



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

Tese de doutorado

UTILIZAÇÃO DE PLANEJAMENTO FATORIAL NO PREPARO DE AMOSTRAS
DE DETERGENTE EM PÓ PARA A DETERMINAÇÃO DE FÓSFORO POR
ANÁLISE EM FLUXO E MULTICOMUTAÇÃO EM FLUXO PARA
DETERMINAÇÃO DE ÁCIDO PERACÉTICO.

Fabíola Soraia Vital Campos Barbosa da Silva

Recife

Fevereiro 2011

Fabíola Soraia Vital Campos Barbosa da Silva

UTILIZAÇÃO DE PLANEJAMENTO FATORIAL NO PREPARO DE AMOSTRAS
DE DETERGENTE EM PÓ PARA A DETERMINAÇÃO DE FÓSFORO POR
ANÁLISE EM FLUXO E MULTICOMUTAÇÃO EM FLUXO PARA
DETERMINAÇÃO DE ÁCIDO PERACÉTICO.

Tese apresentada ao Programa de Pós-graduação
em Química da UFPE como parte dos requisitos
para a obtenção do título de Doutor em Química.

Orientadora: Prof^a Dr^a. Ana Paula Silveira Paim

Co-Orientadora: Prof^a Dr^a Valdinete Lins da Silva

Recife

Fevereiro 2011

Catálogo na fonte
Bibliotecária Joana D'Arc L. Salvador, CRB 4-572

Silva, Fabíola Soraia Vital Campos Barbosa da.
Utilização de planejamento fatorial no preparo de amostras de detergente em pó para a determinação de fósforo por análise em fluxo e multicomutação em fluxo para determinação de ácido peracético / .- Recife: O Autor, 2011.
92 f.: fig. tab.

Orientador: Ana Paula Silveira Paim.
Tese (Doutorado) - Universidade Federal de Pernambuco. CCEN. Química Fundamental, 2011.

Inclui bibliografia.

1. Química analítica. 2. Fósforo. 3. Ácido peracético.
I. Paim, Ana Paula Silveira (orientadora). II. Título.

Tese submetida ao Corpo Docente do Programa de Pós-Graduação em Química do Departamento de Química Fundamental da Universidade Federal de Pernambuco como parte dos requisitos necessários para a obtenção do Grau de Doutor em Química.

Aprovada:

Prof^a. Ana Paula Silveira Paim
(Orientadora)
Departamento de Química Fundamental
Universidade Federal de Pernambuco

Prof^a. Marta Maria Menezes Bezerra Duarte
Departamento de Engenharia Química
Universidade Federal de Pernambuco

Prof. André Fernando Lavorante
Departamento de Química
Universidade Federal Rural de Pernambuco

Prof^a. Sália Gavazza dos Santos Pessoa
Centro Acadêmico do Agreste
Universidade Federal de Pernambuco

Prof^a. Fernanda Araújo Honorato
Departamento de Engenharia Química
Universidade Federal de Pernambuco

“Desenvolvimento de Metodologias Analíticas para Preparo de Amostras de Detergente em Pó e Determinação de Ácido Peracético em Água.”

por

Fabíola Soraia Vital Campos Barbosa da Silva

Departamento de Química Fundamental
Centro de Ciências Exatas e da Natureza
Universidade Federal de Pernambuco
Recife-PE-Brasil
15 de fevereiro de 2011

Aos meus filhos Davi e Daniel, minha eterna fonte de alegria e inspiração.

Dedico

AGRADECIMENTOS

A Deus que rege minha vida e torna realidade tudo o que um dia eu pensei que fosse um sonho.

Ao meu amado esposo Josinaldo Barbosa, por todo amor, incentivo, atenção e principalmente paciência que foram fundamentais durante todo o desenvolvimento deste trabalho.

Aos meus filhos Davi e Daniel, por todo seu amor incondicional, seus carinhos e dengos que sempre me motivaram a nunca desistir e também pelo tempo em que não pude retribuir tanta atenção.

Aos meus pais Secinha e Manoel, que além de todo amor que os pais sempre dedicam aos filhos foram além, cuidando também de minha casa e da minha família para que eu pudesse concluir este trabalho.

A minha irmã Emanuella que mesmo de longe incentiva, cobra, torce e cuida, não me deixando esquecer meus objetivos.

Ao meu irmão Diego cuja perseverança é referência para mim, sempre apoiando, descontraindo e me dando suporte em meus trabalhos.

Aos pequenos: Thiago, Bianca, Helen, Samuel e Letícia; médias: Clara, Beatriz, Pâmella e Milla e ao grandão: Vinícius. Sobrinhos maravilhosos que enchem a minha casa de alegria.

E a todos de minha família, que se fosse listar daria uma tese. Pela torcida e incentivo.

A minha orientadora Prof^a Dra^a Ana Paula Paim, por me acolher e acreditar em mim, pelos ensinamentos ao longo destes anos pela amizade sempre com muito carinho e firmeza.

A minha Prof^a Dra^a e co-orientadora Valdinete Silva, por todo apoio dado ao meu trabalho.

Ao meu amigo Marcelo Farias, por toda atenção dedicada, pelas referências difíceis de encontrar e também pelas dúvidas sempre esclarecidas, não esquecendo os bons momentos de descontração.

A minha amiga Walesca Siqueira, pelas leituras dos meus textos e troca de idéias não esquecendo o seu maravilhoso capuccino.

A Joilton pela grande ajuda na execução dos experimntos, sempre prestativo.

Aos amigos do laboratório Diego, Sueny, Suelle, Daniele, Marília pela adorável convivência.

As amigas Renata, Rita, Ana Rosa que desde o começo compartilhamos alegrias e desafios sempre de bem com a vida.

Aos professores André Lavorante, Fernanda Pimentel e Benício Barros pela ajuda no decorrer do trabalho.

Ao professor Paulo Ricardo do IFPE pela valiosa ajuda na utilização do forno de micro-ondas.

A técnica de laboratório Ana pelo auxílio nas titulações das soluções de permanganato e tiossulfato.

A todos os professores com os quais eu tive o prazer de aprender sempre mais.

Aos funcionários do DQF, em especial, a Maurílio e Patrícia

E a todos que contribuíram direta ou indiretamente e eu tive a ousadia de não mencionar.

De tudo, ao meu amor serei atento
Antes, e com tal zelo, e sempre, e tanto
Que mesmo em face do maior encanto
Dele se encante mais meu pensamento.

Quero vivê-lo em cada vão momento
E em seu louvor hei de espalhar meu canto
E rir meu riso e derramar meu pranto
Ao seu pesar ou seu contentamento.

E assim, quando mais tarde me procure
Quem sabe a morte, angústia de quem vive
Quem sabe a solidão, fim de quem ama

Eu possa dizer do meu amor (que tive):
Que não seja imortal, posto que é chama
Mas que seja infinito enquanto dure

Vinícius de Moraes

RESUMO

É cada vez maior a preocupação das pessoas com o meio ambiente e sustentabilidade. O presente trabalho é dividido em dois capítulos. No primeiro capítulo a decomposição do detergente em pó para posterior determinação da concentração de fósforo em sua formulação é avaliada quando são utilizados autoclave e forno de micro-ondas. Para estabelecer as melhores condições experimentais foi realizado um planejamento fatorial 2^5 variando condições experimentais de digestão bem como os parâmetros de fluxo para determinação de fósforo. Após determinar a melhor condição foram realizados experimentos para avaliar o teor de fósforo em detergentes em pó comercializados no Recife. As melhores condições de digestão encontradas foram 0,2 mL da solução de ácido sulfúrico, potência utilizada no forno de micro-ondas de 500 W, tempo de digestão de 2 minutos e para o sistema em fluxo, a concentração de 16 mmol L^{-1} de molibdato. Estas condições proporcionam um menor custo de reagente quando comparado com o método de referência. Os resultados para determinação de fósforo no sistema em fluxo indicam, de acordo com o teste-*t*, que não existe diferença significativa entre a digestão em autoclave e em forno de micro-ondas, dentro de um limite de confiança de 95%. O ácido peracético (APA) é um sanitizante que desperta atenção pelo seu poder biocida e por não gerar subprodutos indesejáveis como os compostos orgânicos halogenados. No segundo capítulo foi desenvolvido um sistema de multicomutação em fluxo (MCFIA) para determinação de ácido peracético. O método foi baseado na reação da DDPD (uma forma metil substituída da N-dietil-p-fenilenodiamina) com o ácido peracético utilizando o kit comercial Vacu-vials® (CHEMetrics, Inc). Três minibombas solenóide foram utilizadas para inserir soluções de amostra, solução carregadora (água) e reagente (kit Vacu-vials). O produto da reação foi monitorado a 565 nm. Com as melhores condições experimentais, foi observada resposta linear entre 0,5 e 5,0 mg L^{-1} de APA ($R = 0,9995$); um desvio relativo de 4,0 % ($n = 8$) para a amostra de 3,0 mg L^{-1} APA; um limite de detecção de 0,10 mg L^{-1} ; frequência analítica de 36 determinações por hora com consumo de reagente de 80 μL por determinação e volume de resíduo de 280 μL por determinação.

PALAVRAS-CHAVE: FIA, multicomutação, fósforo, ácido peracético.

ABSTRACT

A growing public concern about the environment demands a commitment from technological progress to sustainability. The present work is divided into two chapters. In the first chapter the decomposition of powder detergent for subsequent determination of phosphorus concentration in this formulation is evaluated when using autoclave and microwave oven. To evaluate the best experimental conditions a 2^5 factorial design was performed varying the experimental conditions of digestion and flow parameters to determine phosphorus content. The best experimental framework, according to the criterion above, comprised of a 0.2 mL solution of sulfuric acid, microwave oven set at 500 W power, digestion time of 2 minutes and a concentration of 16 mmol L^{-1} molybdate for the flow system. This set of conditions, which provides a lower cost compared with the reference method, was used to assess the level of phosphorus in detergent powder sold in the city of Recife, Brazil. The results for determination of phosphorus content in the flow system indicate that according to the *t*-test that there is no significant difference between the autoclave and microwave oven within a confidence limit of 95%. In the second chapter, a multicommutation flow injection system (MCFIA) was developed for determination of peracetic acid. Peracetic acid (PAA) is a sanitizer that draws attention due to its biocidal power and does not generate byproducts, such as halogenated organic compounds. The method was based on the reaction of DDPD (a form of methyl substituted N-diethyl-p-phenylenediamine) with peracetic acid using a commercial kit Vacu-vials® (CHEMetrics, Inc). Three solenoid minipumps were used to insert the sample solutions, carrier solution (water) and reagent (kit Vacu-vials). The reaction product was monitored at 565 nm. For the best experimental conditions, it was observed a linear response between 0.5 and 5.0 mg L^{-1} PAA ($R = 0.9995$) with a relative deviation of 4.0% ($n = 8$) for sample 3, 0 mg L^{-1} PAA, detection limit of 0.10 mg L^{-1} , analytical frequency of 36 samples per hour, reagent consumption of 80 mL per run and a waste volume of 280 mL per determination.

KEYWORDS: FIA, multicommutation, phosphorus, peracetic acid.

LISTAS DE ABREVIATURAS

STTP – Sodium Tripolyphosphate.

FIA – Flow Injection Analysis.

ATP – Adenosina Trifosfato.

CONAMA – Conselho Nacional do Meio Ambiente.

PTFE - Polytetrafluoroethylene .

CFA – Continuous Flow Analysis.

ICP OES – Inductively Coupled Plasma Optical Emission Spectroscopy.

APA – Ácido Peracético.

CIP – Clean In Place

SIA – Sequential Injection Analysis

MCFIA – Multicomutted Flow Analysis

MSFIA – Multisyringe Flow Injection Analysis

DPD - N,N-dietil-p-fenilenodiamina.

MTS - metil-p-toluiisulfeto.

MTSO - metil-p-toluiisulfoxido.

ABTS - 2,20-Azino-bis(3-ethylbenzothiazoline)-6-sulphate)

LD – Limite de detecção.

LISTA DE TABELAS

Tabela 1.1. Níveis dos fatores estudados | 38

Tabela 1.2. Níveis dos fatores estudados para digestão em forno de micro-ondas | 40

Tabela 1.3. Matriz de planejamento com os valores das respostas para a digestão em autoclave. | 42

Tabela 1.4. Efeitos principais e de interações entre as variáveis para a digestão em autoclave. | 43

Tabela 1.5. Matriz de planejamento com os valores das respostas para a digestão em forno de micro-ondas. | 44

Tabela 1.6. Efeitos principais e de interação para as variáveis estudadas na digestão em forno de micro-ondas. | 45

Tabela 1.7. Resultados do teste de recuperação para a determinação de fósforo em amostras de detergente em pó usando autoclave. | 46

Tabela 1.8. Comparação dos resultados obtidos na determinação de P (em %, m/m) através do preparo da amostra em autoclave e em forno de micro-ondas. | 47

Tabela 2.1. Composição mínima do produto Proxitane 1512 usado como fonte de APA. | 63

Tabela 2.2. Sequência de acionamento das minibombas solenóide para determinação de ácido peracético. | 67

Tabela 2.3. Comparação dos resultados de linearidade e coeficiente de correlação (R) para o estudo do efeito do volume de reagente. | 71

Tabela 2.4. Comparação dos resultados de linearidade e coeficiente de correlação (R²) para o estudo do efeito do volume de amostra. | 73

Tabela 2.5. Comparação das figuras de mérito do método proposto com o procedimento utilizando as ampolas Vacuvials® e com o método de referência. Na determinação de APA em solução de desinfetante. | **75**

Tabela 2.6. Concentração de ácido peracético (g L^{-1}) em amostras de distintos desinfetantes obtidos pelo método proposto (MCFIA) e o método de referência (GREENSPAN; MACKELLAR, 1948). | **76**

Tabela 2.7. Concentração do APA pelo método de adição de padrão e taxa de recuperação. | **78**

LISTA DE FIGURAS

Figura 1.1. Dispersão de uma amostra em fluxo. Adaptado de: <http://www.flowinjection.com/> | 34

Figura 1.2. Diagrama do sistema de análise em fluxo para determinação de fósforo. A: solução da amostra; L: alça de amostragem, 10 cm (50 μL); R1: solução de ácido ascórbico, vazão 1 mL min^{-1} ; R2: solução de molibdato de amônio com tartarato de potássio e antimônio, vazão 1 mL min^{-1} ; T: solução transportadora (água) vazão 2,3 mL min^{-1} ; B1: bobina de mistura dos reagentes; B2: bobina de mistura reagentes e analito, Δ : temperatura 37 $^{\circ}\text{C}$; λ : detecção em 880 nm; D: descarte. | 39

Figura 2.1. Ilustração da estratégia de amostragem binária. ● solução transportadora, ● solução de amostra, ● solução de reagente. | 61

