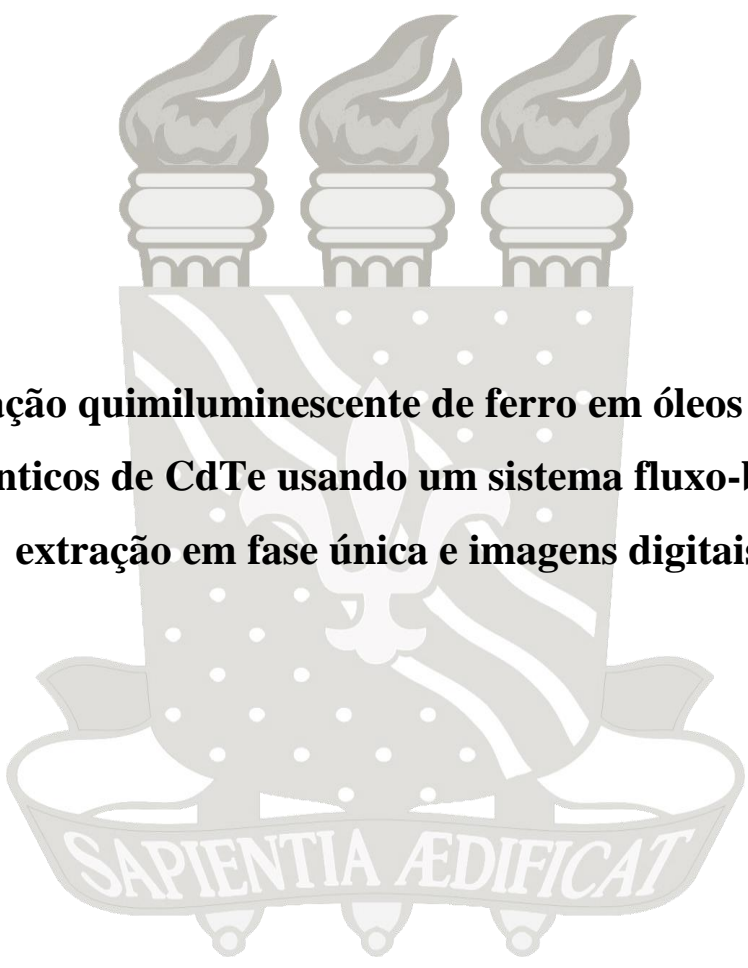




**UNIVERSIDADE FEDERAL DA PARAÍBA
CENTRO DE CIÊNCIAS EXATAS E DA NATUREZA
DEPARTAMENTO DE QUÍMICA
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM QUÍMICA**

TESE DE DOUTORADO



Determinação quimiluminescente de ferro em óleos baseado em pontos quânticos de CdTe usando um sistema fluxo-batelada com extração em fase única e imagens digitais

Marcelo Batista de Lima

**João Pessoa – PB - Brasil
Abril de 2014**



UNIVERSIDADE FEDERAL DA PARAÍBA
CENTRO DE CIÊNCIAS EXATAS E DA NATUREZA
DEPARTAMENTO DE QUÍMICA
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM QUÍMICA



TESE DE DOUTORADO

Determinação quimiluminescente de ferro em óleos baseado em pontos quânticos de CdTe usando um sistema fluxo-batelada com extração em fase única e imagens digitais

Marcelo Batista de Lima*

Tese de doutorado apresentada ao Programa de Pós-Graduação em Química da Universidade Federal da Paraíba como parte dos requisitos para obtenção do título de Doutor em Química, área de concentração Química Analítica.

Orientador: Prof. Dr. Mário César Ugulino de Araújo

* Bolsista da Coordenação de Aperfeiçoamento de Pessoal de Nível Superior – CAPES

João Pessoa – PB - Brasil

Abril de 2014

L732d Lima, Marcelo Batista de.

Determinação quimiluminescente de ferro em óleos baseado em pontos quânticos de CdTe usando um sistema fluxo-batelada com extração em fase única e imagens digitais / Marcelo Batista de Lima.-- João Pessoa, 2014.

135f.

Orientador: Mário César Ugulino de Araújo

Tese (Doutorado) – UFPB/CCEN

1. Química analítica. 2. Pontos quânticos.
3. Quimiluminescência. 4. Imagens digitais. 5. Matrizes viscosas.
6. Análise em fluxo-batelada;

UFPB/BC

CDU: 543(043)

Determinação quimiluminescente de ferro em óleos baseado em pontos quânticos de CdTe usando um sistema fluxo-batelada com extração em fase única e imagens digitais

Tese de doutorado aprovada pela banca examinadora:

Orientador Prof. Dr. Mário César Ugulino de Araújo
Departamento de Química da UFPB

Prof. Dr. Valdomiro Lacerda Martins
Avaliador Externo – Departamento de Química da UFAM

Profa. Dra. Elaine Cristina Lima do Nascimento
Avaliador Externo – Unidade Acadêmica de Serra Talhada/UFRPE

Prof. Dr. Edvan Cirino da Silva
Avaliador Interno – Departamento de Química da UFPB

Prof. Dr. Ricardo Alexandre Cavalcanti de Lima
Avaliador Interno – Departamento de Química da UFPB

Agora que a terra é redonda
E o centro do universo é outro lugar
É hora de rever os planos

O mundo não é plano, não pára de girar
Agora que tudo é relativo
Não há tempo perdido, não há tempo a perder

Num piscar de olhos tudo se transforma
Tá vendo? Já passou, mas ao mesmo tempo
Fica o sentimento de um mundo sempre igual
Igual ao que já era de onde menos se espera
Dali mesmo é que não vem

Agora que tudo está exposto
A máscara e o rosto trocam de lugar
Tô fora se esse é o caminho

Se a vida é um filme, eu não conheço diretor
Tô fora, sigo o meu caminho
Às vezes tô sozinho, quase sempre tô em paz

Num piscar de olhos tudo se transforma
Tá vendo? Já passou, mas ao mesmo tempo
Esse mundo em movimento parece não mudar
É igual ao que já era de onde menos se espera
Dali mesmo é que não vem

Visão de raio-X, o X dessa questão
É ver além da máscara além do que é sabido
Além do que é sentido, ver além da máscara

Além da máscara, 2008
Humberto Gessinger e Duca Leindecker

Percebi ainda outra coisa debaixo do sol:
Os velozes nem sempre vencem a corrida;
os fortes nem sempre triunfam na guerra;
os sábios nem sempre têm comida;
os prudentes nem sempre são ricos;
os instruídos nem sempre têm prestígio;
pois o tempo e o acaso afetam a todos.

Eclesiastes 9:11

AGRADECIMENTOS

- Ao Professor Dr. Mário César Ugulino de Araújo pelo acolhimento na família LAQA, a oportunidade de convívio, ensinamentos e orientação;
- Aos sempre amigos Professores do IFPB, Dr. Carlos Alberto de Oliveira e Dr. Umberto Gomes da Silva Júnior por serem os primeiros a incentivar o meu gosto pela ciência química;
- Aos membros da banca do exame de qualificação, Edvan Cirino e Ricardo Alexandre pelas oportunas e imprescindíveis contribuições para o continuidade deste estudo;
- Aos membros da banca de doutorado, Valdomiro Lacerda, Elaine Cristina, Edvan Cirino e Ricardo Alexandre que prontamente se disponibilizaram a participar desse momento tão significativo na minha caminhada acadêmica e pessoal;
- Aos sempre amigos, companheiros de aventura e pesquisa, Stéfani Iury, Inakã Barreto, Sófacles Figueredo, Hebertty Vieira, Amayra Sonayra, José Maurício, Rennan Tavares e Sílvio do Monte, pela amizade e auxílio ao longo dos anos;
- Aos sempre jovens cientistas, Urijatan Teixeira, Flaviano Carvalho, Cleilson Lucena, Dayvison Ribeiro, Ivson de Carvalho, Eduardo Lima, Anna Luiza, Mayara Ferreira, Welma Thaise, Israel Ferreira, Clarissa Gomes, Jacque Bueno, Elaine Vasconcelos e Geórgia Batista;
- Aos companheiros internacionais, Matias Insausti, Danielle Insausti, Gastón Pierini, Marcelo Pistonesi, Valeria Springer, Francisco (Pacho) e John Cardona;
- A todos os demais membros do LAQA, LCCQS e FIA (Bahía Blanca, Argentina) pelo companheirismo e bom humor sempre presente;
- A minha família, os contrarregas do espetáculo;
- A Deus, entropia presente em todos os sistemas do universo.

SUMÁRIO

| | |
|---------------------------------------------------------------------------|------------|
| <i>Lista de Figuras</i> | <i>x</i> |
| <i>Lista de Tabelas</i> | <i>xiv</i> |
| RESUMO | <i>xv</i> |
| ABSTRACT | <i>xvi</i> |
| CAPÍTULO 1 – INTRODUÇÃO | 1 |
| 1.1 – Justificativa e caracterização da problemática | 2 |
| 1.2 – Objetivo e metas | 4 |
| 1.2.1 – Objetivo geral | 4 |
| 1.2.2 – Metas | 4 |
| 1.3 – Fundamentação teórica | 6 |
| 1.3.1 – Implicação do confinamento quântico em semicondutores | 6 |
| 1.3.2 – Propriedades ópticas dos pontos quânticos | 11 |
| 1.3.2.1 – Determinação do coeficiente de excitação | 16 |
| 1.3.2.2 – Determinação do rendimento quântico de fluorescência | 17 |
| 1.3.3 – Breve abordagem sobre as técnicas de síntese para nanocristais | 18 |
| 1.3.3.1 – Síntese de pontos quânticos em meio aquoso | 21 |
| 1.3.4 – Aplicação de pontos quânticos em sistemas analíticos | 22 |
| 1.3.5 – Características dos sistemas quimiluminescentes | 25 |
| 1.3.5.1 – Mecanismo de quimiluminescência direta para pontos quânticos | 26 |
| 1.3.6 – Breve considerações sobre sistemas automáticos de análise química | 29 |
| 1.3.7 – Sistemas automáticos em fluxo-batelada | 32 |
| 1.3.7.1 – Aplicações analíticas em sistemas fluxo-batelada | 34 |

| | |
|-------------------------------------------------------------|-----------|
| 1.3.9 – Propriedades das imagens digitais | 35 |
| 1.3.9.1 – Dispositivos de captura de imagem | 36 |
| 1.3.9.2 – Modelo de cor e norma do vetor RGB | 37 |
| 1.3.9.3 – Métodos analíticos baseados em imagens digitais | 39 |
| 1.3.10 – Determinação do teor de ferro em matrizes viscosas | 41 |
| CAPÍTULO 2 – EXPERIMENTAL | 46 |
| 2.1 – Síntese de PQs de CdTe em meio aquoso | 47 |
| 2.1.1 – Materiais e reagentes | 47 |
| 2.1.2 – Instrumentação | 47 |
| 2.1.3 – Procedimento de síntese | 47 |
| 2.2 – Determinação de ferro total em matrizes viscosas | 50 |
| 2.2.1 – Reagentes e soluções | 50 |
| 2.2.2 – Amostras | 51 |
| 2.2.3 – Instrumentação | 51 |
| 2.2.4 – Procedimento de análise | 52 |
| 2.2.4.1 – Pré-tratamento das amostras oleosas | 52 |
| 2.2.4.2 – Determinação quimiluminescente do analito | 52 |
| 2.2.3 – Método de referência empregado | 53 |
| 2.3 – Desenvolvimento do sistema automático | 53 |
| 2.3.1 – Equipamentos e montagem | 53 |
| 2.3.2 – Desenvolvimento do <i>software</i> de controle | 56 |
| 2.3.3 – Procedimento automático de análise | 58 |
| 2.4 – Avaliação do desempenho analítico | 61 |
| 2.4.1 – Linearidade | 61 |
| 2.4.1.1 – Análise de variância | 61 |

| | |
|---------------------------------------------------------------------------|-----------|
| 2.4.2 – Limite de detecção e quantificação | 63 |
| 2.4.3 – Sensibilidade | 64 |
| 2.4.4 – Seletividade | 65 |
| 2.4.5 – Exatidão | 65 |
| 2.4.6 – Precisão | 66 |
| 2.4.7 – Teste <i>t</i> pareado | 66 |
| CAPÍTULO 3 – RESULTADO E DISCUSSÃO | 68 |
| 3.1 – Caracterização dos pontos quânticos de CdTe | 69 |
| 3.1.1 – Tamanhos e concentração | 71 |
| 3.1.2 – Rendimento quântico de fluorescência | 72 |
| 3.2 – Proposta de mecanismo para emissão quimiluminescente | 73 |
| 3.3 – Efeito do tamanho dos pontos quânticos no sistema quimiluminescente | 75 |
| 3.4 – Otimização das condições de reação | 77 |
| 3.5 – Estudo de potenciais interferentes | 80 |
| 3.6 – Estudos de pré-tratamento das amostras | 81 |
| 3.7 – Parâmetro do sistema automático em fluxo-batelada | 83 |
| 3.7.1 – Precisão das válvulas solenoides empregadas | 83 |
| 3.7.2 – Imagens obtidas durante a emissão quimiluminescente | 84 |
| 3.7.3 – Obtenção da curva analítica empregando o valor da norma | 85 |
| 3.7.4 – Validação da curva analítica | 86 |
| 3.7.5 – Análise das amostras | 89 |
| 3.7.6 – Teste de recuperação | 90 |
| CAPÍTULO 4 – CONSIDERAÇÕES FINAIS | 92 |
| 4.1 – Conclusão | 93 |
| 4.2 – Perspectivas | 96 |

| | |
|------------------------------------------------|------------|
| CAPÍTULO 5 – REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS | 97 |
| ANEXO – Produção científica | 109 |
| Artigos publicados relacionados | 110 |

LISTA DE FIGURAS

- Figura 1.1** Representação simplificada da formação de bandas de energia permitida em um sólido. (a) átomo isolado; (b) sistema com poucos átomos; (c) sistema com 1 mol de átomos e (d) detalhe, mostrando que a banda de energia é formada por níveis discretos muito próximos. **6**
- Figura 1.2** Diagrama de energia permitida para um semiconductor inorgânico, ponto quântico. **7**
- Figura 1.3** Representação esquemática simplificada de um éxciton com o “buraco” próximo ao centro (círculo cheio) e o elétron, e^- , separados pelo raio de Bohr, λ , que orbita ao redor do centro de massa. **8**
- Figura 1.4** (a) Discretização dos níveis de energia com a diminuição física da partícula; (b) Descrição esquemática das mudanças de densidade de estados de energia, $g(E)$, segundo a limitação progressiva das dimensões. **9**
- Figura 1.5** Variação de energia e emissão dos pontos quânticos na região do visível do espectro eletromagnético em relação ao tamanho da nanopartícula. **10**
- Figura 1.6** Variação dos espectros de fluorescência correspondente a amostras de diferentes tamanhos de um mesmo tipo de PQ hipotético. **11**
- Figura 1.7** Representação esquemática do mecanismo de excitação e emissão devido à recombinação radiativa do par elétron-buraco (éxciton). **12**
- Figura 1.8** Representação típica de espectros de absorbância (linha tracejada) e de fluorescência (linha cheia) para PQs de CdSe. Figura adaptada de Angell, 2011. **13**

| | | |
|--------------------|-------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|-----------|
| Figura 1.9 | Representação esquemática típica de espectros de absorção (primeira linha) e emissão (segunda linha) de (a) PQs e (b) corantes orgânicos. Ilustração adaptada de Gomes, 2010. | 14 |
| Figura 1.10 | Principais etapas envolvidas na síntese de nanopartículas cristalinas pelo método de injeção a quente (Murray et al. 1993). Figura adaptada da referência (Silva et al. 2010). | 20 |
| Figura 1.11 | Representação esquemática para o controle das propriedades ópticas em PQs. Os PQs destacados correspondem as famílias de maior interesse do grupo, as de <i>bandgap</i> sintonizável no visível (CdS, CdSe e CdTe) e na região das comunicações ópticas (PbS, PbSe e PbTe). Ilustração adaptada de Moreira, 2005. | 23 |
| Figura 1.12 | Esquema representando a linha do tempo para os principais analisadores automáticos em fluxo desenvolvidos ao longo das décadas. | 31 |
| Figura 1.13 | Diagrama esquemático de um sistema de análise em fluxo simples. (a) exemplos de sistemas para propulsão dos fluidos, (b) exemplos de sistemas de injeção, (c) exemplos de sistemas de mistura e (d) exemplos de detectores. | 32 |
| Figura 1.14 | Esquema ilustrativo dos principais componentes do FBA. (a) bomba peristáltica, (b) câmara de mistura, (c) válvulas solenoides, (d) agitador magnético, (e) sistema de detecção, (f) computador e (g) acionador de válvulas. | 33 |
| Figura 1.15 | Representação esquemática de uma <i>webcam</i> . Adaptado de Almeida, 2012. | 36 |
| Figura 1.16 | Espaço de cores do sistema RGB representado em um sistema de coordenadas cartesianas. O valor máximo para cada canal é de 255. | 37 |
| Figura 1.17 | Espaço RGB ilustrando a posição do vetor v associado a uma imagem digital. | 38 |

| | | |
|-------------------|----------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|-----------|
| Figura 2.1 | Diagrama esquemático da ligação entre o acionador de válvulas e a interface NI USB-6009. | 54 |
| Figura 2.2 | Foto representativa do sistema em fluxo-batelada desenvolvido. (a) Notebook com o <i>software</i> de controle; (b) bomba peristáltica; (c) interface USB; (d) acionador de válvulas; (e) válvulas solenoides; (f) agitador magnético, (g) câmara de mistura, (h) <i>webcam</i> . | 55 |
| Figura 2.3 | Detalhe do sistema fluxo-batelada desenvolvido. Caixa negra (10 × 12 × 15 cm) para disposição da câmara de mistura e <i>webcam</i> . | 55 |
| Figura 2.4 | Interface de controle do sistema automático fluxo-batelada desenvolvido. | 56 |
| Figura 2.5 | Interface do programa para realizar o estudo de calibração das válvulas solenoides. | 58 |
| Figura 2.6 | Diagrama esquemático do sistema fluxo-batelada desenvolvido para determinação quimiluminescente de ferro total em amostras viscosas empregando pontos quânticos de CdTe. | 59 |
| Figura 3.1 | Fotografia dos pontos quânticos obtidos com êxito, conforme procedimento descrito na seção 2.1.3, e excitados por uma lâmpada negra UV ($\lambda_{\text{máx}}$ 420 nm). Tempos de síntese da esquerda para direita: 35, 60, 95, 130 e 180 min. | 69 |
| Figura 3.2 | Espectros de absorção molecular para os cinco PQs de CdTe estudados. Da esquerda para a direita, comprimento de onda máximo de absorção excitônica 479, 511, 528, 542, 565 nm. | 70 |
| Figura 3.3 | Espectros de emissão de fluorescência para os cinco PQs de CdTe estudados. Da esquerda para direita, comprimento de onda máximo de emissão 518, 549, 566, 581, 604 nm. | 70 |
| Figura 3.4 | Representação de espectro de emissão fluorescente para padrão de rodamina 6G (linha vermelha) e nanocristais de CdTe (linha azul). | 73 |

| | | |
|--------------------|-------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|-----------|
| Figura 3.5 | Espectro de quimiluminescência do sistema CdTe/Fe(II). Concentrações empregadas: $2,5 \times 10^{-4}$ mol L ⁻¹ de PQs de CdTe, 100 µg L ⁻¹ de Fe(III) (linha cheia) e 50 µg L ⁻¹ de Fe(III) (linha tracejada). | 74 |
| Figura 3.6 | Variação do sinal quimiluminescente para o sistema CdTe/Fe(II) proposto, empregando os diferentes tamanhos de PQs. Concentração de $2,5 \times 10^{-4}$ mol L ⁻¹ de PQs de CdTe e 100 µg L ⁻¹ de íons Fe(III). Tamanho médio das partícula, da esquerda para direita: 1,65, 2,62, 2,95, 3,15 e 3,38 nm. | 76 |
| Figura 3.7 | Variação da concentração de íons Fe(III) para o sinal de emissão de quimiluminescência do sistema CdTe/Fe(II). | 78 |
| Figura 3.8 | Influência da variação do pH para medidas de emissão quimiluminescente do sistema CdTe/Fe(II) nas condições propostas. | 79 |
| Figura 3.9 | Influência da variação da concentração de solução de K ₂ Cr ₂ O ₇ para os sinais de emissão quimiluminescente do sistema CdTe/Fe(II). | 80 |
| Figura 3.10 | Influência da extração em fase única (adição do solvente orgânico) para a emissão de quimiluminescência do sistema CdTe/Fe(II). Pré-tratamento completo corresponde a extração ácida em fase única. | 82 |
| Figura 3.11 | Influência da extração ácida (adição da solução ácida) para a emissão de quimiluminescência do sistema CdTe/Fe(II). Pré-tratamento completo corresponde a extração ácida em fase única. | 83 |
| Figura 3.12 | Imagens obtidas utilizando o sistema em fluxo-batelada com a área selecionada (45 x 30 pixels). Soluções padrão de ferro (µg L ⁻¹). | 86 |
| Figura 3.13 | Dados RGB das soluções padrão de ferro (10 a 100 µg L ⁻¹). | 86 |
| Figura 3.14 | Curva analítica para a determinação de ferro em amostras viscosas. | 87 |
| Figura 3.15 | Gráfico dos resíduos deixados pelo modelo do método proposto. | 88 |

LISTA DE TABELAS

| | | |
|-------------------|----------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|-----------|
| Tabela 2.1 | Procedimento automático para análise da amostra oleosa com pré-tratamento para extração de ferro total <i>on-line</i> . | 60 |
| Tabela 2.2 | Equações para ANOVA aplicada a um modelo obtido pelo método dos mínimos quadrados. | 62 |
| Tabela 3.1 | Tabela de potenciais interferentes para o sistema quimiluminescente proposto. Dados referentes a concentração em $\mu\text{g L}^{-1}$ para uma solução de Fe(III) de $50 \mu\text{g L}^{-1}$. | 80 |
| Tabela 3.2 | Densidades das amostras empregadas na avaliação do método proposto. | 83 |
| Tabela 3.3 | Análise de variância (ANOVA) para o modelo linear obtido pelo método proposto. | 88 |
| Tabela 3.4 | Coefficientes de regressão e intervalos de confiança para os valores populacionais (β_0 e β_1) do modelo linear obtido para o método proposto. | 88 |
| Tabela 3.5 | Figuras de mérito para o método proposto. | 89 |
| Tabela 3.6 | Resultados obtidos para determinação de ferro total em amostras oleosas (mg Kg^{-1}) usando o sistema quimiluminescente automático com detecção por imagens digitais e o método de referência por absorção atômica em forno de grafite. | 90 |
| Tabela 3.7 | Teste de recuperação para as amostras oleosas ($n = 3$). | 91 |

RESUMO

Neste trabalho de pesquisa foi desenvolvido um novo método quimiluminescente em fluxo-batelada para determinação de ferro total em matrizes viscosas (óleo comestível, óleo lubrificante e biodiesel) empregando pontos quânticos de telureto de cádmio (PQs de CdTe) com detecção por imagens digitais via *webcam*. O método analítico proposto inclui uma nova estratégia de pré-tratamento da amostra que consiste na disponibilização *on-line* do ferro total por meio de extração ácida em fase única. Além do pré-tratamento automático, uma nova estratégia para emissão quimiluminescente foi desenvolvida, através da qual todo o analito disponível foi oxidado para Fe(III) na presença de íons dicromato e reduzido para Fe(II) mediante o processo de oxidação direta dos PQs de CdTe, o que permitiu promover a emissão quimiluminescente desses nanocristais. A influência do tamanho e concentração dos PQs nesse sistema foi avaliada revelando uma maior sensibilidade e seletividade para os cristais obtidos de menor dimensão (1,65 nm). Concernente ao sistema automático fluxo-batelada uma nova câmara de mistura foi desenvolvida em politetrafluoretileno (PTFE) provida de janelas de quartzo com o objetivo de permitir detecções luminescentes *on-line*. Um novo programa de gerenciamento do sistema automático foi desenvolvido permitindo uma rápida aquisição e eficiente tratamento das imagens digitais, sem a necessidade de empregar qualquer outro programa para o tratamento da informação obtida. Para a construção da curva analítica foi utilizado um modelo matemático baseado nos valores de cor RGB, sendo assim, considerada a norma dos vetores como resposta. O limite de detecção e o desvio padrão relativo foram calculados em $0,66 \mu\text{g L}^{-1}$ e $< 1,5 \%$ ($n = 3$), respectivamente. A análise de interferentes foi realizada com êxito para os principais íons presentes em solução, não revelando interferência percentual significativa ($\leq 5\%$). A exatidão do método foi avaliada através do teste de recuperação (97,5 – 103,3 %). A robustez do método foi avaliada por comparação intra- e inter-dia dos resultados obtidos e empregando o método de referência com detecção por absorção atômica em forno de grafite em um nível de 95% de confiança estatística. Por fim, o sistema apresentou frequência analítica bastante satisfatória (43 h^{-1}) e redução considerável do consumo de produtos químicos. Desta forma, é demonstrado de modo apreciável a viabilidade do novo método quimiluminescente, permitindo assim, o desenvolvimento de novas estratégias analíticas potencialmente úteis empregando pontos quânticos, automação e imagens digitais.

Palavras-chave: Pontos quânticos; Quimiluminescência; Imagens digitais; Matrizes viscosas; Análise em fluxo-batelada.

ABSTRACT

In this work, a novel chemiluminescence method using flow-batch analysis for the determination of iron in viscous samples (edible oil, lubricating oil and biodiesel) employing cadmium telluride quantum dots (CdTe QDs) with detection by digital images from *webcam* was developed. The analytical method proposed a novel strategy includes a pretreatment of the sample that constitutes on-line availability of total iron by acid extraction in one step. In the automatic pre-treatment, a new strategy was developed for chemiluminescent emission, whereby the available analyte was oxidized to Fe(III) in the presence of dichromate ions and reduced to Fe(II) by direct oxidation of CdTe QDs, allowing promote chemiluminescent emission of these nanocrystals. The influence of the size and concentration QDs in this system was estimated revealing a higher sensitivity and selectivity for the small crystals obtained (1.65 nm). Concerning the flow-batch analysis a new mixing chamber was developed in polytetrafluoroethylene (PTFE) provided with quartz windows in order to allow luminescent probes online. A novel management program the automatic system was developed enabling rapid acquisition and efficient handling of digital images without the need to use another program to tratamendo the information obtained. For the construction of the analytical curve-based mathematical model in the RGB color values was used, therefore, considered the norm of vectors in response. The limit of detection and relative standard deviation were calculated to be $0.66 \mu\text{g mL}^{-1}$ and $< 1.5 \%$ ($n = 3$), respectively. The analysis of interfering was successful for the major ions present in solution, revealing significant percentage interference ($\leq 5 \%$). The precision of the method was evaluated by recovery test (97.5 to 103.3 %). The robustness of the method was evaluated by intra- and inter- day comparison of the results obtained and using the reference method with detection by atomic absorption graphite furnace at a 95% level of statistical confidence. Finally, the system showed quite satisfactory analytical frequency (43 h^{-1}) and considerably reducing the consumption of chemicals. Thus, it is demonstrated appreciably the viability of new chemiluminescent method, thus allowing the development of new analytical strategies employing potentially useful quantum dots, automation and digital images.

Keywords: Quantum dots; Chemiluminescence; Digital images; Viscous matrices; Flow-batch analysis.

Capítulo 1.

INTRODUÇÃO

1.1 – Justificativa e caracterização da problemática

Nos últimos anos, grande importância vem sendo relatada ao uso de pontos quânticos em química analítica (Kuang et al., 2011; Costas-Mora et al., 2014). A sua vertiginosa ascensão como reagente luminescente ganhou força quando comparado aos corantes orgânicos até então de aplicações biológicas semelhantes (Resch-Genger et al., 2008). A propensão analítica para o emprego dessas nanopartículas em estudos luminescentes vem das suas propriedades intrínsecas que lhes conferem altos rendimentos quânticos de luminescência, amplos espectros de absorção e estreitos espectros de emissão, além de uma expressiva estabilidade fotoquímica (Lima et al., 2014(a); Rodrigues et al. 2014). Entretanto, o seu uso envolvendo matrizes orgânicas viscosas ainda vem sendo pouco relatado na literatura especializada, sendo ainda um extenso campo a ser investigado quanto a novas aplicações e novas metodologias analíticas.

Nesse último aspecto, matrizes viscosas são um problema potencial quando se trata de análises químicas, sobretudo análises em sistemas automáticos, as quais normalmente se empregam sistemas em fluxo. Dentre os principais problemas relatados, estão o difícil pré-tratamento *on-line*, a elevada carga orgânica, intercontaminação das amostras, baixa homogeneização e limites de detecção relativamente inferiores aos estimados pelos métodos convencionais de referência, o que dificulta o desenvolvimento de novas estratégias de pesquisa envolvendo a determinação direta de analitos nessas matrizes empregando os sistemas automáticos em fluxo em comparação com sistemas aquosos (Burguera & Burguera, 2011).

Um destaque a essa problemática relativamente pouco explorada é a determinação direta de ferro em amostras de matrizes viscosas, como óleos comestíveis, lubrificantes e combustíveis. Os escassos métodos desenvolvidos, normalmente empregam como detecção a espectrometria de absorção e de emissão atômica. Entretanto, esses métodos apresentam certas desvantagens práticas, incluindo o alto custo dos equipamentos e de sua manutenção, laboriosos pré-tratamentos da amostra, longos e complexos, muitas vezes suscetíveis a interferentes devido

à natureza intrínseca da amostra e baixa disponibilidade do analito tratado (Pinto et al., 2006; Barreto et al., 2013).

Do ponto de vista da empregabilidade de métodos analíticos sensíveis e seletivos, as técnicas quimiluminescentes vem se destacando frente as técnicas espectrofotométricas (Liu et al., 2010; Ocaña-González et al., 2014; Chen et al., 2014). Nessa perspectiva, o uso de imagens digitais pode se tornar uma tendência analítica valiosa, pois permitem realizar determinações quimiluminescentes com uma apreciável sensibilidade e baixo custo quando comparado aos espectrofluorímetros convencionais (Almeida, 2012; Mirasoli et al., 2012).

Desse modo, o emprego de imagens digitais possibilita o desenvolvimento de novos métodos quimiluminescentes vinculados aos sistemas automáticos pois permitem otimizar a reprodutibilidade das medidas analíticas (Almeida, 2012). Nesse contexto, o uso do sistema automático em fluxo-batelada (Diniz et al. 2012) empregando imagens digitais corrobora com o desenvolvimento de novos métodos de análise possibilitando uma elevada velocidade, flexibilidade e versatilidade operacional, com adição de volumes discretos das soluções e homogeneização rápida e eficiente das misturas (Lima et al. 2013; Lima et al. 2014(b)).

Diante do exposto e das inerentes propriedades intrínsecas dos pontos quânticos, que permitem condicionar uma elevada sensibilidade e seletividade as análises químicas; o presente trabalho de pesquisa anseia explorar essa nanoferramenta moderna e inovadora para o desenvolvimento de um novo método quimiluminescente automático com detecção por imagens digitais para determinação quantitativa em nível traço de ferro total em matrizes viscosas (óleo comestível, óleo lubrificante e biodiesel), com o pré-tratamento da amostra *on-line* por extração ácida em fase única e a formação de quimiluminescência através da oxidação direta radiativa dos nanocristais de CdTe pelo ferro presente em solução.

1.2 – Objetivo e metas

Diante do exposto é proposto como objetivo e metas para este trabalho de pesquisa o que segue.

1.2.1 – Objetivo geral

Desenvolver um novo método analítico automático empregando pontos quânticos de CdTe para determinação quimiluminescente de ferro total em matrizes viscosas utilizando pré-tratamento *on-line* em fase única e uma *webcam* como sistema de detecção.

1.2.2 – Metas

- Síntese aquosa eficiente para diferentes tamanhos de pontos quânticos de telureto de cádmio (PQs de CdTe);
- Desenvolvimento do método quimiluminescente simplificado para determinação direta de ferro total empregando os PQs de CdTe;
- Desenvolvimento do método para extração *on-line* de ferro total nas matrizes oleosas estudadas;
- Desenvolvimento da câmara de mistura, principal componente do sistema automático fluxo-batelada, adaptada para detecções luminescentes;
- Desenvolvimento do sistema automático em fluxo-batelada adaptado para o emprego de imagens digitais, luminescência e os pontos quânticos requeridos;
- Desenvolvimento do programa de controle para aquisição, armazenamento e tratamento das imagens digitais obtidas pelo sistema automático;

- Determinação quimiluminescente de ferro total em matrizes viscosas empregando o sistema automático fluxo-batelada proposto.
- Avaliação das condições de reação para emissão quimiluminescente, tamanho e concentração das nanopartículas de CdTe, meio reacional, pré-tratamento da amostra, alcalinidade e acidez;
- Avaliação da performance analítica do método automático proposto frente ao método de referência.

1.3 – Fundamentação teórica

1.3.1 – Implicação do confinamento quântico em semicondutores

O comportamento físico-químico dos pontos quânticos (PQs) assim como dos demais nanomateriais inorgânicos semicondutores pode ser compreendido de forma simplificada por meio da teoria das bandas de energia (Vukmirović & Wang, 2011). A teoria das bandas, por intermédio da teoria dos orbitais moleculares, esclarece que o grande número de átomos que interagem em um sólido aumenta a sobreposição de seus orbitais atômicos levando ao igual aumento da sobreposição dos seus orbitais moleculares o que acarreta na formação de uma banda praticamente contínua de energia permitida, conforme ilustrado na **Fig. 1.1**.

