

**FLAVIANE APARECIDA DE SOUSA**

**EXTRAÇÃO EM FASE SÓLIDA DE ZINCO(II) E COBRE(II) EM  
AMOSTRAS AQUOSAS E DETERMINAÇÃO POR ESPECTROSCOPIA  
DE REFLECTÂNCIA DIFUSA**

Dissertação apresentada à  
Universidade Federal de Viçosa, como  
parte das exigências do Programa de Pós-  
Graduação em Agroquímica, para obtenção  
do título de *Magister Scientiae*.

**VIÇOSA  
MINAS GERAIS – BRASIL  
2009**

**FLAVIANE APARECIDA DE SOUSA**

**EXTRAÇÃO EM FASE SÓLIDA DE ZINCO(II) E COBRE(II) EM  
AMOSTRAS AQUOSAS E DETERMINAÇÃO POR ESPECTROSCOPIA DE  
REFLECTÂNCIA DIFUSA**

Dissertação apresentada à  
Universidade Federal de Viçosa, como parte  
das exigências do Programa de Pós-  
Graduação em Agroquímica, para obtenção  
do título de *Magister Scientiae*.

APROVADA: 11 de fevereiro de 2009.

---

Prof. Carlos Roberto Bellato

---

Prof. César Reis

---

Prof. Efraim Lázaro Reis  
(Coorientador)

---

Prof<sup>a</sup>. Maria Eliana L. R. de Queiroz  
(Coorientadora)

---

Prof. Antônio Augusto Neves  
(Orientador)

## AGRADECIMENTOS

Agradeço a Deus, pelo dom da vida.

Aos meus pais pelo amor e carinho, pelo apoio incondicional em todos os momentos da minha vida. Aos meus irmãos Fábio e Flávia pelo incentivo e por acreditarem sempre na minha capacidade.

Ao meu namorado Raphael pelo apoio, carinho e paciência nos momentos difíceis e pela ajuda na etapa final dos experimentos.

A todos os meus familiares, por todo carinho e torcida. À tia Marlene e Dalma por me incentivarem desde o início.

Aos professores Antônio Augusto Neves e Maria Eliana Lopes Ribeiro de Queiroz, pela orientação, confiança, incentivo, carinho e amizade dedicados a mim durante a realização deste trabalho.

Ao professor Efraim Lázaro Reis pela co-orientação

Aos professores Carlos Roberto Bellato e César Reis pela participação na banca.

À Universidade Federal de Viçosa, particularmente ao Departamento de Química e ao professor Jaime W. Vargas de Mello do Departamento de Solos, que contribuíram para a realização deste trabalho.

Ao CNPq, pela concessão da bolsa de estudos.

À Juliana e Vânia pela convivência e por aguentarem meus choros e “cara fechada” nos momentos difíceis. Cacá e Roberta pela alegria e apoio de sempre.

A todos os amigos do laboratório de química analítica – LAQUA: Leila, Aline, Jussara, Emanuel, Deyse, Érica, Tamires, Erick, Larissa, Armanda, Simone, Gevany, Alessandra, Elisa, Kamilla, Maria Antônia e Ricardo pelo auxílio, amizade e pelos momentos de descontração. Em especial à Renata e Elenice, pela amizade e carinho e pela ajuda nos experimentos.

A todos aqueles não citados aqui, que de alguma forma contribuíram para que esse trabalho fosse realizado.

## **BIOGRAFIA**

FLAVIANE APARECIDA DE SOUSA, filha de Miguel José de Souza e Maria Aparecida de Souza, nasceu em Caratinga, Minas Gerais, em 26 de outubro de 1982.

Em fevereiro de 2002, iniciou o Curso de Graduação em Química, pelo Centro Universitário de Caratinga, diplomando-se em licenciatura em agosto de 2005.

Neste mesmo mês iniciou o curso de Pós Graduação Latu Sensu pelo Centro Universitário de Caratinga, obtendo o título de Especialista em Ensino de Química em setembro de 2006.

Em março de 2007, iniciou o curso de Pós-Graduação em Agroquímica, em nível de mestrado, na Universidade Federal de Viçosa, submetendo-se à defesa de tese em fevereiro de 2009.

# SUMÁRIO

RESUMO	vi
ABSTRACT	vii
1. Introdução	1
2. Revisão Bibliográfica	1
2.1. Metais Pesados	1
2.2. Zinco e cobre	4
2.3. Técnicas analíticas	7
2.4. 1-(2-Piridilazo)2-Naftol (PAN)	12
2.4.1. PAN como reagente analítico	14
3. Material e métodos	16
3.1. Soluções padrão de íons cobre(II) e zinco(II)	16
3.2. Otimização da técnica de extração em fase sólida	16
3.2.1. Impregnação do agente complexante na matriz sólida	16
3.2.2. Tempo de contato das soluções aquosas de cobre(II) e zinco(II) com a matriz impregnada	17
3.2.3. Efeito do pH	17
3.3. Análise por espectroscopia de reflectância difusa	18
3.4. Método otimizado para extração e análise de íons cobre(II) e zinco(II) em solução aquosa pela espectroscopia de reflectância difusa	19
3.5. Curva analítica	19
3.6. Coleta das amostras	20
3.7. Validação do método analítico	20
3.7.1. Linearidade	20
3.7.2. Limite de detecção e limite de quantificação	21
3.7.3. Seletividade	22
3.7.4. Precisão	22
3.7.4.1 Repetitividade	22

3.7.4.2 Precisão intermediária	23
3.7.5 Exatidão	23
3.7.5.1 Comparação de métodos	24
4. Resultados e discussão	25
4.1. Otimização da técnica de extração em fase sólida	25
4.1.1. Impregnação do agente complexante na matriz sólida	25
4.1.2. Tempo de contato das soluções aquosas de cobre (II) e zinco (II) com a matriz impregnada	28
4.1.3. Efeito do pH	30
4.2. Método otimizado para extração de íons cobre (II) e zinco (II) de soluções aquosas e análise por espectroscopia de reflectância difusa	31
4.3. Curva analítica	34
4.4. Validação do método analítico	35
4.4.1. Linearidade	35
4.4.2. Limite de detecção e limite de quantificação	36
4.4.3. Seletividade	39
4.4.4. Precisão	40
4.4.4.1. Repetitividade	41
4.4.4.2. Precisão Intermediária	42
4.4.5. Exatidão	43
5. Conclusões	47
6. Referências bibliográficas	48

## RESUMO

SOUSA, Flaviane Aparecida, M. Sc., Universidade Federal de Viçosa, Fevereiro de 2009. **Extração em fase sólida de zinco(II) e cobre(II) em amostras aquosas e determinação por espectroscopia de reflectância difusa.** Orientador: Antônio Augusto Neves. Coorientadores: Maria Eliana Lopes Ribeiro de Queiroz e Efraim Lázaro Reis.

O objetivo deste trabalho foi desenvolver e adaptar uma metodologia com base na extração em fase sólida associada à espectroscopia de reflectância difusa para determinação de zinco(II) e cobre(II) em amostras aquosas. O método de extração proposto envolve a complexação de íons zinco(II) ou cobre(II), em solução aquosa, na superfície de uma matriz sólida (naftaleno) impregnada com o complexante 1-(2-piridilazo)2-naftol (PAN), formando complexos coloridos. Os complexos formados na superfície da fase sólida foram analisados diretamente por espectroscopia de reflectância difusa na região do VIS. As condições ideais para formação dos complexos, como tempo de contato entre a solução de zinco(II) ou cobre(II) e a fase sólida e o pH ideal da solução foram otimizadas para cada íon metálico separadamente, obtendo uma melhor resposta para o tempo de 60 minutos para ambos os metais. O pH ideal da solução de íons zinco(II) foi 7,5 enquanto que para solução de íons cobre(II) o pH foi 6,00. Foi realizada a validação do método analítico com o objetivo de garantir a confiabilidade dos resultados obtidos pelo método proposto. Parâmetros analíticos como, linearidade, limites de detecção e quantificação, seletividade, precisão e exatidão foram avaliados, obtendo-se resultados satisfatórios na determinação de zinco(II) e cobre(II) em amostras aquosas. O estudo de interferentes mostrou que os íons  $\text{Cd}^{2+}$ ,  $\text{Fe}^{3+}$ ,  $\text{Ni}^{2+}$  e  $\text{Co}^{2+}$  interferem de forma significativa na formação do complexo na fase sólida, sendo necessário, portanto, a separação prévia desses íons em amostras aquosas a serem analisadas pelo método proposto. O método de extração em fase sólida associada à espectroscopia de reflectância difusa, apresentou alta sensibilidade em comparação aos métodos colorimétricos convencionais, obtendo-se limites de detecção iguais a  $0,042$  e  $0,068 \mu\text{mol L}^{-1}$  ( $2,75$  e  $4,32 \mu\text{g L}^{-1}$ ) e limites de quantificação iguais a  $1,39$  e  $0,416 \mu\text{mol L}^{-1}$  ( $90,98$  e  $26,44 \mu\text{g L}^{-1}$ ) para zinco(II) e cobre(II) respectivamente, nas condições otimizadas.

## ABSTRACT

SOUSA, Flaviane Aparecida, M. Sc., Universidade Federal de Viçosa, february, 2009. **Solid phase extraction of zinc (II) and copper (II) in aqueous samples and determination by the diffuse reflectance spectroscopy.** Adviser: Antônio Augusto Neves. Coadvisers: Maria Eliana Lopes Ribeiro de Queiroz and Efraim Lázaro Reis.

The objective of this work was to develop and adapt a methodology based on solid phase extraction associated with the diffuse reflectance spectroscopy for determination of zinc(II) and copper(II) in aqueous samples. The proposed method of extraction involves the complexation of ions zinc(II) and copper(II) in aqueous solution, on the surface of a solid matrix (naphthalene) impregnated with the complex 1-(2-pyridylazo)2-naphthol (PAN), forming colored complex. The complexes formed on the surface of the solid phase were analyzed directly by the diffuse reflectance spectroscopy in the VIS region. The ideal conditions for formation of complex, such as time of contact between the solution of zinc (II) or copper(II) and solid phase and the ideal pH of the solution were optimized for each metal ion separately getting a better response to the time of 60 minutes for both metals. The ideal pH of the solution of zinc ions(II) was 7.5 while for the solution of copper ions(II) the pH was 6.00. We performed the validation of analytical method with the objective of ensuring the reliability of the results by the proposed method. Analytical parameters such as linearity, limits of detection and quantify, selectivity, precision and accuracy were evaluated, obtaining satisfactory results in the determination of zinc (II) and copper (II) in aqueous samples. The study showed that interfering ions  $\text{Cd}^{2+}$ ,  $\text{Fe}^{3+}$ ,  $\text{Ni}^{2+}$  and  $\text{Co}^{2+}$  significantly interfere in the formation of the complex in solid phase, and therefore required prior to the separation of ions in aqueous samples to be analyzed by the method proposed. The method of solid phase extraction associated with the diffuse reflectance spectroscopy, showed high sensitivity compared to conventional colorimetric methods, obtaining limits of detection equal to 0.042 and 0.068  $\mu\text{mol L}^{-1}$  (2.75 e 4.32  $\mu\text{g L}^{-1}$ ) and limits of quantify equal to 1.39 and 0.416  $\mu\text{mol L}^{-1}$  (90.98 e 26.44  $\mu\text{g L}^{-1}$ ) for zinc (II) and copper(II) respectively, under optimal conditions.



## 1. Introdução

A contaminação dos ambientes aquáticos tem crescido muito nos últimos anos e os metais pesados têm aparecido como os contaminantes mais tóxicos e persistentes nesses ambientes, levando à necessidade de monitorar a presença desses elementos através do desenvolvimento de técnicas analíticas sensíveis e seletivas. (CAMPOS, *et al.*, 2002)

O cobre e o zinco são micronutrientes essenciais que participam ativamente na função de diversas enzimas, porém quando presentes em altas concentrações podem ser nocivos. (DUTRA, *et al.*, 2004)

A legislação brasileira estabelece limites máximos permitidos desses metais em ambientes aquáticos (CONAMA, 2005; BRASIL, 2004). Como esses limites são relativamente baixos, técnicas analíticas sensíveis são necessárias para quantificação dos mesmos nesses ambientes.

Baseado nestes princípios, o objetivo do presente trabalho foi desenvolver um método de determinação de íons zinco(II) e cobre(II) em amostras aquosas baseado na extração por fase sólida com posterior análise por espectroscopia de reflectância difusa. Para tanto, o agente complexante PAN, foi impregnado ao naftaleno e posteriormente essa fase sólida foi colocada em contato com solução contendo íons zinco(II) ou cobre(II) formando complexos coloridos que foram analisados por espectroscopia de reflectância difusa. Condições ótimas de análise foram determinadas e o método proposto foi validado.

## 2. Revisão Bibliográfica

### 2.1. Metais Pesados

Os metais são elementos que geralmente possuem capacidade de conduzir calor e eletricidade sendo maleáveis e dúcteis, apresentando alta refletividade e brilho característico, conhecido como brilho metálico. (RUSSEL, 1994). Em razão dessas características vários elementos são caracterizados como metais, necessitando, portanto de subdividi-los em classes químicas diferenciadas, baseadas nas propriedades individuais de cada elemento. Vários termos são utilizados para classificar os metais, como metais de transição, traço, micronutrientes, metais tóxicos e metais pesados (McLEAN & BLEDSOE, 1992).

O termo “metal pesado” tem sido amplamente utilizado para classificar metais associados à contaminação ambiental e a riscos toxicológicos, embora não exista relação direta entre a densidade dos metais e seus efeitos biológicos (DUFFUS, 2002).

Embora muito utilizado, o termo “metal pesado”, não possui uma definição única, variando de acordo com o ramo da ciência que o aborda. A IUPAC não apresenta definição para o termo “metal pesado”. Quimicamente, o termo “pesado” implica elevada densidade. A definição mais antiga na literatura considera “pesado” todo metal com densidade superior a  $7 \text{ g cm}^{-3}$ . Atualmente essa definição tem variado entre diversos autores que definem metais pesados baseados na massa específica. Valores que variam entre 3,5 e  $6,0 \text{ g cm}^{-3}$  têm sido propostos como valores acima dos quais um metal pode ser considerado como metal pesado. Não havendo consistência, há autores que defendem que a idéia de classificar metal pesado com base na densidade deve ser abandonada, pois o critério tem gerado apenas confusão (GUILHERME *et al.*, 2005).

A expressão metal pesado tem sido usada também para designar metais classificados como poluentes do ar, solo, sistemas aquáticos, plantas e alimentos. Os termos elemento-traço ou metal-traço são usados como sinônimos em diversas situações (PUNZ & SIEGHARDT, 1993).

A idéia comum entre as diferentes definições abordadas na literatura é a de serem metais ou metalóides, conhecidos como elementos não essenciais que estão associados com poluição e toxicidade, como por exemplo, Pb, Cd, Hg, As, Tl e U. Também são incluídos alguns elementos que são essenciais para os seres vivos na realização de diversas funções vitais em baixas concentrações como, por exemplo, Co, Cu, Mn, Se e Zn. “Metais tóxicos” é uma alternativa ao termo metais pesados, mas é mais “emotivo” e aplicável somente aos elementos não essenciais (ALLOWAY, 1995).

Níveis excessivos de metais pesados podem ser extremamente tóxicos. Entre os elementos tóxicos que podem estar no meio ambiente os potencialmente tóxicos as plantas, aos animais e ao homem estão: As, Cd, Pb, Hg, Co, Cu, Cr, Ni, Se e Zn. O comportamento e a toxicidade de um elemento dependem do ambiente em que este se encontra, bem como da concentração em que está presente. As condições do meio permitem a formação de diferentes espécies do metal fazendo com que estes metais apresentem mobilidade e biodisponibilidade particulares, que dificultam a previsão do impacto de sua presença naquele ambiente.

Os metais pesados estão presentes naturalmente em solos e em sistemas aquáticos. Mesmo que não haja perturbação antrópica do ambiente, o aumento em sua concentração pode ocorrer tanto em razão de processos naturais quanto por atividades antropogênicas. No solo, o aumento da concentração desses metais têm se dado associado à atividade humana, com destaque para mineração, emissões industriais, uso de lodo de esgoto ou fertilizantes e pesticidas na agricultura, além da disposição de resíduos no solo. Nos ambientes aquáticos, os metais pesados tem sido considerados os contaminantes mais tóxicos e persistentes. Os processos naturais que contribuem para o aparecimento de elementos-traço nos sistemas aquáticos são o intemperismo de rochas e a lixiviação no perfil do solo, enquanto as fontes antropogênicas estão associadas, principalmente, a atividades de mineração e industriais, além da geração de efluentes municipais (AELION & DAVIS, 2007).

