

ESPECTROFOTOMETRIA EM FASE SÓLIDA

► Resumo

A espectrofotometria em fase sólida (EFS) consiste na medida de absorção de radiação em um suporte sólido no qual a espécie de interesse foi retida previa ou simultaneamente, permitindo aumento de sensibilidade e melhoria dos limites de detecção e da seletividade das medidas. Neste artigo, são destacadas as principais características da EFS, exemplificadas por aplicações em batelada e em sistemas de análise em fluxo. São também apresentados e discutidos importantes critérios para a implementação desta técnica, incluindo a geometria da cela de medida e a seleção do suporte sólido e do eluente.

Palavras-chave: Espectrofotometria, espectrofotometria em fase sólida, análise em fluxo

► Summary

The solid-phase spectrophotometry (SPS) involves the measurement of radiation absorption by a solid support in which the analyte was previous or simultaneously retained, allowing increasing sensitivity and improving the detection limits and selectivity. In this article, the main characteristics of SPS are presented and exemplified by applications in batch and flow systems. Important criteria to proper implementation of this technique, including the cell geometry and selection of the solid support and the eluent are presented and discussed.

Keywords: Spectrophotometry, solid-phase spectrophotometry, flow analysis

► Introdução

Procedimentos baseados em medidas espectrofotométricas nas regiões ultravioleta e visível do espectro eletromagnético (280-800nm) são usuais em Química analítica. Muitos deles consistem em métodos de referência em laboratórios destinados ao controle de qualidade ou análises clínicas, ambientais, agrônômicas, etc. Os procedimentos envolvem medidas diretas de espécies que absorvem radiação, medidas após derivação química e acoplamento a diversas técnicas ou processos, como cromatografia, eletroforese capilar e análise em fluxo. Em todos os casos, predominam as medidas em solução, sendo a quantidade de radiação absorvida relacionada com a concentração da espécie de interesse através da lei de Lambert-Beer. Entretanto, medidas de absorção podem ser efetuadas diretamente em materiais sólidos, apresentando uma série de vantagens em relação às medidas em solução.

Na espectrofotometria em fase sólida (EFS), uma matriz sólida que pode conter um reagente imobilizado é utilizada para a retenção da espécie de interesse, sendo a absorvância medida diretamente no suporte sólido (1). A técnica permi-

te a concentração do analito, explorando a acumulação da espécie de interesse em um pequeno volume da fase sólida, resultando em aumento de sensibilidade e melhoria dos limites de detecção. A seletividade das medidas é geralmente melhor que a observada em medidas em solução.

A primeira proposta de medidas espectrofotométricas em um suporte sólido foi feita por Yoshimura e colaboradores em 1976 (2) empregando difenilcarbazida, 1,10-fenantrolina, tiocianato de amônio ou Zincon imobilizados em resina de troca iônica, para determinação de cromo, ferro, cobalto e cobre, respectivamente. Com essa estratégia, a sensibilidade foi aumentada em 10 vezes em relação aos procedimentos análogos em solução.

A espectrofotometria em fase sólida pode ser implementada em procedimentos em batelada ou em fluxo. Os procedimentos em batelada envolvem o contato direto do analito com a fase sólida em um recipiente sob agitação por um certo período de tempo para posterior transferência para uma cubeta. As medidas em geral são efetuadas em mais de

*Leonardo S. G. Teixeira*¹

Fábio R. P. Rocha^{2,*}

¹ Universidade Salvador
Departamento de Engenharia
e Arquitetura

² Universidade de São Paulo
Instituto de Química

^{2*} Autor para correspondência
Caixa Postal 26077
05513-970. São Paulo. SP
E-mail: frprocha@iq.usp.br
Fax: (11) 3091-3837 – r.243

um comprimento de onda, visando compensar diferenças no empacotamento da fase sólida. Esses inconvenientes podem ser evitados empregando sistemas de análise em fluxo, nos quais a detecção é feita simultaneamente às etapas de retenção e concentração do analito, dispensando medidas em diferentes comprimentos de onda e permitindo o emprego de um espectrofotômetro monocanal.

Alguns requisitos são desejáveis para aplicação de um sistema para medidas por espectrofotometria em fase sólida (3,4):

- a) **Reversibilidade:** após retenção/medida, a regeneração da fase sólida pela eluição do analito deve ser eficaz. Essa condição torna-se ainda mais importante em sistemas em fluxo. Nas metodologias que não atendem esse requisito, é necessária a troca da fase sólida a cada análise, o que pode inviabilizar a aplicação prática do procedimento. Quando não é possível a regeneração da fase sólida, uma alternativa é trabalhar com suportes com alta capacidade de retenção e se fazer a troca após uma série de medidas.
- b) **Estabilidade da fase sólida frente ao meio de trabalho:** a fase sólida não deve sofrer alterações significativas quando submetida ao contato com a amostra ou eluente. Esse requisito torna-se ainda mais relevante quando se trata de sistema que utiliza um reagente imobilizado, devido à possibilidade de lixiviação do reagente.
- c) **Cinética rápida:** os sistemas devem preferencialmente possibilitar a rápida retenção do analito na fase sólida. Em sistemas em batelada, a retenção rápida permite reduzir o tempo de contato entre a amostra e o suporte sólido. Em sistemas em fluxo, que usualmente trabalham com tempos de residência curtos, uma retenção rápida permite alcançar maiores fatores de extração e conseqüentemente maior sensibilidade, sem comprometer a freqüência de amostragem. A rápida retenção do analito também pode ser explorada para aumento da seletividade.
- d) **Compatibilidade entre o suporte sólido e o sistema de medida:** materiais que promovem alta atenuação do feixe de radiação dificilmente poderão ser utilizados para medidas de absorção, embora possam ser adequados para medidas por reflectância.

