

DESENVOLVIMENTO DE UM SISTEMA DE ANÁLISE POR INJEÇÃO EM FLUXO UTILIZANDO MATERIAIS ALTERNATIVOS DE BAIXO CUSTO PARA FINS DIDÁTICOS**Bruna C. S. Moreira^a, Regina M. Takeuchi^b, Eduardo M. Richter^b e André L. Santos^{a,*}**^aFaculdade de Ciências Integradas do Pontal, Universidade Federal de Uberlândia, 38304-402 Ituiutaba – MG, Brasil^bInstituto de Química, Universidade Federal de Uberlândia, 38400-902 Uberlândia – MG, Brasil

Recebido em 13/03/2014; aceito em 30/04/2014; publicado na web em 15/07/2014

DEVELOPMENT OF A FLOW INJECTION ANALYSIS SYSTEM EMPLOYING ALTERNATIVE AND LOW-COST MATERIALS FOR DIDACTIC PURPOSES. This work describes a simple and inexpensive flow injection analysis system in which gravity force provides fluid propulsion while needles for insulin administration or metallic wires act as electrodes for amperometric detection. The proposed system was able to demonstrate the influence of several operational parameters on the transient signals. Moreover, this system was successfully used to evaluate both the stoichiometry of Cu²⁺-EDTA complex and the effect of pH on the kinetics of the reaction between ferricyanide and ascorbic acid. Therefore, the proposed system can be regarded as an efficient and accessible didactic tool for the teaching of FIA principles.

Keywords: amperometric detection; didactic experiments; flow injection analysis.

INTRODUÇÃO

Os sistemas de Análise por Injeção em Fluxo (FIA) representam um grande avanço na área da química analítica, o qual contou com forte colaboração brasileira.¹ As características atrativas dos sistemas FIA são várias, dentre as quais pode-se destacar a automação de quase todo o procedimento analítico, o que minimiza tanto a intervenção do analista no processo, quanto a possibilidade de que este se contamine com substâncias químicas tóxicas. Assim, a automação aumenta a repetitividade das medidas, além de tornar a análise mais segura. Vantagens adicionais dos sistemas FIA incluem: minimização do consumo de amostra e de reagentes e, portanto, diminuição da quantidade de resíduos químicos gerados, aumento da frequência de amostragem e versatilidade. Graças a estas características vantajosas, um número grande de trabalhos que empregam sistemas FIA pode ser encontrado na literatura.²⁻⁹

Apesar do sucesso dos sistemas FIA na pesquisa científica e no desenvolvimento de métodos analíticos de rotina, existem poucos experimentos didáticos sobre FIA descritos em português na literatura,¹⁰⁻¹² o que dificulta que este tema seja abordado nos Cursos de Graduação em Química. Além de auxiliar no ensino de química analítica, os sistemas FIA apresentam grande potencialidade para a determinação de diversos parâmetros físico-químicos, tais como: viscosidade, coeficientes de difusão, parâmetros cinéticos, estequiometria de reações, etc.^{10,13} Desta forma, os sistemas FIA são capazes de contribuir para que o estudante compreenda que a química não é rigidamente compartimentada em áreas específicas e independentes, demonstrando que a resolução de problemas químicos do cotidiano requer a utilização unificada e associada dos conceitos vistos nas diversas áreas da química.¹¹ Estas características tornam os sistemas FIA uma importante ferramenta didática, capaz de contribuir para que os estudantes tenham formação abrangente e multidisciplinar, sendo, portanto, altamente desejável que tais sistemas sejam abordados nos cursos de Graduação em Química.

Dentre as dificuldades encontradas na realização de experimentos didáticos sobre FIA está o custo das bombas peristálticas (normalmente não disponíveis em laboratórios didáticos), que são o principal

meio empregado para executar a propulsão dos fluidos carregadores. Sistemas propulsores alternativos e de menor custo têm sido propostos na literatura, dentre os quais destacam-se: minicompressores de ar de diafragma (bombas de aquário)¹⁴ combinados com controle de vazão promovido pela pressão de uma coluna d'água¹⁵ e a propulsão por ação da gravidade.¹⁶ Esta última apresenta como vantagens o custo extremamente baixo e grande simplicidade operacional, porém, apresenta limitações no controle preciso da vazão, principalmente em alterações na mesma durante o experimento. Estas características tornam a propulsão por gravidade muito apropriada para aplicações didáticas, as quais geralmente não exigem um controle rigoroso das vazões.

Dentre os sistemas de detecção disponíveis para sistemas FIA, a detecção eletroquímica, principalmente a amperométrica, pode ser facilmente empregada, uma vez que células eletroquímicas miniaturizadas e adaptadas para receber os fluidos do sistema FIA podem ser construídas com relativa facilidade.^{17,18} Além disso, a detecção amperométrica apresenta elevada sensibilidade associada a um custo instrumental relativamente baixo. A literatura apresenta um artigo de revisão em português sobre a detecção amperométrica na modalidade de múltiplos pulsos,¹⁹ além de diversos exemplos de aplicações da detecção amperométrica em sistemas FIA.^{18,20-24} A propulsão por ação da gravidade é especialmente atrativa quando a detecção amperométrica é usada, pois este tipo de propulsão é isento de pulsações. Na detecção amperométrica, a resposta do detector é sensível à vazão, assim, uma propulsão pulsada aumenta o nível de ruído da linha base, comprometendo a repetitividade e aumentando consideravelmente o limite de detecção do método.¹⁴

Neste contexto, o objetivo deste trabalho é apresentar um sistema FIA com detecção amperométrica preparado com materiais alternativos e de baixo custo que possa ser facilmente construído e utilizado, principalmente em Universidades em processo de consolidação e com limitações de recursos. No sistema proposto, a propulsão dos fluidos é realizada por ação da gravidade e a célula eletroquímica é composta por agulhas em aço inoxidável ou fios metálicos que transpassam um tubo de PVC/silicone colocado ao final do percurso analítico. Essa configuração de célula eletroquímica é extremamente simples e de baixíssimo custo, além de ser praticamente isenta de vazamentos.