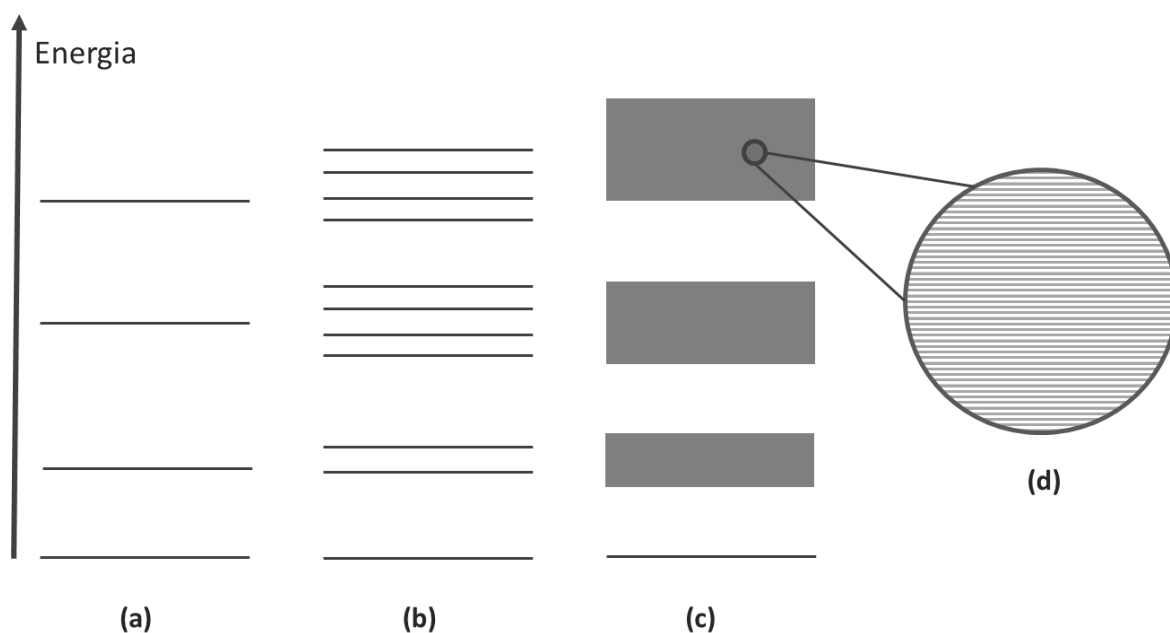


Figura 1.1. Representação simplificada da formação de bandas de energia permitida em um sólido. (a) átomo isolado; (b) sistema com poucos átomos; (c) sistema com 1 mol de átomos e (d) detalhe, mostrando que a banda de energia é formada por níveis discretos muito próximos.

Considerando o esquema da **Fig. 1.1(a)** as linhas representam níveis de energia permitidos para os elétrons em um átomo isolado. Para alguns átomos próximos, as funções de

onda que descrevem os elétrons se sobrepõem e surgem novos níveis de energia permitidos, **Fig. 1.1(b)**. Quanto maior o número de átomos acrescentados ao sistema, maior será o número de níveis de energia permitidos, cobrindo aproximadamente o mesmo intervalo de energia do átomo isolado. Para 1 mol de átomos, representado na **Fig. 1.1(c)**, o somatório das funções de onda nos níveis de energia permitidos formam bandas praticamente contínuas de energia. Muito embora, a banda de energia permitida pareça contínua, ela é na realidade composta de níveis de energia discretos muito próximos, **Fig.1.1(d)**. A **Fig. 1.1(c)** ainda permite observar a existência de lacunas entre os níveis de energia permitidos, ou seja, regiões onde não existem níveis de energia eletrônicos, estas lacunas são designadas de *bandgap*.

Nos semicondutores, o *bandgap* compreende o intervalo entre as bandas de energia permitida, a banda de valência e a banda de condução. A banda de valência corresponde a banda de menor energia, onde os elétrons se encontram, estão geralmente preenchidas e próximas a banda de condução (inicialmente vazia), conforme esquematicamente ilustrado na **Fig 1.2**.

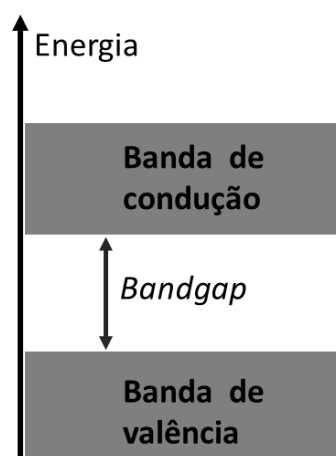


Figura 1.2. Diagrama de energia permitida para um semicondutor inorgânico, ponto quântico.

De modo geral, nos semicondutores, os elétrons podem ser excitados por meio de estímulos como calor, tensão ou fluxo de fótons e ganhar energia suficiente para atravessar o

bandgap. Ao atravessar o *bandgap* os elétrons passam para um novo nível superior de energia permitida (banda de condução), criando “buracos” em sua banda inicial (banda de valência), tornando-a disponível como uma nova banda permitida para outros elétrons excitados provenientes de bandas inferiores. O par elétron-buraco é denominado éxciton (**Fig. 1.3**).

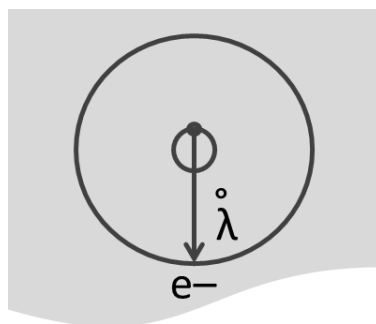


Figura 1.3. Representação esquemática simplificada de um éxciton com o “buraco” próximo ao centro (círculo cheio) e o elétron, e^- , separados pelo raio de Bohr, λ que orbita ao redor do centro de massa.

Todos os sólido, como os semicondutores, possuem uma separação física média do éxciton (par elétron-buraco) conhecido como raio de Bohr do éxciton, designado por “ λ ”, conforme esquematizado na **Fig. 1.3**. Especificamente nos pontos quânticos as dimensões do nanocristal estão na ordem dimensional do raio de Bohr, dessa forma os elétrons de valência tornam-se confinados à superfície do nanocristal. Nesse estado, designado de confinamento quântico, os elétrons se comportam metaforicamente como se percebessem as “margens” do nanocristal, “sentindo” os limites físicos do mesmo, tornando-se mais atraídos pelos núcleos atômicos próximos a eles. Isto faz com que as energias vinculadas às funções de onda que descrevem o deslocamento de cada elétron se aproximem de valores atômicos, muito mais elevados do que as energias envolvidas em um cristal de dimensões macroscópicas (designado *bulk*).

Conforme ilustrado na **Fig. 1.4** o semiconductor passa a sofrer uma diminuição física progressiva em três dimensões até formar um ponto, com dimensões da ordem do raio de Bohr, onde os valores dos níveis de energia são discretos permitindo controlar a radiação emitida pelos nanocristais a partir das suas técnicas de síntese.

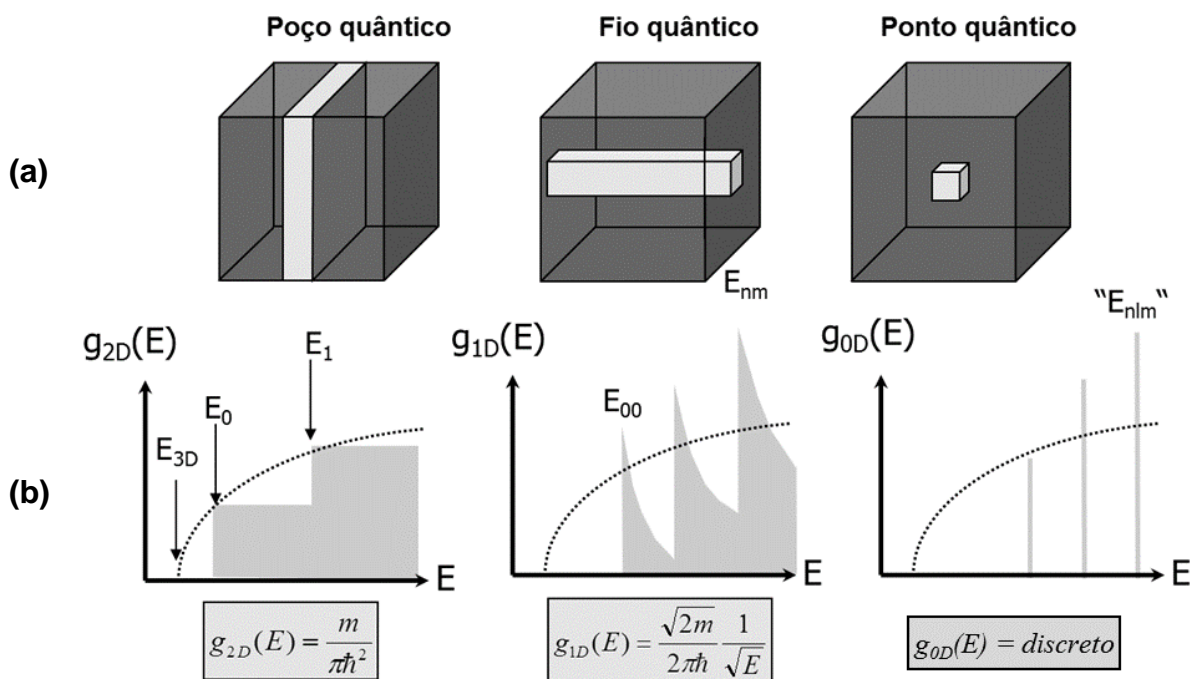


Figura 1.4. (a) Discretização dos níveis de energia com a diminuição física da partícula; (b) Descrição esquemática das mudanças de densidade de estados de energia, $g(E)$, segundo a limitação progressiva das dimensões. Figura adaptada de [Menezes, 2006](#).

Compreendendo a estrutura dessas nanopartículas discretas torna-se possível observar que a adição ou a subtração de algumas centenas de átomos do nanocristal tende a alterar os limites do *bandgap* devido à mudança do tamanho do ponto e os efeitos de confinamento eletrônico, conforme representado na **Fig. 1.5** ([Menezes, 2006](#)).

À medida que se diminui um PQ, com a retirada de átomos, maior se torna o *bandgap*, isto é observado no fato de que com a diminuição do PQ o elétron excitado, alocado acima do *bandgap*, cairá a uma distância maior em termos de energia e o comprimento de onda emitido

poderá estar se deslocando para a região do azul, próximo ao ultravioleta, (para menores comprimentos de onda, maior frequência e maior energia). E caso contrário, a medida que se adiciona elétrons, o *bandgap* torna-se menor, e o elétron excitado (acima do *bandgap*) se deslocará a uma distância menor em termos de energia, e assim, o comprimento de onda emitido se deslocará para a região do vermelho no visível, próximo ao infravermelho (para maiores comprimentos de onda, menor frequência, menor energia) (**Fig. 1.5**). A partir dessas informações simplificadas, é possível controlar a radiação eletromagnética emitida na região do visível com precisão, alterando o número de átomos presente no nanocrystal, por intermédio do seu processo de síntese.

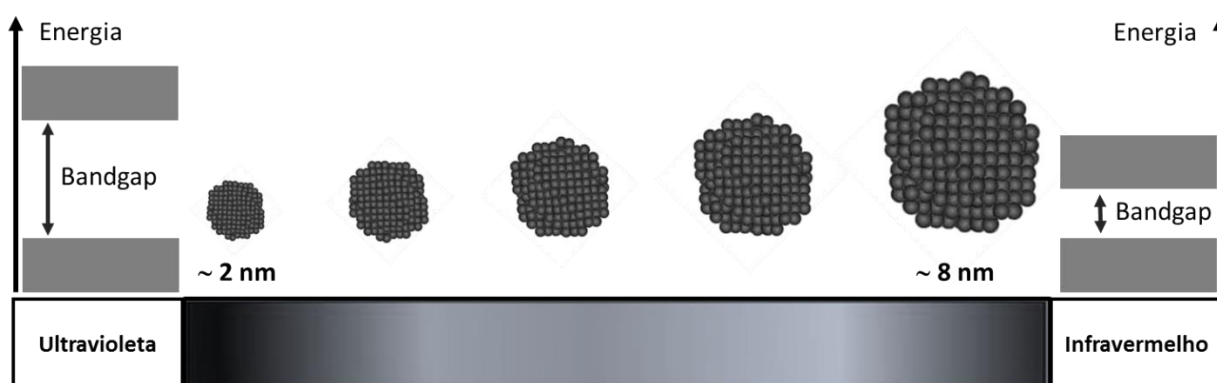


Figura 1.5. Variação de energia e emissão dos pontos quânticos na região do visível do espectro eletromagnético em relação ao tamanho da nanopartícula.

Quando comparados a compostos fluoróforos convencionais, como os corantes orgânicos, como exemplo, os PQs apresentam melhores características, como: maior estabilidade química, amplo espectro de absorção, bandas de emissão mais estreitas, maior rendimento quântico de fluorescência e longo tempo de emissão (Driel et al. 2005). Em resumo, é notável que o estado de forte confinamento quântico no qual os elétrons de valência dos PQs se encontram, devido a sua nanoescala, conferem propriedades ópticas singulares frente aos demais semicondutores nanométricos.

1.3.2. Propriedades ópticas dos pontos quânticos

Com base no exposto no item anterior, podemos definir pontos quânticos (PQs) como sendo nanocristais semicondutores com elevada capacidade de fluorescência, estabilidade química e alto rendimento quântico. Essas nanopartículas são geralmente formadas por elementos dos grupos 12 e 16 (ZnS, CdSe, CdTe, HgTe), dos grupos 13 e 15 (InP, InAs, GaAs) ou pelos grupos 14 e 16 (SnTe, PbSe) da tabela periódica, ou ainda podem ser formados pela “união” dessas partículas em forma de camadas como em um modelo de “caroço-casca”, designado *core-shell* (CdTe/CdS; CdSe/ZnSe/ZnS) (Kuang et al. 2011).

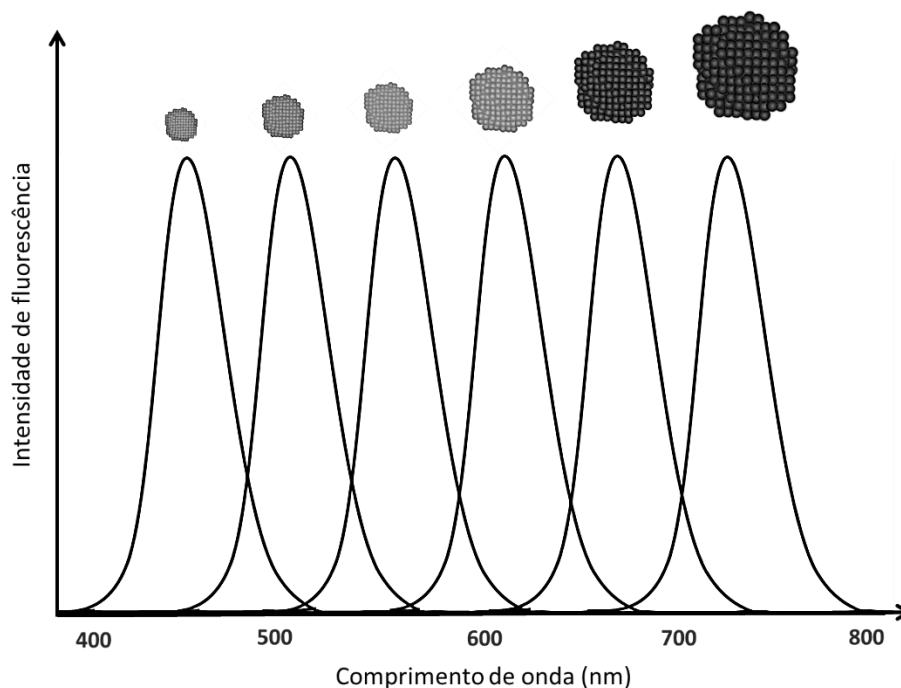


Figura 1.6. Variação dos espectros de fluorescência correspondente a amostras de diferentes tamanhos de um mesmo tipo de PQ hipotético.

Em física, os PQs são comumente reconhecidos como átomos artificiais, pois apresentam estados de energia discretos, semelhantes aos níveis de energia de átomos isolados, devido ao seu confinamento quântico. De modo simplificado, essa discretização dos níveis de energia permite uma variação de absorção e emissão de energia conforme a alteração do seu tamanho.

A **Fig. 1.6** esquematiza essa ideia para um PQ hipotético que apresenta variação de emissão de fluorescência com o aumento de escala.

Quando um fóton com energia suficiente, maior do que o *bandgap* do nanomaterial, é absorvido por este, um elétron é excitado a partir da banda de valência para a banda de condução, formando um espaço vazio ou “buraco” na banda de valência. Quando o elétron relaxa e retorna para o seu “buraco” na banda de valência, é emitido um novo fóton, com energia igual ao *bandgap* do nanomaterial (**Fig. 1.7**).

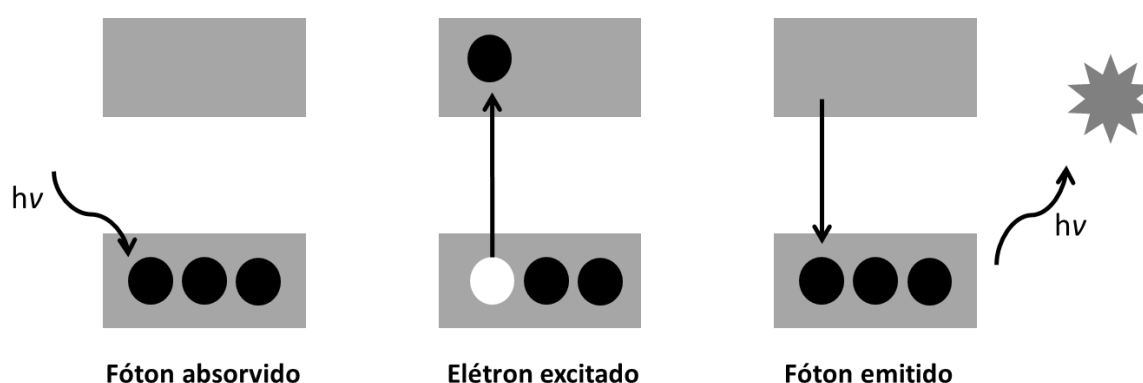


Figura 1.7. Representação esquemática do mecanismo de excitação e emissão devido à recombinação radiativa do par elétron-buraco (éxciton).

Este mecanismo permite que um PQ absorva todos os comprimentos de onda de luz superior ao seu *bandgap* e converta-o em um comprimento de onda mais específico (**Fig. 1.8**), gerando bandas de emissão de fluorescência mais estreitas, quando comparadas as bandas de emissão de um corante orgânico fluoróforo, como exemplo.

Quanto maior a intensidade da fluorescência, melhor a qualidade do PQ. O pico do espectro de emissão é deslocado para um comprimento de onda maior em relação ao pico da excitação (**Fig. 1.8**). A diferença de energia entre o pico de absorção e de emissão é designado *stokes shift*. Em PQs com baixa concentração de estados de impureza superficial e com alta eficiência de fluorescência, este *stokes shift* é devido principalmente à renormalização do

bandgap. Essa renormalização acontece quando a concentração de portadores fotoexcitados é alta o suficiente para ocasionar uma atração entre as bandas de valência e de condução, diminuindo assim o *bandgap* e, conseqüentemente, diminuindo a energia do fóton emitido (maior comprimento de onda) em relação ao fóton absorvido (menor comprimento de onda). A energia de apenas um par de elétron-buraco fotoexcitado em um PQ é elevada o suficiente para ocasionar a renormalização do *bandgap*.

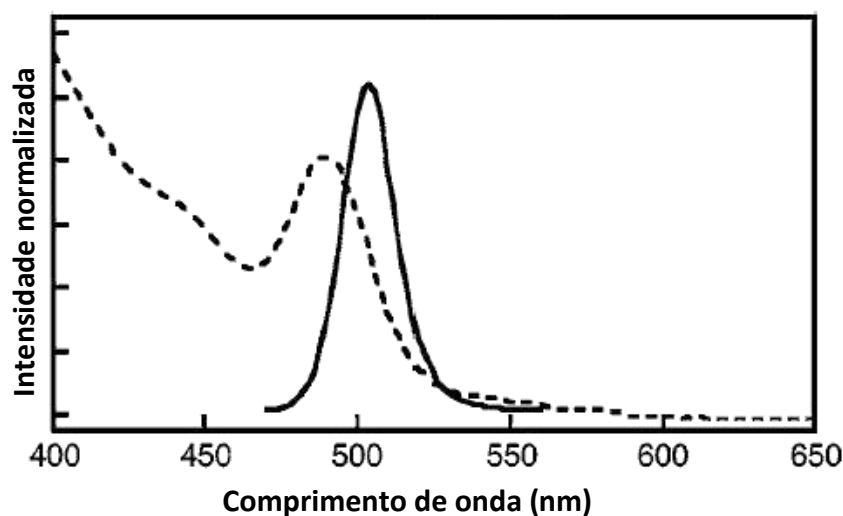


Figura 1.8. Representação típica de espectros de absorvância (linha tracejada) e de fluorescência (linha cheia) para PQs de CdSe em meio orgânico. Figura adaptada de [Angell, 2011](#).

Para que os PQs tenham uma alta eficiência de fluorescência, é necessário que estes sejam passivados, evitando assim defeitos significativos na sua superfície nanocristalina. A solução para este problema é a passivação da superfície a qual consiste em literalmente “encapar” o PQ com uma formação cristalina que possua um *bandgap* de maior energia, confinando o elétron no interior do nanocristal e assegurando um decaimento sem subníveis energéticos, gerando uma luminescência mais intensa.

Nesse sentido, com respeito a procedimentos de síntese aquosa, são empregados geralmente dois tipos de solventes orgânicos passivadores: o ácido mercaptopropiônico (MPA) e o ácido tioglicol (TGA), ambos contém enxofre em sua estrutura que reveste a nanopartícula.

No caso dos PQs de telureto de cádmio (CdTe) e seleneto de cádmio (CdSe), como exemplo, este elemento desprende-se da cadeia carbônica e liga-se ao PQ, o que forma uma espécie de “concha” de sulfeto de cádmio (CdS) ao redor deste (no caso do CdSe e CdTe), formando uma camada com um *gap* óptico de maior energia do que o núcleo do ponto quântico, o que aumenta sua eficiência quântica de fluorescência.

A **Fig. 1.9** representa uma vantagem dos PQs em relação aos corantes orgânicos fluoróforo. Os nanocristais possuem um espectro de absorção largo e um espectro de emissão estreito e simétrico. Essa propriedade permite que se utilize apenas uma fonte de radiação para excitá-los em diferentes cores, o que não é possível nos corantes orgânicos, e com a mínima superposição de sinal, devido à emissão relativamente estreita e simétrica.

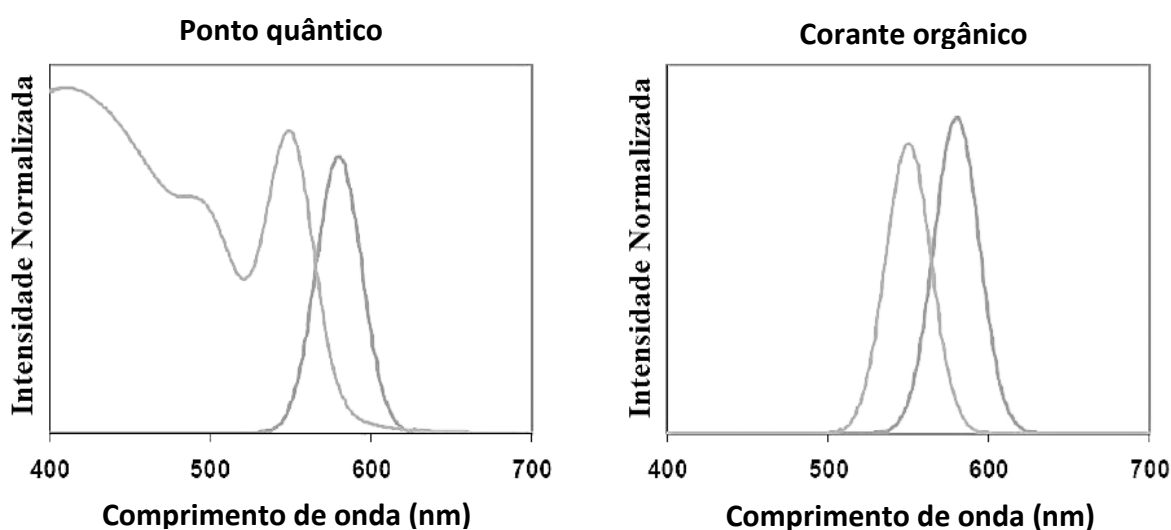


Figura 1.9. Representação esquemática típica de espectros de absorção (primeira linha) e emissão (segunda linha) de (a) PQs e (b) corantes orgânicos. Ilustração adaptada de [Gomes, 2010](#).

Quanto mais estreita a banda de emissão dos PQs mais cores podem ser utilizadas, para diversas aplicações, sem a ocorrência de sobreposição dos picos. As bandas de emissão dos PQs são mais estreitas do que as bandas de emissão da maioria dos compostos fluoróforos. O alargamento de linha da banda de emissão pode ser homogêneo, o que depende do tempo de

vida e da temperatura, ou heterogêneo, devido à dispersão de tamanhos dos PQs. O alargamento heterogêneo é usualmente predominante. Para uma dispersão de tamanhos de partículas de 5% se consegue largura de linha de 30 nm (Angell, 2011).

Ainda em comparação com os corantes orgânicos, PQs têm a atraente propriedade de uma absorção que aumenta gradativamente para comprimentos de onda menores (inferiores a primeira banda excitônica de absorção) e uma banda de emissão estreita de forma simétrica em sua maior parte. A posição espectral de absorção e de emissão são ajustáveis por tamanho das nanopartículas. Esse ajuste é possível através do controle dos procedimentos de síntese como a adição dos precursores e suas concentrações, ajuste do pH da solução, temperatura de nucleação e tempo de crescimento dos cristais.

A largura do pico de emissão, em particular, é determinada principalmente pela distribuição de tamanho dos PQs. O largo espectro de absorção permite a livre escolha do comprimento de onda de excitação e também fácil separação dos comprimentos de onda de excitação e emissão.

Os coeficientes de absorção molar na banda de absorção do primeiro PQs são geralmente grandes, em comparação com os corantes orgânicos. Típicos coeficientes de absorção molar estão em torno de 100.000 a 1.000.000 $M^{-1}cm^{-1}$, enquanto que para os corantes orgânicos, por exemplo, os coeficientes de absorção molar, no máximo de absorção (comprimento de onda máximo) são cerca de 25.000 a 250.000 $M^{-1}cm^{-1}$.

Rendimentos quânticos de fluorescência de PQs são na maioria dos casos elevados na reação da luz do visível (~ 400 a 700 nm) e também são altos para a faixa de comprimentos de onda do infravermelho próximo (*near infrared*, NIR) (≥ 800 nm). Em contraste, os corantes orgânicos, por exemplo, têm rendimentos quânticos de fluorescência que são elevados na faixa de luz visível, contudo são no máximo moderados na região espectral do infravermelho próximo (Resch-Genger et al., 2008).

1.3.2.1 – Determinação do coeficiente de excitação

O coeficiente de excitação por mol para o primeiro pico de absorção excitônica, ϵ , para os pontos quânticos (PQs) de CdTe, CdSe e CdS foram investigados por Yu e colaboradores. (2003) e revelaram ser fortemente dependentes do tamanho desses nanocristais. A natureza dos ligantes de superfície, o índice de refração do solvente, o rendimento quântico de fluorescência, o método utilizado para a síntese e a temperatura em todas as análises não revelaram influência significativa, dentro do erro experimental previsto. Desse modo, os estudos de Yu vem sendo exaustivamente empregados, desde então, como referência para o cálculo do tamanho e concentração das nanopartículas de CdTe, CdSe e CdS (Yu et al, 2003).

O confinamento quântico estabelecido pelo tamanho desses nanocristais exerce um papel fundamental para a determinação de suas propriedades ópticas. Em geral, há dois efeitos principais associados ao confinamento quântico. O primeiro efeito é o espaçamento entre as bandas (“*bandgap* ajustável”) o qual varia com o tamanho dos nanocristais, esta propriedade está bem estabelecida do ponto de vista experimental e teórico. As bem conhecidas cores de emissão de fluorescência são o resultado direto deste primeiro efeito quântico. No entanto, o segundo efeito, o coeficiente de extinção é muito menos compreendido, sobretudo experimentalmente, pois essa não é uma tarefa analítica trivial. A acessibilidade à amostras de qualidade, procedimentos de purificação fiáveis e determinação independente da concentração em solução são obstáculos previsíveis nestes estudos de previsão exploratória.

A determinação do coeficiente de excitação é muito importante para medidas da concentração molar de PQs de forma conveniente e precisa. Se o coeficiente de excitação fosse conhecido seria simples obter o valor dessa concentração, bastaria tomar um espectro de absorção da amostra desejada. Ao contrário de compostos orgânicos e inorgânicos convencionais onde a concentração pode ser determinada por intermédio de métodos gravimétricos. O número de ligantes na superfície dos PQs é bastante difícil de identificar e

pode variar significativamente em diferentes condições de síntese. Métodos gravimétricos são precisos apenas em casos onde as interações entre os ligantes de superfície e os nanocristais são suficientemente fortes para suportar os procedimentos de purificação necessários. Nessa perspectiva, o método empregando o espectrômetro de absorção seria mais prático e conveniente para a determinação da concentração das partículas, além de ser em muitos casos a única alternativa possível. Para os cálculos do tamanho Yu e colaboradores propuseram a seguinte expressão **(1)**, com base em seus criteriosos e rigorosos experimentos.

$$D = (9.8127 \times 10^{-7}) \lambda^3 - (1.7147 \times 10^{-3}) \lambda^2 + (1.0064) \lambda - 194.84 \quad (1)$$

Onde D é o diâmetro (nm) e λ (nm) o comprimento de onda de absorbância máxima que corresponde ao primeiro pico de absorção excitônicas dos nanocristais.

Para a solução aquosa de PQs de CdTe uma concentração molar foi determinada tendo em consideração o espectro de absorção de uma determinada solução de PQs, com uma concentração de massa conhecida, e por avaliação do coeficiente de extinção (ϵ) utilizando a seguinte expressão **(2)** (Yu et al., 2003):

$$\epsilon = 3450\Delta E(D)^{2.4} \quad (2)$$

Onde ΔE é a energia de transição correspondente ao primeiro pico de absorção expressa em eV. Sabendo tanto ϵ e a absorbância da solução de PQs de CdTe, a concentração molar foi facilmente calculada aplicando a lei de Lambert-Beer.

1.3.2.2 – Determinação do rendimento quântico de fluorescência

A determinação simplificada para o rendimento quântico de fluorescência compreende a razão do número de fótons emitidos (durante toda duração do decaimento radiativo) e o número de fótons absorvidos durante o estado excitado. Substâncias com grande rendimento quântico, como a rodamina 6G, apresenta emissão com alto brilho. Existem diversas formas para se obter

o rendimento quântico de uma dada espécie fluorófora, entretanto, o método considerado mais confiável envolve a utilização de um material padrão com valor de rendimento quântico já pré-definido.

Alguns fatores devem ser levados em conta quando for utilizado este método, como por exemplo, o efeito da concentração, o uso de diferentes solventes para o padrão e a amostra. O cálculo do rendimento quântico fluorescente pode ser obtido através da seguinte equação (Li et al., 2006):

$$\varphi_A = \varphi_P \times (\text{Grad}_A \times \eta^2_A) / (\text{Grad}_P \times \eta^2_P) \quad (3)$$

Onde: φ_A corresponde ao rendimento quântico da amostra e φ_P do padrão, Grad_A e Grad_P correspondem à área da curva de emissão obtida no mesmo comprimento de onda de excitação, η corresponde ao índice de refração do solvente na qual a solução da amostra e padrão estão preparados. O índice de refração só é de uso significativo quando as soluções estiverem em solventes diferentes.

1.3.3 – Breve abordagem sobre as técnicas de síntese para nanocristais

Como abordado nos tópicos anteriores os PQs apresentam naturalmente uma elevada fotoluminescência e vêm sendo comumente sintetizados para aplicações bioquímicas, como marcadores biológicos, para monitoramento e tratamento de doenças cancerígenas (Kuang et al. 2011; Jamieson et al. 2007). A fim de expandir os seus estudos e aplicações tecnológicas a síntese de PQs vem sendo realizadas por meio de técnicas físicas ou químicas. (Biswas et al. 2012).

As primeiras técnicas de síntese dos PQs foram as técnicas físicas, designadas de *top-down*, elas envolvem a produção de nanocristais a partir de um cristal de maior dimensão, que passa a ser reduzido de forma contínua até atingir dimensão nanométrica por meio de técnicas

de moagem (Lam et al. 2000; Weng et al. 2008), *laser* em filme fino (Pacifci et al. 2007) ou fusão com tratamento térmico (Dantas et al. 2008), como exemplos. Entretanto, esse grupo de técnicas promove a formação dos nanocristais com superfícies imperfeitas e tamanhos irregulares, tornando as técnicas químicas mais utilizadas em detrimento às técnicas físicas (Krishnadasan et al. 2007).

As técnicas de sínteses químicas são principalmente organometálica ou aquosa. Sínteses organometálicas, designadas de *bottom-up*, são até o momento, o mais bem sucedido grupo de métodos para a síntese de PQs, apresentando elevada qualidade de rendimento e tamanhos regulares (Silva et al. 2010; Kuang et al. 2011).

Sínteses organometálicas eficientes deverão permitir a preparação de nanopartículas que apresentem uma uniformidade em sua composição, forma, dimensão e estrutura. Para obter nanocristais relativamente uniformes e com alto rendimento quântico o procedimento de síntese deve permitir uma rápida velocidade de nucleação e uma baixa velocidade de crescimento. São vários os procedimentos de síntese atualmente relatados (Silva et al. 2010; Viol et al. 2011; Biswas et al. 2012).

Um significativo progresso na síntese de pontos quânticos foi realizado a partir de 1993, com o desenvolvimento de um novo método químico de síntese, proposto por Murray e colaboradores (1993), que conseguiram obter nanocristais de sulfeto de cádmio (CdS), seleneto de cádmio (CdSe) e telureto de cádmio (CdTe) em um intervalo de tamanhos entre 2 e 12 nm. Este método de síntese é baseado na rápida injeção de precursores organometálicos, como o dimetilcádmio, $\text{Cd}(\text{CH}_3)_2$, em um solvente coordenante, como o óxido de trioctilfosfina (TOPO), à elevadas temperaturas. Neste caso, a nucleação das nanopartículas é a primeira etapa da síntese, sendo seguida pela etapa de crescimento, em temperaturas mais baixas, quando as concentrações dos monômeros decrescem (Donegá et al. 2005). A **Fig.1.10** ilustra a ocorrência dessas etapas no método de síntese organometálica, ressaltando as etapas de nucleação e crescimento das nanopartículas.

