

UNIVERSIDADE FEDERAL DE UBERLÂNDIA
INSTITUTO DE QUÍMICA
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM QUÍMICA

Desenvolvimento de uma metodologia analítica em
fluxo para determinação espectrofotométrica de
fluoreto em águas naturais pelo método de SPADNS.

Mestrando: Thiago Linhares Marques

Orientadora: Prof.^a Dr.^a Nívia Maria Melo Coelho

UNIVERSIDADE FEDERAL DE UBERLÂNDIA
INSTITUTO DE QUÍMICA
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM QUÍMICA

Desenvolvimento de uma metodologia analítica em
fluxo para determinação espectrofotométrica de
fluoreto em águas naturais pelo método de SPADNS.

Dissertação apresentada ao Programa
de Pós-Graduação em Química da
Universidade Federal de Uberlândia,
como requisito para a qualificação no
Mestrado em Química.

Mestrando: Thiago Linhares Marques

Orientadora: Prof.^a. Dr.^a Nívia Maria Melo Coelho

Área de Concentração: Química



SERVIÇO PÚBLICO FEDERAL
MINISTÉRIO DA EDUCAÇÃO
UNIVERSIDADE FEDERAL DE UBERLÂNDIA
INSTITUTO DE QUÍMICA
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM QUÍMICA



Ata da defesa de DISSERTAÇÃO DE MESTRADO junto ao Programa de Pós-Graduação em
Química, do Instituto de Química da Universidade Federal de Uberlândia
DEFESA DE DISSERTAÇÃO DE MESTRADO ACADÊMICO, NÚMERO 162/COPGQ.

DATA: 27/02/2013

DISCENTE: Thiago Linhares Marques

MATRÍCULA: 111120QMI016

TÍTULO DO TRABALHO: Desenvolvimento de um sistema em fluxo para determinação
espectrofotométrica de flúor em águas naturais pelo método de SPADNS.

ÁREA DE CONCENTRAÇÃO: Química

LINHA DE PESQUISA: Espectroanalítica Aplicada

PROJETO DE PESQUISA DE VINCULAÇÃO: Remoção de flúor em águas utilizando adsorventes
naturais e automatização do método analítico para determinação de flúor em águas.

Às quatorze horas do dia vinte e sete de fevereiro do ano dois mil e treze, no Auditório 50-C
do Campus Santa Mônica, reuniu-se a Banca Examinadora composta pelos Professores
Doutores Solange Cadore, da Universidade Estadual de Campinas, Sebastião de Paula Eiras,
do Instituto de Química da UFU e Nívia Maria Melo Coelho, professor(a) orientador(a) e
presidente da mesa. Iniciando os trabalhos, o(a) presidente da mesa apresentou o(a)
candidato(a) e a Banca Examinadora, agradeceu a presença do público e discorreu sobre as
normas e critérios para a realização desta sessão, baseadas na Norma Interna nº
01/2010/COPGQ. Em seguida, o(a) presidente da mesa concedeu a palavra ao(a)
candidato(a) para a exposição do seu trabalho e, em seqüência, aos examinadores, em
ordem sucessiva, para arguir o(a) apresentador(a). A duração da apresentação e o tempo de
arguição e resposta deram-se conforme as normas do Programa. Ultimada a arguição,
desenvolvida dentro dos termos regimentais, a Banca em sessão secreta, atribuiu os
conceitos finais e Aprovou o(a) candidato(a). Por sugestão da Banca Examinadora, o título
do trabalho será Desenvolvimento de um sistema em fluxo para
determinação espectrofotométrica de flúor em águas
naturais pelo método de SPADNS.

Esta defesa de Dissertação de Mestrado Acadêmico é parte dos requisitos necessários à
obtenção do título de Mestre. O competente diploma será expedido após cumprimento do
estabelecido nas normas do Programa, legislação e regulamentação internas da UFU. As
correções observadas pelos examinadores deverão ser realizadas no prazo máximo de 30
dias. Nada mais havendo a tratar, deu-se por encerrada a sessão às 12 horas e 00
minutos e lavrada a presente ata, que após lida e aprovada, foi assinada pela Banca
Examinadora.

Solange Cadore
Profª Dra. Solange Cadore – UNICAMP

Sebastião de Paula Eiras
Prof. Dr. Sebastião de Paula Eiras – IQUFU

Nívia M. Melo Coelho
Orientador(a): Profª Dra. Nívia Maria Melo Coelho – IQUFU

AGRADECIMENTOS

- ✓ *A Deus pelo dom da vida, por estar sempre comigo e pelas grandes bênçãos derramadas sobre mim.*
- ✓ *Aos meus pais, Josair e Eleuza, por estarem sempre me apoiando, incentivando, orando e que não medem esforços para verem meu crescimento acadêmico e profissional.*
- ✓ *Aos meus irmãos, Thamiris e Marcos Vinicius, por sempre estarem me incentivando, e ajudando a superar os obstáculos da vida.*
- ✓ *Aos meus avós, João, Maria e Margarida, por serem exemplos de vida para mim, além de sempre me apoiarem no meu desenvolvimento profissional.*
- ✓ *Ao meu falecido avô, Miguel Arcanjo Linhares, que apesar de não me acompanhar nesta etapa da minha vida, sempre estará no meu coração e mente. Sendo um grande professor da vida na minha infância e adolescência.*
- ✓ *Aos tios e tias, por serem grandes conselheiros e incentivadores.*
- ✓ *A minha orientadora, Dr.^a Nívea Maria, pela disponibilidade, colaboração, paciência, incentivo, pelo confiança em mim, e principalmente pela oportunidade que me deu para desenvolveu meu mestrado.*
- ✓ *Dr.^a Luciana, por ter me apresentado o mundo da pesquisa e ajudado a iniciar minha caminhada de pesquisador.*
- ✓ *Aos meus professores de graduação por terem fornecido a base necessário para meu crescimento acadêmico e profissional.*
- ✓ *Aos meus amigos e colegas do Laboratório de Espectroscopia Aplicada (LEA), que me ajudaram, incentivaram, compartilharam conhecimento, mas principalmente alegraram e descontraíram meus dias de trabalho e estudo.*
- ✓ *A todas as pessoas que direta ou indiretamente colaboraram na execução deste trabalho.*

Muito obrigado!

“Confie no Senhor de todo o seu coração e não se apoie na sua própria capacidade e entendimento; lembre-se de colocar Deus em primeiro lugar, em todos os seus caminhos, e ele guiará os seus passos, e você andará pelo caminho certo.”

Provérbios 3: 5-6

RESUMO

Desenvolvimento de uma metodologia analítica em fluxo para determinação espectrofotométrica de fluoreto em águas naturais pelo método de SPADNS.

Um sistema de fluxo foi desenvolvido para a determinação de fluoreto em águas naturais, baseado na sua reação com os íons de zircônio e o sal trissódico do ácido 1,8-dihidroxi-2-(4-sulfofenilazo)-naftaleno-3,6-dissulfônico (SPADNS). O sistema de fluxo foi construído com válvulas solenoides, a fim de aumentar a versatilidade e a melhorar o desempenho analítico, uma vez que cada dispositivo injeta cada solução de maneira independente levando a uma utilização mais eficiente dos reagentes. A minimização do consumo de reagentes e da geração de resíduos favorece o desenvolvimento de um sistema baseado nos princípios da Química Verde. Em condições otimizadas, uma resposta linear foi observada dentro do intervalo de $0,1\text{--}2,2\text{ mg L}^{-1}$, com o limite de detecção, o coeficiente de variação e taxa de amostragem estimada como $0,02\text{ mg L}^{-1}$, 4,1% e 60 determinações por hora, respectivamente. Em comparação com outros métodos, o sistema proposto oferece vantagens como: maior faixa analítica (1,7–2,2 vezes), maior frequência analítica (1,5 a 4,0 vezes), menor limite de quantificação (por um fator de 5 a 68). Juntamente com um consumo de reagentes de 20–55 vezes menor e uma geração de resíduos 1,2 a 3,0 vezes mais baixas, o que contribui para o desenvolvimento de um método baseado na "química verde". Este método é rápido, passível de automatização, ecologicamente amigável e de baixo custo, podendo ser aplicado com sucesso para a determinação de fluoreto em amostras de água, e os resultados obtidos estão de acordo com os do método de eletrodo sensível a fluoreto (ISE – Ion Selective Electrode).

Palavras-chave: fluoreto, sistema em fluxo e método SPADNS.

ABSTRACT

Development of an analytical methodology in flow for spectrophotometric determination of fluoride in natural waters by SPADNS method.

An environmentally-friendly flow system was developed for the determination of fluoride in natural waters, based on its reaction with zirconium ions and trisodium salt of acid 1,8-dihydroxy-2-(4-sulfophenylazo)-3,6-naphthalene-disulfonate (SPADNS). The flow system was designed with solenoid valves in order to increase the versatility and improve the analytical performance, since each device handles the solution independently leading to more efficient use of reagents. The minimization of reagent consumption and waste generation favors the development of a system based on the principles of Green Chemistry. Under optimized conditions, a linear response was observed within the range of $0.1\text{--}2.2\text{ mg L}^{-1}$, with the detection limit, coefficient of variation and sampling rate estimated as 0.02 mg L^{-1} , 4.1% and 60 determinations per hour, respectively. In comparison with other methods, the proposed system offers advantages such as wider analytical range (1.7 to 2.2 times), higher sample throughput (1.5 to 4.0 times), and quantification limit (by a factor of 5 to 68). Along with the consumption of reagents being 20 to 55 times lower and the generation of wastes is 1.2 to 3.0 times lower, which contributes to the development of a ‘greener’ system. This method is fast, amenable to automation, environmentally-friendly and of low-cost, and it could be successfully applied to the determination of fluoride in water samples, the results obtained being in agreement with those of the ion selective electrode (ISE) method.

Keywords: fluoride, in-flow system and SPADNS method.

SUMÁRIO

LISTA DE TABELAS	IX
LISTA DE FIGURAS	X
LISTA DE SIGLAS	XII
1. Introdução	1
2. Revisão Bibliográfica	5
2.1. Água.....	5
2.2. Fluoreto.....	7
2.3. Determinação de Fluoreto.....	11
2.4. Análise por Injeção em Fluxo (FIA).....	17
2.5. Química Verde.....	27
3. Objetivos.....	28
4. Metodologia	29
4.1. Equipamentos e materiais	29
4.2. Reagentes e soluções	29
4.3. Diagrama e sequencia analítica do sistema FIA	30
4.4. Otimização do método	31
4.5. Efeito de espécies interferentes	36
4.6. Figuras analíticas de mérito	36
4.7. Amostras reais	36
4.8. Avaliação da exatidão e precisão.....	37
5. Resultados e discussão.....	38
5.1. Otimização do método	38
5.2. Efeito de espécies interferentes	50
5.3. Figuras analíticas de mérito	53
5.4. Aplicações analíticas e avaliação da exatidão e precisão do método	54
5.5. Comparação do sistema FIA.....	55
6. Conclusões	59
REFERÊNCIAS	60

LISTA DE TABELAS

Tabela 1: Interferentes do método de SPADNS em batelada ^{63,64}	17
Tabela 2: Revisão dos sistemas FIA desenvolvidos para determinação de fluoreto.....	26
Tabela 3: Planejamento Fatorial Completo 2 ⁴ aplicada na otimização dos parâmetros do sistema em fluxo.....	32
Tabela 4: Planejamento Fatorial Completo 2 ³ para otimização da concentração do indicador.	34
Tabela 5: Planejamento Fatorial Completo 2 ³ Composto com Ponto Central para otimização da concentração do indicador.	35
Tabela 6: Resultados obtidos para planejamento fatorial completo 2 ⁴ na otimização dos parâmetros do sistema em fluxo.	39
Tabela 7: Resultados obtidos no planejamento fatorial completo 2 ³ na otimização da concentração do indicador.	44
Tabela 8: Planejamento Fatorial Completo 2 ³ Composto com Ponto Central para otimização da concentração do indicador.	46
Tabela 9: Variáveis estudas e otimizadas para determinação de fluoreto.	48
Tabela 10: Determinação de fluoreto em amostras de água e avaliação da exatidão e precisão do método proposto.	55
Tabela 11: Características analíticas dos procedimentos em fluxo para determinação de fluoreto.	56
Tabela 12: Características analíticas do método desenvolvido e no método em batelada.	58

LISTA DE FIGURAS

Figura 1: Foto de caso clínico de fluorose dentária ⁵⁴	8
Figura 2: Fluorose esquelética (a) foto das pernas atrofiadas de uma criança indiana de 10 anos ⁵⁵ (b) Raios-X dos ossos femorais deformados de uma criança chinesa ⁵⁶	10
Figura 3: Determinação de fluoreto pela descoloração do complexo HC–Zr–EDTA ²⁶	13
Figura 4: Determinação fluorimétrica de fluoreto com sensor 1, (a) complexação de Fe(III) e o sensor 1, (b) reações químicas envolvidas na determinação ²⁹	14
Figura 5: Reações de degradação dos indicadores na presença do fluoreto (a) método colorimétrico com TSB-NA ²⁸ e (b) método fluorimétrico com FCl_2TBS ³¹	15
Figura 6: Estrutura do indicador SPADNS ⁶⁴	16
Figura 7: Reação dos íons fluoretos com o complexo Zr–SPADNS em meio ácido ⁶⁵	16
Figura 8: Modelos de válvulas solenoides (a) válvula de duas vias – 1 entrada e 1 saída, (b) válvula de três vias – 1 entrada e 2 saídas ou 2 entradas e 1 saída ⁷⁶	20
Figura 9: Descrição das válvulas solenoides (a) válvula de duas vias (b) válvula de três vias ⁷⁶	20
Figura 10: Efeito da dispersão em função do tempo ao injetar uma amostra num sistema FIA ⁷⁸	22
Figura 11: Representação esquemática dos fenômenos envolvidos na dispersão da amostra (a) convecção, (b) difusão axial e radial ⁷⁹	23
Figura 12: Categoria de sistemas FIA (a) de linha única, (b) em confluência, (c) com zonas de coalescência e (d) de fluxo intermitente. A – Amostra, B – bobina de reação, Ca – carreador, Cr – carreador do reagente, D – Descarte, DET – detector, L, L_1 e L_2 – alça de amostragem, R – Reagente e Re – Recuperação do reagente. A área achurada indica a posição ocupada pela barra central durante a amostragem ⁶⁶	25
Figura 13: Diagrama do sistema de análise por injeção em fluxo para determinação de fluoreto. BP – bomba peristáltica; V1, V2 e V3 – válvula solenoides de três vias; Rec – recirculação de solução; R1 e R2 – bobinas de reação, D – detecção, W – resíduo.	31
Figura 14: Diagrama de Pareto obtido no estudo de otimização das variáveis do sistema em fluxo na determinação de fluoreto.	40
Figura 15: Efeito da vazão do carreador e da amostra na intensidade do sinal.	40
Figura 16: Efeito da vazão do indicador na intensidade do sinal.	41
Figura 17: Efeito do volume da amostra na intensidade do sinal.	42
Figura 18: Efeito do volume do indicador na intensidade do sinal.	42

Figura 19: Efeito do comprimento das bobinas (R1e R2) na intensidade do sinal.	43
Figura 20: Diagrama de Pareto obtido no estudo de otimização das variáveis da concentração do indicador para determinação de fluoreto.	45
Figura 21: Superfície de resposta obtida no planejamento composto central para [SPADNS] versus $[\text{ZrOCl}_2]$ versus Absorbância.	47
Figura 22: Superfície de resposta obtida no planejamento composto central para [SPADNS] versus $[\text{HCl}]$ versus Absorbância.	47
Figura 23: Superfície de resposta obtida no planejamento composto central para $[\text{ZrOCl}_2]$ versus $[\text{HCl}]$ versus Absorbância.	48
Figura 24: Efeito do pH na intensidade do sinal.	49
Figura 25: Intervalo de confiança para determinação de fluoreto.	50
Figura 26: Interferência do Al(III) na determinação de fluoreto no método FIA.	51
Figura 27: Interferência do Fe(III) na determinação de fluoreto no método FIA.	52
Figura 28: Interferência do fosfato na determinação de fluoreto no método FIA.	52
Figura 29: Curva de calibração obtida pelo sistema em fluxo em condições otimizadas.	53
Figura 30: Perfil do sinal analítico da curva de calibração.....	54

LISTA DE SIGLAS

ABINAM	Associação Brasileira da Indústria de Águas Minerais
ANOVA	Analysis Of Variance (Análise de variâncias)
ANVISA	Agência Nacional de Vigilância Sanitária – Ministério da Saúde
BCO	Bromocresol Orange
CCD	Central Composite Design (Planejamento composto central)
CENA/USP	Centro de Energia Nuclear na Agricultura da Universidade São Paulo
CETESB	Centro Tecnológico de Saneamento Básico (Atualmente denominada como Companhia de Tecnologia e Saneamento Ambiental)
CNUDS	Conferência das Nações Unidas sobre Desenvolvimento Sustentável
CNUMAD	Conferência das Nações Unidas sobre o Meio Ambiente e o Desenvolvimento
COPASA	Companhia de Saneamento de Minas Gerais
DNPM	Departamento Nacional de Produção Mineral
DPR	Desvio Padrão Relativo
EDTA	Ethylenediamine Tetraacetic Acid (Ácido etilenodiamino tetra-acético)
FCl₂TBS	2',7'-diclorofluoresceína di-tert-butildimetilsilil éter
FIA	Flow Injection Analysis (Análise por injeção em fluxo)
HC	Hemicianina
IPCS	International Programme on Chemical Safety (Programa Internacional de Segurança Química)
ISE	Ion Selective Electrode
LEA	Laboratório de Espectroscopia Aplicada – Universidade Federal de Uberlândia
LD	Limite de Detecção
LQ	Limite de Quantificação
OMS	Organização Mundial da Saúde
PTFE	Polytetrafluoroethylene (Politetrafluoretíleno)
PVC	Polyvinyl Chloride (Cloreto de polivinila)
SCFA	Segmented Continuos Flow Analysis (Análise em Fluxo Contínuo Segmentado)
SPADNS	Trisodium salt of acid 1,8-dihydroxy-2-(4-sulfophenylazo)-3,6-naphthalene-disulfonate (Sal trissódico do ácido 1,8-dihidroxi-2-(4-sulfofenilazo)-naftaleno-3,6-dissulfônico)
TBS-NA	4-(tert-butildimetilsiloxi)-N-butil-naftalimida)

TISAB Total Ionic Strength Adjustment Buffer (Tampão de ajuste da força iônica total da solução)

1. Introdução

A água é um elemento essencial para manutenção da vida, e também é muito importante para a saúde pública. Apesar disso, mais de um bilhão de pessoas no mundo e dentre essas 19 milhões de brasileiros não têm acesso à água tratada. Devendo se ressaltar que para conservar a saúde pública, a água deve estar disponível em quantidade suficiente e em boa qualidade, a fim de não colocar em risco a saúde da população. Essa qualidade da água é determinada por seus padrões químicos, físicos e biológicos, onde estes padrões são definidos por legislação específica. No Brasil, o padrão de potabilidade da água para consumo humano é determinado pela Portaria Nº 2.914 de 12 de Dezembro de 2011 do Ministério da Saúde, que com base nos valores encontrados de impurezas recomenda ou não a sua utilização para o consumo humano^{1,2,3}.

Este controle de qualidade de água de abastecimento público deve ser realizado pela empresa de saneamento local e também deve ser monitorada por Secretarias de Saúde (Estaduais e/ou Municipais) a fim de fiscalizar estas empresas. Porém até o ano de 2008, somente um terço das empresas de saneamento realizavam análise da água bruta, ou seja, água sem tratamento prévio, sendo mais comumente analisadas as águas superficiais do que as subterrâneas. Até o ano 1997, cerca de 70% dos municípios paulistas operados pela Companhia de Tecnologia e Saneamento Ambiental (CETESB) utilizavam água subterrânea no abastecimento público e em 2006 essa porcentagem subiu para 80% dos casos. Já no Triângulo Mineiro até 2002 dos 22 municípios operados pela Companhia de Saneamento de Minas Gerais (COPASA), 07 utilizavam águas superficiais, 08 utilizavam águas subterrâneas e 07 utilizavam sistemas mistos no abastecimento público^{1,4-6}.

Outro dado importante é que nos últimos anos houve o aumento no consumo de água mineral no Brasil e essa tendência continua crescente. O volume de litros vendidos aumentou de 6,8 bilhões em 2007 para 8,4 bilhões em 2010, de acordo com dados fornecidos pela Associação Brasileira da Indústria de Águas Minerais – ABINAM e o Departamento Nacional de Produção Mineral – DNPM. Portanto, é essencial avaliar a concentração de fluoreto da água subterrânea que está sendo consumida pela população, a fim de assegurar os seus benefícios no combate a cárie, provenientes da absorção do fluoreto, sem incorrer no risco de fluorose dentária^{7,8}.

O flúor está amplamente distribuído no meio ambiente, principalmente na forma de fluoreto contido nas rochas, a partir de onde é extraído por águas subterrâneas, após um processo lento de dissolução do fluoreto. Vários minerais apresentam o fluoreto em sua composição, como por exemplo: a fluorita, a biotita e o topázio, bem como as rochas hospedeiras destes minerais, tais como: o granito, o basalto, o sienito, e o xisto⁹. Além das fontes naturais de liberação de fluoreto nos recursos hídricos, várias indústrias têm contribuído para este processo. Sendo que entre essas fontes incluem-se as indústria envolvidas na produção de vidro, cerâmica e semicondutores, de galvanoplastia e fundição de alumínio, bem como as usinas termelétricas e minas de extração de berílio¹⁰.

O fluoreto normalmente está presente nos recursos hídricos em baixas concentrações, sendo encontrado na água doce e do mar não poluídas nas faixas de concentração de 0,01–0,30 e 1,2–1,5 mg L⁻¹, respectivamente¹¹. Entretanto, concentrações superiores às citadas anteriormente podem ser encontradas em várias partes do mundo devido à liberação natural deste elemento a partir das rochas, bem como por ações antropológicas¹².

A Organização Mundial da Saúde (OMS) recomenda que o limite máximo de fluoreto na água potável seja de 1,5 mg L⁻¹, mas esse limite pode variar com a temperatura ambiente; onde os limites máximos variam entre 0,6–0,8 mg L⁻¹, para temperaturas de 26,3–32,6 °C e 0,9–1,7 mg L⁻¹, para as temperaturas de 10–12 °C¹³. Essa recomendação se deve ao fato de que o consumo excessivo de fluoreto pode causar várias doenças como: a fluorose dentária e óssea, e estar associada com a intoxicação renal e gastrointestinal, bem como causar danos ao sistema imunológico. Além disso, a fluorose é uma doença endêmica em diversas localidades no mundo, sendo estimado que dezenas de milhões de pessoas sejam afetadas por essa doença, apesar de não se conhecer o número total¹⁴.

Tendo em vista que a contaminação dos recursos hídricos, empregados no abastecimento público, por substâncias nocivas ou prejudiciais ao meio ambiente e a saúde humana, como o fluoreto, podem ser oriundos das atividades humanas ou de fontes naturais. Juntamente com a variedade das fontes de água subterrânea, a falta de informações no Brasil sobre o consumo desta e também as concentrações de fluoreto presente nas fontes de abastecimento público torna-se essencial conhecer a sua concentração em água, a fim de assegurar os benefícios do fluoreto no combate a cárie, sem levar ao risco de fluorose dentária^{8,15}.

Diversos métodos de análise foram otimizados e relatados na literatura para a determinação de fluoreto em águas, sendo estes baseados nas seguintes técnicas analíticas: potenciometria^{16,17,18,19}, espectrometria de absorção molecular em forno de grafite^{20,21}, espectrofotometria em fase sólida²², colorimetria^{23,24,25,26,27,28}, fluorometria^{29,30,31}, espectrometria de emissão óptica indutivamente acoplamento^{32,33} e espectrometria de emissão óptica de plasma induzida por micro-ondas³³. Bem como outros ainda baseados na cromatografia líquida de alta eficiência³⁴, cromatografia iônica^{35,36}, cromatografia gasosa^{37,38} e eletroforese capilar^{39,40}.

