

de medida existente e um aumento da rentabilidade do trabalho laboratorial, além de uma economia apreciável por não ser necessário recorrer a material comercial importado. Na generalidade, estes resultados confirmam os obtidos anteriormente com a construção local de eletrodos seletivos, isto é, as vantagens que podem ser retiradas do esforço desenvolvido no sentido de se construir a própria aparelhagem.

Os bons resultados obtidos com as unidades cuja construção se descreve neste artigo incentivaram-nos a desenvolver comutadores de eletrodos automatizados, presentemente em construção.

Agradecimentos

Este trabalho tem vindo a ser realizado no âmbito da Linha de Ação 4A (Construção e Aplicações de Eletrodos Seletivos de Íons) do Centro de Investigação em Química

da Universidade do Porto, que tem o suporte económico do Instituto Nacional de Investigação Científica, Lisboa.

Agradece-se ao Sr. Ernesto Pinheiro a dedicação demonstrada na construção da aparelhagem descrita.

Referências

- 1 J.L.F.C. Lima e A.A.S.C. Machado, *Rev. Port. Quím.*, **21**, 15 (1979)
- 2 J.L.F.C. Lima e A.A.S.C. Machado, *Rev. Port. Quím.*, **21**, 153 (1979)
- 3 J.L.F.C. Lima e A.A.S.C. Machado, *Química Nova*, **3**, 2 (1980)
- 4 J.L.F.C. Lima e A.A.S.C. Machado, *Rev. Port. Quím.*, **24** (1982), no prelo
- 5 J.L.F.C. Lima e A.A.S.C. Machado, em Albaiges, J. (Ed.) "Proceedings of the Second International Congress in Environmental Chemistry, Barcelona, 1981", Pergamon Press (1982), pg. 419-426.

NOTA TÉCNICA

UM FOTÔMETRO SIMPLES PARA ANÁLISE POR INJEÇÃO EM FLUXO

Célio Pasquini e Ivo M. Raimundo Jr.

*Instituto de Química, Universidade Estadual de Campinas,
Caixa Postal 6154, 13100 Campinas, SP. - Brasil*

Recebido em 27/07/83

A técnica denominada Análise por Injeção em Fluxo (AIF) passou a ser largamente empregada em análises de rotina a partir dos trabalhos de Růzička e Hansen publicados em 1975 (1). Dentro de suas principais características se encontram a grande precisão, alta velocidade analítica, economia de reagentes e amostra aliadas à simplicidade do sistema analítico. Na versão mais simples da AIF, chamada Linha Única, a amostra é injetada com volume definido e reprodutível em um fluido carregador movendo-se com fluxo constante. Este fluido contém o reagente com o qual a espécie a ser analisada entra em contato por dispersão, sendo colocada em forma apropriada à detecção e simultaneamente levada à cela acoplada ao detector.

Por se tratar de um método de análise em fluxo, o instrumento analítico utilizado em AIF pode ser simplificado no que diz respeito aos parâmetros mecânicos envolvidos, pois a cela na qual se efetua a detecção se encontra fixa, assegurando, sobre este aspecto, a precisão das medidas. De fato, simplificações envolvendo o processo de detecção fotométrico são conhecidas (2,3). Estas se baseiam na utilização de um Diodo Emissor de Luz (DEL) como fonte luminosa apropriada devido à sua resolução espectral (~ 30 nm) e disponibilidade em praticamente toda a faixa da região do espectro visível.

Betteridge e colaboradores (2) descreveram um instrumento semelhante ao deste trabalho utilizando um DEL

como fonte de luz e um fototransistor como detector. O fototransistor exige tratamento eletrônico mais complexo do sinal, obtido originalmente na forma de uma corrente proporcional à intensidade da luz nele incidente, necessitando posteriormente ser convertido em variação de potencial que será apresentado a um registrador potenciométrico.

O presente trabalho descreve um instrumento simples construído para ser utilizado pela técnica de AIF com detecção fotométrica na região do visível. As principais modificações introduzidas em relação a instrumentos semelhantes previamente descritos estão no detector, que neste caso é constituído de um fotorresistor que permite a utilização de eletrônica extremamente simples, na utilização de um DEL bicolor que permite trabalhar em duas regiões de comprimento de onda sem modificações no instrumento e na construção de uma cela de detecção de desenho bastante simples.