Características da EFS

A EFS permite integrar as etapas de reação, retenção e detecção do analito, requerendo, em geral, pequenas quantidades de amostras e reagentes e podendo ser implementada com espectrofotômetros simples. Como a medida de absorbância é feita diretamente na fase sólida, maior sensibilidade pode ser alcançada quando comparada com pré-concentrações convencionais em fase sólida, nas quais é necessária uma

etapa de eluição (e inerentemente de diluição) previamente à medida. Outras características importantes da EFS são descritas e exemplificadas a seguir.

Aumento de sensibilidade

O aumento de sensibilidade quando se usa a EFS depende do caminho óptico ocupado pela fase sólida e do volume de amostra utilizado na determinação, tendo sido relatado aumento de sensibilidade de até 280 vezes, em relação ao procedimento análogo em solução (5). Em um estudo realizado por Frenzel e Krekler (6), foram comparados três procedimentos para a determinação espectrofotométrica de fenóis empregando a reação com 4-aminoantipirina: (i) pré-concentração por extração do produto com CCl_4 ; (ii) pré-concentração do produto em C_{18} , com posterior eluição com metanol e (iii) medida direta do produto retido em C_{18} . Os limites de detecção foram estimados em $8\mu\text{g l}^{-1}$, $11\mu\text{g l}^{-1}$ e $0,4\mu\text{g l}^{-1}$, respectivamente, refletindo a maior sensibilidade obtida por EFS. O aumento de sensibilidade em relação às medidas em solução pode ser visualizado comparando-se os sinais transientes obtidos em sistemas de análise em fluxo mostrados na Figura 1. Limites de detecção alcançados em alguns procedimentos em batelada e fluxo são apresentados nas Tabelas 1 e 2.

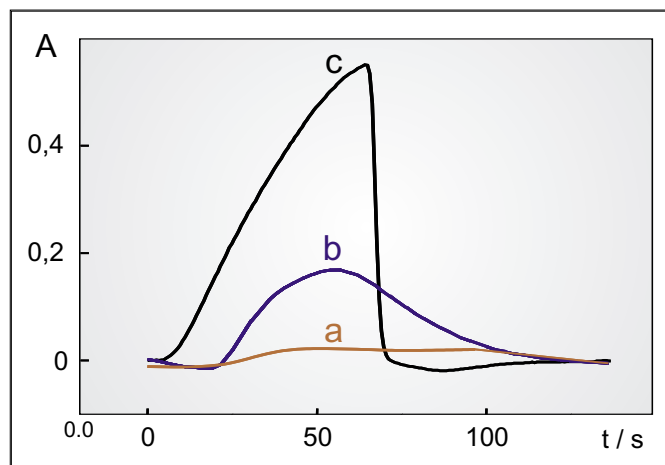


Figura 1. Sinais transientes obtidos em sistemas de análise em fluxo para a determinação de Co(II) com TAN: (a) medida em solução, com caminho óptico de 1mm; (B) medida em solução, com caminho óptico de 10mm; (c) medida por EFS, com caminho óptico de 1mm.

Melhoria de seletividade

Procedimentos baseados em EFS são usualmente mais seletivos que os procedimentos análogos em solução. A reatividade de um reagente cromogênico geralmente diminui com a imobilização em um suporte sólido, pois alguns dos seus sítios reativos estão ocupados em interações com a fase sólida, diminuindo a atividade química do reagente e aumentando a seletividade do mesmo (7). Por outro lado, devem ser consi-

Tabela 1. Algumas aplicações da EFS em procedimentos em batelada

| Espécie | Reagente | Suporte | Amostra | Limite de detecção ($\mu\text{g L}^{-1}$) | Referência |
|-----------------|-------------------------------------|------------------------|-----------------------------------|---|------------|
| Thiamina | Retenção direta | Sephadex CMC-25 | preparações farmacêuticas | 3 | 9 |
| Níquel | PAN | β -ciclodextrina | cabelo | 20 | 12 |
| Be(II) | Cromo Azurol S | Sephadex QAE A-25 | águas | 0,2 | 16 |
| Fosfato | Molibdato de amônio/ácido ascórbico | Poliuretano | águas | 20 | 22 |
| Ácido ascórbico | Fe(III)/ferrozina | Sephadex QAE-A25 | sucos de frutas, fármacos e urina | 0,91 | 52 |