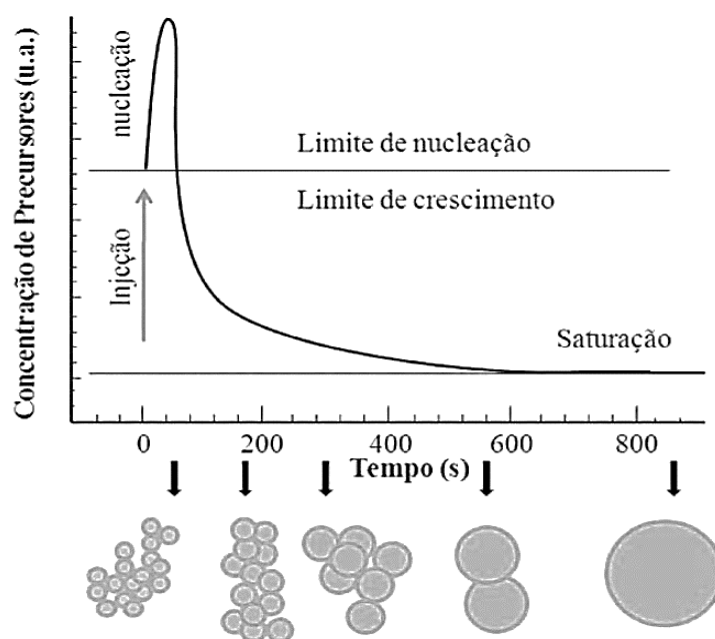


Figura 1.10. Principais etapas envolvidas na síntese de nanopartículas cristalinas pelo método de injeção a quente (Murray et al. 1993). Figura adaptada da referência (Silva et al. 2010).

Por meio do método organometálico é possível obter amostras com uma distribuição estreita de tamanhos (dispersão de 5 a 10%), bem como produzir nanocristais com rendimentos quânticos de fluorescência de até 80%. Entretanto, este método de síntese conhecido como rota organometálica, ou método TOP/TOPO (trioctilfosfina/óxido de trioctilfosfina), utiliza precursores extremamente tóxicos, pirofóricos, de custo elevado e que necessitam de altas temperaturas de reação (Murray et al. 1993). Além disso, os nanocristais obtidos por essa metodologia sintética são praticamente insolúveis em meio aquoso e, portanto, não são compatíveis com o sistema biológico, o que é um fator limitante para as suas aplicações em biomedicina. Dessa forma, investigações mais recentes vêm propondo modificações na superfície dos PQs para que esses se tornem solúveis em meio aquoso. Entretanto, essa modificação é geralmente acompanhada por um decréscimo considerável no rendimento quântico de fotoluminescência (Peng & Peng 2001).

1.3.3.1 – Síntese de pontos quânticos em meio aquoso

A busca pela simplificação dos procedimentos experimentais representa um dos principais objetivos da área de síntese de PQs. Nesse sentido, Rogach e colaboradores (1996) foram os primeiros a descreverem a síntese de CdTe em meio aquoso. A síntese é baseada na injeção do precursor calcogeneto em uma solução aquosa, contendo o precursor metálico, seguida por um período de refluxo na temperatura de ebulição da água. Nesse sistema, grupos polifosfatos, tióis ou aminas de cadeias curtas são utilizados como ligantes, a fim de diminuir os defeitos de superfície dos nanocristais sintetizados.

Os procedimentos de síntese em meio aquoso têm sido amplamente utilizados para produção de PQs, pois esses métodos apresentam boa reprodutibilidade sintética, menor custo, baixa toxicidade e são capazes de formar produtos facilmente solubilizados em água e, dessa forma, biocompatíveis (Liu & Yu, 2009). No entanto, apesar de apresentar inúmeras vantagens, o método de síntese coloidal em meio aquoso apresenta o inconveniente de produzir nanocristais polidispersos, ou seja, com uma distribuição ampla de tamanhos, e com valores de rendimento quântico de fotoluminescência relativamente baixos (até 65%). Por essa razão, têm-se estudado, recentemente, algumas alternativas para tornar essa distribuição de tamanhos mais estreita e aumentar a eficiência quântica desses materiais sintetizados em meio aquoso (Liu & Yu, 2009).

Entre outros fatores, uma distribuição estreita de tamanhos pode ser requerida quando se deseja obter nanocristais com cores de emissão homogêneas, o que é muito interessante do ponto de vista das aplicações tecnológicas. Por esse motivo, algumas técnicas de pós-preparo têm surgido com o objetivo de diminuir a polidispersão de tamanhos dos nanocristais obtidos pelo método aquoso. Uma das técnicas mais empregadas com esse propósito é a precipitação seletiva de tamanhos, a qual foi inicialmente utilizada para a separação de tamanhos dos

nanocristais de CdS (Vossmeier et al. 1994). Tal técnica apresenta baixo custo e simplicidade experimental, sendo baseada na diferença de solubilidade de partículas com diferentes tamanhos.

Uma outra técnica adotada para esta finalidade é baseada no crescimento de uma camada externa composta por uma matriz inorgânica também constituída de nanopartículas semicondutoras sobre a superfície dos nanocristais, dando origem a estruturas do tipo “caroço-casca”, designado *core-shell* (Kuang et al. 2011). Essas mesmas estratégias têm sido utilizadas para melhorar a qualidade dos nanocristais preparados em meio orgânico, sendo, na maioria dos casos, desenvolvidos primeiramente para esses sistemas, e, posteriormente, aplicados aos sistemas coloidais aquosos (Reiss et al. 2009).

Os nanocristais do tipo *core-shell* são formados por uma combinação de dois ou mais semicondutores distintos, em que um deles constitui o “caroço” (*core*), que é recoberto por uma camada externa contendo outro tipo de semicondutor (*shell*). Nesses sistemas, além de se elevar o rendimento quântico de fotoluminescência, também é permitido um ganho de estabilidade dos nanocristais produzidos. Além disso, a escolha adequada dos nanomateriais permite estender a emissão desses compostos para uma ampla faixa de comprimentos de onda do espectro (Reiss et al. 2009; Silva et al. 2010; Kuang et al. 2011).

Entretanto, o emprego de PQs simples como seleneto de cádmio (CdSe) e telureto de cádmio (CdTe), vem apresentando ampla aplicabilidade em química analítica em diversas aplicações ambientais, tecnológicas e farmacêuticas (Reiss et al. 2009).

1.3.4 – Aplicação de pontos quânticos em sistemas analíticos

Visto as características ópticas fundamentais e as suas, relativamente simples, rotas de síntese aquosa os PQs vêm ganhando espaço cada vez mais abrangente nas ciências naturais,

medicina, engenharias e atualmente, com especial destaque, em química analítica (Costa-Fernández et al. 2006; Kuang et al. 2011).

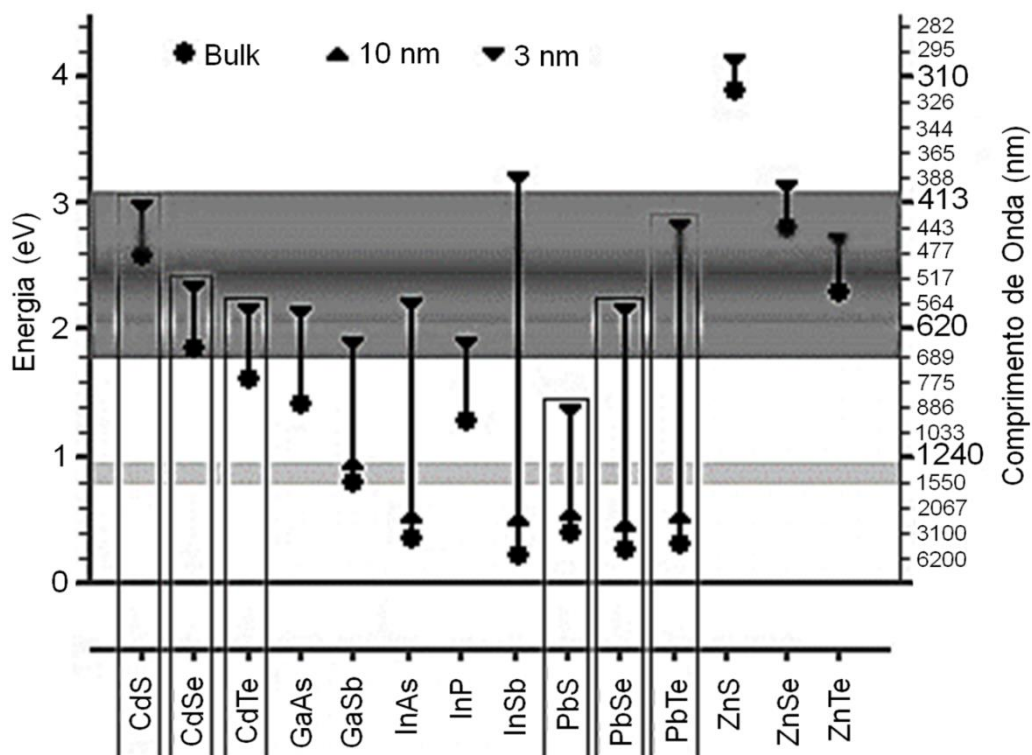


Figura 1.11. Representação esquemática para o controle das propriedades ópticas em PQs. Os PQs destacados correspondem as famílias de maior interesse do grupo, as de *bandgap* sintonizável no visível (CdS, CdSe e CdTe) e na região das comunicações ópticas (PbS, PbSe e PbTe). Ilustração adaptada de Moreira, 2005.

A **Fig. 1.11** representa um quadro de diferentes PQs com as suas regiões de energia e comprimento de onda considerando o primeiro pico de absorção permitido pela influência do tamanho das nanopartículas entre 3 nm a 10 nm para diferentes semicondutores diatômicos. Geralmente, as aplicações biológicas se restringem à região do visível, particularmente os nanocristais de CdS, CdSe e CdTe, enquanto que as aplicações desses nanomateriais para dispositivos de comunicações ópticas (janelas de transmissão óptica) devem estar na região entre 1300 nm a 1600 nm (PbS, PbSe e PbTe, como exemplo), conforme destacada na **Fig. 1.11**. Os nanocristais semicondutores inorgânicos destacados no eixo horizontal

representam os de maior interesse para as pesquisas acadêmicas e para a indústria eletrônica nas últimas décadas (Moreira, 2005).

Nos estudos em química analítica, a primeira aplicação quantitativa descrita para PQs foi realizada para determinação de íons zinco e cobre em amostras de tampão fisiológico (Chen & Rosenzweig, 2002). Este trabalho demonstrou o efeito de diferentes ligantes sobre a resposta luminescente de pontos quânticos de sulfeto de cádmio (PQs de CdS). A *l*-cisteína e o tioglicol mostraram uma resposta analítica seletiva e sensível para os íons zinco e cádmio, respectivamente, no sistema químico investigado. Esta pesquisa destacou a importância do revestimento do ponto quântico para o seu emprego em determinações sensíveis e seletivas (Chen & Rosenzweig, 2002).

A partir destas observações, tem-se despontado na literatura, um significativo número de métodos analíticos, empregando diferentes PQs (CdS, CdSe e CdTe, geralmente) com vários ligantes (orgânicos em sua maioria) que permitem aplicações cada vez mais seletivas e sensíveis, proporcionando assim a base para o desenvolvimento de uma série de novos métodos de análise. Estas aplicações compreendem na maioria dos casos a quantificação de metais e monitoramento de moléculas orgânicas em sistemas aquosos ou biológico (Costas-Mora et al., 2014; Frigerio et al., 2012).

A necessidade de leituras fotoluminescentes estáveis associadas ao equilíbrio químico do sistema pode ser um obstáculo nos procedimentos manuais de análise envolvendo PQs. A formação de interações superficiais no estado de equilíbrio químico altera a estabilidade da solução dos PQs, bem como, a resposta fotoluminescente estudada. Assim, a intensidade mais pronunciada do sinal analítico só poderia ser obtida através de uma menor estabilidade da solução com PQs, o que convencionalmente (através dos procedimentos manuais) poderia resultar em leituras instrumentais irreprodutíveis e até mesmo inexistentes (Frigerio et al. 2012).

A automação do processo de análise permite superar esse inconveniente, pois procedimentos automáticos podem inserir volumes reproduzíveis de soluções (amostra e

reagentes) e desenvolver reações de forma controlada, sem a necessidade de atingir as condições de equilíbrio químico.

1.3.5 – Características dos sistemas quimiluminescentes

O uso da quimiluminescência (QL) como técnica de análise, baseia-se na medição da radiação eletromagnética, geralmente da região do visível ao infravermelho próximo, emitida por uma reação química, geralmente uma reação de oxido-redução que produz radicais no estado excitado. A reação QL mais clássica baseia-se na oxidação do luminol (3-aminofthalhidrazina) com um oxidante (tipicamente de H_2O_2) em meio alcalino, que conduz a emissão de luz no intervalo de 425 a 435 nm; outras reações usam oxidantes como MnO_4^- , $[\text{Fe}(\text{CN})_6]_3^-$, IO_4^- dentre outros, e como compostos redutores SO_3^{2-} , NO ou compostos orgânicos (Ocaña-González et al., 2014).

QL é caracterizada pela alta sensibilidade e ampla faixa dinâmica, sendo geralmente medida em ausência (ou com baixos níveis), de fundo claro (técnica do "campo escuro"). Isto leva a limites de detecção muito baixos em comparação a outras técnicas ópticas, sendo, no geral, 10^3 a 10^5 vezes mais sensível do que as técnicas de absorção e fluorescência, respectivamente. Por outro lado, a técnica de QL também tem algumas desvantagens. Assim, muitas reações QL exibem uma baixa seletividade, o que leva a efeitos de interferência em métodos sem uma etapa de separação anterior adequada. Além disso, as reações de QL são geralmente de baixa robustez para muitas condições experimentais como pH do meio, temperatura, concentração de reagentes, natureza do solvente, força iônica, como exemplo. Do mesmo modo, a emissão de QL é susceptível aos efeitos de extinção de fluorescência, amostras complexas geralmente levam a notáveis efeitos de matriz nos resultados (Jimenez & Navas, 2002).

Como foi anteriormente mencionado, as reações QL mais empregadas são baseadas na oxidação direta do analito, na redução ou no seu efeito catalítico sobre a reação QL. Desta forma, a QL pode ser aplicada para a determinação de alguns oxidantes (como H_2O_2 , MnO_4^-), sulfito ou compostos orgânicos, como fenóis (que conduzem à emissão QL quando oxidados em condições adequadas) e cátions inorgânicos com efeito catalítico em luminol – reações de oxidação. Métodos de "reações acopladas", por outro lado, são métodos indiretos onde o analito participante na reação química produz um produto com uma função numa reação QL: por exemplo, a reação de oxidase de etanol-álcool produz H_2O_2 e pode ser acoplado a reação QL luminol/ H_2O_2 para analisar etanol (Lara et al., 2010).

Existem também métodos analíticos baseados no efeito de inibição sobre a emissão de QL, devido ao efeito de extinção da luz emitida, a reação do analito com um dos reagentes de QL (reduzindo a sua disponibilidade). E, finalmente, a sensibilização da QL poderia basear-se numa reação química que produz um produto excitado, induzindo a excitação da substância a analisar (fluoróforo) por um mecanismo de transferência de energia. Dessa forma, a reação entre diésteres de oxalato e H_2O_2 rendimento peróxi-oxalatos excitados que podem participar em interações de transferência de energia com diferentes fluoróforos (produtos farmacêuticos, aminoácidos, proteínas) (Chen et al., 2014).

1.3.5.1 – Mecanismo de quimiluminescência direta para pontos quânticos

Os PQs estão se tornando uma alternativa potencial para a emissão quimiluminescente. A quimiluminescência (QL) é gerada quando os PQs são excitados geralmente por oxidação direta. A QL dos PQs também pode ser empregada para reforçar sistemas QL de baixa intensidade de emissão, tais como peróxido de hidrogênio (H_2O_2) com bicarbonato de sódio (NaHCO_3), bissulfito de sódio (NaHSO_3), nitrito de sódio (NaNO_2), hipoclorito de sódio (NaClO), periodato de sódio (NaIO_4), como exemplos.

Existem três possíveis mecanismos de QL para PQs. A QL direta, onde os PQs são as espécies emissoras após a sua oxidação direta. QL catalítica, onde os PQs são catalisadores de uma reação envolvendo outras espécies luminóforas. QL indireta, onde os PQs são espécies emissoras após o CRET (transferência de energia de ressonância por quimiluminescência, do inglês, *chemiluminescence resonance energy transfer*) (Chen et al., 2014).

Quando os PQs são o único composto luminescente no sistema de QL eles podem ser definitivamente presumidos como uma oxidação direta. Quanto mais de um composto luminóforo existir em um sistema QL o mecanismo pode ser um CRET quando o emissor final é o PQ ou um processo catalítico pelo PQ quando o emissor final é luminóforo. Também é possível que a oxidação direta e o CRET ocorram simultaneamente.

Na quimiluminescência direta, um elétron pode ser adicionado na banda de condução e um “buraco” pode ser adicionado na banda de valência. Éxcitons são produzidos por recombinação dos elétrons e buracos. QL direta acontece quando éxcitons quimicamente gerados relaxam com a emissão de energia radiante.

Wang e colabores (2005) trabalharam com a oxidação direta de PQs de CdTe revestidos com ácido tioglicólico (TGA) e observaram que estes poderiam ser oxidados por peróxido de hidrogênio e permanganato de potássio. A emissão de QL de nanocristais de CdTe tem efeito dependente da dimensão e foi reforçada com tamanhos crescentes de PQs. Além disso, surfactantes brometo de cetiltrimetilamônio (CTAB) e β -ciclodextrina também pode melhorar esta intensidade de QL, que contribuí principalmente para a formação de nanoestruturas agregadas e o nano-micelas, respectivamente. O mecanismo proposto para o sistema de PQs de CdTe-H₂O₂ é apresentado nas reações 1 a 6, a seguir.





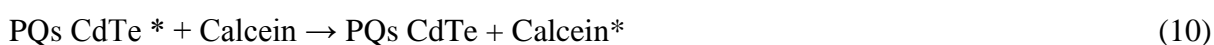
Ao empregar a mesma reação QL, Sheng e colaboradores (2009) encontrado Ag^+ , Cu^{2+} e Hg^{2+} pode inibir a emissão de TGA cobertas de CdTe sistema PQs- H_2O_2 . Com base nas reações, desenvolveram um método para a determinação QL seletiva de Ag^+ , Cu^{2+} e Hg^{2+} com um limite de detecção de $3,0 \times 10^{-8}$, $4,0 \times 10^{-8}$ e $6,7 \times 10^{-8} \text{ mol L}^{-1}$, respectivamente.

Li et al. (2010) relataram que os PQs de CdTe hidrossolúveis niveladas com três diferentes ácidos tioalquilo (ácido mercaptoacético (MAA), cisteína e glutatona) poderia ser diretamente oxidado por $\text{K}_3\text{Fe}(\text{CN})_6$ a produção de emissão de QL forte e estável em meio básico. PQs de CdTe foram os emissores de QL. Eles encontraram que os ligantes de nivelamento e o tamanho de PQs de CdTe têm um profundo efeito sobre a intensidade de QL do sistema PQs. A emissão a partir do sistema QL PQs de CdTe revestidas com glutatona foi mais forte do que a partir de MAA e sistema de PQs de CdTe revestidos por cisteína. O possível mecanismo do sistema QL PQs de CdTe modificado pode ser explicado simplesmente como as seguintes reações. No meio básico, ligando (glutatona) foi oxidado por $\text{K}_3\text{Fe}(\text{CN})_6$ a produzir o intermediário animado M^* . Então PQs de CdTe estava animado a partir de um processo de transferência de energia de ressonância CL usando M^* como doador e PQs de CdTe como aceitante (Reações 7 e 8). Finalmente, os excitados PQs de CdTe de emissão QL quando retornou ao estado fundamental (Reação 6).



Além disso, Zhang et al. desenvolveu o sistema de QL de PQs de CdTe-calceína- $\text{K}_3\text{Fe}(\text{CN})_6$. O QL do sistema calceína- $\text{K}_3\text{Fe}(\text{CN})_6$ foi consideravelmente reforçada pelo ácido 3-mercaptopcarboxílico (MPA) modificados PQs de CdTe (Kang et al. 2012). Os PQs de CdTe

excitados gerados diretamente a partir da oxidação de $K_3Fe(CN)_6$. Como o doador de energia, PQs de CdTe não radiativa transferiu sua energia para o receptor de calceína pela interação dipolo-dipolo. O mecanismo foi expresso simplesmente como reações 9-12. Os polifenóis inibiram a QL do presente sistema, absorvendo a energia da reação de CdTe com calceína- $K_3Fe(CN)_6$, para formar algumas substâncias não luminosas. Assim, um método sensível de extinção QL foi estabelecido.



1.3.6 – Breve considerações sobre sistemas automáticos de análise química

Métodos analíticos convencionais são comumente desenvolvidos e aplicados em laboratórios e centros de pesquisas de todo o mundo. No entanto, procedimentos analíticos que possibilitem um menor consumo de reagentes e amostras, redução na geração de resíduos, maior sensibilidade, menor custo, elevada frequência de amostragem, menor risco de intoxicação do analista e, além disso, de fácil execução, ainda são fortemente requisitados e aplicados em determinações de rotina, dada a elevada demanda de análises (Trojanowicz, 2008).

Dessa forma, nas últimas décadas, uma grande parte da química analítica tem-se dedicado para o desenvolvimento de sistemas automáticos, bem como de metodologias e adaptações para esse fim. Os analisadores automáticos podem ser classificados em três grupos: analisadores automáticos discretos ou em batelada; analisadores automáticos robotizados; analisadores automáticos em fluxo.

Os analisadores automáticos discretos, ou em batelada, são versões mecanizadas de métodos clássicos manuais. Geralmente, caracterizam-se por usarem um recipiente individual para cada amostra e por transportar a mistura reacional para o detector através de um sistema mecânico, comumente, em forma de bandeja. Normalmente, as medidas são realizadas após o estabelecimento do equilíbrio químico e físico da reação em estudo, objetivando alcançar a máxima sensibilidade analítica (Facchin, 1996).

Os analisadores automáticos robotizados são caracterizados por executar as operações analíticas com o auxílio de um braço mecânico controlado por computador, que mimetiza os procedimentos executados por um operador. A complexidade mecânica e o custo elevado fazem com que esses sistemas possuam diversas limitações na realização de análises automáticas. No entanto, eles desempenham um importante papel em etapas preliminares do procedimento analítico, como em tarefas que envolvam a manipulação de materiais tóxicos ou explosivos.

Os analisadores em fluxo apresentam as características de processamento da amostra e reagente em fluxo contínuo, seccionado ou não por bolhas de ar. De uma forma geral, devido à quantidade crescente de analisadores em fluxo desenvolvidos, a IUPAC (*International Union of Pure and Applied Chemistry*) (Zagatto et al., 2002), tem recomendado uma classificação de acordo com o processamento da amostra e/ou reagente(s) bem como da característica básica de seu fluxo.

Apesar da importância dos métodos discretos, e sobretudo dos métodos robotizados, na implementação e automatização de procedimentos laboratoriais, os métodos de fluxo registram um acentuado crescimento, tanto em termos de divulgação, como em áreas de aplicação e até em receptividade por parte da comunidade científica (Kolev & McKelvie, 2008).

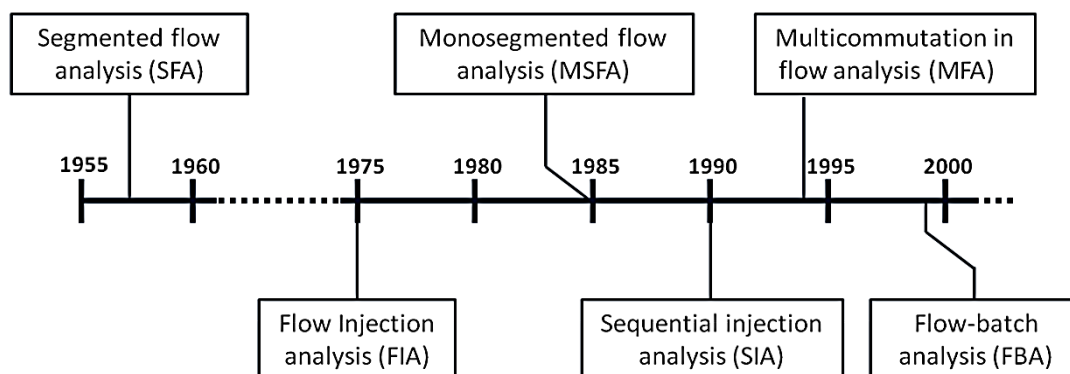


Figura 1.12 – Esquema representando a linha do tempo para os principais analisadores automáticos em fluxo desenvolvidos ao longo das décadas.

Desde o desenvolvimento do primeiro analisador automático em fluxo (Skeggs, 1957), em 1957, inúmeros analisadores têm sido propostos, como pode ser visto na **Fig. 1.12**. Análise por injeção em fluxo (do inglês: flow injection analysis - FIA) (Ruzicka & Hansen, 1975), análise em fluxo monossegmentado (monosegmented flow analysis - MSFA) (Pasquini & Oliveira, 1985), análise por injeção sequencial (sequential injection analysis - SIA) (Ruzicka & Marshall, 1990), análise em fluxo multicomutado (multicommutation in flow analysis - MFA) (Reis et al., 1994) e o análise em fluxo-batelada (flow-batch analysis - FBA) (Honorato et al., 1999). As diferentes combinações de características, como o tipo de confluência, bombeamento/ aspiração de amostras e reagentes e sua segmentação definem as peculiaridades de cada sistema.

Apesar de cada um desses sistemas em fluxo, apresentarem suas peculiaridades, todos eles exibem uma configuração geral em comum, como mostrado na **Fig. 1.13**. A propulsão dos fluidos geralmente é realizada por uma bomba peristáltica, embora vários outros mecanismos possam ser utilizados com esta finalidade, como as bombas pistão (**Fig. 1.13(a)**). O controle adequado das alíquotas de reagentes e amostras adicionadas ao sistema é, normalmente, realizado por válvulas solenoides, rotatórias, ou por injetor proporcional (**Fig. 1.13(b)**).

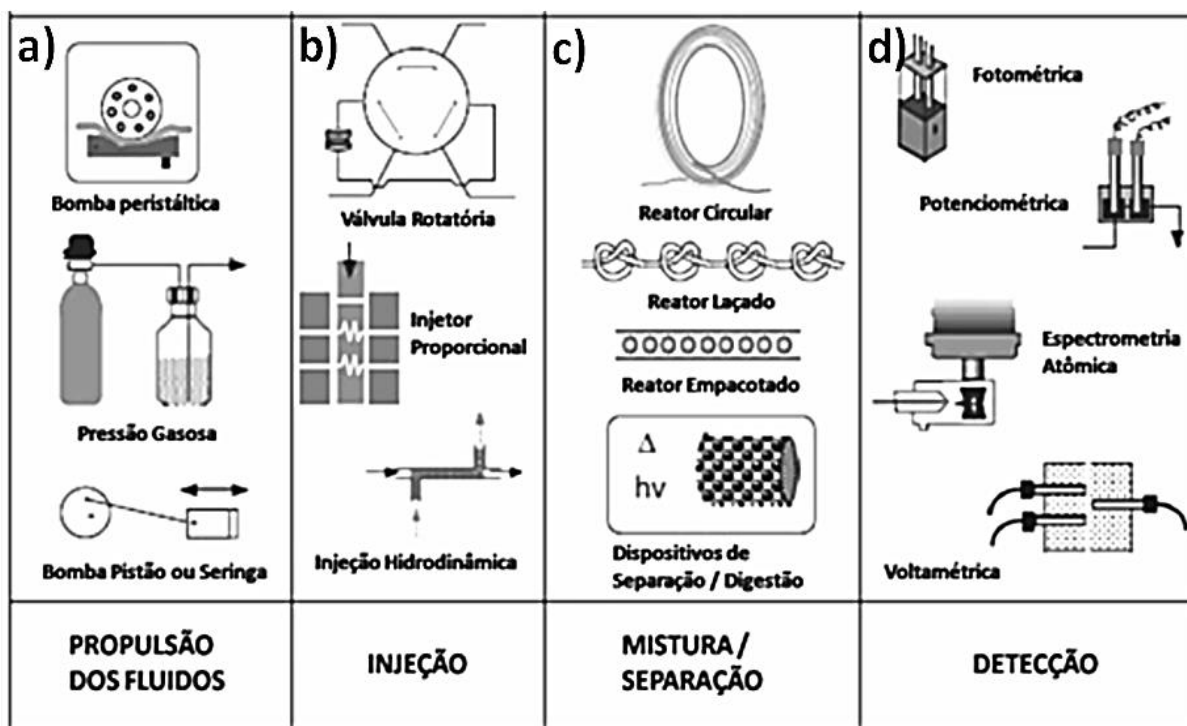


Figura 1.13 - Diagrama esquemático de um sistema de análise em fluxo simples. (a) exemplos de sistemas para propulsão dos fluidos, (b) exemplos de sistemas de injeção, (c) exemplos de sistemas de mistura e (d) exemplos de detectores.

Comumente, análises em fluxo exigem acessórios para promover misturas, digestões ou extrações. Essas etapas são promovidas por uma bobina de reação que podem ser modificadas de acordo com a reação requerida (**Fig. 1.13(c)**). A detecção do(s) analito(s) em um analisador em fluxo pode ser realizada das mais diversas formas (**Fig. 1.13(d)**).

1.3.7 – Sistemas automáticos em fluxo-batelada

Em geral, o sistema automático em fluxo-batelada (FBA), conforme descrito na literatura ([Diniz et al. 2012](#)), apresenta melhores características analíticas, como limite de detecção e taxa de amostragem, que outros sistemas automáticos. Outras vantagens, quando comparado a anteriores, é a facilidade de preparar as soluções de calibração in-line e a baixa geração de resíduos por análise, devido à ausência do fluido carregador.

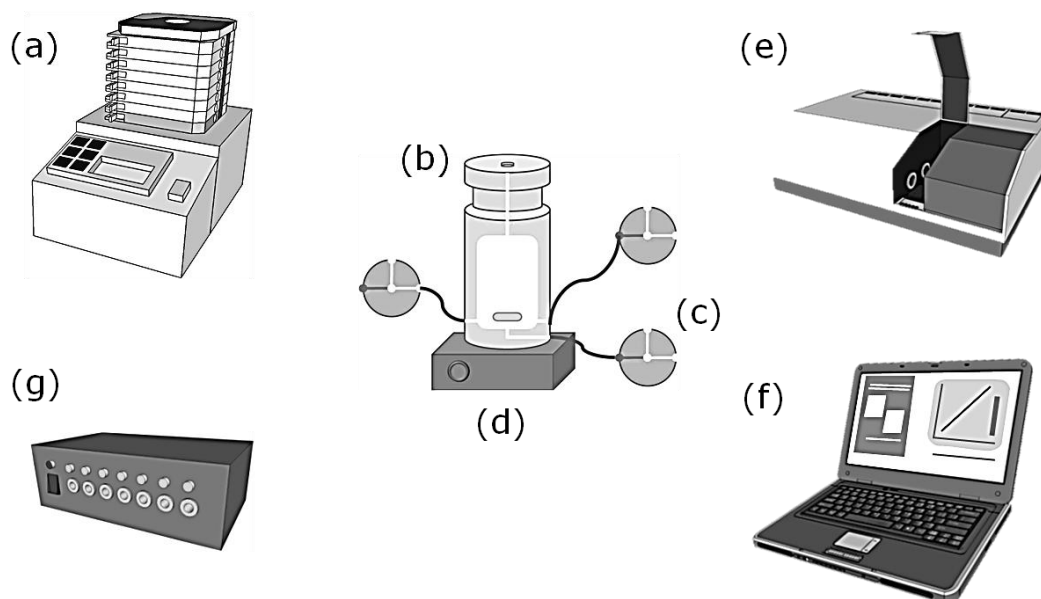


Figura 1.14 – Esquema ilustrativo dos principais componentes do FBA. (a) bomba peristáltica, (b) câmara de mistura, (c) válvulas solenoides, (d) agitador magnético, (e) sistema de detecção, (f) computador e (g) acionador de válvulas.

Essas evidentes vantagens do sistema fluxo-batelada perante os outros sistemas deve-se a sua própria configuração. Como pode ser visto no esquema ilustrativo apresentado na **Fig. 1.14**, o FBA é constituído basicamente das seguintes partes:

- Sistema de propulsão: para efetuar a propulsão dos fluidos no FBA, geralmente é utilizado uma bomba peristáltica (**Fig. 1.14 (a)**), devido a sua capacidade de impulsionar os líquidos por vários canais simultaneamente, mantendo a vazão constante.
- Sistema de adição dos fluidos: no FBA, volumes predefinidos e precisos de reagentes e amostras, adicionados ou aspirados da câmara de mistura, são controlados pelas válvulas solenoides (**Fig. 1.14 (c)**). Outros sistemas de comutação podem ser empregados, como válvulas pinça, válvulas SIA, microbombas (que executam a função da válvula e do sistema de propulsão), etc;
- Câmara de mistura: a câmara de mistura ou câmara reacional (**Fig. 1.14 (b)**) é uma das principais características do FBA. É constituída por uma pequena peça cilíndrica, geralmente de Teflon® ou acrílico, com volume interno variável de 0,5 a 2,0 mL. Nessa câmara de mistura

ocorre a maior parte dos procedimentos analíticos, como por exemplo, a adição, homogeneização, pré-tratamento, reações, acondicionamento dos fluidos, preparo de soluções de calibração, detecção do analito, etc. A eficiente mistura dos fluidos pode ser alcançada pela utilização de uma pequena barra magnética no interior da câmara, sendo o movimento da barra magnética estimulado pelo campo gerado pelo acionamento de um agitador magnético (**Fig. 1.14 (d)**);

- Sistema de detecção: o dispositivo empregado para detecção (**Fig. 1.14 (e)**) vai depender do método empregado na análise, podendo até, caso necessário, acoplar o detector à câmara;

- Sistema de controle: todo o controle do sistema é realizado com o auxílio do computador (**Fig. 1.14 (f)**), garantindo velocidade e precisão nas análises. Para o controle das válvulas é utilizado um acionador de válvulas (**Fig. 1.14 (g)**).

A combinação desses acessórios garante características intrínsecas dos analisadores em fluxo (alta velocidade analítica, baixo consumo de amostra e reagentes, baixo custo de montagem e facilidade de automatização) e dos analisadores em batelada (universalidade de aplicações, robustez e versatilidade) fornecendo ao analisador fluxo-batelada, figuras de mérito como: altas precisão e velocidade analítica, baixo custo por análise, baixo consumo, manipulação e contaminação de reagentes e amostras e geração de pouco resíduo para o meio ambiente.