Figura 2.2. a) Diagrama do sistema em fluxo multicomutado. P_1 , P_2 e P_3 : minibombas solenóide; A: amostra; R: solução do reagente; C: solução transportadora (H_2O); B: bobina de reação, 0,8 mm i.d., 100 cm; x: confluência; Det: detector, 565 nm; W: descarte. b) Representação da ordem de acionamento das minibombas solenóides t_1 , t_2 e t_3 representam P_1 , P_2 e P_3 , respectivamente. TA: tempo de amostragem; TL: tempo de detecção e limpeza. As áreas preenchidas indicam que a minibomba solenóide foi comutada na posição acionada. | 65

Figura 2.3. Efeito do volume de reagente no sinal de absorbância. Condições experimentais: 0,1s/0.1s (LIG/DES), comprimento da bobina de 100 cm, 40 μL de volume da amostra. Volume de reagente (μL): 8, 16, 24, 32 e 40. | 71

Figura 2.4. Efeito do volume da solução de amostra no sinal analítico. Condições experimentais: 0,1 s/0.1 s (LIG/DES), comprimento da bobina 100 cm. 16 μL de solução do reagente. Volume de amostra (μL): 8, 16, 40, 48 e 80. | 72

Figura 2.5. Efeito do número de pulsos para leitura e limpeza no sinal analítico. Condições experimentais: 0,1 s/0,1 s (LIG/DES), comprimento da bobina 100 cm. 16 μL de solução do reagente e 40 μL de solução do reagente. Número de pulsos: 50, 80, 100, 120 e 150. | 74

SUMÁRIO

Resumo

Abstract

Lista de abreviaturas

Lista de tabelas

Lista de figuras

CAPÍTULO 1

UTILIZAÇÃO DE PLANEJAMENTO FATORIAL NO PREPARO DE AMOSTRAS DE DETERGENTE EM PÓ PARA A DETERMINAÇÃO DE FÓSFORO POR ANÁLISE EM FLUXO

1.1.INTRODUÇÃO | 18

1.2.OBJETIVOS | 22

1.3.REVISÃO BIBLIOGRÁFICA | 23

1.3.1. Fósforo | 23

1.3.1.1. O fósforo no meio ambiente | 24

1.3.1.2. O fósforo em detergentes em pó | 25

1.3.1.3. Métodos para determinação de fósforo em diferentes
matrizes | 26

1.3.1.4. Preparo das amostras | 29

1.3.1.5. Análise em fluxo | 31

1.3.1.6. Quimiometria | 34

1.4. MATERIAIS E MÉTODOS | 37

1.4.1. Amostras | 37

1.4.2. Planejamento experimental para o preparo da amostra em autoclave e forno de micro-ondas | 37

1.4.3. Teste de Adição e Recuperação | 40

1.4.4. Determinação da Concentração de Fosfato em Amostras de Detergentes Utilizando Detecção Espectrofotométrica | 41

1.5. RESULTADOS E DISCUSSÃO | 42

1.5.1. Planejamento fatorial para avaliação das condições do preparo da amostra em autoclave e forno de micro-ondas | 42

1.5.2. Estudo da adição e recuperação | 46

1.5.3. Determinação da concentração de fosfato em amostras de detergentes utilizando detecção espectrofotométrica | 47

1.6. CONCLUSÕES | 49

CAPÍTULO 2

DETERMINAÇÃO DE ÁCIDO PERACÉTICO UTILIZANDO MULTICOMUTAÇÃO EM FLUXO.

2.1. INTRODUÇÃO | 51

2.2. OBJETIVOS | 54

2.3. REVISÃO BIBLIOGRÁFICA | 55

2.3.1. Utilização do ácido peracético | 55

2.3.2. Métodos de determinação do ácido peracético | 57

2.3.3. Análise em fluxo | 59

2.4. MATERIAIS E MÉTODOS | 63

2.4.1. Nota de segurança | 63

2.4.2. Reagentes e soluções | 63

2.4.3. Preparo das amostras | 64

2.4.4. Equipamentos e acessórios | 64

2.4.5. Descrição do procedimento em fluxo | 66

2.4.6. Efeito do volume do reagente | 68

2.4.7. Efeito do volume de amostra | 68

2.4.8. Efeito do comprimento da bobina de reação | 69

2.4.9. Efeito do número de pulsos para leitura e limpeza | 69

2.4.10. Figuras de mérito | 69

2.5. RESULTADOS E DISCUSSÃO | 70

2.5.1. Efeito do volume do reagente | 70

2.5.2. Efeito do volume de amostra | 73

2.5.3. Efeito do comprimento da bobina de reação | 73

2.5.4. Efeito do número de pulsos para leitura e limpeza. | 73

2.5.5. Figuras de Mérito. | 74

2.6. CONCLUSÕES | 78

2.7. PERSPECTIVAS FUTURAS | 79

REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS | 80

CAPÍTULO 1

UTILIZAÇÃO DE PLANEJAMENTO FATORIAL NO PREPARO DE AMOSTRAS DE DETERGENTE EM PÓ PARA A DETERMINAÇÃO DE FÓSFORO POR ANÁLISE EM FLUXO

1.1. INTRODUÇÃO

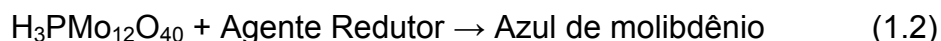
O fósforo se apresenta em diferentes formas químicas, fósforo inorgânico (ortofosfato e polifosfato) e fósforo orgânico (combinado com a matéria orgânica). No meio ambiente, quando em excesso, é um dos responsáveis pela eutrofização de lagos e rios, ou seja, provoca o enriquecimento da água com nutrientes que favorecem a proliferação de algas (BAIRD, 2002). Em decorrência deste crescimento exagerado das algas, outros seres que não dependem diretamente da disponibilidade de fosfato sofrerão redução de população por falta dos outros nutrientes.

Uma das formas de se introduzir fósforo no meio ambiente está relacionada com o uso de detergentes em pó, nos quais os fosfatos inorgânicos, na forma de tripolifosfato de sódio (STTP), fazem parte da composição. A principal função do STTP no detergente em pó é reagir com certos íons de metais como cálcio e magnésio para diminuir a dureza da água (OSIBANJO; AL-TAMRAH, 1984).

Há muitos anos, os detergentes em pó que são consumidos em grande parte da Europa Ocidental e em regiões industrializadas como América do Norte, Japão e Coreia do Sul, não contêm tripolifosfato de sódio. Na China, muitas regiões têm banido o uso de fosfato, um dos compostos utilizados como substituinte para o STTP são as zeólitas. Porém, os fosfatos permanecem como principal agente estruturante em detergentes de alto desempenho e ainda são encontrados nas Américas do Sul e Central, África, Leste Europeu e Ásia (KHANMOHAMMADI *et al.*, 2007). Então, é necessário que se tenha um método rápido e confiável para determinação do teor de fósforo em detergentes em pó. Uma técnica que apresenta estas características é a análise por injeção em fluxo (FIA), que consiste na inserção de uma pequena alíquota de amostra em um fluxo ao qual são adicionados os reagentes necessários, que após passarem por uma bobina de reação são encaminhados a um sistema de detecção. Um dos sistemas

de detecção mais comumente utilizados nos sistemas FIA é o espectrofotométrico (KALBERG; PACEY, 1989).

A determinação colorimétrica de fósforo pode ser realizada utilizando-se o método espectrofotométrico do azul de molibdênio. Este consiste na reação de íons ortofosfato com molibdato de amônio para formar o heteropoliácido 12-molibdofosfórico (Eq. 1.1), que após sofrer redução (Eq. 1.2) fornece um composto colorido de estequiometria desconhecida que pode ser detectado a 880 nm. Como redutores podem ser utilizados: a hidrazina, o cloreto estanhoso ou o ácido ascórbico na presença do catalisador tartarato de antimônio e potássio hemi-hidratado ($C_4H_4KO_7Sb.1/2H_2O$) (PESSOA NETO, 2006; APHA, 1998; DRUMMOND; MAHER, 1995)



Para que a concentração de fósforo em uma amostra seja determinada, pelo método espectrofotométrico do azul de molibdênio, é necessário que o mesmo seja convertido à forma de ortofosfato, então, é necessário realizar previamente o preparo da amostra.

O preparo da amostra é uma etapa importante para o desenvolvimento de uma análise química, pois, se inadequadamente empregado, pode ser uma fonte de erros e assim, levar a rejeição do emprego de uma determinada técnica analítica.

Nos últimos anos, diferentes métodos de preparo têm sido realizados em amostras para determinação de fósforo. Os quais envolvem autoclave, forno micro-ondas doméstico e comercial, mufla, biodigestor e termoreator (PAIM *et al.*, 2004; DALLAGO *et al.*, 2006; NAKATANI *et al.*, 2008).

O procedimento clássico para a determinação de fósforo consiste em um método gravimétrico (LONGMAN, 1975). Apresentam desvantagens por serem mais susceptíveis a erros, morosos e pouco sensíveis. Esses fatores

são contrários aos objetivos da química analítica moderna que busca o processamento rápido das informações associado a procedimentos simples e confiáveis (GRASSI, 2004). Então, buscou-se uma técnica que pudesse abreviar o tempo de análise sem comprometer a precisão e a exatidão dos resultados.

A análise química por injeção em fluxo (do inglês, Flow Injection Analysis, FIA) foi proposta em 1975 (RUZICKA; HANSEN, 1975). O sistema consiste na inserção das soluções de amostra e de reagente em um fluido carregador que transporta a mesma para o detector (REIS, 1996). É considerada uma poderosa ferramenta para análise de rotina em larga escala, apresentando baixo custo operacional e elevada frequência de amostragem (RUZICKA; HANSEN, 1975).

Encontram-se na literatura vários trabalhos envolvendo análise em fluxo para determinação de diferentes analitos, tais como, fósforo (KRONKA *et al.*, 1996; NAKAMURA *et al.*, 2003; ESTELA; CERDÀ, 2005; LIANG *et al.*, 2007), nitrato e nitrito (BURAKHAM *et al.*, 2004; BAEZA *et al.*, 2006; DEYONG HE; YING HUANG, 2007), cloretos e cloro (SAAD *et al.*, 2005, BORGES; REIS, 2007), ferro (REIS *et al.* 1994; LAEËS *et al.*, 2005; PÁSCOA *et al.*, 2009), iodeto e iodato (MUTIC *et al.*, 2007; BORGES *et al.*, 2010), níquel (VIEIRA *et al.*, 2006), metais pesados (FARAJI *et al.*, 2010) surfactantes (LAVORANTE *et al.*, 2007) entre outros.

A quimiometria tem se mostrado uma poderosa ferramenta para a química analítica. Como por exemplo, para determinar os fatores (concentração de reagente, temperatura, pH, etc.) que afetam uma reação química pode ser feita uma investigação de modo univariado, isto é, fixam-se os valores dos fatores variando apenas um fator de cada vez, ou pode-se realizar um planejamento fatorial. Neste caso, devem-se variar todos os fatores ao mesmo tempo. No planejamento fatorial completo são realizados experimentos com todas as possíveis combinações dos valores dos fatores. Uma vantagem de se utilizar o modo multivariado é poder identificar as interações entre os fatores (BARROS NETO, 2003).

Neste trabalho foram avaliadas duas metodologias de preparo de amostra de detergente em pó: autoclave e forno de micro-ondas com cavidade. Buscando estabelecer as melhores condições experimentais foram realizados três planejamentos fatoriais, nos quais variaram-se as condições da digestão em autoclave, da digestão em micro-ondas e dos parâmetros do sistema em fluxo para determinação de fósforo. Após estabelecer as melhores condições experimentais, determinou-se a concentração de fósforo em detergentes em pó de larga comercialização e de diferentes fabricantes a fim de verificar se as mesmas estão atendendo aos valores especificados na legislação do CONAMA, resolução 359 (Brasil, 2005).

1.2. OBJETIVOS

Geral

- Avaliar o preparo de amostras para determinação de fósforo em detergente em pó e posterior quantificação de fósforo empregando sistema de análise em fluxo.

Específicos

- Avaliar a utilização de forno de micro-ondas e de autoclave para digerir as amostras;
- Avaliar as condições de operação do forno de micro-ondas e a concentração das soluções de molibdato e de ácido ascórbico empregadas no sistema em fluxo, utilizando planejamento fatorial;
- Determinar fósforo nas amostras de detergente e verificar se estão nos níveis estabelecidos pela legislação vigente.

1.3. REVISÃO BIBLIOGRÁFICA

1.3.1. FÓSFORO

Na natureza, o fósforo é geralmente encontrado na forma de minerais fosfatados, como a apatita ($\text{Ca}_5(\text{PO}_4)_3\text{X}$, onde X pode ser: F, OH ou Cl), wavelita ($\text{Al}_3(\text{PO}_4)_2(\text{OH})_3 \cdot 5\text{H}_2\text{O}$) e vivianita ($\text{Fe}_3(\text{PO}_4)_2 \cdot 8\text{H}_2\text{O}$) (PEIXOTO, 2002). Possui três formas alotrópicas: o fósforo vermelho, o branco e o negro, que se diferenciam na aparência e na reatividade, sendo o fósforo branco a forma alotrópica mais reativa e o fósforo negro, a forma menos reativa (MAHAN, MEYERS, 2002).

A principal fonte de interesse comercial é a fosforita, ou rocha fosfatada, que é uma mistura de *apatita* com carbonatos. A partir da rocha fosfatada é produzido o superfosfato de grande utilização como fertilizante. O fósforo elementar pode ser preparado a partir do aquecimento da rocha de fosfato natural com coque e sílica, neste processo o fósforo é transformado em vapor, juntamente com monóxido de carbono. Ao condensar o vapor obtém-se o fósforo líquido ou sólido que deve ser isolado do oxigênio atmosférico para que não entre em combustão. O ácido fosfórico pode ser obtido a partir do fósforo elementar ou a partir da apatita (PEIXOTO, 2002). Porém, com a crescente demanda na utilização deste mineral estima-se que dentro de 50 a 100 anos as reservas de fósforo estejam extintas (BORTOLON, 2009).

No organismo humano, pode ser encontrado o fósforo em fluidos intracelulares, como constituinte da molécula do DNA; nos dentes e ossos na forma de hidroxiapatita; bem como nas moléculas de adenosina trifosfato (ATP) e adenosina difosfato (ADP), fazendo parte do ciclo energético (PEIXOTO, 2002).

Compostos sintéticos de fósforo são utilizados em detergentes e produtos de limpeza com a função de emulsionante de graxas e gorduras ou diminuindo a dureza da água.

1.3.1.1. O Fósforo no Meio Ambiente

Fósforo é um nutriente essencial para os organismos vivos e pode ser encontrado no solo, em águas naturais, em sedimentos e nos organismos vivos, porém, se ele estiver em excesso em rios e lagos, pode acontecer um fenômeno chamado de eutrofização (BAIRD, 2002; HUANG; ZHANG, 2009). A eutrofização é o crescimento excessivo de algas causado pela grande oferta de nutrientes (ESTELA; CERDÀ, 2005). Isto ocorre porque nas águas de rios e lagos já existe uma grande quantidade de nutrientes dissolvidos e o fósforo é um agente limitante do crescimento das algas.

Quanto maior a introdução de fósforo maior será o crescimento das algas que ao morrer demanda uma grande quantidade de oxigênio para sua decomposição. Diminuindo o oxigênio dissolvido os peixes são imediatamente afetados (BAIRD, 2002).