Tabela 2. Algumas aplicações da EFS em procedimentos em fluxo

| Espécie | Reagente | Suporte | Amostra | Limite de detecção ($\mu\text{g L}^{-1}$) | Eluente | Referência |
|---------|---|---------------------------------------|---------------------------|---|---|------------|
| Zn(II) | 1-(2-tiazolilazo)-2-naftol | sílica funcionalizada C_{18} | preparações farmacêuticas | 10 ^o | HNO_3 | 10 |
| Cr(VI) | 1,5-difenilcarbazida | resina catiônica (AG 50W-X2) | águas | 0,03 | HNO_3 | 15 |
| Sn(IV) | Violeta de Pirocatecol | Sephadex QAE A-25) | Sucos de frutas | 0,4 | HCl | 17 |
| Mo(VI) | Tiron | Sephadex QAE-A25 | águas e rochas | 15 ng | NaNO_3 | 18 |
| Fe(III) | NH_4SCN | resina aniônica (Dowex 1-X2) | águas/vinho | 3 | $\text{NaF}/\text{NaOH}/\text{Na}_2\text{EDTA}$ | 21 |
| sulfeto | N,N-dimetil-p-fenilenediamina/ Fe^{3+} | sílica funcionalizada C_{18} | águas | 1,7 | $\text{CH}_3\text{OH}/\text{HCl}$ | 54 |

derados os fatores cinéticos, especialmente em procedimentos em fluxo, nos quais o tempo limitado de contato entre a amostra e a fase sólida permite apenas a retenção das espécies que interagem mais rapidamente com a fase sólida. Um exemplo da exploração de fatores cinéticos é a determinação de níquel e zinco utilizando 1-(2-tiazolilazo)-2-naftol (TAN) imobilizado em C_{18} (8). Neste trabalho, as diferentes razões de sorção dos dois elementos no suporte sólido foram exploradas para a determinação seqüencial em ligas de cobre.

Um terceiro fator a ser considerado é a possibilidade de retenção direta e seletiva da espécie a ser analisada. Por exemplo, a vitamina B_1 (tiamina) pode ser determinada seletivamente em produtos farmacêuticos por EFS na região do UV após a retenção da mesma em Sephadex (9), uma vez que as vitaminas B_2 , B_6 e B_{12} não são retidas na resina. Na determinação por espectrofotometria em solução, as outras vitaminas interferem, pois também absorvem radiação na região do UV.

Minimização do consumo de reagentes

Uma vantagem adicional observada quando se utiliza a EFS é a diminuição do consumo de reagentes, especialmente quando esses são irreversivelmente imobilizados na fase sólida, permitindo a retenção reversível da espécie de interesse. Conseqüentemente, o custo das análises e a geração de resíduos são consideravelmente reduzidos. Comparando-se a determinação de zinco com TAN por espectrofotometria convencional com o procedimento análogo empregando EFS, no qual TAN foi imobilizado em C_{18} , verifica-se uma diminuição de mais de 1000 vezes no consumo do reagente por determinação (10). Neste caso, empregando-se soluções ácidas como eluente, é possível remover o íon metálico da fase sólida, sem afetar a interação desta com o reagente, permitindo que mais de 200 medidas sejam feitas sem a necessidade de re-imobilizar o reagente. Na Figura 2, é mostrado um esquema da imobilização de reagentes orgânicos em C_{18} .

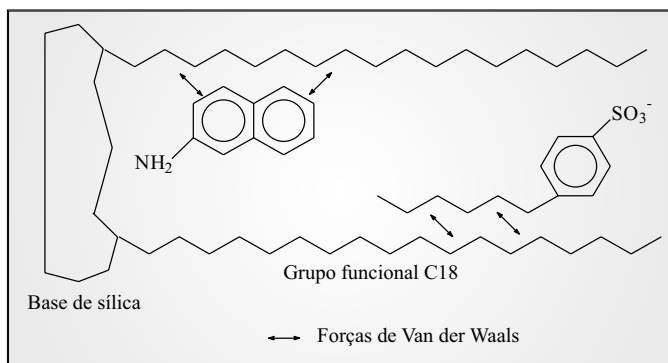


Figura 2. Esquema de interação de reagentes com uma fase sólida não polar (sílica funcionalizada C_{18}).

Desenvolvimento de procedimentos em EFS

Celas de medida

As medidas por espectrofotometria em fase sólida podem ser realizadas posicionando o suporte sólido contendo o analito diretamente no caminho ótico de um espectrofotômetro. Um método bastante simples consiste no enriquecimento por filtração, empregado em EFS para pré-concentração de traços de espécies químicas. Quando a espécie de interesse é quantitativa e seletivamente retida em uma membrana filtrante, sob uma forma que absorva radiação adequadamente, é possível determinar a espécie diretamente na membrana por EFS. Como exemplo, pode ser citada a determinação de níquel em vinhos usando o reagente quinoxalina-2,3-ditiol imobilizado em resina de troca iônica previamente coletada em uma membrana circular (11).

Em geral, as celas utilizadas na EFS possuem caminhos óticos pequenos, uma vez que os suportes utilizados provocam considerável atenuação do feixe de radiação. Em procedimentos em batelada, as celas mais usadas são as de quartzo com 1mm de caminho ótico. Em casos raros, utiliza-se celas com caminhos óticos maiores, como por exemplo na determinação de níquel através da retenção no polímero β -ciclodextrina contendo 1-(2-piridilazo)-2-naftol (PAN) imobilizado. Uma cela de quartzo com 5mm de caminho ótico foi utilizada, uma vez que o suporte sólido apresenta baixa absorção na região visível (12). Considerando os inconvenientes anteriormente descritos, foi proposta uma cela de fluxo em acrílico para medidas em fluxo por EFS. A geometria da cela permite o emprego de maiores quantidades de suporte sólido sem ocasionar excessiva atenuação do feixe de radiação, devido ao caminho óptico pequeno (1mm), além de minimizar problemas com o aumento da impedância hidrodinâmica (13).