1.3.7.1 – Aplicações analíticas em fluxo-batelada

Apesar do FBA ter sido proposto originalmente, para viabilizar a execução de titulações, empregando o método de Fibonacci para detectar o ponto final ([Honorato et al. 1999](#)), o tempo demonstrou que esse sistema tinha um escopo bastante diferente dos anteriormente propostos e que essa estratégia analítica poderia ser aplicada à outros processos analíticos. E nesse contexto,

várias metodologias analíticas têm sido abordadas nesses últimos 14 anos (Diniz et al. 2012), explorando as características do FBA.

Estratégias de pré-tratamento de amostras, como extração líquido-líquido (Lima et al. 2012(a)) e digestão (Domínguez et al. 2012), análises screening (Lima et al. 2004), titulações (Oliveira et al. 2006), adição de padrão (Silva et al. 2006) e abordagens explorando quimiluminescência (Grünhut et al. 2011), fluorescência (Lima et al. 2012), turbidimetria (Lima et al. 2012(b)) e nefelometria (Acebal et al. 2010) já foram desenvolvidas. Diversas formas de detecção também podem ser integradas à câmara de mistura, como exemplo, recentemente, Andrade e colaboradores (2013) sugeriram o uso da *webcam* como forma de detecção no FBA.

1.3.9 – Propriedades das imagens digitais

As imagens digitais podem ser produzidas por diversos aparelhos, incluindo câmeras digitais, scanners, aparelhos de raios-X, microscópios eletrônicos, aparelhos de ultra-som e radares, celulares, *webcam*, dentre outros dispositivos (Almeida, 2012).

Uma imagem digital pode ser entendida como uma matriz bidimensional cujos índices de linhas e colunas identificam um ponto na imagem. Os elementos dessa matriz digital são denominados de “elementos de imagem” ou pixels. Designa-se pixel o menor elemento de uma imagem digital, constituindo uma representação abstrata da imagem no domínio digital. Ao se utilizar um dispositivo baseado no sistema RGB (Red-Green-Blue) para aquisição das imagens, cada pixel resulta da combinação das cores vermelho, verde e azul em diferentes proporções e intensidades. Pode formar qualquer cor, variando do preto na ausência de qualquer radiação ao branco quando se tem a contribuição máxima das intensidades de R, G e B (Gonzales & Woods, 2000).

A profundidade de cor de uma imagem digital é quantificada em bits ou byte (unidade de medida para mensurar o tamanho de arquivos digitais). Uma imagem que possui intensidade de

cor de apenas um bit terá somente uma cor, que pode ser o branco ou o preto (0 ou 1 do código binário). Quanto maior a profundidade de cores (expressa em bits), maior será a quantidade de cores de uma imagem. Por exemplo, uma imagem com 8 bits de profundidade possuirá uma combinação de 256 (2⁸) níveis de intensidade para cada canal R, G ou B. Dessa forma é possível combinar os três canais (R, G e B) em diferentes níveis de intensidade e atingir 16,7 milhões de cores (Lima et al, 2014(b)).

1.3.9.1 – Dispositivo de captura de imagem

Webcam é uma câmera de vídeo de baixo custo que captura imagens digitais que são transferidas para um computador de modo quase instantâneo. A conexão utilizada com o microcomputador, usualmente, é do tipo USB e a captura de imagem é realizada mediante um transdutor de imagem (Lyra, 2008). Um esquema simplificado de uma *webcam* convencional com sensor CCD é representado na **Fig. 1.15**.

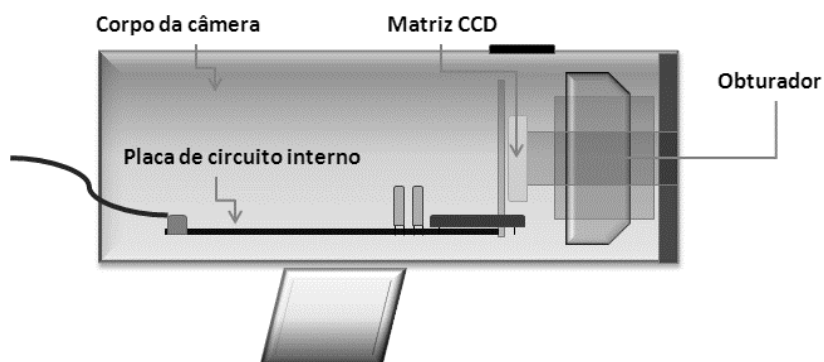


Figura 1.15 – Representação esquemática de uma *webcam*. Adaptado de Almeida, 2012.

Sensores CCD (dispositivo de carga acoplada) e sensores baseados em tecnologia CMOS (semicondutor de óxido metálico complementar) são os sensores mais utilizados na fabricação das câmeras digitais e *webcam*. Ambos têm capacidade de converter luz em sinais elétricos, sendo que os sensores CCD, entre outras vantagens, são menos suscetíveis aos ruídos (formação

de pixels com informação espúria) possibilitando a obtenção de imagens com maior qualidade, podendo ser explorada com diversos propósitos (Lima et al., 2013).

Uma câmera digital ou *webcam* é composta basicamente dos componentes seguintes: Matriz CCD: conjunto de fotocélulas formado por linhas e colunas. A luz que incide sobre a matriz CCD, sensibiliza as fotocélulas e provoca a emissão de elétrons, proporcional à quantidade de luz. Placa do circuito interno: sistema integrado que controla as diversas funções da câmera. Obturador: controla a entrada de luz incidente que será captada para aquisição do sinal digital. Caixa ou corpo da câmera: gabinete ou “carcaça” plástica onde são dispostos os dispositivos constituintes da câmera.

1.3.9.2 – Modelo de cor e norma do vetor RGB

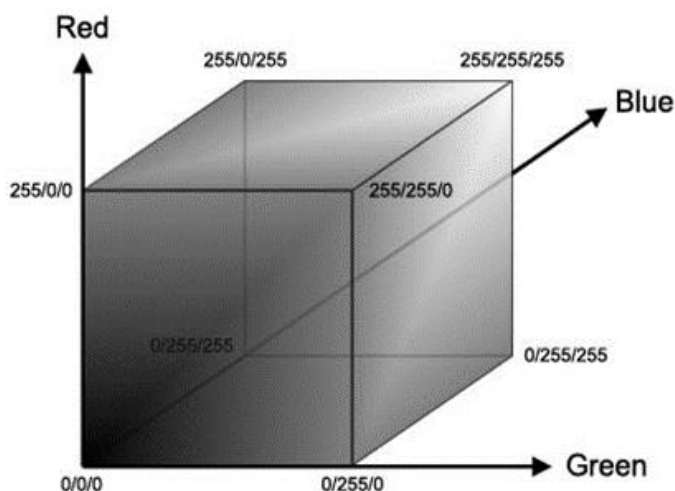


Figura 1.16 – Espaço de cores do sistema RGB representado em um sistema de coordenadas cartesianas. O valor máximo para cada canal é de 255.

No modelo RGB, cada cor aparece nos seus componentes espectrais primários: vermelho, verde e azul. Esse modelo baseia-se num sistema de coordenadas cartesianas. O subespaço de cores de interesse é o cubo mostrado na **Fig. 1.16**, no qual os valores RGB estão nos três vértices; ciano, magenta e amarelo estão nos outros três vértices; preto está na origem; e branco está no vértice mais distante da origem. Nesse modelo, a escala de cinza estende-se do preto até

o branco ao longo da linha juntando estes dois pontos, e as cores são pontos sobre ou dentro do cubo, definidas por vetores estendendo-se a partir da origem (Gonzalez & Woods, 2000).

Uma cor, portanto, pode ser considerada como um ponto em um espaço tridimensional (modelada como um subconjunto do espaço R^3), onde cada cor é representada por um trio de coordenada RGB.

Lyra (2008) propôs um modelo matemático, baseado no sistema de cores RGB e no conceito de norma de vetores. O modelo pode ser utilizado para definir a resposta analítica usada na construção das curvas analíticas. Um vetor posição v é associado à imagem digital de cada solução padrão ou amostra é ilustrado na **Fig. 1.17**.

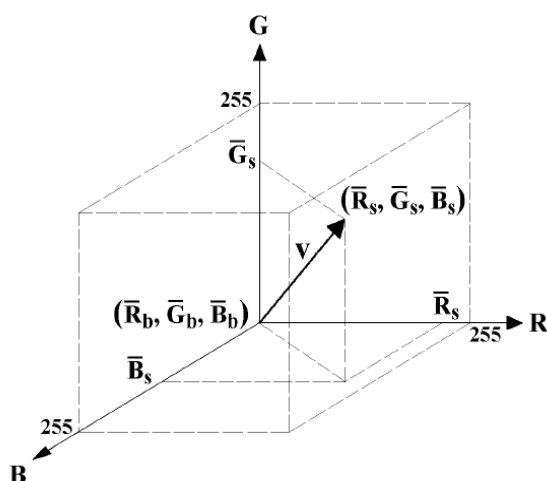


Figura 1.17 – Espaço RGB ilustrando a posição do vetor v associado a uma imagem digital.

Para realizar o cálculo da norma do vetor v , é necessário subtrair dos valores de \bar{R}_S , \bar{G}_S e \bar{B}_S (valores médios de R, G e B das soluções padrão e amostras) dos valores \bar{R}_B , \bar{G}_B e \bar{B}_B do branco. A norma $\|v\|$ do vetor v é então determinada pela expressão a seguir:

$$\|v\| = \sqrt{\bar{R}_{S-B}^2 + \bar{G}_{S-B}^2 + \bar{B}_{S-B}^2} \quad (09)$$

Onde os valores $\bar{R}_{S-B}^2 + \bar{G}_{S-B}^2 + \bar{B}_{S-B}^2$ são os valores líquidos obtidos depois de retirar a contribuição do branco.

Deste modo a partir de uma área selecionada na imagem é possível extrair e expressar um valor matemático que pode ser usado para elaborar a curva analítica assumindo uma relação linear entre a resposta analítica e a concentração do analito e estimar a concentração do analito nas amostras (Lima et al., 2013; Lima et al., 2014(b)).

1.3.9.3 – Métodos analíticos baseados em imagens digitais

O uso de imagens digitais em química analítica é recente e tem se demonstrado promissor. Desde o trabalho pioneiro desenvolvido por Monemi et al. (1999) que fizeram uso de uma câmera CCD (Dispositivo de carga acoplada), para determinar proteínas de ligação do retinol (RBP – Retinol Binding Protein) por quimiluminescência, várias propostas para o uso de imagens digitais foram postas em prática com sucesso. A possibilidade de monitoramento em linha e a capacidade de avaliar parâmetros como a textura, intensidade das cores e sua distribuição na superfície, também contribuíram para essa tendência (Andrade, 2012).

Na literatura são descritos vários modelos matemáticos que utilizam dados do sistema de cor RGB das imagens digitais para a obtenção de respostas analíticas em diversas determinações. Alguns desses modelos são descritos a seguir.

Gaião e colaboradores (2006) propuseram, pela primeira vez, o uso de imagem digital RGB para implementar uma titulação. A metodologia foi avaliada inicialmente na análise de amostras sintéticas para determinação de ácido clorídrico (HCl) e ácido fosfórico (H₃PO₄). Posteriormente, a estratégia foi aplicada à determinação de alcalinidade total em água mineral e água de torneira. Nesse método, utilizou-se uma *webcam*, como detector, para localização do ponto final em titulações de neutralização.

O valor de cor, adotado como resposta analítica, foi baseado no produto 2R x 2G x 2B empregando o sistema de cor RGB. Utilizou-se o valor de cor baseado nos valores médios de R, G e B para a construção das curvas de titulação. Os resultados das determinações foram

similares aos obtidos por titulação espectrofotométrica. Utilizando essa mesma metodologia, Tôrres e colaboradores (2011) determinaram a acidez total de vinhos tintos por meio de titulação ácido-base sem o uso de indicador externo, explorando apenas as imagens capturadas com uma *webcam*.

Lopez-Molinero e colaboradores (2010) desenvolveram um método simples, baseado em imagem digital utilizando quimiometria para a determinação de titânio em amostras de plásticos. Utilizou-se uma câmera digital para a captura das imagens, e os valores das componentes RGB das imagens foram correlacionados linearmente com a concentração do analito. Essa metodologia permitiu a obtenção de uma satisfatória precisão e exatidão analítica, tornando o método proposto adequado para o controle de qualidade de plásticos em análises de rotina.

Maleki e colaboradores (2004) fizeram o uso de imagem digital para a determinação simultânea de Al(III) e Fe(III) em aços usando cromo azurol S como reagente cromogênico. Eles utilizaram uma câmera digital como sistema de detecção e para captura das imagens digitais. Os valores individuais de R, G e B, obtidos das imagens RGB, foram correlacionados às concentrações de Al(III) e Fe(III) nos complexos formados, utilizando um modelo baseado em redes neurais artificiais.

Kohl e colaboradores (2006) descreveram um experimento simples, onde o princípio da absorção foi demonstrado por meio da análise de imagem digital. A resposta analítica foi estimada a partir da equação: $A = \log(I_0/I)$, onde I_0 e I são as intensidades da componente azul (B) das imagens digitais obtidas a partir da solução do branco e soluções padrão de um corante alimentício amarelo, respectivamente. Para a captura das imagens foram utilizados um scanner e uma câmera digital.

Gomes e colaboradores (2008) determinaram ácido ascórbico em formulações farmacêuticas pela digitalização das amostras com um scanner. O princípio da técnica foi baseado na reação entre o ácido ascórbico, hexacianoferrato de potássio e cloreto de ferro (III),

para formar o complexo azul da Prússia. Posteriormente, selecionou-se uma região da imagem obtida, e os valores médios das cores primárias vermelho (R), verde (G) e azul (B) foram obtidos para cada amostra usando um programa computacional. A componente azul (B) foi correlacionada em absorvância utilizando uma relação matemática semelhante à descrita por Kohl (2006).

Recentemente, Wongwilai e colaboradores (2010) desenvolveram um sistema semi-automático em um simples reator lab-on-chip que utiliza uma *webcam* como detector. Esse sistema foi projetado para monitoramento, em tempo real, de uma titulação ácido-base por meio da mudança de cor do indicador fenolftaleína utilizado. Registrou-se as imagens associadas ao desaparecimento da cor rosa, característica do indicador, quando a solução ácida se difundia na solução básica. Essa mudança de cor promove uma variação nos valores das componentes R, G e B, a qual está relacionada com a concentração do ácido no processo de titulação.

Andrade (2012) utilizou um sistema em fluxo com detecção por *webcam* e determinou Al (III) e Cr (VI) em amostras águas por colorimetria obtendo excelente concordância com os métodos propostos na literatura. Além do uso de *webcam* outros dispositivos como scanners (Gomes, 2008), câmeras digitais (Maleki, 2004) de celulares (Martinez, 2008) têm sido utilizadas como recurso de captação de imagens na química e bioquímica e tem mostrado resultados promissores.

1.3.10 – Determinação do teor de ferro em matrizes viscosas

A composição química de um insumo oleaginoso está diretamente relacionada com a matéria-prima utilizada. No caso de elementos metálicos, em destaque o ferro, estes podem ser incorporados como contaminantes em matrizes complexas como o óleo comestível, óleo lubrificante e o biodiesel, durante as etapas de processamento industrial, sobretudo através do contato com os equipamentos utilizados em seu refino, estocagem e transporte, além de serem

produtos susceptíveis a uma possível adulteração, de interesse econômico, utilizando para isto compostos de menor qualidade, por conseguinte, de maior carga inorgânica, sujeita a mais contaminação metálica (Rodrigues et al. 2014; Burguera & Burguera, 2011; Pinto et al., 2006).

Neste aspecto existe um crescente interesse na determinação de ferro nesses óleos e no biodiesel para contribuir no controle qualidade do produto, pois já se tem conhecimento do efeito catalítico sobre o mecanismo de auto-oxidação desse elemento (Reis et al., 2004; Pinto et al., 2006). No caso do biodiesel, além da influência desse elemento na capacidade oxidativa, há o fator ambiental, pois o ferro contribui para redução da eficiência dos reatores catalíticos no sistema de escape, aumentando a emissão de gases, sendo esta uma das fontes mais comuns de metais traços no ambiente (Korn et al., 2007).

No caso dos óleos comestíveis e dos óleos lubrificantes já existe uma legislação vigente para regulamentar o teor aceitável desse metal. O Conselho Oleico Internacional estabelece um limite máximo de 3 mg kg^{-1} de ferro no azeite (International Olive Council, 2009) e a Organização das Nações Unidas para a Alimentação e a Agricultura, vinculada a Organização Mundial da Saúde, estabelece um limite máximo de 5 mg kg^{-1} e $2,5 \text{ mg kg}^{-1}$ de ferro em óleos virgens e refinados, respectivamente (Codex Alimentarius, 2009). Já para os lubrificantes, a Sociedade Americana de Testes e Materiais (ASTM) delimitou, como limite máximo, o teor de 100 mg kg^{-1} de ferro em óleos lubrificantes (Grünhut et al., 2008).

Ainda não há norma internacional vigente para a quantificação do teor desse metal específico em amostras de biodiesel, as normas vigentes reportam limites de concentração máximo para os íons Ca^{2+} , Mg^{2+} , Na^+ e K^+ (ASTM D-6751, 2009). Entretanto, o Brasil já estabelece desde fevereiro de 2013, a partir de uma resolução 07/08 da ANP (Agência Nacional de Petróleo, Gás Natural e Biocombustíveis) o teor máximo em 5 mg kg^{-1} de ferro para o biodiesel produzido em território nacional (ANP, 2013). Um possível motivo para o retardo internacional em estabelecer um teor máximo de ferro em biodiesel seria um suposto controle de qualidade mais rigoroso na produção desse biocombustível pelos grandes fornecedores,

tendo em vista a natureza do biodiesel que é um produto de óleos vegetais e gorduras animais já refinadas (Rodrigues et al., 2014).

Diante do exposto e da complexidade da amostra, somada a baixa concentração do analito, a elevada carga orgânica e a sua viscosidade inerente, a quantificação de ferro total nessas matrizes é um desafio recorrente (Burguera & Burguera 2011). Assim, uma etapa de pré-tratamento da amostra eficiente, aliada a uma técnica sensível e seletiva de detecção é um passo essencial e não trivial.

A partir deste aspecto, os pré-tratamentos empregados para a determinação de elementos traço em matrizes de considerável complexidade, como o óleo comestível, lubrificante e biodiesel, geralmente incluem mineralização (calcinação), extração ácida, emulsificação, sonicação ou digestão assistida por microondas. Sendo esses pré-tratamentos da amostra comumente vinculados à espectrometria de absorção e de emissão atômica (Burguera & Burguera, 2011; Lepri et al., 2011). Alternativas para a determinação eficiente de compostos inorgânicos, como íons de metais como cobre, zinco, ferro em matrizes viscosas vem sendo propostas ao longo dos anos, incluindo métodos eletroanalíticos (Mendonça et al., 2003) e espectrofotométricos (Barreto et al., 2013). Entretanto, novas alternativas analíticas podem ser consideradas e propostas, sobretudo, quanto a sua eficiência, seletividade, sensibilidade e reprodutibilidade adequadas para minimização de esforços, custo de análise e consumo de reagentes químicos.

Recentemente, o nosso grupo de pesquisa desenvolveu um novo procedimento automático para determinação espectrofotométrica de íons ferro(III) em amostras de óleos comestíveis e lubrificantes com pré-tratamento simplificado *on-line* (Barreto et al., 2003). Este sistema proposto permitiu a obtenção de satisfatórias figuras de mérito e uma elevada frequência de amostragem. No entanto, tal procedimento poderia ser aperfeiçoado com relação a sua sensibilidade e seletividade.

Ainda mais recente, Rodrigues e colaboradores (2014) investigaram o efeito supressão da fluorescência de nanocristais na presença de ferro em amostras de biodiesel. Em suas condições operacionais, em batelada, a amostra era submetida a um laborioso pré-tratamento em ultrassom, além de se limitar ao efeito de supressão da fluorescência obtida em pH neutro, sem fornecer uma discussão sobre um possível mecanismo de interação superficial do analito/ponto quântico que justificasse tal efeito.

Deste modo, vislumbrando o crescente incentivo analítico para o uso de nanomateriais semicondutores no desenvolvimento de novos métodos automáticos mais sensíveis, versáteis e seletivos. Sendo ainda motivados pelos recentes estudos do nosso grupo de pesquisa, relativos as propriedades e características dos PQs de CdTe (Lima et al., 2014(a)) e ao desenvolvimento de procedimentos automáticas com detecção por imagens digitais (Lima et al., 2013; Lima et al., 2014(b)). É proposto neste trabalho de pesquisa acadêmica a determinação de ferro total em diferentes matrizes viscosas com detecção por imagens digitais via *webcam*.

Nesta perspectiva, considerando a presumível presença de diferentes compostos de ferro organometálico, uma nova estratégia de pré-tratamento da amostra para tornar o ferro total disponível de forma eficiente e rápida, quando comparado aos demais métodos de pré-tratamento, foi investigada. O procedimento estudado para obtenção eficiente de ferro total livre consistiu, por fim, na execução de uma extração em fase única apropriada seguida de uma adição de solução ácida satisfatória.

A extração em fase única compreende a utilização de um agente extrator ou uma mistura deles, geralmente solventes orgânicos acidificados, clorofórmio, metanol, etanol absoluto, ciclohexano, benzeno, isobutano, acetona, como exemplos, o qual permite obter o composto de interesse disponível em solução em uma determinada proporção, assumindo a complexidade da matriz a ser trabalhada (Ribeiro & Rocha, 2013). Devido a grande variedade de solventes orgânicos extratores descritos na literatura, optou-se por iniciar as investigações experimentais a partir do sistema de extração etanol absoluto-clorofórmio, modificação mais eficiente (melhor

formação da fase única, custo e toxicidade) do solvente metanol-clorofórmio recentemente empregado pelo nosso grupo (Barreto et al., 2013).

A extração ácida, por sua vez, vem sendo empregada frequentemente como uma etapa preliminar em processos de extração úmida envolvendo sobretudo o aumento da temperatura, radiação ultrassom e/ou microondas. Este tipo de pré-tratamento permite a decomposição da matéria orgânica, disponibilizando o analito de interesse na forma inorgânica. Geralmente ocorre pela adição de uma solução ácida concentrada, como ácido nítrico, clorídrico, sulfúrico, por exemplo, muito embora misturas desses ácidos com agentes oxidantes fortes como peróxido de hidrogênio também são empregados nestes procedimentos (Reis et al., 2004; Burguera & Burguera 2011).

Capítulo 2.

EXPERIMENTAL

2.1 – Síntese de PQs de CdTe em meio aquoso

2.1.1 – Materiais e reagentes

Para realização da síntese dos pontos quânticos os seguintes materiais foram requeridos: um balão de três vias de 300 mL (Premier); condensador de bolas (Quimex); agitador magnético com aquecimento (IKA C-MAG HS 7). Todos os procedimentos das sínteses foram realizados em capela, sendo o sistema mantido em fluxo de gás nitrogênio ultrapuro (Linde gás).

Na síntese de CdTe foi empregado os seguintes reagentes: telúrio em pó (Sigma-Aldrich); borohidreto de sódio (Aldrich); cloreto de cádmio (Fluka); ácido 3-mercaptopropiônico (Sigma); hidróxido de sódio (Vetec); etanol absoluto (FMaia). A água deionizada empregada, quando necessário, foi produzida a partir do sistema Milli-Q (*Millipore Corporation*) com resistividade $\geq 18,2 \text{ M}\Omega \text{ cm}^{-1}$.

2.1.2 – Instrumentação

Foi empregado um espectrofluorímetro portátil da *Ocean Optics*, modelo USB4000 para medidas dos espectros de fluorescência. Como fonte de emissão de radiação foi empregada uma lâmpada de tungstênio-halogênio, modelo LS-1-LL, também da *Ocean Optics*. Para tomada dos espectros de absorção molecular foi empregado um espectrofotômetro UV-Vis da *Hewlett-Packard* (HP), modelo 8453. Uma cubeta de quartzo para fluorescência com 10 mm de caminho óptico e 3.0 mL de volume interno foi empregado nas medições.

2.1.3 – Procedimento de síntese

O procedimento descrito foi realizado, em linhas gerais, conforme descrito na literatura especializada (Li et al., 2006; Zou et al., 2008; Zhang et al., 2010), com modificações de tempo

e concentração, respeitando as proporções estequiométricas para os precursores, previamente estabelecidas ($\text{Cd}^{2+} : \text{Te}^{2-} : \text{MPA}$, fixadas em 2,0 : 1,0 : 4,8, respectivamente).

A obtenção do precursor de NaHTe (telureto de hidrogênio e sódio) a partir do Te^{2-} é a primeira etapa da síntese e a mais importante e empiricamente delicada, pois a redução do Te em pó, de Te^0 para Te^{2-} é mais lenta do que o mesmo procedimento para outros precursores tradicionais, como o selênio ou o enxofre, como exemplo. Dessa forma, foi adicionado 200 mL de água deionizada em um balão de três vias, sob atmosfera de N_2 , à temperatura ambiente, a fim de substituir o O_2 da água, que prejudica a redução do Te^0 . Após 5 minutos foi adicionado 255 mg de Te em pó sob agitação constante e o sistema foi deixado sob fluxo de nitrogênio por 20 minutos.

Na sequência foi dissolvido 190 mg de borohidreto de sódio (NaBH_4) em aproximadamente 2 mL de água deionizada e adicionado prontamente após a solubilização, para a solução de telúrio. Nessa etapa foi observado a variação da coloração de cinza (proveniente do telúrio) para vermelho-vinho (proveniente da formação de NaHTe). Como o processo de formação do telureto de hidrogênio e sódio é lento, pois quanto maior o período maior a disponibilidade de Te^{2-} para reagir com o cádmio. Desta forma, o sistema deve ficar durante um período de 4 horas sob agitação constante, fluxo de nitrogênio e aquecimento a $\sim 80^\circ\text{C}$. Durante esse processo é observado a variação da tonalidade vermelha da mistura para um tom mais escuro.

Após o período de obtenção do NaHTe, foi pesado 185 mg de cloreto de cádmio (CdCl_2) e dissolvido em 150 μL de ácido 3-mercaptopropiônico ($\text{C}_3\text{H}_6\text{O}_2\text{S}$) e 100 mL de água; para que o pH mudasse de 2 para 11,5 adicionou-se cerca de 5 mL de NaOH $1,0 \text{ mol L}^{-1}$. Foi observado que ao passar pelo pH de 3 a 7, a mistura apresentará precipitado (provavelmente, devido a formação de sulfeto de cádmio, CdS); no pH alcalino, próximo a pH 11,5, a mistura torna-se novamente uma solução incolor. Adicionar imediatamente essa solução precursora de cádmio,

à solução de NaHTe, mantendo a temperatura por volta de 80°C, sob agitação constante e fluxo de nitrogênio. Em seguida, esperou-se a mudança de coloração para amarelo escuro, que caracteriza o início da nucleação dos pontos quânticos de CdTe e se verificou regularmente a mudança de cor (que está relacionada crescimento dos nanocristais) com o auxílio de uma lâmpada UV.

A formação dos PQs e o seu tempo de crescimento é relativo e empírico, não devendo ser considerado trivial. O seu período de desenvolvimento aparentemente está vinculado ao período empregado para a primeira etapa da síntese (a redução do Te), bem como, ao aumento da concentração dos precursores. Foi verificado que, até o período de quatro horas após o início da obtenção do NaHTe, a disponibilidade do Te^{2-} em solução é obtida e se mantém constante, sendo esse período considerado satisfatório. O aumento da concentração dos precursores pode ser aceitável, caso seja requerido PQs de maior diâmetro em menor intervalo de tempo, pois foi empiricamente observado que o aumento da concentração leva a uma saturação mais rápida dos nanocristais de CdTe.

Obedecendo o período de redução do Te para Te^{2-} de quatro horas, os primeiros PQs, de cor predominante verde, são os mais rápidos, e devem ser monitorados atentamente a partir dos primeiros 30 minutos após a adição do cádmio; os outros PQs de CdTe, nas cores de emissão de fluorescência, amarelo, laranja, vermelho e vermelho intenso (saturação) são mais demorados e podem permanecer se formando por algumas horas após a adição de cádmio. É importante também observar as perdas de volume por tempo de refluxo (não significativas ao empregar os volumes e massas informados) e a tonalidade mais intensa da coloração vermelha, predominante por mais tempo, até a saturação. É aconselhável remover pequenas alíquotas no decorrer da síntese e fazer a medida do sinal de emissão de fluorescência, bem como do de absorção UV-Vis para a realização do cálculo do tamanho do nanocristal obtido bem como da

sua concentração. Estes referidos tamanhos, concentrações, bem como o rendimento quântico de fluorescência serão avaliados nos resultados deste trabalho, seção 3.1.

2.2 – Determinação de ferro total em matrizes viscosas

Para o estudo e a aplicação analítica dos nanocristais de CdTe obtidos como relatado na seção anterior (2.1.3), foi proposto o desenvolvimento de um novo método analítico para a determinação quimiluminescente de ferro total em matrizes viscosas (óleo comestível, óleo lubrificante e biodiesel), conforme descrito a seguir.

2.2.1 – Reagentes e soluções

A solução estoque de $0,10 \text{ mg L}^{-1}$ de ferro padrão de Absorção Atômica (AA) (Sigma) foi preparado pela diluição de 1,0 mL em um balão volumétrico de 200,0 mL com uma solução de $0,10 \text{ mol L}^{-1} \text{ HNO}_3$ (ultrapuro, Merck). As soluções de padrão empregadas nos estudos (entre 10 a $100 \text{ } \mu\text{g L}^{-1}$) foram preparadas a partir da diluição apropriada desta solução.

Solução estoque de $5 \times 10^{-3} \text{ mol L}^{-1}$ para os cinco diâmetros de nanocristais de CdTe sintetizados foram preparadas e diluídas para as soluções de trabalho (entre 1×10^{-3} a $1 \times 10^{-5} \text{ mol L}^{-1}$) conforme requerido.

Solução estoque de $5 \times 10^{-3} \text{ mol L}^{-1}$ de dicromato de potássio (Aldrich) foi preparada em $0,10 \text{ mol L}^{-1} \text{ HNO}_3$ (ultrapuro, Merck) e diluída conforme requerido (entre 1×10^{-3} a $1 \times 10^{-5} \text{ mol L}^{-1}$).

Com o intuito de promover a extração em fase única de ferro, os solventes etanol anidro (FMaia) e clorofórmio (Sigma) foram utilizados para a extração em fase única na proporção de (75:25). Outras proporções também foram investigadas no decorrer dos estudos. Soluções estoque de 25 a 50% para ácido nítrico, clorídrico, sulfúrico e peróxido de hidrogênio, todos de

grau de pureza elevado, para análise de traços, foram preparadas no decorrer dos estudos com o intuito de promover a extração ácida eficiente do ferro. Padrão de ferro organometálico 0,10 mg g⁻¹ certificado (Quimlab, SRM 1079b NIST, tris(1-fenil-butanodiona)-ferro(III)) e óleo mineral (Sigma-Aldrich) para diluição das soluções de trabalho.

Soluções estoque de cádmio, zinco, chumbo, cromo, cobre, cálcio e magnésio, padrão absorção atômica (Fluka), em uma faixa de (5,0 a 100,0 µg L⁻¹) foram preparadas em solução de HNO₃ 1% (v/v) para o estudo de potenciais interferentes.

2.2.2 – Amostras

Para a avaliação do método analítico proposto foram empregadas 12 amostras de matrizes viscosas. Sendo 6 amostras de biodiesel (2 de soja, 2 de girassol e 2 de milho), 3 óleos comestíveis e 3 óleos lubrificantes. Das amostras de biodiesel empregadas 3 foram provenientes da Universidade Nacional del Sur, Bahía Blanca, Argentina e os demais do Laboratório de Combustíveis e Materiais (LACOM) da Universidade Federal da Paraíba. Os óleos comestíveis e lubrificantes, de lotes distintos e dentro do período de validade, foram adquiridos em mercado local da cidade de João Pessoa, Paraíba, Brasil.

2.2.3 – Instrumentação

Foi empregado um espectrofluorímetro portátil da *Ocean Optics*, modelo USB4000 para medidas dos espectros de quimiluminescência. Para as análises de referência foi utilizado um espectrômetro de absorção atômica com forno de grafite da *Shimadzu* (modelo AA 6800), equipado com lâmpada de cátodo oco de ferro (*Hamamatsu Photonics*, $\lambda_{\text{máx}}$: 248,33 nm) com chama de acetileno-ar.

2.2.4 – Procedimento de análise

2.2.4.1 – Pré-tratamento das amostras oleosas

Para a primeira etapa de análise foi investigado um pré-tratamento de amostra simplificada a fim de se extrair o ferro total de forma eficiente e *on-line*. Desta forma, um processo de extração envolvendo solvente orgânico e solução ácida foi desenvolvido e designado de extração ácida em fase única. A partir de soluções de trabalho obtidas do padrão organometálico certificado, diluídos com óleo mineral, buscou-se estudar a eficiência do pré-tratamento da amostra. Com os espectros de absorvância no ultravioleta-visível do padrão organometálico foi possível investigar com maior propriedade a eficiência de degradação do composto orgânico estudado.

A estratégia empírica consistiu na extração em fase única a partir de uma mistura dos solventes etanol/clorofórmio na proporção ótima verificada de 75:25% (v/v). Seguida da extração ácida estudada para mistura de ácidos, HNO₃, H₂SO₄ e HCl, bem como o H₂O₂, sendo a melhor proporção verificada para a mistura HNO₃ e HCl (3:1).

2.2.4.2 – Determinação quimiluminescente do analito

Para determinação quimiluminescente do analito foi empregado um padrão certificado e as amostras oleosas reais. As análises quimiluminescentes foram realizadas utilizando um espectrofluorímetro portátil da *Ocean Optics* (USB4000). O padrão e as amostras foram pré-tratadas a partir do estabelecido como ótimo/eficiente na seção anterior (2.2.4.1). Na sequência uma solução de dicromato de potássio ($2,5 \times 10^{-5}$ mol L⁻¹) foi empregada para garantir a eficiência da oxidação completa do íon Fe(II) livre em solução aquosa para Fe(III), o qual reage seletivamente com as nonopartículas de telureto de cádmio estabelecendo uma interação oxidativa direta radiativa na superfície do nanocristal. Esse fenômeno permitiu uma

emissão quimiluminescente apreciável do sistema CdTe/Fe(II), variavelmente proporcionalmente à concentração de íons Fe(III) em solução.