*e-mail: alsantos@pontal.ufu.br

PARTE EXPERIMENTAL

Soluções, reagentes e instrumentação

Todos os reagentes empregados neste trabalho foram de grau analítico (mínimo de 99% de pureza), sendo utilizados sem qualquer procedimento de purificação. Todas as soluções aquosas foram preparadas com água deionizada (resistividade maior que 18 MΩ cm). O pH das soluções foi ajustado com HCl 6 mol L⁻¹ ou NaOH 6 mol L⁻¹ de acordo com valor desejado. As medidas de pH foram efetuadas em um pHmetro de bancada marca HANNA modelo HI 3221 conectado a um eletrodo combinado de vidro. A detecção amperométrica foi realizada empregando-se um potenciostato/galvanostato da marca Autolab modelo µAutolab III, acoplado a um microcomputador e gerenciado pelo software GPES 4.9.

Descrição do sistema FIA em linha única

Tubos de Teflon® com diâmetro interno de 0,8 mm foram empregados para confeccionar as alças de amostragem e percursos analíticos, entretanto, todos os experimentos descritos neste trabalho também podem ser realizados com tubos de polietileno em substituição aos de Teflon®. O sistema de propulsão consistiu em um frasco hospitalar para nutrição enteral com capacidade para 300 mL, o qual foi mantido suspenso em um suporte universal. Este sistema apresenta duas alternativas para ajuste da vazão dos fluidos: o ajuste da altura do frasco no suporte universal (ajuste fino) e a abertura ou fechamento da pinça de rolete (ajuste grosso). Uma abertura na parte superior do frasco foi improvisada para que o sistema pudesse ser reabastecido com o transportador sem a necessidade de desmontar o sistema. Assim, pôde-se manter o volume dentro do recipiente praticamente constante durante as medidas (vazão constante), adicionando-se mais solução sempre que necessário. A vazão do sistema foi determinada passando-se o transportador por toda a tubulação, incluindo a alça de amostragem. Após a passagem do transportador pelo sistema de detecção, este foi coletado em uma proveta pelo período de 1 min, portanto, o volume de solução coletado na proveta fornece a vazão.

A injeção das soluções amostras ou padrões dos analitos foi realizada por meio de um injetor comutador manual confeccionado em acrílico, o qual foi desenvolvido pelo Centro de Energia Nuclear na Agricultura da Universidade de São Paulo (CENA-USP).²⁵ Uma seringa foi empregada para o preenchimento da alça de amostragem.

A célula eletroquímica extremamente simples utilizada na detecção amperométrica é constituída por três agulhas em aço inoxidável, normalmente utilizadas na administração de insulina. As agulhas transpassam um tubo a base de silicone, normalmente utilizado na administração intravenosa de soro ou medicamentos, e atuam como eletrodo de trabalho, pseudo-referência e contra-eletrodo. O tubo a base de silicone contendo as agulhas é, então, encaixado no tubo de Teflon® do final do percurso analítico. Os eletrodos foram dispostos de modo que a primeira agulha que o transportador ou zona da amostra entre em contato seja o eletrodo de trabalho. Isso foi necessário para evitar que a perturbação gerada pela passagem das soluções pelas agulhas ou os produtos de reação gerados no pseudo-referência ou contra-eletrodo prejudicasse a repetitividade das medidas. É importante ressaltar que a elasticidade do tubo a base de silicone praticamente fecha os furos causados pela introdução das agulhas, o que evita vazamentos. Entretanto, pequenos vazamentos, quando verificados, foram facilmente estancados com graxa de silicone, pois a pressão interna nesta região final do sistema FIA é muito pequena. A Figura 1S apresenta uma imagem geral do sistema em linha única proposto e a Figura 2S apresenta uma imagem com os detalhes da célula eletroquímica empregada neste sistema.

O sistema em linha única descrito foi utilizado para demonstrar o efeito dos diversos parâmetros operacionais de um sistema FIA sobre os sinais transientes. Foram avaliados os efeitos do potencial de detecção ($E_{\text{detecção}}$), da vazão e dos comprimentos da alça de amostragem (volume da amostra) e do percurso analítico. Nestes estudos, uma solução de KCl 0,1 mol L⁻¹ foi empregada como transportador e, como analito modelo, empregou-se uma solução de $[\text{Fe}(\text{CN})_6]^{4-}$ 1,0 mmol L⁻¹ preparada em KCl 0,1 mol L⁻¹. O sistema em linha única também foi empregado para se determinar a estequiometria do complexo de Cu²⁺ com o ácido etilendiamintetracético (EDTA) pelo método das razões molares. Para isso, foram preparadas misturas contendo Cu²⁺ e EDTA em diferentes razões molares em tampão acetato 0,1 mol L⁻¹ (pH = 4,75), sendo este tampão empregado também como transportador. Neste estudo, a concentração de Cu²⁺ foi mantida constante e igual a 10 mmol L⁻¹, enquanto a concentração de EDTA foi sistematicamente aumentada.

Descrição do sistema FIA na configuração de zonas coalescentes

Um sistema FIA na configuração de zonas coalescentes foi montado empregando-se praticamente os mesmos materiais utilizados no sistema em linha única. Nesta configuração, uma torneira de 3 vias de aplicação hospitalar para a administração combinada de medicamentos foi inserida antes do injetor comutador. Esta torneira, portanto, promove a divisão do fluxo para as duas alças de amostragem. Após o injetor comutador, foi inserida uma confluência em acrílico que promove a mistura dos fluidos provenientes das duas alças de amostragem. A Figura 3S apresenta uma imagem do sistema FIA na configuração de zonas coalescentes usada nos estudos propostos. Esta configuração foi empregada no estudo qualitativo do efeito da acidez e do comprimento do percurso analítico sobre a reação entre o $[\text{Fe}(\text{CN})_6]^{3-}$ e ácido ascórbico. Esta reação foi estudada em dois valores de pH: 4 e 6. Para isso, soluções de $[\text{Fe}(\text{CN})_6]^{3-}$ e ácido ascórbico foram preparadas em tampão Britton-Robinson (B.R.), cujo pH foi ajustado em 4 ou em 6, sendo estes tampões empregados também como transportador.

É importante enfatizar que esta configuração de zonas coalescentes com propulsão por ação da gravidade só pode ser utilizada quando são empregadas alças de amostragem idênticas. Isso é necessário para que a impedância hidrodinâmica dos dois canais seja sempre a mesma, garantindo que a vazão do transportador seja dividida igualmente entre as duas alças de amostragem. Desta forma, as duas zonas da amostra são introduzidas no percurso analítico com a mesma vazão, garantindo que sejam uniformemente misturadas. Nesta configuração, foram sempre utilizadas alças de amostragem constituídas de um tubo de Teflon® de 20 cm de comprimento com 0,8 mm de diâmetro interno.