Suportes sólidos

Muitos suportes sólidos têm sido usados em EFS: resinas trocadoras catiônicas (14) e aniônicas (15), Sephadex (16-20), vidro poroso sinterizado (21), espuma de poliuretano (22), celulose (23) e polímeros diversos (12,24,25). Entretanto, na maior parte dos trabalhos envolvendo EFS em sistemas de fluxo, a cela é preenchi-

da com resina de troca iônica ou um outro material cromatográfico (26). Esse fato fez com que esses sistemas fossem considerados como um híbrido entre FIA e sistemas cromatográficos (27).

A escolha do suporte sólido para a aplicação em espectrofotometria em fase sólida dependerá da espécie química a ser analisada. Uma possível estratégia pode ser exemplificada pelo desenvolvimento de metodologias para determinação de urânio, mercúrio e chumbo (28). Savvin e colaboradores definiram inicialmente os reagentes a serem utilizados, considerando a sensibilidade e seletividade para a determinação de urânio, mercúrio e chumbo. Posteriormente, foram testados uma série de discos de 10 e 20mm de diâmetro de vários tipos de material: diferentes poliamidas, membranas de polietileno/tereftalato e celulose. O suporte sólido foi selecionado considerando a habilidade para imobilização do reagente cromogênico e a reatividade do mesmo após a imobilização.

Em medidas por EFS, o feixe de radiação incidente sofre tanto absorção quanto espalhamento de radiação. Esses dois fatores contribuem para a atenuação da radiação que atinge o detector, o que diferencia a EFS da espectrofotometria convencional, na qual a atenuação ocorre principalmente por processos de absorção. A atenuação do feixe pela fase sólida deve ser levada em consideração para a escolha do suporte e da maneira como a medida será realizada (medidas de absorção ou refletância, por exemplo). Outro fator a ser considerado é a cinética de retenção do analito no suporte, que define o tempo mínimo de contato da amostra com a fase sólida em procedimentos em batelada ou a eficiência de retenção em medidas em fluxo.

Entre os suportes sólidos utilizados na EFS, a sílica funcionalizada C_{18} , seja na forma de pó ou de discos (29), tem se destacado devido a propriedades como alta razão de transferência de massa e resistência mecânica (6,30-32). Esse material tem sido usado tanto para retenção direta do analito na sua superfície (33), como através da imobilização de um reagente que promova a retenção do analito (8,10). Uma outra vantagem é que esse material pode ser exposto a diferentes solventes sem alteração do volume, o que ocorre com frequência com resinas de troca iônica.

Retenção do analito

A retenção do analito na fase sólida pode acontecer devido à interação direta da espécie com a fase sólida (30,34), à retenção de um produto de reação entre o analito e um reagente (6,17,35), ou ainda, à retenção do analito por um reagente previamente imobilizado no suporte sólido (4,21). A aplicação de uma dessas estratégias dependerá da espécie química a ser analisada, da reação envolvida e do suporte sólido empregado.

Como exemplo de um procedimento em que a imobilização prévia de reagente é desnecessária, pode ser citada a determinação simultânea das aminas 2,4-dinitrofenilhidrazina e 4-nitrofenilhidrazina (30). As aminas foram retidas em uma cela contendo C_{18} e espectros de absorção dos analitos foram

obtidos empregando um espectrofotômetro com arranjo linear de diodos. De maneira similar, riboflavina (33) e alcalóides (36) podem ser determinados diretamente após retenção em C_{18} e o fármaco Diclofenac por retenção em Sephadex e medidas de absorvância na região ultravioleta (37).

Quando se trata da determinação de metais por EFS, normalmente torna-se indispensável o uso de reagentes cromogênicos, podendo ser exploradas duas diferentes estratégias. Em alguns casos, o reagente pode ser imobilizado previamente no suporte sólido, sendo a retenção do analito devida a uma reação química que ocorre na própria fase sólida. Em algumas situações é possível a eluição do íon metálico sem a remoção do reagente, permitindo que uma série de medidas seja efetuada sem a necessidade de re-imobilização do reagente. Outras vantagens são a possibilidade de aumento de seletividade e a simplificação do procedimento. Entretanto, podem ocorrer problemas de lixiviação do reagente, dependendo de sua solubilidade no meio. Na segunda situação, a reação entre o analito e o reagente cromogênico ocorre em solução previamente à retenção do produto formado. Essas duas estratégias foram comparadas para a determinação de cobalto com piridoxal-4-feniltiosemicarbazona usando C_{18} como suporte sólido (31). A reação em solução seguida da retenção do produto em C_{18} foi sugerida no protocolo analito por possibilitar melhor sensibilidade para a determinação.

Eluição

A remoção do analito da fase sólida é fundamental nas metodologias que empregam EFS, uma vez que a reversibilidade, a possibilidade de reutilização da fase sólida e a reprodutibilidade do procedimento dependem desta etapa. Em metodologias em fluxo, a eficiência de eluição pode ser monitorada pelo acompanhamento da linha de base. Entretanto, em procedimentos em batelada, o acompanhamento deve ser feito medindo-se a absorvância na fase sólida em mais de um comprimento de onda (o máximo de absorção do produto e outro comprimento de onda no qual a absorção é desprezível).