Devido à simplicidade e conveniência os métodos baseados na potenciométria e na cromatografia iônica são amplamente utilizados para determinação do fluoreto³¹. Entretanto, apesar do método potencimétrico oferecer como vantagem: o baixo custo, a boa sensibilidade e os baixos limites de quantificação, este apresenta dificuldades de automação, devido à necessidade do uso de células de detecção especiais que contenham o eletrodo sensível a fluoreto e o eletrodo de referência na mesma célula⁴¹. Já a cromatografia iônica só pode ser utilizada na determinação de fluoreto quando se faz uso de eluentes fracos, que não causem a supressão do sinal do fluoreto, porém isso leva a uma baixa frequência analítica. Todavia, além dos métodos potencimétricos e cromatográficos, diversos métodos colorimétricos e fluorimétricos são descritos na literatura para determinação de fluoreto. Estes comparados aos dois descritos anteriormente para a mesma finalidade apresentam as seguintes vantagens: elevada seletividade, elevada sensibilidade e podem ser facilmente adaptadas para sistemas de análise em fluxo³¹. Como as análises descritas anteriormente são geralmente realizadas em batelada, estas têm como desvantagens gerais: o consumo elevado de reagentes, geração de grandes volumes de resíduos, além de serem procedimentos lentos e laboriosos^{19,42}.

Alguns métodos para análise de fluoreto usando diferentes técnicas de detecção e baseados na análise por injeção em fluxo são descritos na literatura^{19,23,25,30,31,41,43,44,45,46}. Estes métodos têm sido desenvolvidos a fim destes superar as desvantagens dos métodos em batelada, bem como se adequar aos princípios da Química Verde. Assim, através da mudança nos projetos dos sistemas, bem como a exploração de novas abordagens de fluxo, novos métodos desenvolvidos têm levado a minimização do consumo de reagentes e da geração de resíduos. Como a análise em fluxo multicomutada, que emprega um conjunto de comutadores discretos (por exemplo, válvulas solenoides), e assim vem tornando os sistemas mais versáteis, econômicos e ecológicos⁴⁷.

O método colorimétrico de Zr-SPADNS permanece como uma metodologia simples, de baixo custo, uma rápida alternativa, confiável, que é passível de automatização e de utilização em campo²⁵. Neste estudo, um sistema de fluxo com válvulas solenoide foi concebido para a determinação colorimétrica de fluoreto na água com base no método SPADNS utilizando pequenos volumes de reagentes e gerando baixos volumes de resíduos, a fim de desenvolver uma metodologia ecologicamente atraente. Embora o método desenvolvido por Arancibia e colaboradores (2004) apresente alta tolerância à interferência sulfato (característica da amostra em estudo), o processo requer o processamento de dados, bem como um consumo relativamente elevado de reagentes (SPADNS, ZrOCl₂ e HCl), uma vez que realiza a injeção contínua da solução indicadora no sistema FIA²⁵. A metodologia desenvolvida e apresentada nesta dissertação é simples e rápida, com boa sensibilidade, precisão e exatidão, além de ser um sistema de fluxo ecologicamente atraente. Este método pode ser aplicado com sucesso a amostras de água natural, sem que seja necessárias etapas de pré-tratamento.

2. Revisão Bibliográfica

2.1. Água

A água é um bem público indispensável para a vida e sua importância para a saúde pública é largamente reconhecida; porém, mais de um bilhão de pessoas em todo o mundo não têm acesso à água tratada, entre as quais 19 milhões residem no Brasil. A água que é destinada ao consumo humano deve atender a certos padrões de qualidade, para não colocar em risco a saúde das pessoas que a consomem. Mesmo sendo límpida, ela contém agregada a sua composição impurezas que podem ser de natureza química, física ou biológica. No Brasil, o padrão de potabilidade da água para consumo humano é determinado pela Portaria Nº 2.914 de 12 de Dezembro de 2011 do Ministério da Saúde, que com base nos valores encontrados de impurezas recomenda ou não a sua utilização para o consumo humano^{1,2,3}.

O controle de qualidade de água destinada ao consumo humano, desde os sistemas produtores (mananciais, captação, tratamento) até os sistemas de distribuição (reservatório, redes), normalmente é realizado pela empresa responsável de saneamento local e monitorada pelas Secretarias de Saúde Estaduais. Até o ano de 2008, somente um terço dos serviços municipais de saneamento realizavam análise da água bruta, sendo mais frequente a análise de água proveniente de mananciais superficiais do que dos subterrâneos. De acordo com os dados da Companhia de Tecnologia e Saneamento Ambiental – CETESB (antigamente conhecido como Centro Tecnológico de Saneamento Básico), órgão do Estado de São Paulo responsável pelo controle ambiental, em 1997, cerca de 70% dos municípios paulistas utilizavam água subterrânea no abastecimento público e em 2006 essa porcentagem subiu para 80% dos casos. Já no Triângulo Mineiro até 2002 dos 22 municípios operados pela COPASA MG, 07 são sistemas abastecidos com a utilização de água superficial, 08 são sistemas abastecidos com a utilização de água subterrânea e 07 são sistemas mistos, os quais utilizam-se para seu abastecimento tanto da água superficial quanto da água subterrânea. Portanto temos 13 municípios com efetiva contribuição da água subterrânea para o abastecimento^{1,4-6}.

Nos últimos anos houve o aumento no consumo de água mineral no Brasil, de acordo com a Associação Brasileira da Indústria de Águas Minerais – ABINAM e o Departamento Nacional de Produção Mineral – DNPM o volume de litros vendidos aumentou de 6,8 bilhões em 2007 para 8,4 bilhões em 2010, e que a tendência é de crescimento no consumo. O aumento do consumo de água mineral no ano passado foi de aproximadamente 15%. Foram R\$ 2,9 bilhões vendidos em 2011, principalmente nos estados do Rio de Janeiro, Minas Gerais e Espírito Santo. Em Porto Alegre (RS), o consumo de água mineral no primeiro trimestre de 2012 aumentou entre 15% e 20% em relação ao mesmo período do ano passado, o que confirma a confiança do consumidor no produto engarrafado⁷.

Durante muito tempo, acreditou-se que as águas minerais tinham origem diferente da água subterrânea. Contudo, atualmente se sabe que ambas têm a mesma origem, na verdade elas são designadas como águas de superfície que após atingir grandes profundidades, se enriquece em sais minerais adquirindo, assim, novas características físico-químicas. No Brasil a exploração de água mineral é regulamentada pelo Departamento Nacional de Produção Mineral do Ministério de Minas e Energia. A definição, bem como o controle da potabilidade, é de responsabilidade da Agência Nacional de Vigilância Sanitária do Ministério da Saúde (ANVISA)⁸.

Por definição da Resolução nº. 274, de 22 de setembro de 2005 entende-se por água mineral a água obtida diretamente de fontes naturais ou por extração de águas subterrâneas. É caracterizada pelo conteúdo definido e constante de determinados sais minerais, oligoelementos e outros constituintes considerando as flutuações naturais. Destacando-se que de acordo com a Resolução nº. 274 nas embalagens de água mineral comercializadas devem conter as seguintes advertências, apresentadas em destaque e em negrito em relação à concentração de fluoreto presente na água⁴⁸:

- A. "Contém Fluoreto", quando a concentração for maior que $1,0 \text{ mg L}^{-1}$;
- B. "O produto não é adequado para lactentes e crianças com até sete anos de idade", quando a concentração for maior que $2,0 \text{ mg L}^{-1}$;
- C. "O consumo diário do produto não é recomendável: contém fluoreto acima de $2,0 \text{ mg L}^{-1}$ ", quando a concentração for maior que $2,0 \text{ mg L}^{-1}$.

A contaminação de corpos de água, utilizados para o abastecimento humano, por elementos que podem ser nocivos ou prejudiciais ao meio ambiente e a saúde humana, podem ser provenientes de atividades antropogênicas, ou também, por efeito natural de lixiviação de elementos nocivos pelo o contato prolongado com rochas ricas nestes componentes. Dada a variedade de fontes de água mineral e a ausência de dados para o Brasil acerca desse consumo, bem como os teores presentes em fontes fornecidas por empresas de abastecimento público torna-se essencial conhecer a concentração de fluoreto da água que está sendo ingerida, assegurando assim os seus benefícios no combate a cárie, sem incorrer no risco de fluorose dentária^{8,15}.

2.2. Fluoreto

Flúor no ambiente normalmente é encontrado como fluoretos que, juntos, representam cerca de 0,06–0,09 % da crosta terrestre, cuja abundância média é de 300 mg kg⁻¹ na crosta⁴⁹. É amplamente distribuído no ambiente geológico e, geralmente, é lixiviado para a água subterrânea, após dissolução lenta de fluoreto contido nas rochas. Vários minerais, por exemplo, fluorita, biotitas, topázio, e suas rochas hospedeiras correspondentes, como granito, basalto, sienito, e xisto, contém fluoreto que pode ser lixiviado para o lençol freático⁹.

A fluorita (CaF₂) é o principal mineral responsável pela lixiviação de fluoreto nas águas subterrâneas, pois este mineral apresenta uma constante de dissolução favorável mesmo em baixas temperaturas. Além do mais, a concentração tende a ser maior em águas cujo tempo de residência no aquífero é maior⁵⁰. Já nos aquíferos em rochas carbonáticas pode haver dissolução de flúor-apatitas ou de fluorita. Em geral altas concentrações de fluoreto na água são típicas de águas bicarbonatadas sódicas, com relativamente baixas concentrações de Ca²⁺ (menor ou igual a 20 mg L⁻¹), com pH neutro a alcalino⁹.

Fluoretos inorgânicos são emitidos para o ambiente, tanto a partir de antropogênico quanto de fontes naturais. Dentre as fontes antropológicas que despejam efluentes contendo altas concentrações de fluoreto incluem-se as seguintes indústrias, produção de vidro e cerâmica, fabricação de semicondutores, galvanoplastia, usinas de termoeletricas, minas de extração de berílio. Sendo as principais fontes antropogênicas de fluoretos inorgânicos incluem a produção de fertilizantes fosfatados, produção química e de fundição de alumínio^{10,51}.

O fluoreto normalmente está presente nas águas naturais em baixas concentrações e geralmente está presente na água doce e do mar não poluídas nas faixas de 0,01–0,30 e 1,2–1,5 mg L⁻¹, respectivamente¹¹. Concentrações superiores às citadas anteriormente são encontradas em várias partes do mundo devido à lixiviação natural deste elemento nas rochas ou por ações antropológicas¹².

Por exemplo, na zona norte da antiga República da Bophuthatswana, África do Sul, a concentração de fluoreto nas águas subterrâneas chega a 60 mg L⁻¹, devido a processos geológicos naturais. Em Kurri Kurri, New South Wales, Austrália, foram relatadas concentrações de fluoreto nas águas subterrâneas na faixa de até 3000 mg L⁻¹, resultantes de ações antropológicas em uma fundição de alumínio⁵².

A relação entre o fluoreto e saúde humana foi postulada pela primeira vez no final do século XIX, quando os químicos reconheceram um variável conteúdo de fluoreto nos dentes e nos ossos humanos. No início de 1900, observou-se que os moradores de certas áreas dos Estados Unidos apresentavam manchas marrons em seus dentes e tal condição ficou conhecida como fluorose dentária (Figura 1). Posteriormente, descobriram que a prevalência e a gravidade desta condição se correlacionavam diretamente com a concentração de fluoreto na água potável. A ingestão de fluoreto em quantidades adequadas proporcionou uma proteção contra o desenvolvimento de cárie dentária sem manchar os dentes⁵³.



Figura 1: Foto de caso clínico de fluorose dentária⁵⁴.

A fluorose dentária é provavelmente tão antiga quanto a raça humana, pois dentes com manchas escuras e desfiguradas foram encontrados em crânios com milhares de anos de idade. Todavia, os primeiros relatos encontrados na literatura são datados de uma centena de anos atrás. Essa patologia se caracteriza por uma alteração na estrutura do esmalte dentário, provocada pela intoxicação sistêmica de fluoreto, durante a fase de formação do esmalte, sendo desta forma uma alteração de caráter irreversível⁴³.

O nível da cárie dentária (medido como o número médio de dentes cariados, perdidos ou obturados) cai de sete quando a concentração de fluoreto é de 0,1 mg L⁻¹, para cerca de 3,5 quando essa concentração chega a 1,0 mg de L⁻¹. Com um aumento ainda maior, chegando a 2,6 mg L⁻¹, a cárie dentária continua a cair, mas esse aumento é pequeno e, além disso é necessário considerar que a fluorose dentária aumenta com o aumento da concentração de fluoreto. Assim, a evidência sugere que, pelo menos para o fluoreto naturalmente presente na água, o nível ideal de fluoreto é de cerca de 1,0 mg de L⁻¹ para um clima temperado⁴⁹.

De acordo com as orientações da Organização Mundial da Saúde (OMS), o limite permitido de fluoreto na água potável é de 1,5 mg L⁻¹. No entanto, deve notar-se que este limite pode variar de acordo com a temperatura do ar; limites máximos variam entre 0,6–0,8 mg L⁻¹, para temperaturas de 26,3–32,6 °C e 0,9–1,7 mg L⁻¹, para as temperaturas de 10–12 °C¹³. Esta variação ocorre com a variação da temperatura ambiente, pois com aumento da temperatura há um aumento no consumo de água e assim absorção de fluoreto no organismo, ou seja, o consumo diário de fluoreto varia de uma região para outra. Isso irá depender da concentração de fluoreto na água potável e a quantidade ingerida, bem como os níveis fluoreto nos alimentos e o uso produtos de higiene bucal fluoretados⁵⁴.

Na Figura 2 são exibidos casos de fluorose esquelética (mudanças adversas na estrutura óssea) que pode ser observada quando a água potável apresenta as concentrações de fluoreto na faixa de 3,0–6,0 mg L⁻¹, particularmente relacionados com alto consumo de água. Fluorose esquelética incapacitante ocorre usualmente somente quando a água potável contém acima de 10,0 mg L⁻¹ de fluoreto. Programa Internacional de Segurança Química (IPCS – International Programme on Chemical Safety) conclui que há claras evidências na China e na Índia que a fluorose esquelética e um aumento no risco de fraturas dos ossos ocorre quando a absorção alcança 14,0 mg de fluoreto por dia e que aumenta o risco do efeito no esqueleto quando a absorção é maior que 6,0 mg por dia⁵⁴.



Figura 2: Fluorose esquelética (a) foto das pernas atrofiadas de uma criança indiana de 10 anos⁵⁵ (b) Raios-X dos ossos femoriais deformados de uma criança chinesa⁵⁶.

Além da fluorose dentária e esquelética, o excesso de fluoreto na água potável pode causar a intoxicação renal e gastrointestinal, como também danos ao sistema imunológico. A fluorose é uma doença endêmica em pelo menos 25 países no mundo. Apesar de não se conhecer o número total de pessoas afetadas, há uma estimativa conservadora que considera que esse número alcançaria dezenas de milhões de pessoas¹⁴.

Casos de fluorose dentária são relatados em vários países do mundo, incluindo África do Sul, Alemanha, Arábia Saudita, Argentina, Brasil, Canadá, China, Eritreia, Espanha, Estados Unidos da América, Etiópia, Índia, Indonésia, Israel, Japão, México, Níger, Nigéria, Noruega, Paquistão, Quênia, República Unida da Tanzânia, Senegal, Sri Lanka, Sudão, Tailândia, Turquia e Uganda⁴⁹.

No Brasil, a agregação do fluoreto ao tratamento das águas de abastecimento público (fluoretação) iniciou-se em 1953 no município de Baixo Guandu no Espírito Santo e expandiu-se intensamente nos anos 1980 e, em 2006, beneficiava cerca de 100 milhões de pessoas⁵⁷. Esta expansão ocorreu, pois desde 1974 a agregação de fluoreto ao tratamento das águas de abastecimento (fluoretação das águas) é obrigatória no Brasil; com base na Lei Federal nº 6.050, de 24/5/1974, regulamentada pelo Decreto nº 76.872, de 22/12/1975⁵⁸. Apesar da fluoretação em águas de abastecimento público, no Brasil existem águas subterrâneas com concentrações de fluoreto elevadas. Os principais estados que apresentam dados publicados sobre o assunto são: Rio Grande do Sul, Santa Catarina, Paraná, São Paulo, Rio de Janeiro, Goiás e Minas Gerais⁵⁹.

Em virtude dos estreitos limites entre a inocuidade do fluoreto e a sua nocividade à saúde humana, faz-se necessário uma atenção contínua para o controle das concentrações de fluoreto na água potável e em produtos farmacêuticos utilizados na prevenção de cáries⁶⁰.

2.3. Determinação de Fluoreto

Vários métodos analíticos foram desenvolvidos e descritos para a determinação de fluoreto em água, incluindo potenciometria^{16,17,18,19}, espectrofotometria absorção molecular em forno de grafite^{20,21}, espectrofotometria em fase sólida²², colorimetria^{23,24,25,26,27,28}, fluorometria^{29,30,31}, espectrometria de emissão óptica indutivamente acoplamento^{32,33} e espectrometria de emissão óptica de plasma induzida por micro-ondas³³. E ainda métodos baseados na cromatografia líquida de alta eficiência³⁴, cromatografia iônica^{35,36}, cromatografia gasosa^{37,38} e eletroforese capilar^{39,40}.

Os métodos sugeridos para a determinação de íons fluoreto na água são o potenciometro e os colorimétricos¹¹. Sendo potenciométrico baseado no uso de eletrodo íon seletivo ao fluoreto (ISE – Ion Selective Electrode), desenvolvido para determinar íons fluoretos em solução aquosa⁶¹. Já os métodos colorimétricos para determinação de fluoreto normalmente são indiretos, ocorrendo através da reação entre o íon fluoreto e o complexo indicador (metal/corante), levando a formação de um complexo incolor (metal/fluoreto), e assim a descoloração da solução, onde os complexantes (corantes) normalmente aplicados nestas metodologias são: SPANDS, alizarina, eriocromocianina R, quercetina ou vermelho de eriocromo B^{34,43}.

Destes métodos, a potenciometria e a cromatografia iônica são amplamente utilizadas devido à sua simplicidade e conveniência³¹. Apesar do seu baixo custo e da boa sensibilidade observada, com baixos limites de quantificação, o método potenciométrico apresenta dificuldades de automação, pois há necessidade da construção de células especiais para operação em fluxo contínuo contendo o eletrodo sensível a fluoreto e o eletrodo de referência⁴¹. Já a cromatografia iônica pode ser realizada apenas se soluções tampões fracas, que não causem a supressão do sinal do fluoreto, sejam usadas para separar o pico do fluoreto dos picos de interferência, o que leva ao aumento do tempo de cada análise³¹.

No entanto, diversas reações químicas são utilizadas nos métodos colorimétricos e fluorimétricos para determinação de fluoreto em águas, que têm como vantagens a elevada seletividade e sensibilidade comparando-se com métodos potenciométricos e cromatográficos. Além disso, os métodos colorimétricos e fluorimétricos podem ser facilmente adaptados para sistemas de análise em fluxo³¹. Além disso, tais métodos são normalmente simples e convenientes, devido à relativa rapidez com que ocorre a reação para a formação do novo complexo⁴³.

Em 1988 Cardwell e colaboradores propuseram um método de determinação indireta de fluoreto através do uso do complexo indicador formado pelo íon zircônio (Zr (IV)) e pelo complexante colorimétrico Alizarina Vermelha S. Neste método, a absorção do complexo binário Zr–Alizarina decresce linearmente com o aumento da concentração de íons fluoreto em solução na faixa de concentração de 0,1–10,0 mg L⁻¹, sendo este comportamento observado no comprimento de onda de 520 nm²³.

O método colorimétrico proposto por Kalifa & Hafez (1998) utiliza como indicador para determinação de fluoreto o complexo formado entre o íon tório (Th(IV)) e o reagente alaranjado de bromocresol (bromocresol orange – BCO). Este método pode determinar fluoreto na faixa de concentração de 0,02–3,00 mg L⁻¹ e apresenta um limite de detecção de 0,02 mg L⁻¹. No método ocorre a descoloração do complexo vermelho de Th–BCO, pela complexação de íons fluoretos com o tório, e assim levando a liberação do indicador de BCO em solução e mudando a absorção de 560 nm para 444 nm²⁴.

Outro método seguindo ideia anterior de determinação indireta de fluoreto foi proposta por Gao e colaboradores (2007). Esse método é baseado na descoloração de um complexo formado entre o íon Zr (IV), o complexante EDTA (Ethylenediamine Tetraacetic Acid – Ácido etilenodiamino tetra-acético) e o corante hemicianina (HC). Apresentando a faixa linear de trabalho de 0,06–0,95 mg L⁻¹ e limite de detecção de 0,05 mg L⁻¹. A Figura 3 apresenta a reação proposta pelos autores quando ocorre a determinação de íons fluoretos em meio aquoso pela descoloração do complexo em solução de HC–Zr–EDTA²⁶.

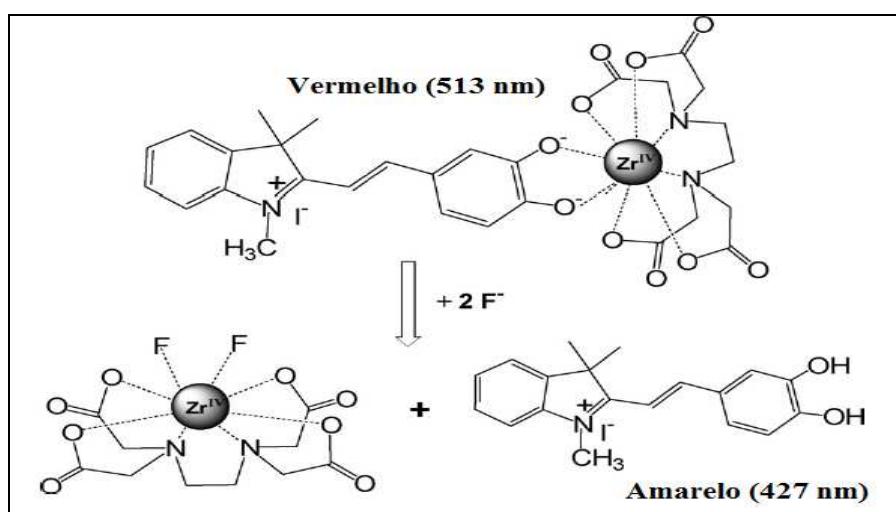


Figura 3: Determinação de fluoreto pela descoloração do complexo HC–Zr–EDTA²⁶.

Parham & Rahbar (2009) propuseram a determinação do fluoreto inicialmente realizando uma extração em fase sólida do fluoreto em nanopartículas de óxido de ferro magnético em meio ácido, seguida por uma dessorção dos íons fluoretos em meio alcalino. O fluoreto reage com o complexo de Fe(III)–SCN em solução, levando à formação do complexo de FeF_6^{3-} e a liberação do tiocianato, resultando na descoloração da solução. Este método pode ser aplicado na determinação de fluoreto na faixa linear de 0,04–1,25 mg L⁻¹, tem um limite de detecção de 0,015 mg L⁻¹ e um fator de pré-concentração de 50²⁷.

Dentre os métodos fluorimétricos para determinação de fluoreto também estão presentes métodos indiretos, como o método proposto por Lu e colaboradores (2011), que pode ser aplicado na determinação de fluoreto na faixa linear de 2,7–9,5 mg L⁻¹. Neste método íons Fe (III) formam um complexo não fluorescente com um sensor de (2E)-2-(naftiletileno) hidrazinacarbothioamida, denominado sensor 1. Na presença de íons fluoreto esse complexo é desfeito e o sensor 1 volta a ter a apresentar atividade fluorescente como mostrado na Figura 4²⁹.