RESULTADOS E DISCUSSÃO

Parâmetros operacionais do sistema FIA em linha única

Para que tenha utilidade didática, o sistema FIA em linha única proposto deve permitir que o estudante visualize e entenda a influência dos diversos parâmetros operacionais de um sistema FIA sobre os sinais transientes obtidos. Assim, os estudos descritos nesta seção envolvem a variação sistemática de alguns parâmetros, utilizando-se o ânion $[\text{Fe}(\text{CN})_6]^{4-}$ como analito modelo, uma vez que o comportamento eletroquímico desta espécie é bem estabelecido. Os estudantes podem obter informações adicionais sobre estes parâmetros, bem como sobre os fundamentos de FIA, consultando o trabalho publicado por Ruzicka e Hansen,¹³ ou alguns trabalhos em português sobre classificação e definições empregadas em análises em fluxo.^{26,27}

O primeiro parâmetro avaliado foi o potencial de detecção, sendo este avaliado no intervalo de 0,3 a 0,8 V. Os sinais transientes obtidos neste estudo são apresentados na Figura 4S. Foi verificado que o $[\text{Fe}(\text{CN})_6]^{4-}$ se oxida e, portanto, fornece sinais transientes em todos os potenciais estudados. Observou-se, no entanto, que para potenciais mais positivos que 0,6 V houve uma gradativa perda de sinal para injeções consecutivas, o que sugere que a agulha utilizada como eletrodo de trabalho esteja sofrendo passivação nestes potenciais. Apesar da agulha usada ser de aço inoxidável, é possível que ao ser continuamente submetida a um potencial positivo, esta se oxide, gerando camadas de óxidos metálicos que dificultam a transferência eletrônica levando à sua passivação. Com o objetivo de contornar este problema, optou-se por utilizar a técnica de amperometria pulsada com a aplicação de dois pulsos de potencial (alternadamente) durante todo o experimento: +0,4 V durante 50 ms (potencial de detecção) e -0,6 V durante 50 ms (potencial de regeneração). A Figura 5S apresenta uma comparação entre os sinais transientes obtidos com potencial de detecção de +0,4 V com e sem o pulso de regeneração em -0,6 V. Pode-se observar que a aplicação de -0,6 V como potencial de regeneração não só melhorou a repetitividade como também aumentou a corrente de oxidação detectada em +0,4V. Isso pode ser atribuído a dois fatores: a constante reativação da agulha no potencial de regeneração e a reoxidação do $[\text{Fe}(\text{CN})_6]^{4-}$ gerado em -0,6 V (conversão de $[\text{Fe}(\text{CN})_6]^{3-}$ gerado em +0,4 V em $[\text{Fe}(\text{CN})_6]^{4-}$), que se soma à oxidação do $[\text{Fe}(\text{CN})_6]^{4-}$ que chega ao detector junto com o transportador. O potencial de regeneração atua, portanto, removendo eletroquimicamente a camada passivadora de óxidos durante o experimento e aumentando a quantidade de $[\text{Fe}(\text{CN})_6]^{4-}$ sendo oxidado. Na Figura 6S são mostrados os sinais transientes registrados no potencial de detecção e no potencial de regeneração, sendo possível observar que neste último (-0,6 V), uma quantidade adicional de $[\text{Fe}(\text{CN})_6]^{4-}$ é formada. Diante destes resultados, os estudos subsequentes foram realizados empregando-se a amperometria pulsada com potencial de detecção de +0,4 V por 50 ms e potencial de regeneração de -0,6 V por 50 ms. É importante salientar que poucos potenciostatos comerciais permitem a aquisição de corrente em dois potenciais diferentes no mesmo experimento usando amperometria, conforme apresentado na Figura 6S. No entanto, segundo nosso conhecimento, a maioria dos potenciostatos comerciais disponibiliza a técnica de amperometria pulsada em seus respectivos programas de controle e aquisição de dados. Esta técnica normalmente permite a aplicação de dois ou mais pulsos de potenciais, mas a aquisição de corrente é possível em somente um deles. Assim, salvo engano, a constante reativação do eletrodo de aço inox é possível de ser implementado em todos os potenciostatos comerciais disponíveis no mercado. A aquisição da corrente gerada no pulso de potencial de reativação (Figura 6S) é que não é possível em alguns destes equipamentos, mas isto não impede a realização do experimento.

O efeito da vazão foi estudado no intervalo de 1 a 8 mL min^{-1} , sendo esta a vazão máxima fornecida pelo sistema proposto. Os resultados obtidos neste estudo são apresentados na Figura 1.

Os sinais transientes mostrados na Figura 1 apresentam um comportamento típico, com um aumento na corrente detectada em função do aumento na vazão, acompanhado por um estreitamento dos picos. Isso é consequência da menor dispersão da zona da amostra em vazões maiores devido ao menor tempo de permanência no percurso analítico.¹³ Verifica-se um aumento na corrente até a vazão de 3 mL min^{-1} e, a partir deste valor, os sinais tendem a se estabilizar, sugerindo que a dispersão atingiu seu mínimo. Por se tratar de detecção amperométrica (conversão do analito na interface eletrodo/solução), um fenômeno adicional deve ser considerado, que é o aumento na corrente detectada em função do aumento na taxa de transporte de massa (com o aumento da vazão) por unidade de tempo para a superfície do eletrodo. Portanto, na detecção amperométrica, a diminuição