Segundo Baird (2002), a introdução de fósforo no meio ambiente pelo homem pode ser feita, principalmente, de três maneiras: através do tripolifosfato de sódio presente em detergentes em pó, pelo esgoto não tratado das cidades e pelo escoamento de fazendas que utilizam fertilizantes a base de fosfatos

Baird (2002) afirma que os detergentes superfosfatados empregados em larga escala para uso doméstico eram a principal maneira pela qual fósforo era introduzido nos corpos hídricos. Ele cita ainda que ao se decidir reverter a degradação dos constituintes presentes na água do Lago Erie (13º maior lago do planeta, localizado entre o Canadá e os EUA), as autoridades decidiram, entre outras medidas, que seria necessário uma redução no teor de polifosfatos presentes nos detergentes em pó.

Algas em grande quantidade podem levar ao excesso de matéria orgânica na água que quando clorada formará produtos cancerígenos, como por exemplo, os organoclorados (CARMOUZE, 1994). O excesso de fosfatos é um problema atual que já atingiu rios, lagos e reservatórios de algumas cidades brasileiras. Como exemplo pode ser citado o caso ocorrido no Lago Paranoá (Brasília, DF) o qual foi formado em 1959, recebia o esgoto doméstico da cidade, despejo de matadouros clandestinos e fontes difusas

de fósforo. Como consequência deste processo de eutrofização, ocorreu o maior desastre ecológico do Lago no final da década de 1970, um “bloom” de cianobactéria *Microcystis aeruginosa*, causando grande mortandade de peixes. O fenômeno se repetiu na década de 1980, quando então foram tomadas várias medidas para diminuir o aporte de fósforo e nitrogênio no Lago (ANGELINI, 2008).

As toxinas liberadas (microcistina) pelas cianobactérias foram responsáveis pela tragédia que ocorreu em Caruaru, Pernambuco. O sistema de tratamento convencional utilizado não foi capaz de detectar e remover esta toxina da água utilizada para o tratamento de hemodiálise. Foram contaminadas mais de 50 pessoas, muitas chegando a falecer, pois a microcistina tem ação hepatotóxica e sua ação foi potencializada pois não foi ingerida, ela foi introduzida diretamente na corrente sanguínea. (SANCHES *et al.*, 2007)

1.3.1.2 O fósforo em detergentes em pó

Até a Primeira Guerra Mundial, produtos de lavanderia eram constituídos, principalmente de sabões produzidos a partir de gordura animal. Os primeiros detergentes sintéticos foram fabricados na Alemanha, durante a Segunda Guerra Mundial, quando houve escassez de gordura animal. O primeiro agente estruturante (do inglês, builder) utilizado em detergente em pó foi o difosfato de sódio, que foi substituído posteriormente pelo tripolifosfato de sódio (SHOWELL, 1998).

O detergente em pó é uma matriz complexa que contém mais de 25 componentes diferentes, os quais podem ser classificados em quatro grandes grupos: surfactantes, estruturantes, agentes de branqueamento e agentes auxiliares (KHANMOHAMMADI *et al.*, 2007).

A fonte de fósforo em detergente em pó é o tripolifosfato de sódio (STPP) cuja fórmula é $\text{Na}_5\text{P}_3\text{O}_{10}$. O STPP faz parte do grupo dos estruturantes (KHANMOHAMMADI *et al.*, 2007).

Com o aumento da preocupação sobre o impacto ambiental causado pelo fósforo, a indústria começou a fazer a sua substituição por outros agentes estruturantes, como por exemplo, as zeólitas.

Porém, fazer um detergente livre de fósforo não é uma tarefa fácil, pois além de sua função estruturante ele desempenha outras funções críticas para o desempenho do detergente em pó, evitar que a sujeira removida volte a se depositar na superfície limpa.

A resolução CONAMA 359/05 dispõe sobre a regulamentação do teor de fósforo em detergentes em pó para o uso no mercado nacional visando à redução e eventual eliminação do aporte de fósforo nos corpos de água. Nesta resolução ficou estabelecido, a partir do ano de 2008, o teor máximo de 4,8 % (m/m) de fósforo por formulação. Com isso, torna-se importante determinar a concentração de fósforo em amostras de detergentes em pó, visto que estes produtos aparecem em águas naturais devido principalmente, às descargas de esgotos sanitários (BRASIL, 2005).

A concentração do fósforo em águas residuárias de lavanderia pode ser até nove vezes maior que o valor de referência e o consumo de água no processo total pode chegar a 5 L kg⁻¹ de roupa lavada (SOSTAR-TURK *et al.*, 2005).

Observa-se na literatura que a maior parte dos procedimentos para determinação de fósforo tem como matriz a água (LIANG *et al.*, 2007; KORN *et al.*, 2002; JOHTNSON, PETTY, 1982), poucos são os trabalhos que o analisa em detergentes em pó (ELLIOTT; MOSTYN, 1971; JING-FU; GUI-BIN, 2000; KHANMOHAMMADI *et al.*, 2007).

1.3.1.3 Métodos para determinação de fósforo em diferentes matrizes

Ruzicka e Hansen (1975), em seu primeiro trabalho envolvendo análise por injeção em fluxo (FIA), desenvolveram um procedimento para determinação de fosfato utilizando a reação com o amarelo de molibdênio, que servia como um modelo simples e rápido de determinação colorimétrica e também com o azul de molibdênio, que consistia em uma reação mais

elaborada e demorada. Quando se utilizou o método do amarelo de molibdênio o comprimento de onda utilizado foi de 362 nm, vazão de fluido carregador de 18 mL min⁻¹, a concentração de fósforo nas amostras variou de 5 a 30 µg mL⁻¹, o sistema mostrou boa reprodutibilidade com boa frequência analítica. Para o procedimento que utilizava o azul de molibdênio as medidas eram realizadas no comprimento de onda de 600 nm, as bobinas de mistura mediam 2,5 m e a vazão do fluido carregador também era de 18 mL min⁻¹. No citado trabalho, determinou-se a concentração de fosfato em plantas, pelo método do azul de molibdênio, obtendo-se uma frequência analítica de 220 amostras por hora com uma boa medida de precisão, em torno de 1 a 2 %.

Osibanjo *et al.* (1984) determinaram a concentração de ortofosfato em detergentes utilizando espectroscopia de emissão. O método proposto mostrou ser preciso e razoavelmente rápido, não necessitando de uma pré-hidrólise da amostra. Porém esta é uma técnica que necessita de gás para alimentar a chama e uma lâmpada própria para determinação do fósforo, isto torna a técnica mais onerosa quando comparada ao método espectrofotométrico.

Kronka *et al.* (1996) propuseram um método para determinação de fósforo e amônio em plantas digeridas em meio ácido utilizando amostragem binária e multicomutação. Para determinação de fósforo foi utilizado o método de azul de molibdênio onde as melhores concentrações de trabalho dos reagentes foram solução 1% (m/v) molibdato de amônio e de 5% (m/v) ácido ascórbico. As determinações de amônio foram feitas pelo método do azul de indofenol. Um problema enfrentado pelos pesquisadores foi o fato da determinação de amônio necessitar de um meio básico e a determinação do fósforo ser em meio ácido. Isto foi resolvido utilizando solução de hidróxido de sódio como carregador, porém para a determinação do fósforo a mistura entre o analito e os reagentes era demorada o suficiente para permitir que a parte central da amostra estivesse suficientemente ácida para a determinação.

Um sistema FIA, para determinação de ortofosfato e fosfatos inorgânicos totais em detergentes, foi proposto por Jing-fu e Gui-bin (2000), utilizando o

método do azul de molibdênio. Neste sistema, a digestão foi realizada em linha utilizando-se um aquecedor elétrico e em seguida a solução era resfriada e passava por um desborbulhador. Depois deste processo, eram adicionadas as soluções dos reagentes e a mistura era enviada para o detector e monitorada a 660 nm. Amostras de detergentes foram analisadas pelo método proposto e os resultados obtidos foram comparados com o método padrão citado no trabalho. Verificou-se que os erros obtidos para a determinação do teor de P_2O_5 eram relativamente elevados, enquanto que para o teor de ortofosfato, os valores eram aceitáveis.

Maher *et al.* (2002) determinaram o teor de fósforo total e nitrogênio em amostras de águas de rios e lagos da Austrália utilizando adição de peroxidissulfato de potássio como oxidante nos três métodos de preparo de amostra: radiação micro-ondas, autoclave e vasos fechados em um banho de água quente. Foi observado que não havia diferença significativa entre os três métodos de preparo da amostra. Porém, quando eram analisadas amostras com alto teor de sólidos em suspensão, os teores de fósforo e nitrogênio eram subestimados em todos os casos.

Khanmohammadi *et al.* (2007) propuseram um método para determinação simultânea de tripolifosfato de sódio (STTP), sulfato de sódio e alquilbenzenossulfonato linear em amostras de detergente em pó utilizando espectroscopia de infravermelho com transformada de Fourier e reflectância total atenuada. Neste método não foi necessário um pré-tratamento das amostras, apenas a sua dissolução em um solvente que não fosse reagir com o detergente e que também não interferisse na região espectral do analito. Entretanto, trata-se de um método que requer equipamento de elevado custo e posterior tratamento de dados para que se possa retirar a informação analítica dos espectros obtidos.

Nakatani *et al.* (2008) determinaram, simultaneamente, fosfato e silicato nas águas do rio Kurose, na cidade de Higashi-Hiroshima, Japão. Foi utilizada a técnica de cromatografia de exclusão iônica para separar os íons e uma pós-coluna de derivação química, assim como o método de azul de molibdênio com detecção espectrofotométrica para determinação dos íons fosfato. Somente o fosfato livre na água é determinado por este método, pois

as amostras não passam por nenhum tipo de digestão. Para determinar fósforo na amostra, independente da forma como ele se apresente, devem-se utilizar métodos de preparo de amostra para que todo fósforo presente seja convertido para a forma de ortofosfato.

Pode-se observar que a determinação de fósforo através do método do azul de molibdênio é um método já consolidado e que pode ser utilizado para determinações em diferentes matrizes.

1.3.2. PREPARO DAS AMOSTRAS

Em alguns casos, para que se possa quantificar um determinado analito de forma precisa e exata, é necessário um pré-tratamento da amostra para que espécies possam ser convertidas em formas detectáveis (CAVICCHIOLI; GUTZ, 2003).

Deve-se ter o cuidado de se utilizar reagentes químicos de alta pureza, bem como escolher a técnica de preparação adequada ao método para que esta etapa não altere a precisão e a exatidão dos resultados, pois como foi observado por Dallago *et al.* (2006), a etapa de preparo da amostra é um fator que influencia na resposta analítica.

Algumas nomenclaturas são empregadas para especificar o tipo de preparo de amostra que está sendo utilizado (KRUG, 2008), como por exemplo:

- Abertura: é utilizado quando se deseja converter uma amostra sólida em outra forma sólida (com transformação química) de modo que ela seja mais facilmente solubilizada em água;
- Dissolução: a amostra é dissolvida em um líquido adequado, envolvendo ou não reação química. O termo digestão, empregado para materiais orgânicos, também é utilizado, indiscriminadamente, para decomposição de outros materiais.

A maioria dos procedimentos de dissolução de amostras inorgânicas pode ser agrupada em métodos baseados na:

- Dissolução direta em água ou solução aquosa sem mudança química;
- Dissolução em ácido, ou mistura de ácidos, com mudança química;
- Dissolução após fusão da amostra com fundente apropriado.

Reações de hidrólise são largamente utilizadas em Química Analítica para converter os analitos em formas detectáveis, alguns estudos analíticos têm sido reportados buscando aceleração da velocidade dessas reações (CASTRO; PRIEGO-CAPOTE, 2007).

O início da utilização de radiação de micro-ondas para decomposição de amostras se deu em 1975. Nesta época, fornos de micro-ondas domésticos foram utilizados para decomposição de tecidos vegetais e animais em frascos abertos, apesar de não serem apropriados por deixar escapar vapores. Nos anos 1980 não houve um grande número de publicações envolvendo esse tipo de radiação no preparo de amostras, só em meados de 1990 houve um aumento significativo na utilização desta técnica para preparo de amostras, bem como para fins extrativos em análises orgânicas (KRUG, 2008).

A radiação micro-ondas tem sido muito utilizada no preparo de amostras de diferentes matrizes. Os procedimentos de digestão podem empregar sistemas abertos ou fechados (NÓBREGA *et al.*, 2002) e podem ser utilizados em batelada ou com sistemas de fluxo acoplados (ARRUDA; SANTELLI, 1997; BURGUERA *et al.*, 2002; FILI *et al.*, 2003). Essa técnica apresenta como vantagens alta eficiência no aquecimento da mistura reacional, sem alterar a estrutura dos íons e/ou moléculas e reduzido tempo da digestão causado pelo controle da potência do forno (ARRUDA; SANTELLI, 1997).

Costa *et al.* (2006) utilizaram um forno de micro-ondas de radiação focalizada na etapa de preparo da amostra para determinação de metais em amostra de feijão comum. A radiação micro-ondas foi usada com o objetivo de diminuir o tempo de decomposição e também o sinal do branco analítico, uma vez que se consumiu menor volume de ácido. A baixa acidez das amostras digeridas também proporcionou um menor fator de diluição bem

como a introdução direta das soluções no espectrômetro, o que aumenta a probabilidade de detecção dos elementos.

O procedimento sugerido por Paim *et al.* (2004) para determinação de fósforo em amostras de águas residuárias envolve o uso de solução de ácido sulfúrico e persulfato de potássio para digerir as amostras, com posterior aquecimento em autoclave ou forno de micro-ondas doméstico. O ácido sulfúrico é empregado para converter os polifosfatos em fosfatos enquanto que o persulfato de potássio converte as formas orgânicas de fósforo em fosfato.

Um sistema automático em fluxo foi utilizado por Quaresma *et al.* (2004) para determinação de ferro em amostras de rochas de silicato, a dissolução do material foi feita em linha, utilizando-se um reator de politetrafluoroetileno (PTFE) colocado na cavidade de um forno de micro-ondas de radiação focalizada, após o tempo necessário para dissolução, o material era levado para um espectrômetro de absorção atômica para realizar as quantificações.

1.3.3. ANÁLISE EM FLUXO

O trabalho de Skeggs em 1957 é o pioneiro na utilização de determinações analíticas em fluxo. Nesta época, exames laboratoriais estavam sendo mais requisitados para fins de diagnósticos, então havia a necessidade de obter estes resultados de forma confiável e que pudesse ser feito em um menor intervalo de tempo.

