundamentos, Potencialidade e Limitações da Análise por Injeção Seqüencial, **Química Nova**, v. 31, n. 3, p. 704-708, 2008.
70. MATTOS, I.L.; SHIRAIISHI, K.A.; BRAZ, A.D.; FERNANDEZ, J.R., Peróxido de hidrogênio: importância e determinação, **Química Nova**, v. 26, n. 03, p. 373-380, 2003.
71. MELLOR, J. W., **Química Inorgânica Moderna** – Tradução CALDAS, A., Editora Globo, Porto Alegre, p. 702-719, 1967.
72. MIRANDA, C. E. S.: CARRILHO, E., Sistema Interfaceado de Análise por Injeção em Fluxo e Eletroforese Capilar (FIA-CE): Desafios, Aplicações e Perspectivas, **Química Nova**, v. 52, n.3, p. 412-419, 2002.
73. MIRANDA, M.B.; HORII, J.; ALCARDE, A.R., Estudo do efeito da Irradiação gamma (^{60}Co) na qualidade da cachaça e no tonel de envelhecimento, **Ciênc. Tecnol. Aliment.** Campinas, v. 26, n.4, p. 772-778, out-dez., 2006.
74. NASCIMENTO, R. F.; CARDOSO, D. R.; LIMA NETO, B. dos S.; FRANCO, D. W. Influência do material do alambique na composição química das aguardentes de cana-de-açúcar. **Química Nova**, São Paulo, v. 21, nº. 6, p. 735-39, 1998.
75. NERY, A.L.P. e BAADER, W.j., Quimiluminescência de peróxido orgânico: geração de estados eletronicamente excitados na decomposição de 1,2-dioxetanos, **Química Nova**, v. 24, n. 05, p. 626-636, 2001.
76. NOVAES, F. V. Teses e análises realizadas para assegurar a qualidade da aguardente brasileira. **O engarrafador Moderno**, nº. 46, p. 79-81, 1996.
77. NOVAES, F. V. Em nome da qualidade da aguardente de cana. **O engarrafador Moderno**, nº. 49, p. 68-73, 1997.
78. NOVAES, F. V. Cachaça de alambique X aguardente industrial. **O engarrafador Moderno** nº. 72, p. 46-49, 2000.
79. OGA, SEIZI, **Fundamentos de Toxicologia**, Editora Atheneu, São Paulo LTDA, 1996.
80. OHLWEILER, O. A. **Química Inorgânica – Volume 1**, Editora Edgard Blücher Ltda, São Paulo, p. 400- 412, 1973.
81. OLIVEIRA, A.P.; GOMES NETO, J.A.; FERREIRA, M.M.C., Uso da análise exploratória de dados na avaliação de modificadores químicos para determinação

- direta e simultânea de metais em álcool combustíveis por GFAAS, **Eclética**, v. 31, n. 1, p. 7-12, 2006.
82. PARAZZI, C., ARTHUR, C.M.; LOPES, J.J.C.; BORGES, M.T.M.R, Avaliação e caracterização dos principais compostos químicos da aguardente de cana-de-açúcar envelhecida em tonéis de carvalho (*Quercus* sp.), **Ciência e Tecnologia de Alimentos** v. 28, n. 01, p. 193-199, 2008.
83. PEDROSA, L. F. C e COZZOLINO, S. M. F., Alterações Metabólicas e Funcionais do Cobre em Diabetes Mellitus, **Revista Nutrição**, Campinas, v. 12, n. 3, p. 213-224, 1999.
84. PINTO, F.G.; ROCHA, S.S.; CANUTO, M.H.; SIEBAL, H.G.L e SILVS, J.B.B, Determinação de Cobre e Zinco em cachaça por espectrometria de absorção atômica com chama usando calibração por ajuste de matriz, **Revista Analytica**, n.17, 2005.
85. PINTO, Geraldo Luiz. Fabricação de Aguardente. Informe Técnico. Viçosa: Universidade Federal de viçosa, p. 16, 1991.
86. PINTO, J.J.; MORENO, C.; GARCÍA-VARGA,M., A very sensitive flow system for the direct determination of copper in natural waters based on spectrophotometric detection, **Talanta**, v. 64, p. 562-565, 2004.
87. POURREZA, N. and HOVEIZAVI, R., Simultaneous preconcentration of Cu, Fe and Pb as methylthymol blue complexes on naphthalene absorbent and flame atomic absorption determination, **Analytica Chimica Acta**, v. 549, p. 124-128, 2005.