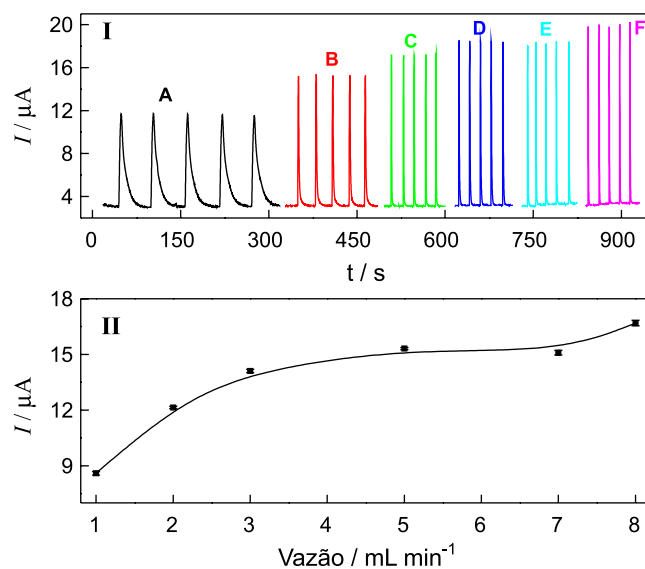


Figura 1. (I) Sinais transientes obtidos para injeções de uma solução de $[\text{Fe}(\text{CN})_6]^{4-}$ 1,0 mmol L^{-1} em diferentes vazões. Transportador: KCl 0,1 mol L^{-1} . Volume de amostra: 50 μL . Percurso analítico: 10 cm. $E_{\text{detecção}} = +0,4 \text{ V}/50 \text{ ms}$ e $E_{\text{regeneração}} = -0,6 \text{ V}/50 \text{ ms}$. Vazões: (A) 1; (B) 2; (C) 3; (D) 5; (E) 7 e (F) 8 mL min^{-1} . (II) Variação da corrente em função da vazão

da dispersão e o aumento na taxa de reposição por convecção são fenômenos que ocorrem simultaneamente e, portanto, ambos devem ser considerados. Em detectores espectroscópicos (espectrofotometria e fluorescência, por exemplo) ou mesmo condutométricos, apenas o fenômeno de dispersão é verificado, pois não ocorre consumo ou conversão do analito em outra espécie no detector. Nos estudos posteriores, a vazão de 3 mL min^{-1} foi empregada.

Para o estudo do efeito do volume de amostra injetado, variou-se o comprimento da alça de amostragem, sendo avaliados os seguintes volumes de amostra: 25; 50; 100; 150; 200 e 750 μL . Os sinais transientes obtidos neste estudo são apresentados na Figura 2.

A Figura 2 também mostra um comportamento típico, o aumento do sinal e um alargamento dos picos com o aumento do volume da amostra, o que é consequência da menor dispersão sofrida pela zona central da amostra quando maiores volumes são injetados.¹³ A

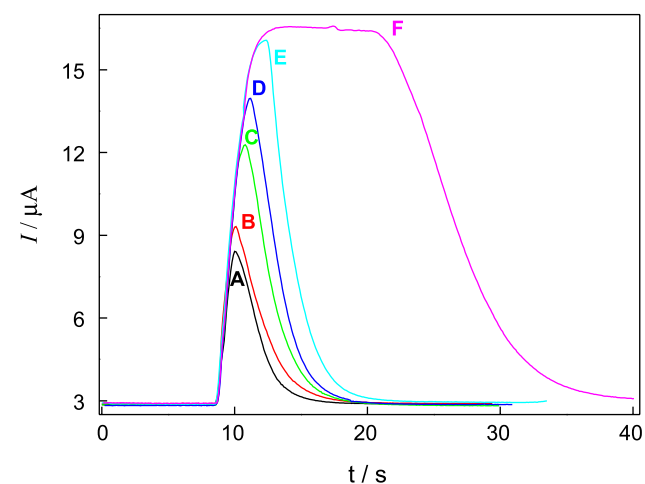


Figura 2. Sinais transientes obtidos para injeções de uma solução de $[\text{Fe}(\text{CN})_6]^{4-}$ 1,0 mmol L^{-1} com diferentes alças de amostragem. Transportador: KCl 0,1 mol L^{-1} . Vazão: 3,0 mL min^{-1} . Percurso analítico: 40 cm. $E_{\text{detecção}} = +0,4 \text{ V}/50 \text{ ms}$ e $E_{\text{regeneração}} = -0,6 \text{ V}/50 \text{ ms}$. Volume de amostra: (A) 25; (B) 50; (C) 110; (D) 150; (E) 200 e (F) 750 μL

dispersão da zona da amostra é determinada basicamente por dois fatores: a convecção devido ao movimento em direção ao detector e a difusão.^{13,28} Estes dois fatores são mais efetivos nas fronteiras entre a zona da amostra e o transportador. Aumentando-se o volume da amostra, aumenta-se a porção central da zona da amostra, região na qual os fatores responsáveis pela dispersão são menos efetivos, portanto, a dispersão é diminuída com o aumento do volume de amostra injetado.^{13,28}

Para o volume injetado de 750 μL , observou-se a formação de um patamar no sinal transiente, indicando uma situação próxima a condição de volume infinito, ou seja, situação na qual não há dispersão.¹³ O grau de dispersão para os diferentes volumes de amostra injetados foi avaliado através do coeficiente de dispersão (D), o qual pode ser calculado pela razão entre a corrente em condições de volume infinito (volume injetado de 750 μL) e a corrente obtida com os demais volumes de amostra injetados. A Tabela 1 apresenta os valores de D calculados para os diferentes volumes injetados (V_{injetado}), os quais podem ser estimados pela equação: $V_{\text{injetado}} = \pi r^2 l$, onde r é o raio interno e l é comprimento da alça de amostragem.

Tabela 1. Valores de alguns parâmetros do sistema FIA obtidos com diferentes volumes de amostra injetados

L/cm	$V_{\text{injetado}}/\mu\text{L}$	D	T_R^a/s	T_W^b/s	f^c
5	25	2,4	4,5	8,0	450
10	50	2,2	5,0	9,6	375
20	100	1,4	6,0	9,9	363
30	150	1,2	7,0	10,1	356
40	200	1,0	8,0	10,7	336
150	750	-----	-----	-----	-----

^aValores calculados pela equação: $T_R = \pi r^2 l / Q$. ^bValores determinados experimentalmente considerando 1% de "carryover". ^cDeterminações por hora. T_R = tempo de residência médio; T_W = tempo de limpeza; f = frequência de amostragem.