Os metais pesados estão normalmente presentes em concentrações na faixa de  $\mu\text{g L}^{-1}$  a  $\text{mg L}^{-1}$  em sistemas aquáticos não-poluídos. Em muitos casos, as concentrações encontradas em rios são bem inferiores àquelas sugeridas

pelas agências ambientais como padrão de qualidade ou potabilidade de água (WHO, 2006). Em razão dessas concentrações serem baixas, torna-se necessário o desenvolvimento de técnicas analíticas altamente eficientes, seletivas e sensíveis, para extração, identificação e quantificação dos mesmos em ambientes aquáticos.

## **2.2. Zinco e cobre**

O zinco é o 23º elemento mais abundante na crosta terrestre, constituindo cerca de 40 e 50% das jazidas minerais. A utilização desse metal se dá desde o século XVI e a partir daí vários pesquisadores estudaram diferentes formas de obtenção de zinco. Na natureza é encontrado na forma de sulfeto (ZnS), principal mineral de interesse comercial. Atualmente, a obtenção do zinco ocorre pela extração do mineral, que pode ser realizada tanto a céu aberto como em jazidas subterrâneas. O mineral extraído é triturado e, posteriormente, submetido a um processo denominado flotação para a obtenção do mineral concentrado. Minerais de zinco são amplamente encontrados em rochas ígneas, principalmente como substituto do ferro. Zinco e seus compostos são utilizados industrialmente na produção de borrachas, tintas, protetores solares, pinturas anticorrosivas, cerâmicas, vidros, etc. (AYLETT, 1973).

O zinco é um elemento essencial para humanos, animais, plantas e microorganismos, e seu conteúdo em humanos gira em torno de 2,0 a 4,0 g. O zinco está presente, sobretudo, nos músculos (60%) e nos ossos (30%), constituindo relevante elemento no corpo. É componente catalítico de muitas enzimas e constituinte estrutural de muitas proteínas. Sua função, provavelmente, está associada à prevenção da formação de radicais livres. (MOCCHEGIANI, *et al.*, 1998). Desempenha papel importante em vários processos biológicos pela inibição ou ativação de reações enzimáticas e pela competição com outros elementos, afetando a permeabilidade de células ou outros mecanismos. O zinco revela-se também um elemento pivô em todo crescimento rápido de tecido, porque é um componente do DNA e RNA

polimerase e possui ação modulatória e protetora no crescimento de células. (DUTRA, *et al.*, 2004). Além disso, participa da síntese do aminoácido triptofano, precursor do AIA (ácido indol acético), um hormônio do crescimento. Esse metal pode existir no solo na forma de minerais primários ou íons Zinco(II) adsorvidos às partículas mais finas, sendo esta última a forma disponível para as plantas. O aumento do pH ou a presença de ânions que levam o zinco a precipitar podem reduzir sua disponibilidade para as plantas no solo (FRAIGE *et al.*, 2007).

O zinco é considerado um elemento essencial devido a essas importantes funções desempenhadas, porém, em altas concentrações pode ser nocivo. Concentrações elevadas de sal de zinco podem causar queimaduras cáusticas externas e inflamações internas dos órgãos digestivos. (DUTRA, *et al.*, 2004). É considerado tóxico quando inalado na forma de “fumaça de óxido”. Nesse caso observam-se sintomas como diarreia, vômitos e febre, porém esse quadro é de fácil recuperação visto que o zinco não apresenta efeito cumulativo (TSALEV & ZAPRIANOV, 1984).

O cobre é um metal de transição, avermelhado, que apresenta alta condutibilidade elétrica e térmica, só superada pela prata. Na maioria de seus compostos apresenta estados de oxidação baixos, sendo o mais comum o +2, ainda que existam alguns com estado de oxidação +1. Conhecido desde a antiguidade é utilizado, atualmente, para a produção de materiais condutores de eletricidade (fios e cabos), onde é empregado no estado puro. As propriedades mecânicas do cobre (capacidade de deformação e ductibilidade) e sua inalterabilidade se destacam mais em ligas metálicas, como por exemplo o latão e o bronze.

Existe uma tendência em usar o cobre em circuitos integrados em substituição do alumínio, de menor condutividade. Ele é também utilizado na cunhagem de moedas (com o níquel industrial), na agricultura, na purificação da água e como conservante da madeira. Na natureza são encontrados dois isótopos estáveis:  $\text{Cu}^{63}$  e  $\text{Cu}^{65}$ , sendo o  $\text{Cu}^{63}$  o mais abundante (69,17%).

O cobre era tido até o século XIX somente como um metal tóxico, não havendo ainda estudos sólidos relacionados à sua essencialidade no organismo. Somente a partir do século XX este metal passou a ser visto como

constituente fisiológico dos organismos vivos e não mais como contaminante (MELO, 2003).

O cobre é um micronutriente essencial que participa ativamente na função de inúmeras enzimas, atuando também no sistema nervoso central (formação da mielina). Além disso, participa no transporte de elétrons, além do oxigênio. O cobre tem importância biológica como agente transportador de oxigênio em diversas enzimas do grupo das oxidases, em invertebrados e na fotossíntese.

No corpo humano este elemento está distribuído nos ossos, tecidos, músculos, plasma e soro sanguíneo, saliva e órgãos, comprovando a essencialidade e importância funcional no organismo.

Porém, presente em concentrações elevadas no organismo esse elemento pode ser nocivo. Intoxicação aguda pelo cobre pode causar vômitos, diarreia, dores de cabeça, ou até mesmo hepatite crônica que pode levar a uma cirrose ou necrose hepática (PRASSAD & OBERLEAS, 1976).

Em relação às necessidades e recomendações de cobre, durante as décadas de 30 e 40, foi realizada uma série de estudos, com o objetivo de estimar as primeiras recomendações estabelecidas para esse nutriente. (BARBOSA *et al.*, 2008). Atualmente esses valores são rigorosamente controlados pela legislação.

Os limites máximos permitidos de cobre e zinco em águas destinadas ao consumo humano são estabelecidos por órgãos como CONAMA, pela resolução nº357 de 17 de março de 2005 (CONAMA, 2005), que estabelece parâmetros de qualidade para águas superficiais usadas para diversas atividades ou até mesmo para consumo humano após tratamento, bem como pelo Ministério da Saúde pela portaria 518 que estabelece padrões de potabilidade da água (BRASIL, 2004). Os limites máximos permitidos, de acordo com a Resolução do CONAMA e do Ministério da Saúde estão na Tabela 1.

Tabela 1- Limites máximos permitidos de Zn e Cu em águas

Elemento	LMP (mg L <sup>-1</sup> )	
	CONAMA (*)	Ministério da Saúde(**)
Zn	0,180	5,000
Cu	0,009	2,000

\*Resolução nº 357 do CONAMA, 2005.

\*\*Portaria nº 518 do Ministério da Saúde

### 2.3. Técnicas Analíticas

A preocupação em preservar o meio ambiente vem, atualmente, tomando novas dimensões dentro dos diversos setores da sociedade mundial. A importância da preservação dos recursos hídricos tem levado à necessidade de monitorar e controlar a contaminação destes ambientes, e os metais pesados estão entre os contaminantes mais tóxicos e persistentes do ambiente aquático. Portanto, suas fontes, transporte e destino precisam ser avaliados.

Para tanto, tem se tornado cada vez mais necessário o aprimoramento de técnicas de especiação e quantificação de metais pesados. Para a especiação e quantificação de metais, vários métodos analíticos eficientes, apropriados para análises de rotina e adequados para monitoramento do elemento têm sido desenvolvidos e propostos.

As técnicas de extração têm se tornado uma boa alternativa na concentração de analitos possibilitando análise de elementos em baixas concentrações. Estas técnicas têm sido aprimoradas também para análise de rotina, pois diminuem o risco de contato do analista com substâncias prejudiciais à saúde. Pela utilização destas técnicas os analitos são extraídos e ou pré-concentrados tornando possível a análise dos componentes de interesse. O objetivo de se usar técnicas de extração é de se obter uma sub-fração da amostra original enriquecida com os analitos de interesse. (QUEIROZ & JARDIM, 2001). Para analisar a presença de metais pesados em uma determinada amostra, é necessário que os mesmos sejam extraídos totalmente

da matriz, garantindo assim a obtenção correta do grau de contaminação da amostra (CARASEK *et al.*, 2002).

Dentre as técnicas de extração normalmente utilizadas para concentrar metais, destacam-se a extração líquido-líquido (LLE), a extração em ponto nuvem e a extração em fase sólida (SPE).

A extração líquido-líquido é uma técnica simples, que não requer o uso de instrumentação especial. Na extração líquido-líquido ocorre a partição da amostra entre duas fases imiscíveis (orgânica e aquosa) que se encontram em equilíbrio termodinâmico. Geralmente, efetua-se a transferência dos solutos contidos na fase aquosa para a fase orgânica mediante o contato intensivo entre as duas fases imiscíveis. A eficiência da extração depende, portanto da afinidade do soluto pelo solvente de extração. É uma técnica bastante sensível e seletiva, porém, possui a desvantagem de usar grande quantidade de solventes orgânicos, gerando problemas de descarte, além da separação de fases ser freqüentemente complicada pela formação de emulsão. O processo é suscetível a erros e, relativamente, de difícil automação (QUEIROZ *et al.*, 2001).

Para a extração líquido-líquido de íons metálicos em amostras aquosas, um novo fator deve ser considerado. Nesses casos é necessário induzir a formação de complexos metálicos que sejam facilmente transferidos para a fase orgânica. Neste caso deve-se levar em consideração a partição do ligante entre as duas fases, a partição do complexo e dependência da complexação com o pH. Um grande número de publicações é encontrado envolvendo essa técnica de extração para metais (CARASEK *et al.*, 2002; LIANG, *et al.*, 2009; PARK & FRAY, 2009).

O uso de micelas de surfactantes para pré-concentração e ou separação de analitos tem sido bastante empregado na química analítica. Soluções aquosas de certas micelas de surfactantes exibem comportamento de separação de fases com rápida turbidez da solução em função da alteração da temperatura, conhecida como temperatura do ponto nuvem. Acima da temperatura de ponto nuvem são formadas duas fases, e após certo tempo (ou após a centrifugação), duas fases líquidas são obtidas: uma que contém alta concentração de surfactante e os componentes extraídos da solução da amostra, denominada fase rica, e outra fase aquosa, que contém uma pequena



concentração de surfactante próxima a concentração micelar crítica denominada fase pobre (SUSSULINI & ARRUDA, 2006; FARIA, *et al.*, 2005). Este procedimento tem evidenciado várias vantagens com relação à extração líquido-líquido convencional, tais como menor custo, maior segurança e simplicidade e excelentes fatores de pré-concentração. Em geral a fase extratora é menos tóxica e seu volume é muito pequeno. Esta técnica de extração tem sido utilizada na pré-concentração de vários metais, onde espécies hidrofóbicas formadas entre metais e agentes quelantes em solução aquosa interagem com as micelas, sendo extraídas da solução e pré-concentradas na fase rica em surfactante (SILVA & GINE, 2006; GHAEDI, *et al.*, 2008).

Os métodos de pré-concentração baseados na extração em fase sólida tem ganhado ênfase nos últimos anos. Isso se deve fundamentalmente a dois fatores: desenvolvimento de sistemas adsorventes seletivos, que geralmente são formados por sorventes clássicos (silica, alumina, resina de troca iônica, etc), além da facilidade para manipulação e processamento de fases sólidas, que podem ser eluídas, dissolvidas ou analisadas diretamente (PONCE, 1995).

A extração em fase sólida consiste em concentrar e purificar um analito de uma solução pela retenção do mesmo, após contato com uma fase sólida, e posterior eluição com um solvente apropriado, seguido de sua análise instrumental.

A extração em fase sólida pode ser realizada em batelada, onde o sólido extrator é diretamente misturado à solução da amostra, ou realizada em fluxo, onde um fluxo constante atravessa um pequeno tubo, disco ou cartucho contendo a fase sólida empacotada (DANTAS, 2004).

A retenção do analito na fase sólida pode ocorrer pela interação direta da espécie com a fase sólida, pela retenção do produto da reação entre o analito e um reagente, ou pela retenção do analito por um reagente previamente imobilizado no suporte sólido. A aplicação de uma dessas estratégias dependerá da espécie química a ser analisada, do suporte sólido e da reação envolvida (ROCHA & TEIXEIRA, 2004).

A determinação de metais pesados, tais como o zinco e cobre é um problema clássico na Química Analítica. Assim sendo, um grande número de

técnicas envolvendo diferentes reagentes e estratégias são freqüentemente propostas para essa finalidade.

Uma técnica bastante utilizada na determinação de metais em amostras sólidas é a espectrometria de emissão ótica com plasma indutivamente acoplado (ICP-OES). Esta é uma técnica altamente sensível para análise simultânea de metais e executa grande número de determinações em muito pouco tempo. Porém, a medição simultânea, embora mais rápida, não é aplicada a todos os tipos de amostras, porque as configurações já vêm pré-determinadas na montagem do equipamento (GORECKA *et al.*, 2006).

Em amostras aquosas, o método de determinação de metais mais utilizado é a espectrometria de absorção atômica (EAA). Essa técnica é simples, rápida e aplicável a um grande número de íons metálicos, desde que estejam em solução ou solubilizados por alguma forma de processamento da amostra (LAJUNEN, 1992). A espectrometria de absorção atômica constitui um método analítico para a determinação de elementos em pequenas quantidades. A técnica utiliza basicamente o princípio de que átomos livres (estado gasoso) gerados em um atomizador são capazes de absorver radiação de freqüência específica que é emitida por uma fonte espectral e a quantificação obedece desta forma, os princípios da lei de Beer (BORGES *et al.*, 2005; PINTO *et al.*, 2005; CALDAS *et al.*, 2009).

Desde o início do século vários métodos de identificação e quantificação de espécies químicas em solução têm sido desenvolvidos. Neles o princípio básico é fundamentado nos fenômenos óticos de absorção e transmissão da radiação eletromagnética. Dentre esses métodos, se têm os métodos espectroscópicos de absorção nas regiões do ultravioleta, visível, infravermelho, entre outros. Nesses métodos a amostra é tratada de forma a se tornar um meio transparente em que a radiação monocromática atravessa e a luz transmitida ou emitida é detectada. Dependendo do comprimento de onda da radiação eletromagnética incidente, do fenômeno que ocorre na interação dessa radiação com as espécies químicas e do detector têm-se as diferentes técnicas de análise qualitativa e quantitativa hoje disponíveis (NEVES, 2001).

Os métodos espectrofotométricos aparecem como uma alternativa na determinação de metais em amostras aquosas. Basicamente ocorre a formação de complexos coloridos com os metais de interesse e estes são

determinados por espectroscopia na região do visível. Bons resultados têm sido obtidos em comparação com outras técnicas de análise (MAKINO, 1999; MORENO & VARGAS, 2004; ROCHA *et al.*, 2008).

Os métodos colorimétricos, quando associados à técnicas de separação e/ ou pré-concentração de analitos aparecem como uma boa alternativa para determinação de metais pesados em matrizes complexas (ARENA *et al.*, 2003), apresentando alta seletividade, alta sensibilidade, baixos custos e facilidade de execução (SOARES, 2008).

Na análise de íons metálicos após extração em fase sólida, os mesmos podem ser eluídos da fase sólida e passados novamente à solução ou podem ser analisados na própria matriz. No primeiro caso, em que os íons metálicos são removidos para a solução podem ser analisados por espectrofotometria ou outra técnica de análise adequada (PONCE, 1995; TUZENA *et al.*, 2009). No segundo caso, em que o analito é analisado na própria matriz, usa-se a espectroscopia de reflectância difusa (SOARES, 2008).

