

Vertical line on the left side of the page.



CNEN/SP

ipen Instituto de Pesquisas
Energéticas e Nucleares

AUTARQUIA ASSOCIADA A UNIVERSIDADE
DE SÃO PAULO

ESTUDO DA DETERMINAÇÃO DE COBRE POR ANÁLISE POR DILUIÇÃO ISOTÓPICA SUBESTEQUIOMÉTRICA

ELAINE DE SOUZA FAQUIM

Dissertação apresentada como parte
dos requisitos para obtenção do Grau
de Mestre em Ciências na Área de
Tecnologia Nuclear.

Orientador:
Dr. Casimiro S. Munita

São Paulo
1994

INSTITUTO DE PESQUISAS ENERGÉTICAS E NUCLEARES

AUTARQUIA ASSOCIADA A UNIVERSIDADE DE SÃO PAULO

"ESTUDO DA DETERMINAÇÃO DE COBRE POR ANÁLISE POR DILUIÇÃO
ISOTÓPICA SUBESTEQUIOMÉTRICA"

ELAINE DE SOUZA FAQUIM

Dissertação apresentada como parte
dos requisitos para obtenção do
Grau de "Mestre em Ciências" na
Área de Tecnologia Nuclear.

Orientador: Dr. Casimiro S. Munita



SÃO PAULO

1994

"Demais, filho meu, atenta: não há limite para fazer livros, e o muito estudar é enfado da carne.

De tudo o que se tem ouvido, a suma é: Teme a Deus, e guarda os seus mandamentos; porque isto é o dever de todo homem."

Ec. 12:12, 13.

Ao meu marido Sergio,
Aos meus pais e irmã.

AGRADECIMENTOS

Desejo expressar meus agradecimentos ao Dr. Casimiro Munita, pela orientação e compreensão durante a execução deste trabalho;

À Dra. Marina B. A. Vasconcellos, chefe da Supervisão de Radioquímica, pela oportunidade de realização do presente trabalho;

Aos integrantes das Divisões de Proteção Radiológica, de Operação e Manutenção do Reator e de Informação e Documentação Científica;

Ao Conselho Nacional de Pesquisa e Desenvolvimento Tecnológico CNPq, pela concessão da bolsa de mestrado;

Aos colegas da Divisão de Radioquímica, Dra. Mitiko Saiki, Dra. Maria José Armelim, Dra. Ana Maria Figueiredo, Dra. Ieda Lamas Cunha, Msc. Rosemeire Petrauskas, e em especial, a Msc. Vera Akiko Maihara pelo constante apoio e amizade recebidos;

À amiga Dra. Déborah Inês T. Fávaro, pela colaboração, incentivo e principalmente amizade e carinho sempre demonstrados;

Aos amigos Cláudio e Rubens pelo estímulo e companheirismo em todas as alegrias e dificuldades;

À amiga Sandra R. Marchese e Gérson Paletti pelo carinho e amizade sempre presente. À todos os amigos da Radioquímica o meu muito obrigado.

Em especial,

Aos meus pais e irmã, que com a forma mais singela de incentivo e amor colaboraram para que essa dissertação fosse concluída;

Ao meu marido Sergio pelo amor, compreensão e apoio à minha carreira.

**ESTUDO DA DETERMINAÇÃO DE COBRE POR ANÁLISE POR DILUIÇÃO
ISOTÓPICA SUBESTEQUIOMÉTRICA**

Elaine de Souza Faquim

RESUMO

Cobre é um dos elementos que possui interesse biológico à nível de traço e ultra-traço. As dificuldades analíticas muitas vezes parecem aumentar drasticamente quando as amostras possuem quantidades bastante baixas dos elementos traço. Deste modo, a viabilidade de métodos sensíveis e seletivos é de grande importância para amostras biológicas e ambientais.

As análises por diluição isotópica subestequiométricas baseiam-se na adição de quantidades conhecidas do radioisótopo do elemento de interesse à solução padrão e à amostra que contém o elemento em questão. Neste trabalho, o traçador de ^{64}Cu , com meia vida de 12,8h, produzido pela irradiação do ^{63}Cu com nêutrons térmicos, foi separado por meio de uma extração subestequiométrica do Cu(II) com ditizona em tetracloreto de carbono. A atividade da fase orgânica foi medida em um espectrômetro de raios γ associado a um detector de NaI(Tl).

Estudou-se a influência dos ácidos clorídrico,

sulfúrico e nítrico e o tempo de equilíbrio entre a fase orgânica e aquosa. A separação subestequiométrica foi quantitativa na faixa de pH entre 2 a 7. A reprodutibilidade da extração foi verificada utilizando quantidades crescentes de traçador de ^{64}Cu . Observou-se um aumento de atividade até alcançar a razão cobre-ditizona de 1:2, após este ponto permaneceu constante.

Nas análises, os elementos que formam complexos estáveis com ditizona não interferem, mesmo quando presentes em grandes quantidades.

Foram estabelecidas as melhores condições de determinação do cobre em termos de seletividade e simplicidade do método.

A precisão e exatidão do método foi testada por meio da utilização de materiais de referência. Os materiais de referência analisados foram: NBS SRM 1572 Citrus Leaves, MA-A-2 621 Fish Flesh Homogenate, NBS SRM 1567a Wheat Flour, NBS SRM 1568 Rice Flour e NIST SRM 1643c Trace Elements in Water. Foi obtida boa concordância entre os resultados obtidos e aqueles apresentados na literatura.

Após terem sido estabelecidas as melhores condições analíticas, o método foi aplicado na determinação de cobre à nível de traço em amostras sólidas de dieta alimentar e farinha de trigo e líquidas como vinho e cerveja.

**STUDY OF THE DETERMINATION OF COPPER BY SUBSTOICHIOMETRIC
ISOTOPIC DILUTION ANALYSIS**

Elaine de Souza Faquim

ABSTRACT

Copper is one of the elements that has biological interest at trace and ultra-trace levels. Analytical difficulties often seem to increase drastically when analysing materials with very low contents of trace elements. Thus, the availability of sensitive and selective methods is of great importance for the analysis of biological and environmental samples.

Substoichiometric isotope dilution analysis is based on the addition of known amounts of radioisotope of the element of interest to the standard solution and sample containing the element in question. In this work, the tracer ^{64}Cu having a half-life of 12,8h produced by the irradiation of ^{63}Cu with thermal neutron was separated by substoichiometric extraction of Cu(II) with dithizone in carbon tetrachloride. An aliquot of the organic layer was measured on a γ -ray spectrometer consisting of a NaI(Tl) well-type detector and associated electronics.

The influence of hydrochloric, sulfuric and nitric acids and the equilibrium time were studied. The

substoichiometric separation was quantitative in the pH range from 2 to 7. The reproducibility of the substoichiometric extraction was checked using increasing amounts of tracer ^{64}Cu . It was observed an increase in activity until the ratio of copper concentration to dithizone was 1:2, after which it remained constant.

In the analysis, even a large excess of elements that form extractable complexes with dithizone does not interfere.

The best conditions for the determination of copper in terms of selectivity and simplicity of the method were established.

The precision and accuracy of the method were tested using reference materials. The reference materials analysed were: NBS SRM 1572 Citrus Leaves, MA-A-2 621 Fish Flesh Homogenate, NBS SRM 1567a Wheat Flour, NBS SRM 1568 Rice Flour and NIST SRM 1643c Trace Elements in Water. A good agreement was achieved between the results found and those reported in the literature.

After establishing the best analytical conditions, the method was applied to the determination of copper at trace levels in solid samples of diet, wheat flour and in liquid samples, like wine and beer.

ÍNDICE

CAPÍTULO I - INTRODUÇÃO	01
CAPÍTULO II - ASPECTOS TEÓRICOS SOBRE DILUIÇÃO ISOTÓPICA E EXTRAÇÃO SUBESTEQUIOMÉTRICA	14
II.1. DILUIÇÃO ISOTÓPICA	14
II.1.1. Classificação dos Métodos de Diluição Isotópica	16
II.1.1.1. Diluição Isotópica com Isótopos Radioativos	16
II.1.1.2. Diluição Isotópica com Isótopos Estáveis	21
II.1.2. Precisão e Exatidão da Diluição Isotópica	23
II.1.2.1. Precisão	23
II.1.2.2. Exatidão	25
II.1.3. Vantagens do Método	27
II.2. DILUIÇÃO ISOTÓPICA ASSOCIADA À SUBESTEQUIOMETRIA	28
II.2.1. Princípios da Subestequiometria	28
II.2.2. Extração por Solventes de Quelatos Metálicos	33
II.2.3. Seletividade da Extração Subestequio- métrica	39

II.2.4. Sensibilidade do Método	44
II.2.4.1 Cálculo da Sensibilidade do Método	45
II.2.5. Vantagens da Análise por Diluição Isotópica Subestequiométrica	47
CAPÍTULO III - GENERALIDADES SOBRE A DITIZONA	50
III.1. DITIZONATOS METÁLICOS	51
III.2. EQUILÍBRIO DA DITIZONA	54
III.2.1. Distribuição da Ditizona entre a Fase Aquosa e o Solvente Orgânico	54
III.2.2. Equilíbrio Metal-Ditizona	56
III.2.3. Velocidade de Extração	59
III.3. SELETIVIDADE DAS REAÇÕES COM DITIZONA	60
III.3.1. Efeito do pH	61
III.3.2. Efeito dos Agentes Complexantes	63
III.3.3. Efeito do Estado de Oxidação do Metal	64
III.4. OXIDAÇÃO E ESTABILIDADE DA DITIZONA	64
CAPÍTULO IV - PARTE EXPERIMENTAL	68
IV.1. EQUIPAMENTOS E MATERIAIS	68

IV.2. REAGENTES	69
IV.3. SOLUÇÕES	70
IV.4. PROCEDIMENTO PARA OS EXPERIMENTOS DE EXTRAÇÃO	72
CAPÍTULO V - ESTUDO DA EXTRAÇÃO DO COBRE	74
V.1. INFLUÊNCIA DOS ÁCIDOS NA EXTRAÇÃO DO COBRE COM DITIZONA	75
V.2. DETERMINAÇÃO DO TEMPO DE EQUILÍBRIO	76
V.3. ESTUDO DA EXTRAÇÃO DO COBRE EM FUNÇÃO DO pH	77
V.4. REPRODUTIBILIDADE DA EXTRAÇÃO SUBESTEQUIO- MÉTRICA DO COBRE COM DITIZONA	79
V.5. INFLUÊNCIA DOS ELEMENTOS INTERFERENTES NA EXTRAÇÃO DO COBRE	81
CAPÍTULO VI - RESULTADOS	84

VI.1. AVALIAÇÃO DA PRECISÃO E EXATIDÃO DO MÉTODO	84
VI.1.1. Linearidade dos Resultados	87
VI.2. DETERMINAÇÃO DO COBRE EM MATERIAIS DE REFERÊNCIA (SRM)	88
VI.2.1. Preparação da Amostra	89
VI.2.2. Preparação do Padrão	90
VI.2.3. Procedimento de Extração	90
CAPÍTULO VII - APLICAÇÕES	93
VII.1. ANÁLISE DAS AMOSTRAS SÓLIDAS	94
VII.1.1. Determinação do Teor de Umidade	94
VII.1.2. Preparação das Amostras e Padrões de Dieta Alimentar e Farinha de Trigo	95
VII.1.3. Procedimento de Extração	95
VII.2. ANÁLISE DAS AMOSTRAS LÍQUIDAS	95
VII.2.1. Preparação das Amostras de Vinho e Cerveja	95
VII.2.2. Esquema do Procedimento Adotado	96
VII.2.3. Cálculo da Concentração de Cobre	99
CAPÍTULO VIII - DISCUSSÃO E CONCLUSÕES	101

CAPÍTULO IX - REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS	112
--	-----

APÊNDICES

APÊNDICE I. TABELA DAS CONSTANTES DE EXTRAÇÃO E ESTABILIDADE	122
--	-----

APÊNDICE II. CÁLCULO DO DESVIO PADRÃO, DESVIO PADRÃO RELATIVO, ERRO RELATIVO, LIMITES DE CONFIANÇA E TESTE $r_{\text{máx.}}$ e $r_{\text{mín.}}$	123
--	-----

CAPÍTULO I

I. INTRODUÇÃO

Enquanto a crosta terrestre permanece como fonte direta dos elementos traço fornecidos ao solo, plantas e animais, numerosas fontes antropogênicas estão modificando o ciclo natural dos elementos traço na natureza. Atividades industriais, domésticas e agrícolas utilizam grandes quantidades de elementos como ferro, cobre, chumbo, níquel, cádmio ou mercúrio, os quais em grande parte retornam ao meio ambiente por meio de descargas na atmosfera ou em águas(1).

O papel que os elementos traço desempenham na natureza não deve ser considerado somente pelos seus efeitos indesejáveis no meio ambiente. Um grande número de elementos normalmente encontrados no solo atuam de forma necessária e ativa. Dentro desses elementos encontram-se o boro, cobalto, cobre, ferro, manganês, molibdênio e zinco considerados indispensáveis ao crescimento das plantas.

A mesma importância é dada aos elementos traço na nutrição animal na qual elementos como o cobre, zinco, molibdênio, ferro, cobalto e selênio são considerados essenciais ao organismo, particularmente na composição de um grande número de enzimas.

Considerando este aspecto dos elementos químicos, é difícil classificá-los como essenciais ou não. Alguns elementos são essenciais às plantas sem serem essenciais aos animais. Além disto, todas as espécies de plantas, assim como todas as espécies de animais não necessitam obrigatoriamente de todos os elementos.

Nos últimos anos, os efeitos biológicos causados pelos metais no meio ambiente têm despertado grande preocupação uma vez que dependendo da concentração, sejam eles elementos essenciais ou não, tornam-se tóxicos para uma grande variedade de organismos vivos.

Segundo Cotzias(2) um elemento é considerado essencial quando satisfaz os seguintes critérios:

- está presente em todos os tecidos sadios de todos os organismos vivos;
- a concentração do elemento de um animal para outro é regularmente constante;
- a ausência do elemento no corpo induz à mesma anormalidade estrutural e fisiológica independente da espécie estudada;
- quando a adição do mesmo elemento previne ou reverte essas anormalidades;
- as anormalidades induzidas pela deficiência do elemento são sempre acompanhadas por mudanças bioquímicas;

- essas mudanças bioquímicas podem ser prevenidas ou curadas quando a deficiência for eliminada.

Um critério menos rigoroso foi proposto por Mertz(2), segundo o qual considera que a deficiência dos elementos no alimento deve, constantemente, resultar na redução da função biológica a qual pode ser evitada ou revertida com a administração de quantidades fisiológicas do mesmo elemento.

Atualmente, sabe-se que vinte e seis dos noventa elementos naturais são essenciais à saúde. Nestes vinte e seis elementos, onze são considerados macroconstituintes: carbono, hidrogênio, oxigênio, nitrogênio, enxofre, cálcio, fósforo, potássio, sódio, cloro e magnésio. Outros quinze elementos são considerados como elementos traço: ferro, zinco, cobre, manganês, níquel, cobalto, molibdênio, selênio, crômio, iodo, fluor, estanho, silício, vanádio e arsênio(3).

Mais de trinta elementos não se encontram dentro dos critérios que classificam os elementos como essenciais, porém, são encontrados, frequentemente, em concentrações variáveis nos tecidos vivos. Entre estes elementos estão o alumínio, antimônio, cádmio, mercúrio, prata, chumbo, bismuto, etc. Acredita-se que tais elementos são incorporados por meio do contato do organismo com contaminantes ambientais. Em torno de dez elementos, tais como o chumbo, cádmio e mercúrio, têm sido objeto de estudos devido, principalmente, à potencialidade dos seus efeitos tóxicos(3).

A classificação desses elementos traço em um novo grupo, conhecido como elementos tóxicos, se justifica pelo fato de tais elementos possuírem propriedades potencialmente tóxicas em concentrações relativamente baixas. Entretanto, essa classificação é limitada, pois todos os elementos são tóxicos se ingeridos ou inalados em quantidades suficientemente altas e por longo período.

O cobre, especificamente, é classificado como um elemento traço essencial para o funcionamento celular de todos os sistemas vivos; desempenha um importante papel na absorção e transporte de ferro, no desenvolvimento normal do esqueleto, na função normal e estrutura do sistema nervoso central, na sensação de sabor e na pigmentação(4).

O cobre está presente em todos os tecidos do corpo. Músculos e ossos geralmente possuem a maior porcentagem da quantidade total de cobre no corpo, enquanto o fígado, cérebro e a medula óssea apresentam as mais altas concentrações(5).

Concentrações anormais dos elementos traço no organismo humano podem ser atribuídas à desordens metabólicas, determinadas condições patológicas e absorção excessiva ou inadequada. A necessidade do cobre no sistema nervoso, por exemplo, foi descoberta em 1937 por Bennetts e Chapman(6), os quais demonstraram que a Ataxia Neonatal de carneiros era causada pela deficiência materna de cobre.

A deficiência de cobre na dieta alimentar ou o seu acúmulo devido a um mau funcionamento de um órgão tem sido relacionado à síndromes clínicas, pois o metal uma vez absorvido pode ser determinado em vários tecidos, órgãos ou fluídos possibilitando relacionar a patologia com a concentração do metal(3,7).

Os efeitos da desproporção dos elementos traço na dieta alimentar é muito mais pronunciado em crianças que em adultos. A deficiência de cobre em crianças tem sido relacionada à síndromes clínicas típicas caracterizadas por anemia, hipocupremia, diarréia crônica ou periódica e outros sintomas que podem ser eliminados por meio da administração do elemento(2).

As doenças hereditárias, muitas vezes, dão origem à desordens metabólicas as quais podem estar associadas às concentrações anormais dos elementos traço no organismo. Por exemplo, a Síndrome de Menke, se caracteriza por uma degeneração cerebral progressiva, retardamento do crescimento e outros sintomas. A Síndrome de Menke se origina devido a um erro genético caracterizado pela deficiência em absorver cobre. A doença de Wilson, também conhecida como degeneração hepatolenticular, é caracterizada por uma severa e progressiva doença do fígado (cirrose), síndrome neurológica peculiar e pela presença de anéis Kayser-Fleischer na córnea. A doença de Wilson é herdada por meio de um par anormal de genes autossômicos recessivos causando o acúmulo de cobre

principalmente no fígado e também no cérebro(2,3,6,7).

A nutrição também desempenha uma profunda influência na produção de radicais livres. Os radicais livres são moléculas com um ou mais elétrons desemparelhados, instáveis e causadores de danos celulares. As vitaminas A, C e E são nutrientes que agem como antioxidantes por reagirem, em parte, diretamente com os radicais livres ou com outros antioxidantes. Elementos como o selênio, manganês, zinco, cobre e ferro são componentes de várias enzimas antioxidantes(5).

Apesar dos metais de transição como o cobre e o ferro serem componentes de enzimas antioxidantes, esses elementos são considerados agentes oxidantes capazes de transferir elétrons para moléculas que contenham oxigênio causando, desta forma, a geração de radicais livres e peroxidação lipídica(5).

O cobre é um nutriente essencial e parte integral de enzimas antioxidantes, chamadas cuproenzimas. Foi proposto por Johnson(5), que apesar do cobre possuir caráter oxidante podendo favorecer a produção de radicais livres, a sua deficiência nutricional prejudica a ação antioxidante das cuproenzimas por meio da diminuição da atividade dessas enzimas. Desta forma, supõe-se que o cobre pode agir como um nutriente antioxidante evitando a produção de radicais livres.