O comportamento do instrumento aqui descrito foi verificado com relação a dois objetivos. O primeiro se relaciona com a sua utilização em análises fotométricas de rotina pela técnica AIF e a segunda com seu emprego em atividades didáticas de ilustração prática dos conceitos desta técnica. Para isto estudou-se inicialmente o desempenho do instrumento através da injeção de substância colorida (solução aquosa de Cu(II)) e em seguida empregando-se a reação de Cr(VI) com difenilcarbazida (DFC)

em meio ácido, por ser um sistema cujo comportamento em fluxo é conhecido (4).

PARTE EXPERIMENTAL

Instrumentação. O fotômetro desenvolvido é mostrado na Fig. 1. O sistema de detecção é constituído de uma ponte de Wheatstone formada por três resistências fixas, de um potenciômetro e um fotorresistor de sulfoseleneto de cádmio. Os seguintes fotorresistores comerciais podem ser utilizados devido ao tamanho adequado de suas superfícies sensíveis: Siemens RPY61 e Philips, versão 2322 600 93001. O potenciômetro permite anular a saída da ponte colocando-a na condição dita balanceada, na qual se efetuam as medidas. O circuito é alimentado por uma pilha alcalina (Duracell, tipo AA).

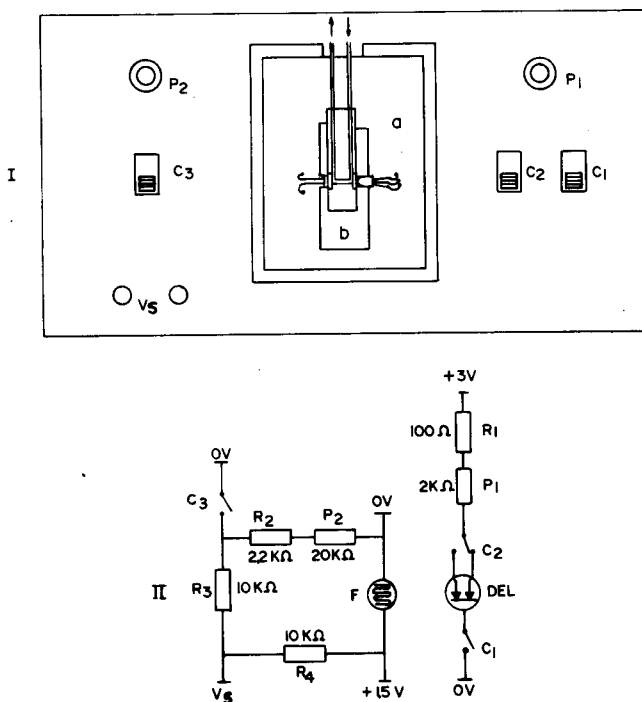


Fig. 1 I, vista frontal do fotômetro. a, protetor contra luz externa; b, suporte e cela de detecção. II, circuitos da ponte de Wheatstone e de alimentação do DEL. F, fotorresistor, P₁ e P₂ são potenciômetros de fio para controle da intensidade de emissão do DEL e para balanceamento da ponte de Wheatstone, respectivamente. C₁, C₂, C₃ são chaves para ligar/desligar o circuito do DEL, selecionar a região de comprimento de onda de emissão e ligar/desligar o circuito de detecção, respectivamente. VS = saída para o registrador potenciométrico.

A fonte de luz é constituída simplesmente de um DEL bicolor ($\lambda_{\text{max}} = 560$ ou 660 nm) cuja seleção de emissão é feita por uma chave de duas posições. A intensidade luminosa é controlada por um potenciômetro. A alimentação do DEL foi suprida ora por uma fonte de 3V, CC, 1A construída neste laboratório, ora por duas pilhas alcalinas (Duracell, tipo D) ligadas em série. A cela de detecção e o suporte sobre o qual esta é apoiada e onde se montou