A espectrofotometria em fase sólida consiste na medida de absorção de radiação em um suporte sólido no qual a espécie de interesse foi retida previa ou simultaneamente, permitindo aumento de sensibilidade e melhoria dos limites de detecção e da seletividade das medidas. A técnica permite a concentração do analito, explorando a acumulação da espécie de interesse em um pequeno volume da fase sólida, resultando em aumento de sensibilidade e melhoria dos limites de detecção. A seletividade das medidas é geralmente melhor que a observada em medidas em solução (TEIXEIRA & ROCHA, 2003).

Utilizando este princípio, analitos podem ser extraídos de amostras de água para um adsorvente sólido impregnado com um reagente colorimétrico e, em seguida, quantificados diretamente sobre a superfície do adsorvente utilizando espectroscopia de reflectância difusa (GAZDA *et al.*, 2004; HILL *et al.*, 2009).

A espectroscopia de reflectância difusa é uma técnica de análise que se baseia na medida da intensidade da radiação refletida em todas as direções por uma amostra opaca e ou finamente dividida (SPRINGSTEEN, 1998).

Pela espectroscopia de reflectância difusa pode se obter informações qualitativas e quantitativas, sobre a natureza química da amostra. As informações qualitativas dizem respeito à capacidade de que cada grupo

funcional da molécula orgânica tem de absorver energia, em determinada região do infravermelho, para promoção de vibração entre dois centros (átomos) que compõem determinada ligação. Já a quantificação dessas informações químicas segue a função Kubelka-Munk que relaciona os espectros de reflectância difusa com a concentração de cada molécula presente na amostra, transformando o espectro de reflectância difusa em formato que se assemelha a um espectro de absorbância. Por essa razão a análise da função Kubelka-Munk é conhecida como a Lei de Beer da espectroscopia de reflectância difusa (FURTADO *et al.*, 2003). A função Kubelka-Munk é representada por:

$$F(R) = \frac{(1 - R)^2}{2R}$$

onde R é a reflectância difusa absoluta do feixe, ou seja, a razão entre a intensidade refletida pela amostra e a de um padrão não absorvente.

Recentemente a reflectância difusa na região do visível e do infravermelho tem se tornado uma importante ferramenta, podendo fornecer informações sobre uma amostra sem a necessidade de destruí-la. Dessa forma, esta técnica tem sido aplicada em diversas áreas ambientais e alimentícias e principalmente na indústria farmacêutica (GOTARDO *et al.*, 2007; TUBINO & SOUZA, 2006).

A utilização da espectroscopia de reflectância difusa na determinação de íons metálicos em amostras aquosas após passarem por um processo de extração em fase sólida se mostrou bastante eficaz, alcançando resultados compatíveis à análise por espectrometria de absorção atômica, mostrando-se, portanto uma técnica precisa, exata e de baixo custo (SOARES, 2008).

As medidas em fase sólida têm se mostrado uma alternativa bastante útil para aumento de sensibilidade em espectrofotometria, permitindo a melhoria dos limites de detecção e a análise de traços em diferentes tipos de amostra. Outra característica importante é a melhoria de seletividade em relação aos procedimentos convencionais. Apesar do número considerável de aplicações propostas, a técnica apresenta ainda grandes potencialidades, incluindo investigações visando o desenvolvimento de procedimentos limpos; para de-

terminações in-situ; determinações simultâneas; especiação química e medidas cinéticas (TEIXEIRA & ROCHA, 2003).

#### 2.4. 1-(2-Piridilazo)2-Naftol (PAN)

O 1-(2-Piridilazo)-2-Naftol, PAN, é um sólido alaranjado, de massa molar 249,28 g mol<sup>-1</sup> e possui ponto de fusão entre 140 e 142 °C (Figura 1). É bastante estável no estado sólido e praticamente insolúvel em água, porém solúvel em solventes orgânicos e em soluções fortemente ácidas ou alcalinas, onde mantêm sua coloração alaranjada. (PONCE, 1995).

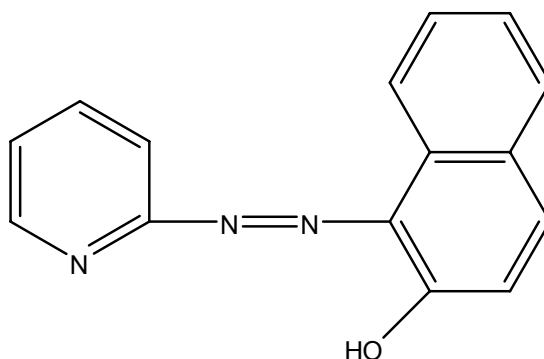
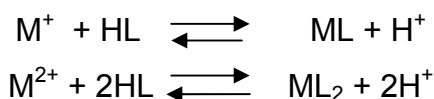


Figura 1- Fórmula estrutural do 1-(2-Piridilazo)-2-Naftol.

O PAN reage com vários metais formando complexos intensamente coloridos. A reação entre esse complexante e os íons metálicos ocorre numa faixa de pH entre 2,5 e 12,0 na qual o complexante encontra-se presente basicamente na forma neutra (Figura 2). A razão molar metal: ligante apresentada pelos complexos metálicos de PAN é tipicamente 1:1 e 1:2, como pode ser representada pelo seguinte equilíbrio: (PONCE, 1995)



Onde M é o metal e HL é a forma neutra do PAN.

As estruturas dos complexos formados entre metal e PAN são representadas na Figura 3 (ANJOS, 1992).

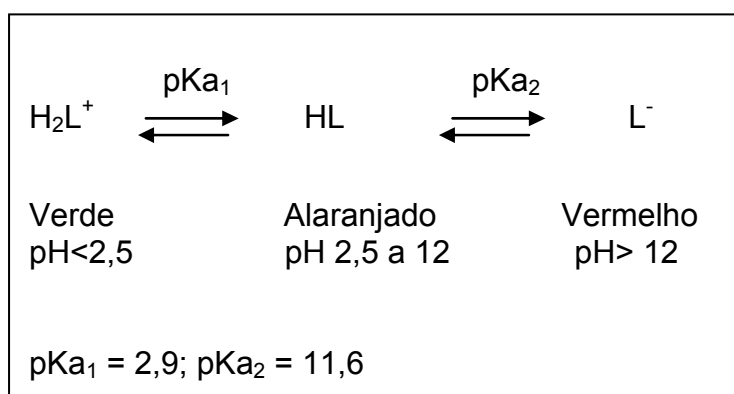


Figura 2 - Representação do equilíbrio ácido-base do PAN (CHENG *et al.*, 1982)

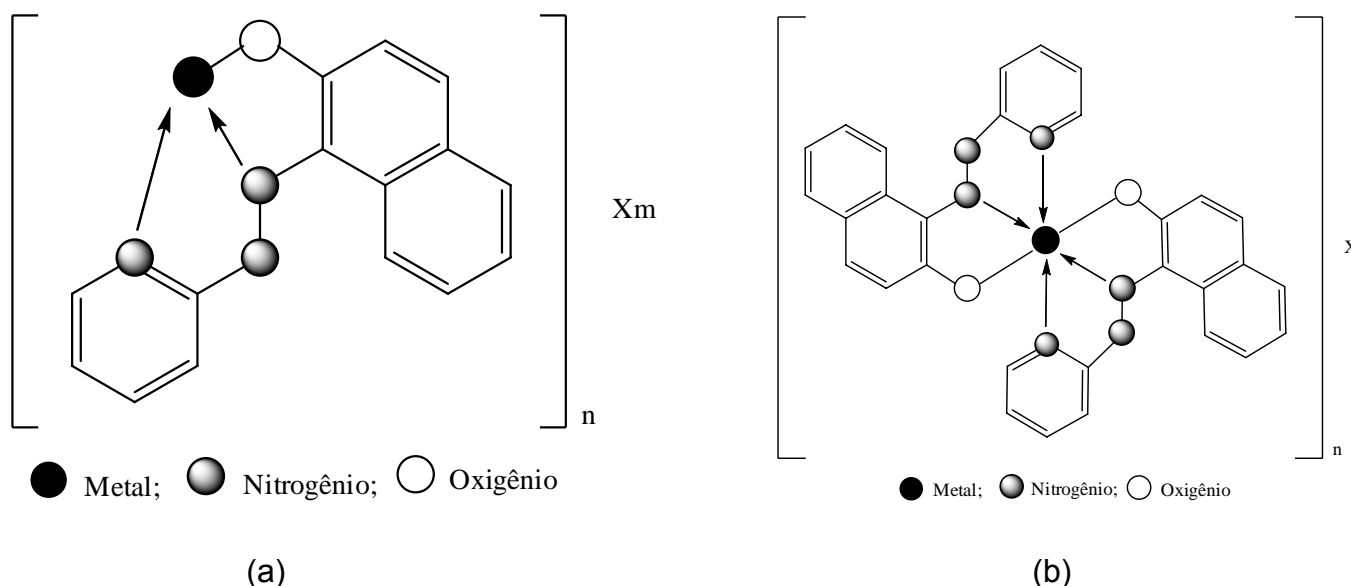


Figura 3 - Estruturas dos complexos metal-PAN. (a) Razão molar 1:1 metal: ligante onde  $n = 1$  ou  $2$ ,  $m = 0, 1$  ou  $2$  e  $X$  um ânion univalente ou bivalente;; (b) razão molar 1:2 metal: ligante onde  $n = 1$ ,  $m = 0$  ou  $1$  e  $x$  um ânion univalente ou bivalente.

#### 2.4.1. PAN como Reagente Analítico

Segundo CHENG e BRAY (1955), o PAN foi sintetizado entre 1915 e 1918 por Tschitschibabin, acoplando o 2-piridilazotato de sódio com  $\beta$ -naftol em álcool absoluto e em atmosfera de gás carbônico. Esses autores propuseram o uso do PAN como reagente analítico, dando início a uma série de estudos que tem como objetivo a sua utilização em diferentes técnicas analíticas.

O fato desse reagente ser pouco solúvel permite sua utilização em técnicas espectrofotométricas, mediante extração com solventes orgânicos apropriados. Em estudos realizados por SHIBATA (1961) sobre o comportamento de complexos formados entre íons metálicos com PAN após extração com solventes orgânicos, verificou-se que o PAN é um reagente colorimétrico sensível e seletivo para vários metais, quando se faz o controle adequado do pH do meio reacional.

Estudos envolvendo o complexante PAN destacam as técnicas cromatográficas, espectrofotométricas, titulação complexométrica e extração com solventes orgânicos.

Recentemente o PAN tem sido bastante utilizado na determinação de metais em nível de traço, imobilizado em resinas de troca iônica (VUKOVIC *et.al.*, 2007) e até mesmo em suporte sólido como o naftaleno (ANJOS, 1992; PONCE, 1995). Os complexos coloridos formados entre o PAN e vários metais podem ser imobilizados em uma matriz sólida e analisados posteriormente.

### **3. Materiais e métodos**

#### **3.1. Soluções padrão de íons cobre(II) e zinco(II)**

Foram preparadas soluções padrão a  $1000,0 \mu\text{mol L}^{-1}$  de íons cobre(II) e zinco(II). Para o preparo da solução de íons zinco(II), uma massa de 0,0743 g de  $\text{Zn}(\text{NO}_3)_2 \cdot 6\text{H}_2\text{O}$  (PA, ECIBRA) foi dissolvida em água e o volume da solução aferido para 250,0 mL em balão volumétrico. Uma massa de 0,0624 g de  $\text{CuSO}_4 \cdot 5\text{H}_2\text{O}$  (PA, DINAMICA) foi dissolvida em água e o volume da solução foi aferido para 250,0 mL em balão volumétrico. Soluções padrão nas concentrações desejadas foram preparadas a partir de diluição em água das soluções padrão estoque. As concentrações dessas soluções foram aferidas pela análise por absorção atômica.

#### **3.2. Otimização da técnica de extração em fase sólida**

O método proposto envolve a associação da técnica de extração em fase sólida dos íons zinco(II) e cobre(II) contidos em solução aquosa pela formação de complexos coloridos na superfície de uma matriz sólida (naftaleno) impregnada com um complexante, PAN, 1-(2-piridilazo-2-naftol) com posterior análise por espectroscopia de reflectância difusa. As condições ideais da formação dos complexos na fase sólida foram avaliadas com o objetivo de otimizar o processo.

##### **3.2.1. Impregnação do agente complexante na matriz sólida**

Para a impregnação do agente complexante PAN na matriz sólida, naftaleno (NAF) foi empregada a técnica descrita por CRUZ, (2005), com algumas modificações. Uma massa de 0,0300 g de PAN foi dissolvida juntamente com 10,0000 g de naftaleno em 50,0 mL de acetona e a solução agitada por cinco minutos até a completa solubilização. À solução foram



adicionados 250 mL de água destilada, promovendo a precipitação de cristais de naftaleno impregnados com o agente complexante. O sólido foi separado por filtração à vácuo em papel de filtro e seco a 40 °C. A matriz sólida foi guardada em frasco fechado em dessecador.

### **3.2.2. Tempo de contato das soluções aquosas de cobre(II) e zinco(II) com a matriz impregnada**

À 10,0 mL de solução aquosa contendo íons cobre(II) ou Zinco(II) na concentração de 10,0  $\mu\text{mol L}^{-1}$  foi acrescentado 0,8000 g do naftaleno impregnado com PAN (NAF/PAN). A mistura foi agitada com bastão de vidro e deixada em contato por 15; 30; 45; 60; 90; 120 e 150 minutos. Os ensaios foram realizados em triplicata e os sólidos separados, após o tempo estabelecido, por filtração à vácuo em papel de filtro e postos para secar em placas de petri, em estufa a aproximadamente 40 °C durante quatro horas. As amostras sólidas obtidas foram trituradas e analisadas por espectroscopia de reflectância difusa na região do visível (390 a 700 nm). Os resultados foram avaliados pela medida da intensidade das bandas dos espectros do inverso da reflectância em 502 nm para o zinco e 498 nm para o cobre.

### **3.2.3. Efeito do pH**

O efeito do pH da solução aquosa na formação do complexo entre os íons metálicos e o PAN impregnado foi avaliado pela intensidade das bandas do inverso da reflectância difusa da matriz sólida após contato com a solução aquosa contendo o íon. Neste caso, 0,8000 g da matriz impregnada com PAN foi colocada em contato com 10,00 mL de solução de cobre(II) ou de zinco(II) na concentração de 10,0  $\mu\text{mol L}^{-1}$ , em diferentes valores de pH. As soluções de cobre(II) tiveram seus valores de pH ajustados em 4,0; 6,0; 7,5; 8,0; 9,0; 10,0 e 11,0. As soluções de zinco(II) tiveram seus valores de pH ajustados para 4,0; 6,0; 8,0; 8,5; 9,0; 10,0 e 11,0. Todas as soluções foram deixadas em contato durante 60 minutos. As matrizes sólidas foram separadas por filtração à

vácuo, secas em estufa a aproximadamente 40 °C por quatro horas e então analisadas por espectroscopia de reflectância difusa na região do visível. O pH ideal das soluções dos metais para a formação do complexo na fase sólida foi determinado pelos valores máximos do inverso da reflectância difusa em 502 nm para o zinco(II) e 498 nm para cobre(II). Estes ensaios foram realizados em triplicata.

### 3.3. Análise por espectroscopia de reflectância difusa

As matrizes sólidas, após extração dos íons metálicos da solução, foram secas em estufa a 40 °C por quatro horas e finamente trituradas em gral de ágata, e levemente prensadas no porta-amostras (Figura 4). Para tal procedimento, a lâmina de alumínio foi colocada sobre uma placa de vidro envolvida por um papel alumínio, tendo sua abertura preenchida com a amostra a ser analisada e levemente prensada.

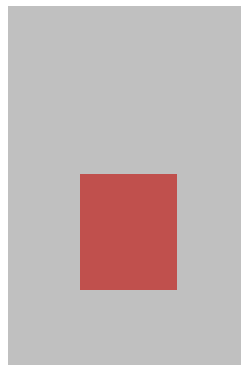


Figura 4 - Representação do porta-amostras utilizado na análise por reflectância difusa, contendo a matriz sólida prensada.

Os espectros de reflectância difusa foram adquiridos em um espectrofotômetro de duplo feixe da GBC 20, modelo CINTRA, na região do visível do espectro eletromagnético, com uma faixa de varredura estabelecida entre 390-700 nm. A velocidade da varredura foi de 100 nm/mim. As medidas de reflectância foram adquiridas de 0,5 em 0,5 nm e em uma largura de fenda de 2,0 mm.