O método proposto por Skeggs foi chamado de Análise em Fluxo Contínuo (do inglês, Continuous Flow Analysis - CFA), que consistia na inserção, em fluxo, das soluções da amostra e dos reagentes, seguidos por bolhas de ar e segmentos de água que eram introduzidos no sistema após inserção de soluções das amostras. A água, além de separar uma amostra da outra, também tinha a função de limpar o percurso analítico para não haver contaminação. As bolhas de ar além de evitar a dispersão do analitos e dos reagentes em água também propiciavam uma turbulência benéfica para a mistura da amostra com os reagentes. Porém, a presença de bolhas

também causava alguns inconvenientes como, o fluxo pulsado devido a sua compressibilidade e a necessidade de mais uma etapa, visto que a sua retirada antes da amostra atingir o detector era requerida. Neste método, havia a necessidade de esperar que a reação atingisse o equilíbrio antes de ir para o detector. Então a análise em fluxo começou a se desenvolver para superar estes inconvenientes (CERDÀ, E.; CERDÀ, V.; 2009).

Ruzicka e Hansen (1975) propuseram a análise por injeção em fluxo (FIA) visando a automatização de procedimentos analíticos. Neste sistema, a solução da amostra era injetada no percurso analítico com uma seringa hipodérmica que perfurava com a agulha um septo de borracha colocado em um dispositivo que foi chamado de injetor. Neste sistema não havia a necessidade de esperar a reação entrar em equilíbrio. A grande aceitação desse sistema se deve à simplicidade da instrumentação e à versatilidade do módulo de análise, possibilitando a implementação de procedimentos analíticos automáticos utilizando instrumentos de baixo custo. Entretanto, com esse dispositivo, reprodutibilidade dos resultados era afetada pela precisão na seleção das alíquotas de amostra e por alterações na vazão. Assim, os resultados eram dependentes da experiência do operador (REIS; BERGAMIN FILHO, 1993).

Os principais componentes de um sistema de análise em fluxo são: unidade de propulsão dos fluidos, dispositivo para injeção das soluções da amostra e dos reagentes no fluxo e um sistema de detecção.

Para realizar a propulsão dos fluidos, de acordo com a aplicação, podem ser utilizados frascos pressurizados, bombas de pistão, ação gravitacional, bombas peristálticas e bombas seringa.

A bomba peristáltica foi a que mais se difundiu em sistemas FIA, funciona girando um eixo ao qual estão acoplados cilindros, quando o eixo gira os cilindros comprimem tubos flexíveis de Tygon, que possuem tubos de PVC acoplados nas extremidades e uma destas extremidades está imersa em um recipiente contendo o líquido a ser propulsionado. Diferentes soluções são bombeadas por canais distintos. A velocidade do fluido pode ser controlada por duas maneiras: ou pela velocidade de giro do cilindro ou

pelo diâmetro do tubo de Tygon utilizado. Entretanto uma desvantagem ao se empregar bomba peristáltica, é que o fluxo do fluido não está livre de pulsação, além disso, os tubos de Tygon não devem ser utilizados com soluções muito ácidas ou básicas nem com solventes orgânicos.(KARLBERG; PACEY, 1989)

O primeiro artefato utilizado para inserir a amostra no fluxo e que deu nome à técnica foi a seringa hipodérmica. A reprodutibilidade com este tipo de artefato era seriamente afetada, pois dependia muito da habilidade e do modo como o analista procedia a inserção.

A reprodutibilidade do sistema FIA solucionada com o advento da válvula rotatória (REIS; BERGAMIN FILHO, 1993) e do injetor proporcional por Bergamin *et al.* (1989) pois trouxe maior estabilidade para o sistema FIA. Com a evolução das pesquisas utilizando sistemas em fluxo surgiram as válvulas de 6 vias, o injetor-comutador e as válvulas solenóides de três vias. As válvulas solenoides de três vias possibilitou o desenvolvimento de módulos de análises mais versáteis dando origem ao conceito de multicomutação e amostragem binária. (REIS, BERGAMIN, 1993; PAIM *et al.*, 1998; KARLBERG; PACEY, 1989).

Pode-se utilizar diversos sistemas de detecção acoplados ao FIA dentre eles: detectores eletroquímicos (voltametria, potenciometria, amperometria), detectores de luminescência (fluorescência, fosforescência, bioluminescência, quimioluminescência) e espectrofotométricos (KARLBERG; PACEY, 1989).

A primeira geração da técnica FIA, a forma mais simples utilizada, conforme já mencionado, consistia na inserção de uma alíquota de amostra em um fluxo onde o carregador era o próprio reagente. Ao percorrer o caminho analítico a amostra sofre dispersão e se mistura com o reagente, como pode ser visto na Figura 1.1.

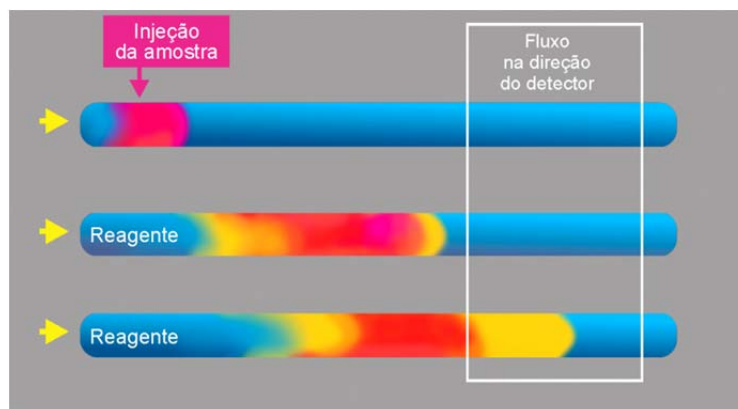


Figura 1.1 Dispersão de uma amostra em fluxo. Adaptado de:
<http://www.flowinjection.com/> acessado em 02/08/2010

Entre as vantagens da injeção em fluxo estão: a economia de reagentes, a minimização de contaminações e a alta frequência analítica (REIS, 1994). Para melhorar o desempenho dos sistemas FIA, uma série de alterações do conceito original foram propostas, tais como, melhor homogeneização entre soluções de amostra e reagente utilizando a adição de reagentes por confluência, podendo utilizar outro fluido como carregador, o que proporcionou uma maior economia de reagentes.

A economia de reagentes, a menor manipulação das amostras pelo analista e a redução no tempo de análise fazem da análise em fluxo uma técnica muito interessante para determinação de fósforo em diferentes tipos de amostras.

1.3.4. QUIMIOMETRIA

Pode-se dizer, em um sentido amplo, que a junção da química com a estatística começou com os trabalhos de Student. Porém, formalmente começou na primeira metade dos anos 1970, sendo que sua aplicação só se firmou com a utilização de microcomputadores nos laboratórios (BARROS NETO *et al.*, 2006).

Permitir visualizar a importância de diferentes parâmetros, bem como de suas possíveis interações, podendo variar em cada experimento todos os

parâmetros simultaneamente, é o que torna o planejamento fatorial uma ferramenta poderosa para a química analítica (BARROS NETO *et al.*, 2003).

O planejamento fatorial é uma ferramenta estatística que permite determinar se as variáveis escolhidas para serem estudadas em um sistema têm ou não influência sobre a resposta desse sistema. Permite, também, avaliar e quantificar o nível dessa influência e a existência de interação entre as variáveis.

Chama-se de fator, qualquer parâmetro que afete o resultado experimental, pode ser quantitativo ou qualitativo. Cada experimento pode ser feito por uma combinação de fatores, que podem estar no seu nível superior ou inferior. Chama-se de resposta, o resultado obtido em cada experimento resultante da combinação de fatores. Ocorre uma interação quando os efeitos de dois ou mais fatores não são aditivos (MENDHAM *et al.*, 2002). Podemos calcular o efeito principal de um fator através da seguinte equação (1.3):

$$T = \bar{Y}_+ - \bar{Y}_- \quad (1.3)$$

Onde o efeito principal T é a diferença entre a resposta média no nível superior ($\bar{Y}_+$) e a resposta média no nível inferior ($\bar{Y}_-$). Podemos dizer que cada efeito é calculado pela diferença de duas médias, independente se o efeito calculado é de um fator ou de uma interação de fatores e que todas as respostas obtidas são sempre utilizadas (BARROS NETO *et al.*, 2003).

Pode-se associar o planejamento fatorial tanto na parte de pré-tratamento da amostra (digestão) quanto na escolha da quantidade de reagentes utilizada na quantificação. Isto contribui para que seja possível tirar informações dos fatores que afetam o sistema, bem como reduzir o trabalho laboratorial (COSTA *et al.*, 2006).

Encontram-se, na literatura, trabalhos que mostram a utilização de planejamento fatorial em pesquisas voltadas para a área de química analítica.

Costa *et al.* (2006) desenvolveram um planejamento fatorial 2^3 para otimização do programa de digestão de amostras de feijão em forno de

micro-ondas com radiação focalizada. Foram determinados: Ca, Fe, Mg, Mn e Zn por Espectrometria de emissão ótica com plasma indutivamente acoplado (do inglês, Inductively Coupled Plasma Optical Emission Spectroscopy - ICP OES). Os parâmetros e as interações que se mostraram significativos foram diferentes dependendo do metal em estudo.

Para determinar arsênio em rochas de fosfato, que são utilizadas na produção de fertilizantes, Macedo *et al.* (2009) utilizaram um método que envolvia amostragem por suspensão e espectrometria de absorção atômica com geração de hidreto. Eles utilizaram o planejamento fatorial em dois níveis para determinar se alguns fatores, da etapa de geração de hidreto, eram significativos. Foram avaliados: a taxa de fluxo de NaBH_4 (FRB), a concentração de NaBH_4 ($[\text{BH}_4]$) e a concentração de ácido clorídrico ($[\text{HCl}]$). Pôde-se observar que FRB e $[\text{BH}_4]$ eram significativos, enquanto que a $[\text{HCl}]$ não era.

Neste trabalho foi proposto um processo preparo de amostras de detergentes em pó, determinando as condições para que todas as formas de fósforo sejam convertidas em ortofosfato. Para tanto, foram avaliadas duas metodologias diferentes de preparo de amostra, autoclave e forno de micro-ondas. Posteriormente, foram realizadas as análises de fósforo empregando um sistema FIA. As concentrações de fósforo em detergentes em pó de larga comercialização e de diferentes fabricantes foram determinadas a fim de verificar se as mesmas estão atendendo aos valores especificados na legislação.

1.4. MATERIAIS E MÉTODOS

1.4.1. AMOSTRAS

As amostras de detergente em pó foram adquiridas no comércio de Recife. As amostras (500 g) foram homogeneizadas e passaram por um processo de quarteamento (em um quarteador tipo Jones). Em seguida uma porção da amostra foi seca e moída em almofariz com pistilo para uniformizar as diferentes granulações.

1.4.2. PLANEJAMENTO EXPERIMENTAL PARA O PREPARO DA AMOSTRA EM AUTOCLAVE E FORNO DE MICRO-ONDAS

Para avaliar o processo de preparo de amostra de detergente em pó, foram comparados dois procedimentos de digestão: em autoclave (autoclave vertical Phoenix, modelo AV – 75) e em forno de micro-ondas com cavidade (Provecto Analítica, modelo DGT 100 Plus). Inicialmente, trabalhou-se com soluções de STPP de concentração conhecida.

Na avaliação da determinação de fósforo em sistema de análise em fluxo com o preparo de amostra envolvendo autoclave, os fatores estudados foram o volume do ácido sulfúrico (S), a concentração da solução de molibdato de amônio (M) e da solução de ácido ascórbico (A). A concentração analisada foi de 8 mg L⁻¹ de fosfato.

Para isso, foi delineado e executado um planejamento fatorial 2³ completo acrescido de 7 repetições no ponto central, totalizando 15 ensaios, parcialmente aleatórios. Os níveis superior e inferior dos fatores estudados (Tabela 1.1) foram, respectivamente, volume do ácido sulfúrico (S) 0,6 e 0,2 mL, concentração da solução de molibdato de amônio (M) 32 e 16 mmol L⁻¹ e da solução de ácido ascórbico (A) 340 e 60 mmol L⁻¹. Utilizou-se como resposta o retorno percentual, que é definido como a razão entre a concentração encontrada e a concentração da solução preparada multiplicada por 100.

Tabela 1.1. Níveis dos fatores estudados

Fator	Níveis		
	+	-	0
solução de molibdato de amônio (mmol L^{-1})	32	16	24
volume do ácido sulfúrico (mL)	0,6	0,2	0,4
concentração do ácido ascórbico (mmol L^{-1})	340	60	200

A solução para digestão foi preparada pesando-se 31,66 mg do STPP (8 mg de P L^{-1}) dissolvendo-o em um béquer de 250 mL, em seguida transferiu-se o conteúdo para um balão volumétrico de 1000 mL e completou-se o volume com água destilada. Foram retiradas alíquotas de 10 mL desta solução e transferidas para tubos de vidro rosqueados com capacidade interna de 20 mL e em seguida, foram adicionados aos tubos diferentes volumes do ácido sulfúrico $5,4 \text{ mol L}^{-1}$.

Para a digestão das amostras, os tubos foram devidamente fechados e colocados em uma autoclave com pressão interna de 1 kgf cm^{-2} durante o intervalo de tempo de uma hora.

Após serem digeridas, as amostras de STPP foram analisadas em um sistema de análise por injeção em fluxo. Este sistema (Figura 1.2) é constituído por injetor comutador de acrílico, bomba peristáltica (Bomba peristáltica Ismatec, mod. IPC-4), banho termostatzado (marca Quimis, mod. Q-218-2), espectrofotômetro (marca Femto, mod. 432) equipado com cela de fluxo de 1,0 cm de caminho ótico, tubos de Tygon de diferentes diâmetros, tubos de polietileno e confluências de acrílico. As soluções de ácido ascórbico e do molibdato de amônio com tartarato de potássio e antimônio eram propulsionadas através dos tubos R1 e R2 e se misturam na bobina B1, a amostra é inserida no fluxo pela alça de amostragem e é conduzida pelo carregador, a amostra e os reagentes se misturam por confluência e seguem para a bobina B2, que se encontra em um banho com temperatura de 37°C ,

e posteriormente para a detecção a 880 nm. Depois a mistura vai para o descarte.

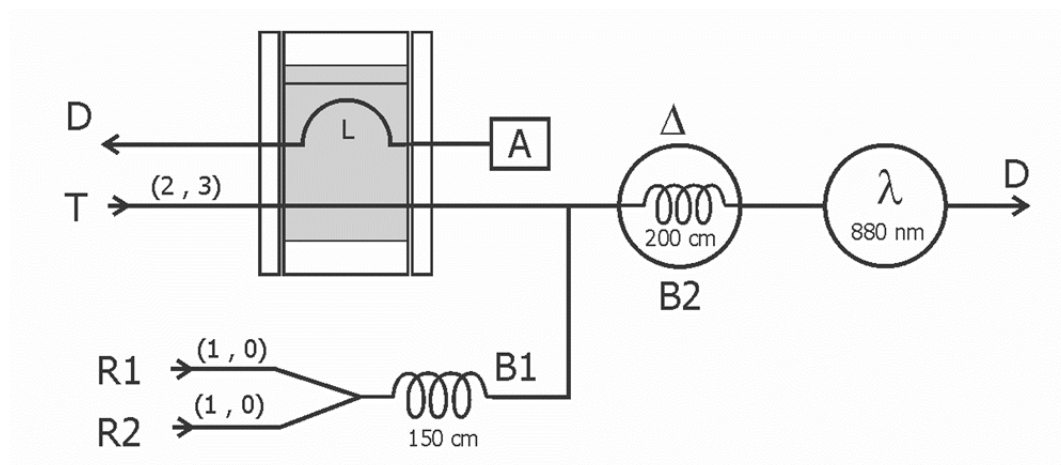


Figura 1.2. Diagrama do sistema de análise em fluxo para determinação de fósforo. A: solução da amostra; L: alça de amostragem, 10 cm (50 μ L); R1: solução de ácido ascórbico, vazão 1 mL min⁻¹; R2: solução de molibdato de amônio com tartarato de potássio e antimônio, vazão 1 mL min⁻¹; T: solução transportadora (água) vazão 2,3 mL min⁻¹; B1: bobina de mistura dos reagentes; B2: bobina de mistura reagentes e analito, Δ : temperatura 37 °C; λ : detecção em 880 nm; D: descarte.