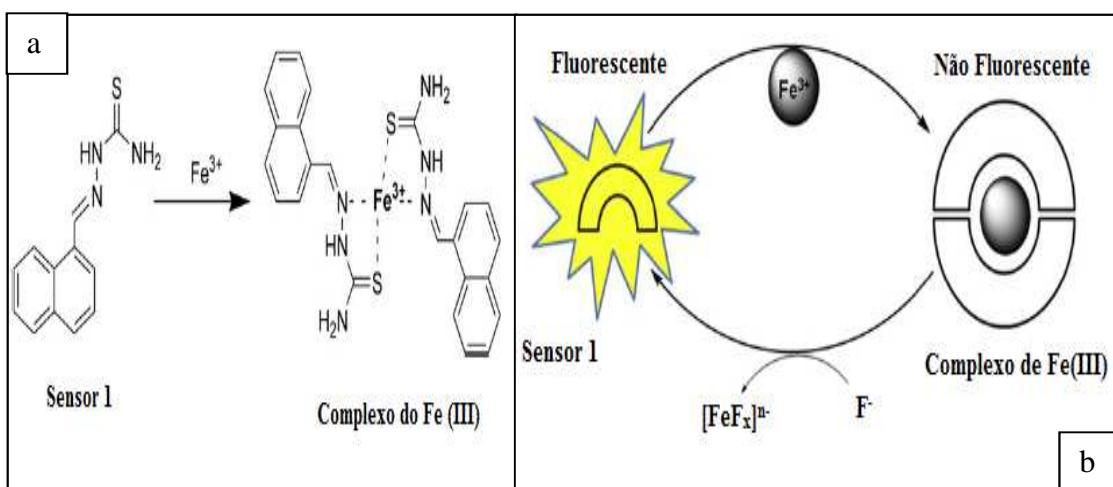


Figura 4: Determinação fluorimétrica de fluoreto com sensor 1, (a) complexação de $\text{Fe}(\text{III})$ e o sensor 1, (b) reações químicas envolvidas na determinação²⁹.

Entre os exemplos de métodos com determinação direta de fluoreto encontram-se o colorimétrico de Ren e colaboradores (2011) e o fluorimétrico de Nakaya e colaboradores (2011), ambas baseadas nas clivagens de ligações do tipo Si–O nos indicadores utilizados no método e assim levando a descoloração deste reagente, como exibido na Figura 5^{28,31}. O método de Ren e colaboradores (2011) exibe um limite de detecção de $0,1 \text{ mg L}^{-1}$ e consegue determinar fluoreto nas concentrações de $0,2$ a $1,9 \text{ mg L}^{-1}$, neste método o reagente utilizado como indicador é o 4-(tert-butildimetilsiloxi)-N-butil-naftalimida (TBS-NA)²⁸. Já o método fluorimétrico proposto por Nakaya e colaboradores (2011) pode determinar fluoreto na faixa linear de $0,1$ a $3,0 \text{ mg L}^{-1}$ e apresenta um limite de detecção de $0,06 \text{ mg L}^{-1}$, sendo que neste método foi utilizado o reagente 2',7'-diclorofluoresceína di-tert-butildimethylsilyl éter (FCl_2TBS) como indicador³¹.

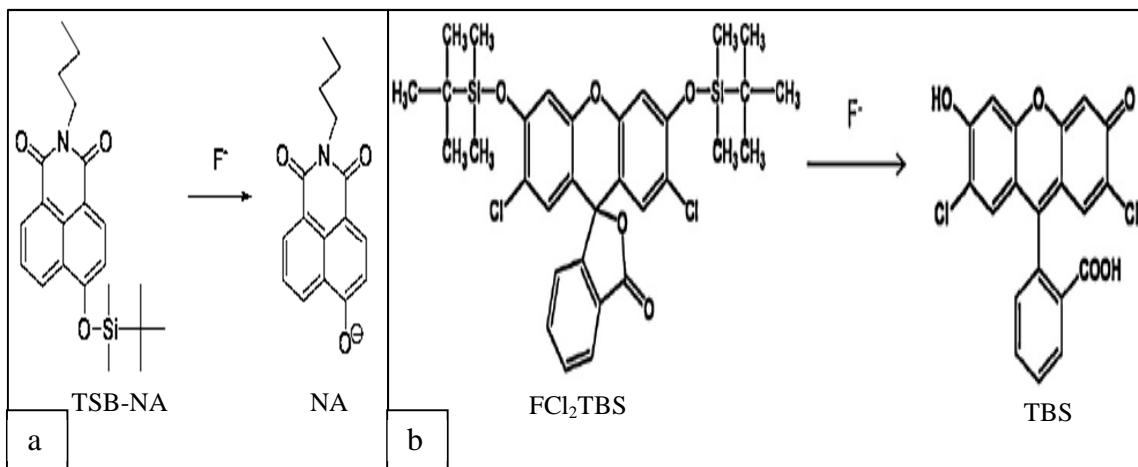


Figura 5: Reações de degradação dos indicadores na presença do fluoreto (a) método colorimétrico com TSB-NA²⁸ e (b) método fluorimétrico com FCl₂TBS³¹.

Dentre os métodos colorimétricos se destacam os baseados na determinação indireta de fluoreto efetuada com a Alizarina ou com o SPADNS⁴¹. O método da alizarina baseia-se na descoloração do indicador Zr-Alizarina de cor vermelha escuro na presença de fluoreto, levando a formação de uma solução amarela característica da alizarina não complexada⁶². A desvantagem desse método é a cinética lenta envolvida na descoloração da amostra. Para determinação da concentração de fluoreto é preciso deixar as amostras em repouso por 1 hora, além disso, para conseguir resultados consistentes deve-se usar tempos idênticos de medição de absorbância das amostras^{63,64}.

Por sua vez no método de SPADNS a reação de descoloração é imediata na presença de íons fluoreto e o complexante utilizado é o ácido 1,8-dihidroxi-2-(4-sulfofenilazo)-naftaleno-3,6-dissulfônico, que é apresentado na Figura 6. Nesse método o fluoreto reage com o indicador Zr-SPADNS, dissociando o complexo vermelho escuro e formando um complexo incolor de alta estabilidade, o ânion hexafluorozirconato (IV) (ZrF_6^{2-}), e liberando o indicador vermelho no meio aquoso e levando a um diminuição da tonalidade desta solução (Figura 7). Conforme se aumenta a concentração de fluoreto, a cor produzida torna-se progressivamente mais clara, levando a uma diminuição da absorbância das soluções. Sendo essas medidas realizadas a 570 nm em um espectrofotômetro ou na faixa de 550–580 nm num fotômetro de filtro⁴⁹.

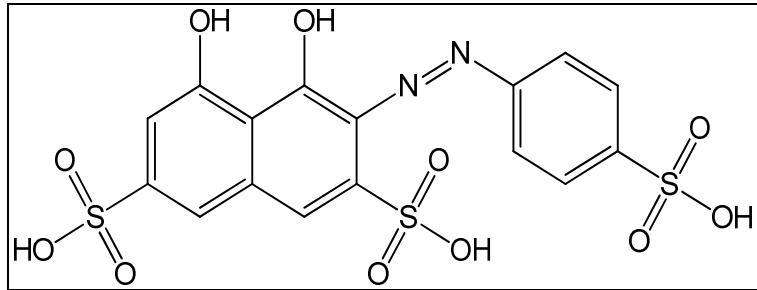


Figura 6: Estrutura do indicador SPADNS⁶⁴.

A solução indicadora é preparada em meio de ácido (HCl), pois a velocidade da reação entre o íon fluoreto e o complexo indicador é sensível à variação de pH, ocorrendo rapidamente sob estas condições. Além disso, em meio ácido a interferência oriunda da alcalinidade (CaCO_3), bem como da presença de íons cloreto e férrico (Fe (III)) são em grande parte eliminadas e a sensibilidade da reação é aumentada⁶⁴. As vantagens deste método estão relacionadas à simplicidade da metodologia e ao seu baixo custo, além de ser uma rápida alternativa confiável, que é passível de automatização e que pode ser utilizado em campo. Como foi proposto por Rohit e colaboradores em 2010 que desenvolveram um colorímetro portátil para determinação de fluoreto em águas^{14,25}.

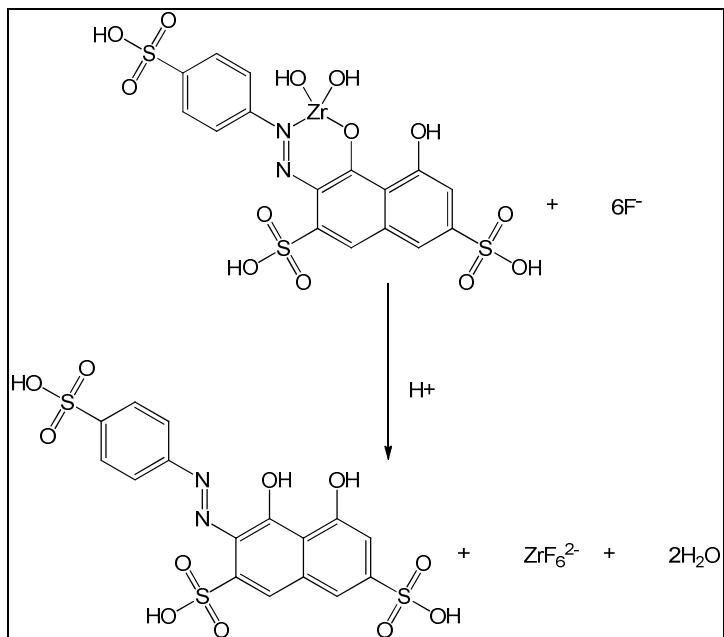


Figura 7: Reação dos íons fluoretos com o complexo Zr-SPADNS em meio ácido⁶⁵.

O método pode sofrer interferências, sendo que a interferência que causa diminuição do sinal analítico é esperada para alguns cátions que podem reagir com o fluoreto e formar complexos incolores, ou positiva que pode resultar de ânions que podem formar complexos incolores com zircônio. Na Tabela 1 estão presentes os principais interferentes encontrados na literatura, bem como as suas concentrações limites toleráveis⁶³.

Tabela 1: Interferentes do método de SPADNS em batelada^{63,64}.

Interferente ou parâmetro	Tolerância (mg L ⁻¹)	Tipo de Erro
Alcalinidade (CaCO ₃)	5000	-
Alumínio (Al ³⁺)	0,1	-
Cloreto (Cl ⁻)	7000	+
Ferro (Fe ³⁺)	10	
Fosfato (PO ₄ ³⁻)	16	+
Sulfato (SO ₄ ²⁻)	200	+

Vale ressaltar que interferência oriunda do cloro livre (Cl₂) é facilmente removida pela adição de arsenito de sódio à solução, e que também a interferência de Al(III) é intensa para medidas imediatas, mas a tolerância aumenta com o tempo, chega a 3,0 mg L⁻¹ após 2 horas do preparo das soluções e até 30 mg L⁻¹ após 4 horas⁶⁴.

2.4. Análise por Injeção em Fluxo (FIA)

A análise química por injeção em fluxo usualmente conhecida como FIA (do em Inglês – Flow Injection Analysis) é um processo de análise que tem como conceito básico a inserção da amostra em um fluido carreador que transporta a mesma até o detector. E durante o transporte a amostra pode receber reagentes, sofrer reações químicas e passar por etapas de separação, concentração, etc^{66,67}.

Inicialmente os procedimentos utilizavam um fluxo segmentado, nos quais as amostras eram transportadas através do sistema até um detector, por uma solução aquosa que continha bolhas de ar espaçadas em uma distância muito próxima, sendo denominado como Análise em Fluxo Contínuo Segmentado (SCFA – Segmented Continuous Flow Analysis). Com o sistema FIA, três novos conceitos surgiram^{68,69}:

1º. A amostra deixava de ser continuamente aspirada para o sistema em fluxo, levando assim a um menor consumo da mesma.

2º. As bolhas empregadas em SCFA para impedir a intercontaminação entre amostras foram dispensadas, e assim permitiu o aumento da frequência analítica e também a exploração dos gradientes de concentração da zona de reação.

3º. Passou-se a quantificar o analito antes mesmo que a reação entre a amostra e o reagente tivesse atingido o equilíbrio químico, e com isso levando ao aumento da frequência analítica e possibilitando a exploração de aspectos cinéticos.

Esta técnica tornou-se muito popular dentro de um curto período de tempo, devido às suas diversas vantagens, como simplicidade na instrumentação, economia no consumo de amostra e reagente, eliminação de algumas possibilidades de contaminação, diminuição da manipulação das amostras por parte do analista, melhor precisão, diminuição do custo operacional e aumento na velocidade de processamento⁷⁴.

Em geral, o processo de análise química pode ser dividido em quatro partes: propulsão dos fluidos, injeção da amostra, reação e detecção⁶⁷.

Para a propulsão dos fluidos, de acordo com a aplicação, podem ser utilizados frascos pressurizados, bombas de pistão, ação gravitacional, bombas peristálticas e bombas seringas, sendo o meio mais empregado para movimentar o fluido carregador, as soluções dos reagentes e a amostra é a bomba peristáltica. As bombas peristálticas modernas têm geralmente entre 8 a 10 cilindros metálicos em configuração circular e um suporte em meia lua que comprime, através de uma mola, um tubo plástico flexível contra os cilindros, que estão conectados a um motor, fazendo que pelos menos metade dos cilindros esteja comprimindo o tubo por determinado instante, forçando assim um fluxo contínuo do líquido.

Estes tubos são flexíveis de Tygon®, que possuem tubos de PVC (Polyvinyl chloride – Cloreto de polivinila) acoplados nas extremidades e uma das extremidades está imersa em um recipiente contendo o líquido a ser propulsionado. A velocidade do fluido pode ser controlada por duas maneiras: pela velocidade de giro do cilindro ou pelo diâmetro do tubo Tygon® utilizado^{68,70,71}.

As vantagens relacionadas a este sistema de propulsão se devem a algumas características, como: robustez, controle de vazão em um amplo intervalo e em vários canais simultaneamente, possibilidade de impulsionar e aspirar soluções e simplicidade de uso. Como limitações pode-se citar o ruído gerado na linha base pela pulsação do fluido transportador, o que é particularmente importante quando da utilização de detectores amperométricos ou voltamétricos (sensíveis à vazão), bem como, os tubos Tygon® não devem ser utilizados com soluções muito ácidas ou básicas, nem com solventes orgânicos, exceto quando uso dos tubos específicos para este fim^{70,72}.

O injetor é o dispositivo fundamental do sistema FIA, pois a introdução reprodutível de uma alíquota da solução amostra ou dos reagentes, no fluido carreador, é um dos fatores básicos para garantir bom desempenho nas metodologias baseadas em sistemas FIA. Além disso, um injetor ideal é aquele que consegue fazer com que a amostra seja injetada rapidamente como um pulso, não perturbando o fluxo da solução carreadora^{71,73}.

O primeiro modelo de injetor empregado nos primeiros trabalhos foi a seringa hipodérmica, que inseria uma alíquota da amostra no fluxo carreador através de uma perfuração realizada num septo de borracha. O sistema contendo o septo, denominado injetor, tinha uma vida útil muito curta, devido a vazamentos no septo de borracha após duas ou três dezenas de injeções. Além disso, a reprodutibilidade dependia muito da habilidade e do modo como o analista procedia a inserção⁷³.

Posteriormente, a injeção se baseou no uso de válvulas rotatórias e principalmente de injetores comutadores, que trouxeram maior estabilidade para o sistema FIA. O injetor comutador é um dispositivo constituído de três peças de acrílico, sendo duas fixas e uma móvel. A parte central pode deslocar-se em relação as duas laterais, e por meio desse movimento, o injetor coleta a amostra e insere no percurso analítico. Porém no fim da década de 80 foi proposto o emprego de válvulas solenoides de duas e três vias (Figura 8) para manipular amostras e soluções de reagentes em sistemas FIA, estas válvulas possibilitou o desenvolvimento de módulos de análise versáteis dando origem ao conceito de multicomutação e amostragem binária^{67, 70,73, 75}.

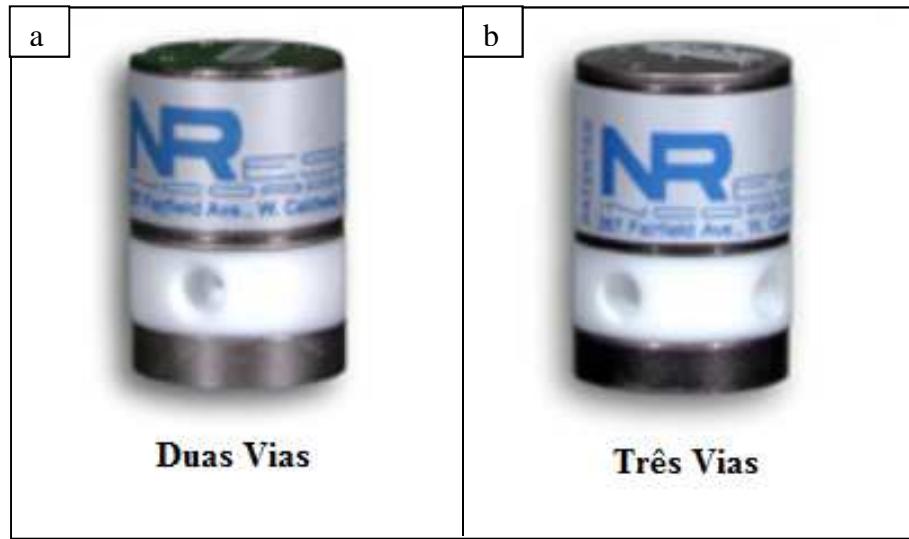


Figura 8: Modelos de válvulas solenoides (a) válvula de duas vias – 1 entrada e 1 saída, (b) válvula de três vias – 1 entrada e 2 saídas ou 2 entradas e 1 saída⁷⁶.

As válvulas de duas vias (Figura 9a) possuem um canal único, em uma das extremidades está a entrada e outra a saída e sua aplicação é controlar a injeção da solução no percurso analítico. As válvulas de três vias (Figura 9b) possuem dois canais conectados independentemente a um canal comum, por meio da ativação ou desativação de uma bobina solenoide que faz parte do dispositivo. O canal comum é geralmente considerado como o canal de entrada do fluxo, enquanto os dois canais independentes como os canais de saída do fluxo, o que permite selecionar uma das duas direções distintas do fluxo. Os dois canais de saída são perpendiculares ao canal de entrada e opostos entre si⁷⁷.

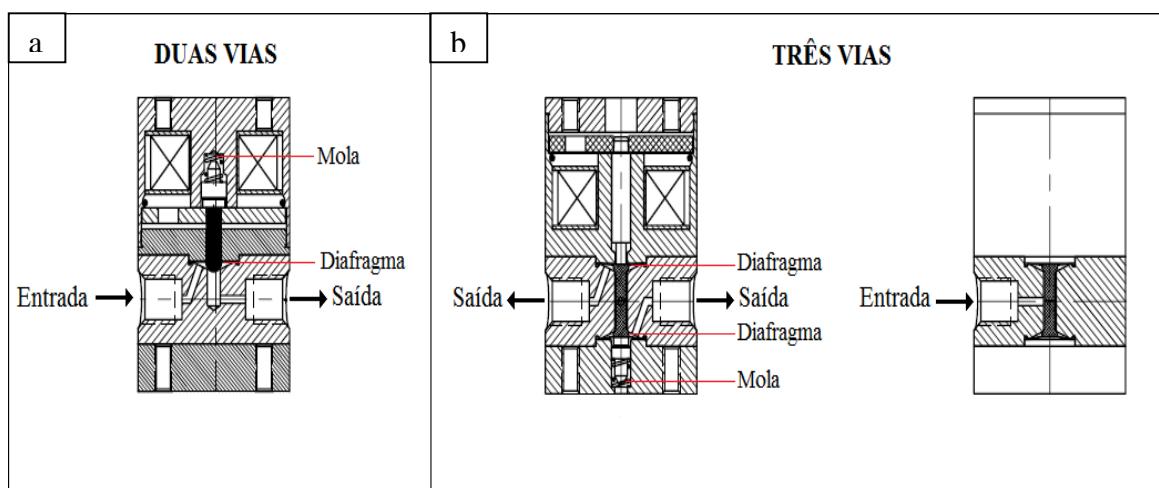


Figura 9: Descrição das válvulas solenoides (a) válvula de duas vias (b) válvula de três vias⁷⁶.

Com o emprego de válvulas solenoides pode-se criar coletores de fluxo que podem ser configurados por software, aumentando assim a versatilidade do sistema e permitindo uma utilização mais eficaz dos reagentes, pois cada válvula manipula independentemente cada solução sob o controle de um computador. Uma possibilidade de modo de operação é a recirculação das amostras ou reagente para o frasco de estocagem enquanto o carreador passa através do caminho analítico. Além disso, o volume injetado da amostra ou dos reagentes é definido pela vazão de cada uma respectivamente e também pelo tempo de injeção, que pode ser facilmente controlada pelo computador. Com base nos trabalhos que fazem uso deste tipo de injeção pode-se observar que o baixo consumo de reagentes e produção de resíduos são características inerentes deste processo, além de um menor custo operacional⁴⁷.

No percurso analítico ocorrem as reações químicas necessárias à detecção da espécie de interesse e por fim é destinado à detecção, este percurso normalmente é formado por tubos de polietileno ou politetrafluoretileno (PTFE - Polytetrafluoroethylene) de diâmetro de 0,5 a 0,8 mm, carregando volumes de ordem de 20 a 200 μL . O caminho analítico também pode apresentar bobinas reacionais, cuja configuração mais comum é a de um tubo enrolado em um bastão, possibilitando picos mais simétricos do que em outras configurações por aumentar a dispersão (Figura 10) e a mistura radial da amostra e do reagente, permitindo tempo necessário para o desenvolvimento da reação^{41,71}. Quanto aos detectores, têm sido empregados, praticamente, todos aqueles usuais em química analítica: espectrofotômetros UV-vis, espectrofotômetros de absorção atômica, potenciômetros, condutivímetros, espetrômetro de emissão atômica com plasma, além de outras possibilidades⁶⁷.

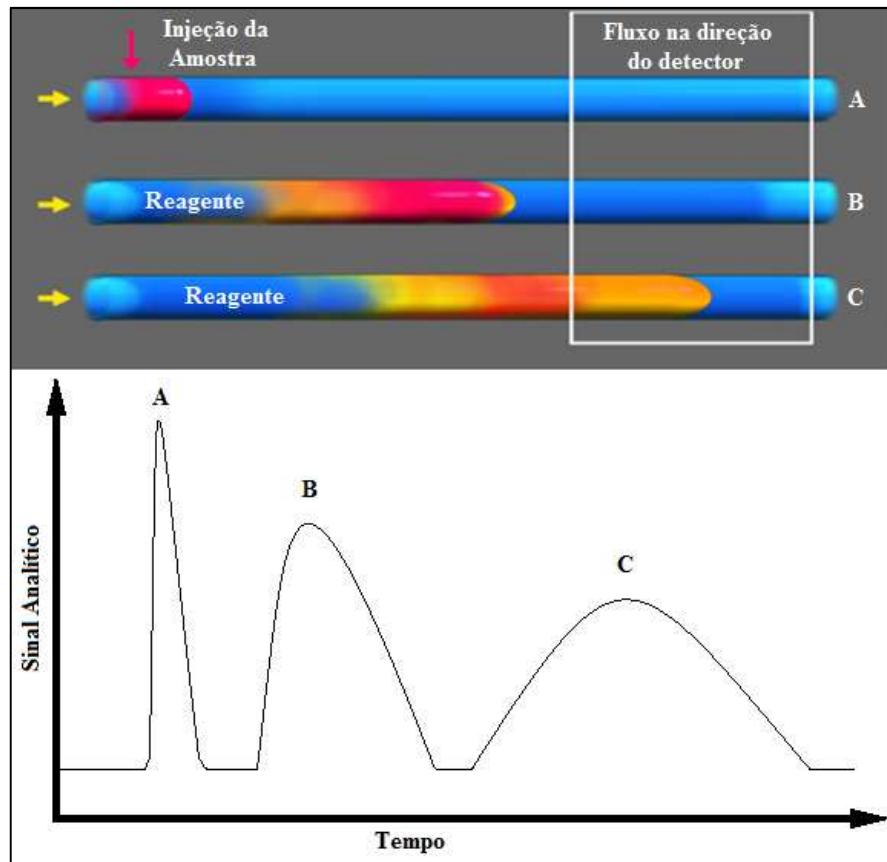


Figura 10: Efeito da dispersão em função do tempo ao injetar uma amostra num sistema FIA⁷⁸.