Os dados espectrais foram arquivados no formato adequado do “software” que gerencia o equipamento e em ASCII. Usando o “software” comercial, ORIGIN, esses dados foram incorporados à uma planilha eletrônica, onde foram processados com a finalidade de se obter os dados de interesse, no formato desejado.

Dos espectros de reflectância difusa, foram obtidos os dados do inverso de reflectância ( $1/R$ ) e da função Kubelka-Munk para os complexos formados.

### **3.4. Método otimizado para extração e análise de íons cobre(II) e zinco(II) em solução aquosa pela espectroscopia de reflectância difusa.**

O método otimizado de extração de íons cobre(II) e zinco(II) de amostras aquosas, pela matriz sólida de naftaleno impregnado com PAN e análise por espectroscopia de reflectância difusa foi: 10,00 mL de soluções de cobre(II) em concentrações de 1,0 a 45,0  $\mu\text{mol L}^{-1}$  e soluções de zinco(II) em concentrações de 1,0 a 40,0  $\mu\text{mol L}^{-1}$  foram colocadas em contato com 0,8000 g da matriz sólida impregnada com o complexante (NAF/PAN), agitadas com bastão de vidro e deixadas em contato por 60 minutos. As soluções de cobre tiveram seus valores de pH ajustados para 6,0 e as soluções de zinco foram ajustadas para pH 7,5. Após contato com soluções de cobre foram formados complexos de coloração marrom enquanto que com as soluções de zinco foram formados complexos vermelhos. Após a etapa de extração em fase sólida, os sólidos foram separados por filtração a vácuo com papel de filtro e postos para secar em placas de petri, em estufa a aproximadamente 40 °C por quatro horas. As matrizes sólidas obtidas foram analisadas por espectroscopia de reflectância difusa na região do visível.

### **3.5. Curva Analítica**

Soluções padrão de cobre(II) nas concentrações de 1,0; 5,0; 10,0; 15,0; 20,0; 30,0; 40,0 e 45  $\mu\text{mol L}^{-1}$ , em pH 6,0 e soluções de zinco(II) nas concentrações de 1,0; 5,0; 10,0; 15,0; 20,0; 30,0 e 40,0  $\mu\text{mol L}^{-1}$  em pH 7,5

foram submetidas ao processo de extração descrito no item 3.4 e foram analisadas por espectroscopia de reflectância difusa como descrito no item 3.3. Pelos dados do inverso da reflectância em 502 nm para o zinco(II) e 498 nm para o cobre(II) foram determinadas as concentrações dos íons metálicos presentes nas soluções aquosas, através da equação de regressão linear da curva de calibração.

### **3.6. Coleta das amostras**

As amostras de água utilizadas nesse estudo foram coletadas em torneira do Laboratório de Química Analítica da Universidade Federal de Viçosa (LAQUA), em um ponto de captação de água da UFV e da cidade de Viçosa no Ribeirão São Bartolomeu. Foram coletadas também amostras de água do córrego do Curtume na cidade de Vazante, MG. As amostras foram armazenadas em recipientes plásticos a temperatura ambiente.

### **3.7. Validação do método analítico**

Órgãos como IUPAC, ANVISA, INMETRO e outros publicam normas para validação de métodos analíticos como um requisito fundamental no credenciamento para qualidade assegurada e demonstração de competência técnica utilizada na análise.

Os parâmetros de desempenho analítico avaliados no método proposto foram: linearidade, limite de detecção, limite de quantificação, seletividade, precisão e exatidão.

#### **3.7.1. Linearidade**

A linearidade foi determinada pela extração e análise de soluções padrão de cobre(II) em concentrações de 1,0 a 45  $\mu\text{mol L}^{-1}$  e soluções de

zinco(II) nas concentrações de 1,0 a 40  $\mu\text{mol L}^{-1}$ , conforme procedimento descrito no item 3.3 e 3.4. Após análise por espectroscopia de reflectância difusa, foram construídas as curvas analíticas, para cada um dos íons, separadamente, relacionando a amplitude máxima do inverso da reflectância em 502 nm para o zinco(II) e 498 nm para o cobre(II) com as concentrações de cada íon presente nas soluções. A linearidade foi avaliada pelos coeficientes de correlação obtidos da regressão linear dentro da faixa de trabalho analisada.

### 3.7.2. Limite de detecção e limite de quantificação

O limite de detecção para métodos espectrofotométricos é estabelecido como sendo a concentração do analito que proporciona um sinal ( $y_B$ ) igual a média de repetições do branco ( $\bar{y}_B$ ) mais três vezes o desvio padrão do branco ( $S_B$ ). Já o limite de quantificação pode ser estabelecido como a concentração do analito que proporciona um sinal ( $y_B$ ) igual a média de repetições do branco ( $\bar{y}_B$ ) mais dez vezes o desvio padrão do branco ( $S_B$ ) (MILLER & MILLER, 1993).

Assim para o limite de detecção, temos que:

$$y_B = \bar{y}_B + 3 * S_B$$

e para o limite de quantificação:

$$y_B = \bar{y}_B + 10 * S_B$$

Para determinação da média ( $\bar{y}_B$ ) e do desvio padrão do branco ( $S_B$ ), 7 amostras do branco (naftaleno impregnado com PAN), foram analisados pelo método proposto, sob as mesmas condições de análise. Os valores dos sinais obtidos ( $y_B$ ) foram substituídos na equação da reta obtida na regressão linear da curva analítica para soluções de cobre(II) e zinco(II), de forma a se determinar as concentrações correspondentes aos limites de detecção e quantificação para ambos os metais em estudo.

### 3.7.3. Seletividade

A seletividade do método foi avaliada pela análise de soluções de cobre(II) e de zinco(II) na presença de alguns interferentes em diferentes concentrações, pelo método proposto.

Para avaliar possíveis interferentes na formação do complexo cobre(II)-PAN na matriz sólida, foi avaliada isoladamente a presença dos seguintes íons metálicos:  $\text{Ni}^{2+}$ ;  $\text{Cd}^{2+}$ ;  $\text{Fe}^{3+}$ ;  $\text{Co}^{2+}$  e  $\text{Zn}^{2+}$ . Já na análise de interferentes na formação do complexo zinco(II) - PAN foram avaliadas separadamente a presença de  $\text{Ni}^{2+}$ ;  $\text{Cd}^{2+}$ ;  $\text{Fe}^{3+}$ ;  $\text{Co}^{2+}$  e  $\text{Cu}^{2+}$ . Para tanto, soluções de cobre(II) ou zinco(II) na concentração de  $20,0 \mu\text{mol L}^{-1}$  foram preparadas na presença de cada interferente nas concentrações de 5,0; 10,0; 20,0; 40,0 e  $50 \mu\text{mol L}^{-1}$ . As misturas obtidas, foram colocadas em contato com 0,8000 g da fase sólida e os sólidos analisados pelos procedimentos descritos nos itens 3.3 e 3.4. Os efeitos dos íons metálicos foram avaliados pelas medidas das intensidades das bandas dos espectros do inverso da reflectância em 502 nm para soluções de zinco(II) e 498 nm para soluções de cobre(II).

### 3.7.4. Precisão

A precisão de um método de análise pode ser avaliada pela estimativa do desvio padrão relativo (RSD), ou pelo coeficiente de variação (CV). Em métodos de análise de traços ou impurezas, são aceitos RSD de até 20%, dependendo da complexidade da amostra. (RIBANI, *et al*, 2004)

A precisão do método proposto foi avaliada sob condições de repetitividade e precisão intermediária.

#### 3.7.4.1. Repetitividade

A repetitividade do método de extração em fase sólida associada à espectroscopia de reflectância difusa para análise de íons cobre(II) e zinco(II) em solução aquosa foi determinada realizando-se a extração de cobre(II) ou

zinco(II) de amostras aquosas fortificadas com 5,00 10,0 e 20,0  $\mu\text{mol L}^{-1}$  de cada um desses metais separadamente, seguindo os procedimentos descritos nos itens 3.3 e 3.4. Foram feitas sete repetições para cada concentração avaliada, de forma a determinar o desvio padrão relativo para cada concentração, conforme recomendações do INMETRO (2003). A precisão do método proposto, em nível de repetitividade, foi avaliada pela estimativa do coeficiente de variação.

#### **3.7.4.2. Precisão Intermediária**

A precisão intermediária indica o efeito de variações dentro do mesmo laboratório, devido a diferentes eventos como diferentes dias, equipamentos ou analistas. A precisão intermediária pode ser expressa pela estimativa do coeficiente de variação. Para a avaliação da precisão intermediária do método proposto foram analisadas amostras de água fortificadas com 5,00; 10,0 e 20,0  $\mu\text{mol L}^{-1}$  de íons cobre(II) e zinco(II), separadamente, seguindo os procedimentos descritos nos itens 3.3 e 3.4. As análises foram realizadas pelo mesmo analista, empregando o método otimizado em diferentes dias (1 dia, 1 semana e 1 mês). Todos os ensaios foram realizados em triplicata, no mesmo laboratório e empregando o mesmo instrumento de análise. O efeito deste parâmetro foi avaliado pelos valores obtidos para o coeficiente de variação.

#### **3.7.5. Exatidão**

A exatidão representa o grau de concordância entre os resultados individuais encontrados em um determinado ensaio e um valor de referência aceito como verdadeiro (LANÇAS, 2004). A exatidão do método proposto foi avaliada por resultados de ensaios de recuperação do método em estudo e posterior comparação com resultados de ensaios de recuperação de um método padrão.

### 3.7.5.1. Comparação de métodos

Consiste na comparação de resultados obtidos empregando-se o método em desenvolvimento e os resultados conseguidos por métodos de referência, avaliando-se o grau de proximidade entre os métodos. Os resultados obtidos por ensaios de recuperação através do método de extração em fase sólida associado à espectroscopia de reflectância difusa foram comparados aos resultados obtidos por ensaios de recuperação pela técnica de espectroscopia de absorção atômica, em três diferentes concentrações para os dois íons metálicos em solução aquosa. As análises foram efetuadas em triplicata, utilizando os dois métodos em separado (o método em desenvolvimento e o método de referência).

Amostras de água de torneira do Laboratório de Química Analítica (LAQUA), água do Ribeirão São Bartolomeu no ponto de captação da lagoa da UFV e água do córrego Curtume em Vazante (MG), foram fortificadas com três quantidades dos íons metálicos em estudo (5,00; 10,00 e 20,00  $\mu\text{mol L}^{-1}$ ) e foram submetidas ao processo de extração em fase sólida descrito no item 3.4 e foram analisadas por espectroscopia de reflectância difusa conforme descrito no item 3.3.

Para que pudessem ser analisadas por espectroscopia de absorção atômica as amostras de água, analisadas pelo método proposto, foram acidificadas com HCl 2,0 mol L<sup>-1</sup>, de forma a se obter valores de pH iguais a 2. As amostras de água da torneira do LAQUA e do Córrego do Curtume foram filtradas em papel de filtro comum. As amostras do Ribeirão São Bartolomeu passaram por um processo de filtração à vácuo em membranas de celulose (0,45  $\mu\text{m}$ ). A determinação da concentração de cobre(II) e zinco(II) presentes nas amostras aquosas foi realizada em um espectrofotômetro da Varian, modelo SPECTRAA 200 no Laboratório de Instrumentação e Quimiometria do Departamento de Química.



## 4. Resultados e discussão

### 4.1. Otimização da técnica de extração em fase sólida

#### 4.1.1. Impregnação do agente complexante na matriz sólida

A primeira etapa do processo de extração em fase sólida foi a impregnação do agente complexante 1-(2-piridilazo)2-naftol (PAN) na matriz sólida, naftaleno (NAF). Neste processo de impregnação, 0,0300 g de PAN foram dissolvidos em acetona juntamente com 10,0000 g de NAF, formando uma solução alaranjada. Após a adição de 250 mL de água a essa solução cristais de naftaleno foram formados e separados juntamente com o PAN, obtendo-se um composto sólido de cor laranja (NAF/PAN) após filtração a vácuo. O sólido obtido foi seco em estufa a 40 °C e triturado em grau de ágata para posterior contato com soluções dos íons metálicos em estudo. Antes de ser colocado em contato com solução dos íons metálicos, foi obtido o espectro de reflectância difusa na região do visível da fase sólida NAF/PAN. O espectro de reflectância da matriz sólida está representado na Figura 5.

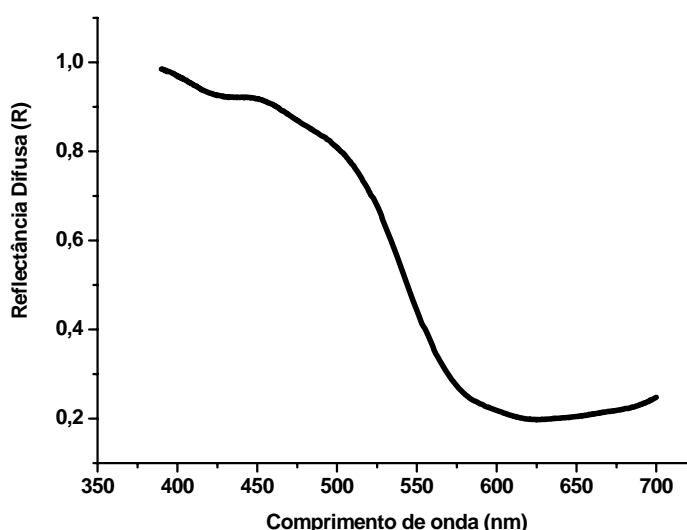
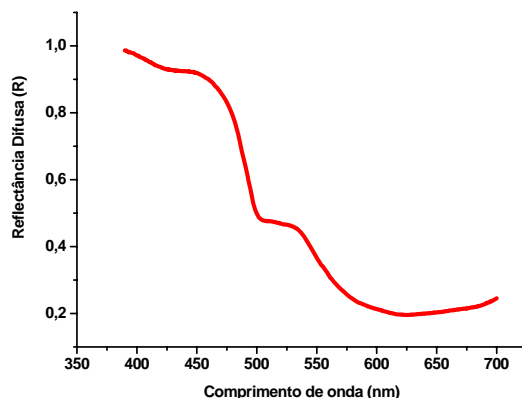
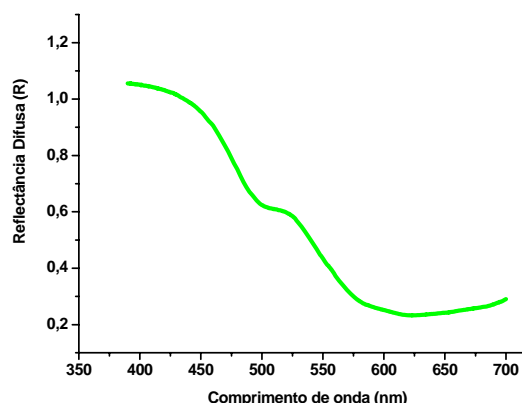


Figura 5 - Espectro de reflectância difusa na região do visível da fase sólida NAF/PAN.

Ao colocar a fase sólida em contato com solução de zinco ou cobre na concentração de  $20,0 \mu\text{mol L}^{-1}$ , ocorre a formação de um complexo na superfície da matriz sólida impregnada com o complexante com bandas que caracterizam a formação desses complexos com máximos de reflectância em 502 nm para íons zinco(II) e 498 nm para íons cobre(II) (Figura 6).



(a)

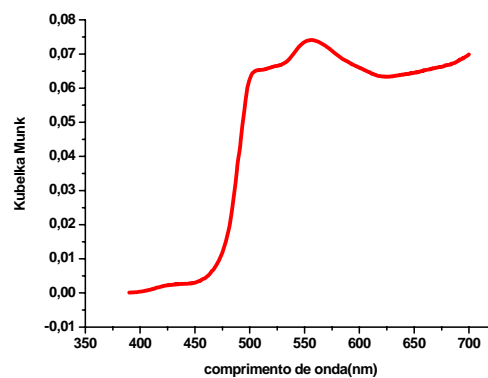


(b)

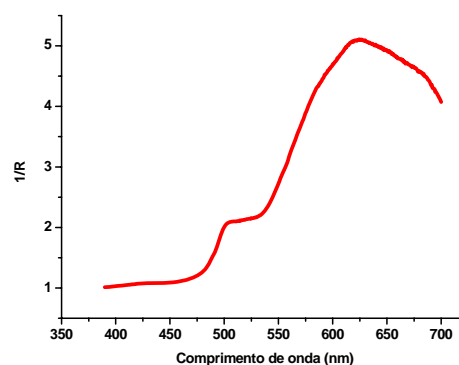
Figura 6 - Espectros de reflectância difusa da fase sólida NAF/PAN em contato com solução de íons zinco(II) na concentração de  $20,0 \mu\text{mol L}^{-1}$  (a) e íons cobre(II) na concentração de  $20,0 \mu\text{mol L}^{-1}$  (b).