2.2.3 – Método de referência empregado

O procedimento de referência foi realizado como descrito anteriormente para espectrometria de absorção atômica (ASTM, 1992). Esse método consistiu na calcinação eficiente de 10,00 g da amostra com 0,5 g de óxido de magnésio (ultrapuro, Sigma) (material refratário) em uma rampa de aquecimento de 10 horas (1 hora 120° C, 2 horas 180° C, 2 horas 280° C, 2 horas 420° C e 3 horas 550°C) (Lima et al., 2012(c)). O material calcinado foi diluído com 10,0 mL de HNO₃ 50% (v/v) e completado para um balão de 50,0 mL com HNO₃ 1% (v/v). A leitura foi realizada em um espectrômetro de absorção atômica com forno de grafite (Shimadzu, AA 6800).

2.3. – Desenvolvimento do sistema automático

2.3.1 – Equipamentos e montagem

Para montagem do sistema automático proposto foi empregado equipamentos e componentes relacionados a seguir. Uma câmara de mistura em politetrafluoretileno (PTFE) com janelas de quartzo foi empregada para adição dos fluidos, homogeneização e detecção via *webcam*. Esta câmara possui um volume interno de aproximadamente 4 mL, contendo seis canais de entrada e um canal de saída. No seu interior foi alocado uma pequena barra magnética em PTFE, empregada para promover a homogeneização rápida das soluções, e sua rotação é realizada por meio de um agitador magnético (IKA lab disc, modelo White).

Uma bomba peristáltica Ismatec[®], (modelo IPC) equipada com 8 canais e 6 roletes, para propulsão dos fluidos. Seis válvulas solenoides *three-way* da Cole Parmer[®] (modelo P/N

01540–11) foram empregadas para adição dos fluidos na câmara de mistura. Uma *webcam* com sensor CCD (Phillips, modelo SPC900NC VGA) para realização da detecção por imagens digitais.

Um acionador de válvulas foi construído no laboratório para controlar a abertura e o fechamento das válvulas solenoides. O acionador é baseado em um circuito integrado ULN2803, fabricado pela Toshiba, que é um arranjo de oito transistores do tipo *Darlington*, apropriados para suportar alta tensão e corrente. O uso desse dispositivo possibilita o controle simultâneo, ou independente, de até 8 portas de saída. Na **Fig. 2.1** é apresentado o diagrama esquemático da ligação entre o acionador de válvulas e a interface NI USB-6009, da *National Instruments*®.

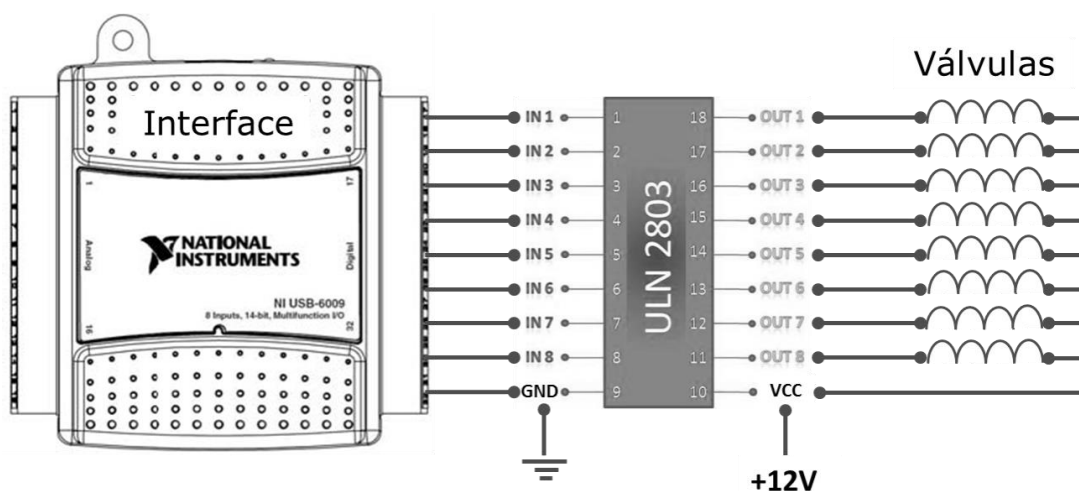


Figura 2.1 - Diagrama esquemático da ligação entre o acionador de válvulas e a interface NI USB-6009.

As válvulas solenoides são alimentadas com uma tensão de 12 V, e são acionadas quando o ULN2803 recebe uma tensão superior a 3,8 V em suas portas de entrada, gerando uma corrente de 150 mA nas portas de saída, onde estão conectadas as válvulas. O comando de acionamento é realizado via notebook, que utiliza uma interface de controle NI USB- 6009, a qual é conectada às portas de entrada do ULN2803 presente no acionador de válvulas.

A imagem apresentada na **Fig. 2.2** representa o sistema automático fluxo-batelada desenvolvido para a análise quimiluminescente empregando como detecção uma *webcam* com sensor CCD. Para evitar a interferência da luz do ambiente, a câmara de mistura foi colocada dentro de uma caixa (com as seguintes dimensões $10 \times 12 \times 15$ cm), **Fig. 2.3**.

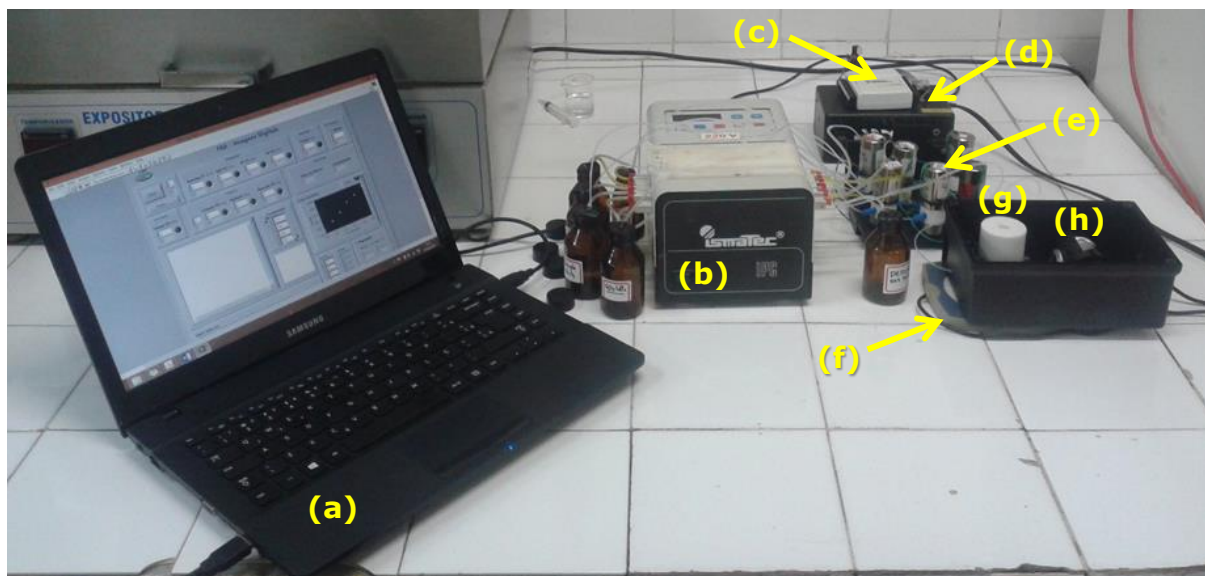


Figura 2.2 – Foto representativa do sistema em fluxo-batelada desenvolvido. (a) Notebook com o *software* de controle; (b) bomba peristáltica; (c) interface USB; (d) acionador de válvulas; (e) válvulas solenoides; (f) agitador magnético, (g) câmara de mistura, (h) *webcam*.

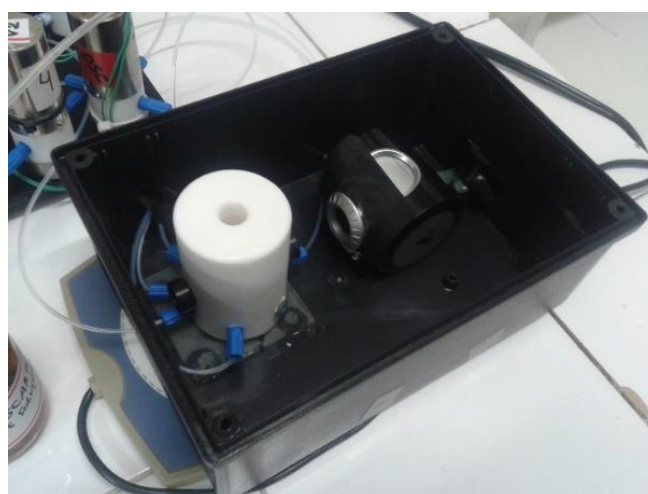


Figura 2.3 – Detalhe do sistema fluxo-batelada desenvolvido. Caixa negra ($10 \times 12 \times 15$ cm) para disposição da câmara de mistura e *webcam*.

2.3.2 – Desenvolvimento do *software* de controle

Para controle e gerenciamento do sistema automático proposto foi desenvolvido um programa escrito em linguagem gráfica de programação LabVIEW 2013. A interface desse programa de controle (Fig. 2.4) é bastante simplificada, apresentando-se de forma autodidática e encontra-se dividida conforme os procedimentos a ele atribuídos.

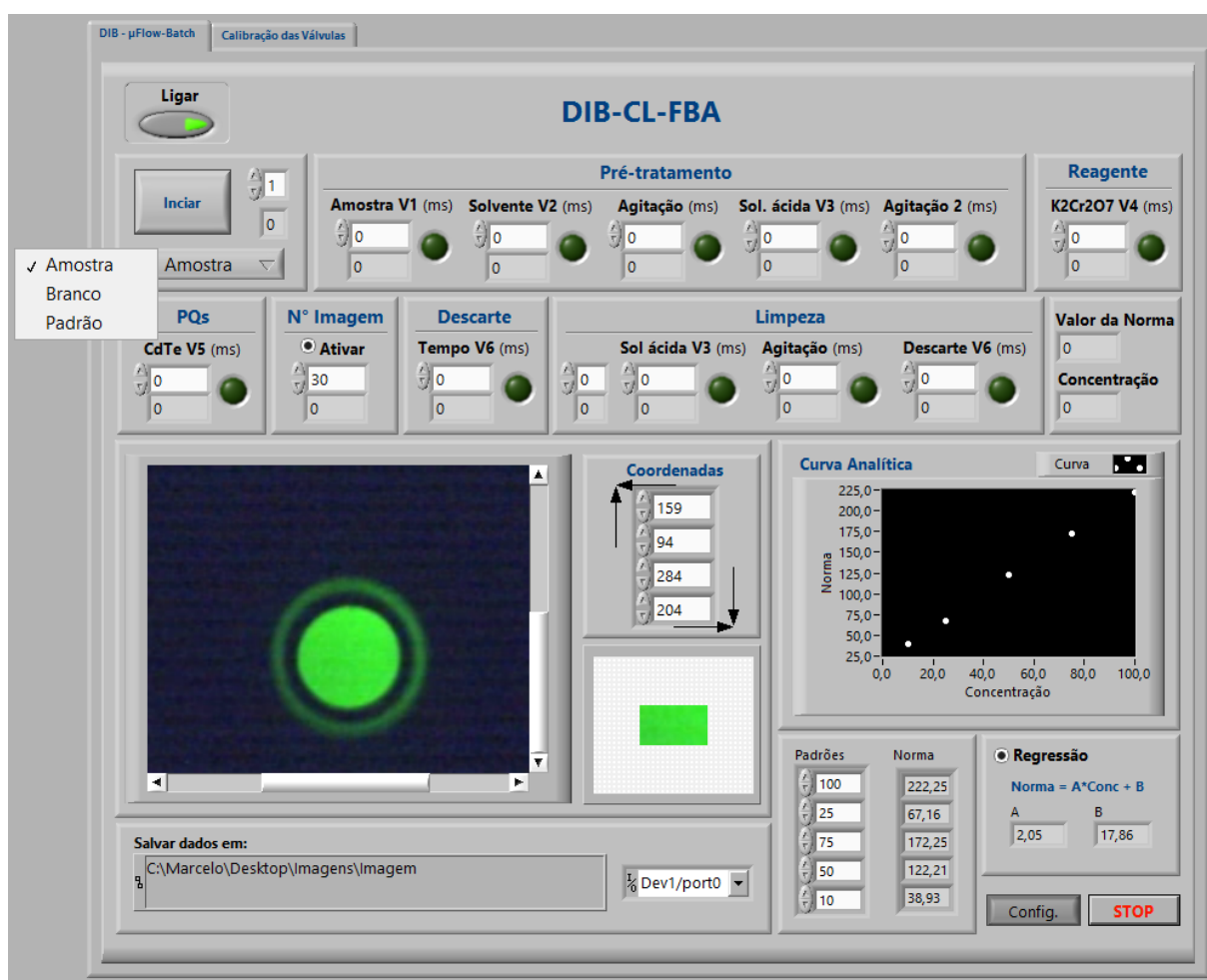


Figura 2.4 – Interface de controle do sistema automático fluxo-batelada desenvolvido.

O programa possibilita o controle do número de replicatas, adição de reagentes e amostra, aquisição e tratamento das imagens digitais, construção e aplicação da curva analítica,

número de limpezas da câmara e descarte do produto. Para melhor compreensão do seu funcionamento, algumas das etapas serão detalhadas a seguir.

A adição dos reagentes e amostra, realizada pelo acionamento das válvulas solenoides, e o procedimento de limpeza da câmara de mistura, são administrados de acordo com a necessidade da análise e são dependentes do tempo, que deve ser inserido em milissegundos pelo usuário. Os tempos de abertura das válvulas são proporcionais aos volumes adicionados na câmara de mistura. Para isso, é realizado um estudo prévio de calibração em cada válvula solenoide, discutido na próxima seção.

O programa permite a aquisição e tratamento das imagens obtidas durante a análise, para isso é necessário selecionar previamente a solução que está sendo analisada (branco, padrão ou amostra) e a região da imagem a ser processada, informando as coordenadas (X1,Y1 e X2,Y2) da região. Nesse caso, foi delimitado uma região compreendendo 45 x 30 pixels. Assim, com a área selecionada, são realizados os cálculos das médias dos valores das componentes R, G e B e do valor da norma $\|v\|$ do vetor (seção 1.3.9.2) referente a solução selecionada. Os valores são armazenados, entretanto apenas o valor máximo da norma, obtido durante a emissão quimiluninescente, é empregado na construção e aplicação da curva analítica.

Para realizar a construção da curva de calibração, é necessário fornecer os valores das concentrações dos padrões, definindo o número de replicatas a serem efetuadas. Os valores dos coeficientes angular e linear da curva serão apresentados, bem como a concentração prevista das amostras durante a aplicação. Todas as imagens e dados analíticos obtidos durante a análise serão armazenados automaticamente em arquivos com extensões BMP e XLS.

O programa é também utilizado para o procedimento de estudo da vazão das válvulas solenoides (**Fig. 2.5**), possibilitando configurar os tempos de acionamento individuais da válvula.



Figura 2.5 – Interface do programa para realizar o estudo de calibração das válvulas solenoides.

2.3.3 – Procedimento automático de análise

O diagrama esquemático do sistema proposto é apresentado na **Fig. 2.6**. É importante destacar que antes de iniciar o procedimento analítico, soluções de trabalho para cada canal são bombeadas e redistribuídos aos seus respectivos reservatórios. Na sequência, as válvulas V1 a V5 são simultaneamente ligadas durante um intervalo de tempo de 5,0 s e as soluções de trabalho (amostra/padrão, solvente orgânico, solução ácida, solução de dicromato de potássio, solução de PQs de CdTe) são bombeados para a câmara de mistura (CM) para preencher os canais entre as válvulas e a câmara. Em seguida, a válvula de descarte (V6) é acionada durante 10,0 s e desta forma, qualquer solução dentro do CM é descartada por

aspiração utilizando a bomba peristáltica (BP). Este processo de preenchimento de canais é importante e deve ser realizado sempre que houver uma mudança de líquidos do reservatório.

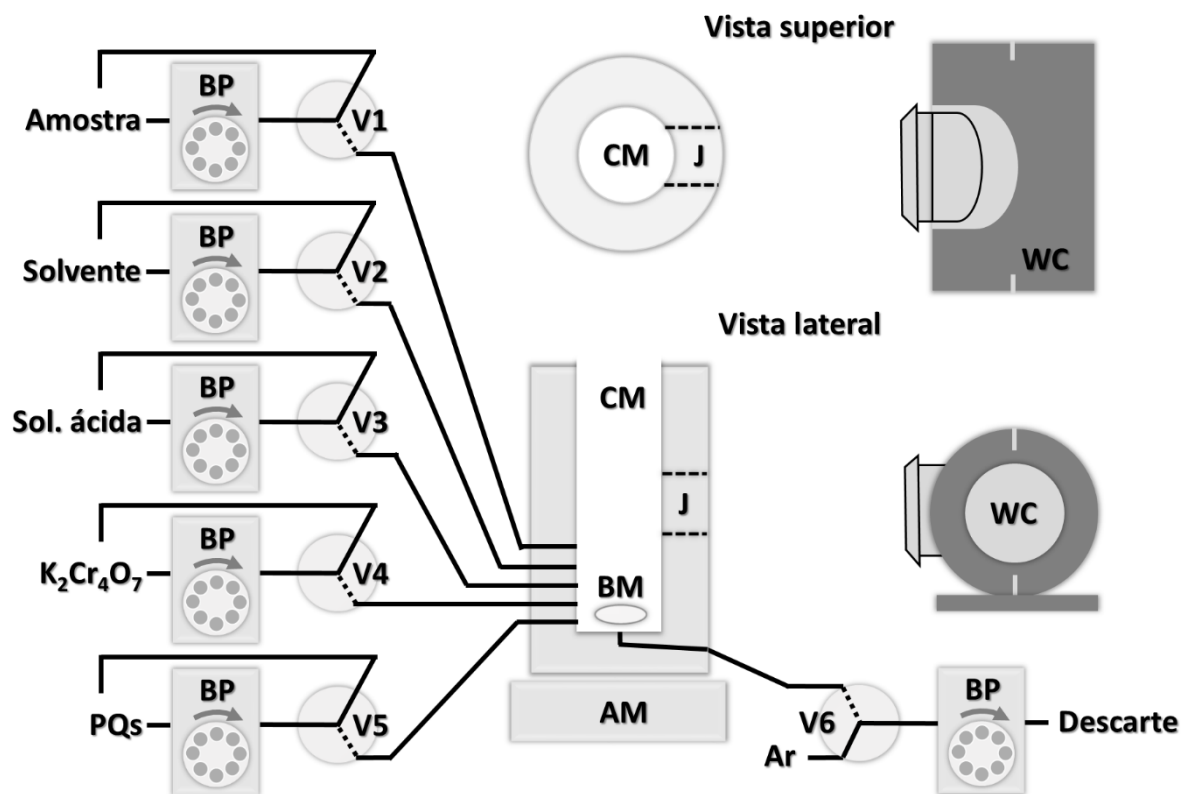


Figura 2.6 – Diagrama esquemático do sistema fluxo-batelada desenvolvido para determinação quimiluminescente de ferro total em amostras viscosas empregando pontos quânticos de CdTe e *webcam* como detector.

As soluções padrão ou amostra, solvente orgânico, solução ácida, solução de dicromato de potássio e a solução de PQs de CdTe são adicionadas na CM por acionamento das válvulas V1 a V5, respectivamente. O procedimento de limpeza da CM é realizado pelo acionamento da válvula (V3), adicionando solução de solução ácida. Em seguida, a válvula de descarte (V6) é acionada removendo o conteúdo da CM. Este procedimento de limpeza e descarte deve ser feito duas vezes para permitir uma limpeza adequada do sistema.

Para a preparação da solução do branco na CM, as válvulas V2 a V5 são acionadas sequencialmente, adicionando os volumes de 800 μ L de solvente orgânico, 300 μ L de solução

ácida e 150 μL para as soluções de dicromato e PQs de CdTe, respectivamente. O sinal de emissão quimiluminescente é então capturado utilizando uma *webcam* (WC) como detector.

Na **Tabela 2.1** estão resumidos as etapas do procedimento automático para análise da amostra com os respectivos tempos de acionamento das válvulas solenoides.

Tabela 2.1 – Procedimento automático para análise da amostra oleosa com pré-tratamento para extração de ferro total *on-line*.

| Etapa | Evento | Tempo (s) | Volume (μL) |
|--------------|--------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|----------------------|----------------------------------------------|
| 1 | Adição da amostra (V1). | 1,4 | 50 |
| 2 | Adição do solvente orgânico, etanol/clorofórmio (75:25) (V2). | 5,4 | 800 |
| 3 | Homogeneização. | 5,0 | - |
| 4 | Adição da solução ácida, HNO_3/HCl (3:1) (V3). | 1,7 | 250 |
| 5 | Homogeneização. | 5,0 | - |
| 6 | Adição da solução reagente de dicromato de potássio ($2,5 \times 10^{-5}$ mol L^{-1}) (V4). | 1,0 | 150 |
| 7 | Homogeneização. | 5,0 | - |
| 8 | Adição da solução de PQs de CdTe ($2,5 \times 10^{-4}$ mol L^{-1}) (V5) / Início da aquisição das imagens. | 1,0 | 150 |
| 9 | Aquisição das imagens de emissão quimiluminescente. | 5,5 | - |
| 10 | Descarte. | 10,5 | 1500 |
| 11 | Adição da solução ácida (V3) para a limpeza / Homogeneização. | 10,5 | 1500 |
| 12 | Descarte. | 10,5 | 1500 |
| 13 | Adição da solução ácida (V3) para a limpeza / Homogeneização. | 10,5 | 1500 |
| 14 | Descarte. | 10,5 | 1500 |

Todas as imagens foram capturadas a partir da adição do PQs de CdTe se estendendo por mais 5,5 s totalizando 50 imagens, das quais 10 imagens são capturadas durante a adição da solução de PQs de CdTe. Esse procedimento foi adotado tanto para medição do branco, padrões

e amostras. No concernente a substituição da amostra, a solução ácida empregada para a eficiência da extração (HNO_3/HCl , 3:1) é adicionada no canal da amostra para evitar possível problemas com efeito de memória da amostra anterior.

2.4 – Avaliação do desempenho analítico

O desenvolvimento de um método analítico, a sua aplicação ou adaptação envolve etapas de avaliação para atestar que o procedimento requerido apresenta desempenho analítico estatisticamente adequado. Os parâmetros de validação empregados neste trabalho de pesquisa são brevemente descritos a seguir e foram norteados pelas normas de validação para metodologias analíticas (Thompson et al., 2002).

2.4.1 – Linearidade

A linearidade refere-se à capacidade do método de gerar resultados linearmente proporcionais à concentração do analito, enquadrados em uma faixa analítica especificada, geralmente através do método dos mínimos quadrados (Holler et al., 2009). Esse parâmetro pode ser demonstrado pelo coeficiente de correlação do gráfico analítico, que deve ser estatisticamente próximo de 1, observando-se que a inclinação da reta seja diferente de zero.

2.4.1.1 – Análise de variância

É importante mencionar que a curva analítica, somente pode ser usada para estimar a concentração do analito, se for capaz de descrever o comportamento dos valores experimentais de maneira satisfatória. Portanto, o modelo obtido não pode apresentar evidências de falta de ajuste e deve refletir uma regressão estatística significativa. Dessa forma, a validação do modelo

de calibração geralmente é realizada por meio de uma análise de variância (ANOVA) (Neto et al., 2010).

A **Tabela 2.2** apresenta as equações para ANOVA do modelo ajustado aos dados experimentais empregando-se o método dos mínimos quadrados (MMQ).

Tabela 2.2 - Equações para ANOVA aplicada a um modelo obtido pelo método dos mínimos quadrados.

| Fonte de variação | Soma Quadrática | Graus de liberdade | Média Quadrática |
|-------------------|----------------------------------------------------------|--------------------|-------------------------------------|
| Regressão | $SQ_R = \sum_i^m \sum_j^n (\hat{y}_i - \bar{y})^2$ | $p - 1$ | $MQ_R = \frac{SQ_R}{p - 1}$ |
| Resíduos | $SQ_r = \sum_i^m \sum_j^n (y_{ij} - \hat{y}_i)^2$ | $n - p$ | $MQ_r = \frac{SQ_r}{n - p}$ |
| Falta de ajuste | $SQ_{faj} = \sum_i^m \sum_j^n (\hat{y}_i - \bar{y}_i)^2$ | $m - p$ | $MQ_{faj} = \frac{SQ_{faj}}{m - p}$ |
| Erro puro | $SQ_{ep} = \sum_i^m \sum_j^n (y_{ij} - \bar{y}_i)^2$ | $n - m$ | $MQ_{ep} = \frac{SQ_{ep}}{n - m}$ |
| Total | $SQ_T = \sum_i^m \sum_j^n (y_{ij} - \bar{y})^2$ | $n - 1$ | $MQ_T = \frac{SQ_T}{n - 1}$ |

Onde: p é o número de parâmetros usados no modelo; n é o número total de observações; m é o número de níveis distintos da variável independente.

A validação de modelos lineares pela aplicação do método dos mínimos quadrados consiste de análise dos resíduos, teste de significância da regressão e teste de falta de ajuste. Na análise do gráfico dos resíduos verificamos o comportamento dos erros de previsão do modelo (resíduos) em relação aos dados experimentais. No gráfico de resíduos é possível identificar o tipo de erro experimental associado aos dados experimentais. Caso os resíduos apresentem algum perfil ou estrutura teremos um erro sistemático associado aos dados experimentais. Caso

os resíduos se distribuam aleatoriamente em torno de zero teremos apenas erros aleatórios associados aos dados experimentais.

O teste de falta de ajuste compara, para os vários níveis da variável x , a média quadrática da falta de ajuste (MQ_{faj}) com a média quadrática devida ao erro puro (MQ_{ep}). Assim, se a razão $(MQ_{faj})/(MQ_{ep})$ for menor que o valor do ponto de distribuição F , referentes aos graus de liberdade de MQ_{faj} e MQ_{ep} e para um nível de 95% de confiança, temos um modelo sem falta de ajuste. Neste caso, as duas médias quadráticas refletirão apenas os erros aleatórios associados aos dados. Caso contrário, o modelo apresenta falta de ajuste e necessita ser reestimado e revalidado.

No teste de significância da regressão, compara-se a razão entre a média quadrática devida à regressão (MQ_{reg}) e a média quadrática residual (MQ_r) com o valor do ponto da distribuição F referente aos graus de liberdade de MQ_{reg} e MQ_r a um certo nível de confiança estatística de interesse. Em geral, emprega-se um nível de 95% de confiança. Se a referida razão for maior que o valor de F , conclui-se que a regressão é estatisticamente significativa. Do contrário, não se pode admitir a existência de uma relação funcional (linear, quadrática, polinomial, etc.) entre as variáveis que possa ser descrita pelo modelo.

2.4.2. Limite de detecção e quantificação

A menor concentração da espécie de interesse que pode ser detectada por um dado método analítico, mas não necessariamente quantificada, sob condições experimentais estabelecidas, pode ser entendida como o limite de detecção (LOD) (Holler et al., 2009). Comumente define-se o LOD em termos do desvio-padrão de medidas do branco.

O limite de detecção pode ser determinado como segue:

$$LOD = \frac{3 \cdot s}{S}$$

Onde s é o desvio-padrão da resposta; S é o coeficiente angular do gráfico de calibração (sensibilidade do método).

O limite de quantificação (LOQ) é definido como a menor concentração do analito, que pode ser quantificada na amostra, com exatidão e precisão aceitáveis, sob as condições experimentais adotadas (Holler et al., 2009). O LOQ pode ser determinado fazendo-se uso da expressão a seguir:

$$LOQ = \frac{10 \cdot s}{S}$$

Na qual: s é o desvio-padrão da resposta; S é o coeficiente angular do gráfico de calibração (sensibilidade do método).

2.4.3. Sensibilidade

Sensibilidade é um parâmetro que demonstra a variação da resposta analítica em função da concentração do analito e é determinada como mostrado na expressão a seguir:

$$S = \frac{dx}{dc}$$

Em outras palavras, a sensibilidade é a capacidade de um método distinguir, com determinado nível de confiança, duas concentrações próximas (Holler et al., 2009). Sob o ponto de vista prático, pode ser expressa pela inclinação da curva de regressão linear de calibração e é determinada simultaneamente aos testes de linearidade. A sensibilidade depende da natureza do analito e da técnica de detecção utilizada.

Em métodos sensíveis, uma pequena diferença na concentração do analito causa grande variação no valor do sinal analítico medido. Esse critério expressa a capacidade do procedimento analítico gerar variação no valor da propriedade monitorada ou medida, causada por pequeno incremento na concentração ou quantidade do analito.

2.4.4. Seletividade

O termo seletividade, que muitas vezes é utilizado como sinônimo de especificidade, indica a capacidade do método em produzir resposta para vários analitos, apesar de distinguir o sinal de um analito frente aos outros. Já a especificidade é utilizada para expressar a capacidade do método em determinar somente o analito de interesse, mesmo na presença de outros componentes da matriz (substâncias ativas, excipientes, impurezas ou contaminantes) (Holler et al., 2009).

Sendo assim, a seletividade e a especificidade dá um indicativo do quanto a resposta está livre de interferência de outras espécies contidas na matriz da amostra. Para análise quantitativa, a especificidade/seletividade pode ser determinada pela comparação dos resultados obtidos de amostras contaminadas com quantidades apropriadas de impurezas ou excipientes e amostras não contaminadas, para demonstrar que o teste não é afetado por estes materiais. Quando a impureza ou padrão do produto não estiverem disponíveis, pode-se comparar os resultados dos testes das amostras contendo impurezas ou produtos de degradação com os resultados de um segundo procedimento bem caracterizado, como o método de referência.

2.4.5 – Exatidão

A exatidão é definida como a concordância entre um resultado analítico e o valor convencionalmente aceito como verdadeiro. Com o objetivo de avaliar a exatidão de um método analítico o teste de recuperação é o procedimento mais realizado e simples de ser empregado. No ensaio de recuperação, quantidades conhecidas do analito são adicionadas nas amostras para respectiva quantificação. Deve-se ressaltar que essas adições são realizadas em concentrações adequadas e semelhante às obtidas para execução do ensaio.

A taxa de recuperação é calculada empregando a expressão a seguir:

$$\text{Recuperação (\%)} = \left(\frac{C_1 - C_2}{C_3} \right) \times 100$$

Onde: C_1 = concentração da substância de referência mais a concentração da amostra.

C_2 = concentração da amostra. C_3 = concentração da substância de referência adicionada.

2.4.6 – Precisão

Precisão é a concordância entre os vários valores experimentais obtidos para repetidas análises de uma mesma amostra. Quanto menor for a amplitude dessas medidas, ou seja, quanto mais próximos entre si estiverem, maior será a precisão.

A precisão de um método analítico é normalmente expressa como a estimativa do desvio padrão ou do desvio padrão relativo (DPR%) de uma série de medidas e deve incluir os estudos da média, do desvio padrão, desvio padrão relativo e intervalo de confiança. O DPR% é dado pela seguinte equação:

$$\text{DPR \%} = \frac{DP}{CMD} \times 100$$

Onde: DPR% corresponde ao Desvio padrão relativo, DP ao desvio padrão, CMD concentração média determinada.

2.4.7 – Teste *t* pareado

A implementação do teste *t* pareado, baseado no conceito de intervalo de confiança, requer o cálculo da média das diferenças entre os valores de concentração para cada par de resultados. Admitindo-se que Δ é a diferença média verdadeira entre os resultados dos dois métodos, o intervalo de confiança para Δ é encontrado pela aplicação abaixo.

$$\Delta = \bar{d} \pm t_v \frac{S_d}{\sqrt{n}}$$

Onde: n é o número de amostras, S_d é o desvio padrão da média das diferenças e t_v é o ponto de distribuição t correspondente ao número de graus de liberdade (v) no nível de confiança desejado (Neto et al., 2010).

Podemos interpretar o intervalo de confiança da seguinte maneira:

Se o valor “zero” estiver contido dentro do intervalo construído, não existe diferença sistemática estatisticamente significativa entre os resultados dos dois métodos. Neste caso, a hipótese nula não pode ser rejeitada e a média das diferenças (d) deve ser um ponto da distribuição t com $\Delta = 0$. Caso contrário, existe uma diferença sistemática significativa entre os resultados dos métodos ao nível adotado de confiança estatística.

Capítulo 3.

RESULTADO E DISCUSSÃO

3.1 – Caracterização dos pontos quânticos de CdTe

Os pontos quânticos de telureto de cádmio (PQs de CdTe) foram sintetizados com êxito a partir do procedimento de síntese descrito na seção experimental 2.1.3. As principais modificações concernentes a literatura (Li et al., 2006; Zou et al., 2008; Zhang et al., 2010) foram o tempo para redução do Te sólido para Te^{2-} (obtenção de NaHTe) e as concentrações que foram acrescidas para permitir a retirada de volumes suficientes para os estudos de quimiluminescência com nanocristais de diferentes diâmetros.

Uma foto dos cinco nanocristais obtidos e submetidos ao estado excitado, a partir de uma lâmpada negra ($\lambda_{\text{máx}} = 420\text{nm}$), em tempos de síntese otimizada em 35, 60, 95, 130 e 180 minutos, respectivamente é apresentado na **Fig. 3.1**. Estes foram empregados para as investigações quimiluminescentes de determinação de ferro total em matrizes viscosas. Os seus respectivos espectros de absorção e emissão molecular são reproduzidos nas **Fig. 3.2** e **Fig. 3.3**.



Fig. 3.1 – Fotografia dos pontos quânticos obtidos com êxito, conforme procedimento descrito na seção 2.1.3, e excitados por uma lâmpada negra UV ($\lambda_{\text{máx}} 420\text{nm}$). Tempos de síntese da esquerda para direita: 35, 60, 95, 130 e 180 min.