Os resultados apresentados na Tabela 1, mostram que, para os volumes de amostra avaliados, os valores de D encontram-se entre 1 e 3, indicando que o sistema está sempre sob condições de dispersão limitada.¹³ Para um sistema em linha única, a condição de dispersão limitada é frequentemente desejável, pois fornece elevada sensibilidade. Na Tabela 1 também são apresentados os valores do tempo de residência médio (T_R), o qual é definido como o tempo entre a injeção e a obtenção do máximo do sinal transiente e do tempo de limpeza (T_W), o qual é definido como o tempo para o sinal retornar do máximo ao valor da linha base ou diminuir a uma porcentagem pré-definida do sinal máximo (porcentagem de "carryover"). T_R pode ser determinado experimentalmente, marcando-se o tempo da injeção ou, alternativamente, pode ser estimado a partir da seguinte equação: $T_R = \pi r^2 l / Q$,¹³ onde l corresponde à soma do comprimento do percurso analítico e da alça de amostragem e Q é a vazão do sistema. Finalmente, a Tabela 1 apresenta ainda a frequência de amostragem (f), que pode ser estimada a partir da equação: $f = 1/T_W$. f é estimado em termos de T_W e não da soma ($T_R + T_W$), pois os sistemas FIA são capazes de realizar o processamento simultâneo de amostras. Assim, o percurso analítico pode estar ocupado por mais do que uma zona da amostra, ou seja, não é necessário esperar que o sinal retorne à linha base para que uma nova injeção seja efetuada. Os resultados apresentados na Tabela 1 são coerentes e mostram um aumento de T_R e T_W e, portanto, uma diminuição de f com o aumento do volume de amostra injetado. Assim, um aumento no volume injetado aumenta a sensibilidade, porém, este aumento é acompanhado por uma diminuição de f , além de um aumento no consumo de amostras.

O comprimento do percurso analítico foi avaliado entre 10 e 40 cm. Os resultados obtidos também foram coerentes, sendo observado um aumento no T_R , além de um alargamento e uma diminuição na intensidade dos sinais transientes em função do aumento no comprimento do percurso analítico (Figura 7S). Esse comportamento deve-se à maior dispersão que ocorreu com a zona da amostra para percursos analíticos maiores (aumento no T_R).¹³

A influência da concentração de $[\text{Fe}(\text{CN})_6]^{4-}$ foi estudada no intervalo de 0,1 a 1 mmol L^{-1} , sendo os sinais transientes obtidos neste estudo apresentados na Figura 3.

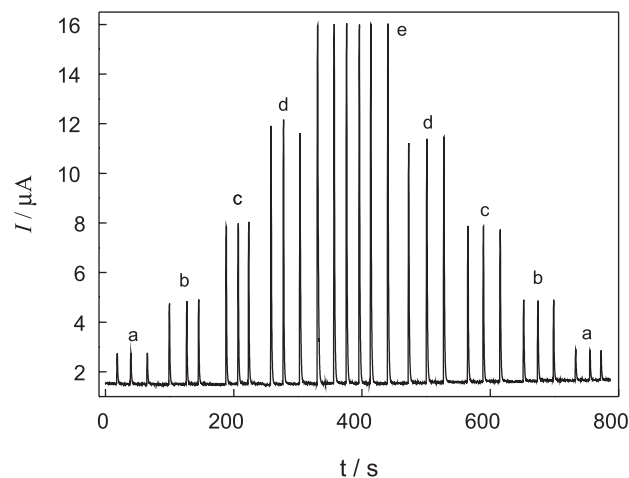


Figura 3. Sinais transientes obtidos para injeções de soluções de $[\text{Fe}(\text{CN})_6]^{4-}$ em diferentes concentrações. Transportador: KCl 0,1 mol L^{-1} . Vazão: 3,0 mL min^{-1} . Volume de amostra: 50 μL . Percurso analítico: 10 cm. $E_{\text{detecção}} = +0,4 \text{ V}/50 \text{ ms}$ e $E_{\text{regeneração}} = -0,6 \text{ V}/50 \text{ ms}$. (a) 0,10; (b) 0,25; (c) 0,50; (d) 0,75 e (e) 1,0 mmol L^{-1}

As soluções padrão contendo $[\text{Fe}(\text{CN})_6]^{4-}$ foram injetadas em ordem crescente e decrescente de concentração. Tanto nas injeções das soluções em ordem crescente quanto decrescente foram observadas respostas lineares entre a corrente de oxidação e concentração de $[\text{Fe}(\text{CN})_6]^{4-}$, ($R > 0,99$). Neste estudo, as seguintes equações de reta foram obtidas:

$$I (\mu\text{A}) = -0,41 + 14,61 C (\text{mmol L}^{-1}) - \text{ordem crescente}$$

$$I (\mu\text{A}) = -0,49 + 14,44 C (\text{mmol L}^{-1}) - \text{ordem decrescente}$$

Desta forma, verificou-se que o sistema proposto permite que os efeitos dos principais parâmetros operacionais de um sistema FIA sejam estudados. Entretanto, é preciso mencionar que, do ponto de vista de eletroquímica fundamental, o sistema proposto apresenta algumas limitações. A primeira delas está relacionada ao fato do eletrodo de pseudo-referência estar localizado entre os dois outros eletrodos, o que o expõe ao efeito das linhas de campo que surgem devido ao fluxo de corrente entre o eletrodo de trabalho e o contra-eletrodo. Nestas condições podem haver distorções e uma distribuição de potencial ao longo da agulha que atua como pseudo-referência.²⁹ Além disso, um potencial é gerado no eletrodo de pseudo-referência devido ao par $[\text{Fe}(\text{CN})_6]^{3-}/[\text{Fe}(\text{CN})_6]^{4-}$, sendo este potencial dependente das concentrações relativas da forma oxidada e reduzida deste par redox. Portanto, a célula eletroquímica utilizada neste trabalho não permite um controle eficiente do potencial do eletrodo de trabalho, pois o potencial do eletrodo de pseudo-referência poderá não permanecer exatamente constante. No entanto, resultados satisfatórios foram obtidos com a célula eletroquímica proposta, pois nos potenciais de detecção escolhidos, a corrente estava no seu valor limite e, portanto, pequenas variações no potencial não geram variação na corrente

detectada. É imprescindível que estas limitações sejam apresentadas e discutidas com os estudantes para que estes entendam que a célula eletroquímica proposta fornecerá resultados satisfatórios apenas em condições experimentais específicas e que, portanto, seu uso não deve ser estendido para estudos fundamentais em eletroquímica ou em eletroanalítica.