Na avaliação da eficiência do preparo das amostras em forno de micro-ondas (Provecto Analítica, mod. DGT 100 Plus) conforme mostra a Tabela 1.2, foram estudados os seguintes fatores: o volume da solução de H₂SO₄ (S), a concentração de molibdato de amônio (M), a solução de ácido ascórbico (A), o tempo de irradiação (t) e a potência do forno (W). Para tanto, foi realizado um planejamento fatorial 2⁵ completo, sem repetições, totalizando 32 experimentos, que foram parcialmente aleatórios.

Tabela 1.2. Níveis dos fatores estudados para digestão em forno de micro-ondas

Fator	níveis	
	+	-
tempo (min)	6	2
potência (W)	500	300
solução de molibdato de amônio (mmol L^{-1})	32	16
volume do ácido sulfúrico (mL)	0,6	0,2
concentração do ácido ascórbico (mmol L^{-1})	340	60

Em um frasco reacional do forno de micro-ondas, adicionou-se 10 mL da solução 8 mg L^{-1} de fosfato e volume adequado do ácido sulfúrico $5,4 \text{ mol L}^{-1}$. O frasco reacional foi colocado no forno de micro-ondas que foi operado de acordo com as especificações de cada experimento.

Após serem digeridas, as soluções foram analisadas no sistema de análise por injeção em fluxo (KARLBERG; PACEY, 1989). Na avaliação da melhor condição de preparo da amostra em forno de micro-ondas utilizou-se como resposta o retorno percentual, conforme definido anteriormente.

1.4.3. TESTE DE ADIÇÃO E RECUPERAÇÃO

As amostras foram preparadas pesando-se 0,1 g da amostra do detergente em pó e colocando-a em um tubo de vidro rosqueado, em seguida, adicionou-se 10 mL de água destilada e 0,2 mL do ácido sulfúrico $5,4 \text{ mol L}^{-1}$. Em metade dos tubos foi adicionada solução 1 mg L^{-1} de fósforo.

Para que as amostras fossem digeridas, os tubos foram fechados e colocados em autoclave com pressão interna de 1 kgf cm^{-2} durante o intervalo de tempo de uma hora.

As amostras dos detergentes, após serem digeridas, foram analisadas empregando o sistema FIA.

1.4.4. DETERMINAÇÃO DA CONCENTRAÇÃO DE FOSFATO EM AMOSTRAS DE DETERGENTES UTILIZANDO DETECÇÃO ESPECTROFOTOMÉTRICA

Para estes experimentos foram utilizadas 4 marcas de detergente em pó comerciais.

Na autoclave:

Em cada tubo de vidro rosqueado colocou-se 0,1 g da amostra de detergente, preparada como descrito anteriormente, em seguida, adicionou-se 10 mL de água destilada e 0,2 mL do ácido sulfúrico 5,4 mol L⁻¹. Para que as amostras fossem digeridas, os tubos, devidamente fechados, foram colocados na autoclave como descrito anteriormente.

No forno de micro-ondas:

As amostras foram preparadas pesando-se 0,1 g da amostra do detergente e colocando-a em reator, em seguida, adicionou-se 10 mL de água destilada e 0,2 mL do ácido sulfúrico 5,4 mol L⁻¹. O reator foi fechado e colocado no forno de micro-ondas por 6 min a uma potência de 500 W.

As amostras de detergente, após serem digeridas, foram analisadas no sistema FIA descrito anteriormente.

1.5. RESULTADOS E DISCUSSÃO

1.5.1. PLANEJAMENTO FATORIAL PARA AVALIAÇÃO DAS CONDIÇÕES DO PREPARO DA AMOSTRA EM AUTOCLAVE E FORNO DE MICRO-ONDAS

No procedimento de preparo de amostras, para determinação de fósforo, através de metodologia padrão (Standard Methods for the Examination of Water and Wastewater, 1998), são utilizados ácido sulfúrico e persulfato de sódio. Previamente foi realizada uma avaliação, verificando-se que a presença de persulfato não influenciava no preparo da amostra de detergente em pó, visto que este serve para converter fósforos orgânicos em fosfato. Por este motivo, decidiu-se não mais se adicionar o persulfato.

Assim, foi realizado um planejamento fatorial completo 2^3 , utilizando a autoclave, para estudar os fatores que influenciam no preparo de amostra (volume do ácido sulfúrico, S) e no sistema de análise em fluxo (concentração de ácido ascórbico, A e de molibdato de amônio, M). Os valores encontrados estão mostrados na Tabela 1.3.

Tabela 1.3: Matriz de planejamento com os valores das respostas para a digestão em autoclave.

Experimento	A	M	S	Resposta (%)
1	-1	-1	-1	89,8
2	+1	-1	-1	91,4
3	-1	+1	-1	94,9
4	+1	+1	-1	87,1
5	-1	-1	+1	88,5
6	+1	-1	+1	79,1
7	-1	+1	+1	85,3
8	+1	+1	+1	85,8
9	0	0	0	84,7
10	0	0	0	84,8
11	0	0	0	82,5
12	0	0	0	84,1
13	0	0	0	83,7
14	0	0	0	87,1
15	0	0	0	82,0

Empregando-se o nível de 95% de confiança, são considerados significativos o efeito principal A, S e o efeito de interação das três variáveis estudadas ASM, como pode ser observado na Tabela 1.4. É considerado estatisticamente significativo, o fator ou interação que tem valor, em módulo, maior ou igual a 2,94, para um nível de confiança de 95%.

Tabela 1.4 : Efeitos principais e de interações entre as variáveis para a digestão em autoclave.

	Efeitos $\pm$ erro padrão
Média	$87,7 \pm 0,6$
A	$- 3,8 \pm 1,2$
M	$1,1 \pm 1,2$
S	$- 6,1 \pm 1,2$
A x M	$0,1 \pm 1,2$
A x S	$- 0,7 \pm 1,2$
M x S	$0,7 \pm 1,2$
A x M x S	$4,8 \pm 1,2$

Intervalo com 95% de confiança: $t_{(6,0,95)} \times s = 1,2 \times 2,447 = 2,94$

A interação significativa entre os três fatores caracteriza um sistema cuja otimização deve ser realizada de forma multivariada. As três melhores condições em termos de resposta foram os experimentos 1, 2 e 3. A condição mais econômica, entretanto, é a do experimento 1, que corresponde a 60 mmol L^{-1} de ácido ascórbico (A), 16 mmol L^{-1} de molibdato (M) e 0,2 mL de ácido sulfúrico (S). Estes valores foram selecionados, pois também proporcionam menor consumo de reagentes quando comparados com o método padrão que utiliza 340 e 32 mmol L^{-1} de ácido ascórbico e molibdato de amônio, respectivamente.

Na avaliação da melhor condição de preparo da amostra em forno de micro-ondas também foi selecionado o retorno percentual como o parâmetro indicativo da condição em que houve melhor eficiência na digestão do analito.

Como não foram realizadas repetições, no planejamento fatorial 2^5 , a significância dos efeitos foi estimada através da soma quadrática residual, considerando-se que efeitos de interação de ordem superior a três não são significativos. Os resultados não mostraram efeitos significativos (principal e de interação) para a variável tempo. Um gráfico normal também foi construído, chegando-se à mesma conclusão. Esta variável foi então excluída do planejamento, tornando-o um 2^4 com repetições. Os novos cálculos realizados estão apresentados na Tabela 1.5.

Tabela 1.5. Matriz de planejamento com os valores das respostas para a digestão em forno de micro-ondas.

Experimento	M	A	S	W	Resposta média (%)
1	-1	-1	-1	-1	91,7
2	1	-1	-1	-1	91,2
3	-1	1	-1	-1	93,5
4	1	1	-1	-1	79,4
5	-1	-1	1	-1	80,9
6	1	-1	1	-1	86,2
7	-1	1	1	-1	92,4
8	1	1	1	-1	77,6
9	-1	-1	-1	1	96,6
10	1	-1	-1	1	93,7
11	-1	1	-1	1	95,5
12	1	1	-1	1	86,8
13	-1	-1	1	1	87,7
14	1	-1	1	1	90,1
15	-1	1	1	1	93,8
16	1	1	1	1	80,3

Podemos observar na Tabela 1.6 que, no nível de 95% de confiança, são significativos os efeitos principais, em mg L^{-1} : M (-5,6), S(-4,9) e a interação A com M (-6,9). Este efeito de interação também mostra a necessidade da otimização multivariada.

Tabela 1.6. Efeitos principais e de interação para as variáveis estudadas na digestão em forno de micro-ondas

	Efeitos $\pm$ erro padrão
Média	$88,6 \pm 1,0$
M	$-5,6 \pm 2,0$
A	$-2,4 \pm 2,0$
S	$-4,9 \pm 2,0$
W	$3,9 \pm 2,0$
M x A	$-6,9 \pm 2,0$
M x S	$0,7 \pm 2,0$
M x W	$0,2 \pm 2,0$
A x S	$2,2 \pm 2,0$
A x W	$-0,6 \pm 2,0$
S x W	$-0,2 \pm 2,0$
M x A x S	$-2,1 \pm 2,0$
M x A x W	$1,5 \pm 2,0$
A x S x W	$-1,1 \pm 2,0$

Intervalo com 95% de confiança: $t_{(16,0,95)} \times s = 2,0 \times 2,04 = 4,04$

Analisando-se a variável ácido sulfúrico, quando se eleva o volume de ácido de 0,2 para 0,6 mL, o efeito médio observado é um decréscimo no retorno percentual de 4,9 %. Assim, o nível inferior da variável S foi selecionado. Embora a potência tenha se mostrado não significativa, o valor do efeito ficou muito próximo ao limite do intervalo com 95 % de confiança ($3,9 \pm 2,0$). Assim, por medida de segurança optou-se por empregar a potência de 500 W. Como o efeito do tempo de digestão não é significativo para os níveis selecionados, 2 min de digestão foi escolhido. Após esta

seleção de níveis para S, P e t, chega-se aos experimentos 9 a 12. Destes, a condição mais econômica, para o molibdato e o ácido ascórbico, e com bons resultados no retorno percentual foram nos níveis inferiores para ambos. Portanto, a concentração escolhida de ácido ascórbico foi de 60 mmol L⁻¹ e a concentração de molibdato foi de 16 mmol L⁻¹.

1.5.2. ESTUDO DA ADIÇÃO E RECUPERAÇÃO

Para avaliar o efeito da matriz da amostra na análise do detergente, foi realizado um estudo de adição e recuperação adicionando-se 1 mg L⁻¹ de P. A digestão das amostras de detergente em pó foi realizada com as melhores condições obtidas pelo planejamento fatorial e os resultados são mostrados na Tabela 1.7.

Tabela 1.7. Resultados do teste de recuperação para a determinação de fósforo em amostras de detergente em pó (m m⁻¹) usando autoclave.

Amostras	Método proposto (mg g ⁻¹)	Recuperado (mg g ⁻¹)	Recuperação* (%)
1	15,1 ± 0,2	14,4 ± 0,2	95
2	14,6 ± 0,1	14,4 ± 0,1	99
3	14,6 ± 0,2	14,8 ± 0,1	101
4	18,2 ± 0,1	19,5 ± 0,1	107
5	18,5 ± 0,1	17,1 ± 0,2	92

n = 3. * Amostra contendo 1 mg L⁻¹ de fósforo.

De acordo com os resultados, observa-se que os valores obtidos no sistema FIA usual concordaram entre si em nível de confiança de 95 % ($t_{\text{calculado}} = 1,076$ e $t_{\text{crítico}} = 2,78$) e a recuperação variou entre 92 e 107 %.

Portanto, não existem problemas de interferência com as amostras de detergente em pó analisadas.

1.5.3. DETERMINAÇÃO DA CONCENTRAÇÃO DE FOSFATO EM AMOSTRAS DE DETERGENTES UTILIZANDO DETECÇÃO ESPECTROFOTOMÉTRICA

Após estabelecer as melhores condições para os dois tipos de digestão, compararam-se os dois métodos, analisando-se amostras de detergentes em pó.

Os resultados obtidos para a determinação do percentual de fósforo empregando o sistema FIA, após a digestão das amostras empregando forno de micro-ondas e autoclave, podem ser observados na Tabela 1.8.

Tabela 1.8. Comparação dos resultados obtidos na determinação de fósforo (em %, m/m) através do preparo da amostra em autoclave e em forno de micro-ondas.

Amostra	Autoclave	Forno de Micro-ondas
1	3,57 $\pm$ 0,02	3,32 $\pm$ 0,05
2	0,87 $\pm$ 0,03	0,97 $\pm$ 0,02
3	1,7 $\pm$ 0,1	2,1 $\pm$ 0,1
4	1,52 $\pm$ 0,1	1,70 $\pm$ 0,06

n = 3

As digestões das amostras e as determinações de fósforo no sistema FIA foram realizadas em triplicata. De acordo com o teste-t de Student, ($t_{\text{calculado}} = 0,788$ e $t_{\text{crítico}} = 2,78$) não existe diferença significativa entre a digestão com autoclave e forno de micro-ondas em nível de 95 % de confiança. Sendo estáveis os dois tipos de digestão, as amostras podem ser preparadas utilizando-se um forno de micro-ondas, com a vantagem de menor tempo de análise, ou em autoclave, quando houver grande quantidade de amostras a serem digeridas.

Quanto ao teor de fósforo, observa-se que as amostras de detergentes em pó estavam com os teores de P bem abaixo do limite máximo permitido pela resolução 359 do CONAMA de abril/2005, que é de 4,8 % P por formulação (BRASIL, 2005).

1.6. CONCLUSÕES

De acordo com os resultados obtidos, observa-se que os dois procedimentos de abertura de amostra (autoclave e forno de microondas) foram eficientes para o detergente em pó. Com relação ao tempo gasto para o preparo das amostras, o forno de micro-ondas apresentou menor frequência analítica quando comparado à autoclave, apesar de possuir maior eficiência na transferência da energia.

O sistema FIA recomendado para determinação de fosfato (PO_4^{3-}) em amostras de águas foi facilmente adaptado para a análise de detergente em pó, mantendo suas características iniciais: alta frequência analítica, boa repetibilidade e reduzida geração de resíduos.