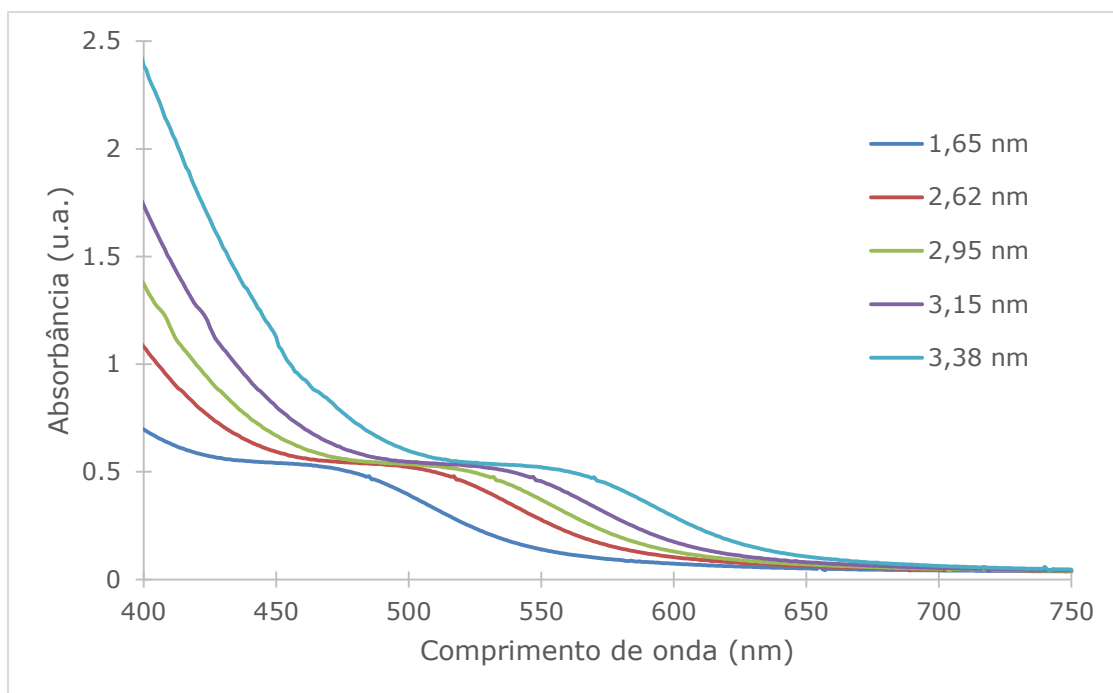


Fig. 3.2 – Espectros de absorção molecular para os cinco PQs de CdTe estudados. Da esquerda para a direita, comprimento de onda máximo de absorção excitônica 479, 511, 528, 542, 565 nm.

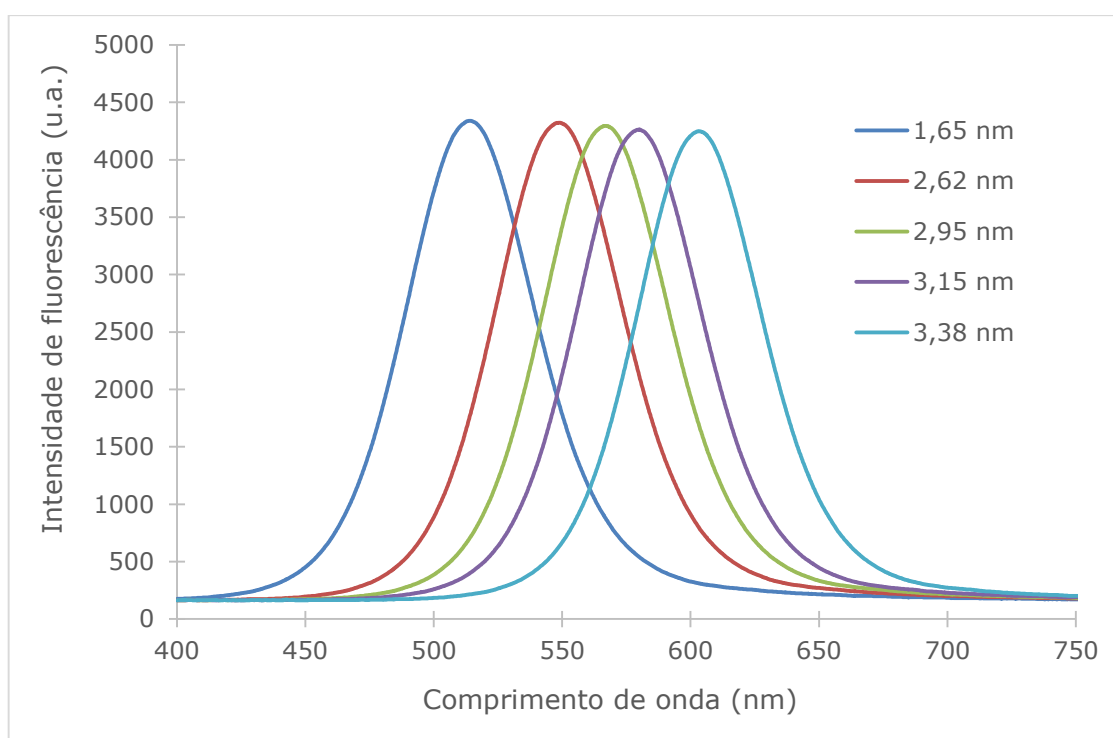


Fig. 3.3 – Espectros de emissão de fluorescência para os cinco PQs de CdTe estudados. Da esquerda para direita, comprimento de onda máximo de emissão 518, 549, 566, 581, 604 nm.

3.1.1 – Tamanhos e concentração

Devido aos bons resultados empíricos da síntese (**Fig. 3.1**), todas as alíquotas exibiram um máximo de absorção bem definida para a primeira transição excitônica (**Fig. 3.2**), que é evidência experimental para uma distribuição de tamanho estreita, valores de cerca de 50 nm. Caracterizando assim um espectro de emissão de fluorescência bem definido, distribuído e estreito (**Fig. 3.3**). O tamanho dos nanocristais sintetizados foi determinado de acordo com a expressão (Yu et al., 2003), brevemente comentada na seção 1.3.2.1.

$$D = (9.8127 \times 10^{-7}) \lambda^3 - (1.7147 \times 10^{-3}) \lambda^2 + (1.0064) \lambda - 194.84$$

Onde D é o diâmetro (nm) e λ o comprimento de onda (nm) de absorbância máxima que corresponde ao primeiro pico de absorção excitônicas dos nanocristais.

Com base na expressão acima, as dimensões estimadas para os nanocristais de CdTe foram de 1,65, 2,62, 2,95, 3,15 e 3,38 nm, para os picos máximos de emissão de fluorescência correspondentes a 517, 549, 566, 580, 603 nm, respectivamente.

Para a solução aquosa de PQs de CdTe uma concentração molar foi determinada tendo em consideração o espectro de absorção de uma dada solução de PQs, com uma concentração de massa conhecida, e por avaliação do coeficiente de extinção (ϵ) utilizando a seguinte expressão (Yu et al., 2003):

$$\epsilon = 3450 \Delta E (D)^{2.4}$$

Onde ΔE é a energia de transição correspondente ao primeiro pico de absorção expressa em eV. Sabendo tanto o ϵ quanto a absorbância da solução de PQs de CdTe, a concentração molar foi facilmente calculada aplicando a lei de Lambert-Beer, representada a seguir

$$A = \epsilon B C$$

Onde A corresponde ao pico de absorvância máxima, ϵ corresponde ao coeficiente de extinção molar do nanocristal, B ao caminho óptico percorrido pela radiação na amostra e C a concentração molar.

As concentrações molares obtidas a partir das alíquotas iniciais foram respectivamente $3,85 \times 10^{-3}$, $4,33 \times 10^{-3}$, $2,89 \times 10^{-3}$, $2,46 \times 10^{-3}$ e $4,27 \times 10^{-3}$ mol L⁻¹, para os comprimentos de onda máximo de absorção de 479, 511, 528, 542, 565 nm, respectivamente.

3.1.2 – Rendimento quântico de fluorescência

Os rendimentos quânticos de fluorescência para estes nanocristais estudados foram de 48,4%, 49,7%, 55,1%, 54,9% e 53,6%, respectivamente, de acordo com o método descrito na literatura para este tipo de nanomaterial (Li et al., 2006). O qual consiste basicamente em um método quantitativo simplificado para o rendimento quântico de fluorescência representado pela razão do número de fótons emitidos (durante toda duração do decaimento radiativo) e o número de fótons absorvidos durante o estado excitado, empregando para isso um padrão de rodamina 6G (Sigma-Aldrich) (com 95% de fluorescência pré-determinada). O cálculo do rendimento quântico de fluorescência pode ser obtido através da seguinte expressão (Li et al., 2006):

$$\phi_A = \phi_P \times (\text{Grad}_A \times \eta_A^2) / (\text{Grad}_P \times \eta_P^2)$$

Onde: ϕ_A corresponde ao rendimento quântico da amostra e ϕ_P do padrão, Grad_A e Grad_P correspondem à área da curva de emissão obtida no mesmo comprimento de onda de excitação, η corresponde ao índice de refração do solvente na qual a solução da amostra e padrão estão preparados. O índice de refração só é de uso significativo quando as soluções estiverem em solventes diferentes.

É importante salientar que o rendimento quântico de fluorescência obtido para esses nanocristais é de fato satisfatório, quando comparado com outros trabalhos descritos na literatura. Para procedimento de síntese em meio aquoso, o máximo de rendimento de fluorescência obtido foi de 67% (Li et al., 2006), sendo a média, segundo a literatura, em torno de 45 a 55%, nos procedimentos mais satisfatórios (Zou et al., 2008; Chen et al., 2011). A **Fig. 3.4** representa os espectros de um padrão de rodamina 6G e PQs de CdTe empregado.

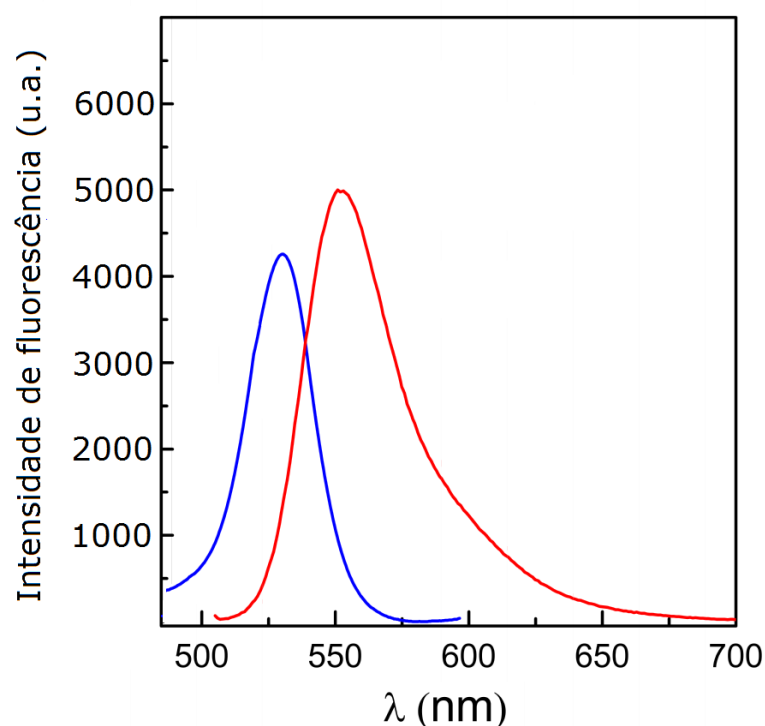


Fig. 3.4 – Representação de espectro de emissão fluorescente para padrão de rodamina 6G (linha vermelha) e nanocristais de CdTe (linha azul).

3.2 – Proposta do mecanismo para emissão quimiluminescente

Com o objetivo de desenvolver um novo método automático, seletivo e sensível para quantificação do teor de ferro total presente em matrizes viscosas, a nível traço, um novo sistema quimiluminescente foi proposto e avaliado quanto a ação de espécies interferentes e a reprodutibilidade das medidas analíticas. As medidas de quimiluminescência por sua vez foram realizadas com auxílio de um espectrofluorímetro portátil da *Ocean Optics* (USB4000) o qual

permitiu avaliar a variação do sinal obtido de modo proporcional a concentração dos íons ferro presente em solução. Na **Fig.3.5** pode ser claramente identificada a intensidade de quimiluminescência proveniente da banda de emissão do sistema investigado, CdTe/Fe(II).

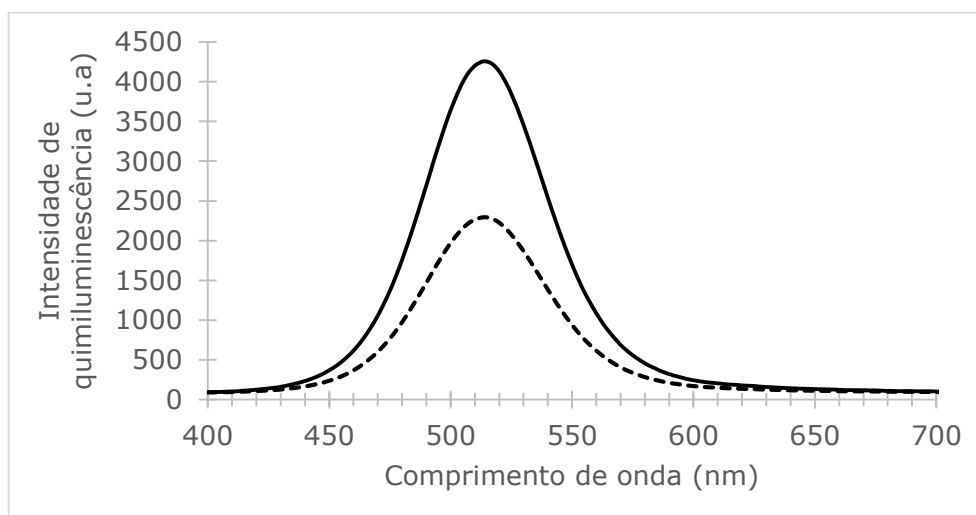


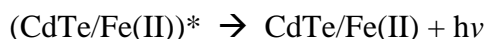
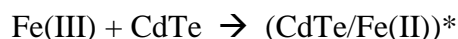
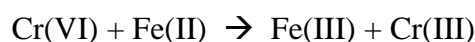
Fig. 3.5 – Espectro de quimiluminescência do sistema CdTe/Fe(II). Concentrações empregadas: $2,5 \times 10^{-4}$ mol L⁻¹ de PQs de CdTe, 100 µg L⁻¹ de Fe(III) (linha cheia) e 50 µg L⁻¹ de Fe(III) (linha tracejada).

Com base no espectro da **Fig. 3.5**, a emissão de quimiluminescência durante a oxidação dos PQs de CdTe em solução ácida pode ser atribuída à formação de espécies excitadas de PQs de CdTe (CdTe/Fe(II)*) que emitem radiação visível durante a sua desexcitação. É sabido que os espectros de fluorescência de espécies químicas estáveis correspondem aos respectivos espectros de quimiluminescência para uma dada reação seletiva. Portanto, as espécies emissoras da QL observada devem decorrer da oxidação direta dos PQs de CdTe a partir da interação superficial com o Fe(III) gerado no sistema.

Zhang e colaboradores (2010) relataram recentemente que o hexacianoferrato de potássio (K₃Fe(CN)₆) pode oxidar diretamente os PQs de CdTe gerando uma forte emissão de quimiluminescência, entretanto a sua avaliação se restringiu a investigações utilizando o meio básico e uma única espécie de ferro, proveniente de matriz aquosa. Avaliações preliminares

empregando as condições ótimas destacadas neste estudo demonstraram resultados de emissão quimiluminescente tênues e pouco reprodutíveis.

Os resultados analíticos obtidos no decorrer deste trabalho demonstraram a possibilidade inequívoca da ocorrência de quimiluminescência em meio ácido através da forte interação dos íons Fe(III) com os PQs de CdTe, os quais são oxidados nestas condições reacionais com a formação de um possível sistema de interação CdTe/Fe(II). O sinal quimiluminescente provavelmente é decorrente da oxidação dos PQs de CdTe, com grande seletividade, a partir do íons Fe(III). Com base nos resultados estudados um possível mecanismo de reação QL do CdTe com o Fe(III) foi proposto. Esse mecanismo está descrito a seguir:



Em meio ácido, todo o ferro presente na amostra é convertido para Fe(III) a partir de uma reação de oxirredução na presença de íon Cr(VI), advindo do íon dicromato em meio ácido. Este íon Fe(III), por sua vez, interage com a superfície dos nanocristais de CdTe, onde o PQ é oxidado, com a consequente promoção ao estado excitado $(\text{CdTe/Fe(II)})^*$. Uma última etapa, decorrente do relaxamento do sistema com subsequente emissão de luz visível (desexcitação) ocorre.

3.3 – Efeito do tamanho dos pontos quânticos no sistema quimiluminescente

A fim de se obter a melhor relação de emissão quimiluminescente com relação aos pontos quânticos estudados, foi realizado um estudo preliminar para eleger o melhor diâmetro dos PQs para a continuidade das investigações.

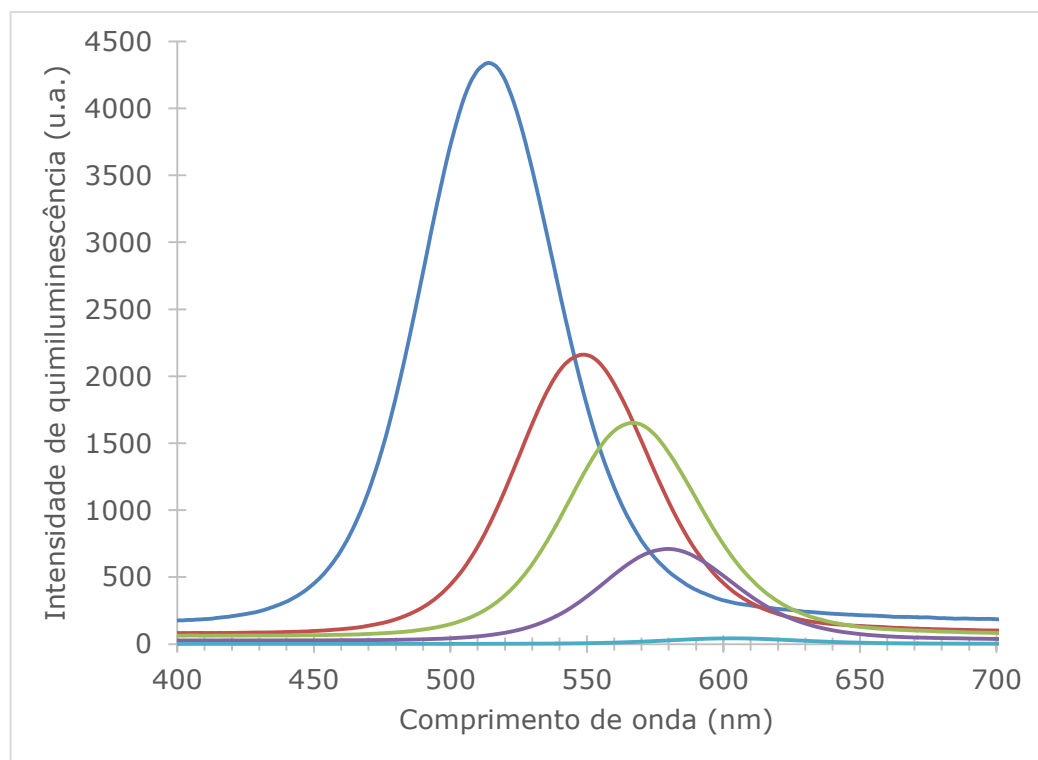


Fig 3.6 – Variação do sinal quimiluminescente para o sistema CdTe/Fe(II) proposto, empregando os diferentes tamanhos de PQs. Concentração de $2,5 \times 10^{-4}$ mol L⁻¹ de PQs de CdTe e 100 µg L⁻¹ de íons Fe(III). Tamanho médio das partícula, da esquerda para direita: 1,65, 2,62, 2,95, 3,15 e 3,38 nm.

Como pode ser observado através da **Fig. 3.6**, para a mesma concentração da solução dos nanocristais ($2,5 \times 10^{-4}$ mol L⁻¹) o melhor resultado de emissão foi obtido para os nanocristais de menor diâmetro estudado (1,65 nm, $\lambda_{em} = 517$ nm).

Segundo a literatura (Kang et al., 2012; Frigerio et al., 2012; Rodrigues et al., 2014) a melhor sensibilidade de luminescência para os menores tamanhos dos pontos quânticos vem sendo realmente observada e pode ser justificada pela maior irregularidade em sua superfície (nanocristais pequenos, obtidos pouco tempo após o período de nucleação), ocasionando assim uma maior área superficial disponível tanto para a interação de analitos quanto para a interação de espécies de revestimento.

De fato, dependendo do revestimento superficial, bem como o meio reacional empregado (neutro, ácido ou alcalino), o diâmetro dos nanocristais influencia drasticamente

a sensibilidade e a possibilidade de interações superficiais relevantes, as quais permitem tanto aumentar quanto suprimir a fluorescência, bem como a emissão quimiluminescente direta, além de influenciar a linearidade das curvas analíticas pretendidas. Deste modo, estudos com nanopartículas vislumbrando a sua finalidade em química analítica não são triviais e requerem muita avaliação empírica para melhorar as condições experimentais.

O rendimento quântico de fluorescência também está frequentemente correlacionando com a emissão luminescente. Em nosso estudo devido a regularidade do rendimento quântico obtido (pela comparação com a rodamina 6G, seção 3.1.2), esse fator não foi significativo para o processo radiativo requerido. Nesse momento é importante salientar que a concentração dos PQs é um fator decisivo para se obter uma eficiente emissão luminescente ou até a sua supressão.

3.4 – Otimização das condições de reação

A intensidade de QL promovida pelo sistema CdTe/Fe(II) aumenta de forma significativa e reprodutível com a variação da concentração de íons Fe(III) em uma faixa de concentração relativamente estreita, em meio ácido, entre $10 \mu\text{g L}^{-1}$ e $100 \mu\text{g L}^{-1}$. Sendo esta faixa suficiente para a investigação promovida, bem como para o desenvolvimento de um método analítico eficiente, envolvendo a quantificação de níveis traço de ferro total em matrizes viscosas, nas condições reacionais estabelecidas para este trabalho (a saber, reduzido volume de amostra, diluição relativamente acentuada da mesma, devido ao pré-tratamento para ferro total empregado, extração em fase única).

De fato, para valores de concentração maiores que $150 \mu\text{g L}^{-1}$ os resultados obtidos para a emissão quimiluminescente são constantes até aproximadamente $200 \mu\text{g L}^{-1}$ a partir do qual verificou-se uma diminuição gradativa até a extinção da emissão quimiluminescente.

Os resultados deste estudo podem ser evidenciados a partir do gráfico de emissão quimiluminescente da **Fig.3.7**.

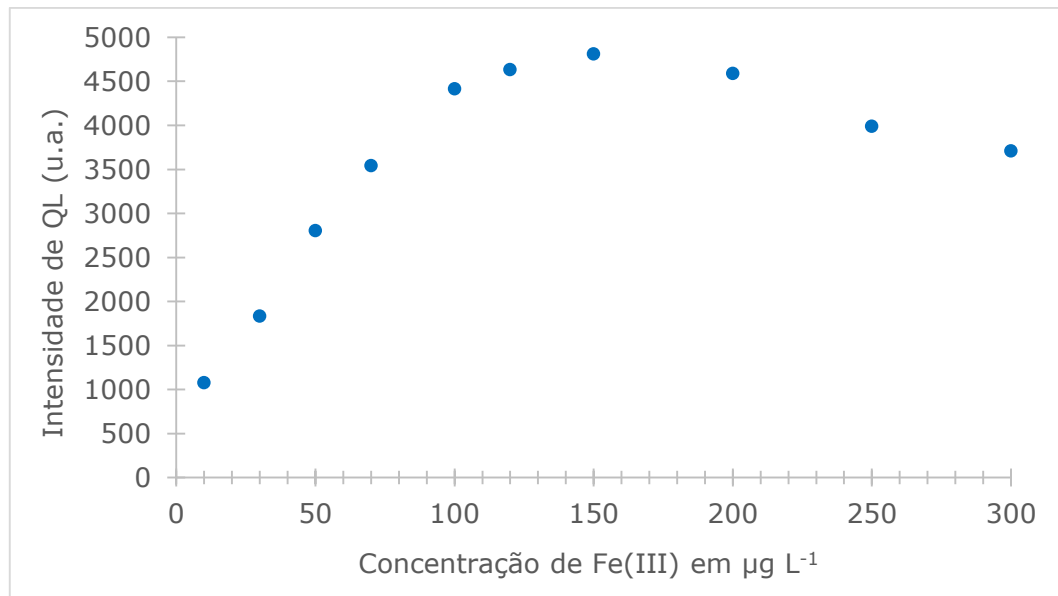


Fig. 3.7 – Variação da concentração de íons Fe(III) para o sinal de emissão de quimiluminescência do sistema CdTe/Fe(II).

Tem sido reportado na literatura a resposta de emissão quimiluminescente em sistemas envolvendo a oxidação de PQs de CdTe em meio alcalino (Chen et al., 2014; Costas-Mora et al., 2014). Entretanto, para o nosso meio reacional, o qual envolve a otimização de um processo de pré-tratamento da amostra em meio ácido, a fim de disponibilizar o metal em estudo, as reações de oxidação foram todas avaliadas em meio ácido com aproximadamente pH 2 (Adcock et al., 2014; Teng et al., 2014). Esse fato pode ser evidenciado pela obtenção de uma faixa de trabalho relativamente estreita, quando comparada a de outros sistema quimiluminescentes reportados anteriormente (Zhang et al., 2010; Kang et al., 2012; Chen et al., 2012;).

Os resultados experimentais também evidenciaram que a intensidade de emissão quimiluminescente para o sistema estudado diminui consideravelmente com o aumento do pH do meio, conforme exposto na **Fig.3.8**. A partir do observado, as condições de pré-tratamento

desenvolvida *on-line* favorecem a emissão quimiluminescente da espécie oxidada nessas circunstâncias reacionais.

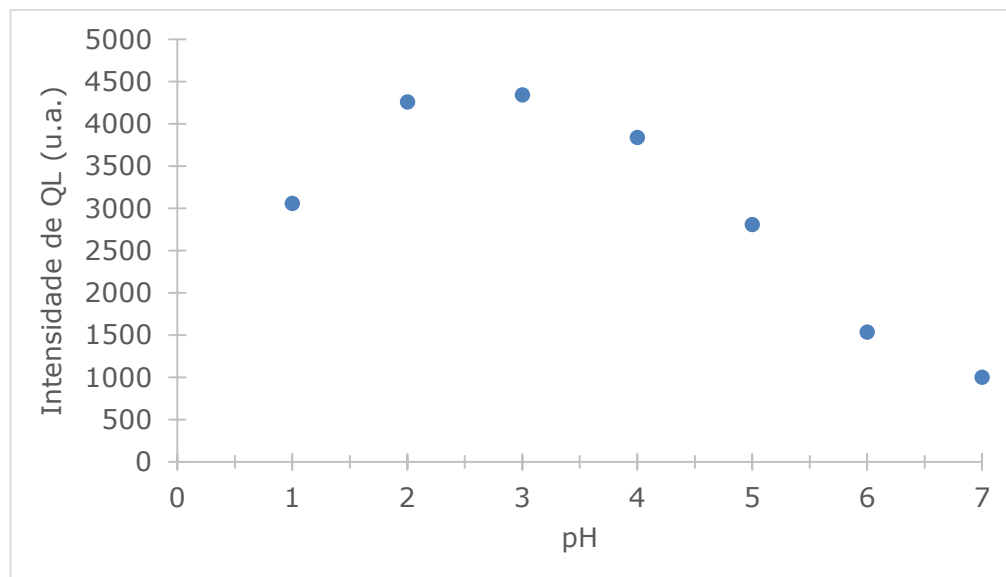


Fig. 3.8 – Influência da variação do pH para medidas de emissão quimiluminescente do sistema CdTe/Fe(II) nas condições propostas.

O emprego de um agente oxidante para assegurar a oxidação total dos íons Fe(II) presentes em solução para a sua forma oxidada Fe(III) também foi avaliada, e se mostrou pertinente, mesmo o meio sendo consideravelmente oxidante, devido a presença da mistura ácida (HNO₃/HCl 3:1), em pH 2. A concentração da solução de dicromato de potássio permitiu um aumento de emissão significativo quando comparado as leituras do sinal QL sem a sua utilização. A melhor concentração desse reagente também foi avaliada e não demonstrou melhora significativa do sinal analítico para concentrações maiores que $2,5 \times 10^{-4}$ mol L⁻¹, através da qual a oxidação é completada e o ganho de sinal analítico permanece constante e posteriormente decrescente, conforme apresentado na **Fig.3.9**.

É interessante ressaltar que inicialmente, o permanganato de potássio também foi cogitado como um potencial agente oxidante para este sistema. Entretanto, a sua presença em solução é reportada como formadora de um sistema quimiluminescente CdTe/Mn(II) ([Chen et](#)

al., 2014), e em nossas condições de reação (concentrações e pH) a leitura de emissão quimiluminescente não foi favorecida, tendo portanto o seu emprego descartado.

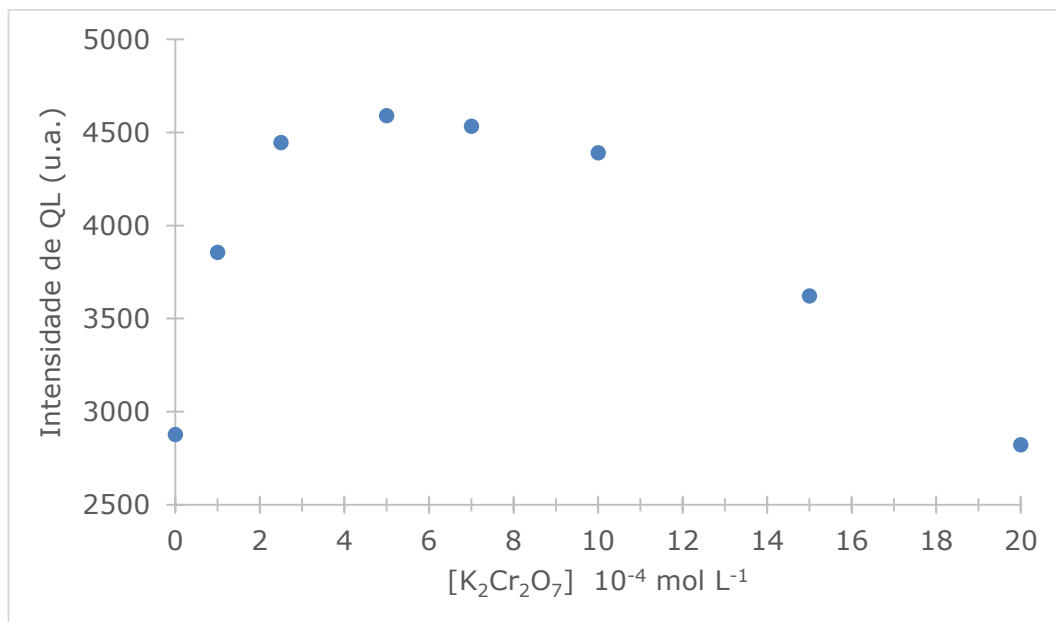


Fig 3.9 – Influência da variação da concentração de solução de K₂Cr₂O₇ para os sinais de emissão quimiluminescente do sistema CdTe/Fe(II).

3.5 – Estudo de potenciais interferentes

Visto o exposto nas seções anteriores, quanto ao método analítico proposto, foi realizado um estudo para potenciais interferentes que pudessem favorecer ou suprimir a emissão de quimiluminescência do sistema CdTe/Fe(II) proposto para análise de matrizes viscosas (Reis et al., 2004; Pinto et al., 2006). Os estudos foram realizados para os íons Cd, Zn, Pb, Cr, Cu, Ca e Mg, metais comumente presentes em concentrações similares as do analito (faixa de concentração entre 5,0 e 100,0 µg L⁻¹). Os resultados obtidos estão apresentados na

Tabela 3.1.

Tabela 3.1 – Tabela de potenciais interferentes para o sistema quimiluminescente proposto. Dados referentes a concentração em $\mu\text{g L}^{-1}$ para uma solução de Fe(III) de $50 \mu\text{g L}^{-1}$.

| Potenciais interferentes | Limite de tolerância |
|--------------------------|----------------------|
| Cd^{2+} | 85 |
| Zn^{2+} | 65 |
| Pb^{2+} | 75 |
| Cr^{2+} | 90 |
| Cu^{2+} | 85 |
| Ca^{2+} | 70 |
| Mg^{2+} | 70 |

Como claramente pode ser observado, os valores das análises realizadas adicionando diferentes concentrações dos potenciais íons interferentes não demonstraram alteração significativa superiores a 5% em relação a medida analítica obtida em sua ausência (apenas solução de Fe(III) $50 \mu\text{g L}^{-1}$). Podendo ser considerado um indicativo da seletividade da oxidação direta do CdTe pelos íons Fe(III) nessas condições experimentais.

3.6 – Estudo de pré-tratamento das amostras

As amostras foram pré-tratadas conforme a necessidade de uma extração rápida, simples e eficiente para a disponibilização dos íons de ferro em meio aquoso a partir das matrizes oleosas (óleo comestível, óleo lubrificante e biodiesel). As investigações foram direcionadas no sentido de se obter uma extração *on-line* eficiente para ferro através do sistema automático proposto em fluxo-batelada; como vem sendo estudado pelo nosso grupo de pesquisa (Barreto et al., 2013; Lima et al., 2012(a)) e também abordado em outros trabalhos em automação que envolvem a extração do mesmo analito (Pinto et al., 2006; Reis et al., 2004).

Os estudos foram guiados pelo emprego de um padrão de ferro organometálico certificado (Quimlab, SRM 1079b NIST, tris(1-fenil-butanodiona) ferro(III)), e as primeiras análises foram realizadas por meio de medidas de espectro de absorção molecular no UV-Vis. Todas as estratégias dos testes consistiram no tratamento de padrões de ferro por extração em fase única (etanol/clorofórmio em diferentes concentrações), seguida de uma extração ácida utilizando diferentes combinações de ácidos (HNO_3 , H_2SO_4 e HCl) e peróxido (H_2O_2).

Estas estratégias permitiram inferir empiricamente sobre a degradação e disponibilidade de ferro livre nos diferentes padrões de ferro organometálico produzidos pela diluição em óleo mineral da amostra certificada. O estudo preliminar no UV-Vis possibilitou direcionar como melhor estratégia de pré-tratamento a mistura de etanol absoluto/clorofórmio (75:25) seguida pela mistura ácida HNO_3/HCl (3:1).