o detector e a fonte são mostrados na Fig. 2. A cela com caminho óptico de 10 mm e volume total de $90 \mu\text{l}$ foi construída em um bloco de acrílico utilizando-se janelas de quartzo provenientes de celas espectrofotométricas inutilizadas. As janelas foram fixadas com cola de silicone que permite boa vedação e resistência ao fluxo. O suporte é feito também de acrílico e contém de um lado o DEL e do outro o fotorresistor. O arranjo é fixado na superfície de uma placa de Duratex (30x16 cm). Sobre o conjunto suporte/cela é colocada uma proteção removível contra luz exterior constituída de uma pequena caixa de madeira (8x10x2 cm) que contém em sua parte superior dois pequenos orifícios por onde passam os cabos de condução do fluido. A superfície da placa, o suporte e a proteção foram pintados de preto-fosco. Na parte posterior da placa foram montados os circuitos de detecção e o da fonte.

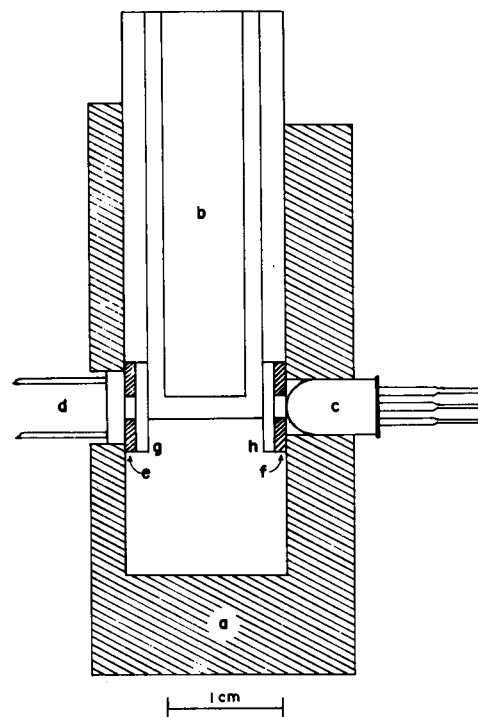


Fig. 2 Conjunto cela/suporte. a, suporte de acrílico; b, cela de detecção; c, DEL; d, fotorresistor; f e e, anteparo opaco; g e h, janelas de quartzo.

Os fluidos foram impulsionados por bomba peristáltica (Ismatec, mod. mini S-8) utilizando-se cabos de Tygon ou por gravidade utilizando-se recipientes de 1 l de mesmo diâmetro a partir de alturas variáveis segundo o fluxo desejado.

O sistema de fluxo empregado foi o de linha única para todas as medidas, sendo utilizado um injetor construído neste laboratório, segundo dados encontrados na literatura (5). Nos experimentos envolvendo a reação de Cr(VI) com DFC foi utilizada a mesma configuração de fluxo anteriormente descrita (4). Nas medidas com solução de CuSO_4 o fluxo carregador é constituído do mesmo meio ácido no qual se prepararam as soluções de CuSO_4 .

A saída do circuito de detecção foi apresentada a um registrador potenciométrico (ECB, mod. RE 101).

Reagentes e soluções. As soluções padrões de Cr (VI) e a solução de DFC foram preparadas como descrito anteriormente (4). Utilizou-se solução de DFC 0,05% (m/v) em confluência com solução de H_2SO_4 - 0,80M. As soluções de Cu(II) foram preparadas a partir de solução estoque de $CuSO_4$ a 15,00 g/l do metal em H_2SO_4 4% (v/v). Todos os reagentes utilizados são de grau analítico.

RESULTADOS E DISCUSSÃO

O fotorresistor utilizado no sistema de detecção apresentou uma resistência de 13 M Ω após ter sido fixado no suporte da cela e protegido contra a luz exterior durante 30 min. Este valor decaiu para 11,75 K Ω quando este é exposto a luz de intensidade máxima de $\lambda_{max} = 660$ nm do DEL passando através da cela preenchida com água ou para 16,63 K Ω quando utiliza $\lambda_{max} = 560$ nm nas mesmas condições. Estes resultados mostraram que não existe, devido às características dos elementos empregados no circuito detector, a necessidade de se empregar o controle de intensidade de emissão do DEL. Em consequência trabalhou-se com a intensidade máxima de luz permitida pelo DEL nas duas regiões de comprimento de onda, o que assegurou um menor coeficiente térmico do fotorresistor (6).