As amostras analisadas apresentaram teores de fósforo abaixo do limite máximo estabelecido, ou seja, as diferentes marcas analisadas estão de acordo com a legislação vigente. Entretanto, mesmo que os valores encontrados estejam bem abaixo do que exige a legislação, o ideal seria que fosse utilizado outro tipo de agente estruturante e sequestrante de íons cálcio e magnésio. Alguns detergentes utilizam as zeólitas para esta função (SUTILI, 2009), mas ainda não se sabe qual o efeito destas espécies no meio ambiente.

CAPÍTULO 2

DETERMINAÇÃO DE ÁCIDO PERACÉTICO UTILIZANDO MULTICOMUTAÇÃO EM FLUXO

2.1. INTRODUÇÃO

O ácido peracético (APA) é um peróxido orgânico, quando utilizado em baixas concentrações é eficiente contra um amplo espectro de microorganismos, incluindo bactérias gram-positivas e gram-negativas, leveduras, fungos e algas em uma grande variedade de condições (PETTAS; KARAYANNIS, 2004; BALDRY, 1983).

É também um oxidante importante na indústria sendo utilizado para a desinfecção em cervejarias e fábricas de laticínios, para o branqueamento de papel e de têxteis, e na esterilização de instrumentos médicos (PINKERNELL *et al.*, 1997).

A Portaria nº 15, de 23 de agosto de 1988 (BRASIL, 1988) regulamenta os produtos saneantes domissanitários com finalidade antimicrobiana. Os produtos saneantes domissanitários são substâncias ou preparações destinadas à higienização, desinfecção ou desinfestação domiciliar, em ambientes coletivos ou públicos, em lugares de uso comum e no tratamento da água. A Portaria nº 122/DTN, de 29 de novembro de 1993 inclui, na portaria anterior, o princípio ativo ácido peracético, para uso autorizado somente como esterilizante; desinfetantes hospitalares para superfícies fixas e para artigo semicrítico (objetos e equipamentos odontológicos, médicos e hospitalares que entram em contato com mucosas); e desinfetante para indústria alimentícia (BRASIL, 1993).

Há mais de um século que o cloro vem sendo empregado para a desinfecção de águas residuárias, porém, além da desvantagem de que a adição de cloro possa gerar subprodutos tóxicos, existem alguns casos em que esse método de desinfecção se mostra ineficiente. A utilização do APA como desinfetante de efluentes tem atraído a atenção devido ao seu efeito bactericida, virucida, fungicida e esporicida (BALDRY *et al.*, 1995; RAJALA-MUSTONEN *et al.*, 1997; KITIS, 2004).

O APA foi testado e utilizado para a desinfecção de águas residuárias na Inglaterra, Finlândia, Itália, Brasil e Canadá (KITIS, 2004). O objetivo da desinfecção da água é a inativação de bactérias e vírus patogênicos. Além

de não formar subprodutos indesejáveis, o APA é eficiente quando utilizado em temperatura ambiente e também contra os esporos, que são uma forma de vida latente que as bactérias desenvolvem para ambientes inóspitos, sendo resistentes à ação de alguns desinfetantes (SOUZA, 2006).

Alimentos minimamente processados são produtos que passam por etapas de transformação física (cortar, ralar, picar e/ou tornear) sem alterar, entretanto, o frescor do produto acabado. Atualmente, o hipoclorito de sódio é o único sanitizante permitido pela legislação na desinfecção destes alimentos, porém a possibilidade de haver formação de cloraminas orgânicas vem causando preocupação em relação ao seu uso. O fato de não produzir subprodutos tóxicos quando em contato com a matéria orgânica chamou a atenção para a utilização do APA na desinfecção deste tipo de alimento (SREBERNICH, 2007).

A eficiência na desinfecção à temperatura ambiente inclusive com ação sobre os esporos é uma grande vantagem da utilização do APA em indústria de bebidas e de alimentos. Com isso é possível fazer a limpeza em sistemas de circuito fechado da produção (tubulações) ou em recipientes utilizados como embalagens (garrafas) com agentes livres de fósforo e sem formar compostos halogenados. Este tipo de desinfecção é comumente chamado na indústria através do termo em inglês Clean In Place – CIP (ORTH, 1998; HIGASHI *et al.*, 2005).

Em muitas aplicações é preparada uma solução diluída do APA na concentração desejada para obter o efeito biocida. Esta solução não é imediatamente descartada, ela é reutilizada algumas vezes antes do seu descarte e para manter seu potencial biocida a concentração é monitorada para que se mantenha no valor desejado (PINKERNNEL *et al.*, 1994). Para verificar a concentração de APA é necessário que se tenha um método rápido prático e eficiente.

Encontram-se na literatura diferentes métodos de determinação do ácido peracético, tais como, métodos colorimétricos (HARMS, KARST, 1999), métodos que envolvem reações enzimáticas (GALBÁN *et al.*, 2010), métodos eletroquímicos (AWAD, 2003; RUTTINGER, RADSCHUWEIT,

2000), métodos cromatográficos (PINKERNELL, CAMMANN, 1994; PINKERNELL *et al.*, 1997; PACENTI *et al.*, 2010) e alguns kits comerciais.

A análise por injeção em fluxo (do inglês, Flow Injection Analysis – FIA) é baseada na injeção de um segmento de amostra num fluido transportador, em movimento, que o transporta até o detector (RUZICKA; HANSEN, 1975). Após o surgimento do FIA, outras estratégias de gestão de fluidos surgiram tais como a análise por injeção sequencial (do inglês, Sequential Injection Analysis – SIA) (RUZICKA; MARSHAL, 1990), a multicomutação em fluxo (do inglês, Multicomutted Flow Analysis – MCFIA) (REIS *et al.*, 1994) e a análise por injeção em fluxo baseada em multiseringa (do inglês, Multisyringe Flow Injection Analysis - MSFIA) (CERDÀ *et al.*, 1999).

A multicomutação em fluxo surgiu devido à necessidade de flexibilidade, versatilidade e facilidade de operação dos sistemas em fluxo. A MCFIA pode ser implementada com dispositivos que funcionam como injetores individuais, tais como as válvulas solenóides (REIS *et al.*, 1994) e as minibombas solenóide (RÓDENAS-TORRALBA *et al.*, 2007). Estas podem ser usadas como dispositivos que funcionam não só para inserção como também para impulsão das soluções.

Harms e Karst (1999) propuseram um sistema em fluxo para determinação do ácido peracético, onde o sistema de propulsão dos fluidos é a bomba peristáltica. Uma maior economia dos reagentes, bem como menor geração de resíduos, podem ser obtidos se forem utilizados sistemas com as minibombas solenóide.

Neste trabalho foi desenvolvido um procedimento para determinação de ácido peracético utilizando multicomutação em fluxo tendo como dispositivos de inserção das soluções, as minibombas solenóide. Foi utilizado como reagente ampolas Vacu-vials® (CHEMetrics, Calverton, VA, U.S.) contendo solução de DDPD. A solução de DDPD é uma forma metil substituída de DPD (N,N-dietil-p-fenilenodiamina) a qual é mantida em um tubo de vidro selado sob vácuo. O método DDPD foi desenvolvido e patenteado pela CHEMetrics.

2.2 OBJETIVOS

Geral

- Este trabalho visa desenvolver uma metodologia automatizada em fluxo para determinação espectrofotométrica do ácido peracético utilizando minibombas solenóide para propulsão das soluções.

Específicos

- Desenvolver um módulo de análise baseado no sistema de multicomutação em fluxo;
- Empregar o kit comercial e automatizar o procedimento de determinação de APA;
- Determinar a concentração de APA em desinfetante.

2.3. REVISÃO BIBLIOGRÁFICA

2.3.1. UTILIZAÇÃO DO ÁCIDO PERACÉTICO

O ácido peracético (APA) foi patenteado em 1950 por Greenspan e Margulies para ser utilizado no tratamento de frutas e vegetais, reduzindo a deterioração destes por bactérias e fungos (ALVARO *et al.*, 2009). A síntese do APA compreende a reação de peróxido de hidrogênio com ácido acético na presença de um ácido mineral forte, geralmente o ácido sulfúrico, que é usado como catalisador conforme eq. 2.1 (HARMS; KARST, 1999; AWAD *et al.*, 2003; PETTAS; KARAYANNIS, 2004).



As soluções de APA também possuem ácido acético e peróxido de hidrogênio em sua composição, pois a sua comercialização é feita sem nenhuma etapa de purificação. Como o APA e o peróxido de hidrogênio são oxidantes fortes e reagem de forma semelhante, dependendo do método que foi utilizado na determinação da concentração de APA, o valor encontrado pode estar superestimado.

Dos grupos de desinfetantes utilizados em indústrias de bebidas, prevalecem aqueles que possuem o APA como princípio ativo, pois além de excelente eficiência contra todos os tipos de microrganismos ainda apresenta a vantagem de ser biodegradável, pois, sua decomposição leva a formação de ácido acético, água e oxigênio (ORTH, 1998).

Alvaro *et al.* (2009) testaram a utilização do APA como desinfetante de vegetais recém colhidos. Em seu estudo foram avaliados: a capacidade do APA de reduzir o apodrecimento dos frutos (após a lavagem com solução 500 mg L⁻¹ de APA) e se havia alteração do sabor e no aspecto dos frutos (depressão na superfície). Os experimentos foram realizados comparando-se os frutos lavados com APA com frutos lavados apenas com água

destilada e com solução de 400 mg L⁻¹ de hipoclorito de sódio. Foi observado que a solução de APA não modificava o sabor dos frutos e era tão eficiente quanto à solução de hipoclorito de sódio. É salientado no trabalho que a utilização do APA tem a vantagem de que pode ser utilizado em presença de matéria orgânica sem produzir compostos cancerígenos.

Mazzola *et al.*(2003) afirmam que o APA, quando utilizado na desinfecção de materiais hospitalares, possui odor mais agradável que o glutaraldeído, porém seus vapores podem irritar olhos e vias respiratórias. Quando estiver concentrado não deve ser utilizado em superfícies metálicas, devido a sua capacidade de causar corrosão, entretanto, superfícies plásticas não sofrem alteração em sua presença. Se utilizado em concentração adequada e adicionado de agentes anti-corrosivos é adequado para desinfecção de endoscópios.

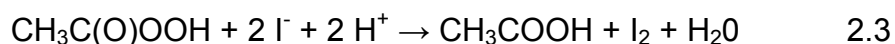
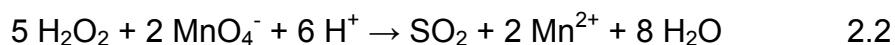
No intuito de encontrar um método alternativo ao da cloração para o tratamento de esgotos e buscando reutilizar a água tratada na agricultura Dell’Erba *et al.* (2004) testaram o APA em experimentos realizados em escala laboratorial e em uma planta piloto com capacidade de 10 m³ h⁻¹. Trabalhos anteriores (SANCHEZ-RUIZ *et al.*, 1995; MORRIS ,1993; LEFEVRE *et al.*, 1992) mostravam diferentes valores de redução microbiana quando se utilizava o APA (redução variando entre 2 logs e 4 logs). Em escala laboratorial, os pesquisadores conseguiram uma redução de 3,5 logs. Na planta piloto conseguiu-se uma menor redução (2 logs) tanto para coliformes totais como para *Escherichia coli* quando se utilizou solução de APA de concentração variando entre 4 e 8 mg L⁻¹ e com tempo de contato menor ou igual a 10 min, atendendo aos critérios de qualidade estabelecido na cidade de Taranto (Itália). A diferença nos valores foi atribuída a fatores de dispersão dentro do reator, sendo necessários estudos posteriores.

Kovaleva *et al.* (2010) estudaram a utilização do APA na desinfecção de endoscópios. Para tal estudo foram preparados endoscópios contaminados, previamente, com alguns dos micro-organismos que mais comumente são transmitidos através do uso de endoscópios contaminados. Como estes micro-organismos formam biofilmes, foi avaliado o processo de desinfecção com ou sem posterior secagem dos endoscópios com ar a 50 °C. Foi

observado que o APA era eficiente contra os micro-organismos logo após o tratamento, porém caso o endoscópio não fosse submetido à etapa de secagem ocorria um novo crescimento a partir do biofilme.

2.3.2 MÉTODOS DE DETERMINAÇÃO DO ÁCIDO PERACÉTICO

O método de titulação mais amplamente utilizado para determinação de ácido peracético em soluções que contêm água oxigenada é o método proposto por D'Ans e Frey (1912) e modificado por Greenspan e Mackellar (1948) que consiste em titular a solução, inicialmente, com permanganato de potássio ou sulfato cérico em meio ácido, eq. 2.2. Em seguida, adicionar iodeto de potássio à solução o qual reage com APA e forma iodo, eq. 2.3. O iodo formado será titulado, com solução de tiosulfato de sódio, eq. 2.4. Este método não é indicado para soluções de APA de baixas concentrações, pois a precisão deste método diminui com o decréscimo da concentração do ácido peracético. (PINKERNELL; CAMMANN, 1994; HIGASHI *et al.*, 2005)



Pinkernell e Cammann. (1994) desenvolveram um método de determinação de APA baseado em uma reação utilizada anteriormente por Di Furia *et al.* (1984) que consiste na reação do APA com o metil-p-toluilsulfeto (MTS) formando o correspondente metil-p-toluilsulfóxido (MTSO), sendo esta reação rápida e quantitativa. No trabalho de Di Furia *et al.* (1984), o MTSO formado era extraído da solução aquosa por um solvente orgânico para ser determinado por cromatografia gasosa. Para eliminar a etapa de extração e minimizar erros no processo analítico eles determinaram o MTSO formado utilizando a cromatografia líquida de alta eficiência, com uma coluna de fase reversa C18 e uma mistura de água e metanol como

fase móvel. A detecção foi feita no comprimento de onda 230 nm e utilizou-se MTSO vendido comercialmente para calibração externa.

Um método de determinação de APA foi proposto por Harms e Karst (1999). Foi utilizado o sistema de análise por injeção em fluxo (FIA) e baseava-se na reação seletiva entre o ABTS (do inglês, 2,20-Azino-bis(3-ethylbenzothiazoline)-6-sulphate) e o APA para gerar o cátion radical, $ABTS^{•+}$, que era determinado a 405 nm. A exatidão do método proposto foi avaliada comparando os resultados obtidos com outros dois métodos e não foram observadas diferenças significativas utilizando-se o teste *t*.

O método proposto por Rüttinger e Radschuweit (2000) utilizava a eletroforese capilar por zona (do inglês, capillary zone electrophoresis - CZE) com detecção amperométrica catódica para quantificação de peróxidos orgânicos e inorgânicos. Foi utilizada uma coluna capilar e um eletrodo de ouro não modificado, no final da coluna, para simplificar a montagem experimental e obter uma maior estabilidade do sinal analítico. Para demonstrar a adequação do método, é feita a determinação do ácido peracético em soluções de limpeza e desinfecção. O limite de detecção foi de $10 \mu\text{mol L}^{-1}$ para o ácido peracético, com inserção de um volume de amostra de 0,9 nL.