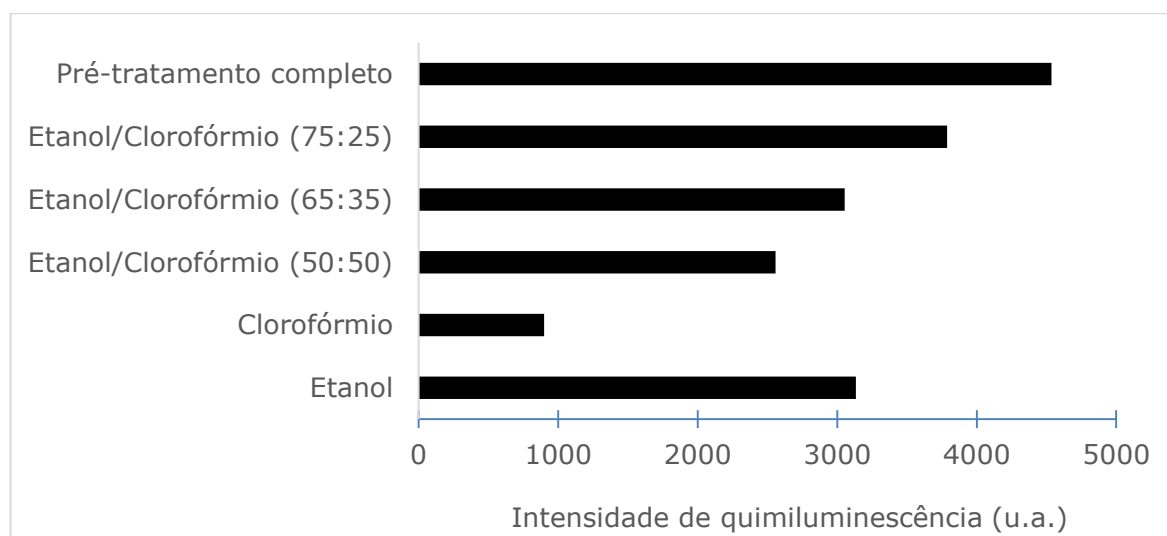


Fig. 3.10 – Influência da extração em fase única (adição do solvente orgânico) para a emissão de quimiluminescência do sistema CdTe/Fe(II). Pré-tratamento completo corresponde a extração ácida em fase única.

As análises de emissão quimiluminescente, por sua vez, foram realizadas por meio de testes de recuperação, empregando um padrão de ferro com uma concentração igual a

50 $\mu\text{g L}^{-1}$. Para o sistema quimiluminescente os resultados obtidos nas análises de pré-tratamento das amostras são apresentados nas **Fig. 3.10** e **Fig. 3.11**.

A partir da apreciação dos resultados apresentados é observado um melhor sinal de emissão quimiluminescente para as amostras submetidas a designada extração ácida em fase única, em ambas as etapas (**Fig.3.10** e **Fig.3.11**), o que corresponde ao emprego conjunto do solvente orgânico, etanol/clorofórmio (75:25) e da solução ácida de HNO_3/HCl (3:1).

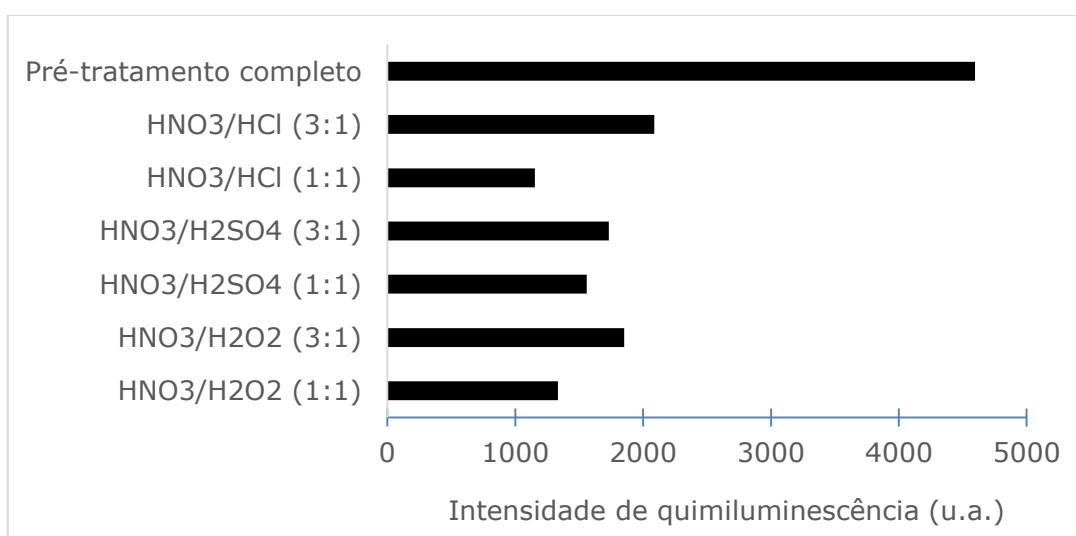


Fig. 3.11 – Influência da extração ácida (adição da solução ácida) para a emissão de quimiluminescência do sistema CdTe/Fe(II). Pré-tratamento completo corresponde a extração ácida em fase única.

3.7 – Parâmetros do sistema automático em fluxo-batelada

3.7.1 – Precisão das válvulas solenoides empregadas

Os volumes adicionados na câmara de mistura do sistema em fluxo-batelada são realizados pelo acionamento das válvulas solenoides. Por consequência, há necessidade da calibração individual dessas válvulas correlacionando-se a quantidade em massa da solução adicionada em função do tempo de acionamento da mesma, e definindo-se assim a vazão em cada linha de fluxo. As vazões médias encontradas para os canais com soluções aquosas foi de

$0,1481 \pm 0,0011 \text{ mL s}^{-1}$. Para a amostra e padrão as vazões encontradas foram $0,0358 \pm 0,0017 \text{ mL s}^{-1}$ e $0,0483 \pm 0,0012 \text{ mL s}^{-1}$.

Tabela 3.2 – Densidades das amostras empregadas na avaliação do método proposto.

| Amostra | Densidade (g mL ⁻¹) |
|--------------------|---------------------------------|
| Biodiesel soja | 0,8453 |
| | 0,8448 |
| Biodiesel girassol | 0,8452 |
| | 0,8443 |
| Biodiesel milho | 0,8439 |
| | 0,8446 |
| Óleo comestível | 0,8455 |
| | 0,8432 |
| | 0,8435 |
| Óleo lubrificante | 0,8545 |
| | 0,8535 |
| | 0,8548 |

A vazão em cada linha de fluxo foi determinada pela adição de volumes de água medidos em massa numa balança analítica (Scientech modelo SA210), utilizando tempos de abertura das válvulas previamente estabelecidos. Para a válvula solenoide empregada na adição das amostras, foi utilizado uma das amostras em vez de água. Isso foi necessário devido a viscosidade inerente das amostras estudadas. As densidades das amostras utilizadas foram avaliadas e apresentadas na **Tabela 3.2**.

3.7.2 – Imagens obtidas durante a emissão quimiluminescente

Como descrito na seção 2.3.3, foi previamente estabelecida uma região de 45 x 30 pixels para as imagens. Apenas a imagem com máximo intensidade de emissão quimiluminescente foi selecionada para construção e aplicação da curva analítica.

Na **Fig. 3.12** são mostradas as imagens que apresentaram máximas intensidades de emissão quimiluminescente referentes as soluções padrão em diferentes níveis de concentração (10 a 100 $\mu\text{g L}^{-1}$ de ferro).

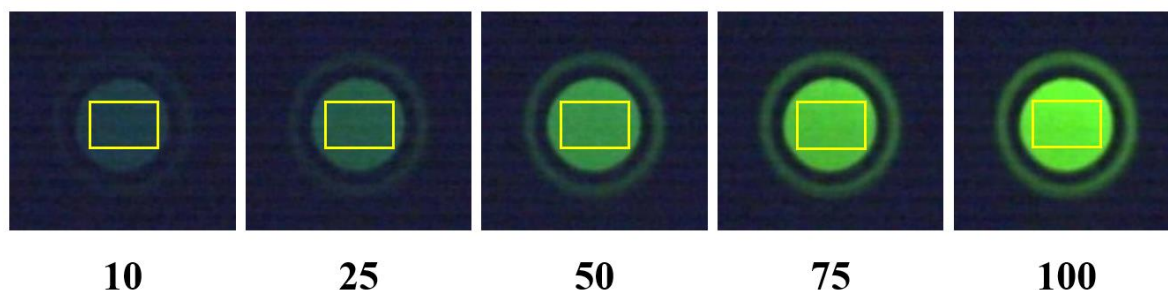


Figura 3.12 – Imagens obtidas utilizando o sistema em fluxo-batelada com a área selecionada (45 x 30 pixels). Soluções padrão de ferro ($\mu\text{g L}^{-1}$).

Podemos observar na **Fig. 3.12** que as imagens exibem um aumento de intensidade na coloração verde de acordo com o aumento da emissão de luz resultante do produto de oxidação do PQs de CdTe referente as concentrações das soluções padrão.

No gráfico da **Fig. 3.13** são mostradas as contribuições dos valores das componentes de cor R, G e B referente a emissão quimiluminescente dos padrões de ferro. Nota-se que as componentes R e G apresentam um aumento de intensidade com o aumento da concentração dos padrões de ferro, enquanto a componente B exibe um pequeno decréscimo de intensidade com o aumento da concentração de ferro. A componente G apresenta contribuição significativa durante toda a faixa de trabalho, quando comparada com as componentes R e B. No entanto, a adoção de somente a componente G para o cálculo da resposta, pode levar a construção de curvas analíticas não lineares. Desse modo, foram empregadas as três componentes (R, G e B) na construção da curva analítica.

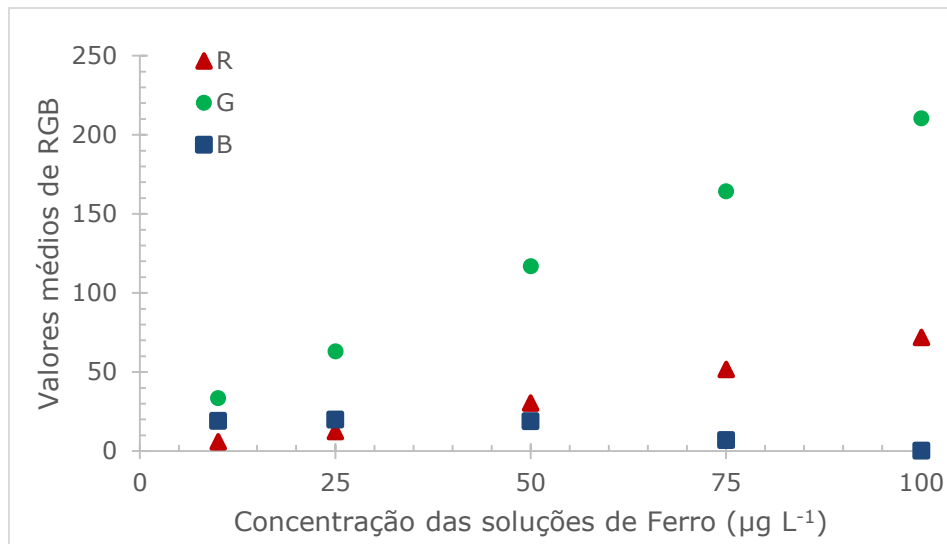


Figura 3.13 – Dados RGB das soluções padrão de ferro (10 a 100 µg L⁻¹).

3.7.3 – Obtenção da curva analítica empregando o valor da norma

O modelo matemático proposto por Lyra (2008) baseado na norma de vetor foi adotado para obtenção da resposta analítica, uma vez que contempla o caso geral onde a variação pode envolver qualquer dos componentes individuais ou também envolver dois ou três componentes simultaneamente.

Para realizar o cálculo da norma do vetor \mathbf{v} , é necessário subtrair dos valores de \bar{R}_S , \bar{G}_S e \bar{B}_S (valores médios de R, G e B das soluções padrão e amostras) dos valores \bar{R}_B , \bar{G}_B e \bar{B}_B do branco. A norma $\|\mathbf{v}\|$ do vetor \mathbf{v} é então determinada pela expressão a seguir.

$$\|\mathbf{v}\| = \sqrt{\bar{R}_{S-B}^2 + \bar{G}_{S-B}^2 + \bar{B}_{S-B}^2}$$

Onde os valores $\bar{R}_{S-B}^2 + \bar{G}_{S-B}^2 + \bar{B}_{S-B}^2$ são os valores líquidos obtidos depois de retirar a contribuição do branco.

Deste modo, com o *software* descrito na seção 2.3.2, foi selecionado uma região da imagem (**Fig. 3.13**) de dimensões 45 x 30 pixels, para aquisição dos valores médios das

componentes R, G e B, empregados no cálculo da norma do vetor. A curva analítica foi construída assumindo-se uma relação linear entre a resposta analítica e a concentração do analito.

3.7.4 – Validação da curva analítica

Construiu-se uma curva analítica para a faixa de concentrações de 10 a 100 $\mu\text{g L}^{-1}$ de ferro(III), a partir das imagens obtidas empregando método quimiluminescente automático proposto. A **Fig. 3.14** mostra a curva analítica obtida a partir dos valores da norma dos vetores RGB extraídos das imagens digitais capturadas.

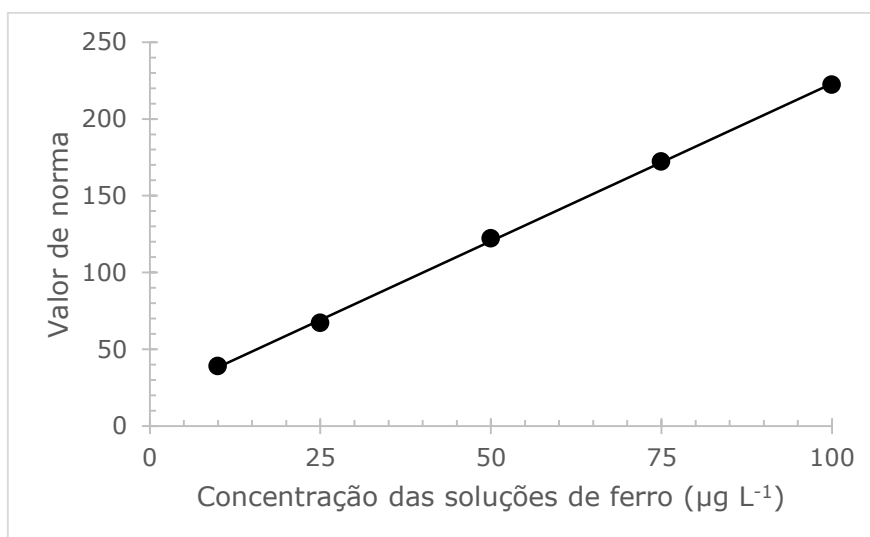


Figura 3.14 – Curva analítica para a determinação de ferro(III) em amostras viscosas.

A curva analítica obtida, foi construída a partir dos níveis de concentração 10, 25, 50, 75, 100 $\mu\text{g L}^{-1}$ de ferro. A **Fig. 3.14** mostra que a curva analítica apresenta um comportamento linear entre o valor de norma e a concentração de ferro das soluções padrão. Essa inferência baseada, inicialmente, em uma inspeção visual, é confirmada pela análise gráfica dos resíduos

deixado pelo modelo (**Fig. 3.15**) e corroborada pelos resultados da ANOVA apresentados em seguida.

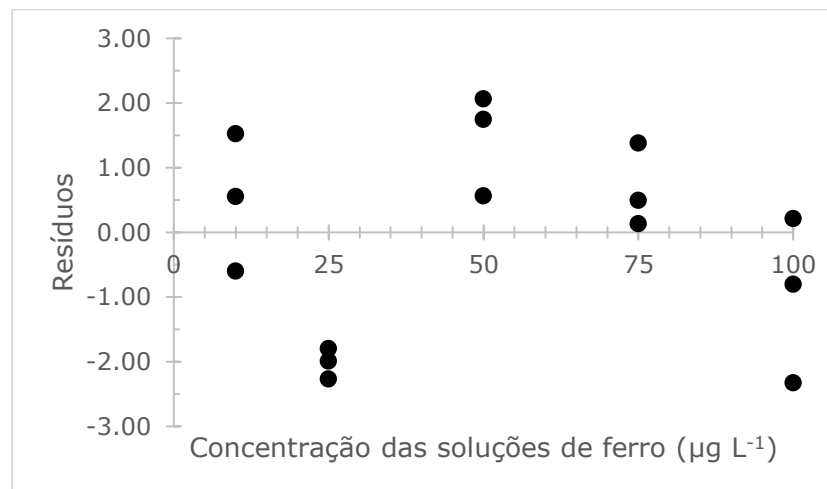


Figura 3.15 – Gráfico dos resíduos deixados pelo modelo do método proposto.

Pode-se observar na **Fig. 3.15** uma distribuição de aleatória dos resíduos ao longo da faixa de concentração estudada. De fato, não se observa nenhuma flutuação, perfil ou estrutura sistemática que evidencie uma falta de ajuste no modelo linear construído para o método proposto.

Os resultados da aplicação da ANOVA, empregados para corroborar na validação do modelo de calibração, utilizando o método quimiluminescente automático, são apresentados na

Tabela 3.3.

Tabela 3.3 – Análise de variância (ANOVA) para o modelo linear obtido pelo método proposto.

| Fonte de variação | SQ | GL | MQ | Test F |
|-----------------------|---------|----|----------|-------------------------------------------|
| Regressão (R) | 67329,2 | 1 | 67329,2 | Significância de R |
| Resíduos (r) | 31,23 | 16 | 196,7925 | MQ _R /MQ _r 34485,31 |
| Falta de ajuste (faj) | 235,27 | 4 | 58,81 | Falta de ajuste |
| Erro puro (ep) | 771,82 | 12 | 64,32 | MQ _{faj} /MQ _{ep} 0,91 |

Antes de avaliar a significância estatística da regressão, é necessário verificar se o modelo postulado não apresenta falta de ajuste. Para isso, compara-se o valor da razão MQ_{faj}/MQ_{ep} (**Tabela 3.3**) com o valor de $F_{4,12}$ (ponto de distribuição F para 4 e 12 graus de liberdade ao nível de confiança de 95%) que é igual a 3,26. Como MQ_{faj}/MQ_{ep} é menor que $F_{4,12}$, então que não existe evidência de falta de ajuste do modelo linear ajustado aos dados experimentais. Sendo assim, comparando-se o quociente MQ_R/MQ_r (cujo valor é 717,68, **Tabela 3.3**) com o valor ponto de distribuição $F_{1,16}$ (igual a 4,49), conclui-se que a regressão é altamente significativa.

Os coeficientes do modelo de calibração para o método proposto, obtidos por regressão linear pelo modelo dos mínimos quadrados, são apresentados na **Tabela 3.4**. Visto que os modelos não apresentam falta de ajuste e descreve adequadamente a relação linear entre o sinal analítico (valor de norma) e a concentração de ferro na faixa da calibração, foram estimados os erros padrão dos coeficientes de regressão, b_0 e b_1 . Para isso, foi utilizado o valor da média quadrática residual (MQ_r) como estimativa da variância populacional dos erros aleatórios ao longo da reta de regressão.

Tabela 3.4 – Coeficientes de regressão e intervalos de confiança para os valores populacionais (β_0 e β_1) do modelo linear obtido para o método proposto.

| $y = b_0 + b_1 x$ | |
|------------------------------------------------------|------------------------------------------------------|
| $b_0 \pm t_{(n-2)} \times \text{erro padrão } (b_0)$ | $b_1 \pm t_{(n-2)} \times \text{erro padrão } (b_1)$ |
| $17,859 \pm 9,236$ | $2,052 \pm 0,1135$ |

A partir dos estimadores e erros padrão de b_0 e b_1 , obteve-se o intervalo de 95% de confiança para os parâmetros populacionais (β_0 e β_1) do modelo. Os limites obtidos mostram que os intervalos de confiança não contêm o valor zero. Assim, os coeficientes estimados para ambos os modelos são estatisticamente significativos e devem ser mantidos na respectiva equação.

Uma vez que a curva analítica foi validada, os valores do limite de detecção (LOD), limite de quantificação (LOQ) e sensibilidade foram encontrados para o método proposto. Os valores estimados para essas figuras de mérito são mostrados na **Tabela 3.5**.

Tabela 3.5 – Figuras de mérito para o método proposto.

| | |
|----------------------------------------------|-------|
| LOD ($\mu\text{g L}^{-1}$) | 0,66 |
| LOQ ($\mu\text{g L}^{-1}$) | 2,20 |
| Sensibilidade | 2,052 |

Pode-se observar que o método quimiluminescente proposto apresenta valores de LOD, LOQ e sensibilidade satisfatórias o que torna esse método apropriado para a determinação de ferro em amostras viscosas. De fato, o método proposto utiliza uma *webcam* com fototransdutor baseado em CCD e filtros que capturam luz nos três canais analíticos (R, G e B) constituindo uma resposta tricromática ou trivariada.

3.7.5 – Análise das amostras

Com base no exposto nas sessões anteriores o método se encontra adequado para a análise das amostras reais. O resultado obtido se encontra na **Tabela 3.6** em mg Kg^{-1} e é comparado ao método de referência por absorção atômica em forno de grafite.

A partir do exposto (**Tabela 3.6**) podemos evidenciar uma boa concordância entre os valores do método proposto e o da análise de referência. Quando aplicado o teste *t* pareado as amostras não apresentaram diferença estatisticamente significativa a um nível de 95% de confiança.

Tabela 3.6 – Resultados obtidos para determinação de ferro total em amostras oleosas (mg Kg^{-1}) usando o sistema quimiluminescente automático com detecção por imagens digitais e o método de referência por absorção atômica em forno de grafite ($n = 3$).

| Amostras | Sistema proposto | | Referência | |
|--------------------------|-------------------------------------|------|-------------------------------------|------|
| | Fe total $\pm (t_{n-1} S/\sqrt{n})$ | DPR% | Fe total $\pm (t_{n-1} S/\sqrt{n})$ | DPR% |
| Biodiesel | | | | |
| 1 | 2,64 \pm 0,05 | 1,23 | 2,73 \pm 0,04 | 1,05 |
| 2 | 4,68 \pm 0,04 | 1,52 | 4,56 \pm 0,03 | 1,36 |
| 3 | 5,09 \pm 0,05 | 1,14 | 5,12 \pm 0,05 | 1,10 |
| 4 | 0,98 \pm 0,06 | 1,45 | 1,05 \pm 0,03 | 1,26 |
| 5 | 3,66 \pm 0,04 | 1,39 | 3,74 \pm 0,03 | 1,23 |
| 6 | 3,05 \pm 0,03 | 1,24 | 2,98 \pm 0,02 | 1,17 |
| Óleo comestível | | | | |
| 1 | 3,98 \pm 0,06 | 1,46 | 4,02 \pm 0,05 | 1,22 |
| 2 | 4,97 \pm 0,05 | 1,43 | 5,03 \pm 0,03 | 1,31 |
| 3 | 2,81 \pm 0,06 | 1,19 | 2,75 \pm 0,03 | 1,09 |
| Óleo lubrificante | | | | |
| 1 | 4,45 \pm 0,07 | 1,26 | 4,57 \pm 0,04 | 1,27 |
| 2 | 6,89 \pm 0,08 | 1,35 | 7,03 \pm 0,05 | 1,32 |
| 3 | 3,12 \pm 0,08 | 1,49 | 3,24 \pm 0,06 | 1,46 |

3.7.6 – Teste de recuperação

Para o teste de exatidão do método duas amostras de cada grupo de matrizes oleosas analisadas foram aleatoriamente escolhidas e empregadas para o devido estudo. Um volume de cada amostra correspondente a 50 μL foi tratada com três diferentes concentrações de padrão 5,0, 10,0 e 15,0 $\mu\text{g L}^{-1}$ de Fe e realizado os devidos testes de emissão quimiluminescente. A **Tabela 3.7** apresenta os resultados obtidos.

Tabela 3.7 – Teste de recuperação para as amostras oleosas (n = 3).

| Amostras (mg Kg ⁻¹) | Recuperação (%) | | |
|------------------------------------|--------------------------------------------------------|---------------------------------------------------------|---------------------------------------------------------|
| | 5,0 (µg L ⁻¹) ± (t _{n-1} S/√n) | 10,0 (µg L ⁻¹) ± (t _{n-1} S/√n) | 15,0 (µg L ⁻¹) ± (t _{n-1} S/√n) |
| Biodiesel | | | |
| (1,05)* | 97,8 ± 1,5 | 102,3 ± 1,8 | 98,5 ± 1,9 |
| (2,98) | 103,9 ± 1,6 | 101,6 ± 1,4 | 102,6 ± 1,5 |
| Óleo comestível | | | |
| (4,02) | 102,5 ± 1,4 | 103,3 ± 1,5 | 101,3 ± 1,6 |
| (5,03) | 101,7 ± 1,5 | 96,8 ± 1,6 | 99,1 ± 1,4 |
| Óleo lubrificante | | | |
| (7,03) | 98,4 ± 1,3 | 97,5 ± 1,3 | 101,3 ± 1,5 |
| (4,57) | 103,4 ± 1,6 | 102,7 ± 1,5 | 103,5 ± 1,6 |

*Concentrações reais médias obtidas pelo método de referência.

Capítulo 4.

CONSIDERAÇÕES FINAIS

4.1 – Conclusão

Neste trabalho de pesquisa foi desenvolvido um novo método analítico automático empregando pontos quânticos de CdTe e imagens digitais para a determinação rápida, sensível e seletiva de ferro total em amostras de matrizes viscosas (óleo comestível, óleo lubrificante e biodiesel), sendo uma tarefa analítica não trivial, a qual empreendeu um alto grau de esforço e dedicação em cada uma das etapas do seu desenvolvimento.

No cumprimento deste trabalho de pesquisa a primeira meta estipulada e prontamente realizada foi a obtenção eficiente e reprodutível de pontos quânticos de CdTe com satisfatório rendimento de fluorescência e distribuição de tamanhos uniformes (pouco dispersivos), para cada faixa espectral requerida, bem como uma melhor compreensão da teoria quântica associada e aplicada à determinações luminescentes dessas nanopartículas em química analítica.

Nessa perspectiva, é importante salientar que ao trabalhar com nanocristais semicondutores deve-se considerar e avaliar diversos fatores intrínsecos como o revestimento (as propriedades eventuais as quais a superfície do material possa obter para com o analito requerido), o tamanho e a concentração, o meio reacional, dentre outros. Através deste trabalho de pesquisa foi possível implementar, em um curto intervalo de tempo, esta nova área de estudo, envolvendo nanocristais semicondutores, em nosso grupo de química analítica.

Para o uso de imagens digitais e medidas de luminescência eficientes e *on-line* foi confeccionado com êxito uma nova câmara de mistura em politetrafluoretileno com janelas acopladas de quartzo, as quais permitem um uso eficiente da mesma para implementação de métodos fluorescentes e quimiluminescentes e detecção via *webcam*. O módulo de análise para o sistema automático trabalhado, compreendido de uma caixa negra, com pequena dimensão (10 × 12 × 15 cm), e a própria *webcam* utilizada, com sensor CCD, contribuíram significativamente para o satisfatório desenvolvimento das medidas analíticas requeridas.

A determinação de ferro total nas amostras de matrizes viscosas foi satisfatória graças ao eficiente e simplificado estudo de pré-tratamento da amostra, que envolveu a extração em fase única (empregando etanol absoluto/clorofórmio, 75:25% v/v), seguida da extração ácida da amostra (HNO₃/HCl, 3:1 v/v), proporcionando a disponibilidade dos íons de interesse em meio aquoso. Estes íons ferro tiveram a sua oxidação para íons Fe(III) assegurada pela presença de íons dicromato em solução, sendo desta maneira os íons Fe(III) os agentes promotores da oxidação direta dos nanocristais de CdTe, por meio de interações superficiais radiativas, gerando assim a emissão quimiluminescente destes nanocristais, de forma proporcional a concentração do ferro total nas amostras.

O diâmetro e a concentração dos nanocristais de CdTe também foram avaliados, em relação ao fenômeno observado, demonstrando uma maior sensibilidade quimiluminescente e seletividade para os nanocristais de menor diâmetro 1,65 nm e concentração de $2,5 \times 10^{-4}$ mol L⁻¹. A partir deste ponto, o novo método foi satisfatoriamente avaliado, empregando testes de íons potencialmente interferentes e testes de recuperação e comparado os resultados obtidos com o método oficial de referência, creditando assim mérito analítico a sua eficiência.

O uso da *webcam* como detector para medidas quimiluminescentes, por sua vez, demonstrou a viabilidade e a confiabilidade de se empregar imagens digitais para a determinação analítica quantitativa através de um simples processamento dos dados RGB pela norma do vetor. É importante enfatizar nesta perspectiva a eficiência do novo programa de gerenciamento e tratamento das imagens digitais que permitiu um trabalho efetivamente automático, sem qualquer necessidade de tratamento de imagens posteriores, permitindo a quantificação do analito após as análises, o que pode ser considerável um ganho significativo para o processo automático empregando imagens digitais.

Deste modo, se permite enfatizar, que por meio da união sinérgica dos pontos quânticos, quimiluminescência, extração ácida em fase única, imagens digitais e automação analítica

podemos vislumbrar o desenvolvimento efetivo de modernas metodologias com aplicações direcionadas, sensíveis e seletivas. E ainda, que a implementação de técnicas quimiluminescentes com as imagens digitais podem se tornar uma tendência ainda mais valiosa, pois permitem realizar análises com uma apreciável praticidade, com o desenvolvimento de novos sistemas automáticos ao mesmo tempo simples, robustos e dedicados, com aplicações significativas nas mais diversas áreas do conhecimento científico e tecnológico como as engenharias, as ciências naturais e as ciências da saúde.

4.2 – Perspectivas

Como base no exposto no decorrente desta pesquisa, o desenvolvimento deste trabalho permitiu vislumbrar efetivamente as seguintes perspectivas até o momento encaradas como viáveis e de possível aplicação e implementação, com execução plausível em laboratórios acadêmicos de pesquisa em química analítica.

- O desenvolvimento de novos procedimentos e métodos analíticos automáticos usando o sistema fluxo-batelada, detecção por imagens digitais, nanocristais semicondutores, bem como a implementação de novos processos de pré-tratamento de amostra, a exemplo da investigação e determinação de substâncias traço em alimentos, medicamentos e combustíveis;
- O desenvolvimento de uma investigação abrangente e criteriosa a respeito da seletividade dos pontos quânticos para um dado analito quanto ao seu tamanho, revestimento, concentração e meio reacional;
- Desenvolvimento de um sistema fluxo-batelada para o estudo e monitoramento automático de etapas de síntese dos pontos quânticos empregando imagens digitais;
- A miniaturização do sistema fluxo-batelada adaptado para análises luminescentes, pré-tratamento de amostra, bem como etapas de síntese com o uso de imagens digitais;
- Desenvolvimento de *softwares* ainda mais autônomos e versáteis para a tomada de múltiplas medidas analíticas, a exemplo de medidas potenciométricas e espectrofotométricas, bem como o tratamento estatístico dos dados obtidos;
- Integrar outras formas de detecção ao sistema automático fluxo-batelada para análises mais precisas compatíveis com investigações analíticas mais criteriosas e de natureza multivariada.

Capítulo 5.

REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

Acebal C.C., Insausti M., Pistonesi M.F, Lista A.G., Band B.S.F., A new automated approach to determine monosodium glutamate in dehydrated broths by using the flow-batch methodology. *Talanta* 81, 116-119, **2010**.

Adcock J.L., Barnett N.W., Barrow C.J., Francis P.S., Advances in the use of acidic potassium permanganate as a chemiluminescence reagent: A review. *Analytica Chimica Acta* 807, 9-28, **2014**.

Almeida J.B.S., Um método quimiluminescente baseado em imagens digitais para determinação de Cr(VI) em águas usando um sistema fluxo batelada. Dissertação de mestrado. Programa de pós-graduação em química. Universidade Federal da Paraíba, **2012**.

Andrade S.I.E., Lima M.B., Barreto I.S., Lyra W.S., Almeida L.F., Araújo M.C.U., Silva E.C., A digital image-based flow-batch analyzer for determining Al(III) and Cr(VI) in water, *Microchemical Journal* 109, 106-111, **2013**.

Andrade S.I.E., Um analisador fluxo-batelada baseado em imagem digital para determinação de Al(III) e Cr(VI) em águas. Programa de pós-graduação em química. Universidade Federal da Paraíba, **2012**.

Angell J.J., Synthesis and characterization of CdSe-ZnS core-shell quantum dots for increased quantum yield. Thesis. Department of materials engineering. California Polytechnic State University, **2011**.

ANP, Agência Nacional de Petróleo, Gás Natural e Biocombustíveis, Resolução n. 07 (21-02-2013). Establishes the maximum iron content to be observed for the commercialization of biodiesel in whole Brazilian territory, **2013**.

ASTM D-5184-91, Book of ASTM Standards, Method D-5184-91, Section 5, V. 5.03, American Society for Testing and Materials, Philadelphia, PA, USA, **1992**.

ASTM D-6751, Standard specification for biodiesel fuel blend stock (B100) for middle distillate fuels, West Conshohocken, PA: ASTM international, **2009**.

Barreto I.S., Andrade S.I.E., Lima M.B., Silva E.C., Araújo M.C.U., Almeida L.F., A monosegmented flow-batch system for slow reaction kinetics: Spectrophotometric determination of boron in plants. *Talanta* 94, 111-115, **2012**.

Barreto I.S., Lima M.B., Andrade S.I.E., Araújo M.C.U., Almeida L.F., Using a flow-batch analyzer for photometric determination of Fe(III) in edible and lubricating oils without external pretreatment. *Analytical Methods* 5, 1040-1045, **2013**.

Biswas A., Bayer I.S., Biris A.S., Wang T., Dervishi E., Faupel F., Advances in top-down and bottom-up surface nanofabrication: techniques, applications e future prospects. *Advanced Colloid Interface Science* 170, 2-27, **2012**.

Bo C., Ping Z., A new determining method of copper(II) ions at ng ml⁻¹ levels based on quenching of the water-soluble nanocrystals fluorescence. *Analytical and Bioanalytical Chemistry* 381, 986-992, **2005**.

Burguera J.L., Burguera M., Pretreatment of oily samples for analysis by flow injection spectrometric methods. *Talanta* 83, 691-699, **2011**.