Experimentos preliminares realizados injetando-se soluções de Cu(II) com o DEL emitindo em $\lambda_{max} = 660$ nm demonstraram que empregando-se um fundo de escala de 200 mV no registrador potenciométrico as medidas obtidas preenchiam requisitos básicos como sensibilidade e precisão. Nestas condições esta varredura equivale a uma variação de 81,4% do valor da fotorresistência. As medidas de caracterização do fotômetro foram executadas neste fundo de escala de 200 mV.

Estabilidade e Ruído. A estabilidade do fotômetro foi testada observando-se a variação da linha base obtida com a cela preenchida com água e a variação da leitura com a cela preenchida com solução de Cu(II) de 5,00 g/l. O tempo necessário para se atingir uma inclinação constante da linha base após se ligar os circuitos detector e o da fonte é de aproximadamente 15 min. Após este tempo observou-se uma deriva máxima de 9 mV/h que corresponde a 4,5% do fundo de escala de trabalho (200 mV). Esta deriva, com certeza, tem uma grande participação dos coeficientes térmicos do DEL e do fotorresistor. Uma elevação na temperatura causa um aumento no valor da resistência do fotorresistor e um decréscimo da intensidade de emissão do DEL. Este efeito não compromete a precisão das medidas tomadas em fluxo. Porém, como a sensibilidade da ponte de Wheatstone depende do deslocamento da condição de saída nula, é recomendável o reposicionamento da linha base quando a deriva for muito acentuada. Um ruído máximo de 0,8 mV foi observado ao longo de uma linha base obtida no intervalo de 2 horas em condições estática ou dinâmica.

Tempo de Resposta. Dados encontrados na literatura (6) indicam que os fotorresistores são elementos detectores bastante rápidos. O tempo necessário para atingir 65% da variação de resistência desde o seu valor no escuro até aquele correspondente ao da incidência de 1000 lx é de 2 a 6 m. Este dado faz crer que o tempo de resposta total do sistema de detecção seja determinado predominantemente pela inércia mecânica do registrador potenciométrico. A rápida injeção manual de solução 7,50 g/l de Cu(II) através de uma seringa posicionada a 10 cm da cela de detecção anteriormente preenchida com água mostrou que o tempo necessário para se atingir 63% do valor do fundo de escala de 200 mV no registrador é de 0,5 s. O mesmo valor foi observado em relação ao retorno para linha base injetando-se água novamente. Este valor é considerado adequado para aplicações envolvendo o sistema AIF (1).

Sensibilidade. A sensibilidade de um fotorresistor (definida como a variação da sua resistência com a intensidade luminosa que atinge sua superfície sensível) é função do comprimento de onda da luz que sobre ele incide. O fotorresistor de sulfoseleneto de cádmio empregado apresenta maior sensibilidade na faixa de 650-700 nm, perdendo cerca de 70% desta a 500 e 800 nm. Uma comparação da sensibilidade fotométrica foi efetuada confrontando-se os valores de absorvância obtidos para soluções de Cu(II) em um espectrofotômetro Zeiss-PMQ II, em condições de mesmo caminho óptico e comprimento de onda máxima de emissão do DEL (660 nm), com valores obtidos injetando-se um volume suficientemente grande das mesmas soluções no fotômetro de forma a não haver diluição por dispersão. Os resultados demonstraram que 1 mV de variação da saída da ponte de Wheatstone equivale à variação de $2,2 \times 10^{-3}$ unidades de absorvância no espectrofotômetro. Comparação semelhante feita utilizando-se soluções de complexo de Cr(VI) com DFC mostrou que a sensibilidade é reduzida cerca de 55% quando se utiliza λ_{max} de emissão igual a 560 nm. Estas comparações foram feitas em faixas de respostas lineares em função da concentração tanto para o espectrofotômetro como para o instrumento proposto. Não se observou uma variação significativa na sensibilidade de detecção com a diminuição da intensidade de emissão de DEL.