A crescente preocupação com a possível presença dos elementos tóxicos na cadeia alimentar, mais o reconhecimento

crecente da importância dos elementos traço na nutrição, torna essencial a determinação exata desses elementos(8).

Técnicas analíticas nucleares instrumentais são largamente utilizadas na análise de elementos à nível de traço. A análise por ativação instrumental não destrutiva é um dos métodos mais utilizados; entretanto, a exatidão do método é limitada devido a radiação de fundo induzida pelos elementos da matriz. A sensibilidade em muitos casos é bastante alta, porém, na determinação de baixas concentrações de elementos em matrizes complexas é essencial uma separação radioquímica(9, 10).

A análise por diluição isotópica foi proposta por Hevesy e Hobbie(11) e por Starik(12). O método baseia-se na determinação da mudança da atividade específica causada pela mistura de isótopos radioativos e não radioativos do elemento a ser determinado.

O método da diluição isotópica apresenta grandes vantagens, não somente pela alta sensibilidade que se pode alcançar, mas também, pela possibilidade de utilizar procedimentos de separação não quantitativos da espécie de interesse.

Por outro lado, a necessidade de determinar a atividade específica é um dos fatores limitantes na aplicação da diluição isotópica para a determinação de elementos à nível

de traço, pois nesse caso, não é somente necessário isolar uma quantidade suficiente do elemento para ser possível medir sua atividade, mas é necessário isolar uma quantidade suficiente dos isótopos para que possam ser determinados por pesagem ou outro método físico-químico.

A subestequiometria foi proposta, inicialmente, por Suzuki(13), Zimakov e Rozhavskii(14) e por Ruzicka e Stary(15). Desde então, a subestequiometria tem sido desenvolvida e aplicada associada à vários métodos analíticos de separação e detecção como a extração por solventes, troca iônica, precipitação e métodos eletroquímicos na determinação de elementos à nível de traço(10).

A subestequiometria permite isolar a mesma quantidade do elemento da solução original e da solução que sofreu a diluição isotópica.

Portanto, a determinação da atividade específica pode ser substituída pela atividade sob mesmas condições. Neste caso, não é necessário determinar a quantidade do isótopo separado, é possível obter a quantidade do elemento de interesse por meio da atividade medida e da quantidade de radioisótopo adicionado para realizar a diluição isotópica.

A análise por diluição isotópica subestequiométrica consiste em um procedimento que se resume em três etapas:

- presença de um radioisótopo do elemento de interesse;
- separação reprodutiva da fração do elemento de interesse;
- medida da radioatividade da fração separada.

Na primeira etapa é necessário alcançar o equilíbrio isotópico entre o elemento de interesse e o isótopo adicionado. A segunda etapa constitui a separação subestequiométrica. Consiste na separação por meio da adição de uma quantidade subestequiométrica do reagente, que corresponde a uma quantidade menor que a necessária para a reação com a quantidade total do elemento de interesse. A terceira etapa é a medida da radioatividade por meio de aparelhos apropriados.

A análise por diluição isotópica subestequiométrica proporciona alta exatidão e precisão para a determinação de um grande número de elementos em uma grande variedade de matrizes. O método apresenta a vantagem de não necessitar, na etapa de separação, recuperação quantitativa do elemento de interesse na amostra(16). O elemento pode ser determinado somente pela medida da radioatividade do extrato subestequiométrico sem a necessidade de comparação com um padrão(17,18) ou curva de calibração(19).

A extração por solventes constitui um dos métodos mais apropriados na separação analítica e pré-concentração. A separação e pré-concentração são, essencialmente, processos

auxiliares utilizados quando métodos diretos não alcançam o objetivo da análise, ou seja, a identificação dos componentes e a determinação de suas quantidades(20).

O método tem sido desenvolvido e aplicado associado à vários tipos de sistemas de extração subestequiométrica na determinação de vários elementos à nível de traço como o manganês(21), associado à extração sinérgica subestequiométrica de vanádio(22) e também na determinação de ouro(23), selênio(24), cobre(25) e vários outros elementos por meio da análise por ativação com nêutros associada à extração subestequiométrica(9).

A especiação de elementos em diferentes estados químicos tem sido proposta como uma nova aplicação do método subestequiométrico devido às grandes vantagens e alta precisão e exatidão. A especiação subestequiométrica tem sido aplicada à determinação de metil mercúrio e mercúrio inorgânico(26), difenil mercúrio(27) e estanho(28,29). Determinações seletivas de arsênio (III)(10,30,31) e arsênio (V)(10,32,33) têm sido desenvolvidas e aplicadas em amostras de solo(30,31) e organismos marinhos e macro algas(32,33).

A determinação de cobre à nível de traço em matrizes complexas como minérios, ligas, materiais biológicos, requer um método altamente seletivo e sensível.

Em muitos casos a determinação do cobre é realizada

por meio de uma separação química, uma vez que a sua determinação é difícil por análise por ativação instrumental não destrutiva e, em muitos casos, impossível devido a problemas de interferências espectrais e sensibilidade.

O espectro de raios gama do ^{64}Cu apresenta um pico em 1345,5 keV, que é de baixa intensidade, quando a concentração do elemento é da ordem de ppm, o que prejudica a sua determinação. Além disto, o pico de aniquilação de 511,0 keV pode apresentar sérios problemas de interferências, visto que vários emissores de pósitrons (β^+), como o ^{58}Co , ^{74}As , ^{22}Na , ^{65}Zn , assim como qualquer fotopico com energia superior a 1,02 MeV pode dar origem ao fenômeno de produção de par elétron-pósitron. No caso das matrizes geológicas a interferência mais séria é a do pico de aniquilação do ^{24}Na .

Em amostras biológicas um dos principais interferentes é o ^{32}P em virtude da interação da radiação beta com o cristal ou blindagem seguido por emissão de raios X, fenômeno chamado "Bremsstrahlung".

A análise por diluição isotópica subestequiométrica tem sido aplicada para a determinação de cobre em ácidos minerais, cristais de ZnSe e na quantificação do conteúdo de carregador em solução radioisotópica de cobre(34).

Em vista destes aspectos, este trabalho tem como objetivo estabelecer um método radioanalítico para determinar

cobre por meio da diluição isotópica associada à extração subestequiométrica com ditizona como agente extrator.

Na literatura existem vários métodos de separação (8, 35,36), entretanto, em todos é preciso determinar as perdas ocorridas durante o processo. Neste trabalho, utilizar-se-á a subestequiometria associada à diluição isotópica; este procedimento permitirá realizar a análise independente das perdas que possam ocorrer durante a separação.

Neste trabalho, a metodologia analítica empregada é bastante simples e rápida. Baseia-se na adição de uma quantidade conhecida do radioisótopo ^{64}Cu ($T_{1/2} = 12,8\text{h}$) à amostra matriz e, após ajustadas todas as condições analíticas é realizada uma extração com uma quantidade subestequiométrica de ditizona em tetracloreto de carbono. Separa-se uma fração pura do elemento e mede-se a nova atividade.

O método foi testado em materiais de referência, visto que tais matrizes são utilizadas não somente como um padrão comparativo mas, também, para avaliação técnica do procedimento analítico e avaliação da precisão e exatidão.

No Capítulo II são feitas algumas considerações teóricas básicas a respeito da técnica analítica desenvolvida e no Capítulo III são apresentadas algumas generalidades sobre o agente extrator utilizado.

A Parte Experimental é descrita no Capítulo IV, onde são apresentados os reagentes, equipamentos e o procedimento geral para os experimentos de extração. No Capítulo V, apresentam-se os estudos da extração do cobre, onde foram estabelecidas as melhores condições de extração.

O Capítulo VI corresponde à aplicação do método estabelecido em amostras sintéticas e materiais de referência com o intuito de avaliar o método quanto a precisão e exatidão obtidas nos experimentos.

No Capítulo VII apresentam-se os resultados obtidos da aplicação do método em amostras reais. No presente trabalho foram analisadas quatro diferentes amostras alimentícias, sólidas e líquidas, escolhidas de forma aleatória não havendo a preocupação em fazer uma amostragem mais abrangente, pois o objetivo deste trabalho foi aplicar o método desenvolvido.

Finalmente, no Capítulo VIII discutem-se os resultados obtidos pelo método desenvolvido e apresentam-se as conclusões decorrentes do presente trabalho.

CAPÍTULO II

II. ASPECTOS TEÓRICOS SOBRE DILUIÇÃO ISOTÓPICA E EXTRAÇÃO SUBESTEQUIOMÉTRICA

II.1. DILUIÇÃO ISOTÓPICA

A Análise por Diluição Isotópica (ADI) foi proposta por Hevesy e Hobbie(11) e por Starik(12), sendo inicialmente aplicada em análises orgânicas e bioquímicas tendo posterior desenvolvimento em sistemas inorgânicos.

O método baseia-se na determinação da mudança de atividade específica causada pela mistura de isótopos radioativos e não radioativos do elemento a ser determinado. Isto é, consiste em adicionar, à amostra, um traçador radioativo de atividade específica conhecida do elemento a ser analisado. Após a completa homogeneização dos isótopos é realizada a separação química onde é coletada uma fração pura do elemento separado e medida a nova atividade específica.

Por meio do decréscimo da atividade específica pode-se calcular a massa do elemento na amostra de acordo com a equação (1):

$$y = y_s \left(\frac{S_s}{S} - 1 \right) \quad (1)$$

onde:

y = massa do elemento

y_s = massa do traçador

S_s = atividade específica inicial ($S_s = a_s/m_s$)

a_s = atividade da fração isolada do elemento da solução padrão

m_s = massa da fração isolada do elemento da solução padrão

S = atividade específica após a diluição isotópica ($S=a/m$)

a = atividade da fração isolada do elemento da solução após a diluição isotópica

m = massa da fração isolada do elemento da solução após a diluição isotópica

O método de Análise por Diluição Isotópica (ADI) é adotado, principalmente, quando é impossível determinar e separar quantitativamente uma espécie numa mistura onde estão presentes espécies com propriedades químicas semelhantes, ou então, quando a espécie a ser determinada está em tão baixa concentração que as perdas por adsorção nas paredes dos recipientes, nos precipitados ou durante a purificação é inevitável.

II.1.1. Classificação dos Métodos de Diluição Isotópica

A classificação dos métodos de Análise por Diluição Isotópica pode ser realizada de acordo com a forma pela qual a radioatividade é introduzida no sistema de reação(37, 38).

II.1.1.1. Diluição Isotópica com Isótopos Radioativos

A diluição isotópica com isótopos radioativos compreende basicamente os métodos:

A. Análise por Diluição Isotópica Direta

A diluição isotópica direta é também conhecida como Diluição com Isótopos Radioativos ou Diluição Isotópica Simples.

Método no qual a análise quantitativa é realizada por meio da adição do radionuclídeo isotópico do elemento a ser determinado. Desta forma, perdas durante a purificação ou outras etapas são consideradas.

A disponibilidade de um radionuclídeo isotópico do elemento é um dos pré-requisitos mais importantes na aplicação da análise por diluição isotópica direta.

A análise por diluição isotópica direta é a técnica mais frequentemente utilizada em química analítica.

B. Análise por Diluição Isotópica Reversa

Esta técnica é também denominada Análise por Diluição Isotópica Inversa ou Diluição com Isótopos não Radioativos.

Na análise por diluição isotópica reversa a amostra radioativa apresenta uma quantidade do elemento desconhecida e é determinada pela adição de uma quantidade conhecida do mesmo elemento não radioativo.

A exatidão desta técnica aumenta com o aumento da diluição com a substância não radioativa.

A ADI reversa apresenta ampla aplicação em análises orgânicas, bioquímicas, biológicas e na análise por ativação. É utilizada para a caracterização da pureza radioquímica e estabilidade de soluções orgânicas e inorgânicas, na determinação do rendimento de reações nucleares, etc.

C. Análise por Diluição Isotópica Derivativa

O elemento a ser determinado, originalmente não radioativo, forma um composto radioativo por meio de uma reação química quantitativa e irreversível com uma substância radioativa.

Neste caso, o produto é obtido pela reação entre o elemento a ser determinado e um certo reagente, que deve reagir

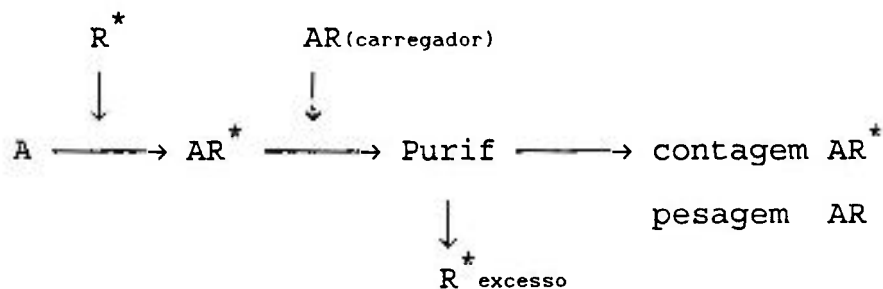
irreversivelmente com o elemento de forma estequiometricamente definida para formar um composto estável.

Há quatro principais tipos de análise por diluição isotópica derivativa:

TIPO I

Aplica-se quando é difícil obter um radioisótopo do elemento (A) a ser determinado, mas é possível obter uma forma radioativa do reagente (R^*) com atividade específica conhecida. O elemento deve reagir quantitativamente com o reagente radioativo e, após a formação do composto, o processo é essencialmente uma análise por diluição isotópica reversa.

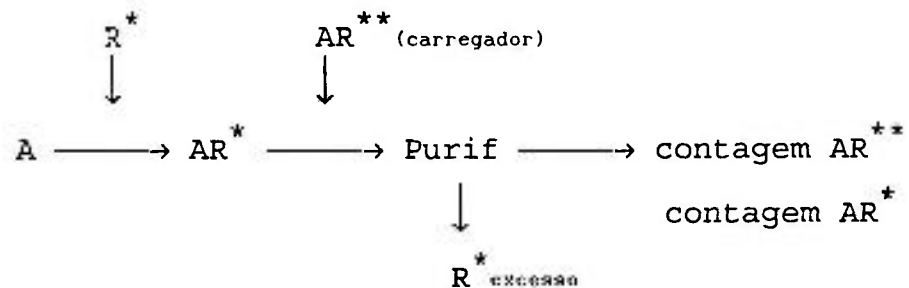
A principal característica da ADI derivativa é que devem ser eliminadas não só as impurezas que acompanham o elemento de interesse mas, principalmente, o excesso de reagente radioativo que não reagiu, que faz aumentar a atividade específica.



TIPO II

O segundo tipo de ADI derivativa é uma modificação do primeiro diferenciando-se na correção do rendimento químico.

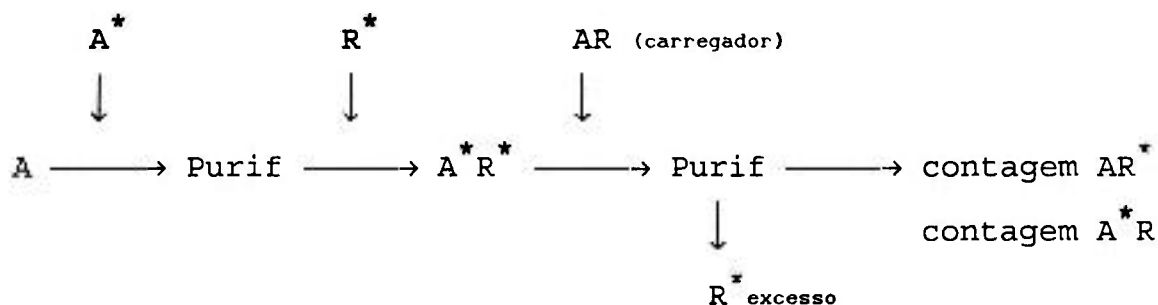
Neste tipo, o rendimento químico é corrigido radiometricamente por meio da adição de uma quantidade conhecida de AR radioativo (AR^{**}), que contém um radionuclídeo diferente de R^* ($R^* \neq R^{**}$). As características nucleares das partículas emitidas pelos dois nuclídeos (R^* e R^{**}) permitem a contagem separadamente de AR^* e AR^{**} .



TIPO III

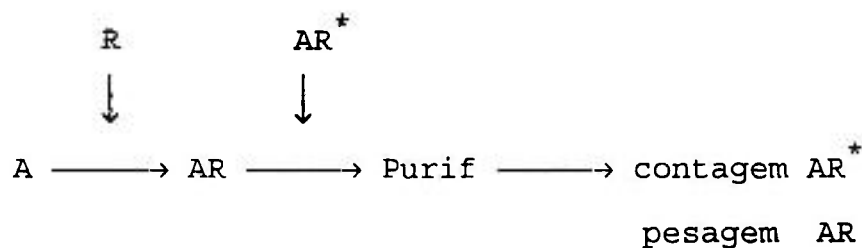
O terceiro tipo é a combinação da ADI direta com a determinação radioanalítica da fração separada. Este procedimento permite que o elemento de interesse (A) não reaja quantitativamente com o reagente radioativo (R^*), porém, exige que o elemento (A) possua um radioisótopo (A^*). Neste

procedimento, a atividade de AR^* é a medida da fração isolada e a atividade de A^*R indica o rendimento de separação do elemento (A) em todo o procedimento.



TIPO IV

O quarto tipo é a ADI direta executada com o derivado do composto a ser determinado. A vantagem deste método em relação a ADI derivativa simples é que somente o reagente (R) não radioativo deve ser eliminado. Somente quantidades que podem ser medidas de R que acompanham $AR + AR^*$ interferem, ao passo que na ADI derivativa Tipo I mesmo quantidades não mensuráveis do reagente radioativo R^* , porém, com atividade suficiente para ser medida, afeta a precisão do resultado.



D. Análise por Diluição Pseudo-Isotópica

Em um número limitado de casos a espécie radioativa e a espécie a ser determinada são íons ou moléculas que diferem, não somente nas suas propriedades nucleares, mas são espécies que possuem somente certa similaridade química. O comportamento químico idêntico das duas espécies no sistema ou na separação é um pré-requisito de grande importância para a utilização da análise por diluição pseudo-isotópica como método analítico.

E. Análise por Diluição Isotópica na qual o rendimento da separação de um radionuclídeo é determinado pela diluição deste radionuclídeo com seu próprio radionuclídeo isotópico.

Este tipo de análise requer que as atividades dos dois isótopos sejam medidas separadamente. Isto pode ser facilmente realizado quando um isótopo é um emissor β e o outro um emissor γ .

II.1.1.2. Diluição Isotópica com Isótopos Estáveis

Neste tipo de diluição isotópica os métodos são classificados de acordo com o método de determinação da quantidade da fração isolada.

A. Análise por Diluição Isotópica Clássica

A quantidade do elemento na fração isolada é determinada por métodos analíticos clássicos como gravimetria, titrimetria e colorimetria.

B. Análise por Diluição Isotópica Subestequiométrica

A subestequiometria associada à análise por diluição isotópica evita a necessidade da determinação da quantidade isolada por meio da medida da atividade específica após a diluição. Neste caso, é fundamental que a quantidade do reagente seja menor que a necessária para reagir com a quantidade total do elemento a ser determinado e que o reagente seja consumido quantitativamente.

Desta forma, é possível a separação da mesma quantidade do elemento de duas soluções de concentrações diferentes.

C. Análise por Diluição Isotópica na qual a

quantidade isolada é determinada por meio de um método radioanalítico, como a análise por ativação ou pelo método do radio-reagente.