Com o objetivo de estabelecer a relação linear entre o sinal obtido da reflectância difusa dos complexos em função da concentração dos íons, os dados espectrais foram convertidos pela função Kubelka Munk. A amplitude da função Kubelka Munk é proporcional à concentração do íon metálico na

solução. Em função disso, essa função é conhecida como a Lei de Beer da espectroscopia de reflectância difusa (FURTADO *et al.*, 2003). Na Figura 7 (a) está representada graficamente a variação da função Kubelka Munk com o comprimento de onda para a matriz sólida após contato com solução de zinco(II). Em 502 nm observa-se um ombro atribuído à formação do complexo Zn-PAN impregnado na matriz sólida. De forma semelhante os dados de reflectância do mesmo complexo foram convertidos no seu inverso ( $1/R$ ) (Figura 7(b)). Pelas características espectrais em que a banda em 502 nm atribuída ao complexo Zn-PAN encontra-se bem separada da banda correspondente ao PAN e pela facilidade do processamento dos dados, foi utilizada nesse trabalho os valores do inverso da reflectância. Posteriormente verificou-se também que os dados da função Kubelka Munk levaram a resultados com menor linearidade e maiores desvios.



(a)



(b)

Figura 7 - (a) Função Kubelka Munk e (b) função inverso da reflectância ( $1/R$ ) aplicadas ao espectro da Figura 6 (a).

Uma forma de tornar mais nítidas as bandas atribuídas aos analitos é a conversão dos dados espectrais na derivada das funções. A segunda derivada dos dados espectrais obtidos do complexo Zn-PAN após aplicação da função  $1/R$  é mostrado na Figura 8. Observa-se uma banda em 502 nm atribuída à formação do complexo na superfície da matriz sólida.

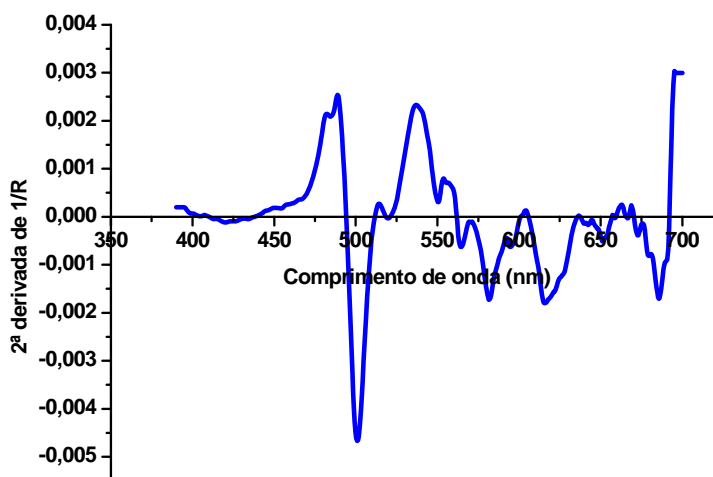


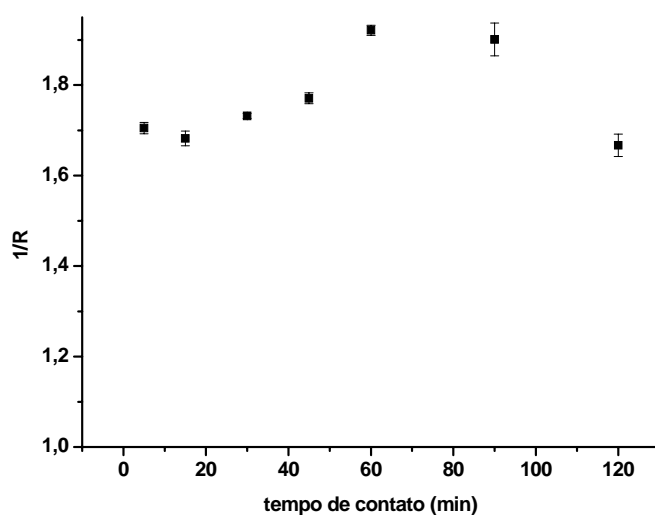
Figura 8 – Segunda derivada da função  $1/R$  do complexo Zn-PAN após extração do íon  $Zn^{2+}$  em solução aquosa na concentração de  $20,0 \mu\text{mol L}^{-1}$ .

Ao realizar a segunda derivada dos dados espectrais obtidos do complexo Cu-PAN após aplicação da função  $1/R$ , observa-se uma banda em 498 nm atribuída à formação do complexo na superfície da matriz sólida.

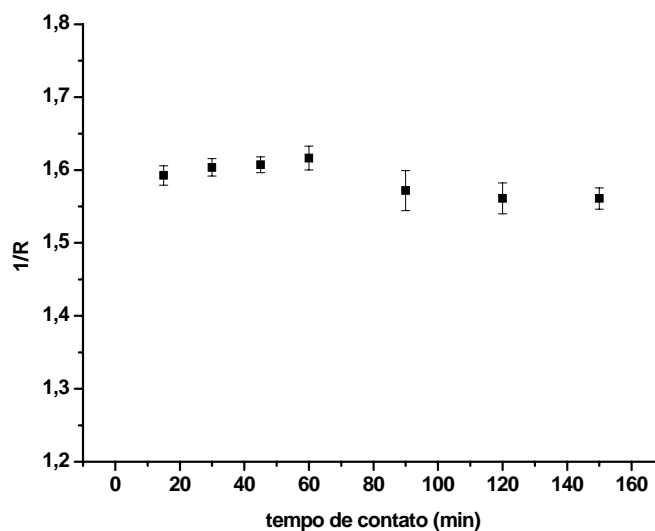
#### 4.1.2. Tempo de contato das soluções aquosas de cobre(II) e zinco(II) com a matriz impregnada

Com o objetivo de otimizar o tempo de contato entre a matriz sólida NAF/PAN e a solução do íon metálico em estudo, soluções contendo os íons metálicos de interesse foram colocadas em contato com a fase sólida NAF/PAN por diferentes tempos conforme procedimento descrito no item 3.2.2. Ao avaliar o melhor tempo de contato entre a solução do íon zinco(II) e a fase sólida NAF/PAN, uma melhor resposta foi observada para o inverso da reflectância em 502 nm no tempo de 60 minutos (Figura 9(a)). Respostas menores foram obtidas em intervalos de tempo inferiores e superiores a este. Para soluções contendo íons cobre a melhor resposta observada para o inverso da reflectância em 498 nm foi também no tempo de 60 minutos. Em

intervalos de tempo inferiores a este as respostas são um pouco menores em relação à formação do complexo e em intervalos acima de 60 minutos ocorre um decréscimo da resposta. (Figura 9 (b)). Por estas razões o tempo de 60 minutos foi utilizado no contato entre as soluções contendo íons zinco(II) ou cobre(II) com a fase sólida NAF/PAN.



(a)

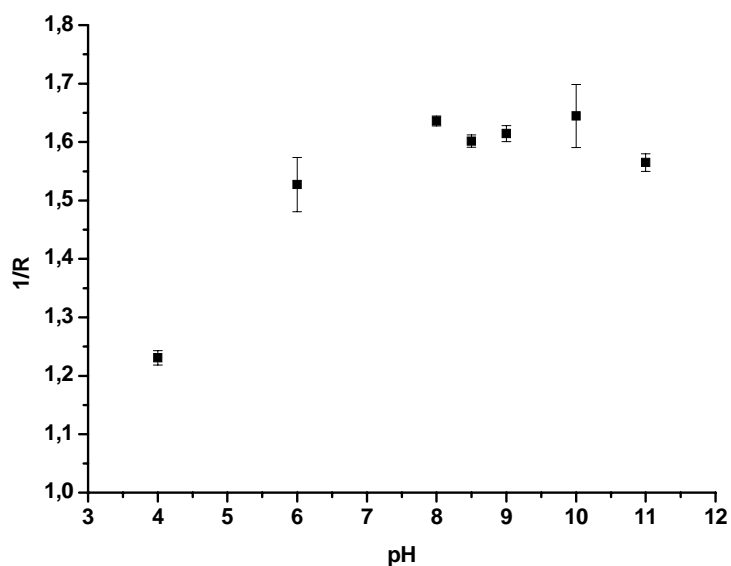


(b)

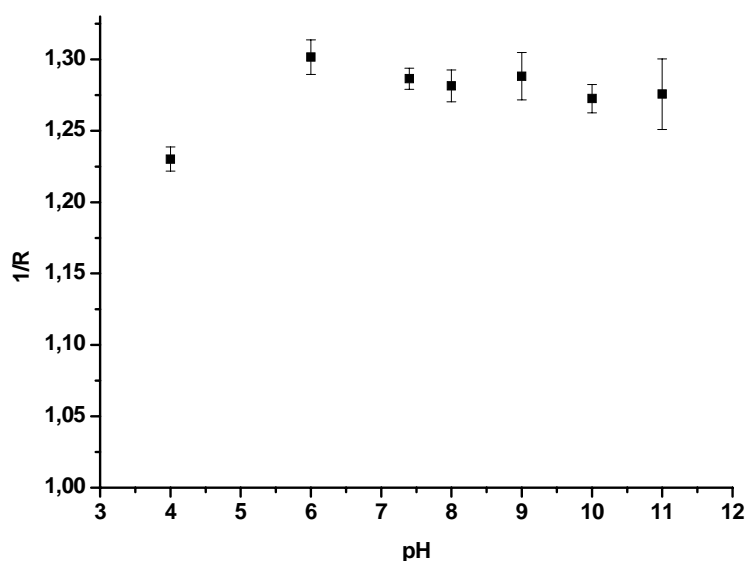
Figura 9 – Valores de  $1/R$  dos complexos formados na matriz sólida NAF/PAN em função do tempo de contato com solução de zinco(II) na concentração de  $10,0 \mu\text{mol L}^{-1}$  (a) e solução contendo íons cobre(II) na concentração de  $10,0 \mu\text{mol L}^{-1}$  (b).

### 4.1.3. Efeito do pH

A formação do complexo entre íons metálicos e o agente complexante PAN é altamente dependendo do pH do meio reacional, visto que a formação do complexo ocorre entre pH 2,5 e 12,0 conforme mostrado na Figura 2. Valores diferentes de pH foram utilizados tanto na reação com íons zinco quanto na reação com íons cobre. Para os íons zinco(II) a melhor resposta, avaliada pelo inverso da reflectância em 502 nm, foi para o valor de pH igual a 7,5. (Figura 10 (a)). Valores de pH inferiores a este proporcionaram uma resposta inferior em relação ao complexo formado, enquanto que valores acima deste pH não alteraram muito na formação do complexo entre íons zinco(II) e a fase sólida NAF/PAN. Para os íons cobre(II) a melhor resposta, avaliada pelo inverso da reflectância em 498 nm foi num valor de pH igual a 6,0. (Figura 10 (b)). Em valor de pH inferior a este uma resposta menor era obtida em relação a formação do complexo e em valores superiores a 6,0 a resposta praticamente não se alterava. Consequentemente o valor de pH igual a 7,5 foi utilizado para as soluções de íons zinco(II) e os valor de pH igual a 6,0 foi utilizado nas soluções de íons cobre(II) na realização de todo o trabalho.



(a)

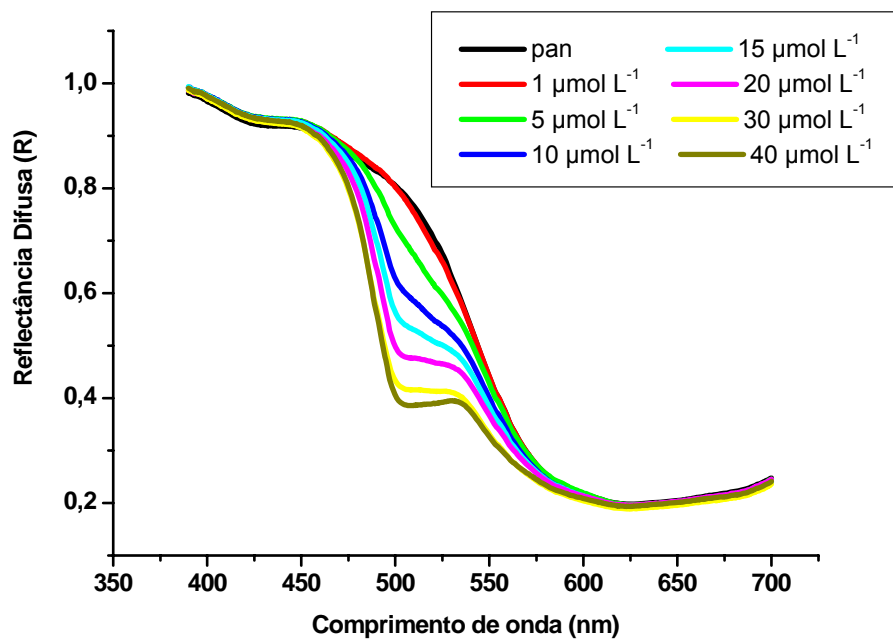


(b)

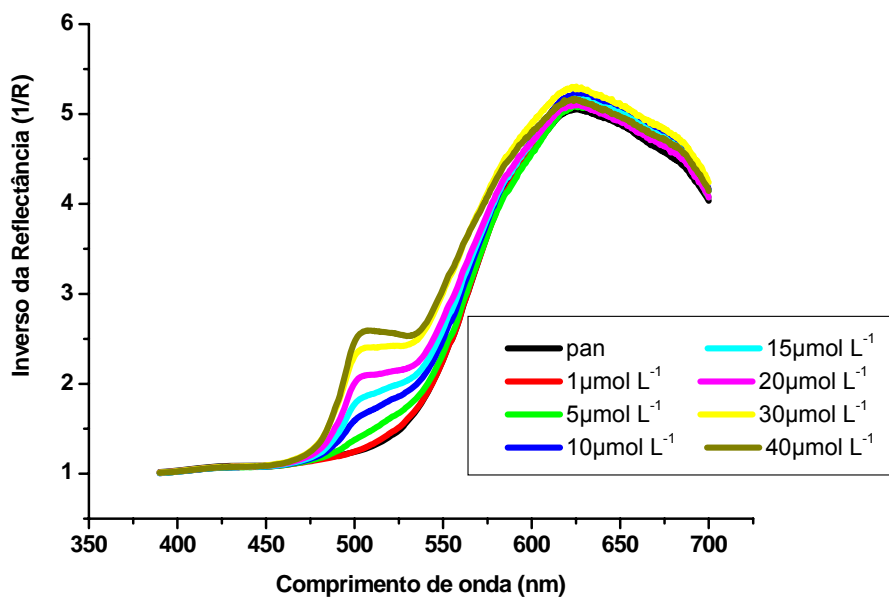
Figura 10 – Valores de  $1/R$  do complexo formado na matriz sólida NAF/PAN em função do pH das soluções de íons zinco(II) na concentração de  $10,0 \mu\text{mol L}^{-1}$  (a) e da solução dos íons cobre(II) na concentração de  $10,0 \mu\text{mol L}^{-1}$  (b).

#### 4.2. Método otimizado para extração de íons cobre(II) e zinco(II) de solução aquosa e análise por espectroscopia de reflectância difusa.

Após as condições de análise otimizadas, soluções de íons cobre(II) em concentrações de  $1,0$  a  $45,0 \mu\text{mol L}^{-1}$  e soluções de íons zinco(II) em concentrações de  $1,0$  a  $40,0 \mu\text{mol L}^{-1}$  foram colocadas em contato com  $0,8000$  g da matriz sólida impregnada com o complexante (NAF/PAN), agitadas com bastão de vidro e deixadas em contato durante o tempo estabelecido com os valores de pH ajustados. Após a etapa de extração em fase sólida, as amostras foram secas em estufa a  $40 \text{ }^\circ\text{C}$  por quatro horas, trituradas em grau de ágata e analisadas por espectroscopia de reflectância difusa na região do visível conforme procedimento descrito no item 3.3. Aos espectros de reflectância obtidos foram aplicadas a função inverso da reflectância para posterior quantificação dos íons metálicos presentes (Figura 11 e Figura 12).