Pettas e Karayannis (2004) utilizaram as diferenças nas taxas iniciais de reação da difenilamina com H_2O_2 e APA (na presença de Cu^{2+} , como catalisador) para propor um método de determinação simultânea de H_2O_2 e APA. O método foi aplicado para monitorar a concentração das duas espécies nas soluções de limpeza de uma indústria de bebidas que utilizava tecnologia CIP (do inglês, Clean In Place). O método apresentava como vantagem a rapidez na aquisição dos dados, que era realizada utilizando-se espectros UV-VIS. Para validação do método foram preparadas amostras com concentrações de 0,15 a $0,75 \text{ mmol L}^{-1}$ e de 0,01 a $0,10 \text{ mmol L}^{-1}$ de H_2O_2 e APA, respectivamente. A taxa de recuperação variou entre 97 e 106 % para H_2O_2 e de 85 a 114% para o APA, sendo considerado resultado satisfatório para a precisão.

Outro método para determinação simultânea de H_2O_2 e APA foi proposto por Higashi *et al.* (2005), neste trabalho além da determinação de H_2O_2 e APA foi também determinada a concentração de ácido acético. Neste método foi utilizada a espectroscopia de absorção na região do ultravioleta distante. As medidas foram feitas, em fluxo, em um espectrofotômetro construído pelos pesquisadores em comprimentos de onda variando entre 182 e 210 nm. As amostras utilizadas para construção dos modelos de calibração foram tituladas por um método baseado no proposto por D'Ans e Frey (1912). Como a radiação na região do ultravioleta pode decompor o APA e a água oxigenada, foi feito um estudo do tempo necessário para o início da decomposição, a qual ocorria em trinta segundos. Como o tempo necessário para a medida analítica era menor que quinze segundos, não havia problemas para a determinação. Após a realização dos experimentos com amostra de desinfetante o método foi considerado viável.

Um método para determinação de ácido peracético em presença de água oxigenada foi proposto por Galbán *et al.* (2010). Para isto foi utilizado como indicador a propriedade de absorção da catalase. Ela reage com o APA para formar um intermediário, CAT-I, que posteriormente sofre redução. A absorção da enzima livre e do intermediário CAT-I são utilizadas para determinação da concentração do APA. Como a reação da enzima é muito rápida, nenhuma interferência é observada. O método permite determinação de APA na faixa de $5,0 \times 10^{-7}$ a $1,5 \times 10^{-5}$ mol L^{-1} com uma reprodutibilidade de 1 a 10 %.

2.3.3. ANÁLISE EM FLUXO

O sistema FIA proposto em 1975 por Ruzicka e Hansen era composto apenas por um tubo que transportava a solução do reagente e neste percurso era inserida uma alíquota da amostra através de uma seringa hipodérmica, então a amostra se difundia pelo reagente, reação ocorria e a mistura seguia para o detector.

A partir daí, a análise em fluxo evoluiu de diversas maneiras. Vários dispositivos de inserção da amostra no fluxo foram desenvolvidos tais como

o injetor proporcional, a válvula rotativa e as válvulas de 6 e 8 vias. O modo como soluções de amostra e reagente se encontravam também sofreu modificações (confluência, zonas coalescentes e fluxo intermitente) (REIS,1996).

O sistema FIA apresentava algumas desvantagens como alto consumo de reagentes e limitações quanto ao uso de solventes agressivos, que poderiam danificar os tubos, através dos quais são aspiradas ou bombeadas as soluções com auxílio da bomba peristáltica.

A análise por injeção seqüencial (SIA) foi implementada para proporcionar um maior grau de automação aos sistemas em fluxo (RUZICKA; MARSHALL,1990). Nesta técnica, volumes de soluções (reagentes e amostra), eram aspirados, sequencialmente, através de uma válvula rotatória. Após permanecer um determinado intervalo de tempo na bobina de espera, as soluções eram propulsionadas para o detector através de uma bomba do tipo seringa. Nesta técnica havia uma maior economia do reagente em comparação aos sistemas em fluxo que empregam injetor comutador. Porém, a frequência analítica era menor e a mistura entre as soluções não era eficiente porque o analito tinha que sofrer dispersão para poder reagir e formar o produto (HORSTKOTTE *et al.*, 2005).

Em 1994 Reis *et al.*, propuseram a utilização de um dispositivo de acionamento discreto, as válvulas solenóide. Juntamente com a utilização das válvulas solenóide nasceu o conceito de multicomutação em fluxo (MCFIA). Desta maneira é possível comutar cada válvula solenóide de modo independente, inserindo no fluxo apenas a solução e o volume necessários. Neste sistema, ao invés de se utilizar um canal da bomba peristáltica para propulsionar cada solução, todo sistema é aspirado por um único canal. Para evitar formação de bolhas deve-se degaseificar as soluções previamente.

É também introduzido neste trabalho o conceito de amostragem binária, que consiste em inserir pequenas alíquotas de solução da amostra e de reagente para que se formem várias interfaces amostra/reagente e que através de difusão mútua uma mistura homogênea seja mais rapidamente alcançada. O número de interfaces formadas depende do número de ciclos

(n) do par amostra/reagente inserido de acordo com a relação $2n - 1$ (Figura 2.1) Todo sistema é controlado por programa de computador, o qual indica o momento e o tempo de acionamento de cada válvula, bem como a velocidade do fluxo. As válvulas foram empregadas para o gerenciamento independente das soluções, aumentando a versatilidade dos sistemas de análise em fluxo.

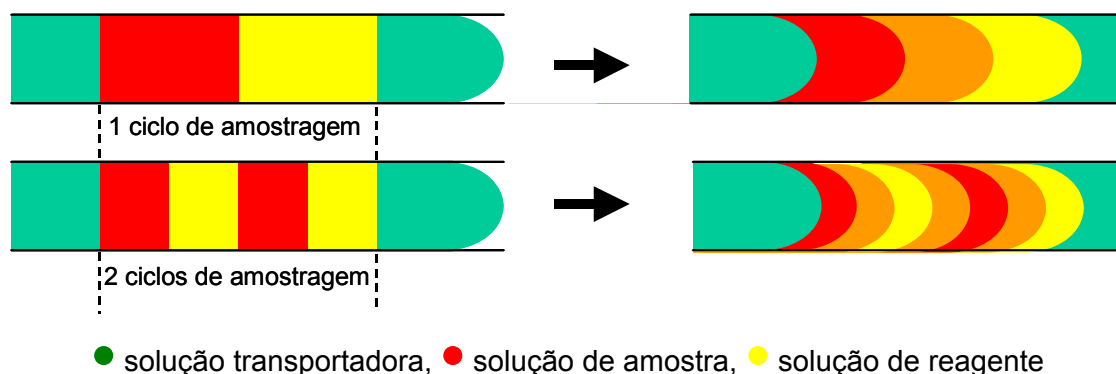


Figura 2.1. Ilustração da estratégia de amostragem binária. Fonte: Lavorante (2006).

A redução no consumo de reagente é a principal vantagem da utilização do processo de multicomutação e amostragem binária, pois o procedimento analítico visa à adição discreta de cada solução no percurso analítico. Outra característica importante é a flexibilidade do sistema, uma vez que permite a introdução de diferentes reagentes em estágios alternativos, possibilitando a utilização de reagentes para determinações seqüenciais de dois ou mais analitos (Rocha *et al.*, 2002).

A técnica de análise por injeção em fluxo baseada em multiseringa (MSFIA) foi primeiramente descrita por Cerdà *et al.* (1999) como sendo uma técnica multicanal que combinava vantagens das técnicas FIA e SIA, como por exemplo: ter fluxo com menor pulsação sem a necessidade de estar constantemente calibrando sua vazão e uma maior sensibilidade devido a melhor mistura da amostra com o reagente. O módulo de análise pode ser equipado com até quatro bombas seringa, cujo acionamento é controlado por computador. No topo de cada bomba pistão é acoplado uma válvula

solenóide que permite trabalhar em um sistema de multicomutação para gerenciamento dos fluidos (HORSTKOTTE *et al.*, 2005).

A minibomba solenóide é um dispositivo que pode ser utilizado para propulsionar líquidos, substituindo a bomba peristáltica, e ao mesmo tempo atuar como as válvulas solenóide no gerenciamento das soluções de uma maneira multicomutada. Isto proporcionou uma maior versatilidade nos procedimentos analíticos com uma redução do custo.

2.4. MATERIAIS E MÉTODOS

2.4.1 NOTA DE SEGURANÇA

O APA é um oxidante forte e é incompatível com substâncias que são facilmente oxidadas e formam misturas explosivas. Estas soluções são extremamente irritantes para os olhos, pele e para as membranas mucosas.

2.4.2 REAGENTES E SOLUÇÕES

Todas as soluções foram preparadas com reagentes químicos de grau analítico utilizando água ultrapura ($M\Omega\text{ cm}^{-1}$) obtida por meio de um sistema de purificação de água Milli-Q (Millipore, EUA) .

As soluções de APA foram preparadas a partir do produto PROXITANE 1512 obtido da Microbiana Descontaminações Ltda (São Paulo, SP – Brasil). O fabricante descreve o produto como sendo uma solução cuja coloração varia de incolor a levemente amarelada, de odor forte e característico, constituída de ácido peracético, peróxido de hidrogênio, ácido acético e veículo estabilizante.

Na ficha do produto fornecida pelo fabricante encontram-se as especificações mostradas na tabela 2.1

Tabela 2.1: Composição mínima do produto Proxitane 1512 usado como fonte de APA

Composto	% (m/v)
Ácido peracético	15
Peróxido de hidrogênio	23
Ácido acético	16

Esta solução foi analisada pelo método de Greenspan e Mackellar (1948) obtendo-se a concentração de $169,7 \pm 2,2 \text{ g L}^{-1}$ de APA. A partir desta solução foi preparada uma solução estoque de 100 mg L^{-1} . As concentrações das soluções de referência empregadas para traçar a curva analítica variaram entre 0,5 e 5,0 mg L^{-1} de APA. Estas soluções foram preparadas imediatamente antes do início da análise para evitar decomposição do ácido peracético.

Como reagente, foram utilizadas ampolas Vacu-vials® que foram quebradas no momento da análise e a solução inserida no sistema por uma minibomba solenóide.

A solução ativadora de iodeto de potássio foi utilizada em uma concentração de 15 g L^{-1} . Três gotas desta solução foram adicionadas a 15 mL das soluções de referência e das amostras.

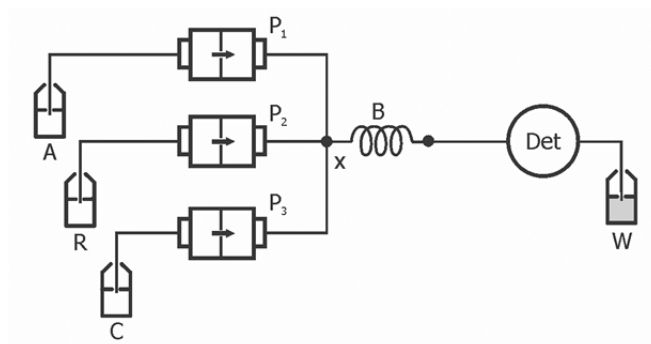
2.4.3. PREPARO DAS AMOSTRAS

As soluções das amostras do desinfetante foram preparadas por diluição com volume apropriado em água. Estas soluções foram preparadas antes do início da análise para evitar decomposição do ácido peracético.

2.4.4. EQUIPAMENTOS E ACESSÓRIOS

A determinação do APA utilizando a estratégia de multicomutação em fluxo (MCFIA) foi realizada com o auxílio de três minibombas solenóide. O sistema em fluxo utilizado é esquematicamente mostrado na Figura 2.2.

a)



b)

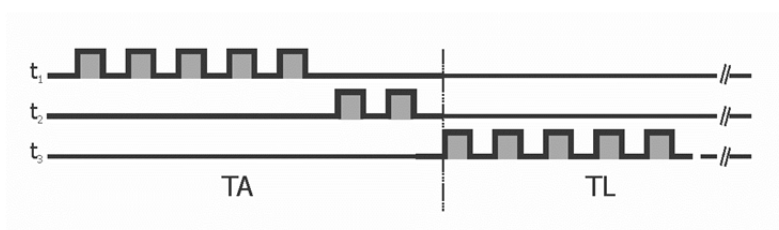


FIGURA 2.2. a) Diagrama do sistema em fluxo multicomutado. P_1 , P_2 e P_3 : minibombas solenóides; A: amostra; R: solução do reagente; C: solução transportadora (H_2O); B: bobina de reação, 0,8 mm i.d., 100 cm; x: confluência; Det: detector, 565 nm; W: descarte. b) Representação da ordem de acionamento das minibombas solenóides t_1 , t_2 e t_3 representam P_1 , P_2 e P_3 , respectivamente. TA: tempo de amostragem; TL: tempo de detecção e limpeza. As áreas preenchidas indicam que a minibomba solenóide foi comutada na posição acionada.

Inicialmente, deve-se acionar cada minibomba para encher as minibombas e o percurso analítico até a confluência com as respectivas soluções, em seguida, aciona-se a minibomba do carregador para limpar o percurso analítico.

O volume de solução inserido no sistema é determinado pelo volume de pulso da minibomba e pelo número de pulsos usados para operar o sistema (RIBEIRO, 2008). O sistema em fluxo era composto de duas minibombas solenóides (P_1 e P_2) que quando acionadas inseriam 8 μL de solução e uma minibomba solenóide (P_3) cujo volume inserido era de 10 μL por acionamento. As minibombas eram da marca Bio-chem 090SP (Boonton,

NJ, EUA). Foi também usado um microcomputador equipado com uma interface eletrônica PCL711S (American Advantech Co.), um espectrofotômetro (Femto 700S) equipado com célula de fluxo com caminho óptico de 10 mm e volume de 80 μ L; uma interface eletrônica fabricada no laboratório (RÓDENAS–TORRALBA *et al.*, 2006) para acionar as minibombas solenóide, e um conector de quatro vias feito de acrílico.

A bobina de reação e as linhas de fluxo foram construídas a partir de tubos de PTFE com diâmetro interno de 0,8 mm. O controle das minibombas e a aquisição de dados foram realizados por um microcomputador, funcionando com software escrito em Quick BASIC 4.5. As minibombas foram configuradas para funcionar como micro-injectores e o microcomputador controlava o acionamento das mesmas adicionando as alíquotas de reagente e amostra na sequência exigida pelas reações químicas envolvidas.

2.4.5. DESCRIÇÃO DO PROCEDIMENTO EM FLUXO

A Fig. 2.2a mostra o diagrama de fluxo do sistema. No início de cada análise, todas as bombas estão desligadas e nenhuma solução está fluindo através do sistema. Quando o programa foi executado, o microcomputador enviou sinais de controle através da interface PCL711S para ligar (LIG) e desligar (DES) alternadamente, as minibombas solenóide, realizando o padrão de comutação representado na Fig.2.2b.