Este método pode ser sub-dividido de acordo com o número de etapas de diluição durante o procedimento. Podem ser consideradas:

- análise por diluição isotópica simples: quando uma etapa de diluição é suficiente para calcular o resultado da análise;
- análise por diluição isotópica dupla ou múltipla: quando pelo menos duas etapas de diluição são necessárias

Vários procedimentos que utilizam a ADI dupla têm sido sugeridos (37, 38) e aplicados devido a várias razões:

- quando a atividade específica na ADI reversa não é conhecida, o elemento original radioativo não pode ser purificado sem a adição de carregador ou a quantidade do elemento é muito baixa para a determinação da quantidade purificada;
- a precisão da determinação é aumentada pois a segunda etapa da diluição serve como um padrão de comparação à amostra, assim possíveis fatores indesejáveis afetam tanto ao padrão como a amostra na mesma proporção, sendo suas influências eliminadas ou atenuadas.

II.1.2. Precisão e Exatidão da Diluição Isotópica

II.1.2.1. Precisão

Entre as principais fontes potenciais de erros na análise por diluição isotópica estão:

- Troca Isotópica Incompleta

Este fator pode significar uma séria fonte de erro se a espécie a ser determinada e a espécie que realizará a diluição isotópica estiverem em estados de oxidação diferentes.

- Troca Isotópica Indesejável

A troca isotópica indesejável pode ocorrer se o átomo radioativo em uma molécula trocar com o mesmo elemento em uma outra espécie molecular.

Para que isso não ocorra é necessário que o átomo radioativo ocupe uma posição inerte sempre que possível na molécula.

- Erro nas Medidas da Radioatividade

Quando espécies radioativas são utilizadas, sabe-se que as taxas de contagem são estritamente proporcionais às concentrações das espécies radioativas. Em vista disto, é necessário considerar a forma geométrica e a posição de contagem das amostras, a correção do tempo morto e a auto-absorção. No caso de radioisótopos de meia vida curta é necessário efetuar a correção para o decaimento radioativo.

- Pureza Radioquímica do Traçador

A pureza radioquímica não implica somente na ausência de radionuclídeos indesejados mas, também, na ausência de radionuclídeos de interesse em diferentes formas químicas.

- Decomposição da Espécie Radioativa Padrão

A decomposição da espécie radioativa padrão afeta a precisão do método quando a atividade específica original desta espécie é determinada em um período diferente ao do período da diluição, portanto, a real atividade específica é menor que àquela utilizada para os cálculos.

II.1.2.2. Exatidão

Os principais fatores que limitam a exatidão do método estão relacionados aos erros na determinação da quantidade isolada, erros na determinação da atividade da fração isolada, erros na aplicação do valor da atividade específica original, pesagem inexata do radioisótopo ou do isótopo não radioativo e contaminações.

Quando a quantidade isolada do elemento é obtida por pesagem, o erro desta determinação é geralmente negligenciável em relação aos erros que podem ser provocados na determinação da atividade desta porção isolada ou pelo erro no valor da atividade específica original. Porém, quando métodos

colorimétricos, espectrográficos, polarográficos ou similares são utilizados os erros podem se tornar comparáveis ou o erro na determinação da quantidade isolada do elemento pode ser maior. Nestes casos, é inútil tentar alcançar extrema exatidão na contagem.

Os erros na determinação da atividade da porção isolada são provocados pela incerteza resultante da natureza estatística do decaimento radioativo, da variação da taxa de contagem da radiação de fundo, instabilidade do aparelho de medida, irreprodutibilidade das condições geométricas e outros fatores similares. Estes tipos de erros podem ser minimizados por meio da utilização de traçadores de alta atividade específica, separações com rendimentos não muito baixos, contagem da fração isolada por períodos de tempo maiores, menor radiação de fundo, etc.

Com o intuito de minimizar o erro acarretado pela utilização da atividade específica original, pode-se avaliar a atividade do traçador, tantas vezes quanto possível, para cada série de determinações.

As contaminações podem ser provenientes de aparelhagens contaminadas, reagentes, atmosfera, sendo grandes fontes de erros, principalmente em análises de traço.

II.1.3. Vantagens do Método

A maior vantagem deste método, quando comparado com outros métodos analíticos, consiste na possibilidade de utilizar procedimentos de separação não quantitativos da espécie a ser determinada. Isto significa, que em uma análise por diluição isotópica somente parte da espécie a ser determinada precisa ser isolada no seu estado puro e, somente a mudança da composição isotópica desta parte precisa ser determinada.

Esta possibilidade permite uma separação rápida, a escolha de um método de separação mais adequado e, também, permite uma parcial decomposição da espécie analisada durante a análise.

O método da diluição isotópica tem grandes vantagens não somente por sua alta sensibilidade, mas também pela dificuldade apresentada por outros métodos convencionais na separação quantitativa de componentes em concentrações muito baixas.

No processo da diluição isotópica os isótopos radioativos e não radioativos possuem o mesmo comportamento, desta forma, as perdas de cada isótopo que podem ocorrer são compensadas.

No entanto, a necessidade de determinar a atividade

específica torna impossível utilizar somente a diluição isotópica para a determinação de traços de elementos, pois neste caso, não é necessário somente isolar uma quantidade suficiente do elemento para que se possa medir sua atividade, mas é necessário isolar uma quantidade suficiente da massa do elemento na fração isolada da solução padrão (m_s) e da massa do elemento na fração isolada da solução após a diluição isotópica (m) para que possam ser determinados por pesagem ou qualquer outro método físico-químico.

Portanto, o desenvolvimento da análise por diluição isotópica em análises de elementos traço depende do desenvolvimento de métodos que permitam isolar quantidades muito baixas e iguais dos elementos com alta precisão e reprodutibilidade.

II.2. DILUIÇÃO ISOTÓPICA ASSOCIADA À SUBESTEQUIOMETRIA

II.2.1. Princípios da Subestequiometria

A subestequiometria foi proposta independentemente por Suzuki(13), Zimakov e Rozhavskii(14) e por Ruzicka e Stary(15). A partir desse período, o método tem sido desenvolvido para a determinação de elementos à nível de traço.

A análise por diluição isotópica subestequiométrica é baseada na adição de um radioisótopo de atividade específica

conhecida, $S_s(a_s/m_s)$, à amostra que contém o elemento y em questão. Se uma quantidade conhecida do elemento, m , menor que a quantidade total do elemento, for separada e a atividade, a , for medida, a quantidade do elemento em questão é determinada pela equação:

$$y = y_s \left(\frac{S_s}{S} - 1 \right) \quad (1)$$

Entretanto, se forem separadas da solução de atividade específica inicial ($S_s = a_s/m_s$) e da solução formada pela diluição isotópica ($S = a/m$) exatamente as mesmas quantidades do elemento a ser determinado ($m = m_s$), o que é possível através da separação subestequiométrica, a massa do elemento na amostra pode ser determinada simplesmente pela mudança de atividade na fração separada :

$$y = y_s \left(\frac{a_s}{a} - 1 \right) \quad (2)$$

onde:

y = massa do elemento

y_s = massa do traçador

a_s = atividade da fração isolada do elemento da solução padrão

a = atividade da fração isolada do elemento após a diluição isotópica

O método é mais simples e rápido em comparação a outros métodos analíticos e também não é necessária a correção de rendimento químico.

Quando radioisótopos são utilizados como traçadores em química analítica, é necessário conhecer tanto a quantidade exata do traçador quanto a sua atividade. A quantidade do traçador é geralmente determinada por métodos analíticos convencionais. Entretanto, a massa do traçador é tão pequena que é muito difícil determinar com exatidão por análises convencionais, mas pode ser determinado de maneira fácil e exata pelo método da diluição isotópica subestequiométrica.

Para que a determinação do elemento seja bem sucedida é necessário que o equilíbrio isotópico seja perfeitamente atingido na amostra pela mistura das espécies radioativas e não radioativas, que a quantidade do radioisótopo adicionado à amostra seja conhecida e que a separação química seja realizada com uma quantidade de reagente menor que a necessária para reagir com a quantidade total do elemento em questão. A razão metal-reagente deverá ser constante nestas condições.

O princípio da subestequiometria permite a utilização da análise por diluição isotópica direta para a determinação de elementos ao nível de traço, pois a atividade de quantidades muito pequenas dos radioisótopos podem ser facilmente medidas.

O mesmo princípio pode ser aplicado à Análise por Diluição Isotópica Reversa e à Análise por Ativação(16).

Zimakov e Rozahvskii(16, 37) sugeriram uma variação no método da Diluição Isotópica Dupla. De acordo com os autores o método proposto é aplicável à análise de traço quando a separação do elemento de interesse é realizada subestequiometricamente.

Neste método, duas partes iguais da amostra contendo uma quantidade desconhecida, y , do elemento que se quer analisar, são diluídas com quantidades conhecidas e diferentes do radioisótopo do elemento (S_1/y_1 e S_2/y_2) com atividade específica S_s :

$$S_1 = Y_1 S_s$$

$$S_2 = Y_2 S_s$$

onde:

y_1 e y_2 = quantidades do traçador adicionado à cada fração da amostra

Em cada alíquota, a mesma quantidade do elemento a ser determinado, m , é separado subestequiometricamente de cada fração da amostra e as atividades, a_1 e a_2 são medidas.

Para a alíquota 1, tem-se:

$$\frac{S_1}{Y + Y_1} = \frac{a_1}{m} \quad (3)$$

E para a alíquota 2, tem-se:

$$\frac{S_2}{Y + Y_2} = \frac{a_2}{m} \quad (4)$$

Igualando a equação (3) e (4), pode-se calcular a quantidade do elemento presente na amostra pela equação:

$$y = (a_2 - a_1) \frac{Y_1 Y_2}{a_1 Y_2 - a_2 Y_1} \quad (5)$$

onde:

y = massa do elemento

y_1 = massa do traçador adicionada à alíquota 1

y_2 = massa do traçador adicionada à alíquota 2

a_1 = atividade da amostra 1 após a separação subestequiométrica

a_2 = atividade da amostra 2 após a separação subestequiométrica

A separação de quantidades iguais dos elementos associada à análise por diluição isotópica pode ser realizada por meio de vários métodos analíticos.

Um dos métodos principais e mais apropriados é a extração por solventes utilizando como reagente a ditizona (para Cu, Hg, Ag, Zn, Pb) e o cupferron (para Fe) pois as constantes de extração dos respectivos quelatos metálicos são suficientemente altas e os reagentes são suficientemente estáveis mesmo a baixas concentrações como 10^{-5} - 10^{-8} M(37).

Os agentes mascarantes são frequentemente empregados nas determinações subestequiométricas. Neste caso, somente os metais que formam complexos muito estáveis com o agente mascarante podem ser seletivamente separados. Geralmente, os metais que não reagem são removidos pela passagem da solução por uma coluna de troca iônica.

A eletrólise, extração por associação iônica, precipitação, adsorção e cromatografia também podem ser utilizadas, porém, tais métodos não são tão sensíveis como a extração por solventes.

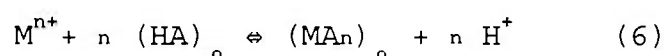
Os estudos de subestequiometria demonstram que a extração por solventes é o método mais adequado, embora o sistema de extração seja limitado à reações com agentes complexantes como a ditizona, dietilditiocarbamato, tetrafenilarsonato, etc(39).

II.2.2. Extração por Solventes de Quelatos Metálicos

A extração de íons metálicos M na forma de quelatos

por um reagente orgânico HA é um dos métodos mais adequados para a separação de massas iguais de soluções de concentrações diferentes. Para isso, utiliza-se a mesma massa de reagente orgânico tanto para a solução original como para a solução que sofreu a diluição isotópica e esta massa deve ser menor que a necessária para a extração total dos íons M presentes.

Seja M o elemento que reage com o agente extrator HA, tem-se o equilíbrio :



Na equação o índice (o) indica a fase orgânica.

A constante de extração é dada por:

$$K_{ex} = \frac{[MA_n]_o [H^+]^n}{[M^{n+}] [HA]_o^n} \quad (7)$$

Por meio das concentrações do complexo MA_n e do reagente HA no equilíbrio na fase orgânica, da concentração do metal M^{n+} na fase aquosa e da constante de extração K_{ex} , é possível calcular o pH no qual uma determinada quantidade de metal pode ser extraída.

Nas separações subestequiométricas a concentração de equilíbrio do complexo MA_n é determinada pela condição em que mais de 99,9% do reagente orgânico HA tenha sido consumido na

formação do complexo MA_n , isto é,

$$[MA_n]_o V_o \geq 0,999 \frac{C_{HA}}{n} V_o \quad (8)$$

onde:

V_o = volume da fase orgânica

C_{HA} = concentração inicial do reagente na fase orgânica

Esta condição garante que a mesma massa do metal será sempre separada com uma exatidão de pelo menos 0,1%.

A concentração de equilíbrio do metal M é determinada pela relação:

$$[M^{n+}] V = C_M V - \frac{C_{HA}}{n} V_o \quad (9)$$

onde:

V = volume da fase aquosa

C_M = concentração inicial do metal na fase aquosa

A concentração de equilíbrio do reagente orgânico é dada por:

$$[HA]_o V_o \leq 0,001 C_{HA} V_o \quad (10)$$

Substituindo as equações (8), (9) e (10) em (7), tomando-se o log desta expressão e invertendo-se o sinal, obtém-se o valor do pH limiar:

$$pH \geq \frac{1}{n} \log \frac{C_{HA}}{n} - \frac{1}{n} \log \left[C_H - \frac{C_{HA} V_o}{n V} \right] - \frac{1}{n} \log K_{ex} - \log 0,001 C_{HA} \quad (11)$$

A expressão (11) é aplicável somente no caso em que não haja dissociação do reagente orgânico na fase aquosa, ou seja:

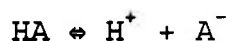
$$[A^-] V \leq [HA]_o V_o \quad (12)$$

onde:

$[HA]_o$ = concentração de equilíbrio

Para saber em que condição é válida esta expressão, deve-se considerar:

a) A constante de dissociação do reagente orgânico, K_{HA} :



$$K_{HA} = \frac{[H^+][A^-]}{[HA]} \quad (13)$$

b) O coeficiente de distribuição do reagente orgânico, $K_{D_{HA}}$:

$$K_{D_{HA}} = \frac{[HA]_o}{[HA]} \quad (14)$$

Da equação (13) temos:

$$[H^+] = \frac{K_{HA} [HA]}{[A^-]} \quad (15)$$

Tirando o valor de $[HA]$ de (14), o valor de $[A^-]$ de (12) e substituindo em (15), temos:

$$[H^+] = \frac{K_{HA} V}{K_{D_{HA}} V_o} \quad (16)$$

Tomando-se o log e invertendo o sinal, acha-se:

$$pH = pK_{HA} + \log K_{D_{HA}} + \log \frac{V_o}{V} \quad (17)$$

onde:

K_{HA} = constante de dissociação do reagente orgânico

$K_{D_{HA}}$ = coeficiente de distribuição do reagente orgânico

Os dois primeiros termos do 2º membro da equação (11) têm um efeito muito pequeno no valor do pH inicial. Por

exemplo, se a massa do reagente orgânico for a metade daquela calculada estequiometricamente para reagir com a massa do carregador, a soma destes dois termos será igual a zero se $V = V_0$.

$$\frac{1}{n} \log \frac{C_{HA}}{n} - \frac{1}{n} \log \left(C_M - \frac{C_{HA}}{n} \frac{V_0}{V} \right)$$

Como as massas usadas como carregador em análise por ativação são da ordem de miligramas, os dois últimos termos da equação (11) têm um efeito muito mais pronunciado no pH inicial.

Dependendo do metal e do volume da fase aquosa, a concentração do carregador é da ordem de 10^{-3} a $10^{-2}M$ e a concentração do reagente orgânico, embora menor, é da mesma ordem de grandeza. Então o valor $(-\log 0,001 C_{HA})$ será aproximadamente de 5 a 6. Como margem de garantia, toma-se este valor como sendo 6 e a equação (11) se simplifica e assume a forma:

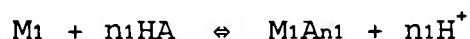
$$pH \geq 6 - \frac{1}{n} \log K_{ex} \quad (18)$$

Conclui-se, portanto, que a extração de um certo metal se faz num intervalo de pH definido por um valor máximo e um valor mínimo e que separações subestequiométricas por extração por solventes de quelatos metálicos podem ser estabelecidas pelo conhecimento das constantes de extração.

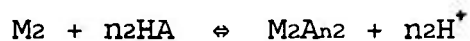
II.2.3. Seletividade da Extração Subestequiométrica

De um modo geral, os reagentes orgânicos formam complexos estáveis com um número limitado de metais. Se um certo metal M_1 forma um complexo que pode ser extraído, ele poderá ser determinado em presença de qualquer massa de outro metal M_2 que não reage com o reagente orgânico usado.

Geralmente, uma solução contém íons metálicos M_1 e M_2 que formam complexos com o reagente orgânico HA. Mesmo assim é possível uma separação seletiva. A relação M_1 e M_2 que passam para a fase orgânica pode ser calculada a partir dos valores das respectivas constantes K_1 e K_2 .



$$K_1 = \frac{[M_1A_{n_1}]_o [H^+]^{n_1}}{[M_1] [HA]_o^{n_1}} \quad (19)$$



$$K_2 = \frac{[M_2A_{n_2}]_o [H^+]^{n_2}}{[M_2] [HA]_o^{n_2}} \quad (20)$$

A relação das concentrações dos dois metais na fase orgânica será:

$$\frac{[M_1 A_{n1}]_o}{[M_2 A_{n2}]_o} = \frac{K_1 [HA]_o^{n_1 - n_2} [M_1]}{K_2 [H^+]^{n_1 - n_2} [M_2]} \quad (21)$$

Por esta relação, conclui-se que um metal M_1 com uma constante de extração K_1 alta pode ser separado de um metal M_2 com constante de extração baixa, desde que não haja uma desproporção muito grande entre as concentrações dos metais, com excesso de M_2 sobre M_1 .

Numa separação subestequiométrica (quando deve ser usada uma massa de reagente HA insuficiente para reagir com o total de M_1) a seletividade é maior que em separações em que se usa um excesso de reagente. Esta maior seletividade é devido a duas razões:

a) Suponhamos o caso mais simples em que $n_1 = n_2 = n$ e que as duas concentrações iniciais do metal na fase aquosa sejam iguais, $C_{M1} = C_{M2}$.

Para se obter na fase orgânica a relação:

$$\frac{[M_1 A_n]_o}{[M_2 A_n]_o} > 100$$

e conseqüentemente:

$$\frac{[M_1]}{[M_2]} < 0,01$$

na fase aquosa, quando se usa um excesso de reagente, é preciso que K_1/K_2 seja maior que $10^4(40)$, desde que a concentração de HA e o valor do pH sejam adequados.

Por meio de uma separação subestequiométrica, quando se usa a metade do reagente HA que seria necessário para complexar os íons M_1 presentes, pode-se alcançar o mesmo resultado, isto é:

$$\frac{[M_1A_n]_o}{[M_2A_n]_e} > 100$$

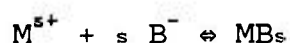
desde que $\frac{K_1}{K_2} > 200$, porque neste caso $\frac{[M_1]}{[M_2]} = 0,5$

b) No caso de $m_1=n_2=n$, a seletividade de uma separação subestequiométrica independe do pH da solução aquosa, conforme pode ser visto na equação (21).