Chen H., Lin L., Li H., Lin J., Quantum dots-enhanced chemiluminescence: Mechanism and application. *Coordination Chemistry Reviews* 263, 86-100, **2014**.

Chen H., Ling B., Yuan F., Zhou C., Chen J., Wang L., Chemiluminescence behaviour of CdTe-potassium permanganate enhanced by sodium hexametaphosphate and sensitized sensing of *l*-ascorbic acid. *Luminescence* 27, 466-472, **2012**.

Chen Y., Rosenzweig Z., Luminescent CdS quantum dots as selective ion probes. *Analytical Chemistry* 74, 5132-5138, **2002**.

Codex Alimentarius, Codex standard for named vegetable oils. *Codex Stan*, **2009**.

Costa-Fernández J.M., Pereiro R., Sanz-Medel A., The use of luminescent quantum dots for optical sensing. *Trends in Analytical Chemistry* 25, 207-218, **2006**.

Costas-Mora I., Romero V., Lavilla I., Bendicho C., An overview of recent advances in the application of quantum dots as luminescent probes to inorganic-trace analysis. *Trends in Analytical Chemistry*, 57, 64-72, **2014**.

Dantas N.O., Neto E.S.F., Silva R.S., Jesus D.R., Pelegrini F., Evidence of Cd_{1-x}Mn_xS nanocrystal growth in a glass matrix by the fusion method, *Applied Physics Letters* 93, 193115-3, **2008**.

Diniz P.H.G.D., Almeida L.F., Harding D.P., Araújo M.C.U., Flow-batch analysis. Trends in Analytical Chemistry 35, 39-49, **2012**.

Domínguez M.A., Grünhut M., Pistonesi M.F., Di Nezio M.S., Centurión M.E., Automatic flow-batch system for cold vapor atomic absorption spectroscopy determination of mercury in honey from Argentina using online sample treatment. Journal of Agricultural and Food Chemistry 60, 4812-4817, **2012**.

Donegá C.M., Liljeroth P., Vanmaekelbergh D., Physicochemical evaluation of the hot-injection method, a synthesis route for monodisperse nanocrystals, Small 1, 1152-1162, **2005**.

Driel A.F., Allan G., Delerue C., Lodahl P., Vos W.L., Vanmaekelbergh D., Frequency-dependent spontaneous emission rate from CdSe and CdTe nanocrystals: Influence of dark states. Physical Review Letters 95, 236804-236807, **2005**.

Facchin I., Extração líquido-líquido em sistema de fluxo monossegmentado. Tese de doutorado. Programa de Pós-Graduação em Química. Universidade Estadual de Campinas, **1996**.

Frigerio C., Ribeiro D.S.M., Rodrigues S.S.M., Abreu V.L.R.G., Barbosa J.A.C., Prior J.A.V., Marques K.L., Santos J.L.M., Application of quantum dots as analytical tools in automated chemical analysis: A review. Analytica Chimica Acta 735, 9-22, **2012**.

Gaião E.N., Martins V.L., Lyra W.S., Almeida L.F., Silva E.C., Araújo M.C.U., Digital image-based titrations. Analytical Chimica Acta 570, 283-290, **2006**.

Gomes M.A., Propriedades óptica de estruturais dos nanocristais de Y_2O_3 puros e dopados com Eu^{3+} e Nd^{3+} . Dissertação. Núcleo de pós-graduação em física, Universidade Federal de Sergipe, **2010**.

Gomes M.S., Trevizan L.C., Nóbrega J.A., Kamogawa M.Y., Uso de scanner em espectrofotometria de absorção molecular: aplicação em experimento didático enfocando a determinação de ácido ascórbico, Quima Nova 31 1577-1581, **2008**.

Gonzalez R.C., Woods R.E., Processamento de imagens digitais. Edgard Blücher, São Paulo, **2000**.

Grünhut M., Centurión M.E., Fragoso W.D., Almeida L.F., Araújo M.C.U., Band B.S.F., Flow-batch technique for the simultaneous enzymatic determination of levodopa and carbidopa in pharmaceuticals using PLS and successive projections algorithm. *Talanta* 75, 950-958, **2008**.

Grünhut M., Martins V.L., Centurión M.E., Araújo M.C.U., Band B.S.F., Flow-batch analyzer for the chemiluminescence determination of catecholamines in pharmaceutical preparations. *Analytical Letters* 44, 67-81, **2011**.

Hendrikse P.W., Slikkerveer F.J., Zaalberg J., Hautfenne A., *Pure Applied Chemistry* 60, 893-900, **1988**.

Holler F.J., Skoog D.A., Crouch S.R., *Princípios de análise instrumental*. 6 ed., Porto Alegre, Bookman, **2009**.

Honorato R.S., Araújo M.C.U., Lima R.A.C, Zagatto E.A.G, Lapa R.A.S., Lima J.L.F.C., A flow-batch titrator exploiting a one-dimensional optimisation algorithm for end point search, *Analytica Chimica Acta* 396, 91-97, **1999**.

International Olive Council (IOC), Trade standard applying to olive oils and olive-pomace oils. COI/T.15/NC No. 3/Rev.4, **2009**.

Jamieson T., Bakhshi R., Petrova D., Pocock R., Imani M., Seifalian A.M., Biological applications of quantum dots. *Biomaterials Science* 28, 4717-4732, **2007**.

Jimenez A.M., Navas M.J., Chemiluminescence methods (present and future). *Grasas y Aceites* 53, 64-75, **2002**.

Jiménez M.D.A., Gil I.S., Corvillo M.A.P., Determination of calcium and magnesium in milk by complexometric titration using protein precipitation and complexation with Palladiazó or other indicators. *Analyst* 113, 633-635, **1988**.

Kang J., Li X., Geng J., Han L., Tang J., Jin Y., Zhang Y., Determination of hyperin in seed of *Cuscuta chinensis* Lam. by enhanced chemiluminescence of CdTe quantum dots on calcein/K₃Fe(CN)₆ system. *Food Chemistry* 134, 2383-2388, **2012**.

Kohl S.K., Landmark J.D., Stickle D.F., Demonstration of absorbance using digital color image analysis and colored solutions. *Journal of Chemical Education* 83, 644-646, **2006**.

Kolev S.D., McKelvie I.D., (Editores), Comprehensive analytical chemistry. Advances in flow injection analysis and related techniques. Elsevier, Amsterdam, **2008**.

Korn M.G.A., Santos D.S.S., Welz B., Vale M.G.R., Teixeira A.P., Lima D.C., Ferreira S.L.C., Atomic spectrometric methods for the determination of metals and metalloids in automotive fuels - A review. *Talanta* 73, 1-11, **2007**.

Krishnadasan S., Brown R.J.C., Mello A.J., Mello J.C., Intelligent routes to the controlled synthesis of nanoparticles. *Lab Chip* 7, 1434-1441, **2007**.

Kuang H., Zhao Y., Ma W., Xu L., Wang L., Xu C., Recent developments in analytical applications of quantum dots. *Trends in Analytical Chemistry* 30, 1620-1636, **2011**.

Lam C., Zhang Y.F., Tang Y.H., Lee C.S., Bello I., Lee S.T., Large-scale synthesis of ultrafine Si nanoparticles by ball milling. *Journal of Crystal Growth* 220, 466-470, **2000**.

Lara F.J., García-Campaña A.M., Aaron J., Analytical applications of photoinduced chemiluminescence in flow systems - A review. *Analytica Chimica Acta* 679, 17-30, **2010**.

Lepri F.G., Chaves E.S., Vieira M.A., Ribeiro A.S., Curtius A.J., Oliveira L.C.C., Campos R.C., Determination of trace elements in vegetable oils and biodiesel by atomic spectrometric techniques - A review. *Applied Spectroscopy Reviews* 46, 175-206, **2011**.

Li L., Qian H., Fang N., Ren J., Significant enhancement of the quantum yield of CdTe nanocrystals synthesized in aqueous phase by controlling the pH and concentrations of precursor solutions, *Journal of Luminescence*, 116, 59-66, **2006**.

Lima M.B., Andrade S.I.E., Barreto I.S., Almeida L.F., Araújo M.C.U., A digital image-based micro-flow-batch analyzer. *Microchemical Journal* 106, 238-243, **2013**.

Lima M.B., Andrade S.I.E., Barreto I.S., Araújo M.C.U., Automatic flow-batch approach using CdTe quantum dots for fluorescent determination of ascorbic acid in fruit juices. *Food Analytical Methods* 18, 1-6, **2014(a)**.

Lima M.B., Andrade S.I.E., Harding D.P., Pistonesi M.F., Band B.S.F., Araújo M.C.U., Turbidimetric and photometric determination of total tannins in tea using a micro-flow-batch analyzer. *Talanta* 88, 717-723, **2012(b)**.

Lima M.B., Andrade S.I.E., Neta M.S.S., Barreto I.S., Almeida L.F., Araújo M.C.U., A micro-flow-batch analyzer using *webcam* for spectrophotometric determination of *ortho*-phosphate and aluminium(III) in tap water, *Journal of the Brazilian Chemical Society*. In Press, **2014(b)**.

Lima M.B., Barreto I.S., Andrade S.I.E., Neta M.S.S., Almeida L.F., Araújo M.C.U., Photometric determination of phosphorus in mineralized biodiesel using a micro-flow-batch analyzer with solenoid micro-pumps. *Talanta* 98, 118-122, **2012(c)**.

Lima M.B., Insausti M., Domini C.E., Pistonesi M.F., Araújo M.C.U., Band B.S.F., Automatized flow-batch method for fluorescent determination of free glycerol in biodiesel samples using on-line extraction. *Talanta* 89, 21-26, **2012(a)**.

Lima R.A.C., Santos S.R.B., Costa R.S., Marcone G.P.S., Honorato R.S., Nascimento V.B., Araújo M.C.U., Hardness screening of water using a flow-batch photometric system. *Analytica Chimica Acta* 518, 25-30, **2004**.

Liu M., Lin, Z., Lin J., A review on applications of chemiluminescence detection in food analysis. *Analytica Chimica Acta*, 670, 1-10, **2010**.

Liu Y., Yu J., Selective synthesis of CdTe and high luminescence CdTe/CdS quantum dots: The effect of ligands. *Journal of Colloid and Interface Science* 333, 690-698, **2009**.

Lopez-Molinero A., Liñan D., Sipiera D., Falcon R., Chemometric interpretation of digital image colorimetry. Application for titanium determination in plastics. *Microchemical Journal* 96, 380-385, **2010**.

Lyra W.S., Espectrometria de emissão em chama baseada em imagens digitais. Dissertação de mestrado. Programa de pós-graduação em química. Universidade Federal da Paraíba, **2008**.

Maleki N., Safavi A., Sedaghatpour F., Single-step calibration, prediction and real samples data acquisition for artificial neural network using a CCD camera. *Talanta* 64, 830-835, **2004**.

Mendonça C.R.B., Bica C.I.D., Piatnicki C.M.S., Water in soybean oil microemulsions as medium for electrochemical measurements. *Journal of the Brazilian Chemical Society* 14, 628-636, **2003**.

Menezes F.D., Síntese e caracterização de nanocristais luminescentes baseados em semicondutores II-VI para fins de aplicação como biomarcadores. Dissertação de mestrado. Programa de pós-graduação em química. Universidade Federal de Pernambuco, **2006**.

Mirasoli M., Buragina A., Dolci L.S., Guardigli M., Simoni P., Montoya A., Maiolini E., Girotti S., Roda A., Development of a chemiluminescence-based quantitative lateral flow immunoassay for on-field detection of 2,4,6-trinitrotoluene. *Analytical Chimica Acta* 721, 167-172, **2012**.

Momeni N., Ramanathan K., Larsson P-O., Danielsson B., Bengmark S., Khayyami M., CCD-camera based capillary chemiluminescent detection of retinol binding protein. *Analytica Chimica Acta* 387, 21-27, **1999**.

Monte-Filho S.S., Lima M.B., Andrade S.I.E., Harding D.P., Fagundes Y.N.M., Santos, S.R.B., Lemos S.G., Araújo, M.C.U., Flow-batch miniaturization. *Talanta* 86, 208-213, **2011**.

Moreira W.L., Síntese e estabilização de pontos quânticos coloidais de semicondutores II-VI e IV-VI. Dissertação de mestrado. Instituto de Física Gleb Wataghin. Universidade Federal de Campinas, **2005**.

Murray C.B., Norris D.J., Bawendi M.G., Synthesis and characterization of nearly monodisperse CdE (E = sulfur, selenium, tellurium) semiconductor nanocrystallites. *Journal of the American Chemical Society* 115, 8706-8715, **1993**.

Neto B.B., Scarminio I.S., Bruns R.E., Como Fazer Experimentos: Aplicações na Ciência e na Indústria. 4 ed., Porto Alegre, Bookman, **2010**.

Nie F., Lu J., Novel chemiluminescence system with calcein as chemiluminescent reagent. *Luminescence* 22, 480-486, **2007**.

Ocaña-González J.A., Ramos-Payán M., Fernández-Torres R., Navarro M.V., Bello-López M.A., Application of chemiluminescence in the analysis of wastewaters – A review. *Talanta* 122, 214-222, **2014**.

Oliveira S.C.B., Coelho E.C.S., Selva T.M.G., Santos F.P., Araújo M.C.U., Abreu F.C., Nascimento V.B., A coulometric flow cell for in-line generation of reagent, titrant or standard solutions. *Microchemical Journal* 82, 220-225, **2006**.

Pacifici D., Lezec H.J., Atwater H.A., All-optical modulation by plasmonic excitation of CdSe quantum dots. *Nature Photonics* 1, 402-406, **2007**.

Pasquini C., Oliveira W.A., Monosegmented system for continuous flow analysis. Spectrophotometric determination of chromium(VI), ammonia and phosphorus. *Analytical Chemistry* 57, 2575-2579, **1985**.

Peng Z.A., Peng X., Mechanisms of the shape evolution of CdSe nanocrystals, *Journal of the American Chemical Society* 123, 1389-1395, **2001**.

Pinto P.C.A.G., Saraiva M.L.M.F.S., Lima J.L.F.C., A flow sampling strategy for the analysis of oil samples without pre-treatment in a sequential injection analysis system, *Analytica Chimica Acta* 555, 377-383, **2006**.

Reis B.F., Giné M.F., Zagatto E.A.G., Lima J.L.F.C., Lapa R.A., Multicommutation in flow analysis. Part 1. Binary sampling: concepts, instrumentation and spectrophotometric determination of iron in plant digests, *Analytica Chimica Acta* 293, 129-138, **1994**.

Reis B.F., Knochen M., Pignalosa G., Cabrera N., Giglio J., A multicommutated flow system for the determination of copper, chromium, iron and lead in lubricating oils with detection by flame AAS. *Talanta* 64, 1220-1225, **2004**.

Reiss P., Protière M., Li L., Core/shell semiconductor nanocrystals, *Small* 5, 154-168, **2009**.

Resch-Genger U., Grabolle M., Cavaliere-Jaricot S., Nitschke R., Nann T., Quantum dots versus organic dyes as fluorescent labels, *Nature Method* 5, 763-775, **2008**.

Ribeiro M.S., Rocha F.R.P., A single-phase spectrophotometric procedure for in situ analysis of free glycerol in biodiesel. *Microchemical Journal*, 106, 23-26, **2013**.

Rodrigues S.S.M., Lima A.S., Teixeira L.S.G., Korn M.G.A., Santos J.L.M., Determination of iron in biodiesel based on fluorescence quenching of CdTe quantum dots. *Fuel* 117, 520-527, **2014**.

Rogach A.L., Katsikas L., Kornowski A., Su D., Eychmüller A., Weller H., Synthesis and characterization of thiol-stabilized CdTe nanocrystals, *Berichte der Bunsengesellschaft für physikalische Chemie* 100, 1772-1778, **1996**.

Ruzicka J., Hansen E.H., Flow injection analyses: Part I. A new concept of fast continuous flow analysis, *Analytica Chimica Acta*, 78, 145-157, **1975**.

Ruzicka J., Marshall G.D., Sequential injection: a new concept for chemical sensors, process analysis and laboratory assays. *Analytica Chimica Acta* 237, 329-343, **1990**.

Salvador A., La Guardia M., Berenguer V., Determination of the total iron content of used lubricating oils by atomic-absorption with use of emulsions. *Talanta* 30, 986-988, **1983**.

Sheng Z., Han H., Liang J., The behaviors of metal ions in the CdTe quantum dots-H₂O₂ chemiluminescence reaction and its sensing application. *Luminescence*, 24, 271-275, **2009**.

Silva F.O., Viol L.C.S., Ferreira D.L., Alves J.L.A., Schiavon M.A., O estado da arte da síntese de semicondutores nanocristalinos coloidais. *Quima Nova* 33, 1933-1939, **2010**.

Silva J.E., Silva F.A., Pimentel M.F., Honorato R.S., Silva V.L., Montenegro M.C.B.S.M., Araújo A.N., A flow-batch internal standard procedure for iron determination in hydrated ethanol fuel by flame atomic absorption spectrometry. *Talanta* 70, 522-526, **2006**.

Silvestre C.I.C., Frigerio C., Santos J.L.M., Lima J.L.F.C., Quantum dots assisted photocatalysis for the chemiluminometric determination of chemical oxygen demand using a single interface flow system. *Analytica Chimica Acta* 699, 193-197, **2011**.

Skeggs L.T.Jr., An automatic method for colorimetric analysis. *American Society for Clinical Pathology*. 28:311-22, **1957**.

Sun C., Liu B., Li J., Sensitized chemiluminescence of CdTe quantum-dots on Ce(IV)-sulfite and its analytical applications. *Talanta* 75, 447-454, **2008**.

Teng P., Xie J., Long Y., Huang X., Zhu R., Wang X., Liang L., Huang Y., Zheng H., Chemiluminescence behavior of the carbon dots and the reduced state carbon dots. *Journal of Luminescence* 146, 464-469, **2014**.

Thompson M., Ellison S.L.R., Wood R., Harmonized guidelines for single-laboratory validation of methods of analysis. *International Union of Pure and Applied Chemistry* 74, 835-855, **2002**.

Tôrres A.R., Lyra W.S., Andrade S.I.E., Andrade R.A.N., Silva E.C., Araújo M.C.U., Gaião E.N., A digital image-based method for determining of total acidity in red wines using acid–base titration without indicator. *Talanta* 84, 601-606, **2011**.

Trojanowicz M., (editor). *Advances in Flow Analysis*. Weinheim: Wiley-VCH. **2008**.

Viol L.C.S., Silva F.O., Ferreira D.L., Alves J.L.A., Schiavon M.A., Precipitação seletiva de tamanhos em nanopartículas semicondutoras coloidais de CdTe e CdSe: um estudo por espectroscopia uv-vis, *Quima Nova* 34, 595-600, **2011**.

Vossmeier T., Katsikas L., Gienig M., Popovic I.G., Diesner K., Chemseddine A. A. Eychmüller, H. Weller., CdS nanoclusters: synthesis, characterization, size dependent oscillator strength, temperature shift of the excitonic transition energy, and reversible absorbance shif. *The Journal Physical Chemistry* 98, 7665-7673, **1994**.

Vukmirović N., Wang L.W., Quantum dots: theory. *Comprehensive Nanoscience and Technology* 188-217, **2011**.

Wang Z.P., Li J., Liu B., Hu J.Q., Yao X., Li J.H., Chemiluminescence of CdTe nanocrystals induced by direct chemical oxidation and its size-dependent and surfactant-sensitized effect. *The Journal of Physical Chemistry B* 109, 23304-23311, **2005**.

Weng C.H., Huang C.C., Yeh C.S., Lei H.Y., Lee G.B., Synthesis of hexagonal gold nanoparticles using a microfluidic reaction system. *Journal of Micromechanics and Microengineering* 18, 35019-35027, **2008**.

Wongwilai W., Lapanantnoppakhun S., Grudpan S., Grudpan K., *Webcam* camera as a detector for a simple lab-on-chip time based approach. *Talanta* 81, 1137-1141, **2010**.

Yu W.W., Qu L., Guo W., Peng X., Experimental determination of the excitation coefficient of CdTe, CdSe, and CdS nanocrystals. *Chemistry of Materials* 15, 2854-2860, **2003**.

Zagatto E.A.G., Van Staden J.F., Maniasso N., Stefan R.I., Marshall G.D., Information essential for characterizing a flow-based analytical system. *Pure and Applied Chemistry* 74, 585-592, **2002**.

Zhang L., Xu C., Li B., Chemiluminescence of CdTe quantum dots using $K_3Fe(CN)_6$ as oxidant and its capping ligand-dependent effect. *Microchemical Journal* 95, 186-191, **2010**.

Zhou Y., Chen H., Ogawa N., J. Lin., Chemiluminescence from $NaClO-H_2O_2$ and enhanced by l-cysteine capped Mn-doped ZnS quantum-dots. *Journal of Luminescence* 131, 1991-1997, **2011**.

Anexo

PRODUÇÃO CIENTÍFICA

1. ARTIGOS PUBLICADOS RELACIONADOS

Ao longo dos anos de pesquisa acadêmica concernentes aos trabalhos de formação no curso de doutorado em química analítica, foram publicados os artigos científicos elencados a seguir, que permitiram o desenvolvimento efetivo desta tese.

Demais produções científicas realizadas neste período acadêmico podem ser observadas através da plataforma lattes do autor em: <http://lattes.cnpq.br/2424699316257149>.



Automatized flow-batch method for fluorescent determination of free glycerol in biodiesel samples using on-line extraction

Marcelo B. Lima^a, Matías Insausti^b, Cláudia E. Domini^b,
Marcelo F. Pistonesi^b, Mário C. Ugulino de Araújo^a, Beatriz S. Fernández Band^{b,*}

^a Universidade Federal da Paraíba, CCEN, Departamento de Química, Caixa Postal 5093, CEP 58051-970, Cidade Universitária, João Pessoa, Paraíba, Brazil

^b FIA Laboratory, Analytical Chemistry Section, INQUISUR-CONICET, Universidad Nacional del Sur, Av. Alem 1253, B8000CPB Bahía Blanca, Buenos Aires, Argentina

ARTICLE INFO

Article history:

Received 11 July 2011
Received in revised form 27 October 2011
Accepted 28 October 2011
Available online 10 November 2011

Keywords:

Flow-batch
Glycerol
Biodiesel
Fluorescence
On-line extraction

ABSTRACT

An automatic method, based on flow-batch (FB), for determining glycerol in biodiesel was developed. The FB systems draw upon the useful features of flow, batch and multi-commutation approaches. The standards and samples preparation, as well as, derivatization and analysis were fully automated. For that purpose, a homemade chamber was built. The proposed method is based on liquid-liquid extraction of glycerol and simultaneous oxidation with periodate, generating formaldehyde that reacts with acetylacetone. A fluorescent product of 3,5-diacetyl-1,4-dihydrolutidine was obtained. The fluorescence signal was recorded at $\lambda_{ex} = 417$ nm and $\lambda_{em} = 514$ nm.

A linear response was observed from 0.10 to 5.00 mg L⁻¹ glycerol, variation coefficient 1.5%, sampling rate 14 h⁻¹ and detection limit 0.036 mg L⁻¹ glycerol. The procedure was successfully applied to the analysis of biodiesel samples, and the results agreed with the reference method (ASTM D6584-07) at 95% confidence level.

© 2011 Elsevier B.V. All rights reserved.



Photometric determination of phosphorus in mineralized biodiesel using a micro-flow-batch analyzer with solenoid micro-pumps

Marcelo B. Lima, Inakã S. Barreto, Stéfani Iury E. Andrade, Maria S.S. Neta, Luciano F. Almeida, Mário C.U. Araújo*

Universidade Federal da Paraíba, Departamento de Química, João Pessoa, PB, Brazil

ARTICLE INFO

Article history:
Received 21 May 2012
Received in revised form
21 June 2012
Accepted 21 June 2012
Available online 29 June 2012

Keywords:
Micro-flow-batch analyzer
Urethane-acrylate resin
Biodiesel
Molybdenum blue method
Phosphorus determination

ABSTRACT

A method for the determination of phosphorus in mineralized biodiesel using a micro-flow-batch analyzer (μ FBA) with solenoid micro-pumps was proposed. The samples were mineralized using an ashing procedure at 550 °C followed by dissolution of the residue. The determination of phosphorus was performed by employing the well-known molybdenum blue method. The measures of the absorbance were performed at 850 nm using an InfraRed LED integrated into the μ FBA. Comparing with the reference method, no statistically significant differences were observed when applying the paired t-test at a 95% confidence level. Recovery study shows results between 97.9% and 105.8%. The proposed microsystem using solenoid micro-pumps presented satisfactory robustness and high sampling rate (190 h⁻¹), with satisfactory reproducibility (relative standard deviation < 4.5%, $n=3$), low reagents consumption (32 μ L per analysis) and cost to build the device. Moreover, μ FBA presents limit of detection (0.014 mg Kg⁻¹), precision and accuracy compatible with the biodiesel regulations that establish a maximum concentration of 10 mg Kg⁻¹ (Brazil, USA, EU), suggesting that it is a good alternative for the determination of phosphorus in biodiesel.

© 2012 Elsevier B.V. All rights reserved.

Using a flow-batch analyzer for photometric determination of Fe(III) in edible and lubricating oils without external pretreatment

Cite this: *Anal. Methods*, 2013, 5, 1040

Inakã S. Barreto, Marcelo B. Lima, Stéfani Iury E. Andrade, Mário César U. Araújo and Luciano F. Almeida*

In this study a flow-batch analyzer (FBA) was utilized and its feasibility was demonstrated for the determination of Fe(III) in edible and lubricating oils without external pretreatment. The FBA method uses the reaction of this ion with thiocyanate in organic medium. The formed red complex was monitored by employing a light emitting diode (LED, $\lambda_{\text{max}} = 520 \text{ nm}$) and a phototransistor linked to the mixing chamber by optical fibers. All standard solutions were prepared in-line and all analytical processes were carried out by simply changing the operational parameters in FBA control software. Comparing with the reference method, no statistically significant differences were observed when applying the paired *t*-test at a 95% confidence level. The relative standard deviation, analytical frequency and limit of detection were estimated for both viscous matrices (edible and lubricating oils) at <2.1% ($n = 3$), about 95 h^{-1} , and 0.004 mg kg^{-1} , respectively. The recovery study shows results between 97.8% and 103.6% for both matrices. The FBA method showed better analytical features when compared with previous automatic flow methods. Thus, the FBA is potentially useful as an alternative for the determination of other ions in similar samples or in other viscous matrices without external pretreatment.

Received 6th August 2012
Accepted 19th November 2012

DOI: 10.1039/c2ay25866h

www.rsc.org/methods



Contents lists available at SciVerse ScienceDirect

Microchemical Journal

journal homepage: www.elsevier.com/locate/microc

A digital image-based flow-batch analyzer for determining Al(III) and Cr(VI) in water

Stéfani Iury E. Andrade, Marcelo B. Lima, Inakã S. Barreto, Wellington S. Lyra, Luciano F. Almeida, Mário C.U. Araújo*, Edvan C. Silva

Universidade Federal da Paraíba, Centro de Ciências Exatas e da Natureza, Departamento de Química, João Pessoa, PB, Brazil

ARTICLE INFO

Article history:

Received 28 November 2011

Received in revised form 21 March 2012

Accepted 29 March 2012

Available online 5 April 2012

Keywords:

Digital images

RGB color system

Flow-batch analyzer

Aluminum

Chromium

Water

ABSTRACT

This study proposes a digital image-based flow-batch analyzer (DIB-FBA) for aluminum (III) and chromium (VI) determinations in natural water. A webcam with a CCD sensor and RGB data are used. The method for determining aluminum is based on an Al(III) ion, quercetin, and cetyltrimethylammonium bromide (CTAB) reaction which yields a yellow colored complex in an acetate buffer medium (pH 5.5). The determination of chromium is based on a Cr(VI) ion with 1,5-diphenylcarbazide (DPC) reaction whose product is a violet colored complex. Digital images present the color of the emergent (complementary) radiation to that absorbed by the complexes formed in each analysis. RGB data were employed to build the analytical curves. All standard solutions were prepared in-line, and all analytical processes were completed by simply changing the operational parameters in the DIB-FBA control software. The working ranges were from 10 to 600 $\mu\text{g L}^{-1}$ for Al(III) with $r = 0.9994$ ($n = 5$), and 10 to 300 $\mu\text{g L}^{-1}$ for Cr(VI) with $r = 0.999$ ($n = 5$), the limits of detection were 3.97 and 2.65 $\mu\text{g L}^{-1}$ respectively for Al(III) and Cr(VI). The relative standard deviation (RSD %) and sampling rate were estimated at 1.5% and 137 h^{-1} and at 1.7% and 134 h^{-1} for Al(III) and Cr(VI), respectively. Comparing with the reference method, no statistically significant differences were observed when applying the paired t -test at a 95% confidence level.

© 2012 Elsevier B.V. All rights reserved.



Contents lists available at SciVerse ScienceDirect

Microchemical Journal

journal homepage: www.elsevier.com/locate/microc

A digital image-based micro-flow-batch analyzer

Marcelo B. Lima, Stéfani Iury E. Andrade, Inakã S. Barreto, Luciano F. Almeida, Mário César U. Araújo *

Universidade Federal da Paraíba, Departamento de Química, João Pessoa, PB, Brazil

ARTICLE INFO

Article history:

Received 15 May 2012

Received in revised form 18 July 2012

Accepted 22 July 2012

Available online 27 July 2012

Keywords:

Micro-flow-batch analyzer

Urethane-acrylate resin

Digital images

RGB color model

Tannins

Green tea

ABSTRACT

This paper introduces for the first time the combination of digital images taken with a webcam and a micro-flow-batch analyzer as a novel strategy for implementing quantitative chemical analysis. The digital image-based micro-flow-batch analyzer (DIB- μ FBA) was formed using urethane-acrylate resin, glass slides and ultraviolet lithography. The glass slides were used as sealant layers on both sides of the substrate urethane-acrylate and provide the necessary transparency to the microsystem to conduct studies using digital images. DIB- μ FBA uses digital images obtained from a webcam with CCD sensor, based on the RGB (red–green–blue) color model. The analyzer was used for determining the tannins in green tea employing the well-known ferrous tartrate method. All standard solutions were prepared in-line, and all analytical processes were completed by simply changing the operational parameters in DIB- μ FBA control software. The paired *t* test, at a 95% confidence level, showed no statistically significant differences between results obtained by DIB- μ FBA and the spectrophotometric reference method. The proposed microsystem presented satisfactory physical and chemical properties while keeping the flexibility, versatility, robustness and multi-task characteristics of conventional flow-batch analysis. Therefore, it was possible to build a low-cost device with high sample throughput (about 190 h⁻¹) and reduced reagent consumption (about 300 times less than the reference method), contributing to the basic principles of green chemistry and the advancement of micro-analytical procedures.

© 2012 Elsevier B.V. All rights reserved.

Article

doi number
J. Braz. Chem. Soc., Vol. 00, No. 00, 1-9, 2014.
Printed in Brazil - ©2014 Sociedade Brasileira de Química
0103 - 5053 \$6.00+0.00



A Micro-Flow-Batch Analyzer using Webcam for Spectrophotometric Determination of *Ortho*-phosphate and Aluminium(III) in Tap Water

*Marcelo B. Lima, Stéfani I. E. Andrade, Maria S. Silva Neta, Inakã S. Barreto, Luciano F. Almeida and Mário César U. Araújo**

*Departamento de Química, Centro de Ciências Exatas e da Natureza (CCEN),
Universidade Federal da Paraíba, CP 5093, 58051-970 João Pessoa-PB, Brazil*

Neste trabalho é proposto um analisador *micro-flow-batch* (μ FBA) usando uma *webcam* para determinação espectrofotométrica de ortofosfato e alumínio(III) em água de torneira. Este microsistema foi feito com uretana-acrilato e lâminas de vidro. As determinações de PO_4^{3-} e Al^{3+} foram realizadas empregando os métodos do azul de molibdênio e quercertina, respectivamente. Para a construção de curvas analíticas lineares um modelo matemático foi usado com base nos valores RGB (vermelho, verde e azul). As faixas de trabalho foram de 25 a $500 \mu\text{g L}^{-1}$ para ambos os analitos com limites de detecção, desvio padrão relativo (RSD, $n = 5$) e frequência analítica de $0,82 \mu\text{g L}^{-1}$, $< 0,8\%$ e 160 h^{-1} para PO_4^{3-} , e $0,93 \mu\text{g L}^{-1}$, $< 1,1\%$ e 160 h^{-1} para Al(III) . Comparando com os métodos de referência, diferenças estatisticamente significativas não foram observadas quando aplicado o teste-*t* pareado com 95% de confiança. O teste de recuperação apresentou resultados entre 98,1 e 102,8%. O μ FBA proposto apresentou portabilidade satisfatória, robustez, flexibilidade e reduzido consumo de reagentes.

Automatic Flow-Batch Approach Using CdTe Quantum Dots for Fluorescent Determination of Ascorbic Acid in Fruit Juices

Marcelo B. Lima · Stéfani Iury E. Andrade ·
Inakã S. Barreto · Mário César U. Araújo

Received: 7 November 2013 / Accepted: 7 January 2014
© Springer Science+Business Media New York 2014

Abstract This paper introduces, for the first time, the combination of the advantageous features of the automatic flow-batch system for implementing quantitative chemical analysis involving the use of quantum dots (QDs). For illustration, the combined QD-flow-batch system was applied for the fluorescent determination of ascorbic acid in fruit juices. Cadmium telluride (CdTe) QDs were selected in this work because they are the most commonly synthesized and used ones for the analytical applications. Water-soluble CdTe QDs were successfully produced using mercaptopropionic acid. The analytical method is based on the quenching effect produced by ascorbic acid on the fluorescence of CdTe. All calibration solutions were prepared in-line, and all analytical processes were completed by simply changing the operational parame-

Introduction

Quantum dots (QDs) are colloidal semiconductor nanocrystals often formed by elements from the periodic groups 12–16 (ZnS, CdSe, cadmium telluride (CdTe), HgTe), 13–15 (InP, InAs), or 14–16 (SnTe, PbSe) (Kuang et al. 2011). These nanoparticles have important intrinsic properties, such as high photostability; high quantum yield; size-tunable, narrow, and symmetric band emission; and high absorption coefficient across a wide spectral range (Heuff et al. 2007). Such photoluminescent properties have made them to be attractive materials in diverse fields of application as, for example, in the analytical chemistry, where these have been exploited in environmental monit



Marcelo Batista de Lima
marcelolima_bat@hotmail.com