Em um dispositivo FIA, logo após a injeção, forma-se uma zona de amostra com um perfil de concentração retangular. Seguindo sua trajetória no percurso analítico, essa zona sofre dispersão e sua forma se altera sendo determinado por dois fenômenos apresentados na Figura 11: a convecção, que se origina da maior velocidade do fluxo laminar central do fluido em relação à velocidade do fluxo adjacente às paredes, gerando uma forma parabólica; e a difusão, que pode ser radial ou longitudinal à direção do fluxo, propiciando uma forma oval, sendo a difusão radial bem mais significativa que a difusão longitudinal e responsável pela retirada do analito das paredes do tubo, evitando a contaminação entre amostras⁷¹.

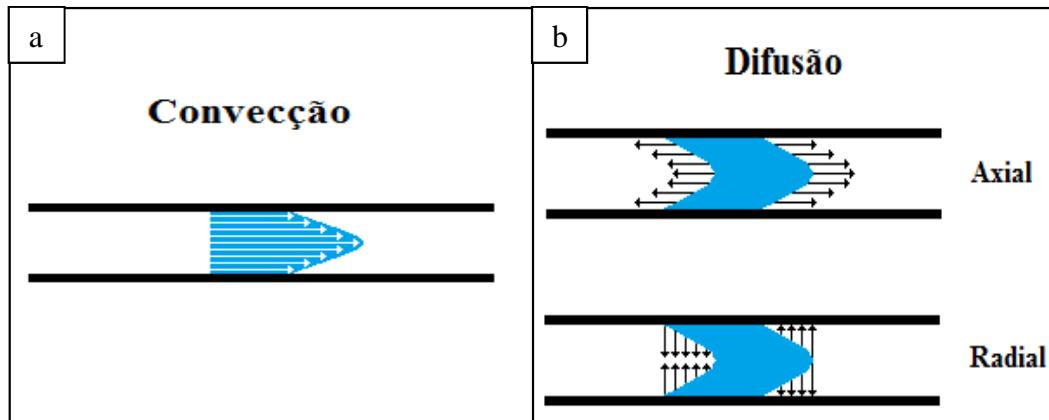


Figura 11: Representação esquemática dos fenômenos envolvidos na dispersão da amostra
 (a) convecção, (b) difusão axial e radial⁷⁹.

A dispersão é definida como a relação entre a concentração de amostra não diluída e a sua concentração depois que o processo de dispersão ocorrer, porém ela não só descreve o grau de diluição da amostra original, mas também a relação na qual a amostra foi misturada aos reagentes. No sistema FIA a dispersão pode ser bem controlada, pois quando se projeta tal sistema podemos dimensionar e alterar os diversos fatores que influenciam na dispersão. Alguns fatores estão intimamente ligados aos métodos analíticos como: viscosidade das soluções, coeficiente de difusão das espécies, reações químicas e temperatura, que são de difícil modificação. No entanto, outros, como volume da amostra injetado, o tamanho do percurso analítico, comprimento da bobina de reação e as vazões podem ser alterados com relativa facilidade para alcançar as condições desejadas na mensuração analítica⁷¹.

O sistema em fluxo mais simples e elementar é o de linha única (Figura 12a), onde o fluido carregador é o reagente. Durante o transporte a amostra se dispersa continuamente no fluido carreador, gerando um gradiente de concentração no percurso analítico, sendo que a mistura entre amostra e reagente ocorre exclusivamente por dispersão, enquanto a mesma é transportada em direção ao detector. Apesar da sua simplicidade, neste sistema encontram-se dificuldades em realizar uma mistura eficiente entre a amostra e o reagente através do fenômeno da dispersão. Isto levou ao desenvolvimento de sistemas em fluxo com adição de reagentes com uso de confluências e empregando uma solução quimicamente inerte como carreador da amostra^{47,66,67}.

Nos sistemas FIA em confluência (Figura 12b), o reagente é adicionado logo após o injetor permitindo, assim, que cada fração da amostra receba a mesma quantidade do reagente. Portanto, não se formam gradientes de concentração de reagentes dentro do percurso analítico. A partir da confluência somam-se as vazões do carreador e do reagente, então a amostra é distribuída em um espaço maior que ocupado anteriormente, o que corresponde a uma diluição da amostra. Assim, é conveniente que se conheça em que extensão a intensidade do fluxo confluente afeta a magnitude do sinal. A reação química tem início a partir da confluência, em vista disso, o percurso analítico pode ser mais curto, tendo como resultado um aumento na velocidade analítica. Além disso, a vazão do reagente poder ser então reduzida sem prejudicar a frequência analítica, tendo em vista que uma solução inerte é usada como carreador. Mas apesar da redução do volume de reagente em relação aos sistemas de linha única, a injeção contínua do reagente na confluência leva a um elevado consumo de reagentes, enquanto a amostra não está sendo processada^{47,66,67}.

Com isto houve o surgimento de sistemas com zonas coalescentes (Figura 12c) e de fluxo intermitente (Figura 12d). No primeiro caso o reagente é injetado em sincronismo com a amostra, empregando alças de amostragem, sendo o volume de reagente injetado definido pelo tamanho da alça de amostragem. Após a injeção ambos se encontram na confluência onde a reação química pode-se desenvolver adequadamente, sem prejudicar as características analíticas do sistema. Isto leva a uma boa economia de reagentes, porém torna-se inviável quando o reagente apresenta absorbância alta na mesma faixa do composto formado^{47,66,67}.

Já nos sistemas intermitentes, pode ser explorado para diminuir o tempo de limpeza sem afetar o tempo de residência da amostra ou a remoção de sólidos e/ou produtos de reação impregnados no percurso analítico. Além do potencial de alterar as condições de reação na amostragem e de etapa de injeção, o consumo de reagente pode ser reduzido de modo similar ao observado na abordagem zonas de coalescência. Com este objetivo, a solução reagente pode ser adicionada à zona de amostra por confluência durante a injeção e posteriormente ser reciclada na fase de amostragem⁴⁷.

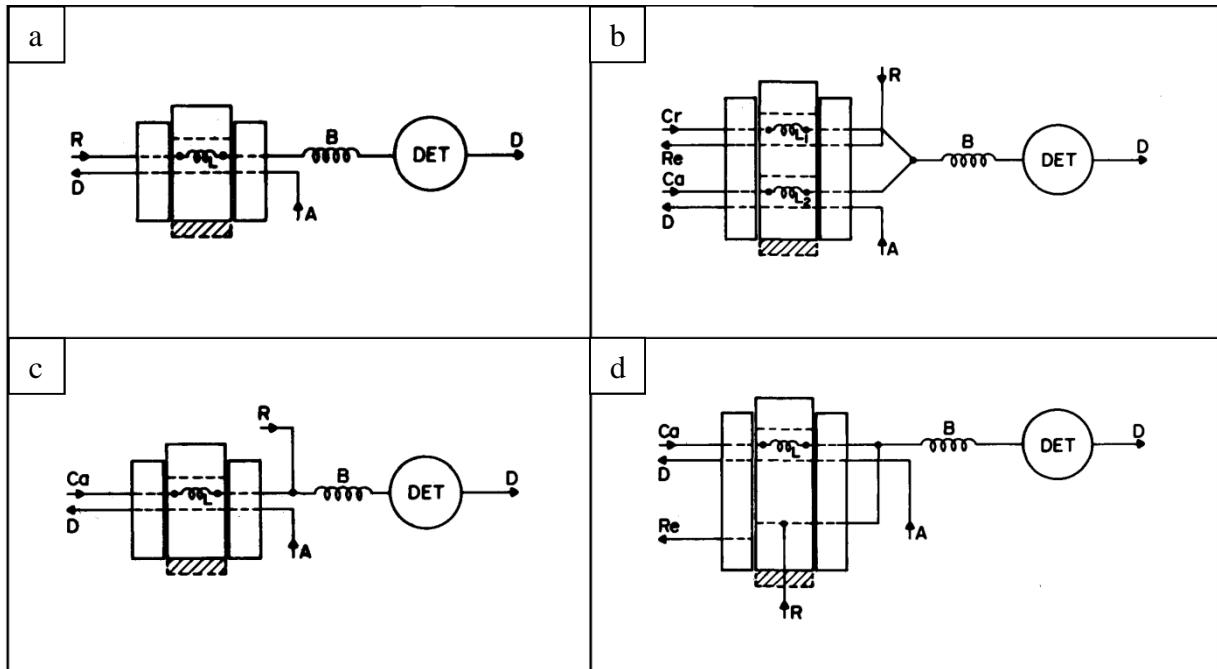


Figura 12: Categoria de sistemas FIA (a) de linha única, (b) em confluência, (c) com zonas de coalescência e (d) de fluxo intermitente. A – Amostra, B – bobina de reação, Ca – carreador, Cr – carreador do reagente, D – Descarte, DET – detector, L, L₁ e L₂ – alça de amostragem, R – Reagente e Re – Recuperação do reagente. A área achurada indica a posição ocupada pela barra central durante a amostragem⁶⁶.

O sistema de comutação e amostragem binária tem como conceito básico a inserção sequencial de pequenas alíquotas das soluções de amostra e de reagentes no percurso analítico. O sistema é constituído por válvulas solenoides controlado por um computador e funcionando como unidades de comutação discreta. Isto permitiu a manipulação de várias soluções empregando apenas um único canal de bombeamento, possibilitando assim determinações sequenciais que tornam as reações mais rápidas, pois essa se inicia na amostragem⁴³.

Alguns métodos baseados na análise por injeção em fluxo também têm sido relatados para determinação de fluoreto, com diversos modelos de sistemas de análise em fluxo, diferentes tipos de amostra, bem como usando diferentes técnicas de detecção, como apresentado na Tabela 2.

Tabela 2: Revisão dos sistemas FIA desenvolvidos para determinação de fluoreto.

Amostra	Detector	Tipo de Sistema	Referência
Resíduo de monofluorofenol	Potenciométrico	Confluência	19
Água*	Colorimétrico	Confluência	23
Água subterrânea	Colorimétrico	Confluência	25
Água de poço			
Água de represa		SPE**	30
Água de rio	Fluorimétrico	Confluência	
Água de AP			
Água de rio e AP	Fluorimétrico	Confluência	31
Enxaguante bucal			
Água de AP	Colorimétrico	Confluência	41
Água de AP	Colorimétrico	Multicomutado Binário	43
Água de Poço	Colorimétrico	GD** Confluência	44
Água de AP			
Sal de Cozinha	Potenciométrico	SPE**	45
Padrão de NaCl		Confluência	
Água de AP	Potenciométrico	SPE** Confluência	46

Siglas: AP – Abastecimento Público, GD – Gas Diffusion – (Difusão Gasosa), SPE – Solid Phase Extraction (Extração em fase sólida).

Observação: * Método não aplicado em amostra real, ** Método com etapa de pré-concentração.

2.5. Química Verde

Questões ambientais vêm sendo atualmente, um dos principais motivos de preocupação mundial, devido à quantidade de catástrofes ambientais que vem ocorrendo nas últimas décadas. Conferências internacionais como a Conferência das Nações Unidas sobre o Meio Ambiente e o Desenvolvimento (CNUMAD), denominada como ECO-92, a Cúpula Mundial sobre Desenvolvimento Sustentável (RIO+10), o Protocolo de Kyoto e a Conferência das Nações Unidas sobre Desenvolvimento Sustentável (CNUDS), conhecida como Rio+20 são exemplos dessa preocupação⁸⁰.

As atividades químicas são frequentemente relacionadas, direta ou indiretamente, à maioria desses chamados “desastres ambientais”, embora outras atividades humanas também exerçam papel importante na degradação e poluição ambientais. Isto ocorre porque de modo geral muitos procedimentos químicos envolvem a utilização de reagentes tóxicos ou a produção de resíduos perigosos. Paradoxalmente, até mesmo algumas metodologias analíticas empregadas para investigar e/ou monitorar problemas ambientais geram resíduos tóxicos, resultando em impactos ambientais⁸⁰.

Dentre os reagentes utilizados na determinação de fluoreto pelo método de SPADNS, o complexante SPADNS é um corante azo que apresentam um componente aril amina, sendo potencialmente cancerígeno. Em grandes quantidades pode causar danos ao meio ambiente comprometendo principalmente os animais, causando efeitos similares ao observado no ser humano. Por isso, esse reagente deve ser tratado como resíduo perigoso e enviado para um incinerador aprovado ou deve ser eliminado em uma instalação de resíduos aprovado. Já o oxicloreto de zircônio ($ZrOCl_2$), não apresenta informações sobre toxicidade a humanos, porém é altamente tóxico para peixes, quando alcança concentrações de $18,0 \text{ mg L}^{-1}$ em água doce com baixo teor de cálcio e magnésio (mole) e de $240,0 \text{ mg L}^{-1}$ em água doce com alto teor de cálcio e magnésio (dura)^{81,82}.

Nesse contexto, surge uma nova filosofia de desenvolvimento: a Química Verde, que é definida como “o uso de técnicas e metodologias que reduzam ou eliminem, o uso ou a geração reagentes, produtos ou co-produtos que são perigosos para saúde humana ou para o meio-ambiente”. Assim, o potencial no desenvolvimento de procedimentos analíticos voltados para a Química Verde está ligado à análise por injeção em fluxo. Isto tem levado às mudanças no projeto dos sistemas, bem como a exploração de novas abordagens de fluxo que tem levado a alternativas engenhosas para minimizar o consumo de reagentes e geração de resíduos sem prejudicar o desempenho analítico⁴⁷.

3. Objetivos

O objetivo deste trabalho foi o desenvolvimento de um sistema de análise por injeção em fluxo para determinação espectrofotométrica de fluoreto baseado no método de SPADNS e aplicação deste na análise de amostras de água abastecimento público e de água mineral. Buscando uma metodologia de análise por injeção em fluxo que seja rápida, simples, de baixo custo e que apresente alta sensibilidade, alta frequência analítica, ampla faixa linear, além de boa precisão e exatidão.

O método proposto está baseado nos princípios da “Química Verde”, ou seja, na redução do consumo de reagentes e na minimização da geração de resíduos. Neste intuito, fez uso de válvulas solenoides multicomutadas controladas por um computador, que atuam independentemente na injeção da amostra e do reagente no sistema.

4. Metodologia

4.1. Equipamentos e materiais

O sistema de análise por injeção em fluxo (FIA) foi desenvolvido com três válvulas solenoide de três vias (NResearch, West Caldwell, Nova Jérsei, Estados Unidos), tubos de polietileno (Ismatec, Alemanha, 0,80 milímetros), duas confluências de acrílico e duas bobinas de reação (Ismatec, Alemanha, 0,80 milímetros). A Minipuls TM 3 (Gilson, Villiers Le Bel, França) equipado com bomba peristáltica de oito canais e tubos Tygon® foram usados para bombear as soluções através do sistema. As válvulas solenoides foram controladas através de uma porta paralela de um microcomputador Pentium IV usando uma unidade de energia baseado em um circuito integrado ULN2803. O software de controle das válvulas foi desenvolvido em Visual Basic 6.0 (Microsoft, Seattle, Washington, Estados Unidos) pela Empresa Registrionic Automação e Controle LTDA. Este software foi usado para controlar o tempo de comutação entre o modo ligado/desligado das válvulas solenoides e também o tempo que elas permaneciam abertas ou fechadas. Para a aquisição dos dados foi utilizado o software HyperTerminal e um porta RS232C.

As medidas espectrofotométricas foram feitas em um espectrofotômetro Femto 600S (São Paulo, São Paulo, Brasil), equipado com uma célula de fluxo Hellma 178,010-OS com um volume interno de 80 μ L e 10 mm de percurso analítico. Nas análises em batelada um eletrodo combinado sensível de fluoreto HI4110 (Hanna Instruments, Rhode Island, Estados Unidos) foi utilizado a fim de avaliar a exatidão e precisão do método desenvolvido. Um pHmetro PG1800 (Gehaka, São Paulo, Brasil) foi utilizado para ajustar o pH das amostras e soluções padrões.

4.2. Reagentes e soluções

Todos os reagentes e padrões utilizados foram de grau analítico, e todas as diluições foram realizadas com água ultrapura (condutividade $< 0,07 \mu\text{S}$) obtida a partir de um sistema de purificação de água Milli-Q (Gehaka, São Paulo, Brasil). Toda a vidraria laboratorial foi previamente lavada com um detergente neutro e, depois, mantida durante à noite em banho de ácido nítrico 10% (v/v) e posteriormente enxaguada com água deionizada. A solução estoque de fluoreto de sódio de 1000 mg L⁻¹ foi preparada depois de pesar 221 mg de NaF (Merck, Darmstadt, Alemanha) em 100 mL de água deionizada e armazenada em frasco de polietileno. As soluções padrões utilizadas no desenvolvimento do método foram obtidas a partir diluição

apropriada da solução estoque e o pH foi ajustado com soluções de HCl (Scharlau, Barcelona, Espanha, 37%) e de NaOH (Vetec, Rio de Janeiro, Brasil), ambas na faixa de concentração de 0,01 – 0,1 mol L⁻¹.

A solução indicadora foi preparada pela diluição de 192 mg de SPADNS (Vetec, Rio de Janeiro, Brasil) em 100 mL de água deionizada. Para obtenção da solução ácida de cloreto de zircônio, 26,6 mg de cloreto de zircônio octa-hidratado (Vetec, Rio de Janeiro, Brasil) foi dissolvido em aproximadamente 25 mL de água deionizada, e posteriormente 20 mL de HCl (Scharlau, Barcelona, Espanha, 37%) foi adicionado à solução e em seguida o volume final foi completado a 100 mL por adição de água deionizada. As soluções de SPADNS e de cloreto de zircônio foram misturados em volumes iguais para produzir um complexo indicador, que é estável durante mais de 2 anos, se armazenado ao abrigo da luz, de acordo com dados encontrados na literatura²⁵.

A solução tampão de ajuste da força iônica total da solução (TISAB – Total Ionic Strength Adjustment Buffer), solução utilizada na análise de fluoreto pelo método ISE, foi preparada por dissolução em aproximadamente 50 mL de água deionizada, 5,8 g de cloreto de sódio (Vetec, Rio de Janeiro, Brasil), e 1,2 g de citrato de sódio (Vetec, Rio de Janeiro, Brasil) e adição de 5,7 mL de ácido acético glacial (Scharlau, Barcelona, Espanha, 100%). Em seguida, o pH desta solução foi ajustado a um pH entre 5,0 – 5,5 com auxílio de um pHmetro e a adição de uma solução de 5,0 mol L⁻¹ de NaOH (Vetec, Rio de Janeiro, Brasil), sendo essa faixa de pH a ideal para determinação de fluoreto usando um eléctrodo sensível a fluoreto.

4.3. Diagrama e sequencia analítica do sistema FIA

Um sistema de fluxo multicomutado foi concebido e optimizado para a determinação de fluoreto em amostras de água (Figura 13). Um determinado volume de solução indicadora foi injetado no fluxo do carreador (água deionizada) passando através da bobina de reação R1 para a dispersão e diluição da solução indicadora. Em seguida, um determinado volume de solução padrão do analito ou de amostra foi injetado no sistema FIA, convergindo com a alíquota de indicador disperso no carreador e passando através da bobina de reação R2 para a reação entre os íons fluoreto e o complexo Zr-SPADNS. O sistema de detecção foi ajustado para comprimento de onde de 570 nm e o sinal analítico foi baseada na altura dos picos. As medidas foram feitas em triplicata e a resposta analítica foi estimada como a diferença entre o sinal das padrão/amostras e do branco. Foi feita à otimização de vários parâmetros a fim de aumentar a sensibilidade, frequência analítica, precisão e exatidão do método, com mínimo

consumo de reagente e geração de resíduos. Para isto, foi utilizada uma solução padrão de fluoreto $1,0 \text{ mol L}^{-1}$.

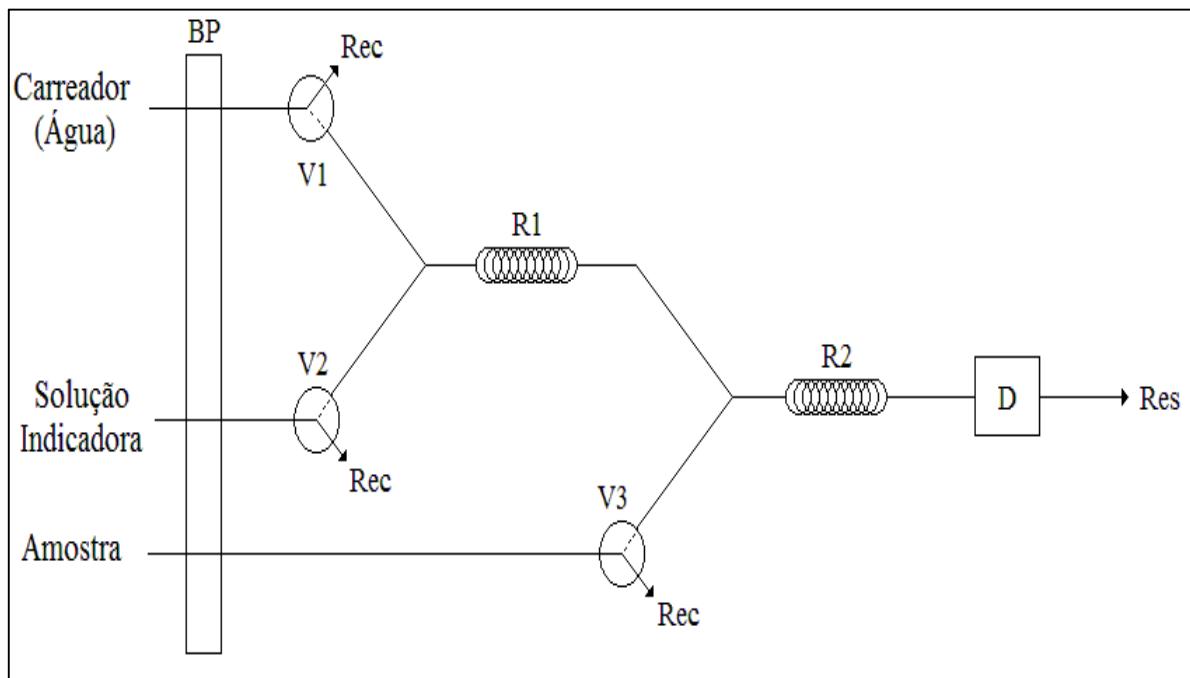


Figura 13: Diagrama do sistema de análise por injeção em fluxo para determinação de fluoreto. BP – bomba peristáltica; V1, V2 e V3 – válvula solenoides de três vias; Rec – recirculação de solução; R1 e R2 – bobinas de reação, D – detecção, W – resíduo.

4.4. Otimização do método

As variáveis do sistema em fluxo que afetam o sinal analítico na determinação do fluoreto no sistema por injeção em fluxo aqui proposto, tais como: vazão da amostra, vazão do indicador e o comprimento das bobinas de reação R1 e R2, foram inicialmente avaliadas através de um planejamento fatorial completo 2^4 com triplicatas em cada um dos níveis avaliados. O planejamento foi realizado para verificar o nível de influência de cada variável na variação do sinal analítico e determinar se há algum tipo de interação entre essas variáveis principais, a fim de determinar melhor metodologia de otimização (univariada ou multivariada). Os parâmetros estudados foram otimizados de acordo com o planejamento fatorial apresentado na Tabela 3, enquanto os demais parâmetros foram mantidos constantes, sendo estes: $250 \mu\text{L}$ de padrão de fluoreto ($1,0 \text{ mg L}^{-1}$), $50 \mu\text{L}$ de indicador ($3,4 \text{ mmol L}^{-1}$ de SPADNS, $0,8 \text{ mmol L}^{-1}$ de ZrClO_4 , $0,3 \text{ mol L}^{-1}$ de HCl) e vazão do carreador ($6,0 \text{ mL min}^{-1}$).

Tabela 3: Planejamento Fatorial Completo 2^4 aplicada na otimização dos parâmetros do sistema em fluxo.