Se a fase aquosa apresentar íons metálicos com valores de K_{ex} semelhantes ou mesmo mais elevados que a do

metal que se quer analisar, pode-se realizar uma separação seletiva mascarando os íons interferentes com reagentes adequados chamados agentes mascarantes, H_nB .

A constante de estabilidade, β_s , do complexo metal-complexante é expressa por:



$$\text{onde: } \beta_s = \frac{[MB_s]}{[M^{s+}] [B^-]^s} \quad (22)$$

Neste caso, a relação entre as concentrações do metal M_1 e supondo M_2 como metal interferente na fase orgânica é expressa por:

$$\frac{[M_1A_{n1}]_o}{[M_2A_{n2}]_o} = \frac{K_1}{K_2} \frac{C_{M1} [HA]_o^{n1-n2} (1 + \beta_{s2} [B^-]_o^s)}{C_{M2} [H^+]_o^{n1-n2} (1 + \beta_{s1} [B^-]_o^s)} \quad (23)$$

onde:

$$C_{M1} = [M_1] + [M_1B_s]$$

$$C_{M2} = [M_2] + [M_2B_s]$$

são as concentrações totais dos metais M_1 e M_2 na fase aquosa.

Para obter uma boa separação dos metais é preciso, portanto, que a relação expressa pelo segundo membro da equação (23) seja a maior possível. Por meio da equação (23) e dos valores das constantes de estabilidade β_s , pode-se escolher o agente mascarante mais apropriado para determinações seletivas de um grande número de metais.

Deste modo, a seletividade de uma separação subestequiométrica dependerá do tipo do reagente usado, do pH da solução aquosa e do tipo e concentração do agente mascarante.

No caso da determinação de elementos à nível de traço, as massas isoladas variam de 10^{-6} a 10^{-9} g em 10 mL o que corresponde a concentração de 10^{-5} a 10^{-8} M do reagente orgânico, em vista disto, a escolha do reagente é limitada por três fatores:

- O reagente orgânico deve formar um quelato extraível com um valor suficientemente alto para a constante de extração, de tal maneira que não seja necessário trabalhar em determinado pH em que possa ocorrer hidrólise e adsorção do metal nas paredes do recipiente;
- O reagente orgânico é um ácido fraco e para valores altos de pH passa para a fase aquosa devido a sua dissociação, portanto, a extração deve ser realizada em faixas definidas de pH;

- O reagente, quando muito diluído, deve ser estável em relação à decomposição pela ação da luz, agentes oxidantes e temperatura.

II.2.4. Sensibilidade do Método

A sensibilidade de uma análise por diluição isotópica subestequiométrica é limitada pela atividade específica do radioisótopo utilizado, eficiência de contagem, radiação de fundo do contador, reprodutibilidade da extração e correção do branco dos reagentes.

Quanto maior a atividade específica do radioisótopo usado, menor a quantidade do elemento que pode ser determinado.

A utilização de um contador de alta eficiência de contagem e com radiação de fundo estável asseguram determinações de alta sensibilidade. Geralmente, para contagens gama um detetor de NaI(Tl) é mais apropriado devido a sua alta eficiência e facilidade de medida de amostras líquidas.

Em uma análise subestequiométrica, quanto menor a quantidade do elemento a ser determinado, mais difícil alcançar a recuperação das massas ($m = m_s$) a qual garante a reprodutibilidade da determinação. Por esta razão a escolha de um reagente apropriado é limitada.

Outro fator limitante da sensibilidade em uma análise por diluição isotópica é o valor do branco. A quantidade do elemento de interesse não pode ser encoberta pela quantidade do mesmo elemento presente como impureza nos reagentes utilizados na dissolução e tratamento das amostras. Outras fontes de contaminação a serem consideradas são o material de manuseio e estocagem, água, ar, etc.

A subestequiometria pode ser considerada como um método autônomo, simples e rápido. Resultados exatos e precisos podem ser obtidos na determinação de elementos à nível de traço. O método apresenta alta seletividade e pode ser facilmente utilizado em análises de rotina.

II.2.4.1. Cálculo da Sensibilidade do Método

A sensibilidade do método pode ser calculada utilizando-se o critério segundo Currie(41).

O conceito introduzido por Currie, Limite de Determinação (L_0), se refere ao nível no qual a precisão da medida obtida por um determinado procedimento será satisfatório para determinações quantitativas.

Admitindo um desvio padrão relativamente às contagens, igual a 10%, o limite de sensibilidade ou de determinação é calculado pela relação:

$$L_Q = 50 \left[1 + \left(1 + \frac{\mu_b}{12,5} \right)^{1/2} \right] \quad (24)$$

onde:

μ_b = valor da contagem de fundo do aparelho ou o branco

O branco ou background, μ_b , é definido como o sinal obtido no aparelho quando se examina uma amostra idêntica, em princípio, à amostra de interesse; com exceção de não estar presente o elemento desejado. O branco, leva em consideração as interferências causadas pelas atividades dos demais elementos presentes na amostra.

Para a determinação do branco na análise por ativação é necessário que a área (ou atividade) de μ_b seja calculada na própria amostra real, uma vez que não é possível dispor de uma amostra idêntica à que está sendo analisada sem, entretanto, apresentar o elemento desejado.

As atividades dos radioisótopos usados na análise por ativação são determinadas calculando-se a área total sob o pico e subtraindo dessa área aquela que corresponde ao trapézio situado na base do pico, de acordo como indicado por Covell(42). Nesse caso, o valor de μ_b leva em consideração a contribuição do efeito Compton obtendo-se valores diferentes para o limite de determinação dos elementos para cada amostra.

Na análise por diluição isotópica subestequiométrica, o efeito Compton não afeta o valor de μ_b uma vez que são utilizados traçadores nas análises das amostras. O uso de traçadores evita a necessidade de irradiar as amostras, e como consequência, o cálculo de μ_b não é afetado pelas interferências causadas pelas atividades de outros elementos presentes na amostra.

II.2.5. Vantagens da Análise por Diluição Isotópica Subestequiométrica

Na análise por diluição isotópica subestequiométrica não é necessário uma separação quantitativa da espécie a ser determinada na amostra, isto significa que não é preciso realizar a correção de rendimento químico. Este fato constitui uma das vantagens mais importantes do método.

Este fator é de grande importância quando o elemento é determinado em materiais de grande pureza onde geralmente está presente em diluições da ordem de $1:10^8$.

A separação subestequiométrica acentua a seletividade do procedimento analítico devido à capacidade de competição da espécie que reagiu frente às impurezas, as quais são impedidas de reagir com o reagente e passar para a mesma fase da espécie de interesse.

A seletividade pode ser ainda mais acentuada por meio da utilização de agentes complexantes cuja finalidade é mascarar a espécie interferente ou realizar uma etapa de pré-separação. Neste caso, na análise por diluição isotópica subestequiométrica a pureza química da fração separada é irrelevante se as impurezas não forem consumidas pelo reagente e assim é satisfeita a condição de separação de quantidades iguais dos elementos.

A análise por diluição isotópica subestequiométrica é um método simples e rápido.

Em comparação ao método de análise por ativação com nêutrons a análise por diluição isotópica subestequiométrica é, em muitos casos, mais sensível e apresenta várias vantagens como não necessitar irradiar as amostras, o que evita a possibilidade do manuseio de amostras com alta atividade.

No método de análise por ativação com nêutrons o tamanho da amostra é limitado pois, dependendo da massa, podem ocorrer fenômenos de auto-absorção, reações nucleares interferentes e também erros de geometria em relação ao fluxo de nêutrons. Na análise por diluição isotópica é possível trabalhar com amostras muito maiores em comparação à análise por ativação, o que favorece uma maior sensibilidade.

Quando a secção de choque de ativação é pequena ou quando a meia vida do radioisótopo que se forma é muito pequena

a análise por diluição isotópica é mais sensível comparada à análise por ativação.

CAPITULO III

III. GENERALIDADES SOBRE A DITIZONA

A difeniltiocarbazona, comumente conhecida como Ditizona (H_2Dz) foi inicialmente sintetizada por Emil Fischer(43, 44) enquanto estudava a estrutura e reatividade da fenilhidrazina. A síntese consistia no tratamento da fenilhidrazina com dissulfeto de carbono para formar a fenilhidrazina feniltiocarbazinato, a qual sob aquecimento se decompõe formando a feniltiocarbazida. Ao aquecer a carbazida (feniltiocarbazida) com uma solução alcoólica de hidróxido de potássio, uma dupla reação de óxido-redução ocorre formando difeniltiocarbazona e feniltiosemicarbazida.

A ditizona (H_2Dz , $PM=256,32$) é um sólido preto-violeta solúvel na maioria dos solventes orgânicos e insolúvel em água e em hidrocarbonetos aromáticos. O clorofórmio e o tetracloreto de carbono são comumente utilizados na preparação de soluções de ditizona para fins analíticos. A solubilidade da ditizona em clorofórmio à temperatura ambiente é de aproximadamente 20 mg/mL, em tetracloreto de carbono é de 0,5 mg/mL.

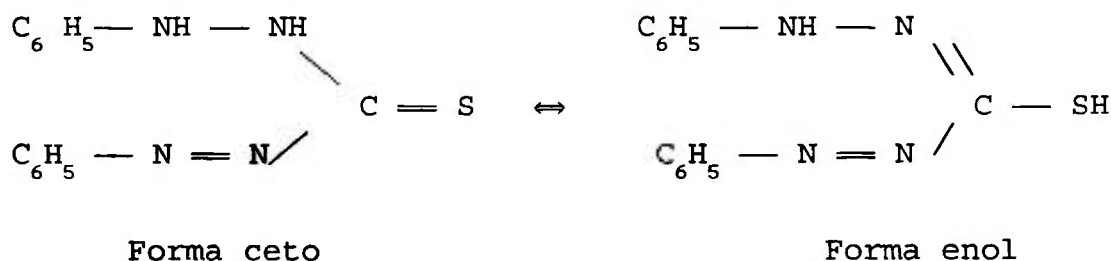
Soluções diluídas de ditizona com clorofórmio ou tetracloreto de carbono são verdes, em soluções mais concentradas são dicróicas, ou seja, verde na luz refletida e

vermelha pela luz transmitida.

Por aproximadamente 50 anos o composto permaneceu inexplorado até que em 1925 Hellmut Fischer demonstrou a possibilidade de sua aplicação na determinação de vários metais pesados (44, 45).

III.1. DITIZONATOS METÁLICOS

A presença de duas bandas de absorção no espectro de soluções de ditizona em solventes orgânicos revela a existência de dois tautômeros. A mudança na altura relativa de dois picos de absorção de um solvente para o outro indica a mudança na proporção das duas formas. Provavelmente, soluções em solventes orgânicos contém as formas ceto (tiona) e a forma enol (tiol) da ditizona em equilíbrio tautomérico (45).



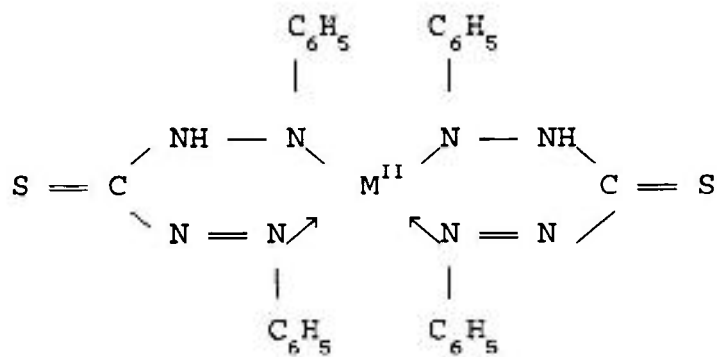
A ditizona e seus sais metálicos, chamados ditizonatos, são essencialmente insolúveis em soluções aquosas neutras e ácidas. Em soluções alcalinas, ocorre a dissolução da ditizona e formação de uma solução amarela que contém o

ditizonato metálico alcalino.

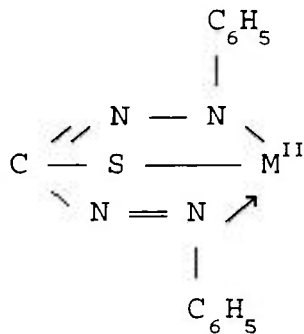
Vários metais pesados podem substituir um ou ambos hidrogênios ácidos da molécula da ditizona para formar dois complexos diferentes chamados ditizonatos primários e secundários.

Na forma ceto, o átomo de hidrogênio do grupo imida da ditizona é substituído pelo metal, e na forma enol o átomo de hidrogênio do grupo do enxofre também é substituído. Conseqüentemente, a forma enol contém dois íons metálicos a mais que na forma ceto correspondente.

As estruturas para os ditizonatos de metais bivalentes são:



forma ceto



Forma enol

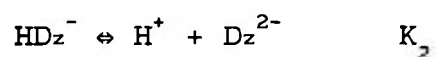
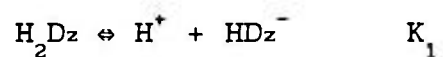
Todos os metais que reagem com a ditizona formam ditizonatos primários, porém, poucos metais formam ditizonatos secundários e estes se formados são lábeis e menos solúveis nos solventes orgânicos. Cobre, prata e mercúrio formam ditizonatos primários e secundários(43).

Os ditizonatos primários são preferencialmente formados em soluções ácidas ou neutras, enquanto, os ditizonatos secundários são formados em soluções alcalinas ou na presença de deficiência de ditizona.

III.2. EQUILÍBRIO DA DITIZONA

III.2.1. Distribuição da Ditizona entre a Fase Aquosa e o Solvente Orgânico

A ditizona é um ácido dibásico:



Considerando a fase aquosa (a), fase orgânica (o) e o meio com força iônica constante, a constante de ionização primária é expressa por:

$$K_1 = \frac{[\text{H}^+][\text{HDz}^-]}{[\text{H}_2\text{Dz}]_o} \quad (1)$$

Substituindo-se $[\text{H}^+]$ por a_{H^+} , tem-se:

$$K_1 = \frac{(a_{\text{H}^+})[\text{HDz}^-]}{[\text{H}_2\text{Dz}]_a} \quad (2)$$

Baseado em a_{H^+} e de acordo com a equação (2), considerando uma força iônica de 0,1 M, a constante de ionização primária, K_1 , apresenta o valor de aproximadamente 2×10^{-5} à temperatura ambiente (44, 45).

A constante de ionização secundária é expressa pela equação:

$$K_2 = \frac{[H^+][D_z^{-2}]}{[HD_z^-]} \quad (3)$$

Tendo como base as curvas de transmissão da ditizona em solução de hidróxido de sódio 1,5 M e 0,1 M e pela observação de que tais curvas não são significativamente diferentes, a conclusão que se chega é que K_2 não é maior que 10^{-15} (44, 45).

A distribuição da ditizona entre o solvente orgânico e a fase aquosa é dado pela razão de distribuição D:

$$D = \frac{[H_2 D_z]_o}{\sum [H_2 D_z]_a} \quad (4)$$

Com exceção de soluções fortemente ácidas ou fortemente básicas, temos:

$$D = \frac{[H_2Dz]_o}{([H_2Dz]_a + [HDz^-]_a)} \quad (5)$$

O coeficiente de distribuição da ditizona é dado pela expressão:

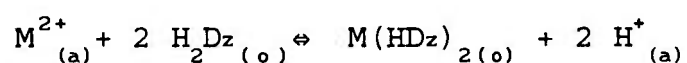
$$K_D = \frac{[H_2Dz]_o}{[H_2Dz]_a} \quad (6)$$

Da equação (2) e para determinada força iônica, obtém-se:

$$D = \frac{a_H + K_D}{K_1 + a_H} \quad (7)$$

III.2.2. Equilíbrio Metal- Ditizona

Considerando a reação reversível entre um íon metálico bivalente em solução aquosa ácida (a) e ditizona em um solvente orgânico imiscível (o) para formar um ditizonato metálico primário, tem-se:



A constante de extração para esta reação a uma força iônica específica é dada por:

$$K_{ex} = \frac{[M(HDz)_2]_o [H^+]^2}{[M^{2+}] [H_2Dz]_o^2} \quad (8)$$

Esta expressão é válida em qualquer faixa de pH.

Analiticamente, pode ser utilizada desde que outras espécies não especificadas na equação estejam presentes em tão baixas concentrações que possam ser desprezadas, e também, em soluções aquosas ácidas livres de substâncias complexantes ou que reajam com o metal de interesse M^{2+} .

Da equação (8), obtém-se a expressão da razão de distribuição do metal:

$$D = \frac{\sum [M]_o}{\sum [M]_a} = \frac{[M(HDz)_2]_o}{[M^{2+}]} = \frac{K_{ex} [H_2Dz]_o^2}{[H^+]^2} \quad (9)$$

Assumindo que se formam na fase aquosa somente as espécies metálicas M^{2+} , MOH^+ , $M(OH)_2$, HMO_2^- e MO_2^{2-} :

$$\sum [M]_a = [M^{2+}] + [MOH^+] + [M(OH)_2] + [HMO_2^-] + [MO_2^{2-}]$$

$$\sum [M]_a = [M^{2+}] + \frac{k_1 [M^{2+}]}{[H^+]} + \frac{k_2 [M^{2+}]}{[H^+]^2} + \frac{k_3 [M^{2+}]}{[H^+]^3} + \frac{k_4 [M^{2+}]}{[H^+]^4}$$

onde k é a constante de hidrólise definida por:

$$k_1 = [MOH^+] [H^+] / [M^{2+}]$$

$$k_2 = [M(OH)_2] [H^+]^2 / [M^{2+}]$$

$$k_3 = [HMO_2^-] [H^+]^3 / [M^{2+}]$$

$$k_4 = [MO_2^{2-}] [H^+]^4 / [M^{2+}]$$

A expressão da razão de distribuição do ditizonato primário é dada por:

$$D_M = \frac{[M(HDz)_2]_o}{\sum [M]_a} = \frac{K_{ex} [H_2Dz]_o^2}{[H^+]^2} \times \frac{1}{1 + \frac{k_1}{[H^+]} + \frac{k_2}{[H^+]^2} + \frac{k_3}{[H^+]^3} + \frac{k_4}{[H^+]^4}}$$

$$D_M = \frac{K_{ex} [H_2Dz]_o^2}{[H^+]^2 + k_1 [H^+] + k_2 + \frac{k_3}{[H^+]} + \frac{k_4}{[H^+]^2}} \quad (10)$$

Esta expressão pode ser aplicada tanto no caso de solução básica quanto em solução ácida, dentro de uma determinada faixa de pH.

III.2.3. Velocidade de Extração

Nas extrações, o tempo necessário para alcançar o equilíbrio é tão importante quanto a extensão da reação. Algumas extrações com ditizona são bastante demoradas, outras muito rápidas.

De uma forma geral, pode-se fazer as seguintes considerações:

- Em soluções básicas a maioria dos metais são extraídos rapidamente;
- Para alcançar o equilíbrio com alguns metais em soluções ácidas é necessário um período relativamente grande de agitação.

Geralmente metais com constantes de extração altas são extraídos mais rapidamente que aqueles com constantes menores. Embora a velocidade de extração para um dado metal geralmente aumenta com o decréscimo da concentração iônica de hidrogênio, há vários outros fatores que influem.

- Sob condições similares, a extração em meio ácido é mais rápida com ditizona em tetracloreto de carbono que em solução de clorofórmio, com o solvente orgânico proporcionando a mais alta concentração de equilíbrio da ditizona na fase aquosa.