88. PRADO, A. G. S. e FARIA, E. A., Aplicação e Modificação Química da sílica gel obtida de areia, **Química Nova**, v. 28, n. 3 p. 544-547, 2005.
89. PRADO, A. L. C. e FONSECA, D. C. B. R. P., Revisão Sobre a Doença de Wilson Relato de Caso, **Revista Saúde**, v. 30, n. 1-2, p. 69-75, 2004.
90. QUEIROS, S. C. N., COLLINS, C. H. e JARDIM, I. C. S. F., Métodos de extração e/ou concentração de compostos encontrados em fluidos biológicos para posterior determinação cromatográfica, **Química Nova**, v. 24, n. 1, p. 68-76, 2001.
91. RAYNER-CANHAM, G. **Descriptive Inorganic Chemistry**, Third Edition, W. H. Freeman and Company, Nova York, 2003.

92. REIS, B. F.. Análise Química por Injeção em Fluxo: Vinte Anos de Desenvolvimento. **Química Nova**, v. 19, n. 01 p. 51, 1996.
93. ROCHA, F. R. P.; MARTELLI, P. B. e REIS, B. F., Experimento Didático Utilizando Sistema de Análise por Injeção em Fluxo, **Química Nova**, v. 23, n. 1, p. 119-124, 2000.
94. ROCHA, S.A.N; DANTAS, A.F.; JAEGER, H.V.; COSTA, A.C.S.; LEÃO, E.S e GONÇALVES, M.R., Spectrophotometric determination of copper in sugar cane spirit using biquinoline in the presence of ethanol and Triton X – 100, **Spectrochimica Acta Part A**, v. 71, p. 1414-1418, 2008.
95. ROLDAN, P.S.; ALCÂNTARA, J.L.; ROCHA, J.C.; PADILHA, C.C.F. and PADILHA, P.M., Determination of Copper, Iron Nickel and Zinc in fuel kerosene by FAAS after adsorption and preconcentration on 2-aminothiazole- modified silica gel, **Ecléptica**, v. 29, p. 33-39, 2004.
96. ROLDAN, P.S.; ALCÂNTARA, I.L.; PADILHA, C.C.F.; PADILHA, P.M., Determination of copper, iron, nickel and zinc in gasoline by FAAS after sorption and preconcentration on silica modified with 2- aminotiazole groups, **Fuel**, v. 84, p. 305-309, 2005.
97. ROUSSEAU, R. W., Handbook of separation process technology, New York: John Wiley & Sons, p. 1010, 1987.
98. ROSSI & FERREIRA, A Quimiluminescência Analítica: do mecanismo a aplicações da reação do luminol em métodos cinéticos de análise, **Química Nova**, v.25, n. 6, p. 1003-1011, 2002.
99. RUTHEVEN, D. M., Principles of Adsorption and Adsorption Processes, John Wiley & Sons: New York, p. 433, 1984.
100. RUTHEVEN, D. M., Encyclopedia of Separation Technology – v. 1, John Wiley & Sons: New York, 1997.
101. RUTHVEN, D. M., The Rectangular Isotherm Model for Adsorption Kinetics, **Adsorption**, 6, p. 287-291, 2000.
102. SANGI, M.R.; JAYATISSA, D.; KIM, J.P.; HUNTER, K.A., Determination of labile Cu^{2+} in fresh waters by chemiluminescence: interference by iron and other cations, **Talanta**, v. 62, p. 924-930, 2004.

103. SANTOS, D. M., Desenvolvimento de Metodologia Analítica para Determinação de íons Cr (VI) em amostras ambientais em nível de traços: pré-concentração em mini-coluna de alumina e dissolução controlada de reagente sólido, associado a FIA, Maceió, 2008, Dissertação, Instituto de Química, Universidade Federal de Alagoas.
104. SARGENTELLI, V.; MAURO, A. E.; MASSABNI, A. C.; Aspectos do metabolismo do cobre no homem. **Química Nova**, São Paulo, v. 19, nº. 3, p. 290-293, 1996.
105. SHAMSIPUR, Mojtaba; POURSAEBI, Tahereh; AVANES, Armen; SHARGHI, Hashem., Copper(II)-selective fluorimetric bulk optode membrane based on a 1-hydroxy-9,10-anthraquinone derivative having two propenyl arms as a neutral fluorogenic ionophore., **Spectrochimica Acta**, Part A, v. 63, p. 9-14, 2006.