Determinação da estequiometria do complexo Cu-EDTA

Visando avaliar a versatilidade do sistema FIA proposto e explorar ao máximo suas aplicações didáticas, o sistema proposto também foi empregado para determinar a estequiometria do complexo formado entre o Cu^{2+} e o EDTA. O Cu^{2+} na sua forma livre pode ser reduzido a cobre metálico na superfície do eletrodo, gerando uma corrente de redução. Por outro lado, a formação do complexo Cu^{2+} -EDTA estabiliza o Cu^{2+} , fazendo com que a redução deste ao estado metálico ocorra em potenciais muito mais negativos. Desta forma, escolhendo-se um potencial de detecção no qual apenas o Cu^{2+} livre seja reduzido, deve-se observar uma diminuição linear do sinal amperométrico à medida que a razão molar EDTA/ Cu^{2+} aumenta. Este decréscimo do sinal deve ser observado até a razão molar correspondente à estequiometria do complexo, situação na qual a corrente tende a zero, pois todo o Cu^{2+} estará complexado. A variação da corrente de redução do Cu^{2+} em função da razão molar EDTA/ Cu^{2+} é apresentada na Figura 4.

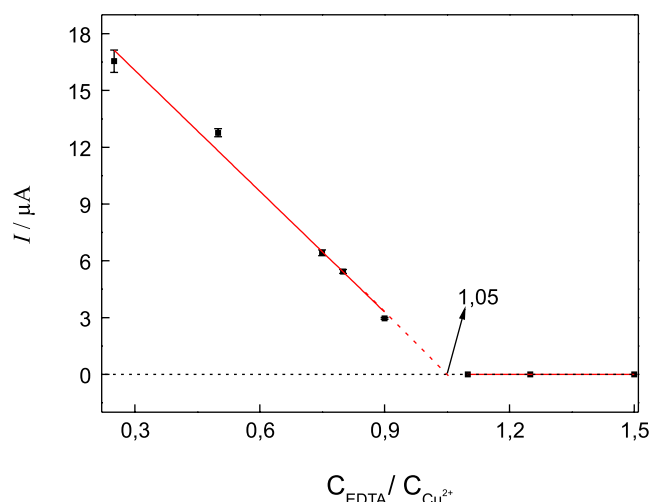


Figura 4. Variação do sinal amperométrico em função da razão molar EDTA/ Cu^{2+} . Transportador: tampão acetato $0,1 \text{ mol L}^{-1}$. Vazão: $3,0 \text{ mL min}^{-1}$. Volume de amostra: $25 \mu\text{L}$. Percurso analítico: 10 cm . $E_{\text{detecção}} = -0,7 \text{ V/50ms}$ e $E_{\text{regeneração}} = +0,2 \text{ V/50ms}$. Concentração de Cu^{2+} mantida constante em 10 mmol L^{-1}

Verificou-se um decréscimo linear da corrente com a razão molar EDTA/ Cu^{2+} de acordo com a equação: $I (\mu\text{A}) = 22,4 - 21,3 C_{\text{EDTA}} / C_{\text{Cu}^{2+}}$, $R = 0,9860$. Segundo esta equação, o ponto no qual a corrente é igual a zero corresponde a uma razão molar de 1,05, a qual é concordante com a relação estequiométrica teórica do complexo Cu^{2+} -EDTA (1:1). Este mesmo experimento foi previamente explorado para fins didáticos por Rocha *et al.*,¹⁰ empregando um sistema FIA com detecção espectrofotométrica, o qual também forneceu resultados concordantes com a estequiometria do complexo Cu^{2+} -EDTA. Assim, ambos os sistemas propostos mostraram-se apropriados para o estudo da estequiometria deste complexo.

Sistema FIA com zonas coalescentes

O sistema mostrado na Figura 3S (zonas coalescentes) foi empregado no estudo qualitativo do efeito da acidez e do percurso analítico

sobre a redução do íon $[\text{Fe}(\text{CN})_6]^{3-}$ pelo ácido ascórbico (Figura 8S). Na configuração de zonas coalescentes, o fluxo é dividido antes de chegar ao injetor-comutador e passa por duas alças de amostragem. Cada uma dessas alças é preenchida com uma solução reagente e estas se misturam após o injetor comutador através de uma confluência que une novamente ambos os fluxos. Assim, os reagentes são injetados simultaneamente e a reação química ocorre no percurso analítico. Quanto maior o comprimento deste, maior será o tempo de reação, e, portanto, maior será a quantidade de reagentes consumidos e de produtos formados.

A equação global da reação entre o íon $[\text{Fe}(\text{CN})_6]^{3-}$ e o ácido ascórbico (Figura 8S) mostra que esta reação é termodinamicamente favorecida em soluções menos ácidas e, experimentalmente, foi demonstrado que a cinética desta reação também aumenta com o aumento do pH.¹⁰ Dentre as espécies envolvidas nesta reação, verificou-se que apenas o íon $[\text{Fe}(\text{CN})_6]^{3-}$ é reduzido em $-0,1 \text{ V}$, portanto, este pode ser detectado seletivamente neste potencial.

Neste estudo, não foi possível utilizar a amperometria pulsada, pois em um dos pulsos de potencial ocorreria a redução do $[\text{Fe}(\text{CN})_6]^{3-}$ e no outro a oxidação simultânea do $[\text{Fe}(\text{CN})_6]^{4-}$ (produto gerado) e do ácido ascórbico. Este fenômeno impossibilitou a detecção precisa da quantidade de $[\text{Fe}(\text{CN})_6]^{3-}$ consumido pela reação química estudada. Por outro lado, sem o uso de um pulso de potencial de regeneração, as agulhas usadas como eletrodos eram passivadas muito rapidamente, o que impossibilitou que este estudo fosse realizado. Diante dessa limitação, as agulhas foram substituídas por dois fios de Pt de $0,5 \text{ mm}$ de diâmetro, que atuaram como eletrodo de trabalho e contra-eletrodo. O eletrodo de pseudo-referência foi substituído por um fio de Ag recoberto com AgCl, o qual foi recuperado de um eletrodo combinado de vidro inoperante. Os fios foram dispostos no tubo de PVC/silicone de maneira similar às agulhas de aço inox dos estudos anteriores. Esse sistema forneceu resultados estáveis mesmo sem a aplicação de potenciais de regeneração. Neste estudo, soluções de $[\text{Fe}(\text{CN})_6]^{3-}$ e ácido ascórbico, ambas $2,0 \text{ mmol L}^{-1}$, foram preparadas em tampão BR cujo pH foi ajustado em 4 ou 6. O pH do transportador e das soluções dos reagentes foram sempre mantidos iguais, pois a injeção de uma solução de pH diferente daquele do transportador geraria distorções na linha base. O efeito do comprimento do percurso analítico sobre a reação entre o $[\text{Fe}(\text{CN})_6]^{3-}$ e o ácido ascórbico foi avaliado em pH 4 e 6, sendo que os resultados obtidos são apresentados na Figura 5. Os sinais transientes relativos a este estudo são mostrados na Figura 9S.