Ensaios	Vazão da Amostra (mL min⁻¹)	Vazão do Indicador (mL min⁻¹)	Comp. de R1 (cm)	Comp. de R2 (cm)
1	1,5 (-1)	1,5 (-1)	25 (-1)	25 (-1)
2	3,0 (+1)	1,5 (-1)	25 (-1)	25 (-1)
3	1,5 (-1)	3,0 (+1)	25 (-1)	25 (-1)
4	3,0 (+1)	3,0 (+1)	25 (-1)	25 (-1)
5	1,5 (-1)	1,5 (-1)	50 (+1)	25 (-1)
6	3,0 (+1)	1,5 (-1)	50 (+1)	25 (-1)
7	1,5 (-1)	3,0 (+1)	50 (+1)	25 (-1)
8	3,0 (+1)	3,0 (+1)	50 (+1)	25 (-1)
9	1,5 (-1)	1,5 (-1)	25 (-1)	50 (+1)
10	3,0 (+1)	1,5 (-1)	25 (-1)	50 (+1)
11	1,5 (-1)	3,0 (+1)	25 (-1)	50 (+1)
12	3,0 (+1)	3,0 (+1)	25 (-1)	50 (+1)
13	1,5 (-1)	1,5 (-1)	50 (+1)	50 (+1)
14	3,0 (+1)	1,5 (-1)	50 (+1)	50 (+1)
15	1,5 (-1)	3,0 (+1)	50 (+1)	50 (+1)
16	3,0 (+1)	3,0 (+1)	50 (+1)	50 (+1)

Abreviatura: Comp. – Comprimento.

Após a realização dos experimentos do planejamento fatorial completo, foram avaliados os efeitos dos fatores e das interações entre os mesmos sobre o resultado, e para tal foi utilizado programa Statistica 8.0. Diante dos resultados encontrados, para obtenção das condições ótimas, as variáveis foram estudadas utilizando uma metodologia univariada.

Assim, de início foram avaliados os efeitos: vazão do carreador ($1,0$ a $5,0$ mL min^{-1}), vazão da amostra ($0,5$ a $5,0$ mL min^{-1}) e vazão do indicador ($0,6$ a $3,0$ mL min^{-1}) na intensidade e perfil do sinal analítico. O volume do indicador ($50 \mu\text{L}$) e a da amostra ($250 \mu\text{L}$) e a proporção volumétrica do método oficial de $1:5$ (indicador: amostra), bem como o comprimento das bobinas de reação (25 cm) foram mantidas constantes. Posteriormente foram avaliados os volumes injetados de amostra (50 a $400 \mu\text{L}$) e de solução indicadora (25 a $125 \mu\text{L}$) na intensidade e formato do sinal analítico pela alteração dos tempos de comutação das válvulas solenoides V2 e V3, e para isto utilizando as vazões constantes, anteriormente otimizadas. Finalmente os comprimentos das bobinas de reação R1 e R2 foram estudados na faixa de 10 a 100 cm, enquanto demais condições que foram anteriormente otimizadas foram mantidas constantes.

Após otimização das variáveis do sistema em fluxo, foram avaliados as variáveis na concentração do indicador que influenciam na determinação do fluoreto. Os fatores estudados foram a concentração de SPADNS, ZrOCl_2 e HCl na solução indicadora, sendo primeiramente avaliadas através de um planejamento fatorial completo 2^3 com triplicatas em cada um dos níveis avaliados. O planejamento foi realizado para verificar o efeito de influência de cada variável na variação do sinal analítico e determinar se há algum tipo de interação entre essas variáveis principais, a fim de determinar melhor metodologia de otimização (univariada ou multivariada). Os parâmetros estudados foram otimizados de acordo com o planejamento fatorial apresentado na Tabela 4, enquanto os demais parâmetros otimizados anteriormente mantidos constantes. Sendo estes os parâmetros: vazão do carreador ($3,0 \text{ mL min}^{-1}$), da amostra ($3,0 \text{ mL min}^{-1}$) e do indicador ($1,5 \text{ mL min}^{-1}$), volume de amostra ($350 \mu\text{L}$) e do indicador ($75 \mu\text{L}$), bem como o comprimento das bobinas de reação R1 e R2 (10 cm).

Tabela 4: Planejamento Fatorial Completo 2^3 para otimização da concentração do indicador.

Ensaios	[SPADNS] (mmol L ⁻¹)	[ZrOCl ₂] (mmol L ⁻¹)	[HCl] (mol L ⁻¹)
1	1,0 (-1)	0,1 (-1)	0,5 (-1)
2	10,0 (+1)	0,1 (-1)	0,5 (-1)
3	1,0 (-1)	1,0 (+1)	0,5 (-1)
4	10,0 (+1)	1,0 (+1)	0,5 (-1)
5	1,0 (-1)	0,1 (-1)	5,0 (+1)
6	10,0 (+1)	0,1 (-1)	5,0 (+1)
7	1,0 (-1)	1,0 (+1)	5,0 (+1)
8	10,0 (+1)	1,0 (+1)	5,0 (+1)

Símbolos: [SPADNS] – concentração de SPADNS, [ZrOCl₂] – concentração de zircônio e [HCl] – concentração de ácido clorídrico.

Após a realização dos experimentos do planejamento fatorial completo, foram avaliados os efeitos dos fatores e das interações entre os mesmos sobre o resultado, e para tal foi utilizado programa Statistica 8.0. Diante dos resultados encontrados para obtenção da condição ótima de experimentação um planejamento composto central (CCD – Central Composite Design) para três variáveis foi realizado, como metodologia de análise de superfície de resposta. A Tabela 5 apresenta a matriz do planejamento composto central com níveis estudados para cada variável. Após a otimização da concentração da solução indicadora de SPADNS, foi realizada uma avaliação da influência do pH da amostra na determinação de fluoreto, sendo a faixa estudada de 2,0–12,0, e também foi definido o intervalo de confiança onde a determinação pode ser realizada, sem o ajuste de pH da amostra. Assim, foi selecionada uma faixa de pH em torno de pH 7,0 em que a interferência nas medidas de fluoreto concentração 1,0 mg L⁻¹ é inferior a 10%.

Tabela 5: Planejamento Fatorial Completo 2^3 Composto com Ponto Central para otimização da concentração do indicador.

Ensaio	[SPANDS] (mmol L ⁻¹)	[ZrOCl ₂] (mmol L ⁻¹)	[HCl] (mol L ⁻¹)
1	2,5 (-1)	0,4 (-1)	1,2 (-1)
2	7,5 (+1)	0,4 (-1)	1,2 (-1)
3	2,5 (-1)	1,2 (+1)	1,2 (-1)
4	7,5 (+1)	1,2 (+1)	1,2 (-1)
5	2,5 (-1)	0,4 (-1)	3,6 (+1)
6	7,5 (+1)	0,4 (-1)	3,6 (+1)
7	2,5 (-1)	1,2 (+1)	3,6 (+1)
8	7,5 (+1)	1,2 (+1)	3,6 (+1)
9	0,8 (-1,68)	0,8 (0)	2,4 (0)
10	9,2 (+1,68)	0,8 (0)	2,4 (0)
11	5,0 (0)	0,1 (-1,68)	2,4 (0)
12	5,0 (0)	1,5 (+1,68)	2,4 (0)
13	5,0 (0)	0,8 (0)	0,4 (-1,68)
14	5,0 (0)	0,8 (0)	4,4 (+1,68)
15	5,0 (0)	0,8 (0)	2,4 (0)
16	5,0 (0)	0,8 (0)	2,4 (0)

Símbolos: [SPADNS] – concentração de SPADNS, [ZrOCl₂] – concentração de zircônio e [HCl] – concentração de ácido clorídrico.

4.5. Efeito de espécies interferentes

Em seguida foi avaliada a interferência de alguns íons na determinação do fluoreto no sistema FIA. Os principais íons interferentes encontrados nos métodos colorimétricos são alumínio, ferro, fosfato, sulfato e cloreto, e para o método em batelada de SPADNS são Al(III), Fe(III) e o íon fosfato^{27,64}. A interferência foi avaliada como a concentração limite em que esses íons causam a um desvio de 10% na concentração de fluoreto a 1,0 mg L⁻¹, sendo, portanto a interferência determinada de acordo com o estudo descrito por Bellack & Schouboe, os quais desenvolveram o método de SPADNS⁶⁴. Os interferentes que foram avaliados e a faixa de concentrações estudadas foram as seguintes: 25 a 225 µg L⁻¹ para Al(III); 2,5 a 22,5 mg L⁻¹ para Fe(III) e 0,5 a 6,0 mg L⁻¹ para PO₄³⁻.

4.6. Figuras analíticas de mérito

Após definir as melhores condições para as variáveis que afetam a intensidade e a forma do sinal analítico na determinação de fluoreto no sistema FIA, foram estabelecidas algumas características analíticas para o método proposto como: faixa de trabalho, precisão, limites de detecção e quantificação. Também foram definidos a frequência analítica do método, o consumo de reagentes e a geração de resíduo por determinação. A precisão foi representada na forma de desvio padrão relativo (DPR, %) e determinada por 12 medições em 3 pontos distintos sobre a curva analítica (alta, média e baixa). Os limites de detecção (3 vezes o valor do desvio padrão dos brancos dividido pelo coeficiente angular da equação linear da curva de calibração) e quantificação (10 vezes o valor do desvio-padrão dos brancos dividido pelo coeficiente angular da equação linear da curva de calibração) foram calculados a partir de 15 medidas do branco analítico (água deionizada).

4.7. Amostras reais

Todas as amostras de água mineral, tanto as sem gás e as com gás, utilizadas neste trabalho foram obtidas no comércio local e a amostra de água potável tratada pela empresa de saneamento local foi coletada dentro da Universidade Federal de Uberlândia no Campus Santa Mônica – Bloco 5O. As amostras não passaram por um pré-tratamento, a não ser as amostra de água mineral gaseificada que foram submetidas a um banho de ultrassom durante 5 min, antes da análise. A fim de liberar o gás da amostra e, assim, evitar a formação de bolhas no percurso analítico, que atrapalham o bom funcionamento do sistema FIA. Estas amostras foram submetidas à metodologia anteriormente otimizada.

4.8. Avaliação da exatidão e precisão

A fim de avaliar a exatidão e precisão do método desenvolvido neste trabalho foi realizada a comparação dos resultados obtidos por este método de análise por injeção em fluxo, com o método de determinação de fluoreto baseado no uso do eletrodo sensível a fluoreto. Para isso, foram utilizadas equações matemáticas a fim de comparar a exatidão e precisão dos dois métodos, através da aplicação do teste *t* e também do teste *F*, respectivamente.

A metodologia é baseada na determinação de fluoreto, utilizando um eletrodo combinado sensível a fluoreto e um potenciômetro de mediação de pH conectado ao eletrodo, realizando as determinações de fluoreto em unidades de milivoltagem (mV). Assim, os padrões de calibração foram preparados através da diluição adequada de uma solução padrão de fluoreto 100 mg L^{-1} . Posteriormente foram preparadas as soluções de análise, ou seja, a curva de calibração e as amostras, para isso 5 mL de padrão ou amostra foram pipetadas em um tubo de polipropileno de 15 mL e foram adicionados a estas soluções 5 mL da solução tampão TISAB, sendo que todas as amostras foram preparadas em triplicata.

Este tampão é utilizado para que as soluções tenham a mesma força iônica e, portanto, os coeficientes de atividade sejam os mesmos em todas as soluções submetidas à determinação. Além disso, o pH deve se manter na faixa de 5,0–5,5 a fim de evitar interferências na análise. Em pH menor que 5,0 há formação de HF e para ser determinado o fluoreto deve estar livre em solução, e como o método é muito sensível a interferências de íons OH^- , as determinações devem ser realizadas em pH inferior a 5,5. Neste tampão também há adição de citrato de sódio, que age como mascarante para os íons Al(III) e Fe(III), que podem interferir por formar complexos estáveis com o fluoreto. O citrato forma um complexo estável com estes cátions permitindo a determinação de fluoreto livre do efeito interferente desses íons.

Nestas soluções foram feitas as medidas através da imersão do eletrodo na solução, com cuidado e atenção, para evitar a formação de bolhas na superfície do eletrodo, a fim de não produzir leituras errôneas ou flutuações nos valores. O eletrodo foi mantido submerso em solução por um tempo de 3 minutos a fim de alcançar estabilidade na medida e reproduzibilidade entre as determinações.

5. Resultados e discussão

5.1. Otimização do método

Na otimização do sistema proposto, os efeitos de vários parâmetros analíticos foram investigados no sistema FIA, incluindo a vazão (carreador, amostra e indicador), o volume (amostra e indicador), o comprimento da bobina de reação (R1 e R2), o pH da amostra e a concentração do indicador (SPADNS, $ZrOCl_2$ e HCl). O sinal analítico foi baseado na altura do pico, e foi estimado como a diferença entre os sinais analíticos do padrão/amostra e do branco. A otimização destes parâmetros levou em consideração o aumento da sensibilidade analítica na determinação de fluoreto usando uma solução padrão de fluoreto $1,0 \text{ mol L}^{-1}$ em todos os estudos.

Inicialmente os seguintes parâmetros do sistema em fluxo: vazão (indicador e amostra) e comprimento das bobinas de reação (R1 e R2) foram otimizados utilizando um planejamento fatorial completo 2^4 . O planejamento foi realizado para verificar o nível de influência de cada variável na variação do sinal analítico e determinar se há algum tipo de interação entre essas variáveis principais, a fim de determinar melhor metodologia de otimização (univariada ou multivariada). Os parâmetros e níveis estudos, bem como os resultados obtidos nos experimentos são apresentados na Tabela 6, os resultados obtidos foram tratados utilizando análise de variâncias (ANOVA – Analysis Of Variance), admitindo-se um nível de confianças de 95%.

Como mostrado no diagrama de Pareto na Figura 14, as variáveis principais do tipo: vazão da amostra, vazão do indicador e comprimento da bobina de reação R1 apresentaram um efeito significativo na magnitude do sinal. Verificou-se que a vazão do carreador tem efeito positivo no sinal, ou seja, em há uma tendência de aumento no sinal com aumento da vazão do carreador. Já para a vazão do indicador, o comprimento da bobina de reação R1 e o comprimento da bobina de reação R2, esse efeito é negativo, ou seja, há uma tendência de aumento no sinal analítico com a diminuição da vazão do indicador e do comprimento das bobinas de reação R1 e R2. No entanto, como não houve interação entre os parâmetros avaliados, a otimização univariada foi realizada para avaliação do efeito dos parâmetros do sistema em fluxo.

Tabela 6: Resultados obtidos para planejamento fatorial completo 2^4 na otimização dos parâmetros do sistema em fluxo.

Ensaio	Vazão da Amostra (mL min ⁻¹)	Vazão do Indicador (mL min ⁻¹)	Comp. de R1 (cm)	Comp. de R2 (cm)	A Média*
1	1,5 (-1)	1,5 (-1)	25 (-1)	25 (-1)	0,074
2	3,0 (+1)	1,5 (-1)	25 (-1)	25 (-1)	0,115
3	1,5 (-1)	3,0 (+1)	25 (-1)	25 (-1)	0,068
4	3,0 (+1)	3,0 (+1)	25 (-1)	25 (-1)	0,129
5	1,5 (-1)	1,5 (-1)	50 (+1)	25 (-1)	0,087
6	3,0 (+1)	1,5 (-1)	50 (+1)	25 (-1)	0,149
7	1,5 (-1)	3,0 (+1)	50 (+1)	25 (-1)	0,050
8	3,0 (+1)	3,0 (+1)	50 (+1)	25 (-1)	0,129
9	1,5 (-1)	1,5 (-1)	25 (-1)	50 (+1)	0,087
10	3,0 (+1)	1,5 (-1)	25 (-1)	50 (+1)	0,145
11	1,5 (-1)	3,0 (+1)	25 (-1)	50 (+1)	0,040
12	3,0 (+1)	3,0 (+1)	25 (-1)	50 (+1)	0,110
13	1,5 (-1)	1,5 (-1)	50 (+1)	50 (+1)	0,092
14	3,0 (+1)	1,5 (-1)	50 (+1)	50 (+1)	0,123
15	1,5 (-1)	3,0 (+1)	50 (+1)	50 (+1)	0,108
16	3,0 (+1)	3,0 (+1)	50 (+1)	50 (+1)	0,121

Abreviatura: Comp. – Comprimento, Absorb. – Absorbância. Símbolo: * Experimento em triplicata.

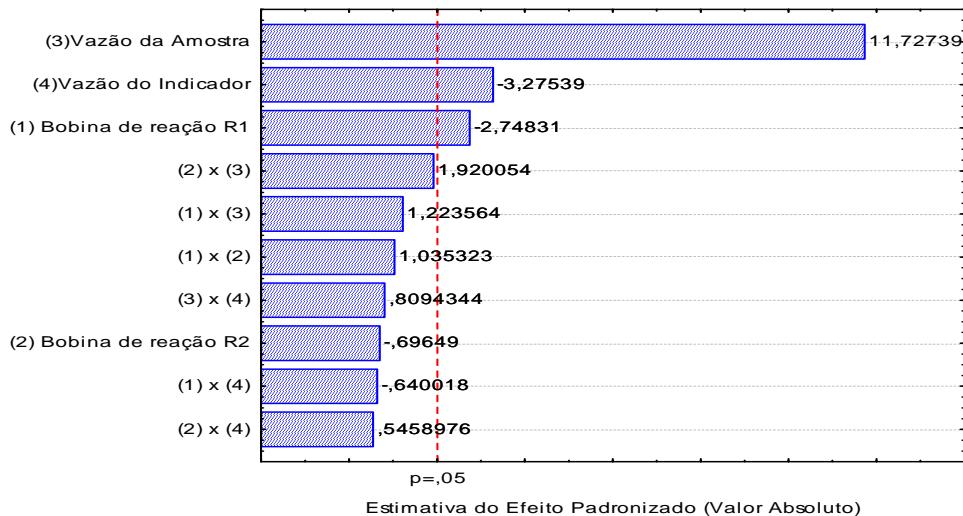


Figura 14: Diagrama de Pareto obtido no estudo de otimização das variáveis do sistema em fluxo na determinação de fluoreto.

O efeito da vazão sobre a forma, largura e intensidade dos picos foi investigada nos seguintes intervalos: 1,0–5,0; 0,5–5,0; 0,6–3,0 mL min^{-1} para carreador, amostra e indicador, respectivamente. Mantendo o volume constante do indicador (50 μL) e a da amostra (250 μL) e a proporção volumétrica do método oficial de 1:5 (indicador: amostra). Como pode ser visto na Figura 15, verificou-se um aumento da absorbância com o aumento da vazão do carreador e da amostra até 3,0 mL min^{-1} e uma diminuição acentuada do sinal em vazões mais elevadas. Este efeito ocorre devido à diluição da solução indicadora em ambos os estudos e, também, devido à diluição da amostra no estudo da vazão do carreador.

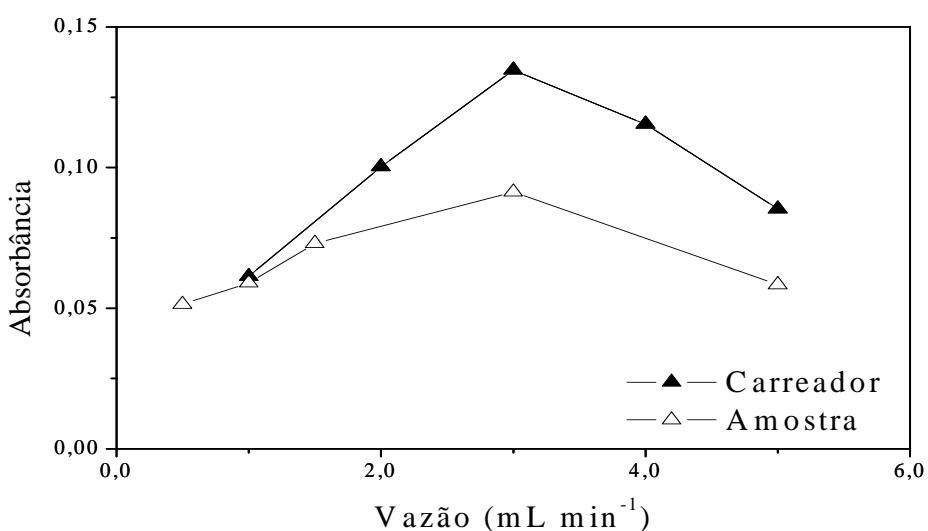


Figura 15: Efeito da vazão do carreador e da amostra na intensidade do sinal.

Como observado na Figura 16, com o aumento da vazão do indicador há um aumento na intensidade do sinal, isso se deve ao aumento da concentração do complexo Zr-SPADNS no percurso analítico. O pequeno aumento no sinal quando se aumenta a vazão de 1,5–3,0 mL min^{-1} se opõe ao efeito negativo observado no diagrama de Pareto quando se aumenta a vazão do indicador na mesma faixa. Isso ocorre porque, no desenho experimental a vazão do carreador que foi utilizada nos experimentos foi de 6,0 mL min^{-1} , enquanto que na otimização univariada da vazão do indicador, a vazão de carreador que foi utilizada foi de 3,0 mL min^{-1} . Com isso, o efeito de diluição do indicador foi mais pronunciado no planejamento fatorial, do que na otimização univariada da vazão de indicador, o que justifica essa diferença na variação do sinal observada entre estes dois experimentos. As vazões ótimas encontradas para o carreador e a amostra foram de 3,0 mL min^{-1} , para o indicador foi de 1,5 mL min^{-1} , sendo que estes valores foram mantidos constantes nos estudos posteriores.

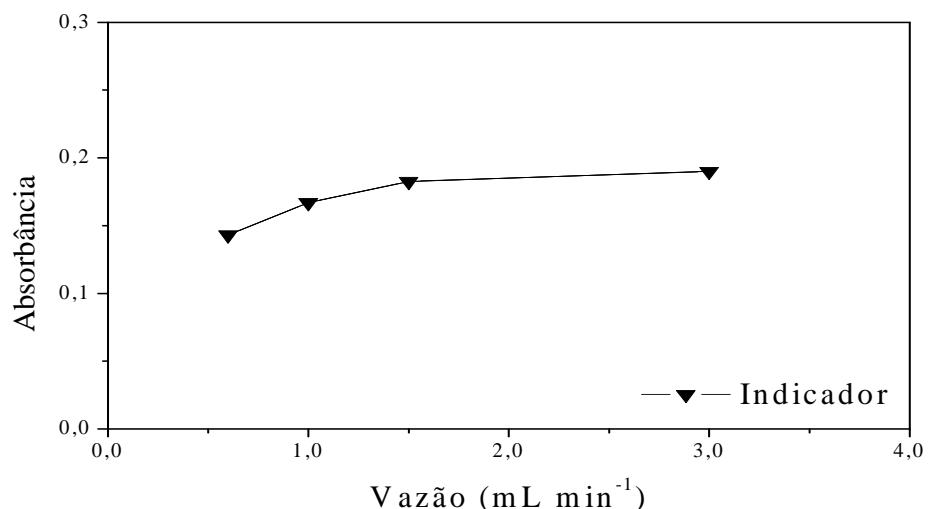


Figura 16: Efeito da vazão do indicador na intensidade do sinal.

Os volumes da solução indicadora e de amostra foram então otimizados pela alteração dos tempos de comutação das válvulas solenoides V2 e V3, em vazões constantes, anteriormente otimizadas. Como observado na Figura 17, o aumento do volume de amostra injetada no sistema leva a um aumento do sinal analítico na faixa de 50 a 350 μL e posteriormente se mantém praticamente constante com o aumento do volume. Esse aumento se deve ao aumento da concentração de íons fluoretos no percurso analítico para reagir com o indicador em solução.

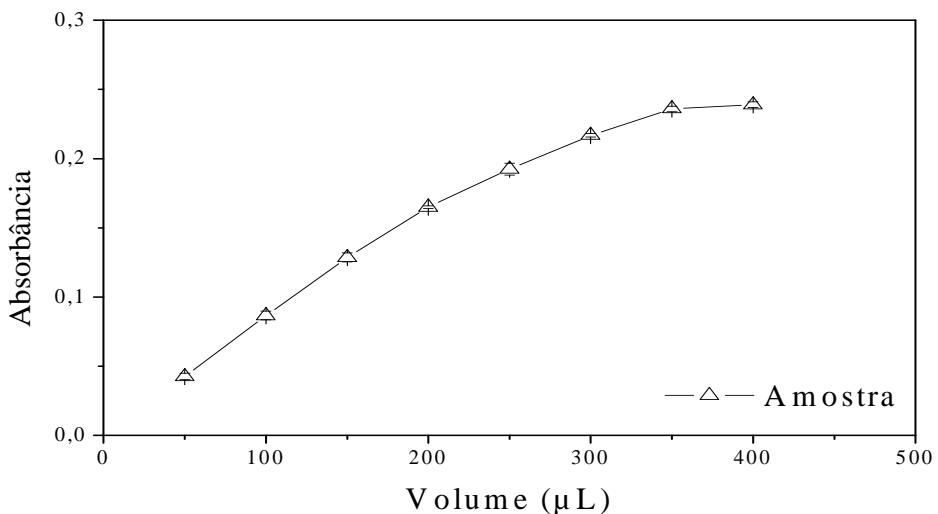


Figura 17: Efeito do volume da amostra na intensidade do sinal.