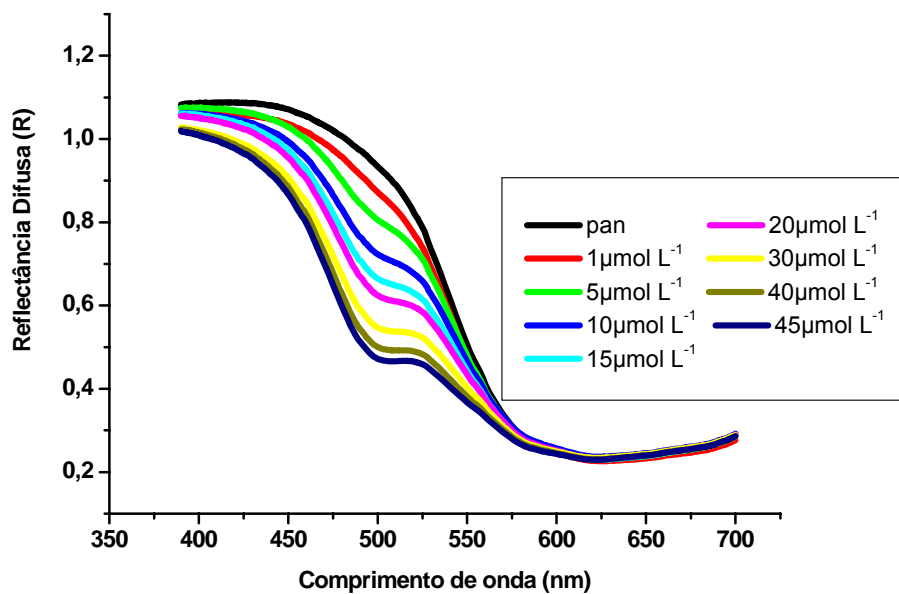
(a)



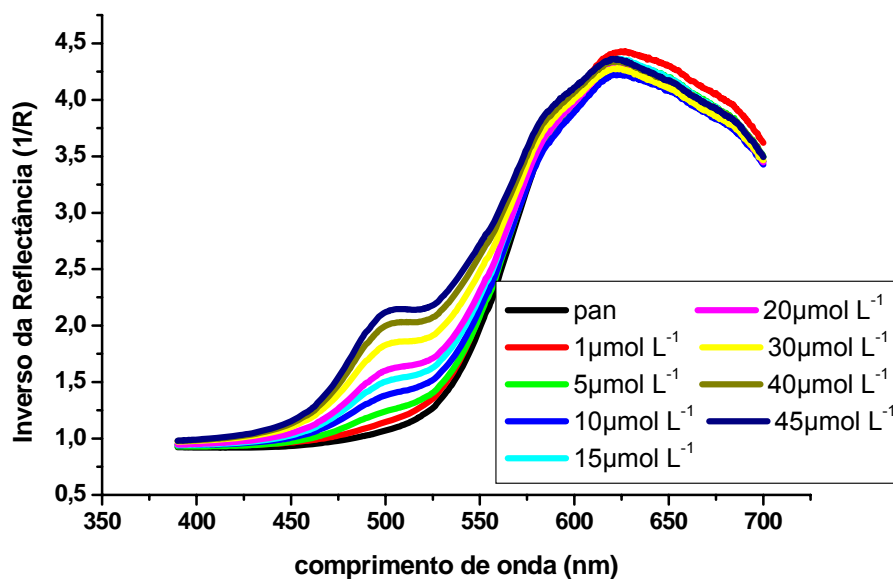
(b)

Figura 11- (a) Espectros de reflectância difusa (R) e (b) espectros do inverso da reflectância (1/R) da matriz sólida NAF/PAN após contato de 60 minutos de soluções padrão de íons zinco(II) em concentrações de 1,0 a 40,0  $\mu\text{mol L}^{-1}$  em pH 7,50.





(a)

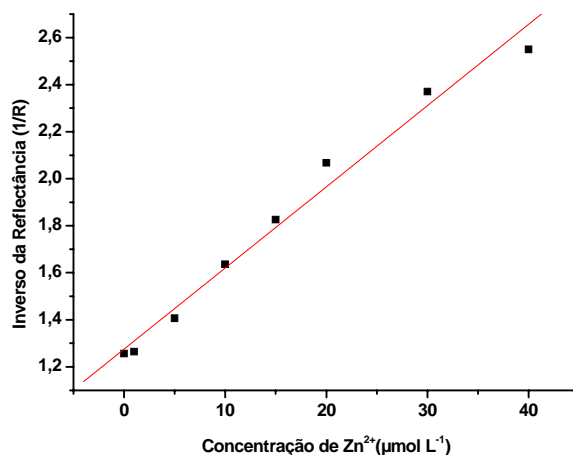


(b)

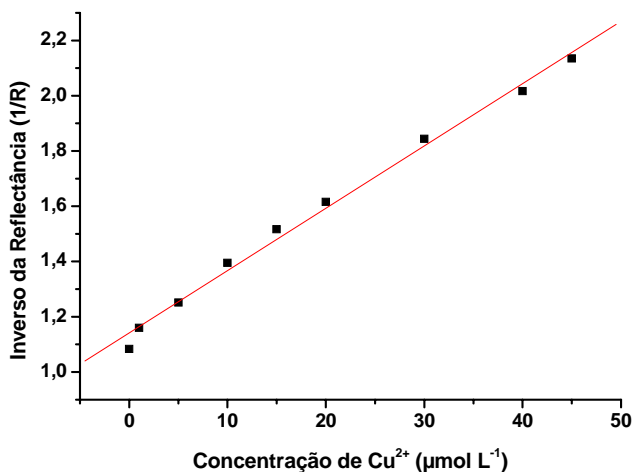
Figura 12 - (a) Espectros de reflectância difusa (R) e (b) espectros do inverso da reflectância (1/R) da matriz sólida NAF/PAN após contato de 60 minutos de soluções padrão de íons cobre(II) em concentrações de 1,0 a 45,0 μmol L<sup>-1</sup> em pH 6,00.

### 4.3. Curva analítica

Foram construídas curvas analíticas relacionando o inverso da reflectância (amplitude máxima em 502 nm para soluções de zinco(II) e 498 nm para soluções de cobre(II)) com as concentrações desses íons metálicos presentes nas soluções. (Figura 13)



(a)



(b)

Figura 13 - Curvas analíticas obtidas pelo método de extração em fase sólida e análise por espectroscopia de reflectância difusa das soluções aquosas de zinco(II) pelo inverso da reflectância em 502 nm (a) e para soluções aquosas de cobre(II) em 498 nm (b).

Os dados das soluções de zinco(II) submetidos à análise por regressão linear resultaram em uma curva analítica com coeficiente de correlação (r) igual a 0,99105 e uma equação da reta igual a  $y = 1,27513 + 0,03452x$ .

Os dados das soluções de cobre(II) submetidos à análise por regressão linear resultaram em uma curva analítica com coeficiente de correlação (r) igual a 0,99647 e uma equação da reta igual a  $y = 1,14161 + 0,02256x$ .

#### **4.4. Validação do método analítico**

Para garantir a confiabilidade dos resultados oferecidos por um método analítico proposto, este deve ser submetido a uma avaliação denominada validação.

Os parâmetros analíticos avaliados no processo de validação do método de análise de íons zinco(II) e cobre(II) em amostras aquosas pelo método proposto foram: linearidade, limite de detecção, limite de quantificação, seletividade, precisão e exatidão (RIBANI *et al.*, 2004).

##### **4.4.1. Linearidade**

A linearidade do método é a habilidade em produzir resultados que sejam diretamente proporcionais à concentração do analito em amostras, em uma dada faixa de concentração dos padrões, denominada faixa de trabalho. A linearidade foi determinada pela análise de soluções padrão de cobre(II) em concentrações de 1,0 a 45  $\mu\text{mol L}^{-1}$  e soluções de zinco(II) nas concentrações de 1,0 a 40  $\mu\text{mol L}^{-1}$  pelo método proposto. As curvas analíticas foram traçadas lançando no gráfico a razão entre o inverso da reflectância (amplitude máxima em 502 nm para soluções de zinco(II) e 498 nm para soluções de cobre(II)) versus a concentração de cada íon metálico. As equações da reta obtidas na regressão linear, bem como os coeficientes de correlação (r) para soluções de zinco(II) e cobre(II) encontram-se na Tabela 2.

Tabela 2 - Dados obtidos na regressão linear das curvas analíticas das soluções de zinco(II) e cobre(II).

Metal	Faixa de concentração ( $\mu\text{mol L}^{-1}$ )	Equação da reta	Coefficiente de correlação (r)
Zinco(II)	1,00 a 40,0	$y = 1,27513 + 0,03452x$	0,99105
Cobre(II)	1,00 a 45,0	$y = 1,14161 + 0,02256x$	0,99647

Os resultados indicaram que a resposta é proporcional à concentração nas faixas de concentração testadas para ambos os íons metálicos. Os coeficientes de correlação (r) obtidos foram maiores que 0,99 para soluções de zinco(II) e cobre(II), mostrando um bom ajuste aos dados para a linha de regressão linear e atendendo o valor estabelecido como ideal pela ANVISA (2002).

#### 4.4.2. Limite de detecção e limite de quantificação

O limite de detecção corresponde à menor quantidade de um analito que pode ser detectada, porém, não necessariamente quantificada como um valor exato. O limite de quantificação representa a menor concentração da substância em exame que pode ser medida, utilizando um determinado procedimento experimental (RIBANI *et al.*, 2004).

Para calcular os limites de detecção (LD) e de quantificação (LQ) para os íons metálicos em estudo, sete repetições do branco (naftaleno impregnado com 1-(2-piridilazo)2-naftol) foram analisadas por reflectância difusa e obtidos os desvios. Os limites foram calculados conforme descrito no item 3.7.2, e os resultados encontram-se na Tabela 3:

Tabela 3 - Limite de detecção (LD) e limite de quantificação (LQ) para zinco(II) e cobre(II)

Íon Metálico	LD ( $\mu\text{mol L}^{-1}$ )	LQ ( $\mu\text{mol L}^{-1}$ )
Zinco(II)	0,042	1,39
Cobre(II)	0,068	0,416

Como os valores máximos permitidos pela legislação brasileira desses íons são expressos na ordem de  $\text{mg L}^{-1}$ , os valores dos limites de quantificação encontrados para zinco(II) e cobre(II) foram convertidos para essa unidade, a fim de comparar a eficiência do método proposto para análises que devam atender padrões de potabilidade de água e limites para águas superficiais. Os resultados obtidos são comparados com os limites máximos permitidos pelo CONAMA e Ministério da Saúde na Tabela 4.

Tabela 4 - Comparação dos resultados obtidos pela análise de espectroscopia de reflectância difusa com os LMP pela legislação brasileira.

<b>Íon metálico</b>	<b>LMP (<math>\text{mg L}^{-1}</math>)</b>	<b>LQ (<math>\text{mg L}^{-1}</math>)</b>
<b>Zinco(II)</b>	0,180*	0,026***
	5,000**	
<b>Cobre(II)</b>	0,009*	0,089***
	2,000**	

\*Resolução nº357 do CONAMA, 2005.

\*\* Portaria nº 518 Ministério da Saúde, 2004.

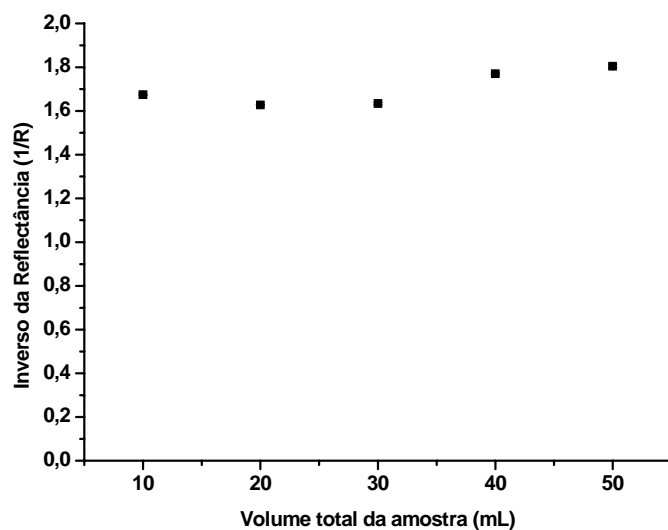
\*\*\* Espectroscopia de Reflectância Difusa.

Analisando os limites de quantificação obtidos para cobre(II) e zinco(II) observa-se que para o zinco(II) o valor encontrado pelo método proposto atende às exigências do CONAMA e do Ministério da Saúde. Já para o cobre(II), o valor encontrado está um pouco acima do valor permitido para águas superficiais pela resolução nº 357 do CONAMA, porém atende às exigências dos padrões de potabilidade estabelecidos pelo Ministério da Saúde.

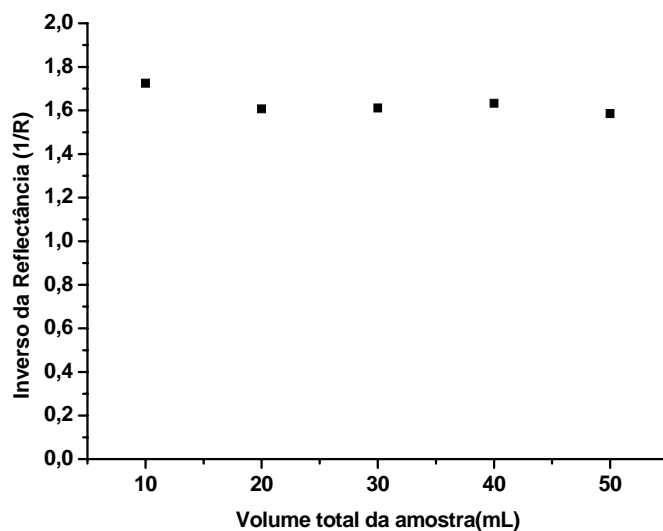
Os dados de limite de quantificação para o método proposto foram obtidos para um volume de amostra igual a 10,0 mL. Como o método baseia-se num processo de extração em fase sólida pode-se imaginar limites bem inferiores. Utilizando uma metodologia semelhante, ARENA (2003) e HILL (2009) diminuíram significativamente o limite de quantificação dos métodos colorimétricos para determinação de  $\text{Ag}^+$  e formaldeído em água por colorimetria.

Com a expectativa de que resultados semelhantes fossem obtidos, experimentou-se aumentar o volume da amostra mantendo a mesma quantidade de analito. Isto foi feito para zinco(II) e cobre(II) (Figura 14).

Aumentando-se o volume da amostra para 50,0 mL e mantendo-se as demais condições fixas o valor de 1/R foi utilizado para avaliar a variação da resposta em função da diluição. Não se observou diferença significativa nos resultados mostrando que esses limites de quantificação podem ser divididos por um fator igual a 5.



(a)



(b)

Figura 14 - Efeito da diluição da solução de zinco(II)  $20 \mu\text{mol L}^{-1}$  (a) e da diluição da solução de cobre(II)  $20 \mu\text{mol L}^{-1}$  (1:5) na resposta de 1/R do complexo formado na matriz NAF/PAN.

#### 4.4.3. Seletividade

A seletividade de um método é a capacidade de avaliar, de forma inequívoca, as substâncias em exame na presença de componentes que podem interferir com a sua determinação em uma amostra complexa. A seletividade do método proposto foi avaliada pela análise de soluções de cobre(II) e de zinco(II) contendo alguns íons metálicos em concentrações abaixo, iguais e maiores que o íon em estudo, para avaliar a possível interferência desses interferentes na formação do complexo na superfície da matriz sólida NAF/PAN. Foram avaliados separadamente, os íons  $\text{Ni}^{2+}$ ;  $\text{Cd}^{2+}$ ;  $\text{Fe}^{3+}$ ;  $\text{Co}^{2+}$  e  $\text{Zn}^{2+}$  para análise das soluções de cobre(II). Para análise de soluções de zinco(II) foram avaliados, separadamente, os íons  $\text{Ni}^{2+}$ ;  $\text{Cd}^{2+}$ ;  $\text{Fe}^{3+}$ ;  $\text{Co}^{2+}$  e  $\text{Cu}^{2+}$ . As amostras passaram pelo processo de extração em fase sólida e foram analisadas por espectroscopia de reflectância difusa conforme procedimento descrito no item 3.3. Os efeitos dos íons metálicos foram avaliados pelas medidas das intensidades das bandas dos espectros do inverso da reflectância em 502 nm para soluções de zinco(II) (Tabela 5) e 498 nm para soluções de cobre(II) (Tabela 6).