Linearidade. A linearidade de resposta de um sistema utilizado em análise com detecção fotométrica necessita ser avaliada segundo aspectos distintos. Um diz respeito à linearidade do detector em relação à incidência de luz. Sob este aspecto o sistema proposto certamente não é linear. A resistência de um fotorresistor decresce exponencialmente com o aumento da intensidade da luz que atinge sua superfície. Além disso, a ponte de Wheatstone não mantém sua saída linear com variações de resistência da ordem daquelas que aqui se observam (7). Embora a contribuição da ponte para o desvio de linearidade seja oposta à do fotorresistor, ela não é da mesma magnitude e o resultado final não deve ser linear. Outro aspecto da linearidade, certamente o mais importante, diz respeito

à relação do sinal fotométrico com a concentração da espécie absorvente analisada. Neste estão incorporados, por exemplo, a obediência à lei de Beer-Lambert com todos os fatores que a afetam, a cinética da reação que ocorre em linha e a dispersão do sistema de fluxo. Analisando-se somente a lei de Beer-Lambert, observa-se que esta prediz um decréscimo exponencial da intensidade de luz que deixa a cela em relação à intensidade incidente, com o aumento da concentração da espécie absorvente. Como o fotorresistor atua no sentido oposto, isto é, sua resistência cresce exponencialmente com a diminuição da luminosidade, é de se esperar uma compensação no sentido de linearizar a resposta final em função da concentração. A figura 3 mostra uma comparação efetuada para resultados obtidos com soluções de Cu(II) na faixa de 1,00 a 15,00 g/l do metal medidas com o fotômetro e com o espectrofotômetro Zeiss-PMQ II nas mesmas condições da comparação de sensibilidade. Pode ser observado que realmente o circuito detector age no sentido de linearizar a curva de sinal contra concentração em uma extensão de quase 300 mV de variação da saída do circuito.

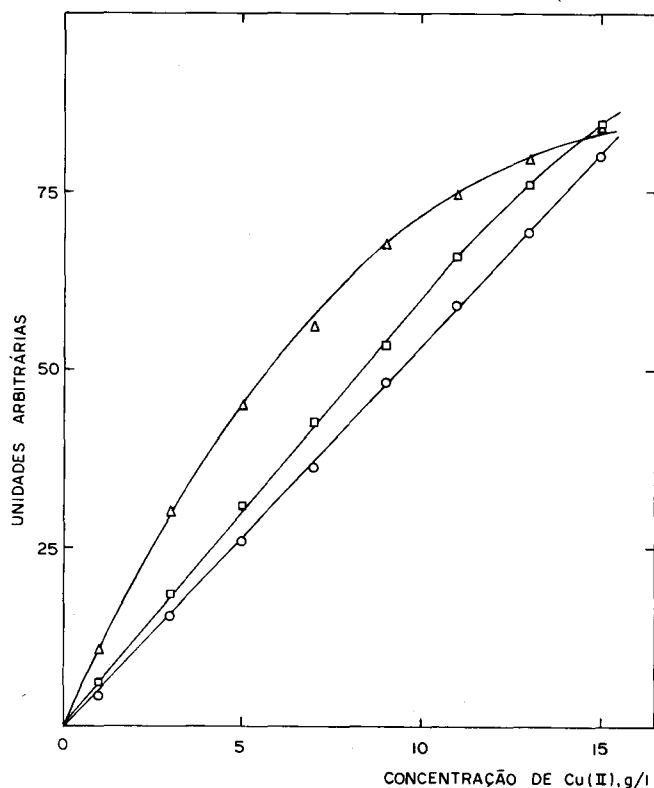


Fig. 3. Comparação de linearidade de resposta em função da concentração. ○ e Δ, resultados obtidos respectivamente para absorvância e transmitância em espectrofotômetro Zeiss PMQ II. □, resultados para o fotômetro. Os valores das ordenadas correspondem em cada caso às seguintes relações: $(0,01x)$ unidades de absorvância, $(4x)$ mV e $(100-x)\%$ de transmitância, onde x = número de unidades arbitrárias. $\lambda = 660$ nm.