A remoção do analito é feita, usualmente, submetendo-se a fase sólida à ação de uma solução de um ácido, de um complexante ou um solvente com o qual o produto tenha maior afinidade que com a fase sólida. A eluição pode ocorrer com remoção do produto da reação entre o analito e o reagente ou unicamente do analito, mantendo o reagente imobilizado na fase sólida.

Soluções ácidas têm sido muito utilizadas, especialmente para a eluição de íons metálicos pela decomposição do complexo devido à protonação do reagente. Soluções diluídas de ácido clorídrico foram utilizadas para a remoção dos íons metálicos após formação de complexos com 2-(5-bromo-2-pyridylazo)-5-diethylaminophenol (Br-PADAP) imobilizado em XAD-4 (24) e de TAN imobilizado em C_{18} (8,10,13).

Como exemplo do emprego de soluções de complexantes como eluentes, pode ser citada a determinação de ferro explorando a retenção do complexo formado entre Fe(III) e tiocianato em resina aniônica (38). Uma solução de fluoreto de sódio foi empregada como eluente e a remoção do complexo da fase sólida ocorre tanto pela formação do complexo ferro(III)-fluoreto como pela substituição iônica na resina, devido à alta concentração de fluoreto no eluente. De maneira similar, uma solução de ácido tioglicólico foi empregada como eluente na determinação de cobre usando como fase sólida PAN imobilizado em uma resina de troca iônica (4).

Metanol é um solvente bastante utilizado para eluição em EFS, o que pode ser exemplificado pelo emprego de uma solução 70% (v/v) para remoção dos alcalóides retidos em C_{18} (36). Muitas vezes, misturas de solventes são utilizadas, como o emprego de uma mistura de ácido perclórico e dimetilformamida para regeneração de C_{18} após a retenção dos complexos de cobre e cobalto por reação com piridoxal-4-feniltiosemicarbazida em procedimento para determinação simultânea dos dois metais por EFS derivativa (3).

Em procedimentos em fluxo, várias amostras podem ser seqüencialmente introduzidas no transportador, gerando um registro com diferentes patamares, sendo a introdução do eluente feita periodicamente (15,34). Esse procedimento pode causar efeitos de memória e afetar a faixa resposta linear, dependendo da concentração do analito na amostra e da quantidade de suporte sólido. Por outro lado, em alguns procedimentos, a própria solução eluente é empregada como transportador. A composição dessa solução é cuidadosamente escolhida, de forma a promover a retenção transiente do analito, por um intervalo suficiente apenas para a concentração e medida da espécie (4,30,35). Entretanto, o eluente é usualmente introduzido após cada alíquota de amostra, permitindo evitar os problemas previamente mencionados (6,17,18).

Aplicações da EFS

Procedimentos em batelada

Em procedimentos em batelada, três estratégias podem ser adotadas, dependendo da natureza do analito, do suporte sólido e do reagente imobilizado (39):

- O suporte sólido é adicionado à amostra junto com um reagente cromogênico. Este procedimento pode ser aplicado quando a reação colorimétrica é suficientemente seletiva para o analito e o complexo formado é facilmente sorvido pelo suporte sólido. Empregando essa estratégia, berílio foi determinado por EFS através da retenção do complexo formado com Cromo Azulol S, na presença de EDTA, em Sephadex (16).
- O reagente cromogênico é previamente imobilizado no suporte sólido para então ser adicionado à amostra. Esse procedimento é aplicado quando o analito não pode ser retido diretamente a partir da solução da amostra. O reagente pode ser retido irreversivelmente no suporte sólido e, sendo o complexo formado com

o analito facilmente decomposto, o suporte sólido poderá ser reutilizado para outras medidas. Assim, a determinação de cobre por EFS pode ser realizada através do contato da amostra por 30 min com Zincon imobilizado em resina Dowex 1-X2 (2).

- c) O analito é retido no suporte sólido previamente à adição do reagente cromogênico; procedimento aplicado quando o reagente possui baixa seletividade. Por exemplo, complexos de zinco ou cádmio podem ser concentrados em resina aniônica para posterior formação de complexos com Zincon e 4-(2-piridilazo)resorcinol (PAR), respectivamente.

Alguns exemplos da aplicação de EFS em procedimentos em batelada são apresentados na Tabela 1.

Procedimentos em Fluxo

A análise por injeção em fluxo (FIA) foi inicialmente concebida para análises em solução, permitindo medidas rápidas e reprodutivas em sistemas homogêneos (40,41). Mais recentemente FIA vem sendo utilizado para a manipulação de amostras e reagentes sólidos. Muitos sistemas heterogêneos, incluindo conversão química com reagentes sólidos (41), separação e pré-concentração em fase sólida (42), medidas turbidimétricas (43) e uso de suspensões (44) têm sido eficientemente implementados em sistemas FIA integrando, inclusive, etapas de reação, retenção e detecção (41). Alguns exemplos da aplicação de EFS em procedimentos em fluxo são apresentados na Tabela 2.