A velocidade de formação do ditizonato metálico determina a velocidade de extração. Uma vez formado, o ditizonato metálico é rapidamente transferido para a fase orgânica. Evidências mostram que a velocidade de reação entre o íon metálico e a ditizona na fase aquosa é que determina a velocidade de extração do metal(45).

II.3. SELETIVIDADE DAS REAÇÕES COM DITIZONA

Apesar do fato da ditizona reagir com a maioria dos metais, a reação pode se tornar específica pelo controle de algumas condições.

Em geral, as aplicações da ditizona são baseadas na extração de metais a serem detectados ou determinados pela agitação da solução do reagente em tetracloreto de carbono ou clorofórmio com a solução aquosa do sal metálico. Os complexos formados dissolvem-se no solvente orgânico e desta forma são removidos da fase aquosa. Pela separação do líquido orgânico da solução aquosa, os metais são completamente removidos.

Esta operação pode ser realizada com o propósito de concentrar ou separar o metal de substâncias interferentes ou simplesmente determiná-lo. Em qualquer um desses casos, a extração completa e a seletividade da reação é de extrema importância.

Com a finalidade de determinar especificamente um íon em possível presença de outros que também reagem com a ditizona, é necessário controlar as condições de reação a fim de eliminar as interferências.

Entre os fatores que afetam a reação com a ditizona estão a concentração do reagente, volume da fase orgânica e aquosa, velocidade com que os dois líquidos imiscíveis são homogeneizados, estado de oxidação do metal, presença de substâncias complexantes na solução e acidez da solução aquosa.

De uma forma geral, são utilizados alguns métodos para melhorar a seletividade da reação com a ditizona de acordo com os fatores que afetam a reação, como o ajuste da acidez da solução a ser extraída, adição de reagentes formadores de complexos para remoção de metais interferentes e oxidação ou redução dos metais interferentes.

III.3.1. Efeito do pH

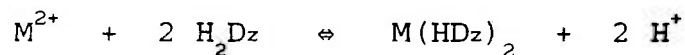
Vários metais reagem com a ditizona em diferentes faixas de pH da fase aquosa. Pode-se efetuar a separação desses metais pelo controle da acidez.

Entretanto, a separação de metais pelo ajuste do pH da solução aquosa só pode ser realizada com sucesso com alguns metais, cujos ditizonatos tenham constantes de extração bastante diferentes entre si.

Infelizmente, neste método podem ocorrer co-extrações impossibilitando, muitas vezes, separações seletivas em todos os casos.

Kolthoff e Sandell(43) estudaram a reação da ditizona com íons metálicos do ponto de vista teórico e aplicaram a esses estudos, princípios de equilíbrio químico com o propósito de verificar o efeito do pH na perfeita extração dos ditizonatos metálicos.

A maioria dos cátions reagem reversivelmente com a ditizona de acordo com a equação:



onde:

Dz = ditizona

$M(HDz)_2$ = ceto-ditizonato

A partir desta equação é possível derivar uma expressão na qual a extratibilidade do metal demonstra ser função do pH da fase aquosa e da concentração de ditizona.

$$\frac{[M(HDz)_2]_o}{[M^{2+}]_a} = K_{ex} \frac{[H_2Dz]_a^2}{[H^+]_a^2}$$

Esta expressão demonstra que a razão entre a concentração do ditizonato na fase orgânica e a concentração do íon metálico que permanece na fase aquosa é determinada pela concentração da ditizona e o pH da fase aquosa.

Em determinado pH e em um volume conhecido de solução de concentração conhecida de ditizona, é possível calcular a fração do metal que pode ser extraído por meio do conhecimento da constante de extração.

III.3.2. Efeito dos Agentes Complexantes

O controle somente do pH não é, em todos os casos, suficiente para proporcionar separações seletivas. Em muitos casos o controle do pH pode ser associado à utilização de agentes complexantes. Esta associação se baseia no fato de que vários complexos metálicos diferem na estabilidade com ditizona(43).

Fischer e colaboradores(43) observaram que o iodeto de potássio e tiosulfato de sódio podem ser utilizados como complexantes discriminativos somente em soluções ácidas, não em soluções alcalinas.

Tiosulfatos e iodetos em soluções ácidas podem ser utilizados para decompor ditizonatos ácidos estáveis dos elementos interferentes e, transferir os metais agora combinados como complexos mais estáveis de iodeto ou

tiosulfato do solvente orgânico para a fase aquosa.

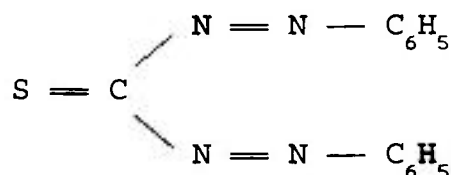
Cloretos e brometos em grande excesso são efetivos para mascarar prata, o que não ocorre com o mercúrio. Entretanto, o iodeto mascara ambos os íons.

III.3.3. Efeito do Estado de Oxidação do Metal

Embora a mudança da valência dos metais interferentes possui uma aplicação mais restrita no caso de extração com ditizona, este método pode ser utilizado observando-se o fato de que certos metais reagem com a ditizona somente em determinado estado de oxidação. Por exemplo o ferro, estanho e platina não formam complexos com ditizona quando presentes como Fe(III), Sn(IV) e Pt(IV), entretanto, como Fe(II), Sn(II) e Pt(II) são normalmente extraídos.

III.4. OXIDAÇÃO E ESTABILIDADE DA DITIZONA

Na presença de condições fracamente oxidantes a ditizona é convertida a difeniltiocarbadiazona:



Este composto é insolúvel em soluções aquosas ácidas e básicas, mas se dissolve facilmente em clorofórmio e tetracloreto de carbono formando uma solução amarela ou marrom. Devido a ausência de átomos de hidrogênio ácido na molécula, o composto não reage com íons metálicos.

Íons férricos oxidam a ditizona especialmente em soluções alcalinas que contenham citratos, tartaratos e cianetos. O cobre em soluções alcalinas de cianeto também provoca a oxidação da ditizona. A extensão da oxidação surge como dependência do excesso de cianeto, sendo menor quando menor for o excesso. Mesmo baixas concentrações de halogênios, ácido nitroso e permanganato também produzem a oxidação.

Sob fortes condições oxidantes a ditizona é decomposta, sendo o enxofre do composto atacado e separado da molécula.

No caso da ditizona ser parcialmente oxidada a difeniltiocarbadiazona, o reagente pode ser regenerado por meio da ação redutora do dióxido sulfúrico ou hidroxilamina.

Com a finalidade de prevenir a interferência de agentes oxidantes, pode ser adicionado a solução aquosa hidroxilamina. O tiosulfato presente em solução de iodeto evita a oxidação da ditizona pelo iodo livre, esta solução assim como o EDTA, tiocianato ou haletos são comumente utilizados como agentes mascarantes acentuando a seletividade

da extração(46).

A preparação da ditizona é relativamente simples em comparação à obtenção do reagente no estado puro. A ditizona pode conter impurezas como enxofre, carbazida ou produtos de oxidação.

A purificação da ditizona, no entanto, não é sempre necessária. Alguns fabricantes fornecem a ditizona com alta pureza(45).

O teste de pureza da ditizona é baseado na insolubilidade das impurezas em solução de hidróxido de amônio diluído, enquanto a ditizona dissolve prontamente.

O teste de pureza consiste na extração de uma solução concentrada de ditizona em clorofórmio com uma solução diluída de hidróxido de amônio livre de metais, e, na observação da coloração final da fase orgânica. Se a fase orgânica apresentar-se esbranquiçada o reagente pode ser considerado puro, mas se o clorofórmio apresentar-se de amarelo a marrom indica que há necessidade de purificação.

As soluções de ditizona preparadas tanto com clorofórmio quanto com tetracloreto de carbono decompõem-se rapidamente ocasionando a formação da difeniltiocarbadiazona quando exposta à luz forte ou quando submetida a temperaturas relativamente altas. Segundo Wichmann(43) uma solução de

ditizona pura é estável por um certo período de tempo se protegida da luz direta do sol e guardada a baixa temperatura.

CAPITULO IV

IV. PARTE EXPERIMENTAL

A determinação de traços de cobre é baseada na adição do traçador de ^{64}Cu à amostra e à solução padrão sendo em seguida realizada uma extração subestequiométrica do cobre com ditizona em tetracloreto de carbono. Pela diferença de atividade entre a fração orgânica separada da amostra e do padrão é calculada a massa de cobre presente na amostra.

Neste capítulo são descritos os equipamentos, materiais, reagentes, soluções e o procedimento experimental adotado nos experimentos de extração.

IV.1. EQUIPAMENTOS E MATERIAIS

- Espectrômetro de raios gama, constituído de um analisador monocanal "Nuclear Chicago", modelo 8753, acoplado a um detetor de cintilação de NaI(Tl) , tipo poço, de 5,1 por 4,4cm.
- Medidor de pH digital ChemCadet modelo 5984-50, com escala de leitura de 0,01 unidades de pH
- Agitador mecânico.
- Funis de separação cilíndricos, com 12,0cm de comprimento e 2,0cm de diâmetro interno.
- Forno de microondas

- Bomba de digestão ácida "Parr Instrument Company", modelo 4782, para microondas
- Mufla
- Material de uso comum em laboratório: balões volumétricos, cápsulas de porcelana, pipetas, micropipetas, tubos de contagem, etc.
- Destilador de quartzo

IV.2. REAGENTES

Todos os reagentes foram de grau analítico.

- Acetato de amônio, J.T Baker Chemical
- Ácido acético glacial, Carlo Erba
- Ácido clorídrico, Merck
- Ácido nítrico, Merck
- Ácido sulfúrico, Merck
- Bismuto metálico, Merck
- Carbonato de manganês (II), J.D Riedel
- Cloreto de antimônio (III), Merck
- Cloreto de estanho (IV), Merck
- Cloreto de níquel (II), Merck
- Cloreto de paládio (II), J.D Riedel
- Cobre em pó, J.T Baker Chemical
- Ditizona, AnalaR, BDH Laboratory Reagents
- Hidróxido de amônio, Merck
- Iodeto de potássio, Merck

- Nitrato de cádmio (II), Flucka A.G Chemische Fabrich
- Nitrato de chumbo (II), Merck
- Nitrato de cobalto (II), Flucka A.G Chemische Fabrich
- Nitrato de mercúrio (II), Merck
- Nitrato de prata (I), Merck
- Nitrato de zinco (II), Flucka A.G Chemische Fabrich
- Ouro metálico, Specpure, Johnson Matthey Chemicals Limited
- Óxido de arsênio (III), Specpure, Johnson Matthey Chemicals Limited
- Óxido de índio (III), Koch-Light Laboratories Ltd
- Óxido de selênio (IV), Specpure, Johnson Matthey Chemicals Limited
- Platina metálica, Specpure, Johnson Matthey Chemicals Limited
- Tetracloreto de carbono, AnalaR, BDH Laboratory Reagents
- Tiosulfato de sódio, Carlo Erba

IV.3. SOLUÇÕES

a) Soluções dos elementos interferentes

As soluções foram preparadas por dissolução dos seus respectivos sais, óxidos ou metais em ácidos apropriados ou água destilada obtida em destilador de quartzo. O excesso de

ácido foi eliminado por evaporação até quase a secura. As soluções foram então retomadas com água destilada e transferidas para balões volumétricos apropriados para obter uma concentração de 1 mg/mL do elemento. Por esse procedimento foram preparadas soluções de Ag(I), As(III), Au(III), Bi(III), Cd(II), Co(II), Hg(II), In(III), Mn(II), Ni(II), Pb(II), Pd(II), Pt(II), Sb(III), Se(IV), Sn(IV) e Zn(II).

b) Traçador radioativo de cobre, ^{64}Cu ($T_{1/2} = 12,8\text{h}$)

O traçador radioativo de cobre foi preparado por irradiação do cobre durante 30 minutos ou 8 horas, sob um fluxo de nêutrons de aproximadamente $10^{12}\text{n cm}^{-2}\text{s}^{-1}$, no reator IEA-R1. A dissolução do cobre em pó foi efetuada com ácido nítrico concentrado. O excesso de ácido foi eliminado por evaporação até quase a secura e retomado com água destilada. A solução foi transferida para balão volumétrico para obter uma concentração de 1 mgCu/mL.

c) Solução tampão pH 4,8

A solução foi preparada por dissolução de 15g de iodeto de potássio e 13g de acetato de amônio em 100mL de água destilada. Adicionaram-se gotas de ácido acético glacial até a solução alcançar pH 4,8. A solução foi purificada por meio da extração da solução aquosa com uma solução de ditizona concentrada. Após a agitação, as fases foram separadas e a solução tampão purificada foi utilizada nos experimentos de

extração.

d) Solução de tiosulfato de sódio 2%

Foi preparada por dissolução de 2g do sal em 100mL de água destilada. Esta solução foi purificada conforme descrito na purificação da solução tampão.

e) Solução de ditizona (Difeniltiocarbazona, H_2Dz)

A solução de ditizona foi preparada dissolvendo 25,65mg do reagente em 100mL de tetracloreto de carbono para obter uma solução de concentração de $1,0 \times 10^{-3} M$.

A solução preparada foi colocada em recipiente, envolto em papel alumínio e conservada em geladeira devido à instabilidade da ditizona em relação à luz e à temperatura (43,44).

IV.4. PROCEDIMENTO PARA OS EXPERIMENTOS DE EXTRAÇÃO

Para os experimentos de extração a fase aquosa foi preparada fixando-se a concentração do traçador e o pH. Nos experimentos, misturaram-se volumes apropriados da solução aquosa e do agente extrator em funis de separação e as fases foram agitadas durante um tempo determinado. Após a separação das fases, transferiu-se uma alíquota para tubos de contagem. A

atividade do radioisótopo presente foi medida por meio de um analisador monocanal.

O cálculo da porcentagem de extração (%E) foi realizado usando-se a relação:

$$\% E = \frac{C_o}{C_o + C_a} \times 100 \quad (1)$$

onde:

C_o = taxa de contagem da alíquota da fase orgânica

C_a = taxa de contagem da alíquota da fase aquosa

$V_o = V$

CAPÍTULO V

V. ESTUDO DA EXTRAÇÃO DO COBRE

Os experimentos tiveram como finalidade estabelecer as melhores condições de determinação do cobre por meio da diluição isotópica associada à extração subestequiométrica. Inicialmente, estudou-se a influência dos ácidos nítrico, sulfúrico e clorídrico na extração do cobre tendo em vista a dissolução das amostras nesses meios.

A seguir, determinou-se o tempo de agitação necessário para alcançar o equilíbrio do metal com o agente extrator. Uma vez estabelecido o tempo de equilíbrio, estudou-se a dependência da extração subestequiométrica do cobre em função do pH.

Outro fator de grande importância estudado foi a influência de elementos que também reagem com a ditizona. Esses elementos apresentam constantes de extração próximas ou maiores em relação ao cobre, podendo interferir na separação subestequiométrica do elemento.

Por meio dos resultados obtidos nestes experimentos, foram estabelecidos os parâmetros de extração do cobre com ditizona.

V.1. INFLUÊNCIA DOS ÁCIDOS NA EXTRAÇÃO DO COBRE COM DITIZONA

Diferentes tipos de matrizes necessitam de diferentes métodos de dissolução, isto implica na utilização de diferentes tipos de ácidos, sistemas de digestão, fusão, etc.

Com o intuito de verificar o comportamento da extração do cobre com a ditizona em relação aos ácidos comumente utilizados na digestão das matrizes que serão analisadas, foram realizados experimentos, separadamente, com traçador de cobre dissolvido em ácido nítrico, clorídrico e sulfúrico.

A extração foi realizada conforme o procedimento descrito no item IV.4.

Na Tabela 1 apresentam-se os resultados obtidos. Foi verificado que o cobre é quantitativamente extraído em meio HNO_3 , H_2SO_4 e HCl .

Tabela 1. Porcentagem de extração do cobre em função do ácido

Condições: conc. de $H_2Dz = 1,0 \times 10^{-3} M$

conc. de $^{64}Cu = 6,3 \times 10^{-5} M$

pH = 5,0

tempo de agitação = 5 min.

Ácido	% E
HCl	99,9
HNO ₃	100
H ₂ SO ₄	100

V.2. DETERMINAÇÃO DO TEMPO DE EQUILÍBRIO

O tempo de equilíbrio corresponde ao tempo necessário para que ocorra o equilíbrio da reação química entre o metal e o agente extrator.

Com essa finalidade, foram realizadas extrações nas quais manteve-se constante a massa do traçador, o volume das fases aquosa e orgânica e variou-se o tempo de agitação.

Por meio dos resultados obtidos apresentados na Tabela 2, observou-se que são necessários 60 segundos de agitação para que o equilíbrio seja atingido.

Nos experimentos de extração será utilizado o tempo

de agitação de 3 minutos como margem de segurança para que seja atingido o equilíbrio.

Tabela 2. Porcentagem de extração em função do tempo de agitação

Condições: conc. de $H_2Dz = 1,0 \times 10^{-3} M$
conc. de $^{64}Cu = 6,3 \times 10^{-5} M$
pH = 5,0

Tempo (s)	% E
15	73,0
30	98,7
45	99,6
60	99,9
120	100
180	100
240	100
300	100
360	100

V.3. ESTUDO DA EXTRAÇÃO DO COBRE EM FUNÇÃO DO pH

Como a extração de um íon metálico se faz num intervalo definido por um valor mínimo e máximo de pH, como demonstrado no Capítulo II, estudou-se a influência do pH na extração do cobre.

O procedimento adotado foi descrito para os

experimentos de extração. As fases aquosas foram preparadas pela adição de quantidades conhecidas e constantes de traçador de ^{64}Cu e levadas ao pH adequado pela adição de HNO_3 dil ou NH_4OH dil.

A dependência da extração subestequiométrica do cobre com a ditizona em relação ao pH pode ser observada na Fig.V.1.

Observou-se que o cobre é subestequiometricamente extraído numa faixa de pH entre 2,0 e 7,0. Nesta faixa de pH é possível alcançar a máxima extração do cobre.