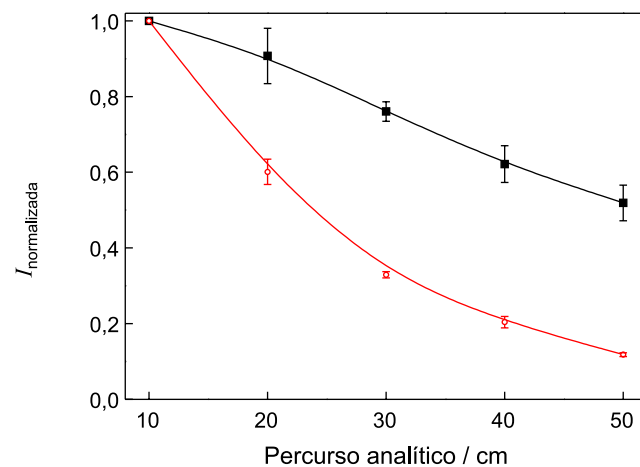


Figura 5. Variação do sinal amperométrico do $[\text{Fe}(\text{CN})_6]^{3-}$ em função do comprimento do percurso analítico. Transportador: tampão B.R. pH = 4 (■) e pH = 6 (○). Vazão: $3,0 \text{ mL min}^{-1}$. Volume de amostra: $100 \mu\text{L}$. $E_{\text{detecção}} = -0,1 \text{ V}$. $C_{\text{ácido ascórbico}} = C_{\text{ferricianeto}} = 2,0 \text{ mmol L}^{-1}$

As correntes detectadas na redução de $[\text{Fe}(\text{CN})_6]^{3-}$ foram normalizadas, atribuindo-se 100% ao sinal fornecido pelo menor percurso analítico (10 cm). A normalização foi necessária, pois houve ligeira variação da corrente com o pH, assim, a normalização permite a comparação direta entre os resultados obtidos nos dois valores de pH. A queda na corrente de redução (diminuição da concentração de $[\text{Fe}(\text{CN})_6]^{3-}$) observada na Figura 5 deve-se a dois fatores: aumento da dispersão da zona da amostra e do tempo de reação (consumo de $[\text{Fe}(\text{CN})_6]^{3-}$). A queda na corrente de redução devido à dispersão da zona da amostra é independente do pH, assim, a queda mais acentuada observada em pH 6 demonstra que a reação entre o ácido ascórbico e o íon $[\text{Fe}(\text{CN})_6]^{3-}$ ocorre mais rapidamente em pH 6 do que em pH 4, o que é concordante com o esperado para esta reação química.¹⁰ O efeito da reação química sobre a concentração do íon $[\text{Fe}(\text{CN})_6]^{3-}$ também pode ser visualizado na Figura 10S. Esta figura mostra os sinais transientes obtidos na injeção de solução contendo $[\text{Fe}(\text{CN})_6]^{3-}$ sem e com a presença de ácido ascórbico para um mesmo percurso analítico. O fato da injeção da mistura produzir um sinal menor confirma que, além da dispersão da zona da amostra, a reação química também contribui para a diminuição do sinal do $[\text{Fe}(\text{CN})_6]^{3-}$. Neste experimento, na injeção do $[\text{Fe}(\text{CN})_6]^{3-}$ sem a presença de ácido ascórbico, a outra alça de amostragem foi preenchida com o transportador (diluição constante em ambos os experimentos). Assim, estes resultados demonstraram que o sistema FIA proposto na configuração de zonas coalescentes pode ser empregado para um estudo qualitativo do efeito da acidez sobre a cinética da reação entre o íon $[\text{Fe}(\text{CN})_6]^{3-}$ e o ácido ascórbico. Este experimento também foi previamente explorado para fins didáticos empregando-se um sistema FIA com detecção espectrofotométrica.¹⁰ Os resultados obtidos no presente trabalho foram concordantes com os descritos por Rocha *et al.*,¹⁰ indicando, portanto, que o sistema FIA proposto pode ser empregado de forma similar a outros sistemas descritos na literatura para aplicações didáticas sobre FIA.

CONCLUSÃO

Os sistemas FIA descritos neste trabalho combinam simplicidade e baixo custo, sendo acessíveis mesmo a laboratórios didáticos com poucos recursos. O sistema em linha única descrito aqui permite demonstrar a influência dos diversos parâmetros operacionais de um sistema FIA sobre os sinais transientes. Esse sistema mostrou-se igualmente eficiente no estudo da estequiometria do complexo Cu^{2+} -EDTA pelo método da razão molar. As agulhas utilizadas como eletrodos nestes estudos forneceram resultados repetitivos por longos períodos de tempo, desde que se utilize a amperometria pulsada, aplicando-se alternadamente potenciais positivos (oxidação) e negativos (redução). Substituindo-se as agulhas por fios de Pt e de Ag/AgCl pode-se demonstrar qualitativamente o efeito da acidez sobre a velocidade da redução do íon $[\text{Fe}(\text{CN})_6]^{3-}$ pelo ácido ascórbico, demonstrando que os sistemas FIA também podem ser empregados no estudo de reações químicas. Estima-se que cada um dos estudos descritos neste trabalho possa ser realizado em uma aula experimental de quatro horas sendo necessários, por estudo, aproximadamente 300 mL de transportador e cerca de 50 mL da solução da espécie a ser detectada. Estes experimentos poderiam ser empregados em cursos de graduação em Química em disciplinas envolvendo análise instrumental ou em disciplinas específicas sobre análise em fluxo. Além de aspectos estritamente relacionados a FIA, os experimentos propostos permitem que outros tópicos sejam abordados, tais como: amperometria e amperometria pulsada, passivação de eletrodos, cinética química, estequiometria, etc. Conclui-se, portanto, que o sistema FIA descrito neste trabalho pode ser uma ferramenta didática simples e acessível para o ensino dos

conceitos básicos de análise química empregando análise por injeção em fluxo. Considerando o custo de implementação do sistema proposto, a principal limitação está na aquisição do potenciostato comercial, pois apresenta um custo relativamente alto em comparação ao restante do material empregado no sistema. No entanto, esta limitação pode ser contornada através do uso de equipamentos mais simples construídos em laboratório.³⁰⁻³²

MATERIAL SUPLEMENTAR

Algumas imagens dos sistemas FIA descritos neste trabalho (Figuras 1S a 3S), bem como alguns dos resultados obtidos com estes sistemas (Figuras 4S a 10S) estão disponíveis na forma de material suplementar. Esse material pode ser acessado em <http://quimicanova.sbq.org.br>, na forma de arquivo PDF, com acesso livre.