No acoplamento da espectrofotometria em fase sólida com sistemas de análise em fluxo (FI-EFS), uma cela de fluxo é preenchida com o suporte sólido e então posicionada no caminho ótico de um espectrofotômetro. A detecção é feita simultaneamente às etapas de retenção e concentração do analito. Vantagens como facilidade de automação, aumento de seletividade, pequeno consumo de reagentes e menor geração de resíduos são evidenciadas por esse acoplamento. Aumento de seletividade também pode ser observado devido às diferenças na cinética de retenção do analito e de outras espécies concomitantes no suporte sólido (8,31,45). Além disso, a associação com sistemas em fluxo permite que medidas reprodutíveis sejam realizadas sem que necessariamente se tenham atingido condições de equilíbrio entre as fases.

Na Figura 3 é mostrado um sinal transiente típico de FI-EFS, obtido em sistemas que exploram a injeção da amostra seguida pela injeção eluente (8,10). Após a passagem do transportador através da cela, estabelecendo a linha base, ocorre a retenção do analito (ou produto da reação entre o analito e um reagente apropriado), promovendo um aumento de sinal. O eluente atinge a cela após a passagem da zona de amostra e remove a espécie concentrada da fase sólida, promovendo o retorno à linha de base. Outra alternativa bastante utilizada é o emprego da solução eluente como transportador da amostra (45).

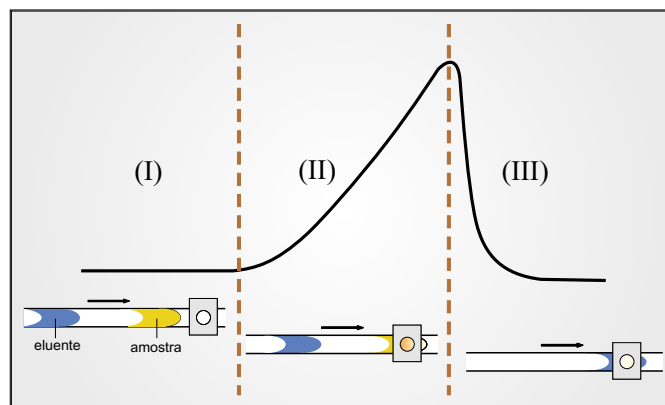


Figura 3. Sinal transiente obtido em FI-EFS com injeção de uma alíquota de amostra seguida pela injeção do eluente: (I) linha base; (II) concentração do analito e (III) eluição

O primeiro uso de detecção em fase sólida acoplada a FIA foi em um procedimento para medidas de pH (27,46), no qual um indicador ácido-base foi imobilizado em celulose e medidas de reflectância foram realizadas usando uma fibra ótica. Várias metodologias são apresentadas na literatura usando FIA e detecção direta em suportes sólidos (5). Yoshimura propôs o uso de um sistema de análises em fluxo para a determinação de traços de cromo(VI) em águas naturais restando o produto da reação entre o Cr(VI) e a difenilcarbazida em uma resina catiônica (15). A EFS foi também acoplada a FIA para determinação de traços de molibdênio(VI) em águas naturais e rochas por retenção do complexo Mo(VI)-Tiron em resina aniônica (18) e para a determinação de estanho em sucos de frutas, concentrando o complexo formado entre o metal e violeta de pirocatecol em uma cela de fluxos contendo Sephadex (17). Outros exemplos são os métodos desenvolvidos para a determinação de zinco, explorando a reação com PAN (47) ou Zincon (48) previamente imobilizados em resina de troca iônica e com TAN imobilizado em C₁₈ (10).

Outras aplicações

Procedimentos utilizando EFS também foram propostos para especiação de metais. O reagente cromogênico Eriocromo Cianina R foi imobilizado em Sephadex para especiação redox de vanádio (20). No procedimento proposto, V(IV) é retido no suporte sólido através de formação de complexo com o reagente imobilizado. Posteriormente, a amostra é posta em contato com a fase sólida após tratamento com ácido ascórbico. Um outro exemplo é a determinação de ferro(II) e ferro(III) baseada na retenção do complexo formado entre Fe(III) e tiocianato em resina aniônica (38). Em um sistema de análise em fluxo, uma alíquota da amostra passa pela cela contendo a fase sólida e o complexo formado é retido. Uma outra alíquota da amostra é processada após atravessar uma coluna oxidante para conversão do Fe(II) a Fe(III), viado a determinação de ferro total.

Alguns procedimentos usando EFS são propostos para determinações simultâneas. Sílica funcionalizada C_{16} foi modificada com 1-nitroso-2-naftol para determinação simultânea de cobalto(II) e níquel(II) usando um sistema de análise em fluxo (49). Em outra aplicação, cobre(II) e cobalto(II) foram determinados simultaneamente através de reação com o reagente piridoxal-4-fenil-3-tiosemicarbazona imobilizado em C_{18} (3). Os espectros de absorção dos complexos formados são sobrepostos, mas a determinação simultânea pode ser feita utilizando-se a primeira derivada. Alumínio e berílio também foram determinados simultaneamente por espectrofotometria derivativa em fase sólida através da retenção dos complexos com Eriocromo cianina R em uma resina aniônica (50).

A associação de métodos de calibração multivariada à EFS permite agregar as vantagens das determinações simultâneas às previamente mencionadas para as medidas em fase sólida. Neste sentido, ferro, níquel e zinco foram determinados simultaneamente utilizando TAN imobilizado em C_{18} , explorando características espectrais e diferenças nas taxas de sorção na fase sólida. Regressão parcial por mínimos quadrados (PLS) foi empregada como ferramenta quimiométrica (51).