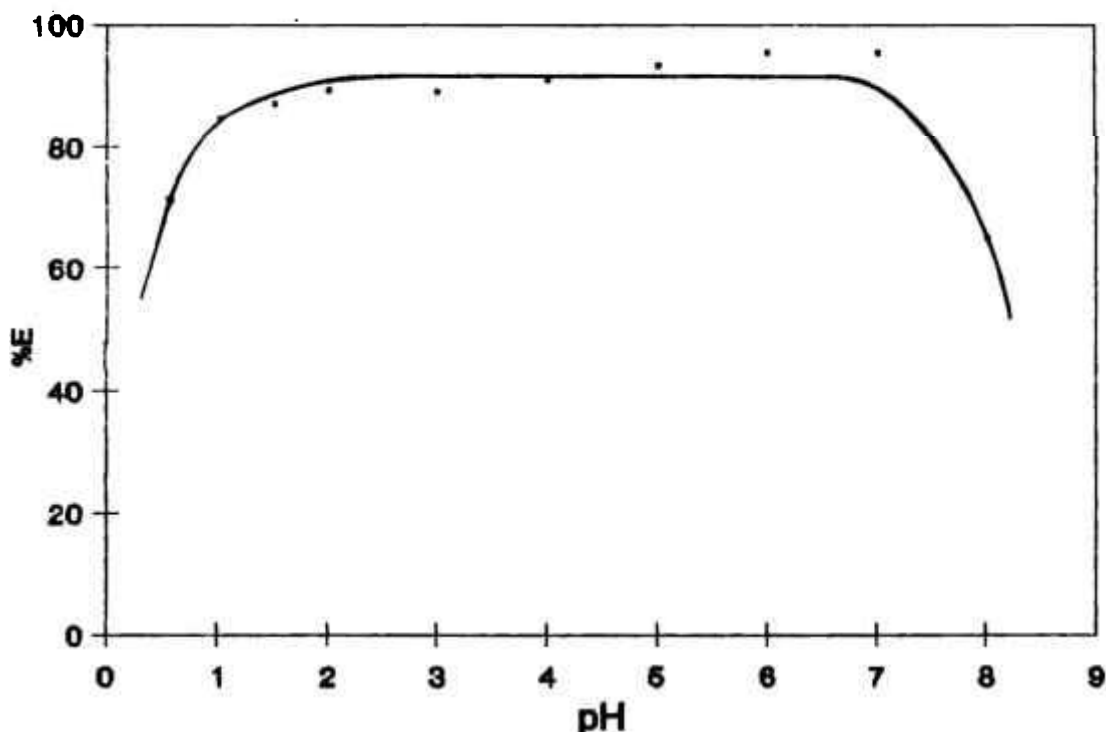


Fig. V.1. Porcentagem de extração do cobre em função do pH

Condições: conc. de $\text{H}_2\text{D}_2 = 1,0 \times 10^{-3} \text{M}$

conc. de $^{64}\text{Cu} = 1,0 \times 10^{-3} \text{M}$

tempo de agitação = 3 min.

V.4. REPRODUTIBILIDADE DA EXTRAÇÃO SUBESTEQUIOMÉTRICA DO COBRE COM DITIZONA

A reprodutibilidade da extração subestequiométrica foi estudada por meio de extrações utilizando uma quantidade constante do reagente orgânico e massas variáveis de traçador. Alíquotas de 2mL da fase orgânica de cada extração foram contadas em um contador monocanal de NaI(Tl).

Graficando a taxa de contagem do traçador na fase orgânica contra a massa do elemento adicionado à solução, obteve-se uma curva onde foi possível determinar o ponto de equivalência (E).

Em condições ideais, após atingido o ponto de equivalência E, a condição na qual a massa adicionada é igual a massa recuperada ($m = m_s$) é alcançada, podendo-se calcular a massa do elemento conforme a equação (2) do Capítulo II.

Como pode ser observado na Fig.V.2, as contagens aumentam com o aumento da massa adicionada de Cu(II) e no ponto de equivalência, o qual corresponde a razão cobre-ditizona de 1:2 permanecem constantes, demonstrando que a quantidade de reagente adicionado é subestequiométrica ao Cu(II) adicionado. O complexo pode então ser representado como $\text{Cu}(\text{HDz})_2$, estando de acordo com a composição do complexo na fase orgânica apresentado na literatura(47).

Após o ponto de equivalência, que corresponde a massa de 16,18 μ g de cobre em 5 mL de solução, foram realizadas extrações de soluções aquosas contendo excesso de traçador de ^{64}Cu . Em cada extração, a atividade da fase orgânica permaneceu constante o que demonstra que a mesma quantidade de cobre foi extraída em cada extração.

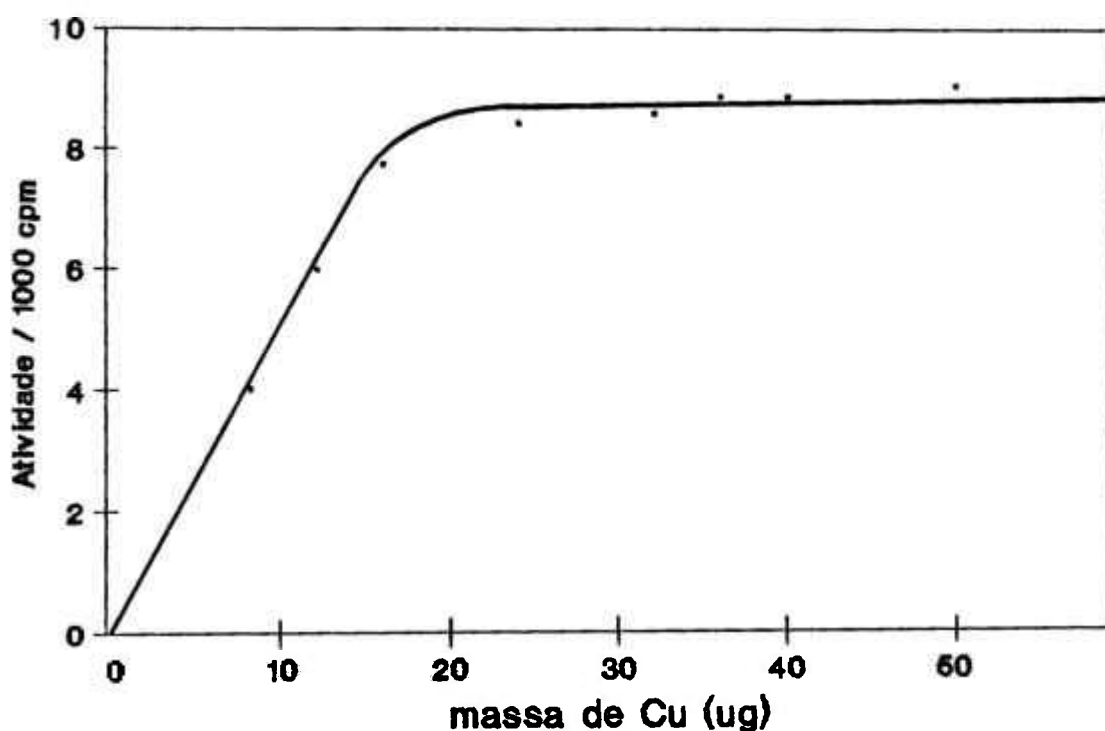


Fig. V.2. Extração subestequiométrica de Cu(II) com ditizona em CCl_4 .

Condições:

Fase aquosa: quantidades variáveis de ^{64}Cu em 10 mL solução

Fase orgânica: 5mL de ditizona $1,0 \times 10^{-4}\text{M}$.

Tempo de agitação = 3 min

pH = 5,0

V.5. INFLUÊNCIA DOS ELEMENTOS INTERFERENTES NA EXTRAÇÃO DO COBRE

De um modo geral, os reagentes orgânicos formam complexos estáveis com um número limitado de metais, porém, se a solução apresentar íons metálicos com valores de constantes de extração semelhantes ou mesmo mais elevadas que a do metal de interesse, torna-se necessária a utilização de um agente mascarante.

Em vista desse aspecto, a escolha do agente mascarante baseou-se, principalmente, na possível influência da prata cuja constante de extração com ditizona ($\log K = 8,9$) é muito próxima à do cobre ($\log K = 10,53$) (Apêndice I).

Foram realizados experimentos preliminares com o intuito de verificar o comportamento da extração da prata com ditizona em tetracloreto de carbono. A prata foi totalmente extraída pelo agente extrator, porém, ao adicionar iodeto à fase aquosa a extração foi prejudicada ao ponto de obter-se 100% do elemento na fase aquosa, mesmo na presença de grande excesso do elemento (2mg). Portanto, concluiu-se que não há interferência desse metal na extração do cobre com ditizona quando é utilizado iodeto como agente mascarante.

O estudo da seletividade da separação subestequiométrica do Cu(II) com vários outros elementos foi realizado por meio da recuperação de quantidades conhecidas de

cobre ativo e não ativo em presença de solução tampão ácido acético/acetato de amônio com iodeto de potássio como solução mascarante e tiosulfato de sódio (pH=4,8).

Os experimentos foram realizados conforme o procedimento para os experimentos de extração. À fase aquosa foram adicionadas quantidades conhecidas dos elementos interferentes e 2mL de solução tampão.

Conforme os resultados apresentados na Tabela 3, concluiu-se que o cobre pode ser subestequiometricamente determinado mesmo na presença de grande excesso de mercúrio, manganês, selênio, índio, bismuto, cobalto, níquel, cádmio, zinco, chumbo, estanho, antimônio, platina, ouro e arsênio devido à presença de iodeto que forma complexos bastante estáveis com esses metais na fase aquosa.

Como era esperado, foi observado que a interferência do paládio ($\log K > 27$), não pôde ser eliminada com o agente mascarante empregado.

Tabela 3. Determinação da massa recuperada de cobre em presença de elementos interferentes

Condições: conc. $H_2Dz = 1,0 \times 10^{-6} M$

pH = 5,0

Massa de traçador (μg)	Massa de cobre adicionado (μg)	Massa do interferente (μg)	Massa de cobre encontrada (μg)
1,0	1,0	-	1,17 \pm 0,02
		25,0 μg Hg	1,01 \pm 0,02
1,0	1,0	-	1,25 \pm 0,03
		1,01 μg Au	1,44 \pm 0,04
		0,95 μg Pd	3,12 \pm 0,08
		1,04 μg Pt	1,33 \pm 0,03
1,0	1,0	-	1,22 \pm 0,03
		93,20 μg Bi	1,10 \pm 0,03
		98,54 μg In	1,40 \pm 0,03
		100,78 μg Mn	1,31 \pm 0,03
1,0	1,0	-	1,01 \pm 0,03
		100,0 μg As	1,12 \pm 0,04
		100,0 μg Cd	1,05 \pm 0,03
		100,0 μg Co	1,01 \pm 0,03
		100,0 μg Ni	1,05 \pm 0,03
		100,0 μg Pb	1,00 \pm 0,03
		100,0 μg Sb	1,10 \pm 0,03
		100,0 μg Sn	1,08 \pm 0,03
100,0 μg Zn	1,09 \pm 0,03		

CAPÍTULO VI

VI. RESULTADOS

VI.1. AVALIAÇÃO DA PRECISÃO E EXATIDÃO DO MÉTODO

Os avanços na tecnologia analítica têm conduzido ao desenvolvimento de uma variedade de técnicas bastante sensíveis com capacidade de medida suficiente para a determinação de baixos níveis de elementos traço.

Os dados de precisão são os que se relacionam com a variação dos resultados obtidos entre si, ou seja, com a dispersão desses resultados em torno da média. A precisão ou reprodutibilidade de um experimento é afetada pelos erros cometidos aleatoriamente, também chamados erros indeterminados.

A exatidão está relacionada às diferenças entre a média de uma série de resultados e o valor verdadeiro da grandeza que está sendo medida. A inexatidão reflete a extensão do erro sistemático na medida. Portanto, um método de medida pode apresentar um alto grau de precisão embora apresente valores inexatos.

É necessário, portanto, aperfeiçoar o método analítico a um nível de precisão aceitável durante o

desenvolvimento do método e eliminar possíveis erros sistemáticos.

A precisão e exatidão do método analítico proposto foi avaliada pela determinação da massa recuperada de cobre em soluções sintéticas contendo massas constantes de traçador e carregador de cobre. As extrações foram realizadas com uma quantidade constante e subestequiométrica de reagente orgânico.

Os resultados obtidos são apresentados na Tabela 4. Tais resultados demonstram que o método apresenta uma boa precisão e exatidão e é apropriado para ser testado em matrizes complexas.

Tabela 4. Determinação da massa recuperada de cobre

Condições: conc. de $H_2Dz = 3,12 \times 10^{-5}$ - $3,7 \times 10^{-8} M$

Massa de cobre adicionada (μg)	Massa de cobre encontrada (μg)	Média $\pm s$	Precisão (%)	Exatidão (%)
9,7276	9,40 9,38 9,77	9,52 \pm 0,22	2,31	2,13
4,8638	4,94 5,18 4,66	4,93 \pm 0,26	5,27	1,36
1,0030	0,92 0,89 0,92	0,91 \pm 0,02	2,20	9,27
0,0976	0,090 0,102 0,096	0,096 \pm 0,006	6,25	1,64
9,8 (*)	7,6 9,8 8,8	8,7 \pm 1,1	12,6	11,2

(*) massa em ng

VI.1.1. Linearidade dos Resultados

A linearidade do método foi estudada para o intervalo de 0,01 a 10,0 microgramas de cobre. Nesses experimentos, usaram-se amostras sintéticas onde adicionaram-se massas conhecidas e crescentes de traçador e carregador de cobre, conforme o ítem VI.1.

A partir dos resultados da Tabela 4, foi calculada a equação da reta pelo método dos mínimos quadrados(48).

Obteve-se a seguinte equação:

$$y = - 0,0004 + 0,9845x$$

onde:

x = massa de cobre adicionada

y = valor encontrado

O coeficiente de correlação dessa reta é 0,9998 indicando que existe linearidade.

Foi aplicado o teste t(48), para verificar se o valor da ordenada na origem (a = - 0,0004), pode ser considerado igual a zero e se o coeficiente angular (b = 0,9845), pode ser considerado igual a 1.

O valor de t_a experimental encontrado foi de 0,007 e o valor de t_b foi 1,32. O valor t tabelado com 3 graus de liberdade e um nível de significância 0,05 é 3,18(48). Como os valores de t experimentais são menores que o valor de t tabelado, aceitam-se as hipóteses $a = 0$ e $b = 1$, isto é, o método não foi afetado de erro sistemático.

VI.2. DETERMINAÇÃO DO COBRE EM MATERIAIS DE REFERÊNCIA (SRM)

Os materiais de referência (SRM) são efetivamente utilizados não somente como um padrão comparativo mas também para a avaliação técnica de procedimentos analíticos. Os padrões são indispensáveis na calibração de aparelhos e avaliação da precisão e exatidão de técnicas analíticas.

Os materiais são preparados por organismos internacionais como o NIST (National Institute of Standards & Technology), IAEA (International Atomic Energy Agency), entre outros. Os valores certificados para cada elemento é dado por meio de uma avaliação baseada nos valores obtidos por vários métodos analíticos. As análises realizadas por tais organismos visam determinar com exatidão suficiente as composições desses materiais de modo a certificar a quantidade de vários de seus componentes.

Esses materiais são homogêneos e estáveis e apresentam composições muitas vezes complexas, com valores

certificados para um grande número de elementos traço que normalmente estão presentes em matrizes reais.

Com o propósito de avaliar a metodologia analítica desenvolvida, o procedimento foi testado utilizando 05 materiais de referência:

- NBS SRM 1572 Citrus Leaves
- MA-A-2 621 Fish Flesh Homogenate
- NBS SRM 1567a Wheat Flour
- NBS SRM 1568 Rice Flour
- NIST SRM 1643c Trace Elements in Water.

Por meio dos resultados obtidos avaliou-se a precisão e exatidão do método.

VI.2.1. Preparação da Amostra

A amostra foi preparada pela dissolução de 200mg do material de referência com 2 a 3mL de ácido nítrico concentrado e adição de uma quantidade conhecida de traçador de ^{64}Cu em bomba de digestão ácida. A digestão foi realizada em forno de microondas por 2 minutos em potência média. Após 1h de resfriamento, a solução foi transferida para um béquer e o excesso de ácido foi eliminado por evaporação até quase a secura.

No caso da amostra de água uma alíquota de 1mL do material de referência SRM 1643c, foi transferida para um béquer com aproximadamente 10mL de água destilada previamente passada por resina Chelex 100 e adicionou-se uma quantidade conhecida de traçador de ^{64}Cu .

VI.2.2. Preparação do Padrão

O padrão foi preparado pela adição do mesmo volume de ácido e traçador de ^{64}Cu utilizados na dissolução da amostra em bomba de digestão ácida. A digestão foi realizada utilizando o mesmo procedimento adotado para as amostras. Após 1h de resfriamento, a solução foi transferida para béquer e o excesso de ácido foi eliminado por evaporação até quase a secura.

O padrão da amostra de água foi preparado pela adição do mesmo volume de água destilada passada por resina e traçador de ^{64}Cu conforme o procedimento de preparação da amostra.

VI.2.3. Procedimento de Extração

Para a realização da extração, o pH da solução amostra e padrão foi corrigido pela adição de gotas de NH_4OH dil ou HNO_3 dil a fim de atingir pH entre 4,0 e 5,0. Após corrigido o pH, foi adicionado à fase aquosa 2mL de solução tampão pH = 4,8 e 0,5mL de solução de tiosulfato de sódio a 2%.

Os experimentos de extração foram realizados

agitando-se a fase aquosa com 5mL de solução de ditizona. Terminada a agitação, transferiu-se uma alíquota da fase orgânica da solução amostra e padrão para tubos de contagem e mediu-se a taxa de contagem do ^{64}Cu presente.

Na Tabela 5 são apresentadas as concentrações de cobre obtidas nos materiais de referência analisados nas condições experimentais do presente trabalho.

Tabela 5. Determinação de cobre em materiais de referência
Condições: conc. de $H_2Dz = 1,47 \times 10^{-6}$ - $2,52 \times 10^{-6} M$

Material	Valor Certificado ($\mu g/g$)	Valor Experimental ($\mu g/g$)	Média $\pm s$	DPR (%)	ER (%)
Wheat Flour SRM 1567a	$2,1 \pm 0,2$	1,7 1,8 1,9 1,7	$1,8 \pm 0,1$	5,6	14,3
Rice Flour SRM 1568	$2,2 \pm 0,3$	2,1 1,9 2,1	$2,0 \pm 0,1$	5,0	9,1
Fish Homog. SRM MA-A2 621	$4,0 \pm 0,1$	5,1 5,1 4,3 4,9	$4,8 \pm 0,4$	8,3	20,0
Citrus Leaves SRM 1572	$16,5 \pm 1,0$	17,2 17,3 16,5 17,0	$17,0 \pm 0,4$	2,4	3,0
Elementos Traço em Água(*) SRM 1643c	$22,3 \pm 2,8$	25,1 24,1 23,7 24,6	$24,4 \pm 0,6$	2,5	9,4

(*) concentração em ng/mL

DPR = Desvio Padrão Relativo

ER = Erro Relativo

CAPÍTULO VII

VII. APLICAÇÕES

Com o aumento da atividade industrial, muitos contaminantes têm sido introduzidos de uma forma crescente nos alimentos, água e no ar. A utilização indiscriminada de produtos químicos na agricultura e as mudanças na alimentação animal têm contribuído para as muitas alterações observadas nos alimentos.

É de grande importância verificar se os alimentos, que constituem a dieta alimentar humana, apresentam quantidades adequadas dos elementos traço essenciais e se as concentrações dos elementos, que podem ser prejudiciais à saúde, estão abaixo dos limites de segurança.

O cobre é classificado como um elemento traço essencial, porém, determinados níveis de consumo podem levar a sinais de deficiência ou de toxidez.

Em vista desses aspectos, o método foi aplicado em vários tipos de matrizes, tanto sólidas como líquidas demonstrando assim a versatilidade do método desenvolvido.

O método foi aplicado em amostras de vinho branco, cerveja, dieta alimentar e farinha de trigo. As amostras de

vinho, cerveja e farinha de trigo foram adquiridas em supermercado, não havendo preocupação na escolha quanto a marca do produto ou a sua procedência. A amostra de dieta alimentar foi preparada a partir de alimentos consumidos e produzidos na região de Manaus por meio de dados de inquérito alimentar.

Essas amostras alimentícias comumente fazem parte da dieta alimentar humana.