Um efeito similar foi observado na variação do volume de indicador injetado na solução como se pode ver na Figura 18, porém o aumento na intensidade do sinal ocorre na faixa de 25 a 75 μL e posteriormente se mantém constante. Isso se deve ao aumento da concentração do indicador no sistema, porém em volumes maiores esse efeito não é pronunciado, pois há um excesso de indicador em solução para reagir com os íons fluoreto, o que não leva a um aumento na sensibilidade do método. Assim, as melhores respostas encontradas foram de 75 μL para a solução indicadora e 350 μL da amostra, mantendo a fração volumétrica do método oficial de 1:5. Os valores ótimos encontrados foram aplicados nas experiências subsequentes.

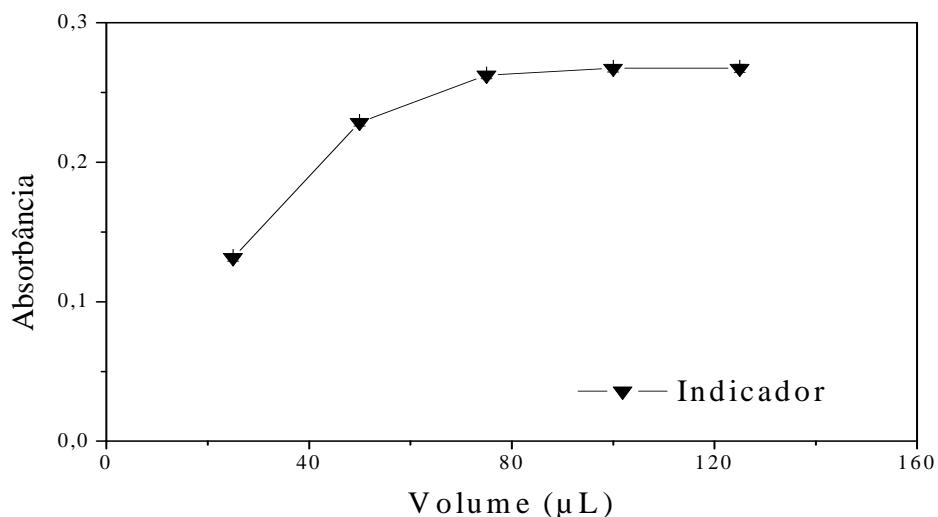


Figura 18: Efeito do volume do indicador na intensidade do sinal.

Em seguida, foram otimizados os comprimentos das bobinas de reação (R1 e R2) pela variação do comprimento na faixa de 10–100 cm. Na Figura 19 pode-se observar que o aumento do comprimento da bobina levou a uma queda no sinal analítico, devido ao aumento da dispersão do indicador e da amostra no percurso analítico. Os valores ótimos para o comprimento das bobinas de reação (R1 e R2) obtidos e aplicados em testes subsequentes foi de 10 cm.

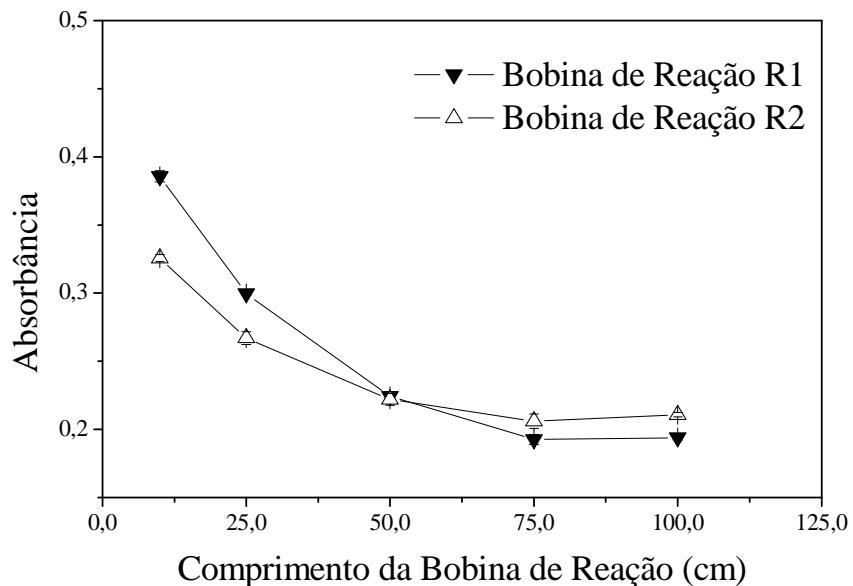


Figura 19: Efeito do comprimento das bobinas (R1e R2) na intensidade do sinal.

Um planejamento fatorial completo 2^3 foi utilizado na otimização da concentração da solução indicadora, no intuito de determinar as variáveis significativas e avaliar se há interações significativas entre essas variáveis, e assim, definir qual a melhor metodologia (univariada ou multivariada) de otimização. Os parâmetros e níveis estudos, bem como os resultados obtidos nos experimentos foram exibidos na Tabela 7, sendo que os resultados obtidos foram tratados utilizando ANOVA, admitindo-se um nível de confianças de 95%.

Tabela 7: Resultados obtidos no planejamento fatorial completo 2^3 na otimização da concentração do indicador.

Ensaio	[SPADNS] (mmol L ⁻¹)	[ZrOCl ₂] (mmol L ⁻¹)	[HCl] (mol L ⁻¹)	Absorbância Média*
1	1,0 (-1)	0,1 (-1)	0,5 (-1)	0,076
2	10,0 (+1)	0,1 (-1)	0,5 (-1)	0,062
3	1,0 (-1)	1,0 (+1)	0,5 (-1)	0,148
4	10,0 (+1)	1,0 (+1)	0,5 (-1)	0,144
5	1,0 (-1)	0,1 (-1)	5,0 (+1)	0,010
6	10,0 (+1)	0,1 (-1)	5,0 (+1)	0,098
7	1,0 (-1)	1,0 (+1)	5,0 (+1)	0,062
8	10,0 (+1)	1,0 (+1)	5,0 (+1)	0,209

Símbolos: [SPADNS] – concentração de SPADNS, [ZrOCl₂] – concentração de zircônio, [HCl] – concentração de ácido clorídrico e * experimento em triplicata.

Como mostrado no diagrama de Pareto na Figura 20, as variáveis principais tais como ([ZrOCl₂], [SPADNS] e [HCl]) e as interações secundárias entre os fatores de ([SPADNS]x[HCl] e [ZrOCl₂]x[SPADNS]) mostraram um efeito significativo na magnitude do sinal. O efeito observado no diagrama de Pareto foi positivo para as variáveis principais do tipo: [SPADNS] e [ZrOCl₂]. Assim, há uma tendência de aumento do sinal analítico, quando se aumenta a concentração de SPADNS ou ZrOCl₂ nas condições avaliadas. Já para a variável principal do tipo [HCl], esse efeito é negativo, ou seja, quando se diminui a concentração de HCl, nas condições estudadas, há um aumento na intensidade do sinal analítico. Já para as interações secundárias com efeito significativo observadas no diagrama de Pareto, estas são positivas, ou seja, ao seguir a tendência determinada pelo efeito principal nas duas variáveis, o resultado é favorável e positivo. Como no estudo foi observado que as interações secundárias apresentaram um efeito significativo na intensidade do sinal analítico, a otimização desses parâmetros foi realizada por um método multivariado.

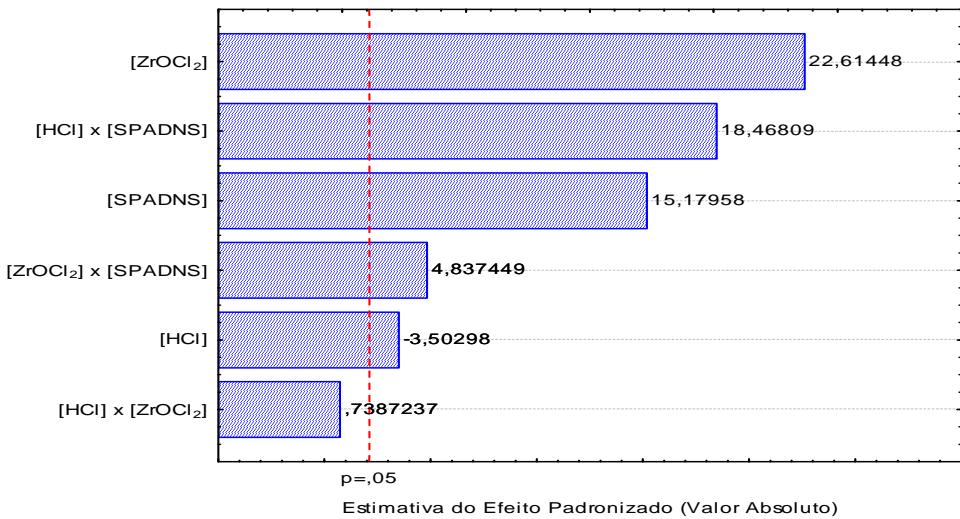


Figura 20: Diagrama de Pareto obtido no estudo de otimização das variáveis da concentração do indicador para determinação de fluoreto.

Tendo por base os resultados obtidos para o comportamento das variáveis através do planejamento factorial fracionário, a otimização do método foi realizada através da metodologia de superfície de respostas, utilizando um planejamento composto central, para as variáveis concentrações de $ZrOCl_2$, SPADNS e HCl. Os níveis estudados foram escolhidos de acordo os resultados obtidos no planejamento fatorial, sendo estes e os resultados obtidos nos experimentos apresentados na Tabela 8.

As superfícies de resposta obtidas são apresentadas nas Figura 21, Figura 22 e Figura 23. Como se pode observar todas as superfícies apresentam perfil de ponto máximo e as equação do efeito das variáveis normalizadas obtida neste estudo é apresentado abaixo. Através dessas equações é possível calcular o ponto crítico de cada superfície, ou seja, o ponto de máxima absorção que se pode obter em uma concentração teórica. Sendo esse valor de ponto crítico obtido pelas equações utilizadas nos experimentos consecutivos e utilizando os cálculos realizados pelo programa Statistic 8.0. Os valores máximos obtidos para cada uma dessas variáveis foram as concentrações de $7,0 \text{ mmol L}^{-1}$ para SPADNS, $0,8 \text{ mmol L}^{-1}$ para $ZrOCl_2$ e $3,3 \text{ mol L}^{-1}$ de HCl.

$$\begin{aligned}
 \text{Abs} = & 0,261 + 0,028[\text{SPADNS}] - 0,032 [\text{SPADNS}]^2 - 0,031 [\text{ZrOCl}_2]^2 \\
 & + 0,014[\text{HCl}] - 0,026[\text{HCl}]^2 + 0,031[\text{SPADNS}][\text{HCl}]
 \end{aligned}$$

Tabela 8: Planejamento Fatorial Completo 2^3 Composto com Ponto Central para otimização da concentração do indicador.

Ensaios	[SPADNS] (mmol L ⁻¹)	[ZrOCl ₂] (mmol L ⁻¹)	[HCl] (mol L ⁻¹)	Absorbância Média*
1	2,5 (-1)	0,4 (-1)	1,2 (-1)	0,206
2	7,5 (+1)	0,4 (-1)	1,2 (-1)	0,184
3	2,5 (-1)	1,2 (+1)	1,2 (-1)	0,180
4	7,5 (+1)	1,2 (+1)	1,2 (-1)	0,136
5	2,5 (-1)	0,4 (-1)	3,6 (+1)	0,155
6	7,5 (+1)	0,4 (-1)	3,6 (+1)	0,244
7	2,5 (-1)	1,2 (+1)	3,6 (+1)	0,142
8	7,5 (+1)	1,2 (+1)	3,6 (+1)	0,241
9	0,8 (-1,68)	0,8 (0)	2,4 (0)	0,074
10	9,2 (+1,68)	0,8 (0)	2,4 (0)	0,226
11	5,0 (0)	0,1 (-1,68)	2,4 (0)	0,112
12	5,0 (0)	1,5 (+1,68)	2,4 (0)	0,194
13	5,0 (0)	0,8 (0)	0,4 (-1,68)	0,136
14	5,0 (0)	0,8 (0)	4,4 (+1,68)	0,197
15	5,0 (0)	0,8 (0)	2,4 (0)	0,266
16	5,0 (0)	0,8 (0)	2,4 (0)	0,258

Símbolos: [SPADNS] – concentração de SPADNS, [ZrOCl₂] – concentração de zircônio e [HCl] – concentração de ácido clorídrico e * experimento em triplicata.

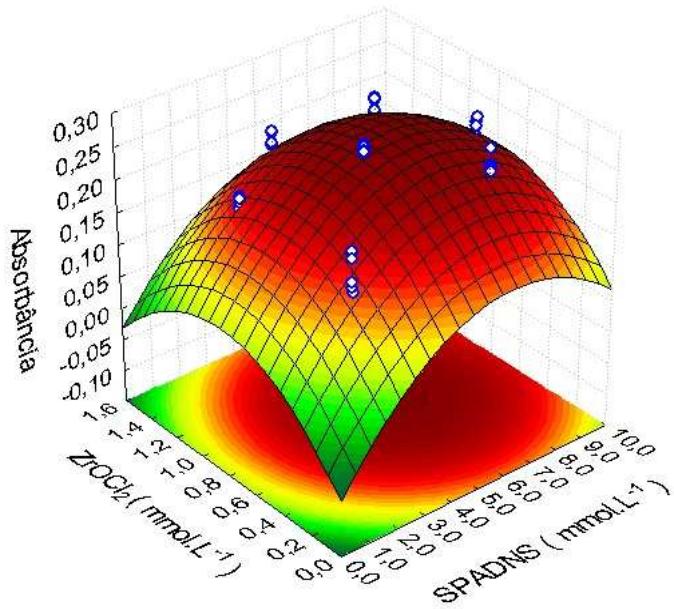


Figura 21: Superfície de resposta obtida no planejamento composto central para [SPADNS] versus [ZrOCl₂] versus Absorbância.

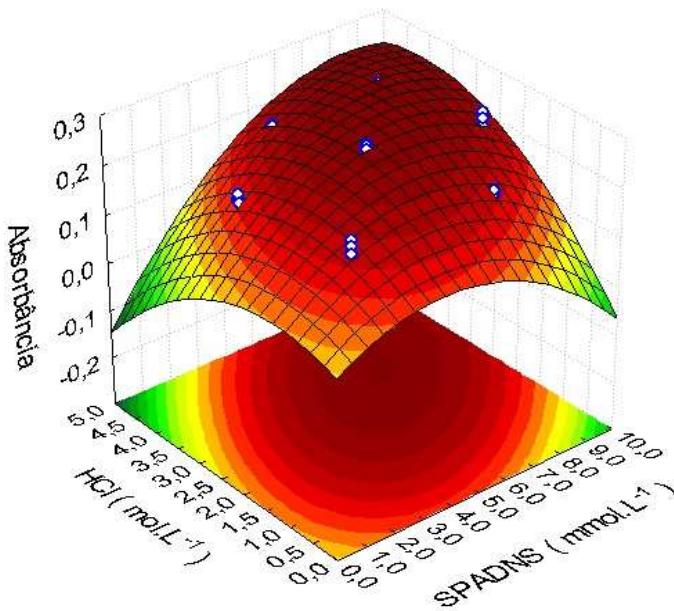


Figura 22: Superfície de resposta obtida no planejamento composto central para [SPADNS] versus [HCl] versus Absorbância.

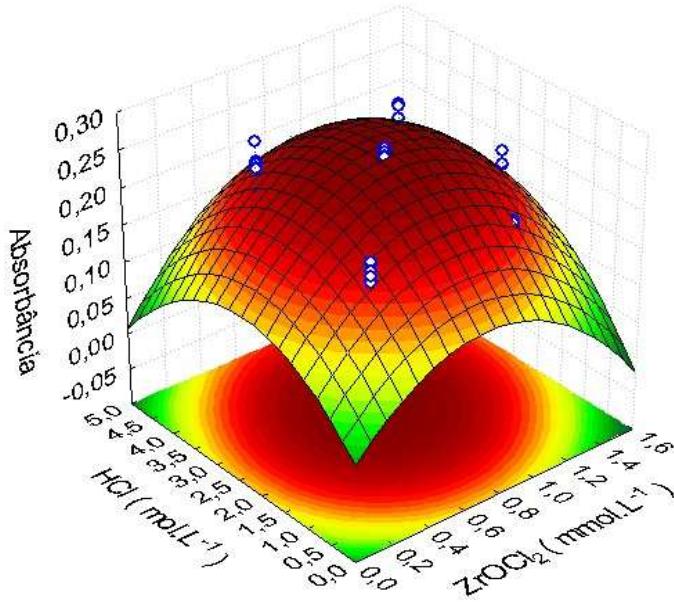


Figura 23: Superfície de resposta obtida no planejamento composto central para $[\text{ZrOCl}_2]$ versus $[\text{HCl}]$ versus Absorbância.

Um resumo dos intervalos das variáveis estudadas na etapa de optimização e os valores selecionados é apresentado na Tabela 9.

Tabela 9: Variáveis estudadas e otimizadas para determinação de fluoreto.

Variáveis	Faixa Estudada	Valor Ótimo
Vazão do Carreador (mL min^{-1})	1.0 – 5.0	3.0
Vazão da Amostra (mL min^{-1})	0.5 – 5.0	3.0
Vazão do Indicador (mL min^{-1})	0.6 – 3.0	1.5
Volume de Amostra (μL)	50 – 400	350
Volume de Indicador (μL)	25 – 125	75
Comprimento bobina de reação R1 (cm)	10 – 100	10
Comprimento bobina de reação R2 (cm)	10 – 100	10
Concentração de SPADNS(mmol L^{-1})	0.8 – 9.2	7.0
Concentração de ZrOCl_2 (mmol L^{-1})	0.1 – 1.5	0.8
Concentração de HCl (mol L^{-1})	0.4 – 4.4	3.3

Testes adicionais foram realizados para avaliar o efeito do pH da amostra no sinal analítico do sistema otimizado, nos quais as amostras de fluoreto de $1,0 \text{ mg L}^{-1}$ foram avaliadas na faixa de pH de 2,0-12,0. Na Figura 24 pode-se observar uma diminuição linear no sinal analítico com o aumento do pH da amostra. De acordo com a literatura a sensibilidade do método aumenta quanto maior a acidez do indicador, assim o efeito é o mesmo observado na variação do pH da amostra⁶⁴. Baseado no estudo de interferência proposto por Bellack & Schouboe em 1958, no desenvolvimento do método de SPADNS em batelada, selecionou-se uma faixa de pH em torno de pH 7,0, em que as medidas das amostras podem ser realizadas sem a necessidade de ajuste do pH, em que a interferência nas medidas de fluoreto $1,0 \text{ mg L}^{-1}$ é inferior a 10%, ou seja, a concentração oscila na faixa de 0,9 a 1,1 mg L^{-1} . Este intervalo de confiança é mostrado na Figura 25 e foi determinado como a faixa de pH que varia de 2,8 a 11,0. Portanto, pode-se concluir que não há necessidade de realizar ajuste de pH de amostras de água de abastecimento público, bem como de água mineral, que se encontrem em pH próximo de 7,0.

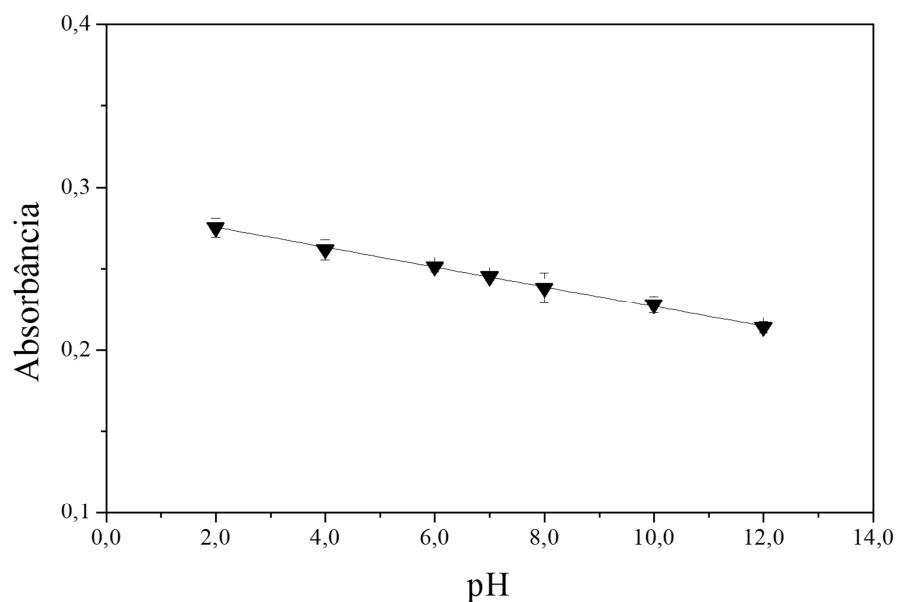


Figura 24: Efeito do pH na intensidade do sinal.

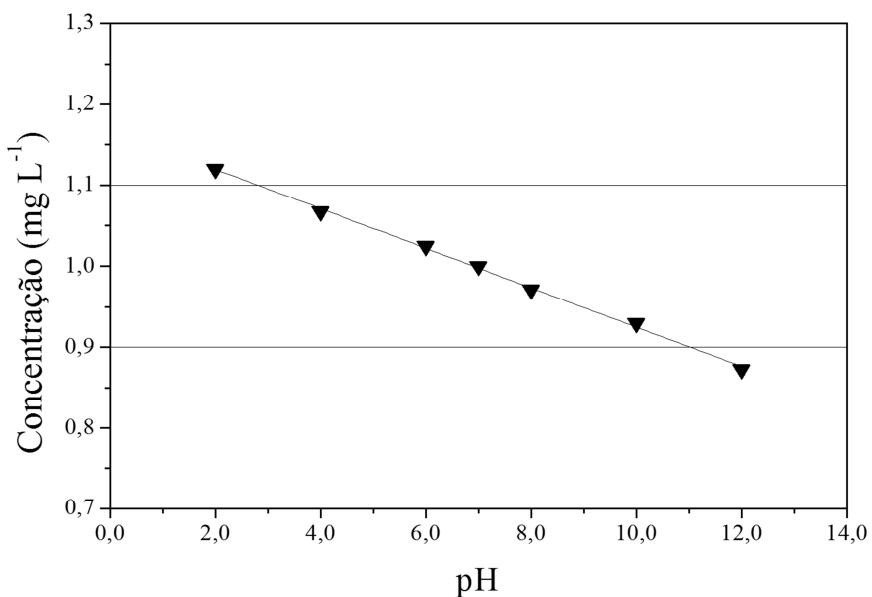


Figura 25: Intervalo de confiança para determinação de fluoreto.

5.2. Efeito de espécies interferentes

No método proposto, a interferência negativa é esperada para alguns cátions que podem reagir com íons fluoreto em solução e formar complexos estáveis com fluoreto, e assim, estes íons não estão disponíveis para reagir com o indicador. Enquanto a interferência positiva pode resultar de ânions que podem formar complexos com zircônio causando a liberação do ligante SPADNS e assim variando a absorbância do meio, da mesma forma que ocorre quando o complexo Zr-SPADNS reage com o fluoreto. Para o método em batelada de SPADNS são Al(III), Fe(III) e o íon fosfato⁶⁴. Assim, o limite de concentração dos interferentes associado a um desvio de 10% na concentração de fluoreto a 1,0 mg L⁻¹ foi determinada de acordo com o método oficial desenvolvido por Bellack & Schouboe⁶⁴. As concentrações máximas toleráveis obtidas neste estudo foram de 0,2; 20,0 e 4,0 mg L⁻¹ de Al(III), Fe(III) e de PO₄³⁻, respectivamente, sendo o efeitos de interferência obtidas para estes íons apresentadas nas Figura 26, Figura 27, Figura 28.