A determinação de zinco e níquel em ligas a base de cobre foi efetuada explorando diferenças nas velocidades de reação/retenção dos íons metálicos com um suporte sólido consistindo de TAN imobilizado em C_{18} (8). Nessa aplicação, um sistema de análises em fluxo foi projetado para permitir medidas sequenciais em diferentes vazões (0,85 e 1,9 ml min⁻¹). Enquanto a retenção de zinco é praticamente independente da vazão, a retenção de níquel é consideravelmente afetada em vazões maiores. As equações de calibração obtidas para soluções contendo ambas as espécies nas diferentes vazões permitiram a quantificação dos analitos.

Métodos para determinações indiretas usando EFS também são possíveis (52). Uma estratégia é a retenção de um determinado complexo em fase sólida e a medida do decréscimo de absorvância quando a fase sólida é entra em contato com o analito e o complexo é decomposto. Por outro lado, um dos reagentes que participam da formação do produto adsorvido na fase sólida pode ser determinado indiretamente, como na determinação de ácido ascórbico explorando a redução de ferro(III) em solução e a retenção do complexo com ferrozina em Sephadex (52).

A determinação de ânions através de espectrofotometria em fase sólida também tem encontrado espaço. Reações de diazo-acoplamento foram usadas para determinação de nitrito, com medida direta da absorvância do composto colorido retido em resina aniônica (53). Um outro exemplo é a determinação de sulfeto através da reação com N,N-dimetil-p-fenilenodiamina (DMPD), em meio ácido na presença de Fe(III), formando o azul de metileno. O produto da reação é então retido em C_{18} e as medidas de absorvância são efetuadas em 666nm (54).

Conclusões e tendências futuras

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

A EFS permite atender à necessidade de desenvolvimento de métodos analíticos mais limpos (*Green analytical chemistry*), nos quais a geração de efluentes e o impacto destes sob o meio ambiente são minimizados. Isto pode ser alcançado pelo emprego de reagentes irreversivelmente imobilizados, visando efetuar várias determinações sem a necessidade de re-imobilizar o reagente. Com esse objetivo, é necessário desenvolver novas estratégias para imobilização, além de explorar melhor as estratégias atualmente disponíveis.

A EFS tem sido implementada principalmente empregando espectrofotômetros comerciais, projetados para medidas em solução. Em função disso, surgem algumas limitações como a restrição do caminho óptico de medida e da quantidade de suporte sólido que pode ser empregada. Esses inconvenientes podem ser contornados através da construção de equipamentos dedicados para medidas em fase sólida. Nesse sentido, uma alternativa simples e de baixo custo seria o emprego de diodos emissores de luz e fotodetectores para a medida dos sinais. Como esses dispositivos são compactos e apresentam baixo consumo de energia, a sua associação à EFS pode resultar em equipamentos úteis para medidas em campo, permitindo a determinação *in-sito* de espécies instáveis, além de contornar problemas relacionados à armazenagem e contaminação das amostras.

Estratégias bem estabelecidas para determinações espectrofotométricas simultâneas em solução, incluindo o uso de ferramentas quimiométricas, também podem ser empregadas em EFS, agregando as vantagens desta técnica à determinação de várias espécies simultaneamente. Além disso, características peculiares da EFS, como diferenças nas taxas de retenção dos analitos, podem também ser exploradas. Estas estratégias podem ser adotadas para o desenvolvimento de procedimentos para especificação química, um dos principais anseios da Química analítica atual.

Uma das características mais interessantes do acoplamento de sistemas de análise em fluxo à EFS é a possibilidade de se efetuar medidas simultaneamente à retenção do analito, o que pode ser explorado para a melhoria de seletividade, determinações simultâneas, determinação de parâmetros físico-químicos etc.