Resultados em AIF. A Fig. 4A mostra os sinais obtidos com as soluções padrões de Cr(VI) preparadas através de diluições com água de solução estoque a 1000 ppm do

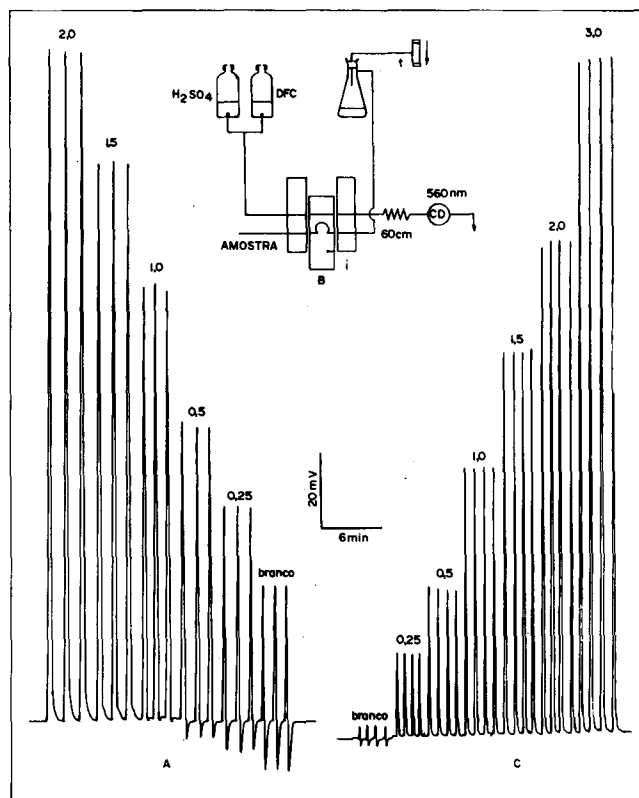


Fig. 4. A, calibração para Cr(VI) obtido com padrões diluídos em água. Vazão total do fluxo reagente = $1,2 \text{ ml} \cdot \text{min}^{-1}$. Todas as medidas triplicadas. B, Sistema de impulsão por gravidade utilizado na obtenção das calibrações; t, trompa de vácuo; i, injetor na posição de amostragem. C, calibração para Cr(VI) obtido com padrões diluídos em $\text{H}_2\text{SO}_4 - 0,4\text{M}$. Vazão total do fluxo reagente = $2,4 \text{ ml} \cdot \text{min}^{-1}$. Todas as medidas quadruplicadas. Os números acima dos sinais para as duas calibrações representam a concentração de Cr(VI) em ppm no padrão. Volume de amostra injetado de $75 \mu\text{l}$ para ambas as calibrações $\lambda_{\text{max}} = 560$ nm.

metal. É possível observar um sinal bastante acentuado de uma prova em branco obtida por injeção de água. Este efeito foi previamente verificado para um instrumento semelhante (2) e se deve à diferença de índice de refração entre as soluções padrões e a solução reagente cuja composição predominante é de 0,40 M em H_2SO_4 . A Fig. 4C mostra os resultados com soluções padrão preparadas em meio 0,4 M de H_2SO_4 . Observa-se, neste caso, uma diminuição drástica do efeito da diferença de índice de refração. O conhecimento prévio da composição da amostra torna-se, diante do exposto, imprescindível para se conseguir uma boa exatidão de análises efetuadas por AIF utilizando-se o fotômetro proposto. O desvio padrão médio absoluto estimado das medidas foi de 0,5 mV (mínimo de 0,2 e máximo de 0,8 mV) ao longo de toda faixa de concentração (0-3 ppm) da curva de calibração. A curva de calibração obtida nas condições da Fig. 4C é linear até 1,5 ppm de Cr(VI) segundo a equação: $S = 3,08 + 63,06 C$ ($r = 0,9998$) onde S é a altura do sinal expressa em mV e C é a concentração de Cr(VI) em ppm. Nestas condições a velocidade analítica é de até 80 amostras por

hora. Estes resultados foram obtidos pelo sistema de fluxo mostrado na Fig. 4B, onde as soluções reagentes são impulsionadas por gravidade. Utilizando-se este sistema e soluções de Cu(II) medidas em $\lambda_{\text{max}} = 660 \text{ nm}$, pode-se estudar a influência de todos os parâmetros da AIF (caminho de reação, fluxo, volume injetado) no sinal analítico. Não se notou diferença significativa na precisão dos resultados impulsionando as soluções com bomba peristáltica.