Estes limites para as concentrações de Al(III) e Fe(III) são duas vezes maiores do que pelo método em batelada e os valores de PO₄³⁻ são quatro vezes mais baixa. Este efeito ocorreu devido alteração da proporção dos reagentes SPADNS e ZrOCl₂ na etapa de otimização da concentração do indicador, neste estudo houve aumento da concentração de SPADNS em relação ao método em batelada, porém a concentração de ZrOCl₂ se manteve praticamente constante. Assim, com maior concentração de SPADNS no meio reacional, há a

diminuição do efeito da interferência dos íons Al(III) e Fe(III) na determinação do fluoreto, pois estes complexam com SPADNS livre em solução e deixam o fluoreto disponível para reagir com o complexo Zr-SPADNS. Mas como a concentração de $ZrOCl_2$ ficou praticamente constante e há excesso de SPADNS, o método tornou-se mais sensível na determinação dos íons fluoretos em solução, porém, o mesmo ocorreu para os interferentes aniónicos que reagem de modo similar ao íon fluoreto com o complexo Zr-SPADNS, como é o caso do íon PO_4^{3-} .

As concentrações destes íons são maiores do que os estabelecidos pela legislação brasileira para qualidade da água potável. Como as amostras de água de abastecimento público e água mineral que estão de acordo com a legislação apresentam concentrações destes interferentes abaixo dos valores que causam interferência no método^{3,83}. O método proposto pode ser aplicado sem qualquer pré-tratamento para as amostras de água potável e água mineral, com a exceção das amostras de água com elevada salinidade.

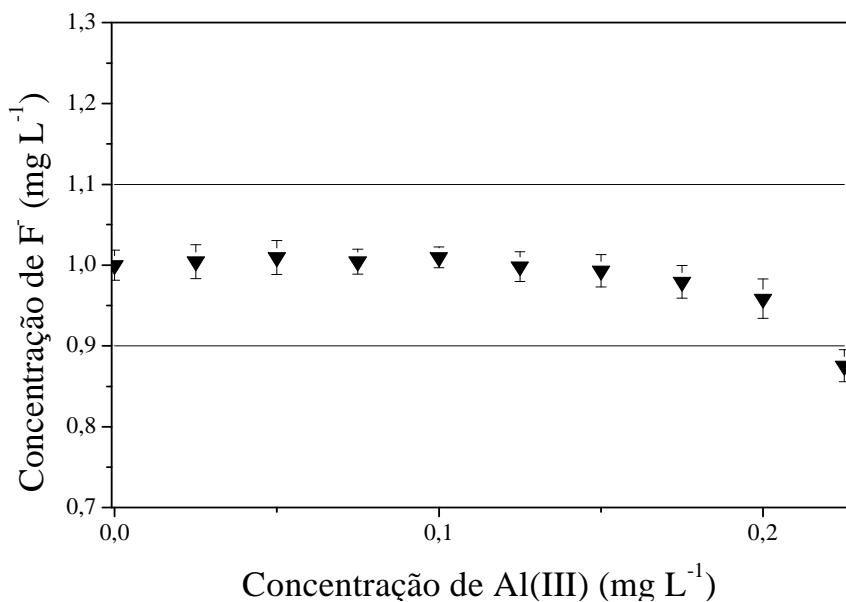


Figura 26: Interferência do Al(III) na determinação de fluoreto no método FIA.

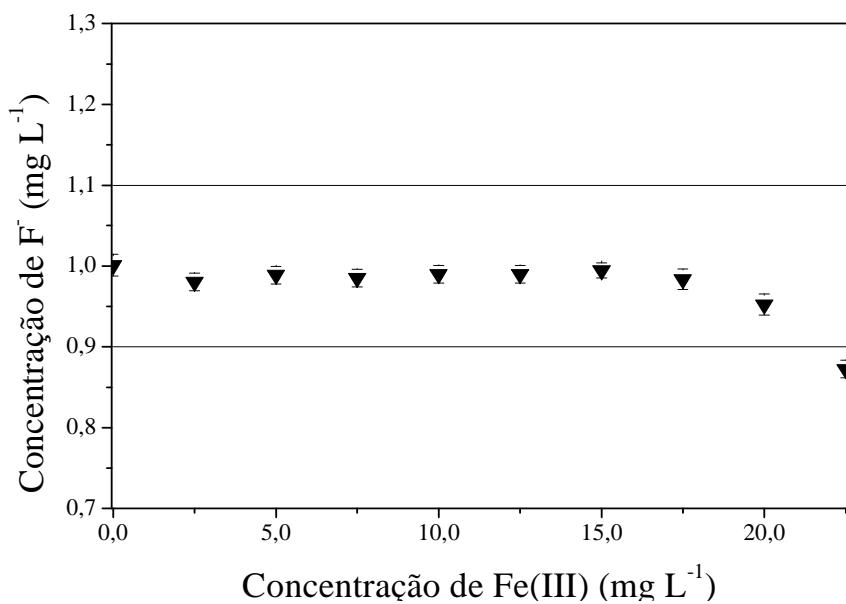


Figura 27: Interferência do Fe(III) na determinação de fluoreto no método FIA.

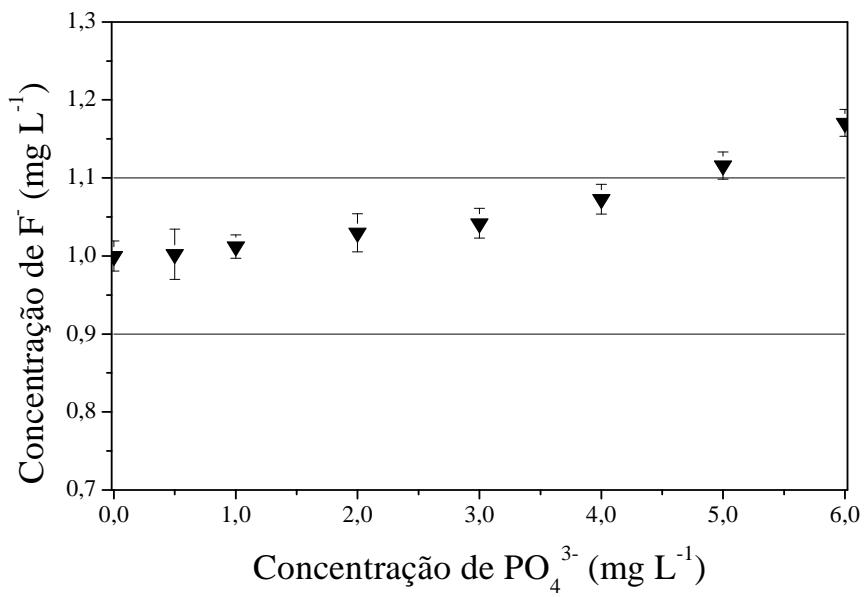


Figura 28: Interferência do fosfato na determinação de fluoreto no método FIA.

5.3. Figuras analíticas de mérito

A curva de calibração obtida pelo método de análise em fluxo otimizado é apresentada na Figura 29 mostrando linearidade no intervalo de 0,1–2,2 mg L⁻¹ de íons fluoreto e o perfil do sinal obtido na construção da curva de calibração é exibido na Figura 30. A equação da curva de calibração foi $Y = -0,17816X + 1,43055$ e o coeficiente de co-relação linear foi de 0,99924, em que Y e X são a altura de pico para a absorbância e a concentração dos íons fluoreto em mg L⁻¹, respectivamente. O limite de detecção (LD) foi de 0,02 mg L⁻¹, sendo este valor igual a 3 vezes o desvio padrão do branco dividido pela a inclinação da curva de calibração (sensibilidade do método). O limite de detecção (LQ) foi de 0,05 mg L⁻¹, sendo este valor igual a 10 vezes o desvio padrão do branco dividido pela sensibilidade do método. O desvio padrão relativo (DPR, %) de 12 medidas em 3 pontos distintos sobre a curva (alta, média e baixa) foi de 4,1%, e a frequência analítica foi de 60 análises/hora. Em relação ao consumo dos reagentes de SPADNS, ZrOCl₂ e HCl (37%) os valores estimados foram de 150,0 µg, 10,3 µg e 20,5 µL, respectivamente, com 3,5 mL de resíduos gerados por determinação.

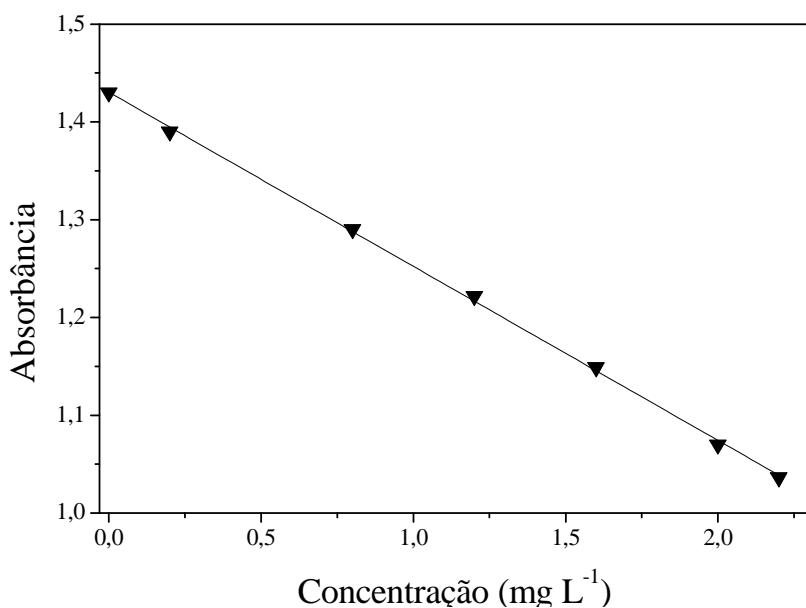


Figura 29: Curva de calibração obtida pelo sistema em fluxo em condições otimizadas.

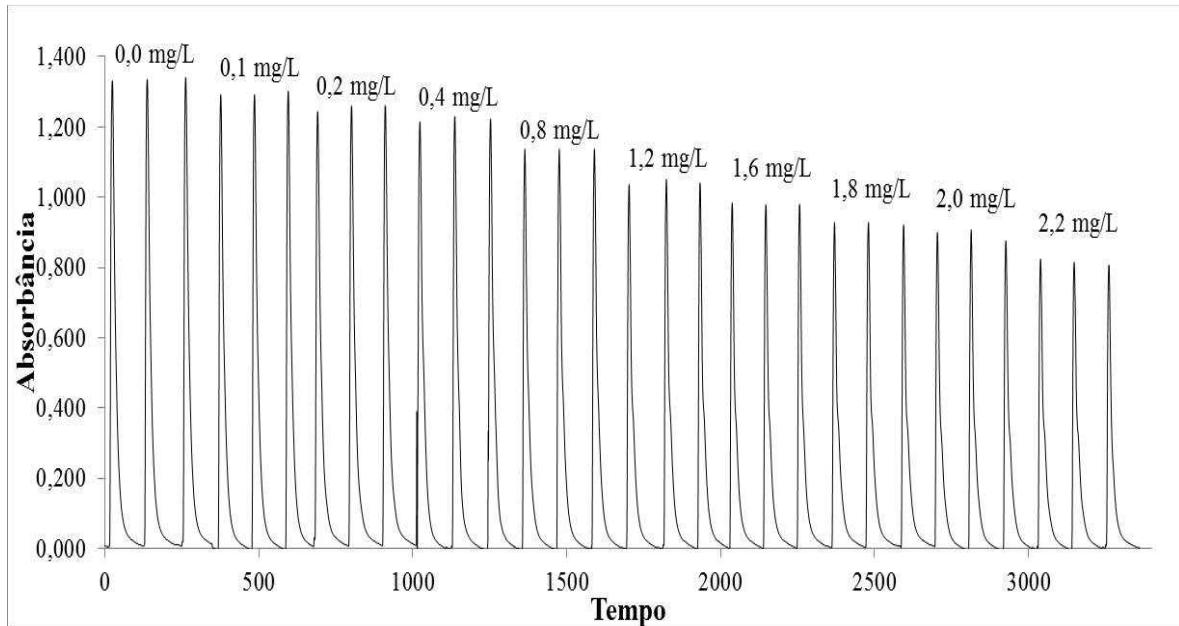


Figura 30: Perfil do sinal analítico da curva de calibração.

5.4. Aplicações analíticas e avaliação da exatidão e precisão do método

O método proposto foi aplicado à água de torneira, água mineral sem gás e água mineral gaseificada. As amostras não passaram por um pré-tratamento, a não ser as de água mineral gaseificada, que foram submetidas a um banho de ultrassom durante 5 min, antes da análise, a fim de liberar o gás da amostra. Os resultados obtidos neste estudo estão apresentados na Tabela 10, juntamente com os valores obtidos utilizando o método ISE para avaliar a precisão e exatidão do método proposto aplicando-se o teste t e teste F.

Um "teste t pareado" teste de significância revelou que as diferenças observadas entre os valores médios para os dois métodos não foram significativas dentro da probabilidade de 95%, e em todos os casos o $t_{calculado}$ era inferior ao $t_{tabelado}$. O maior valor observado foi de 2,4 para o $t_{calculado}$, que se aproximou do valor do $t_{tabelado}$ de 2,4. A precisão e a exatidão do método foram confirmadas pelo teste F, onde os valores de $F_{calculado}$ foram menores do que $F_{tabelado}$. O maior valor observado foi de 4,8 para $F_{calculado}$ e 19,2 foi o valor para o $F_{calculado}$.

Como observado na Tabela 10, todas as amostras analisadas apresentaram baixas concentrações de fluoreto e esses estão dentro dos valores indicados pela Organização Mundial da Saúde¹³. O método proposto pode ser aplicado para amostras com altas concentrações de fluoreto, como as encontradas por Garrido e colaboradores, que determinaram altas concentrações de fluoreto ($até 4,76 \text{ mg L}^{-1}$) em amostras de água na Argentina³⁰.

Tabela 10: Determinação de fluoreto em amostras de água e avaliação da exatidão e precisão do método proposto.

Amostra	Método Proposto (mg L ⁻¹)	Método ISE (mg L ⁻¹)	t _c	t _t	F _c	F _t
A ^a	0.13 (\pm 0.03)	0.14 (\pm 0.02)	0.6	2.4	2.7	19.2
B ^a	0.47 (\pm 0.02)	0.49 (\pm 0.02)	1.8	2.4	1.2	19.2
C ^a	0.10 (\pm 0.02)	0.12 (\pm 0.02)	2.1	2.4	1.0	19.2
D ^b	0.12 (\pm 0.02)	0.14 (\pm 0.02)	1.6	2.4	1.7	19.2
E ^b	0.43 (\pm 0.03)	0.45 (\pm 0.03)	2.4	2.4	2.8	19.2
F ^c	0.47 (\pm 0.04)	0.47 (\pm 0.04)	0.4	2.4	4.8	19.2

Siglas: t_c – t calculado, t_t – t tabelado, F_c – F calculado e F_t – F tabelado, ^a Amostra de água mineral sem gás, ^b Amostra de água mineral com gás, ^c Amostra de água da torneira.

5.5. Comparação do sistema FIA

O sistema proposto foi comparado com outros sistemas FIA concebidos para a determinação de fluoreto disponível na literatura, baseados em determinação fluorimétrica ou colorimétrica e que não apresentam etapas de pré-concentração na metodologia, como mostra a Tabela 11.

O sistema desenvolvido por Cardwell e colaboradores (1988) apresenta as seguintes vantagens: ampla faixa linear, alta frequência analítica e baixa geração de resíduos. Porém, o método apresenta um alto consumo de indicador e são utilizados dois ácidos na composição do indicador, sendo estes o ácido clorídrico e o ácido sulfúrico. O método proposto apresenta como vantagem o uso de um volume de indicador 20 vezes menor do que o desenvolvido por Cardwell e utiliza somente o ácido clorídrico para preparar o indicador²³.

Já o sistema desenvolvido por Arancibia e colaboradores (2004), que também é baseado no método de SPADNS, apresenta as seguintes desvantagens: menor faixa linear, alto limite de detecção, alto consumo de reagentes, alta geração de resíduos, e baixa frequência analítica. Embora o método de Arancibia e colaboradores (2004) ofereça uma alta tolerância à interferência de sulfato (característica da amostra em estudo), é necessário um processamento dos dados e existe um maior consumo de reagentes (SPADNS, $ZrOCl_2$ e HCl) uma vez que realiza uma injeção contínua da solução de indicadora no sistema²⁵.

Tabela 11: Características analíticas dos procedimentos em fluxo para determinação de fluoreto.

Método	Faixa ($mg\ L^{-1}$)	Limite de Detecção ($mg\ L^{-1}$)	Volume de Indicador (mL)	Resíduo Gerado (mL)	Frequência Analítica (h^{-1})	Referência
Colorimétrico	0,1–10,0	-	1,5	2,4	100	Cardwell e colab. ²³
Colorimétrico	0,2–1,4	0,1	1,5	4,2	40	Arancibia e colab. ²⁵
Fluorimétrico	0,02–0,95	0,02	2,8	6,4	13	Nakaya e colab. ³¹
Colorimétrico	0,3–5,0	0,08	2,1	3,3	80	Alvares ⁴¹
Colorimétrico	0,3–1,8	0,06	0,128	1,2	45	Teixeira ⁴³
Colorimétrico	0,1–2,2	0,02	0,075	3,5	60	Proposto

O método desenvolvido por Nakaya e colaboradores (2011) apresenta como vantagem um baixo coeficiente de variação, porém apresenta as seguintes desvantagens: estreita faixa linear, alto consumo de amostra e de indicador, baixa frequência analítica e maior geração de resíduos³¹. Já o método proposto por Alvares em 2010 tem como vantagens: uma ampla faixa linear, uma alta frequência analítica e um baixo volume de resíduo gerado, porém o método apresenta um alto limite de detecção e quantificação, um consumo maior de reagentes, além de apresentar um alto coeficiente de variação (8%)⁴¹.

Algumas características apresentados pelo sistema proposto são muito próximas das encontradas no sistema em fluxo multicomutado e binário desenvolvido por Teixeira em 2010, apesar do método proposto não apresentar um injeção binária de reagente e amostra no percurso analítico. Como vantagens o método de Teixeira apresentou uma menor geração de resíduos e um menor coeficiente de variação (3,5%), porém possui um faixa linear estreita, alto limite de detecção e quantificação. Vale ressaltar que o consumo de reagente obtido por Teixeira foi maior e a frequência analítica menor, mesmo levando em consideração o uso de mini-bombas solenoides e o sistema ser baseado numa injeção binária de reagente e amostra, que levaria a um menor consumo de reagentes e uma maior frequência analítica, respectivamente⁴³.

O baixo volume de indicador utilizado no presente método em comparação com aqueles descritos na literatura é devido ao uso de uma válvula solenoides, o que permite a recirculação da solução e também a injeção controlada do reagente no sistema, enquanto que os outros sistemas realizam a injeção direta do indicador no sistema. Assim, de modo geral, o método desenvolvido nesse estudo é simples e suas vantagens incluem um baixo LD, ampla faixa linear, alta frequência analítica, baixo consumo de reagente e geração de resíduos, o que torna esse um método rápido e de baixo custo e mais ecológico.

Em comparação com o processamento em batelada proposto por Bellack & Schouboe em 1958 e sendo considerado um dos métodos oficiais para determinação de fluoreto em amostras de água, o método proposto permite uma economia de reagentes e uma menor produção de resíduos. Além disso, nas condições otimizadas apresenta uma faixa linear maior do que a do método em batelada, como pode ser visto na Tabela 12. Outros fatores notáveis são a maior frequência analítica do método proposto e uma menor intervenção do analista, reduzindo o potencial de erros gerados pela manipulação da amostra^{11,13,49,61,63}.

Tabela 12: Características analíticas do método desenvolvido e no método em batelada.

Características Analíticas	SPADNS em batelada	Método desenvolvido
Consumo de Amostra	50,0 mL	350,0 μ L
Consumo de SPADNS	9,58 mg	150,0 μ g
Consumo de $ZrOCl_2$	1,33 mg	10,3 μ g
Consumo de HCl	3,5 mL	20,5 μ L
Resíduo gerado	60 mL	3,5 mL
Faixa Linear	0–1,4 mg L ⁻¹	0,1–2,2 mg L ⁻¹

6. Conclusões

O desenvolvimento de um sistema em fluxo baseado na injeção controlada da amostra e do indicador, através do uso de válvulas solenoides, permitiu a determinação de fluoreto em água potável de abastecimento público e de água mineral empregando o método de SPADNS. O procedimento pode ser aplicado com sucesso para a determinação de fluoreto nestas amostras e os valores de concentração obtidos neste trabalho estão de acordo com os do método ISE, o que prova a exatidão do método. As amostras de água analisadas estão em conformidade com os teores de fluoreto estabelecidos pela legislação brasileira ($1,5 \text{ mg L}^{-1}$)³ e não necessitam de etapas de pré-tratamento da amostra, exceto no caso de amostras gaseificadas.

A metodologia desenvolvida neste estudo é simples, rápida, econômica, semiautomatizada e ecológica, seguindo alguns dos princípios da “Química Verde”, como diminuição do consumo de reagentes e do resíduo gerado na análise. Além disso, o procedimento desenvolvido minimiza o risco de contaminação das amostras por se tratar de um sistema fechado. Em comparação com outros sistemas, o sistema FIA aqui proposto oferece de modo geral as seguintes vantagens: maior frequência analítica, ampla faixa linear, menor consumo de reagentes e amostras, e menor geração de resíduos, coeficiente de variação e limite de detecção.

A utilização de planejamentos fatoriais mostrou ser uma ferramenta importante para a otimização do método, uma vez que forneceu informações essenciais sobre os efeitos que cada variável exerce na intensidade e na forma do sinal analítico na determinação dos íons fluoretos, bem como suas interações entre as variáveis principais, colaborando na escolha da melhor modo de otimização do sistema. Além disso, com o uso de planejamentos fatoriais e da superfície de resposta foi possível atingir a condição ótima de experimentação com reduzido número de experimentos, que diminuiu o tempo, custos e geração de resíduos, colaborando com os princípios da “Química Verde”.

REFERÊNCIAS

- 1 FRAZÃO, P.; PERES, M.A.; JAIME, A.C. Qualidade da água para consumo humano e concentração de fluoreto. **Revista Saúde Pública**, v. 45, n. 5, p. 964-973, Out. 2011.
- 2 CAZOTTI, C.A.; FRANCISCO, K.M.S.; FILHO, D.L.G.; PRESTA, A.A.; MOIMAZ, S.A.S. Teor de flúor na água de poços superficiais. **Bioscience Journal**, v. 28, n. 3, p. 494-499, Maio/Jun. 2012.
- 3 BRASIL. Ministério da Saúde. Portaria Nº 2.914 de 12 de Dezembro de 2011. Dispõe sobre os procedimentos de controle e de vigilância da qualidade da água para consumo humano e seu padrão de potabilidade. **Diário Oficial da União**, Brasília, n. 239, p. 39-46, 14 dez. 2011. Disponível em: <http://bvsms.saude.gov.br/bvs/saudelegis/gm/2011/prt2914_12_12_2011.html>. Acesso: 02 jan. 2013.
- 4 D'AGUILA, P.S.; ROQUE, O.C.C.; MIRANDA, C.A.S.; FERREIRA, A.P. Avaliação da qualidade de água para abastecimento público do Município de Nova Iguaçu. **Caderno de Saúde Pública**, v. 16, n. 3, p. 791-798, Jul./Set. 2000.
- 5 SANCHES, S.M.; VIEIRA, E.M.; PRADO, E.L.; TAKAYANAGUI, A.M.M. Qualidade da água de abastecimento público de Ribeirão Preto em área de abrangência do Aquífero Guarani: determinação de metais e nitrato. **Revista Ambiente & Água**, v. 5, n. 2, p. 202-216, 2010.
- 6 MELO, D.C.S. Utilização de águas subterrâneas para abastecimento público - Experiência da COPASA MG no Triângulo Mineiro. In: Congresso Brasileiro de Águas Subterrâneas, 12., 2002, Florianópolis. **Anais do XII Congresso Brasileiro de Águas Subterrâneas**. Florianópolis, ABAS, 2002. Disponível em: <<http://aguassubterraneas.abas.org/asubterraneas/article/view/22566/14815>>. Acesso: 06 mar. 2013.
- 7 ABRE. Brasileiros consomem mais água mineral. Desenvolvido pela Associação Brasileira de Embalagem. 1998-2012. Apresenta novidades, informação e legislação relacionadas à produção e desenvolvimento de diversos tipos de embalagens. Disponível em: <<http://www.abre.org.br/noticias/brasileiros-consomem-mais-agua-mineral/>>. Acesso: 30 nov. 2012.
- 8 RAMIRES, I.; GREC, R.H.C.; CATTAN, L.; MOURA, P.C.; LAURIS, J.R.P.; BUZALAF, M.A.R. Avaliação da concentração de flúor e do consumo de água mineral. **Revista Saúde Pública**, v. 38, n. 3, p. 459-465. Jun. 2004.
- 9 EDMUNDS, M.; SMEDLEY, P. Fluoride in natural waters. In **Essentials of Medical Geology, Impacts of the Natural Environment on Public Health**. Amsterdam: Elsevier Academic Press, 2005, 812 p. Bibliography: p. 301-328, ISBN: 0126363412
- 10 SHEN, F.; CHEN, X.; GAO, P.; CHEN, G. Electrochemical removal of fluoride ions from industrial wastewater. **Chemical Engineering Science**, v. 58, n. 3-6, p. 987-993, Feb./Mar. 2003.
- 11 CLESCERI, L.S.; EATON, A.D.; GREENBERG, A.E.; RICE, E.W. **Standard Methods for the Examination of Water and Wastewater**. Washington: American Public Health Association, 2005, 1600 p. Bibliography: p. 4-79, ISBN: 08-755-3047-8.
- 12 OGUZ, E. Adsorption of fluoride on gas concrete materials. **Journal of Hazardous Materials B**, v. 117, n. 2-3, p. 227-233, Jan. 2005.
- 13 WORLD HEALTH ORGANIZATION. **Guidelines for Drinking-water Quality**. [Electronic resource]: Geneva, IWA Publishing, 2006. 595 p. Available in: <http://www.who.int/water_sanitation_health/dwq/gdwq0506.pdf>. Accessed: nov. 06 2012.