Referências

1. Pascual-Reguera MI, Molina-Díaz A, Ramos-Martos N. **Anal. Lett.** 1991, 24, 2245.
2. Yoshimura K, Waki H, Ohashi S. **Talanta** 1976, 23, 449.
3. Vereda E, Rios A, Valcarcel M. **Analyst** 1997, 122, 85.
4. Lázaro F, Luque de Castro MD, Valcárcel M. **Anal. Chim. Acta** 1988, 214 217.
5. Matsuoka S, Yoshimura K, Tateda A. **Anal. Chim. Acta** 1995, 317, 207.
6. Frenzel W, Krekler S. **Anal. Chim. Acta** 1995, 310, 437.
7. Brykina GD, Marchenko DY, Shpigun OA. **J. Anal. Chem.** 1995, 50, 440.
8. Teixeira LSG, Rocha FRP, Korn M, Reis BF, Ferreira SLC, Costa ACS. **Talanta** 2000, 51, 1027.
9. Ortega-Barrales P, Fernández de Córdova ML, Molina Díaz A. **Anal. Chim. Acta** 1998, 70, 271.
10. Teixeira LSG, Rocha FRP, Korn M, Reis BF, Ferreira SLC, Costa ACS. **Anal. Chim. Acta** 1999, 383, 307.
11. Ohzeki, K.; Nukatsuka, I.; Ichimura, K.; Kumagai, F.; Kogawa, M.; *Microchem. J.*, 49, 256.
12. Li R, Jiang ZT, Mao LY, Shen HX. **Anal. Chim. Acta** 1998, 363, 295.
13. Reis BF, Rocha FRP, Teixeira LSG, Costa ACS, Korn M. **Quim. Nova** 2000, 23, 116
14. Yoshimura K. **Anal. Chem.** 1987, 59, 2922.
15. Yoshimura K. **Analyst** 1988, 113, 471.
16. Molina-Díaz A, Ayora-Cañada MJ, Pascual-Reguera MI. **Spectrosc. Lett.** 1998, 31, 503.
17. Capitan-Vallvey LF, Valencia MC, Mirón G. **Anal. Chim. Acta** 1994, 289, 365.
18. Yoshimura K, Matsuoka S, Waki H. **Anal. Chim. Acta** 1989, 225, 313.
19. Molina MF, Nechar M, Bosque-Sendra JM. **Anal. Sci.** 1998, 14, 791.
20. Bosque-Sendra JM, Boudra MCVS. **Fresenius J. Anal. Chem.** 1998, 360, 31.
21. Lázaro F, Luque de Castro MD, Valcárcel M. **Anal. Chim. Acta** 1989, 219, 231.
22. Farag AB, Abbas MN, Al-Assy NB. **Anal. Lett.** 1989, 22, 1765.
23. Safavi A, Abdollahi H. **Anal. Chim. Acta** 1998, 367, 167.
24. Pantaler RP, Timchenko AK, Avramenko LI, Blank AB. **J. Anal. Chem.** 1997, 52, 384.
25. Oehme I, Wolfbeis OS. **Mikrochim. Acta** 1997, 126, 177.
26. Valcárcel M, Luque de Castro MD. **Anal. Chim. Acta** 1991, 250, 157.
27. Ruzicka J, Christian GD. **Anal. Chim Acta** 1990, 234, 31.
28. Savvin SB, Dzherayan TG, Petrova TV, Mikhailova AV. **J. Anal. Chem.** 1997, 52, 136.
29. Pantaler RP, Lebeb' NB, Avramenko LI, Blank AB. **J. Anal. Chem.** 1997, 52, 643.
30. Fernández-Band B, Lázaro F, Luque de Castro MD, Valcárcel M. **Anal. Chim. Acta** 1990, 229, 177.
31. Alonso EV, Pavon JMC, Rios A, Valcarcel M. **Talanta** 1996, 43, 1941.
32. Fernández-Band B, Linares P, Luque de Castro MD, Valcárcel M. **Anal. Chim. Acta** 1991, 63, 1672.
33. Gong Z, Zhang Z. **Anal. Chim. Acta** 1997, 339, 161.
34. Yoshimura K. **Anal. Chem.** 1987, 59, 2922.
35. Linares P, Luque de Castro MD, Valcárcel M. **Anal. Chim. Acta** 1990, 230, 199.
36. Gong Z, Zhang Z, Yang X. **Analyst** 1997, 122, 283.
37. Fernández de Córdova ML, Barrales PO, Molina Díaz A. **Anal. Chim. Acta** 1998, 369, 263.
38. Lopes da Conceição AC, Tena MT, Correia dos Santos MM, Simões Gonçalves ML. **Anal. Chim. Acta** 1997, 343, 191.
39. Yoshimura K, Waki H. **Talanta** 1985, 32, 345.
40. Ruzicka J, Hansen EH. *Flow Injection Analysis*; Wiley, New York, 1988.
41. Ruzicka J, Hansen EH. **Anal. Chim. Acta** 1988, 214, 1.
42. Fang Z. *Flow Injection Separation and Preconcentration*, VCH, Weinheim, 1993.
43. Brienza SMB, Krug FJ, Gomes Neto JA, Nogueira ARA, Zagatto EAG. **J. Flow Injection Anal.** 1993, 10, 187.
44. Martínez-Avila R, Carbonell V, Salvador A, de la Guardia M. **Talanta** 1993, 40, 107.
45. Valcárcel M, Luque de Castro MD. **Analyst** 1990, 115, 699.
46. Ruzicka J, Hansen EH. **Anal. Chim Acta** 1985, 173, 3.
47. Ayora-Cañada MJ, Pascual-Reguera MI, Molina-Díaz A. **Anal. Chim. Acta** 1998, 375, 375.
48. Ren-Min L, Liu DJ, Sun AL. **Talanta** 1993, 40, 381.
49. Maksimova IM, Morosanova EI. **J. Anal. Chem.** 1994, 49, 543.
50. Valencia MC, Boudra S, Bosque-Sendra JM. **Anal. Chim. Acta** 1996, 327, 73.
51. Teixeira LSG, Costa ACS, Garrigues S, de la Guardia M. **J.Braz. Chem. Soc.** 2002, 13, 54.
52. Barrales PO, Fernández de Córdova ML, Molina Díaz A. **Anal. Chim. Acta** 1998, 360, 143.
53. Marchenko DY, Brykina GD, Shpigun OA. **J. Anal. Chem.** 1997, 52, 136.
54. Cassella RJ, Teixeira LSG, Garrigues S, Costa ACS, de la Guardia M. **Analyst** 2000, 125, 1835.



Hoje o seu tempo é precioso...

Economize-o na procura de:

-Equipamentos analíticos

-Produtos químicos

-Produtos descartáveis

-Mobiliário para laboratório



www.mk8analitica.com.br
mk8@mk8analitica.com.br
Tels: 11-3721-2338 / 3722-4925
Fax: 11-3722-5003