O preço total do instrumento aqui descrito é de cerca de Cr\$ 6.000,00. O desempenho é idêntico, quer se utilizem pilhas ou com uma outra fonte não perecível na alimentação do DEL. Em regime de trabalho de 4 horas diárias o instrumento funcionou durante 4 meses alimentado por pilhas. Sua utilização em análises de rotina pode-se tornar menos dispendiosa com a substituição do registrador potenciométrico pelo circuito detector de picos previamente descrito (8). Porém, para finalidades didáticas, o registrador é necessário para a completa visualização do sinal da AIF e as modificações por ele sofridas com as alterações dos parâmetros analíticos.

As características de linearidade, sensibilidade e precisão observadas e a possibilidade de se trabalhar com soluções reagentes impulsionadas por gravidade demonstram que o fotômetro se presta a determinações através da técnica de AIF e constitui um meio econômico

de se ilustrar na prática os conceitos envolvidos nesta técnica.

Agradecimentos

Os autores agradecem aos Professores Wallace A. de Oliveira, Nivaldo Baccan e João Carlos de Andrade pelas facilidades concedidas durante a execução deste trabalho.

Referências

- ¹ J. Růzička e E.H. Hansen, "Flow Injection Analysis", John Wiley, New York, (1981)
- ² D. Betteridge, E.L. Dagless, B. Fields e N.F. Graves, *Analyst*, **103**, 897, (1978).
- ³ D. Betteridge, *Fresenius Z. Anal. Chem.*, **312**, 441, (1982).
- ⁴ J.C. de Andrade, J.C. Rocha, C. Pasquini e N. Baccan, *Analyst*, **108**, 621, (1983).
- ⁵ B.F. Reis, E.A.G. Zagatto, A.O. Jacinto, F.J. Krug e H. Bergamin F^o, *Anal. Chim. Acta*, **119**, 305, (1980).
- ⁶ Catálogo Siemens, *Optoelectronics Data Book*, (1976).
- ⁷ P.W. Carr, *Critical Rev. in Anal. Chem.*, **2**, 491 (1972).
- ⁸ C. Pasquini, W.A. de Oliveira e C. Pasquini, *Química Nova*, **5**, 51, (1982).

EDUCAÇÃO

SEPARAÇÃO DE UMA MISTURA DE ISÔMEROS POR CROMATOGRAFIA DE COLUNA

José A. R. Rodrigues *, Concetta Kascheres e Luzia Koike

*Universidade Estadual de Campinas
Instituto de Química
13.100 Campinas, S.P., Brasil*

Recebido em 19/05/81

Estamos descrevendo uma experiência que vem sendo realizada com sucesso no curso de química orgânica experimental do Instituto de Química da UNICAMP. Ela ilustra os fundamentos da cromatografia de adsorção em coluna e em camada delgada, uma técnica comum e muito empregada para separar os componentes de uma mistura ou para purificar uma substância. Vários livros textos^{1,2} sugerem alternativas diferentes, utilizando o tradicional isolamento dos pigmentos vegetais, como clorofila e carotenos, confundindo os alunos no início de um curso experimental, por serem moléculas relativamente complexas, para o estágio de aprendizado em que aqueles se encontram. Como temos notado que a maioria dos estudantes que chegam a esta Universidade para fazer um curso de pós-graduação em química, não tiveram uma introdução à técnica de cromatografia de adsorção, achamos oportuno divulgar a experiência que utilizamos no quinto semestre de graduação.

Cromatografia de Adsorção

Os componentes de uma amostra movem-se com o solvente pela coluna com velocidades diferentes, dependendo de vários fatores, tais como a natureza de cada substância, a natureza do solvente e a atividade do adsorvente. A separação dos constituintes de uma mistura é efetuada através da passagem do solvente pela coluna e baseia-se na interação dos componentes da amostra e do solvente com a superfície do adsorvente. Um adsorvente sólido ativo tem uma grande área superficial, dispoendo de inúmeros sítios polares que podem se combinar reversivelmente ou adsorver pequena concentração de substâncias, através de forças de atração eletrostática. O solvente movendo-se pela superfície do adsorvente compete com a amostra adsorvida e com o adsorvente, e então desloca seus constituintes reversivelmente e continuamente pela coluna. Este processo pode