- 14 ROHIT; KANWAR, L.; RAO, K.K. Development of a low-cost portable colorimeter for the estimation of fluoride in drinking water. **Sensors and Actuators B: Chemical**, v. 149, n. 1, p. 245-251, Aug. 2010.
- 15 PANAGOULIAS, T. I.; SILVA FILHO, E. V. Estudo hidrogeoquímico do flúor nas águas subterrâneas das bacias dos Rios Casseribú, Macacu e São João, Estado do Rio de Janeiro. In: SILVA, C.R., FIGUEIREDO, B.R.; CAPITANI, E.M.; CUNHA, F. G. Geologia Médica no Brasil. Efeitos dos materiais e fatores geológicos na saúde humana e meio ambiente. Rio de Janeiro: CPRM, 2006, p. 126-129.
- 16 KOBLAR, A.; TAVČAR, G.; PONIKVAR-SVET, M. Fluoride in teas of different types and forms and the exposure of humans to fluoride with tea and diet. **Food Chemistry**, v. 130, n. 2, p. 286-290, Jan. 2012.
- 17 KOBLAR, A.; TAVČAR, G.; PONIKVAR-SVET, M. Effects of airborne fluoride on soil and vegetation. **Journal of Fluorine Chemistry**, v. 132, n. 10, p. 755-759, Oct. 2011.
- 18 SOMER, G.; KALAYCI, S.; BAŞAK, I. Preparation of a new solid state fluoride ion selective electrode and application. **Talanta**, v. 80, n. 3, p. 1129-1132, Jan. 2010.
- 19 MESQUITA, R.B.R.; SANTOS, I.C.; PEDROSA, M.F.F.; DUQUE, A.F.; CASTRO, P.M.L.; RANGEL, A.O.S.S. Development of flow injection potentiometric methods for the off-line and on-line determination of fluoride to monitor the biodegradation of a monofluorophenol in two bioreactors. **Talanta**, v. 84, n. 5, p. 1291-1297, Jun. 2011
- 20 GLEISNER, H.; EINAX, J.W.; MORÉS, S.; WELZ, B.; CARASEK, E. A fast and accurate method for the determination of total and soluble fluorine in toothpaste using high-resolution graphite furnace molecular absorption spectrometry and its comparison with established techniques. **Journal of Pharmaceutical and Biomedical Analysis**, v. 54, n. 5, p. 1040-1046, Apr. 2011.
- 21 MORÉS, S.; MONTEIRO, G.C.; SANTOS, F.S.; CARASEK, E.; WELZ, B. Determination of fluorine in tea using high-resolution molecular absorption spectrometry with electrothermal vaporization of the calcium mono-fluoride CaF. **Talanta**, v. 85, n. 5, p. 2681-2685, Oct. 2011.
- 22 ZAPOROZHETS, O.A.; TSYUKALO, L.Y. Determination of fluoride and oxalate using the indicator reaction of Zr(IV) with methylthymol blue adsorbed on silica gel. **Analytica Chimica Acta**, v. 597, n. 1, p. 171-177, Jun. 2007.
- 23 CARDWELL, T.J.; CATTRALL, R.W.; MITRI, M. Flow-injection spectrophotometric determination of fluoride by using the Zirconium/Alizarin Red S Complex. **Analytica Chimica Acta**, v. 214, p. 433-438, 1988.
- 24 KHALIFA, M.E.; HAFEZ, M.A.H. Spectrophotometric and complexometric methods for the determination of thorium and fluoride using bromocresol orange reagent. **Talanta**, v. 47, n. 3, p. 547-559, Nov. 1998.
- 25 ARANCIBIA, J.A.; RULLO, A.; OLIVIERI, A.C.; NEZIO, S.D.; PISTONESI, M.; LISTA, A.; BAND, B.S.F. Fast spectrophotometric determination of fluoride in ground waters by flow injection using partial least-squares calibration. **Analytica Chimica Acta**, v. 512, n. 1, p. 157-163, Jun. 2004.
- 26 GAO, X.; ZHENG, H.; SHANG, G.Q.; XU, J.G. Colorimetric detection of fluoride in an aqueous solution using Zr(IV)-EDTA complex and a novel hemicyanine dye. **Talanta**, v. 73, n. 4, p. 770-775, Oct. 2007.
- 27 PARHAM, H.; RAHBAR, N. Solid phase extraction-spectrophotometric determination of fluoride in water samples using magnetic iron oxide nanoparticles. **Talanta**, v. 80, n. 2, p. 664-669, Dec. 2009.
- 28 REN, J.; WU, Z.; ZHOU, Y.; LI, Y.; XU, Z. Colorimetric fluoride sensor based on 1,8-naphthalimide derivatives. **Dyes and Pigments**, v. 91, n. 3, p. 442-445, Dec. 2011.

- 29 LU, W.; JIANG, H.; HU, F.; JIANG, L.; SHEN, Z. A novel chemosensor based on Fe(III)-complexation for selective recognition and rapid detection of fluoride anions in aqueous media. **Tetrahedron**, v. 67, n. 41, p. 7909-7912, Out. 2011.
- 30 GARRIDO, M.; LISTA, A.G.; PALOMEQUE, M.; BAND, B.S.F. Fluorimetric determination of fluoride in a flow assembly integrated on-line to an open/closed FIA system to remove interference by solid phase extraction. **Talanta**, v. 58, n. 5, p. 849-853, Nov. 2002.
- 31 NAKAYA, M.; OSHIMA, M.; TAKAYANAGI, T.; MOTOMIZU, S.; YAMASHITA, H. Sensitive fluorimetric flow injection analysis for fluoride ion with a novel reagent, 2',7'-dichlorofluorescein di-tert-butyldimethylsilyl ether. **Talanta**, v. 84, n. 5, p. 1361-1365, Jun. 2011.
- 32 KOVÁCS, M.; NAGY, M.H.; BORSZÉKI, J.; HALMOS, P. Indirect determination of fluoride in aqueous samples by inductively coupled plasma atomic emission spectrometry following precipitation of CeF₃. **Journal of Fluorine Chemistry**, v. 130, n. 6, p. 562-566, Jun. 2009.
- 33 JANKOWSKI, K.; JACKOWSKA, A.; TYBURSKA, A. Determination of Aqueous Fluoride by Continuous Powder Introduction Microwave-Induced Plasma Optical Emission Spectrometry after Preconcentration on Various Sorbents. **Spectroscopy Letters**, v. 43, n. 2, p. 91-100, Mar. 2010.
- 34 MUSIJOWSKI, J.; SZOSTEK, B.; KOC, M.; TROJANOWICZ, M. Determination of fluoride as fluorosilane derivative using reversed-phase HPLC with UV detection for determination of total organic fluorine. **Journal of Separation Science**, v. 33, n. 17-18, p. 2636-2644, Sep. 2010.
- 35 YIPING, H.; CAIYUN, W. Ion chromatography for rapid and sensitive determination of fluoride in milk after headspace single-drop microextraction with in situ generation of volatile hydrogen fluoride. **Analytica Chimica Acta**, v. 661, n. 2, p. 161-166, Feb. 2010.
- 36 HANG, Y.P.; LIU, J.M. Determination of Fluoride by an Ion Chromatography System Using the Preconcentration on Nanometer-Size Zirconia. **Journal of Analytical Chemistry**, v. 62, n. 6, p. 583-587, Jun. 2007.
- 37 WEJNEROWSKA, G.; KARCZMAREK, A.; GACA, J. Determination of fluoride in toothpaste using headspace solid-phase microextraction and gas chromatography-flame ionization detection. **Journal of Chromatography A**, v. 1150, n. 1-2, Pages 173-177, May 2007.
- 38 LOUIS, D.; WILKES, A.J.; TALBOT, J.M. Optimisation of total fluoride analysis by capillary gas chromatography. Part I: Silica based dental creams. **Pharmaceutica Acta Helvetiae**, v. 71, n. 4, p. 273-277, Oct. 1996.
- 39 GUIMARÃES, I.C.; REZENDE, C.C.; SILVA, J.A.F.; JESUS, D.P. Simultaneous determination of free fluoride and monofluorophosphate in toothpaste by capillary electrophoresis with capacitively coupled contactless conductivity detection. **Talanta**, v. 78, n. 4-5, Pages 1436-1439, Jun. 2009.
- 40 SHAMSI, S.A.; DANIELSON, N.D. Naphthalenesulfonates as Electrolytes for Capillary Electrophoresis of Inorganic Anions, Organic Acids, and Surfactants with Indirect Photometric Detection. **Analytical Chemistry**, v. 66, n. 21, p. 3757-3764, Nov. 1994.
- 41 ALVARES, A.C. **Desenvolvimento e Aplicação de um Sistema de Análise por Injeção em Fluxo Contínuo (FIA) para a Determinação Espectrofotométrica de Fluoreto**. 2010. 80 f. Dissertação (Mestrado em Química) – Instituto de Química, Universidade Federal Fluminense, Niterói.

- 42 MOYA, H.D.; DANTONI, P.; ROCHA, F.R.P.; COICHEV, N. A multicommutated flow-system for spectrophotometric determination of tannin exploiting the Cu(I)-BCA complex formation. **Microchemical Journal**, v. 88, n. 1, p. 21-25, Feb. 2008.
- 43 TEIXEIRA, M.A. **Desenvolvimento de instrumentação e procedimentos automáticos para determinação de arsênio e fluoreto em águas empregando multicomutação em fluxo e detecção fotométrica**. 2010. 160 f. Tese (Doutorado em Ciências) – Centro de Energia Nuclear na Agricultura, Universidade de São Paulo, Piracicaba.
- 44 CARDWELL, T.J.; CATTRALL, R.W.; MITRI, M. Gas diffusion with preconcentration for the determination of fluoride in water samples by flow injection. **Talanta**, v. 41, n. 1, p. 115-123, Jan. 1994.
- 45 YUCHI, A.; MATSUNAGA, K; NIWA, T.; TERAO, H.; WADA, H. Separation and preconcentration of fluoride at the ng mL^{-1} level with a polymer complex of zirconium(IV) followed by potentiometric determination in a flow system. **Analytica Chimica Acta**, v. 388, n. 1-2, p. 201-208, May 1999.
- 46 HOSSEINI, M.S.; RAHIMINEGAD, H. Potentiometric determination of ultratrace amounts of fluoride enriched by zirconia in a flow system. **Journal of Analytical Chemistry**, v. 61, n. 2, p. 166-171, Feb. 2006.
- 47 MELCHERT, W.R.; REIS, B.F.; ROCHA, F.R.P. Green chemistry and the evolution of flow analysis. A review. **Analytica Chimica Acta**, v. 714, p. 8-19, Feb. 2012.
- 48 BRASIL. Agência Nacional de Vigilância Sanitária (ANVISA). Resolução - nº. 274, E 22 de setembro de 2005. Aprovar o regulamento técnico para águas envasadas e gelo, constante do Anexo desta Resolução. **Diário Oficial da União**, Poder Executivo, Brasília, 19 jun. 2000. Seção 1, p. 37. Disponível em: <<http://www.anvisa.gov.br/alimentos/legis/especifica/regutec.htm>>. Acesso: 30 nov. 2012.
- 49 FAWELL, J.; BAILEY, K.; CHILTON, J.; DAHI, E.; FEWTRELL, L.; MAGARA, Y. **Fluoride in drinking-water**. London: IWA Publishing, 2006, 144 p., ISBN: 9241563192. Bibliography: 83-95. Available in: <http://www.who.int/water_sanitation_health/publications/fluoride_drinking_water_full.pdf>. Accessed: nov. 14 2012.
- 50 SAXENA, V.K.; AHMED S. Dissolution of fluoride in groundwater: a water-rock interaction study. **Environmental Geology**, v. 40, n. 9, p. 1084-1087, Aug. 2001.
- 51 DWIVEDI, A.D.; DUBEY, S.P.; GOPAL, K.; TANDON, V.K. A comparative investigation for strengthening the adsorptive phenomenon by activated natural minerals and plant waste-carbon for defluoridation in water milieu. **Desalination**, v. 263, n. 1-3, p. 189-199, Nov. 2010.
- 52 TURNER, B.D.; BINNING, P.; STIPP, S.L.S. Fluoride Removal by Calcite: Evidence for Fluorite Precipitation and Surface Adsorption. **Environmental Science Technology**, v. 39, n. 24, p. 9561-9568, Dec. 2005.
- 53 OZSVATH, D.L. Fluoride and environmental health: a review. **Environmental Science Technology**, v. 8, n. 1, p. 59-79, Mar. 2009.
- 54 BOSQUIROLI, V.; UEDA, J.K.; BASEGGIO, W. **Fluorose dentária: tratamento pela técnica da microabrasão associada ao clareamento dental**. Revista Odontologia, Instituto de Odontologia da Universidade Federal do Espírito Santo (IOUFES), Vitória, v.8, n.1, p.60-65, Jan./Abr. 2006. WORLD HEALTH ORGANIZATION. **Guidelines for Drinking-water Quality**. [Electronic resource]: Geneva, IWA Publishing, 2011. 564 p. Available in: <http://whqlibdoc.who.int/publications/2011/9789241548151_eng.pdf>. Accessed: nov. 14 2012.

- 55 UNICEF Fluorosis – Mitigating the Scourge. Developed by the United Nations Children's Fund, 1997-2006. Available in: <<http://www.unicef.org/india/1425.html>> Accessed: nov. 14 2012.
- 56 QIN, X.; WANG, S.; YU, M.; ZHANG, L.; LI, X.; ZUO, Z.; ZHANG, X.; WANG, L. Child Skeletal Fluorosis from Indoor Burning of Coal in Southwestern China. **Journal of Environmental and Public Health**, v. 2009, 7 p. Available in: <<http://www.hindawi.com/journals/jeph/2009/969764/>>. Accessed: nov. 14 2012.
- 57 BRASIL. Ministério da Saúde. **Guia de Recomendação de uso de Fluoretos no Brasil**. Coleção: Série A. Normas e Manuais Técnicos. Brasília: Editora MS, 2009, 54 p. Bibliografia: p. 5-9, ISBN: 9788533416413.
- 58 BRASIL. Lei nº 6.050, de 24 de maio de 1974. Dispõe sobre a obrigatoriedade de fluoretação das águas em sistemas de abastecimento. **Diário Oficial da União**, Poder Executivo, Brasília, DF, 27 jul. 1975. Disponível em: <<http://www6.senado.gov.br/legislacao/ListaPublicacoes.action?id=122257>>. Acesso: 26 nov. 2012.
- 59 COSTA, D.A. **Controle lito-estrutural e estratigráfico na hidrogeoquímica e nas concentrações de fluoreto no sistema aquífero cárstico-fissural do Grupo Bambuí, Norte de Minas Gerais**. 2011. 138 f. Dissertação (Mestrado em Geologia) – Instituto de Geociências, Universidade Federal de Minas Gerais, Belo Horizonte.
- 60 BUZALAF, M.A.; GRANJEIRO, J.M.; DAMANTE, C.A.; ORNELAS, F. Fluoride content of infant formulas prepared with deionized, bottled mineral and fluoridated drinking water. **Journal of Dentistry for Children**, v. 68, n. 1, p. 37-41, Jan./Feb. 2001.
- 61 LEIBMAN, J.F.; PONIKVAR, M. Ion Selective Electrode Determination of Free Versus Total Fluoride Ion in Simples and Fluoroligand Coordinated Hexafluoropnictate (PnF_6^- , $Pn = P, As, Sb, Bi$) Salts. **Structural Chemistry**, v. 16, n. 5, Oct. 2005.
- 62 FERREIRA, R.; BENEDET, H.D. Comparação de métodos para determinação de flúor. **Boletim do CPPA**, Centro de Pesquisa de Processamento de Alimentos da Universidade Federal do Paraná, Curitiba, v. 17, n. 1, p. 53-58, Jan./Jun. 1999.
- 63 BRASIL. Ministério da Saúde. Agência Nacional de Vigilância Sanitária. Portaria Nº 635, de 26 de dezembro de 1975. Aprova normas e padrões sobre a fluoretação da água, tendo em vista a Lei nº 6050/74. **Diário Oficial da União**, Brasília, DF, 30 jan. 1976. Disponível em: <http://portal.saude.gov.br/portal/arquivos/pdf/portaria_635.pdf>. Acesso: 27 nov. 2012.
- 64 BELLACK, E.; SCHOUBOE, P.J. Rapid Photometric Determination of Fluoride in Water. Use of Sodium 2-(parasulfophenylazo)-1,8-dihydroxy-3,6-naphthalene-disulfonate-Zirconium Lake. **Analytical Chemistry**, v. 30, n. 12, p. 2032-2034, Dec. 1958.
- 65 PAUL, E. D.; GIMBA, C. E.; KAGBU, J. A.; NDUKWE G. I. Investigation into a Novel Method for Fluoride Monitoring - The BIMI Method. **Journal of Basic and Applied Chemistry**, v. 1, n. 8, p. 52-57, Aug. 2011.
- 66 REIS, B.F. Análise Química por Injeção em Fluxo: Vinte Anos de Desenvolvimento. **Química Nova**, v. 19, n. 1, p. 51-58, Jan./Fev. 1996.
- 67 REIS, B.F.; GINÉ, M.F.; KRONKA, E.A.M. A Análise Química por Injeção em Fluxo Contínuo. **Química Nova**, v. 12, n. 1, p. 82-91, Jan. 1989.
- 68 FRANCISCO, B.B.A. **Desenvolvimento de um Sistema de Análise por Injeção em Fluxo Contínuo com Detecção Espectrofotométrica para a Determinação de Alumínio em Amostras de Refrigerante em Lata**. 2009. 86 f. Dissertação (Mestrado em Química Analítica) – Universidade Federal Fluminense, Niterói.

- 69 SANTOS, A.C.V.; MASINI, J.C. A Análise por Injeção Sequencial (SIA): Vinte anos em uma perspectiva Brasileira. **Química Nova**, v. 33, n. 9, Set. 2010.
- 70 KARLBERG B., PACEY G.E. **Flow injection analysis: A practical guide.** New York: Elsevier Publishing Company, 1989, 372 p. (Series Techniques and Instrumentation in Analytical Chemistry, volume 10). Bibliography: 33-37. ISBN: 9780080875583.
- 71 BOLOGNESI, L. **Quantificação de formaldeído em extrato aquoso obtido da emissão de painéis de madeira por espectrofotometria acoplada à injeção em fluxo.** 2010. 64 f. Dissertação (Mestrado em Química) – Setor de Ciências Exatas, Universidade Federal do Paraná. Curitiba.
- 72 MATOS, R. C.; GUTZ, I. G. R.; ANGNES, L.; FONTENELE, R. S.; PEDROTTI, J. J. Propulsor pneumático versátil e isento de pulsação para sistemas de análise em fluxo. **Química Nova**, v. 24, n. 6, p. 795-797, Nov./Dez. 2001.
- 73 REIS, B. F.; BERGAMIN-FILHO, H. Evolução dos injetores empregados em sistemas de análise química por injeção em fluxo. **Química Nova**, v. 16, n. 6, p. 570-573, Nov./Dez. 1993.
- 74 CHAILAPAKUL, O.; NGMUKOT, P.; YOOSAMRAN, A.; SIANGPROH, W.; WANGFUENGKANAGUL, N. Recent electrochemical and optical sensors in flow-based analysis. **Sensors**, v. 6, n. 10, p. 1383-1410, Oct. 2006.
- 75 MALCOLME-LAWES, D. J.; PASQUINI, C. A novel approach to non-segmented flow analysis: Part 3. Nitrate, nitrite and ammonium in waters. **Journal Automatic Chemistry**, v. 10, n. 4, p. 192-197, Oct./Dec. 1988.
- 76 NResearch Incorporated - Instrument grade Pinch Valves and Inert Isolation Valves, Solenoid operated. Developed by company NResearch, 1997-2012. Available in: <<http://www.nresearch.com/>>. Accessed: nov. 28 2012.
- 77 GANZAROLLI, E. M. **Sistema automático de titulação baseado em bomba peristáltica e detecção potenciométrica.** 2000. 95 f. Tese (Doutorado em Química) – Centro de Ciências Físicas e Matemáticas, Universidade Federal de Santa Catarina.
- 78 FIAlab® - Leaders in Flow Injection Technology. Developed by Jarda Ruzicka, 1998-2012. Site is focused on systems of flow injection analysis with application in assays chemical, environmental and agricultural. Available in: <<http://www.flowinjection.com/29.%20Principle%20-%20Flow%20Injection.html>>. Accessed: nov. 29 2012.
- 79 RODRIGES, S.S.M. **Modelização matemática do fenômeno de dispersão em sistemas de fluxo de interface única.** 2009. 105 f. Dissertação (Mestrado em Controle de Qualidade) - Faculdade de Farmácia, Universidade do Porto, Porto - Portugal.
- 80 LIMA, L.S. **Desenvolvimento de procedimento em fluxo com detecção espectrofotométrica para análise de bromoprida em medicamentos e/ou fluido biológico.** 2009. 67 f. Dissertação (Mestrado em Química) - Instituto de Química, Universidade Estadual Paulista, Araraquara.
- 81 VETEC. Vetec Química Fina. Desenvolvido pela empresa Vetec Química Fina. 2001-2013. Site voltado a comercialização de produtos químicos. Disponível em: <<http://www.vetecquimica.com.br/home/detalhes/41927/fispq>>. Acesso: 12 mar. 2013.
- 82 CETESB. Companhia de Tecnologia e Saneamento Ambiental de São Paulo. 1999-2013. Desenvolvido pela CETESB. Site voltado à Gestão Ambiental. Disponível em: <http://sistemasinter.cetesb.sp.gov.br/produtos/ficha_completa1.asp?consulta=OXICLO%20RETO%20ZIRC%20D4NIO>. Acesso: 12 mar. 2013.
- 83 BRASIL. Conselho Nacional do Meio Ambiente. Resolução n. 357, 17 de março de 2005. Dispõe sobre a classificação dos corpos de água e diretrizes ambientais para o seu enquadramento, bem como estabelece as condições e padrões de lançamento de

efluentes, e dá outras providências. **Diário Oficial da União**, Brasília, v. 053, p. 58-63, de 18 mar. 2005. Disponível em: <http://www.casan.com.br/docs/CONAMA357_05.pdf>. Acesso: 30 nov. 2012.