Tabela 5 - Estudo da interferência dos íons  $\text{Cd}^{2+}$ ,  $\text{Cu}^{2+}$ ,  $\text{Ni}^{2+}$ ,  $\text{Fe}^{3+}$  e  $\text{Co}^{2+}$  na determinação de zinco(II)  $20,0 \mu\text{mol L}^{-1}$  pelo método proposto.

Concentração do metal ( $\mu\text{mol L}^{-1}$ )	Inverso da Reflectância (1/R) em 502 nm				
	$\text{Cd}^{2+}$	$\text{Cu}^{2+}$	$\text{Ni}^{2+}$	$\text{Fe}^{3+}$	$\text{Co}^{2+}$
0,00	2,20±0,058*	2,06±0,005*	2,02±0,010*	2,20±0,011*	2,02±0,010*
5,00	2,27±0,028*	2,10±0,006*	2,12±0,009*	2,19±0,005*	2,11±0,007*
10,0	2,42±0,013	2,12±0,002	2,23±0,009	2,31±0,006	2,08±0,014*
20,0	2,62±0,108	2,32±0,020	2,39±0,010	2,32±0,006	2,12±0,021*
40,0	3,01±0,026	2,45±0,005	2,70±0,002	2,48±0,002	2,08±0,007*
50,0	2,98±0,072	2,49±0,018	2,91±0,007	2,27±0,043	2,19±0,002

\*Valores estatisticamente iguais pelo teste t a nível de 95% de confiança.

Pela análise estatística dos dados relativos aos interferentes estudados para o zinco(II) verifica-se que o  $\text{Co}^{2+}$  só interfere na maior concentração estudada. Já os outros íons  $\text{Ni}^{2+}$ ;  $\text{Cd}^{2+}$ ;  $\text{Fe}^{3+}$  e  $\text{Cu}^{2+}$  interferem de forma significativa na formação do complexo na fase sólida em concentrações superiores a  $5,0 \mu\text{mol L}^{-1}$ . Desta forma, caso presentes em amostras a serem

analisadas pelo método proposto, estes íons devem passar por uma separação prévia antes da análise por reflectância difusa.

Tabela 6 - Estudo da interferência dos íons  $\text{Cd}^{2+}$ ,  $\text{Zn}^{2+}$ ,  $\text{Ni}^{2+}$ ,  $\text{Fe}^{3+}$  e  $\text{Co}^{2+}$  na determinação de cobre(II)  $20,0 \mu\text{mol L}^{-1}$  pelo método proposto.

Concentração do metal ( $\mu\text{mol L}^{-1}$ )	Inverso da Reflectância (1/R) em 502 nm				
	$\text{Cd}^{2+}$	$\text{Zn}^{2+}$	$\text{Ni}^{2+}$	$\text{Fe}^{3+}$	$\text{Co}^{2+}$
0,00	$1,59 \pm 0,004^*$	$1,73 \pm 0,006$	$1,80 \pm 0,004^*$	$1,59 \pm 0,004^*$	$1,73 \pm 0,006^*$
5,00	$1,67 \pm 0,011$	$1,84 \pm 0,007$	$1,84 \pm 0,019^*$	$1,42 \pm 0,007$	$1,70 \pm 0,003^*$
10,0	$1,65 \pm 0,013^*$	$2,05 \pm 0,013$	$1,94 \pm 0,015$	$1,46 \pm 0,014$	$1,80 \pm 0,002^*$
20,0	$1,64 \pm 0,007^*$	$2,39 \pm 0,008$	$2,15 \pm 0,004$	$1,42 \pm 0,008$	$1,87 \pm 0,007$
40,0	$1,67 \pm 0,008$	$2,68 \pm 0,003$	$2,32 \pm 0,013$	$1,54 \pm 0,010$	$2,03 \pm 0,001$
50,0	$1,78 \pm 0,006$	$2,76 \pm 0,003$	$2,31 \pm 0,019$	$1,57 \pm 0,005^*$	$1,98 \pm 0,076$

\*Valores estatisticamente iguais pelo teste t a nível de confiança de 95%.

A análise estatística mostra que o  $\text{Zn}^{2+}$  interfere de forma significativa na determinação de Cobre(II) mesmo em pequenas concentrações. O íon  $\text{Cd}^{2+}$  interfere nas concentrações de 5,0; 40,0 e  $50,0 \mu\text{mol L}^{-1}$ . O íon  $\text{Ni}^{2+}$  interfere em concentrações acima de  $5,0 \mu\text{mol L}^{-1}$ . O íon  $\text{Co}^{2+}$  interfere em concentrações acima de  $10,0 \mu\text{mol L}^{-1}$  e o íons  $\text{Fe}^{3+}$  só não interfere na maior concentração. Dessa forma torna-se necessário uma separação prévia desses íons antes de se analisar uma amostra pelo método proposto.

Para ambos os metais em estudo observa-se diferença nos valores em que a concentração dos interferentes é igual a zero. Isto se dá pelo fato de que as análises foram realizadas com lotes diferentes da fase sólida, podendo ter ocorrido variação no processo de impregnação do agente complexante na matriz sólida. Todos os testes realizados para um mesmo interferente foram realizados utilizando o mesmo lote.

#### 4.4.4. Precisão

A precisão representa a dispersão de resultados entre ensaios independentes, repetidos de uma mesma amostra, amostras semelhantes ou padrões, sob condições definidas. A precisão do método proposto foi avaliada considerando-se os coeficientes de variação (CV) obtidos nos ensaios de repetitividade e precisão intermediária.



#### 4.4.4.1. Repetitividade

A repetitividade representa a concordância entre os resultados de medições sucessivas por um mesmo método sob as mesmas condições de medição: mesmo procedimento, mesmo analista, mesmo instrumento usado sob as mesmas condições e em um curto intervalo de tempo (RIBANI *et al.*, 2004). Foram realizadas sete repetições de amostras fortificadas com diferentes concentrações dos íons metálicos em estudo separadamente de forma a se calcular o coeficiente de variação (CV) para avaliação da precisão em termos de repetitividade. As amostras de zinco(II) apresentaram coeficientes de variação entre 0,13 e 6,43% (Tabela 07) enquanto que as amostras de cobre(II) apresentaram coeficientes que variaram de 2,09 a 3,83% (tabela 08). Em métodos de análise de traços ou impurezas, são aceitos CV de até 20%, dependendo da complexidade da amostra. (RIBANI *et al.*, 2004)

Tabela 7 - Coeficientes de variação (CV), obtidos para as amostras aquosas fortificadas com 5,00; 10,0 e 20,0  $\mu\text{mol L}^{-1}$  de zinco(II).

Zinco(II) adicionado ( $\mu\text{mol L}^{-1}$ )	Zinco(II) determinado ( $\mu\text{mol L}^{-1}$ )	CV (%)
5,00	4,36	1,04
10,00	9,42	0,13
20,00	18,8	6,43

Tabela 8 - Coeficientes de variação (CV) obtidos para amostras aquosas fortificadas com 5,00; 10,0 e 20,0  $\mu\text{mol L}^{-1}$  de cobre(II).

Cobre(II) adicionado ( $\mu\text{mol L}^{-1}$ )	Cobre(II) determinado ( $\mu\text{mol L}^{-1}$ )	CV (%)
5,00	4,42	3,83
10,00	9,62	2,09
20,00	18,5	2,66

#### 4.4.4.2. Precisão Intermediária

O objetivo da precisão intermediária é verificar se no mesmo laboratório o método fornecerá os mesmos resultados, sendo realizados ensaios em dias diferentes, por diferentes analistas ou equipamentos. (RIBANI *et al.*, 2004)

Para análise da precisão intermediária do método proposto, amostras de água foram fortificadas com diferentes concentrações de íons cobre(II) e zinco(II), separadamente, seguindo os procedimentos descritos nos itens 3.3 e 3.4. Os ensaios foram realizados em triplicata e o coeficiente de variação calculado. As soluções fortificadas com zinco(II) apresentaram coeficientes de variação entre 0,13 e 6,43% com porcentagens de recuperação entre 87,2 e 95,0% (Tabela 9). As soluções fortificadas com cobre(II) apresentaram coeficientes de variação entre 1,34 e 3,83% com porcentagens de recuperação entre 87,4 e 96,4% (Tabela 10).

Tabela 9 - Porcentagens de recuperação (%R) e coeficiente de variação (CV) obtidos após análise executada em dias diferentes, pelo mesmo analista para amostras fortificadas com soluções de zinco(II).

	<b>Zn<sup>2+</sup> adicionado (<math>\mu\text{mol L}^{-1}</math>)</b>	<b>Zn<sup>2+</sup> determinado (<math>\mu\text{mol L}^{-1}</math>)</b>	<b>%R</b>	<b>CV (%)</b>
Dia 1	5,00	4,36	87,2	1,04
	10,0	9,42	94,2	0,13
	20,0	18,8	94,0	6,43
1 semana	5,00	4,40	88,0	0,18
	10,0	9,50	95,0	0,49
	20,0	18,75	93,7	1,05
1 mês	5,00	4,39	87,8	3,52
	10,0	9,46	94,6	2,86
	20,0	18,82	94,1	4,97

Tabela 10 – Porcentagens de recuperação (%R) e coeficiente de variação (CV) obtidos após análise executada em dias diferentes, pelo mesmo analista para amostras fortificadas com soluções de cobre(II).

	<b>Cu<sup>2+</sup> adicionado</b> <b>(<math>\mu\text{mol L}^{-1}</math>)</b>	<b>Cu<sup>2+</sup> determinado</b> <b>(<math>\mu\text{mol L}^{-1}</math>)</b>	<b>%R</b>	<b>CV (%)</b>
Dia 1	5,00	4,42	88,4	3,83
	10,0	9,62	96,2	2,09
	20,0	18,5	92,5	2,66
1 semana	5,00	4,4	88,0	1,34
	10,0	9,59	95,9	2,66
	20,0	18,8	94,0	1,42
1 mês	5,00	4,37	87,4	1,84
	10,0	9,64	96,4	2,05
	20,0	18,6	93,2	1,76

#### 4.4.5. Exatidão

A exatidão de um método de análise pode ser avaliada através de análise de materiais de referência, da comparação entre métodos, de ensaios de recuperação e através da adição de padrão (ANVISA, 2002)

A recuperação (ou fator de recuperação), R, é definida como a proporção da quantidade da substância de interesse, presente ou adicionada na porção analítica do material teste, que é extraída e passível de ser quantificada. Os intervalos aceitáveis de recuperação para análise de resíduos geralmente estão entre 70 e 120%, com precisão de até  $\pm 20\%$  (RIBANI *et al* 2004). Neste trabalho, resultados obtidos por ensaios de recuperação através do método de extração em fase sólida associado à espectroscopia de reflectância difusa foram comparados aos resultados obtidos por ensaios de recuperação pela técnica de espectroscopia de absorção atômica, em três diferentes concentrações para os dois íons metálicos em solução aquosa. As análises foram efetuadas em triplicata, utilizando os dois métodos em separado (o método em desenvolvimento e o método de referência).

Amostras de água da torneira do Laboratório de Química Analítica (LAQUA), água do Ribeirão São Bartolomeu e água do córrego Curtume da

cidade de Vazante (MG) passaram pelo processo de extração em fase sólida e posterior análise por espectroscopia de reflectância difusa. As mesmas amostras foram analisadas por espectroscopia de absorção atômica para posterior comparação entre os métodos.

As análises foram realizadas em triplicata e o desvio padrão calculado. A Tabela 11 mostra os resultados das análises de zinco(II) e a Tabela 12 os resultados das análises de cobre(II).

Tabela 11 - Ensaios de recuperação para análise de zinco(II) em amostras reais obtidos por espectroscopia de reflectância difusa e espectroscopia de absorção atômica.

	Zn <sup>2+</sup> adicionado ( $\mu\text{mol L}^{-1}$ )	Zn <sup>2+</sup> determinado (RD) ( $\mu\text{mol L}^{-1}$ )	%R	Zn <sup>2+</sup> determinado (AAS) ( $\mu\text{mol L}^{-1}$ )	%R
Água de torneira	0,00	0,00±0,057	----	0,62±0,003	----
	5,00	4,75±0,029	95,0	5,63±0,009	100,2
	10,0	9,79±0,019	97,9	8,35±0,002	77,3
	20,0	21,9±0,023	109,5	16,95±0,019	81,65
Água do Córrego São Bartolomeu	0,00	0,00±0,097	----	0,22±0,012	----
	5,00	4,40±0,098	88,0	4,62±0,018	88,0
	10,0	11,01±0,047	110,1	7,19±0,009	69,7
	20,0	19,99±0,056	99,9	15,83±0,047	79,1
Água do Córrego Curtume	0,00	0,00±0,115	----	0,45±0,019	----
	5,00	2,34±0,079	46,8	3,67±0,005	64,4
	10,0	8,29±0,114	82,9	6,34±0,016	58,9
	20,0	19,44±0,043	97,2	12,02±0,018	57,85

Pelos resultados obtidos pelo método de extração em fase sólida e análise por espectroscopia de reflectância difusa, percebemos que para a análise de zinco(II) o método mostrou-se exato, com porcentagens de recuperação acima de 82,9%. Apenas para a amostra de água de Vazante fortificada com zinco(II) 5,0  $\mu\text{mol L}^{-1}$  a porcentagem de recuperação foi menor que 70% conforme recomendado pela legislação. Quando comparado com o método de espectroscopia de absorção atômica o método mostrou-se mais exato, com porcentagens de recuperação melhores na maioria das amostras analisadas.

Tabela 12 - Ensaios de recuperação para análise de cobre(II) em amostras reais obtidos por espectroscopia de reflectância difusa e espectroscopia de absorção atômica.

	<b>Cu<sup>2+</sup> adicionado (<math>\mu\text{mol L}^{-1}</math>)</b>	<b>Cu<sup>2+</sup> determinado (RD) (<math>\mu\text{mol L}^{-1}</math>)</b>	<b>%R</b>	<b>Cu<sup>2+</sup> determinado (AAS) (<math>\mu\text{mol L}^{-1}</math>)</b>	<b>%R</b>
Água de torneira	0,00	3,66±0,003	----	2,02±0,020	----
	5,00	8,28±0,114	92,4	6,33±0,033	86,2
	10,0	13,12±0,061	94,6	10,06±0,018	80,4
	20,0	23,6±0,044	99,7	16,32±0,009	71,5
Água do Córrego São Bartolomeu	0,00	4,01±0,007	----	0,00±0,010	----
	5,00	9,035±0,043	100,5	5,12±0,011	102,4
	10,0	13,97±0,143	99,6	9,92±0,074	99,2
	20,0	23,2±0,036	95,9	18,79±0,001	93,9
Água do Córrego Curtume	0,00	0,97±0,115	----	0,00±0,003	----
	5,00	5,64±0,079	93,4	3,88±0,008	77,6
	10,0	10,5±0,108	95,3	10,33±0,070	103,3
	20,0	19,87±0,089	94,5	13,79±0,012	68,9

O método de análise proposto se mostrou mais exato para análise de cobre(II) em águas, pois apresentou melhores porcentagens de recuperação. Os resultados obtidos por espectroscopia de absorção atômica para as mesmas amostras apresentaram porcentagens de recuperação piores que os resultados obtidos por espectroscopia de reflectância difusa.