VII.1. ANÁLISE DAS AMOSTRAS SÓLIDAS

VII.1.1. Determinação do Teor de Umidade

O teor de umidade das amostras sólidas foi obtido pela secagem de aproximadamente 500mg de amostra em estufa a 85°C por 2 horas. Este procedimento é recomendado para a determinação do teor de umidade em materiais de referência.

A porcentagem de umidade foi calculada de acordo com a equação:

$$\% U = \frac{(m_u - m_s)}{m_u} \times 100 \quad (1)$$

onde:

m_u = massa da amostra úmida

m_s = massa da amostra seca

Na Tabela 6 são apresentados os teores de umidade das amostras que foram analisadas.

Tabela 6. Porcentagem de umidade

Amostra	Umidade (%)
Farinha de trigo	12,7
Dieta alimentar	5,15

VII.1.2. Preparação das Amostras e Padrões de Dieta Alimentar e Farinha de Trigo

As amostras e padrões foram preparados de acordo com o procedimento adotado para a preparação de amostras e padrões dos materiais de referência sólidos, ítem VI. 2. 1 e VI. 2. 2.

VII.1.3. Procedimento de Extração

O procedimento de extração adotado foi descrito no ítem VI.2.3.

VII.2. ANÁLISE DAS AMOSTRAS LÍQUIDAS

VII.2.1. Preparação das Amostras de Vinho e Cerveja

O procedimento de preparação da amostra foi descrito

por Kumar et al. (49).

As amostras foram preparadas pela adição de uma quantidade conhecida de ^{64}Cu em 50mL do material em cápsula de porcelana e evaporação até a secura.

As amostras foram então calcinadas em mufla à 580°C por duas horas. Após a calcinação do material orgânico a amostra foi retomada com 10 mL de HNO_3 1:1 no caso da cerveja. No caso do vinho adicionou-se 5mL de HNO_3 e gotas de H_2SO_4 .

As soluções foram transferidas para béqueres e o excesso de ácido foi eliminado por evaporação até quase a secura.

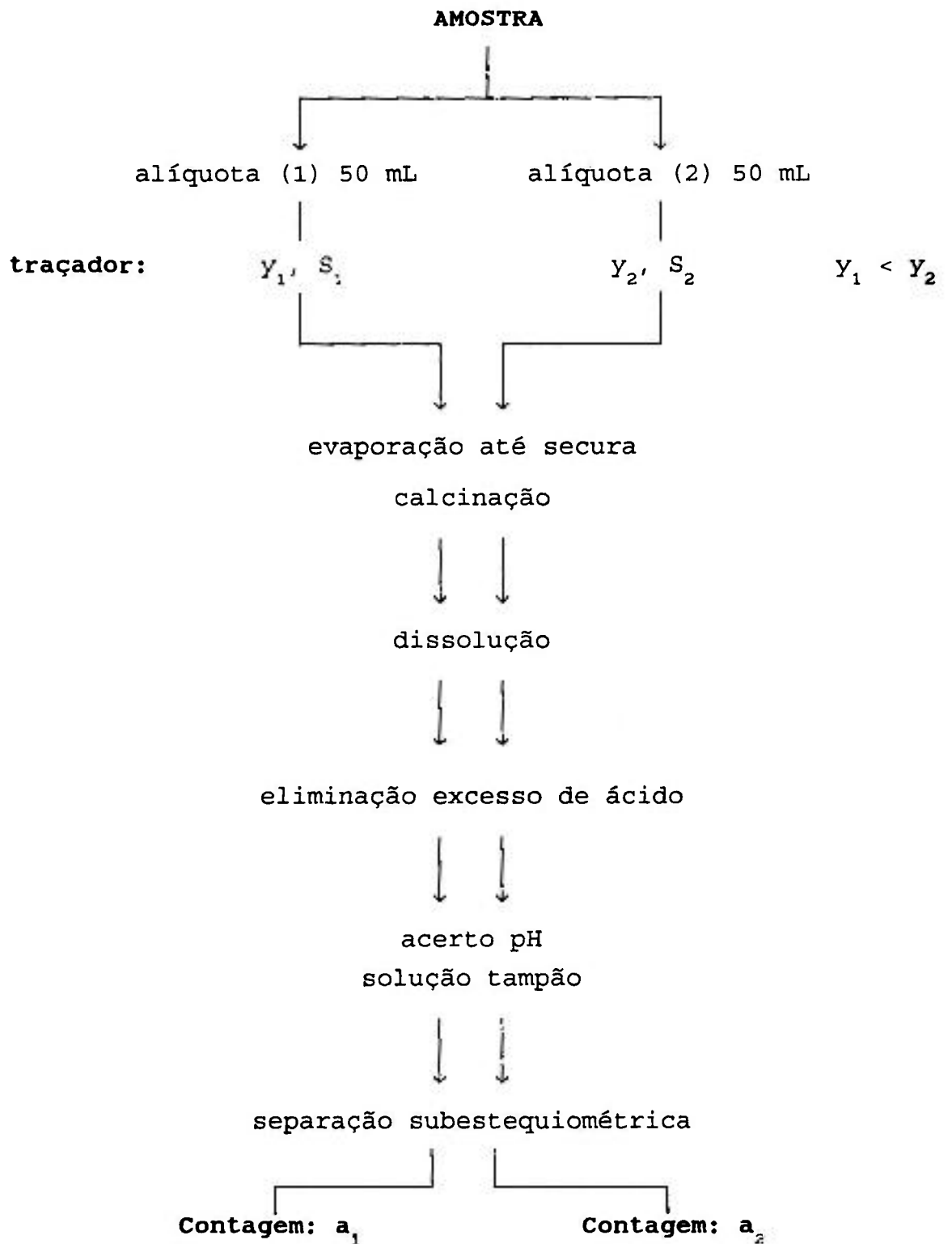
VII.2.2. Esquema do Procedimento Adotado

O procedimento adotado foi estabelecido por Zimakov e Rozhavskii (37, 38). Consiste em retirar da amostra que se quer analisar duas alíquotas de volumes iguais. À cada alíquota foi adicionada uma quantidade conhecida e diferente de traçador de ^{64}Cu . Essas amostras foram então evaporadas até secura sendo em seguida calcinadas a fim de eliminar o material orgânico. O resíduo obtido foi dissolvido com ácido e o excesso de acidez foi eliminado por evaporação até quase a secura. O pH da solução foi corrigido por meio da adição de NH_4OH dil ou HNO_3 dil até alcançar pH entre 4,0 e 5,0, sendo em seguida adicionados 2mL de solução tampão.

Preparada a fase aquosa de cada alíquota foi realizada uma separação subestequiométrica com ditizona em tetracloreto de carbono e posterior contagem de uma alíquota da fase orgânica de cada amostra.

A Figura VII.1 representa o esquema do procedimento adotado.

Fig. VII.1. Procedimento conforme Zimakov e Rozhavskii (37)



onde:

y_1 = massa do traçador adicionado à alíquota 1

y_2 = massa do traçador adicionado à alíquota 2

S_1 = atividade específica do traçador adicionado à alíquota 1

S_2 = atividade específica do traçador adicionado à alíquota 2

VII.2.3. Cálculo da Concentração de Cobre

A massa do elemento presente na amostra foi determinada de acordo com a equação:

$$y = (a_2 - a_1) \frac{y_1 y_2}{a_1 y_2 - a_2 y_1}$$

onde:

y_1 = massa do traçador adicionado à alíquota 1

y_2 = massa do traçador adicionado à alíquota 2

a_1 = atividade da amostra 1 após separação subestequiométrica

a_2 = atividade da amostra 2 após separação subestequiométrica

Na Tabela 7 encontram-se os resultados obtidos e a precisão das massas de cobre recuperadas em 05 determinações.

Tabela 7. Determinação subestequiométrica de cobre em amostras reais

Condições: conc. de $H_2Dz = 2,7 \times 10^{-6} - 1,5 \times 10^{-6} M$

pH = 4,0 - 5,0

Amostra	Valor Experimental	Média ± s	DPR (%)
Dieta Alimentar ($\mu g/g$)	2,06	1,96 ± 0,21	10,7
	1,79		
	1,91		
	2,28		
	1,76		
Farinha de Trigo ($\mu g/g$)	1,04	1,00 ± 0,05	5,0
	1,07		
	0,96		
	0,94		
	1,01		
Cerveja ($\mu g/mL$)	0,27	0,28 ± 0,02	7,1
	0,26		
	0,30		
	0,30		
	0,28		
Vinho ($\mu g/mL$)	0,17	0,17 ± 0,01	5,9
	0,17		
	0,19		
	0,17		
	0,17		

DPR = Desvio Padrão Relativo

CAPÍTULO VIII

VIII. DISCUSSÃO E CONCLUSÕES

A análise elementar de sistemas biológicos é geralmente aplicada com a finalidade de elucidar a ligação bioquímica entre os elementos químicos e os seres vivos, avaliar o estado de saúde relacionado à problemas de exposição ambiental e nutricional, diagnóstico médico de doenças e monitorar progressos em regimes terapêuticos e, finalmente, atacar problemas na área de higiene ocupacional e na medicina preventiva.

Neste capítulo são discutidos os resultados obtidos no desenvolvimento do método até a sua aplicação.

A composição de uma matriz é um fator de grande importância na escolha de um procedimento analítico. É necessário selecionar um método de digestão adequado às matrizes analisadas. A influência dos ácidos clorídrico, nítrico e sulfúrico foi verificada pela recuperação do traçador de cobre dissolvido em tais ácidos. Os resultados apresentados na Tabela 1 demonstram que o cobre é quantitativamente extraído independente do ácido utilizado.

A Fig. V.1. mostra o efeito do pH da solução aquosa na extração subestequiométrica do cobre com ditizona. Uma

quantidade constante e subestequiométrica de cobre foi extraída numa faixa de pH entre 2,0 e 7,0. Acima ou abaixo dessa faixa de pH a extração de cobre não é quantitativa, a extração do cobre é prejudicada em pH abaixo de 2,0 e acima de pH 7,0 ocorre a dissociação do reagente orgânico. O equilíbrio da extração subestequiométrica foi alcançado com 60 segundos de agitação como apresentado na Tabela 2. Por segurança, adotou-se o tempo de 3 minutos de agitação nos experimentos de extração.

A reprodutibilidade da extração subestequiométrica do cobre com ditizona em tetracloreto de carbono foi avaliada por meio da extração de uma série de soluções contendo quantidades variáveis de traçador de cobre. A Fig. V.2. mostra que a atividade da fase orgânica aumenta com o aumento da quantidade de Cu(II), porém, após o ponto de equivalência que corresponde a massa de 16,18 μg de cobre em 5mL de solução, quantidades constantes de Cu(II) são extraídas. A precisão das extrações subestequiométricas é expressa pelo desvio padrão relativo (DPR) das contagens dos extratos orgânicos. Na Fig. V.2., após o ponto de equivalência o DPR é de 2,9%. Nessa região quantidades constantes de Cu(II) podem ser extraídas com uma boa reprodutibilidade.

A seletividade da separação subestequiométrica do Cu(II) foi verificada por meio de extrações de soluções aquosas compostas por pequenas quantidades conhecidas de Cu(II) radioativo e Cu(II) não radioativo e grandes quantidades de outros elementos com ditizona $1,0 \times 10^{-6} \text{M}$. A Tabela 3 apresenta a

recuperação de cobre na presença e ausência de vários elementos que possuem constantes de extração próximas ou mesmo mais elevadas que a do cobre ($\log K = 10,53$). Um dos elementos, por exemplo, é o mercúrio cuja constante de extração em ditizona é $\log K = 26,70$; entretanto, os resultados demonstram que o mercúrio não interfere na extração do cobre.

Este fato demonstra uma das grandes vantagens de uma extração subestequiométrica, onde é possível separar seletivamente elementos com constantes de extração bastante próximas ou mesmo mais elevadas que a do elemento de interesse. Em uma extração com excesso de reagente orgânico é necessário que a relação das constantes de extração dos metais seja $K_1/K_2 > 10^4$ (16, 40) para que se alcance uma separação quantitativa. Em separações subestequiométricas, onde a quantidade de reagente orgânico é insuficiente para reagir com a quantidade total do elemento presente, alcançam-se separações quantitativas com metais cujas constantes de extração são mais próximas $K_1/K_2 > 200$ (16) o que não seria possível com excesso de reagente.

A eliminação da interferência dos elementos estudados só foi possível quando à solução aquosa foi adicionada uma solução tampão que continha iodeto como agente complexante. O iodeto forma complexos mais estáveis com esses elementos na fase aquosa evitando, dessa forma, que haja a extração para a fase orgânica. O tiosulfato presente na solução tampão evita a oxidação da ditizona pelo iodo livre.

O método pode ser considerado bastante seletivo para Cu(II); entretanto, foi observado que o paládio ($\log K > 27$) é extraído com ditizona nessas condições. Por outro lado, esse elemento é raramente encontrado nos tipos de matrizes analisadas, podendo-se desconsiderar a interferência na análise.

A precisão e exatidão do método proposto foi avaliada por meio da análise de soluções sintéticas, as quais continham quantidades conhecidas de cobre. A Tabela 4 apresenta os resultados obtidos da recuperação do cobre em 3 determinações cuja massa variou de $10\mu\text{g}$ a $0,01\mu\text{g}$. O desvio padrão relativo (DPR) é satisfatório (2,2 a 6,2%). Somente na recuperação de $0,01\mu\text{g}$ de cobre a precisão e exatidão foram prejudicadas devido principalmente, à recuperação de uma massa muito pequena acarretando erros analíticos muito mais pronunciados. Esses erros incluem erros de pipetagem, atividade medida muito baixa, próxima à radiação de fundo do aparelho; baixa concentração de traçador, etc.

Após estudadas as melhores condições de extração do cobre e avaliada a precisão e exatidão do método em soluções sintéticas, o método foi aplicado em materiais de referência.

O procedimento adotado para a preparação dos materiais de referência sólidos foi o da decomposição por digestão ácida com ácido nítrico concentrado em bomba de teflon. Segundo Kokot et al.(50) a utilização de fornos de

microondas para a digestão ácida de muitos tipos de matrizes sólidas está estabelecido e é considerado como uma possível alternativa para os procedimentos clássicos de digestão. A digestão em microondas é comparável aos procedimentos clássicos sendo um método rápido e com risco de contaminação reduzido quando são utilizadas bombas de teflon (PTFE).

A Tabela 5 apresenta a concentração total de cobre em materiais de referência, os quais foram obtidos pelo procedimento proposto, envolvendo a digestão ácida em bomba de teflon no caso dos materiais sólidos. Pode ser observada a boa precisão do método, mesmo em materiais com baixa concentração de cobre, o desvio padrão relativo (DPR) não ultrapassou a 8%. A precisão das análises subestequiométricas é afetada por dois fatores principais: um fator está associado à separação subestequiométrica e outro associado às medidas da radioatividade. A precisão pode ser melhorada por meio da utilização de radioisótopos de alta atividade, porém, a precisão é afetada primariamente na separação subestequiométrica.

Os resultados das análises de cobre dos materiais de referência apresentam uma boa concordância com os valores de referência possibilitando aplicar o método analítico proposto em amostras reais.

O limite de determinação(41) encontrado foi de 13ng e o de detecção(41) de 3ng, obtido pela irradiação do Cu(II) sob

um fluxo de nêutrons térmicos de $1 \times 10^{12} \text{ n cm}^{-2} \text{ s}^{-1}$ por 8h. Em outros trabalhos que utilizam a subestequiometria os resultados obtidos são da mesma ordem (ng), como no caso das determinações subestequiométricas de ouro(23) e selênio(24) associada à análise por ativação com nêutrons. Na determinação de ouro o limite de determinação encontrado foi de 10,4ng e para o selênio foi de 4,8ng. Esses limites foram obtidos num fluxo de $1 \times 10^{13} \text{ n cm}^{-2} \text{ s}^{-1}$ com irradiações de 3 e 7 dias, respectivamente. Em outras técnicas analíticas, o limite de detecção do cobre em amostras biológicas e ambientais é da ordem de ppb; como no caso da voltametria anódica (0,5ppb), espectrometria de absorção atômica de chama (2ppb), espectrometria de absorção atômica eletrotérmica (0,4ppb), espectrometria de emissão atômica com plasma induzido (2ppb) e por análise por ativação com nêutrons a sensibilidade é de 2ppb(51).

O cobre foi determinado por Amlani et al.(25) por meio da análise por ativação com nêutrons associada à extração subestequiométrica do elemento com 1,2,3-benzotriazole (BT) em clorofórmio. O fator de sensibilidade encontrado foi de 101,5ng obtido pela irradiação de 0,1015 μg de Cu(II) por um período de 3 dias sob um fluxo de nêutrons térmicos de $1 \times 10^{13} \text{ n cm}^{-2} \text{ s}^{-1}$. A contagem da amostra foi realizada após 22h do término da irradiação. Esse resultado demonstra a alta sensibilidade do método desenvolvido neste trabalho pelo fato de obter-se um limite de determinação consideravelmente menor que o obtido por Amlani et al.(25) sob um fluxo e período de irradiação menores.

Além disto, a metodologia desenvolvida neste trabalho evita o manuseio de amostras com altas atividades visto que as amostras utilizadas em ADI subestequiométrica não necessitam ser irradiadas.

Os metais pesados podem estar presentes nos produtos alimentares devido a ocorrência natural nas matérias-primas ou como resultado de contaminação durante processos de fabricação ou embalagem.

Segundo o "Codex Alimentarius Commission" (52), um contaminante é definido como uma substância adicionada ao alimento de forma não intencional, a qual está presente como resultado de sua produção, manufatura, processamento, preparação, tratamento, empacotamento, embalagem, transporte ou como resultado de contaminação ambiental.

A legislação para metais pesados em alimentos especifica tolerâncias máximas para determinados metais em alimentos específicos como é o caso do Canadá, Austrália, Índia, etc; ou especifica um nível de tolerância para determinado metal em relação à todos os gêneros alimentícios como é o caso da Colômbia, Hong Kong, Iraque e Paquistão. Em outros países como o Brasil, Espanha, Argentina, Israel, etc; normas para certos alimentos incluem detalhes de níveis máximos permissíveis para certos metais nesses alimentos. Os metais mais comumente restringidos pela legislação são o arsênio, cobre, chumbo, zinco, mercúrio em peixes e derivados de peixes;

e estanho em alimentos em conservas.

A necessidade mínima dos elementos traço para animais e humanos é comumente expressa em proporção ou concentração da alimentação total seca consumida diariamente. O consumo máximo desses elementos ou outros elementos os quais podem ser seguramente tolerados são geralmente expressos da mesma forma.

A necessidade dos elementos traço e a sua tolerância expressas em concentração, parte por milhão da dieta seca, considera que a dieta está adequada e bem balanceada e efetivamente livre de qualquer fator tóxico capaz de afetar a saúde ou a utilização do elemento de interesse. Igualmente importante é a concentração de minerais ou outros nutrientes os quais influenciam o aproveitamento ou a utilização do elemento em questão.

Existe também uma série de níveis alimentares considerados "seguros" dos elementos traço potencialmente tóxicos. Esses níveis "seguros" de ingestão são dependentes da extensão na qual outros elementos que afetam a absorção e retenção dos elementos traço potencialmente tóxicos estão presentes. Isso se aplica para todos os elementos traço em diferentes graus. Alguns elementos como o cobre, são tão importantes que um determinado nível de consumo pode levar a sinais de deficiência ou toxidez em um animal, dependendo do consumo relativo de molibdênio e enxofre ou de zinco e ferro(3).