AGRADECIMENTOS

Os autores agradecem à FAPEMIG (proc. APQ-01557-13) pelo apoio financeiro. B. C. S. Moreira agradece à Pró-Reitoria de Graduação da UFU pela bolsa concedida. A. L. Santos e R. M. Takeuchi são imensamente gratos ao Prof. Dr. J. A. Gomes-Neto do Instituto de Química da UNESP-Araraquara por sua dedicação ao ministrar a disciplina “Princípios de Análise Química em Sistemas de Injeção em Fluxo”, os conhecimentos adquiridos pelos autores nesta disciplina foram imprescindíveis para o desenvolvimento deste trabalho.

REFERÊNCIAS

1. Reis, B. F.; *Quim. Nova* **1996**, *19*, 51.
2. Stewart, K. K.; *Talanta* **1981**, *28*, 789.
3. Campanella, L.; Pyrzynska, K.; Trojanowicz, M.; *Talanta* **1996**, *43*, 825.
4. Mervartová, K.; Polasek, M.; Calatayud, J. M.; *J. Pharm. Biomed. Anal.* **2007**, *45*, 367.
5. Tzanavaras, P. D.; Themelis, D. G.; *Anal. Chim. Acta* **2007**, *588*, 1.
6. Ruzicka, J.; Hansen, E. H.; *TrAC, Trends Anal. Chem.* **2008**, *27*, 390.
7. Ruiz-Capillas, C.; Jimenez-Colmenero, F.; *Food Chem.* **2009**, *112*, 487.
8. Van Staden, J. F.; Van Staden, R. I. S.; *Talanta* **2012**, *102*, 34.
9. Worsfold, P. J.; Clough, R.; Lohan, M. C.; Monbet, P.; Ellis, P. S.; Qué-tel, C. R.; Floor, G. H.; McKelvie, I. D.; *Anal. Chim. Acta* **2013**, *803*, 15.
10. Rocha, F. R. P.; Martelli, P. B.; Reis, B. F.; *Quim. Nova* **2000**, *23*, 119.
11. Leite, O. D.; Fatibello-Filho, O.; Rocha, F. R. P.; *Quim. Nova* **2004**, *27*, 337.
12. Conceição, A. C. L.; Diogo, H. P.; *Quim. Nova* **2013**, *36*, 905.
13. Ruzicka, J.; Hansen, E. H.; *Flow Injection Analysis*, 2nd ed., Wiley: New York, 1988.
14. Matos, R. C.; Gutz, I. G. R.; Angnes, L.; Fontenele, R. S.; Pedrotti, J. J.; *Quim. Nova* **2001**, *24*, 795.
15. dos Santos, W. T. P.; Ceolin, M. P.; Albuquerque, Y. D. T.; Richter, E. M.; *Quim. Nova* **2007**, *30*, 1754.
16. Matos, R. C.; Augelli, M. A.; Lago, C. L.; Angnes, L.; *Anal. Chim. Acta* **2000**, *404*, 151.
17. dos Santos, W. T. P.; Azevedo, E. F.; Richter, E. M.; Albuquerque, Y. D. T.; *Quim. Nova* **2009**, *32*, 2412.
18. Bergamini, M. F.; Santos, A. L.; Stradiotto, N. R.; Zanoni, M. V. B.; *J. Pharm. Biomed. Anal.* **2007**, *43*, 315.
19. dos Santos, W. T. P.; Gimenes, D. T.; Richter, E. M.; Angnes, L.; *Quim. Nova* **2011**, *34*, 1753.
20. Lima, A. B.; Chaves, S. C.; Silva, L. M.; Pereira, P. F.; Richter, E. M.; Santos, W. T. P.; *Quim. Nova* **2013**, *36*, 1296.
21. Miranda, J. A. T.; Cunha, R. R.; Gimenes, D. T.; Munoz, R. A. A.; Richter, E. M.; *Quim. Nova* **2012**, *35*, 1459.

22. Medeiros, R. A.; Lourenção, B. C.; Rocha Filho, R. C.; Fatibello-Filho, O.; *Talanta* **2012**, *97*, 883.
23. Nascimento, R. F.; Selva, T. M. G.; Ribeiro, W. F.; Belian, M. F.; Angnes, L.; Nascimento, V. B.; *Talanta* **2013**, *105*, 354.
24. Oliveira, P. R.; Oliveira, M. M.; Zarbin, A. J. G.; Marcolino-Junior, L. H.; Bergamini, M. F.; *Sens. Actuators, B* **2012**, *171*, 795.
25. Reis, B. F.; Bergamin Filho, H.; *Quim. Nova* **1993**, *16*, 570.
26. Zagatto, E. A. G.; Oliveira, C. C.; Collins, C. H.; *Quim. Nova* **1999**, *22*, 143.
27. Arruda, M. A. Z.; Collins, C. H.; *Quim. Nova* **2005**, *28*, 739.
28. Calatayud, J. M.; *Flow Injection Analysis of Pharmaceuticals: Automation in the Laboratory*, Taylor & Francis: London, 2003.
29. Marken, F.; Neudeck, A.; Bond, A. M.; Em *Electroanalytical Methods Guide to Experiments and Applications*, Scholz, F., ed.; Springer: New York, 2010.
30. Matos, R. C.; Angnes, L.; do Lago, C. L.; *Instrum. Sci. Technol.* **1998**, *26*, 451.
31. Tapsak, M. A.; Houseknecht, J. G.; Goode, P. V.; *Instrum. Sci. Technol.* **2007**, *35*, 589.
32. Blanco, J. R.; Ferrero, F. J.; Campo, J. C.; Anton, J. C.; Pingarron, J. M.; Reviejo, A. J.; Manso, J.; *Instrumentation and Measurement Technology Conference, Proceedings of the IEEE, Sorrento, Italy*, 2006, p. 690.