Ao realizarmos a extrapolação da curva analítica obtida pelo método da adição de padrão para estimativa da concentração dos íons metálicos nas amostras reais, os resultados obtidos para a concentração estimada de cobre(II) nas amostras de água de torneira, água da lagoa e água da vazante utilizando o método proposto foram 3,41; 3,02 e 1,01 respectivamente enquanto que realizando o mesmo procedimento com a técnica de absorção atômica esses valores foram: 3,52; 0,29 e 1,22 para as três amostras. Para as análises de zinco(II) os valores estimados para a concentração desse metal nas amostras analisadas foram: 0,56; 0,09 e 1,48 para amostras de água de torneira, água da lagoa e água de Vazante, respectivamente, utilizando o método proposto. Utilizando a técnica de absorção atômica os resultados foram: 0,50; 0,22 e 1,05 para as mesmas amostras. Os resultados obtidos por esse procedimento foram muito próximos aos valores encontrados na análise por espectroscopia de reflectância difusa tanto para análise de cobre(II) quanto para análise de zinco(II). Porém, quando comparados aos resultados obtidos

pela técnica de espectroscopia de absorção atômica, apresentaram maiores desvios.

## 5. Conclusões

O método de determinação de íons zinco(II) e cobre(II) em amostras aquosas por extração em fase sólida associada à análise por espectroscopia de reflectância difusa foi otimizado e validado neste trabalho.

Condições ideais de análise envolvendo o método proposto como o pH da solução dos íons metálicos bem como o tempo de contato das mesmas com a fase sólida foram avaliados. Parâmetros de validação foram também analisados no sentido de garantir a confiabilidade dos resultados obtidos pelo método em estudo. Os resultados obtidos nos parâmetros de validação como linearidade, seletividade, limite de detecção, limite de quantificação, precisão e exatidão indicaram que o método proposto é eficiente para determinação de zinco(II) e cobre(II) em amostras aquosas.

As características gerais do método proposto são semelhantes à dos métodos colorimétricos com o ligante PAN. Observa-se, no entanto, que o método tem um fator de concentração que permite a quantificação dos íons em concentrações bem menores. Os testes mostraram que a resposta do equipamento para análise por reflectância difusa da matriz sólida, dentro de certos limites, está associada à quantidade do analito e não à concentração.

## 6. Referências bibliográficas

AELION, C. M.; DAVIS, H. T. Use of a general toxicity test to predict heavy metal concentrations in residential soils. **Chemosphere**, v. 67, p. 1043-1049, 2007.

ALLOWAY, B.J. **Heavy metals in soils**. Glasgow: Blackie: Academy & Professional, 1995.368p.

ANJOS, A.P. **Determinação de traços de Manganês por Espectrofotometria de Absorção Atômica Após Pré-Concentração Seletiva em Coluna Contendo 1-(2-Piridilazo)-2-Naftol (PAN) Adsorvido em Naftaleno Microcristalino**. 1992. 77f. Dissertação (Mestrado em Química Analítica). Universidade Estadual de Campinas. Campinas, SP, 1992.

ARENA, M. P.; PORTER, M. D.; FRITZ, J. S. Rapid, low level determination of silver(I) in drinking water by colorimetric–solid-phase extraction. **Analytica Chimica Acta**, v. 482, p. 197–207, 2003.

AYLETT, B.J. **The Chemistry of Zinc, Cadmium and Mercury**. Pergamon Press, New York, 1973.

BARBOSA, K. B. F.; JABOUR, J.; ROSADO, G. Necessidades e recomendações dietéticas de cobre. **Rev. Nutrição Brasil**. v.1. 2008.

BORGES, D.L.G.; CURTIUS, A.J.; WELZ, B.; HELTMANN, U. Fundamentos da espectrometria de Absorção atômica de alta resolução com fonte contínua. **Revista Analytica**. n.18, p.58-67, 2005.

CONAMA, Conselho Nacional do Meio Ambiente. Resolução Nº 357, de 17 de março. Dispõe sobre a classificação dos corpos de água e diretrizes ambientais para o seu enquadramento, bem como estabelece as condições e padrões de lançamento de efluentes, e dá outras providências. 2005.



BRASIL, Ministério da Saúde. Portaria nº 518 de 25 de março de 2004. Estabelece os procedimentos e responsabilidades relativos ao controle e vigilância da qualidade de água para consumo humano e seu padrão de potabilidade e dá outras providências. Revoga a Portaria nº 1469 de dezembro de 2000.

BRASIL, Agência Nacional de Vigilância Sanitária. Resolução nº 475, de 19 de março. Guia para validação de métodos analíticos. 2002.

BROWN, M. L. **Present Knowledge in Nutrition**. 6. ed. 1990.

CALDAS, N.M., JR, J.L.R., NETO, J.A.G., JR, F. B. Effect of modifiers for As, Cu and Pb determinations in sugar-cane spirits by GF AAS. **Food Chemistry**.v.113, p.1266–1271, 2009.

CAMPOS, M. L. A. M.; BENDO, A.; VIEL, F.C.; Métodos de baixo custo para purificação de reagentes e controle da contaminação para a determinação de metais traços em águas naturais. **Quim. Nova**, v.25, n.5, 2002.

CARASEK, E.; TONJES, W. J.; SCHARF, M. Pré-Concentração de chumbo e cádmio em um sistema de micro extração líquido-líquido e determinação por espectrometria de absorção atômica com chama. **Quím. Nova**, v. 25, n. 5, p. 748-752, 2002.

CHENG, K.L.; BRAY, R.H. 1-(2-Pyridilazo)-2-Naphtol as a Possible Analytical Reagent. **Analytical Chemistry**. v.27, p.782-785, 1955.

CHENG, K.L.; UENO, K.; IMAMURA, T. **Handbook of Organic Analytical Reagents**. CRC. Press Inc. Boca Raton, 1982.

CRUZ, A.C.; EIRAS, S. P.; Estudo de pré-concentração de solução de chumbo empregando extração sólido-líquido e naftaleno modificado com pan. **Rev.**

**Eletrônica UFU.** v.20, 2005. Disponível em [www.propp.ufu.br/revistaeletronica](http://www.propp.ufu.br/revistaeletronica). Acesso em 12 de dezembro 2008.

DANTAS, A. F. **Avaliação de 2,2-Biquinolina na separação, pré-concentração e determinação de cobre por espectrofotometria de absorção molecular e em fase sólida.** 2004. 141f. Tese (Doutorado em Química Analítica) Universidade Federal da Bahia, BA, 2004.

DUFFUS, J.H. "Heavy metals" - A meaningless term. **Pure e Applied Chemistry.** v. 74, n. 5, p. 793-807, 2002.

DUTRA, R. L.; CANTOS, G.; PEROZIN, A. R.; et. al. Determinação de Zinco em Soro Sanguíneo pelo Método de FAAS e sua Correlação com o Estado de Estresse. **Rev. Saúde.** v.6, n.14, p.31-37, 2004.

FARIA, A. M.; QUEIROZ, M. E. L. R.; NEVES, A. A. Extração por ponto nuvem: técnica alternativa para a extração de resíduos de agrotóxicos. **Revista de Ecotoxicologia e Meio Ambiente.** n.1, p. 29-42, 2005.

FRAIGE, K.; CRESPILO, F. N.; REZENDE, M. O. O. R.; Determinação de zinco em solo utilizando colorimetria. **Quim. Nova,** v. 30, n. 3, p.588-591, 2007.

FURTADO, J. C.; KOZEM, P. H. A.; CARVALHO, C. W.; FERRÃO, M.F.; BASSANI, I. A.; HUNING, S. L. Otimização de métodos de qualidade de fármacos usando algoritmos genéticos e busca tabu. **Pesquisa operacional,** v. 23, n.1, p. 189-207, 2003.

GAHEDI, A. M.; SHOKROLLAHI, A.; AHMADI, F.; RAJABI, H.R.; SOYLAK, M. Cloud point extraction for the determination of copper, nickel and cobalt ions in environmental samples by flame atomic absorption spectrometry. **Journal of Hazardous Materials.** v.150, p.533–540, 2008.

GAZDA, B. D.; FRITZ, S. J.; PORTER, D. M. Determination of nickel (II) dimethylglyoxime complex using colorimetric solid phase extraction. **Analytica Chimica Acta**. v. 508, p. 53-59, 2004.

GÓRECKA, H.; CHOJNACKA, K.; GÓRECKI, H. The application of ICP-MS and ICP-OES in determination of micronutrients in wood ashes used as soil conditioners. **Talanta**. v. 70, p. 950-956, 2006.

GOTARDO, A. M.; TOGNOLLI, O. J.; PEZZA, R.H.; PEZZA, L. Detection of propranolol in pharmaceutical formulations by diffuse reflectance spectroscopy. **Spectrochimica Acta Part A: Molecular and Biomolecular Spectroscopy**. v. 69, p. 1103-1109, 2007.

GOTO, K.; TAGUCHI, S.; FUKUE, Y.; OHTA, K.; WATANABE, H. Spectrophotometric Determination of Manganese with 1-(2-Pyridilazo)-2-Naphthol and a Non-Ionic Surfactant. **Talanta**. v.24. p. 752-753. 1977.

GUILHERME, L. R. G.; MARQUES, J. J.; PIERANGELI, M. A. P.; ZULIANI, D. Q.; CAMPOS, M. L.; MARCHI, G. Elementos-traço em solos e sistemas aquáticos. **Tópicos de ciência do solo**. v. 4, p. 345-390, 2005.

HILL, A.A.; LIPERT, R. J.; FRITZ, J. S.; PORTER, M.D. A rapid, simple method for determining formaldehyde in drinking water using colorimetric-solid phase extraction. **Talanta**. v.77, p.1405–1408, 2009.

KORN, M. G. A.; ANDRADE, M.G.M. ; LIMA, D. C. ; TEIXEIRA, A. P. ; VALE, M. G. ; WELZ, B. ; FERREIRA, S. L .C. Atomic spectrometric methods for the determination of metals and metalloids in automotive fuels - A Review. **Talanta** v. 73, p. 1-11, 2007.

LAJUNEN L, H, J. **Spectrochemical Analysis by Atomic Absorption and Emission**. The Royal Society of Chemistry. Cambridge; p.4, 1992.

LIANG, P.; ZHAO, E.; LI, F. Dispersive liquid–liquid microextraction preconcentration of palladium in water samples and determination by graphite furnace atomic absorption spectrometry. **Talanta** v.77, p.1854–1857, 2009.

MAKINO, T. A simple and sensitive colorimetric assay of zinc in serum using cationic porphyrin. **Clinica Chimica Acta**. v. 282, p.65-76, 1999.

MCLEAN, J.E.; BLEDSOE, B.E. **Behavior of metals in soils. Ground Water Issue**. Washington: USEPA, United States Environmental Protection Agency, 25 p. 1992.

MELO, A. S. Q.; **Métodos Analíticos para avaliação e controle de vanádio e cobre em água de mar e efluentes de refinaria de petróleo**. 2003. Tese (Doutorado em Ciências). Universidade Federal da Bahia, BA, 2003.

MILLER, J. C. & MILLER, J.N. **Estatística para química analítica**, 2.ed, Addison-Wesley Iberoamerican, Estados unidos, 1993.

MOCHEGANI, E; MUZZIOLI, M; CIPRIANO, C; et al. Zinc, T-cell Pathways, Aging: role of metallothioneins. **Mechanisms Ageing Development** v.106, p.183-204.1998.

MORENO, J. J. P. C.; VARGAS, M. G. 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.

NEVES, A. A. **Quantificação de óxidos de ferro por espectroscopia de reflectância difusa**. 2001. 127f. Tese (Doutorado em Solos). Universidade Federal de Viçosa, Viçosa. 2001.

PARK, Y.J.; FRAY, D.J. Separation of zinc and nickel ions in a strong acid through liquid–liquid extraction. **Journal of Hazardous Materials**. v.163, p. 259–265, 2009.

PINTO, F. G., ROCHA, S. S., CANUTO, M. H., SIEBALD, H.G.L., SILVA, J.B.B da. Determinação de cobre e zinco em cachaça por espectrometria de absorção atômica com chama usando calibração por ajuste de matriz. **Revista Analytica**. nº17, 2005.

PONCE, L. D. P. C.; **Determinação de Cádmio, Zinco e Cobalto em Amostras Ambientais por Espectrometria de Absorção Atômica de Chama, após Procedimento de Extração Líquido-Sólido Utilizando Naftaleno Modificado com PAN**. 1995. 118f. Tese (Doutorado em Química Analítica). Universidade Estadual de Campinas. Campinas. SP, 1995.

PRASSAD, A.S.; OBERLEAS, D. **Trace elements in human na disease**. v.1 – Zinc na copper. New York, Academic Press, 1976.

PUNZ, W. F.; SIEGHARDT, H. The response of roots of herbaceares plant species to heavy metals. **Environmental and Experimental Botany**. v.33, n.11, p.85-98, 1993.

QUEIROZ, S. C. N.; JARDIM, I. C. 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.

RIBANI, M.; BOTTOLI, C. B. G.; COLLINS, C. H.; JARDIM, I. C. S. F.; MELO, L. F. C. Validação em métodos cromatográficos e eletroforéticos. **Química Nova**. v. 27, n. 5, p. 771-780, 2004.

ROCHA, F. R. P. & TEIXEIRA, L. S. G. Estratégias para aumento da sensibilidade em espectrofotometria UV-VIS. **Química Nova**, v. 27, n. 5, p. 807-812, 2004.

ROCHA, S.A.N., DANTAS, A.F., JAEGER, H.V., COSTA, A.C.S. LEAO, E. S., 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.

RUSSEL, John. B.; **Química Geral**. 2.ed. v.1.São Paulo: Makron Books.1994.

SATAKE,M.;MATSUMURA,Y.;FUJINAGA,T.; Spectrophotometric Determination of Nickel after Separation by Adsorption of Its  $\alpha$ -Furldioxime Complex on Naphtalene. **Talanta**. v.25, p. 718-720, 1978.

SHIBATA,S. Solvent Extraction and Spectrophotometric Determination of Metals with 1-(2-Pyridilazo)-2-Naphtol. **Analytica Chimica Acta**, v.25, p.348-359, 1961.

SILVA, E. L. da.; GINÉ, M. F. **Determinação de cobre, zinco, cádmio e níquel por ICP OES após o estágio de pré-concentração com extração no ponto nuvem**. *29ª Reunião Anual da SBQ. 2006*

SOARES, Aline R. **Extração em fase sólida de níquel em amostras aquosas e determinação por espectroscopia de reflectância difusa**. 2008. 65f. Dissertação (Mestrado em Agroquímica). Universidade Federal de Viçosa, Viçosa, MG, 2008.

SOARES, R. M. **Coeficientes de Distribuição de Metais Pesados em Solos de São Paulo**. 2004. 214f. Tese (Doutorado em Agronomia). Universidade de São Paulo, Piracicaba, SP, 2004.

SPRINGSTEEN, A. **Reflectance spctroscopy: an overview of classification and techniques**. In: Jerry Workman Jr & Art. W. Springsteen ed. Applied Spectroscopy: A compact reference for practitioners. San Diego, Academic Press, p. 194-223. 1998.

SUSSULINI, A.; ARRUDA, M. A. Z. Determinação de cromo (VI) por espectrometria de absorção atômica com chama após a extração e pré-concentração no ponto nuvem. **Eclética Química**, v. 31, n.1, p. 73-80, 2006.

TEIXEIRA, Leonardo S. G.; ROCHA, Fábio R. P.; Espectrofotometria em fase sólida. **Revista Analytica**. n.5. p.36-43, 2003.

TSALEV, D.L; ZAPRIANOV, Z. K. **Atomic Absorption Spectrometry in Occupational and Environmental Health Practice**. v.1, CRC Press Inc., Florida, 1984.

TUBINO, M.; SOUZA, R. L. Determination of diclofenac in pharmaceutical preparations by diffuse reflectance photometry. **Talanta**, v. 68. p. 776–780. 2006.

TUZEN, M.; SOYLAKB, M.; CITAKA, D.; FERREIRA, H.S.; KORNC, M.G.A.; BEZERRA, M.A. A preconcentration system for determination of copper and nickel in water and food samples employing flame atomic absorption spectrometry. **Journal of Hazardous Materials**. v.162, p.1041–1045, 2009.

VUKOVIC, J; MATSUOKA, S; YOSHIMURA, K; et.al, Simultaneous determination of traces of heavy metals by solid-phase spectrophotometry. **Talanta**, v.71, p.2085-2091, 2007.

WHO, World Health Organization. **Guidelines for Drinking-water Quality: incorporating addendu**. v. 1. Recommendations. Ed. 2. 2006.