De acordo com o "Codex Alimentarius Commission" (52), a tolerância máxima diária aceitável de cobre é de 0,05-0,5mg/kg de peso corpóreo. O consumo de cobre adequado e recomendado para adultos é de 2,0 a 3,0mg por dia(53).

As fontes mais ricas de cobre em alimentos para humanos são os crustáceos e mariscos, especialmente ostras; carnes, principalmente cordeiro e fígado bovino, seguidos por nozes, legumes desidratados, uvas secas, etc. Esses alimentos podem conter de 20-30 a 300-400ppm de cobre. As fontes mais pobres são os derivados do leite, açúcar branco e mel, os quais raramente contêm mais que 0,5ppm de cobre. Os vegetais não folhados, a maioria das frutas frescas e cereais refinados geralmente contêm cobre acima de 2ppm(3).

No Brasil, a tolerância máxima de cobre permitida em todos os gêneros alimentícios, sucos de frutas e xaropes naturais é de 30ppm, em bebidas suaves é de 5ppm. Em bebidas alcólicas a concentração máxima permitida é de 5,0ppm, para bebidas fermentadas, e 10,0ppm para bebidas fermentadas e destiladas(54).

Foram analisadas amostras de dieta alimentar, farinha de trigo, vinho e cerveja, escolhidas de forma aleatória. De cada amostra foram realizadas 5 determinações, calculadas a média e o desvio padrão de cada grupo de resultados como apresentado na Tabela 7.

Um problema que surge frequentemente após a obtenção de uma série de dados analíticos é o da rejeição de resultados anômalos ou aberrantes. Para que essa rejeição não assuma um caráter subjetivo, foram desenvolvidos vários critérios estatísticos. Foi adotado no presente trabalho o critério $r_{\text{máximo}}$ e $r_{\text{mínimo}}$ (55).

O Teste $r_{\text{máx.}}$ e $r_{\text{mín.}}$ permite verificar a hipótese de homogeneidade de uma série de resultados. O cálculo de $r_{\text{máx.}}$ e $r_{\text{mín.}}$ está descrito no Apêndice II.

Os resultados obtidos foram submetidos ao teste acima apresentado num nível de significância de 0,05, concluindo-se que os resultados são homogêneos, a não ser no caso do vinho que apresenta um resultado não homogêneo (0,19 μ g/mL). Neste caso, despreza-se tal resultado e é realizado novo cálculo da média e desvio padrão (0,17 \pm 0,0).

Neste trabalho, encontrou-se 0,28 \pm 0,02 μ g/mL de cobre na cerveja e 0,17 \pm 0,0 μ g/mL de cobre no vinho. Kumar et al.(49) analisaram várias amostras de vinho e cerveja por meio da espectrofotometria e espectrofotometria derivativa do Cu(II) com ditizona encontrando valores mais elevados tanto para cerveja (valor máximo encontrado: 3,48 \pm 0,02 μ g/mL) como para vinhos (valor máximo encontrado: 3,76 \pm 0,04 μ g/mL).

Pelo que foi exposto, pode-se concluir que o método analítico desenvolvido é eficiente para a determinação de cobre

e viável para a análise em vários tipos de amostras.

A utilização de traçadores evita a exposição à grandes doses de radiação já que não há necessidade de irradiar as amostras a serem analisadas. Evita também, a necessidade de trabalhar exclusivamente em locais onde existam reatores nucleares. Além disto, permite a utilização de detetores de cintilação de NaI(Tl) que apresentam alta eficiência, permite a contagem de amostras líquidas substituindo os detetores de estado sólido de Germânio Lítio (Ge-Li) uma vez que não são necessárias medidas de raios gama complexos.

Muitas vezes na análise por ativação com nêutrons a sensibilidade é prejudicada na determinação de elementos de meia vida curta e em baixas concentrações. Isto se deve às interferências espectrais dos elementos da matriz presentes em maior concentração quando esta é irradiada e também no caso do elemento de interesse não possuir características nucleares favoráveis à ativação com nêutrons.

O método é bastante sensível e pode ser utilizado em análises de rotina por ser um método simples, rápido e de baixo custo.

CAPÍTULO IX

IX. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- (1) PINTA, M. Modern methods for trace element analysis. Ann Arbor, Ann Arbor Science, 1978.
- (2) KEYDORN, K. Neutron activation analysis of clinical trace elements research. V.2. Boca Raton, CRC, 1984.
- (3) UNDERWOOD, E. J. Trace elements in human and animal nutrition. 4 ed. New York, N. Y., Academic, 1977.
- (4) PRASAD, A. S. Current topics in nutrition and disease. V.18. New York, N. Y., Alan R. Liss, 1986.
- (5) JOHNSON, M. A. & FISCHER, J. G. Is copper an antioxidant nutrient? Crit. Rev. Food Sci. Nutr., 32(1):1-31, 1992.
- (6) DUFLOU, H.; MAENHAUT, W.; DE REUCK, J. Regional distribution of potassium, calcium, and six trace elements in normal human brain. Neurochem. Res., 14(11):1099-112, 1989.

- (7) FURST, A. Metals: We know so much and we know so little.
In: DRUCKER, H. & WILDUNG, R.E., ed. Biological implications of metals in the environment: Proceedings of the 15th annual handford life sciences symposium on...held in Richland, Wash., Sept. 29 - Oct. 1, 1975. Springfield, Virginia, ENERGY RESEARCH AND DEVELOPMENT ADMINISTRATION, 1977.p. 426-40. (ERDA Symposium Series 42)
- (8) GILLS, T. E.; GALLORINI, M.; ROOK, H. L. The determination of trace elements in new food grain SRMs using neutron activation analysis. J. Radioanal. Chem., 46:21-5, 1978.
- (9) KUDO, K. & SUZUKI, N. Determination of trace elements in various materials by activation analysis. J. Radioanal. Nucl. Chem., Articles, 88(1):75-83, 1985.
- (10) SUZUKI, N. Substoichiometric separation and determination of trace metals. J. Radioanal. Nucl. Chem., Articles, 124(1): 197-210, 1988.
- (11) HEVESY, G. & HOBBIIE, R. Z. Analyt. Chem., 88, 1, 1932
apud: RUZICKA, J. & STARY, J. Isotopic dilution analysis by solvent extraction-I. Talanta, 8:228-34, 1961.
- (12) STARIK, J. E. Problemy Sovjetskoj Geologii, 3, 70, 1933
apud: RUZICKA, J. & STARY, J. Isotopic dilution analysis by solvent extraction-I. Talanta, 8:228-34, 1961.

- (13) SUZUKI, N. Proc. 2nd. Conf. Radioisotopes, Japan, 151, 1958 apud: KUDO, K. & SUZUKI, N. Recent development of substoichiometry in trace analysis. J. Radioanal. Chem., 26: 327-73, 1975.
- (14) ZIMAKOV, I. E. & ROZHAVSKII, G. S. Method of multiple radioactive dilution for determination of small amounts of admixtures. Tr. Kromis. Analit. Khim. Akad. Nauk. SSSR, 9: 231-245, 1958.
- (15) RUZICKA, J. & Stary, J. Isotopic dilution analysis by solvent extraction-I. Talanta, 8:228-34, 1961.
- (16) RUZICKA, J. & STARY, J. Substoichiometry in radiochemical analysis, Oxford, Pergamon, 1968.
- (17) SUZUKI, N.; FUKAYA, T.; IMURA, H. Substoichiometric isotope-dilution analysis for strontium by liquid-liquid extraction with a macrocyclic crown ether or cryptand. Anal. Chim. Acta, 194:261-8, 1987.
- (18) YOSHIOKA, H. & HASEGAWA, K. Determination of trace amounts of thallium in commercial radioactive ^{204}Tl samples by the redox sub-superequivalence method of isotope dilution analysis. Analyst, 112:855-8, 1987.
- (19) KUDO, K. & SUZUKI, N. Recent aspect of substoichiometry in trace analysis. J. Radioanal. Chem., 59(2):605-27, 1980.

- (20) ZOLOTOV, Y. A.; KUZ'MIN, N.M.; PETRUKHIN, O. M.; SPIVAKOV, B. V. Liquid-liquid extraction in inorganic analysis: Current status and prospects. Anal. Chim. Acta, 180:137-61, 1986.
- (21) CHUTE, G. S.; WEGINWAR, R. G.; GARG, A. N. Substoichiometric isotope dilution determination of manganese in biological samples using 2-thenoyltrifluoroacetone in isobutyl methyl ketone. Anal. Chim. Acta, 234:445-51, 1990.
- (22) SUZUKI, N.; TAKAHASHI, M.; IMURA, H. Substoichiometric liquid-liquid extraction and determination of vanadium based on the synergic effect of thenoyltrifluoroacetone and trioctylphosphine oxide. Anal. Chim. Acta, 160:79-85, 1984.
- (23) AMLANI, A. M. & TUREL, Z. R. Substoichiometric determination of gold by neutron activation analysis. J. Radioanal. Nucl. Chem., Letters, 146(2):107-13, 1990.
- (24) ITAWI, R. K. & TUREL, Z. R. Determination of selenium by substoichiometric thermal neutron activation analysis. J. Radioanal. Nucl. Chem., Letters, 106(2):81-90, 1986.
- (25) AMLANI, A. M. & TUREL, Z. R. Substoichiometric determination of copper by neutron activation analysis. J. Radioanal. Nucl. Chem., Letters, 144(1):27-33, 1990.

- (26) KANDA, Y. & SUZUKI, N. Substoichiometric isotope dilution analysis of inorganic mercury and methylmercury with thionalide. Anal. Chem., 52:1672-75, 1980.
- (27) DJINGOVA, R. & KOSTADINOV, K. A method for determination of diphenylmercury in biological liquid samples. Radiochem. Radioanal., Letters, 51(6):399-402, 1982.
- (28) IMURA, H. & SUZUKI, N. Fractional separation of organic and inorganic tin compounds and determination by substoichiometric isotope dilution analysis. Anal. Chem., 55:1107-11, 1983.
- (29) IMURA, H. & Suzuki, N. Substoichiometric determination of inorganic tin in organotin compounds. Anal. Chim. Acta, 126:199-205, 1981.
- (30) KANDA, Y. & Suzuki, N. Selective substoichiometry of arsenic(III) by thionalide extraction. Radiochem. Radioanal., Letters, 39(3):221-32, 1979.
- (31) KANDA, Y. & SUZUKI, N. Redox substoichiometric determination of arsenic in biological materials by neutron activation analysis. J. Radioanal. Chem., 54:7-14, 1979.

- (32) JITOH, F.; IMURA, H.; SUZUKI, N. Substoichiometric speciation for inorganic arsenic and methylated arsenic and its application to samples of marine organisms. Anal. Chim. Acta, 228:85-91, 1990.
- (33) SUZUKI, N.; JITOH, F.; IMURA, H.; KANDA, Y. Selective substoichiometry for inorganic arsenic(V) by ion-pair extraction with pyrogallol/tetraphenyl-arsonium chloride and its application in the analysis of seaweed. Anal. Chim. Acta, 193:239-45, 1987.
- (34) KUDO, K. & KOBAYASHI, K. Determination of trace elements and radioactive materials by substoichiometric isotope dilution analysis. J. Radioanal. Chem., 53:163-72, 1979.
- (35) GUZZI, G.; PIETRA, R.; SABBIONI, E. Determination of 25 elements in biological standard reference materials by neutron activation analysis. J. Radioanal. Chem., 34: 35-57, 1976.
- (36) PIETRA, R.; SABBIONI, E.; GALLORINI, M.; ORNINI, E. Environmental, toxicological and biomedical research on trace metals: Radiochemical separations for neutron activation analysis. J. Radioanal. Nucl. Chem., Articles, 102: 69-98, 1986.
- (37) TOLGYESSY, J.; BRAUN, T.; KYRS, M. Isotope dilution analysis. Oxford, Pergamon, 1972.

- (38) TOLGYESSY, J.; KYRS, M. Radioanalytical chemistry I. England, Ellis Horwood Limited, 1989.
- (39) KUDO, K. & SUZUKI, N. Recent development of substoichiometry in trace analysis. J. Radioanal. Chem., 26:327-73, 1975.
- (40) SEKINE, T. & HASEGAWA, Y. Solvent extraction chemistry, Fundamentals and applications. New York, N.Y. Marcel Dekker, 1977.
- (41) CURRIE, L. A. Limits for qualitative detection and quantitative determination. Application to radiochemistry. Anal. Chem., 40(3):586-92, 1968.
- (42) COVELL, D. F. Determination of gamma-ray abundance directly from the total absorption peak. Anal. Chem., 31:1785-90, 1959.
- (43) WELCHER, F.J. Organic analytical reagents. V.3. Princeton, N.J., Van Nostrand Company, 1955.
- (44) DE, A. K.; KHOPKAR, S. M.; CHALMERS, R. A. Solvent extraction of metals. London, Van Nostrand-Reinhold Company, 1970.

- (45) SANDELL, E. B. Colorimetric determination of traces of metals. New York, N.Y. Wiley - Interscience (Chemical Analysis. V.3.), 1959.
- (46) BENDIX, G. H. & GRABENSTETTER, D. A dithizone method for the rapid determination of copper. Ind. Eng. Chem., Anal. Ed. 15(10):649-52, 1943.
- (47) GEIGER, R. W. & SANDELL, E. B. Copper (II) - dithizone equilibria in water carbon tetrachloride. Anal. Chim. Acta, 8:197-208, 1953.
- (48) NALIMOV, V. V. The application of mathematical statistics to chemical analysis. Reading Mass. Addison Wesley, 1963.
- (49) KUMAR, B.; SINGH, H. B.; KATYAL, M.; SHARMA, R. L. Spectrophotometric and derivative spectrophotometric determination of copper(II) with dithizone in Aqueous phase. Mikrochim. Acta, 3:79-87, 1991.
- (50) KOKOT, S.; KING, G.; KELLER, H. R.; MASSART, D. L. Microwave digestion: An analysis of procedures. Anal. Chim. Acta, 259:267-79, 1992.
- (51) LOON, J. C. V. Selected methods of trace metal analysis: biological and environmental samples. V.80. New York, N. Y., John Wiley & Sons, 1985.

- (52) CODEX ALIMENTARIUS COMMISSION. Codex alimentarius, v.17: Contaminants. Rome, FAO/WHO, 1984.
- (53) MERTZ, W. The essential trace elements. Science, 213: 1332-8, 1981.
- (54) DEWDNEY, P. A. & KING, C. F. Heavy metals in foods. Food Legis. Surv., 6:2-49, Jan. 1980.
- (55) VASCONCELLOS, M. B. A. Estudo comparativo dos métodos destrutivo e não-destrutivo em análise por ativação de rochas. São Paulo, 1977. (Tese de Doutorado. Instituto de Energia Atômica.)
- (56) ADÁMEK, A. & CHIRIATEV, M. N. Determination of thallium by isotopic dilution method using substoichiometric displacement. J. Radioanal. Chem., 26:51-61, 1975.
- (57) STABILITY CONSTANTS OF METAL - ION COMPLEXES. Chemical Society Special Publications V. 17 e 25. London, 1967.

APÊNDICES

APÊNDICE I

Valores do logaritmo da constante de extração (K_{ex}) e constante de estabilidade (β_s) dos quelatos metálicos com Difenilditiocarbazona (Ditizona, H_2Dz), Dibenzoilmetano (HDBM) e Benzoilacetona (HBA) e Iodeto de potássio (KI) (16, 38, 56, 57)

Cátion	H_2Dz	H_2Dz	HDBM	HBA	KI
	CCl_4	$CHCl_3$	C_6H_6	C_6H_6	$\log \beta_s$
Ag(I)	8,90	5,8	- 8,58	- 7,81	15,74
As(III)					
Au(III)					
Bi(III)	10,70				14,95
Cd(II)	2,00	0,5	-13,98	-14,11	6,37
Co(II)	2,30	15,0	-10,78	-11,11	> 9
Cu(II)	10,53	6,5	- 3,80	- 4,17	
Hg(II)	26,70	25,0			30,18
In(III)	7,00	0,6	- 7,61	- 9,30	2,6
Mn(II)			-13,71	-14,63	
Ni(II)	- 0,60	- 2,9	-11,02	-12,12	
Pb(II)	0,85	- 0,9	- 9,45	- 9,61	6,2
Pd(II)	> 27			1,20	
Pt(II)					29,6
Sb(III)					
Se(IV)					
Sn(IV)					
Zn(II)	2,60	0,6	-10,67	-10,79	<- 1,3

APÊNDICE II

CÁLCULO DO DESVIO PADRÃO, DESVIO PADRÃO RELATIVO, ERRO RELATIVO, LIMITES DE CONFIANÇA E TESTE $r_{\text{máx.}}$ e $r_{\text{mín.}}$.

1. DESVIO PADRÃO

O desvio padrão, s , é calculado por meio da fórmula:

$$s = \left[\frac{\sum_{i=1}^n (x_i - \bar{x})^2}{n-1} \right]^{1/2}$$

onde:

\bar{x} = média das determinações

n = número de determinações

O desvio padrão assim definido caracteriza a incerteza que acompanha cada um dos n resultados. Existe uma probabilidade de 68,26% de que o valor da grandeza medida esteja no intervalo compreendido entre $(x_i - s)$ e $(x_i + s)$.

2. DESVIO PADRÃO RELATIVO (DPR)

O desvio padrão relativo é calculado pela expressão:

$$\text{DPR} = \frac{s}{\bar{x}} \times 100$$

O DPR está relacionado com a precisão dos resultados.

3. ERRO RELATIVO

O erro relativo só pode ser calculado quando se conhece o valor real, μ , de uma determinada grandeza que está sendo medida.

O erro relativo será então, em porcentagem:

$$\text{Erro relativo} = \frac{\bar{x} - \mu}{\mu} \times 100$$

O erro relativo é também chamado coeficiente de variação.

4. LIMITES DE CONFIANÇA

Os limites de confiança, são limites situados em torno da estimativa da média, obtida experimentalmente, a que

devem abranger a média paramétrica ou verdadeira de uma população, com um determinado grau de probabilidade.

Os limites de confiança são dados por:

$$\text{Limites de confiança} = \bar{x} \pm t s_{\bar{x}}$$

em que t é um valor tabelado, para um dado nível de significância, p , ou nível de confiança $1-p$, e para $n-1$ graus de liberdade.

5. TESTE DE $r_{\text{máx.}}$ e $r_{\text{mín.}}$

Este teste permite verificar a hipótese de homogeneidade de uma série de resultados, calculando-se:

$$r_{\text{máx.}} = \frac{|X_{\text{máx.}} - \bar{X}|}{s \left(\frac{n-1}{n} \right)^{1/2}}$$

$$r_{\text{mín.}} = \frac{|X_{\text{mín.}} - \bar{X}|}{s \left(\frac{n-1}{n} \right)^{1/2}}$$

onde $X_{\text{máx.}}$ e $X_{\text{mín.}}$ são respectivamente os valores máximo e mínimo de uma série de resultados. Os valores r têm $n-2$ graus de liberdade, porque existem entre os r_i as relações:

$$\sum r_1 = 0$$

$$\sum r_1^2 = n$$

Calculados os valores de $r_{\text{máx.}}$ e $r_{\text{mín.}}$, se esses valores forem menores que o tabelado para um nível de significância p e $n-2$ graus de liberdade, temos que aceitar o conjunto de medidas como homogêneo. Se ocorrer o contrário, os resultados correspondentes serão desprezados e feitos os cálculos de \bar{x} e s com o novo conjunto.