106. SHPIGUN, L.K.; SHUSHENACHEV, Ya.V.; KAMILOVA. P.M., Kinetic separation in flow injection spectrophotometry: Simultaneous determination of copper and zinc in a single run, **Analytica Chimica Acta**, v. 573-574, p. 360-365, 2006.
107. SINGH, Ashok Kumar; MEHTAB, Sameena e JAIN, Ajay Kumar, Selective electrochemical sensor for copper (II) ion based on chelating ionophores, **Analytica Chimica Acta**, v. 575, p. 25-31, 2006.
108. SKEGGS, L. T., An automatic method for Colorimetric Analysis, **Am. J. Clin. Pathol.**, v. 28, n. 311, 1957.
109. SKOOG, D. A.; HOLLER, F. J.; NIEMAN, T. A, **Princípios de Análise Instrumental**, 5. Ed. São Paulo: Bookman, 2002.
110. SOROURADDIN, M.H.; MANZOORI, J.L.; IRANIFAM, M., Determination of copper(II) based on its catalytic effect on thiosemicarbazide- H₂O₂- CTMAB chemiluminescence reaction, **Talanta**, v. 66, p. 1117-1121, 2005.
111. SOYLAK, Mustafa e ERDOGAN, Nilgun D., Copper(II) – rubeanic acid coprecipitation system for separation – preconcentration of trace metal ions in environmental samples for their flame atomic absorption spectrometric determination, **Journal of Hazardous Materials**, v. B 137, p. 1035-1041, 2006.
112. SOUSA, K. S., AUGUSTO FILHA, V. L., HUGO, V. e PINTO, A. FONSECA, M.G., ESPÍNOLA, J. G. P. e ARAKAKI, L. N. H., Quimissorção de cátions divalentes em sílica gel modificada com ácido tioglicólico a influência do pH e força iônica, **Química Nova**, v. 30, n. 3, p. 528-534, 2007.

113. STALIKAS, C. D., Micelle-mediated extraction as a tool for separation and preconcentration in metal analysis, **Trends in analytical chemistry**, n. 21, p. 343-355, 2002.
114. STEVANI, C. V. e BAADER, W. J., O Sistema Quimiluminescente Peróxido-Oxalato, **Química Nova**, v. 22, n. 5, 1999.
115. TEIXEIRA, L. S. G.; BRASILEIRO, J F.; Jr., M. M. B e CORDEIRO, P. W. L., Determinação Espectrofotométrica Simultânea de Cobre e Ferro em Álcool Etílico Combustível com Reagentes Derivados da Ferroína, **Química Nova**, v. 29, n. 4, p. 741-745, 2006.
116. TEIXEIRA, L.S.G.; ROCHA, R.B.S.; SOBRINHO, E.V.; GUIMARÃES, P.R.B.; PONTES, L.A.M. e TEIXEIRA, J.S.R., Simultaneous determination of copper and iron in automotive gasoline by X – ray fluorescence after preconcentration on cellulose paper, **Talanta**, v. 72, p. 1073-1076, 2007.
117. TESHIMA, N.; GOTOH, S.; IDA, K.; SAKAI, T., **Analytica Chimica Acta**, v. 557, p. 387-392, 2006.
118. VENDRAMINI, D.; GRASSI, V.; ZAGATTO, E.A.G., Flow- injection determination of copper and nickel in plant digests exploiting differential kinetic analysis and multi-site detection, **Analytica Chimica Acta**, v. 570, p. 124-128, 2006.
119. VIEIRA, D. A. e MENDONÇA, J. K. A Avaliação da contaminação com o cobre na cachaça produzida na região da estrada de ferro-orizona no estado de Goiás.
120. ZAGATTO, E. A. G., OLIVEIRA, C.C. e COLLINS, C. H., Classificação e Definições dos Métodos de Análise em Fluxo (Recomendações – IUPAC 1994), **Química Nova**, v. 22, n. 1, 1994.
121. ZERON, C. A. (Org.) Equipamentos, usos e costumes da casa brasileira. Fichário Ernani Silva Bruno. 1. **Alimentação**. São Paulo: Edusp/ Imprensa Oficial/ Museu da casa Brasileira, 2000.
122. ZHURAVLEV, L. T.; **Langmuir**, 3, 316, 1987.