As minibombas P1 e P2 foram seqüencialmente acionadas (LIG/DES) cinco e duas vezes, respectivamente, inserindo na bobina de reação (B) uma seqüência composta por cinco porções da solução da amostra e duas porções do reagente, esta sequencia corresponde a um ciclo de amostragem. Para cada amostra são realizados cinco ciclos. Posteriormente, a minibomba P3 foi acionada (LIG/DES) diversas vezes e a solução transportadora deslocou a amostra e o reagente da zona de amostragem para o espectrofotômetro (DET). A mistura das soluções de amostra e reagente se misturam e reagem enquanto o conjunto foi deslocado através da bobina de

reação B, onde ocorreu a reação que produziu o composto que seguiu para a detecção a 565 nm.

O procedimento analítico foi realizado como descrito na Tabela 2.2.

TABELA 2.2. Sequência de acionamento das minibombas solenóide para determinação de ácido peracético.

Passo	Descrição	P1	P2	P3	Pulsos	Ciclos
1	Introdução de amostra ou ácido Peracético	LIG/DES ^a	DES	DES	5	5
2	Introdução da solução reagente	DES	LIG/DES	DES	2	
3	Transporte para a detecção e limpeza do sistema	DES	DES	LIG/DES	150	-

^a LIG/DES indica um pulso de 0,1s/0,1s da minibomba solenóide

O intervalo de tempo usado para manter as minibombas P1 e P2 na posição LIG/DES foi fixado em 0,1 e 0,1 s, com uma frequência de comutação de 5 Hz. Conforme já mencionado, ao acionar as minibombas P1 e P2, cada uma inseria o volume de 8 µL por acionamento, durante a etapa de amostragem (TA, Fig.2.2), considerando o número de pulsos, o volume total inserido na bobina de reação foi de 200 µL da solução de amostra e 80 µL de solução reagente.

Posteriormente, a minibomba P3 foi acionada (LIG/DES) mantendo uma frequência de 5 Hz, impulsionando a solução transportadora através da bobina de reação (B) deslocando as soluções da zona de amostragem para o detector a uma vazão de $42 \mu\text{L s}^{-1}$. O sinal gerado pelo espectrofotômetro (DET) foi lido pelo microcomputador através de uma interface serial, e as informações foram armazenadas como um arquivo ASCII permitindo que se realize o tratamento de dados posteriormente.

Enquanto o processo de análise estava em andamento, o sinal era exibido na tela do computador como uma função do tempo, o que permitia sua visualização em tempo real.

2.4.6. EFEITO DO VOLUME DO REAGENTE

O volume de reagente pode afetar a sensibilidade do procedimento. Então, experimentos foram realizados a fim de verificar as melhores condições. Alíquotas do reagente com volumes na faixa de 8 a $40 \mu\text{L}$ (1 a 5 pulsos) foram inseridos e o volume da amostra foi mantido em $40 \mu\text{L}$ utilizando um conjunto de soluções de referência com concentrações variando de $0,5$ a $5,0 \text{ mg L}^{-1}$ de APA. Para realizar os ensaios, a mini-bomba P2 foi acionada (LIG/DES) uma, duas, três, quatro e cinco vezes para compor cada ciclo de amostragem, enquanto que a mini-bomba P1 foi acionada (LIG/DES) cinco vezes.

2.4.7. EFEITO DO VOLUME DE AMOSTRA

O volume de solução da amostra foi testado, variando o intervalo de tempo de acionamento LIG/DES da minibomba P1. Foram testados os volumes de 8, 16, 40, 48 e $80 \mu\text{L}$.

2.4.8. EFEITO DO COMPRIMENTO DA BOBINA DE REAÇÃO

Sabendo que a dimensão da bobina de reação pode afetar a precisão, sensibilidade e a taxa de amostragem, um conjunto de ensaios foi realizado variando o comprimento da bobina de reação entre 50 e 150 cm.

2.4.9. EFEITO DO NÚMERO DE PULSOS PARA LEITURA E LIMPEZA.

Após a introdução da amostra e dos reagentes a minibomba do carregador é acionada, o carregador leva a mistura reacional para o detector e também limpa o percurso analítico, evitando interferência entre duas amostras consecutivas. Foram testados um conjunto de amostras utilizando 50, 80, 100, 120 e 150 pulsos.

2.4.10. FIGURAS DE MÉRITO.

Após fixar os volumes das soluções em 200 μL (40 μL x 5 ciclos) para a amostra e 80 μL (16 μL x 5 ciclos) para soluções de reagentes, o comprimento da bobina de reação em 100 cm, e o tempo para limpeza e leitura em 150 s, experimentos adicionais foram realizados para estabelecer o intervalo linear, o limite de quantificação e o limite de detecção. Depois, analisaram-se três amostras utilizando-se o sistema proposto e o método de referência.

2.5. RESULTADOS E DISCUSSÃO

Na metodologia DDPD a amostra é tratada com excesso de iodeto de potássio, assim o APA oxida o iodeto a iodo. Esta reação pode ser realizada na presença da água oxigenada uma vez que a reação do APA com o iodeto é cinco ordens de magnitude maior que a reação da água oxigenada com o iodeto (AWAD *et al.*, 2003). Em seguida, o iodo oxida o DDPD para formar um complexo de cor púrpura com intensidade de coloração diretamente proporcional à concentração de ácido peracético (SOUZA, 2006).

2.5.1. EFEITO DO VOLUME DO REAGENTE

Foi observado que, quando foram utilizados volumes da solução de reagente de 16 (Figura 2.3b) e 24 μL (Figura 2.3), os sinais analíticos apresentaram um aumento de 45 e 62 % respectivamente, quando comparados com a utilização do volume de 8 μL .

Entretanto, melhores resultados foram obtidos, quando o volume da solução de reagente foi de 16 μL (Figura 2.3 e Tabela 2.3), considerando a linearidade e sensibilidade das curvas. Estes resultados concordam com aqueles sugeridos no manual de procedimentos do kit Vacu-vials®, onde é recomendada a relação estequiométrica entre a amostra e o reagente de 5:2, respectivamente.

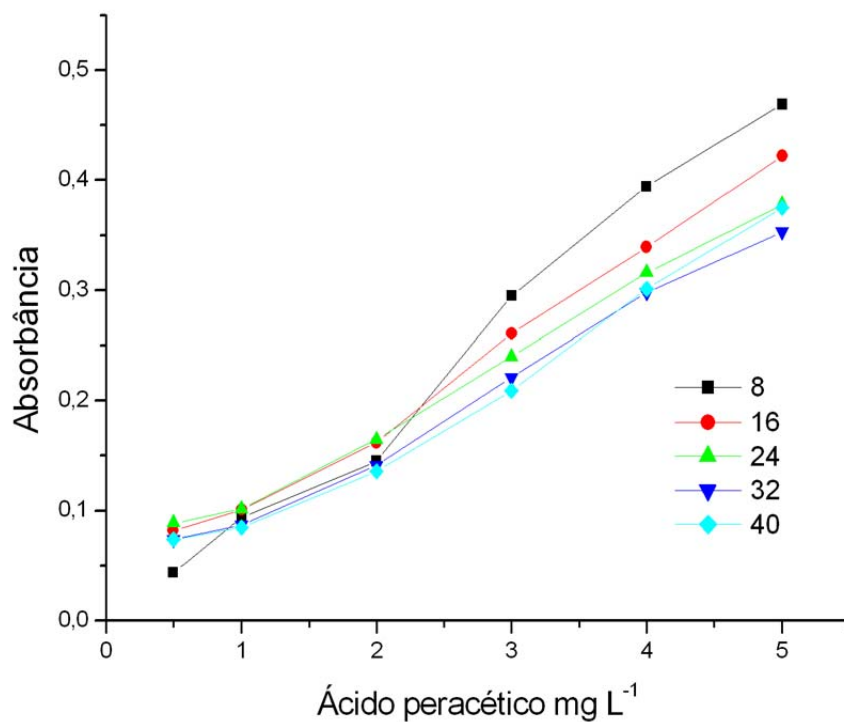


Figura 2.3. Efeito do volume de reagente no sinal de absorbância. Condições experimentais: 0,1s/0,1s (LIG/DES), comprimento da bobina de 100 cm, 40 µL de volume da amostra. Volume de reagente (µL): 8, 16, 24, 32 e 40.

Tabela 2.3: Comparação dos resultados de linearidade e coeficiente de correlação (R^2) para o estudo do efeito do volume de reagente.

Volume de Reagente (µL)	Equação da reta	Coeficiente de correlação (R^2)
8	$y = 0,0979x - 0,0128$	0,986
16	$y = 0,0778x + 0,0268$	0,992
24	$y = 0,0669x + 0,0421$	0,994
32	$y = 0,0653x + 0,027$	0,990
40	$y = 0,0692x + 0,018$	0,982

2.5.2. EFEITO DO VOLUME DE AMOSTRA

As recomendações que acompanham o kit Vacu-vials® indicam que devem ser inseridos 25 mL de solução de amostra no frasco de acrílico ao qual devem ser adicionadas 5 gotas da solução ativadora. Após homogenizar a solução deve-se inserir a ampola de vidro, que contém a solução reagente (5 mL), no frasco que contém a amostra e pressionar para que a ponta da ampola quebre, e então 12,5 mL da solução da amostra sejam aspirados para o interior da ampola. Considerando que o volume de reagente é de 5 mL, a relação estequiométrica entre a solução de amostra e reagente é de 5:2.

Melhores resultados foram obtidos quando o volume da solução da amostra foi de 40 µL., considerando o compromisso entre linearidade e sensibilidade (Figura 2.4 e Tabela 2.4). Os ensaios foram realizados com soluções de referência com concentrações no intervalo de 0,5-5,0 mg L⁻¹ de APA.

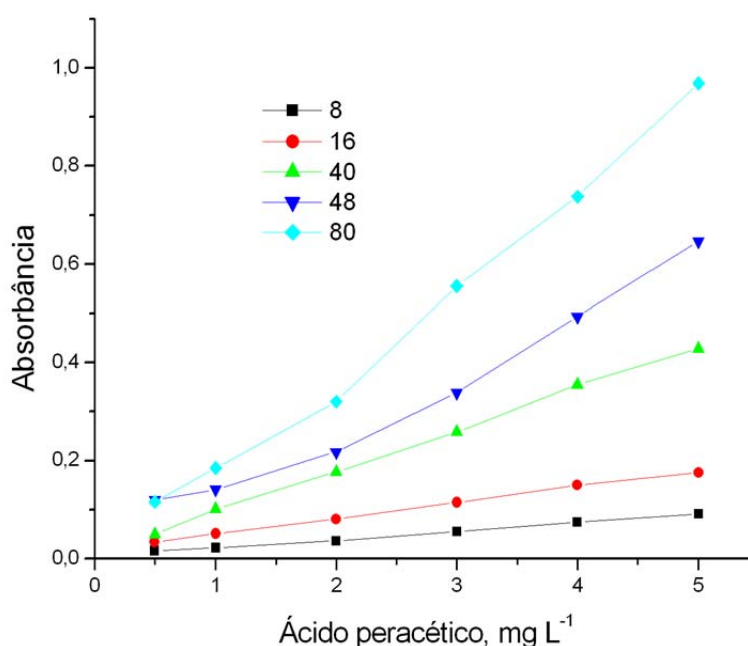


Figura 2.4. Efeito do volume da solução de amostra no sinal analítico. Condições experimentais: 0,1 s/0,1 s (LIG/DES), comprimento da bobina 100 cm. 16 µL de solução do reagente. Volume de amostra (µL): 8, 16, 40, 48 e 80.

Tabela 2.4: Comparação dos resultados de linearidade e coeficiente de correlação (R^2) para o estudo do efeito do volume de amostra.

Proporção	Equação da reta	Coeficiente de correlação (R^2)
1:2	$y = 0,017x + 0,0057$	0,9958
1:1	$y = 0,0319x + 0,0189$	0,9978
2,5:1	$y = 0,0841x + 0,0112$	0,9987
3:1	$y = 0,1184x + 0,0206$	0,9743
5:1	$y = 0,1903x - 0,0111$	0,992

2.5.3. EFEITO DO COMPRIMENTO DA BOBINA DE REAÇÃO

Os resultados discutidos acima foram obtidos utilizando uma bobina de reação 100 cm. Foi observado um aumento de 6 % na magnitude do sinal para as bobinas de reação mais longas (120 cm). Uma bobina com comprimento de 150 cm diminuiu a magnitude do sinal em 15 % quando comparada com a bobina de reação de 100 cm. É possível que a diminuição do sinal tenha sido causada por efeito de dispersão, que aumenta com o aumento do comprimento da bobina de reação. Os melhores resultados, considerando a linearidade, sensibilidade e precisão, foram obtidos com uma bobina de reação de comprimento de 100 cm (Figura 2.5).

2.5.4. EFEITO DO NÚMERO DE PULSOS PARA LEITURA E LIMPEZA.

Os melhores resultados, considerando a linearidade, sensibilidade e precisão, foram obtidos com 150 pulsos, conforme pode-se observar na Figura 2.5.

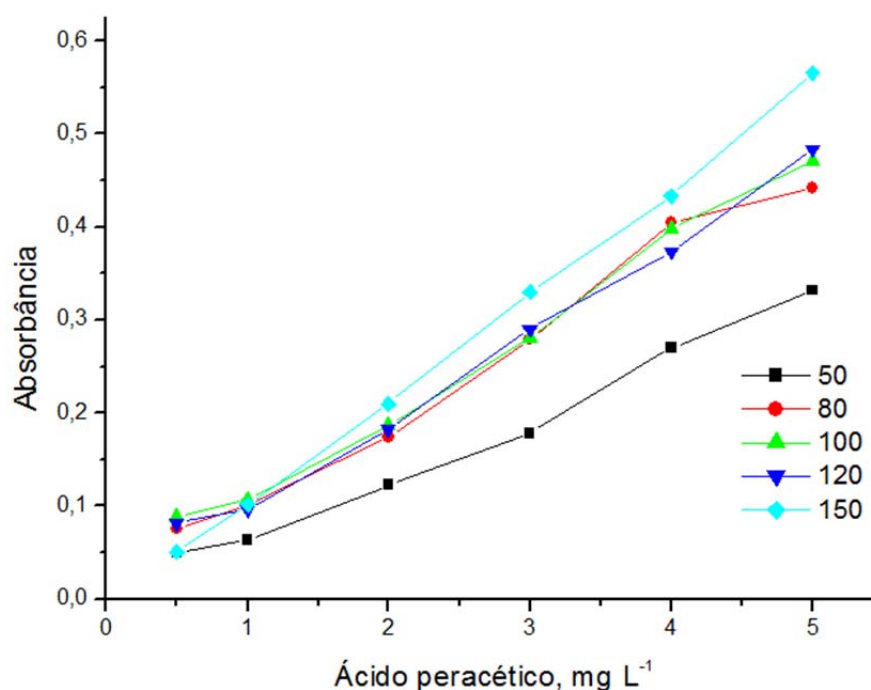


Figura 2.5. Efeito do número de pulsos para leitura e limpeza no sinal analítico. Condições experimentais: 0,1 s/0,1 s (LIG/DES), comprimento da bobina 100 cm. 16 μ L de solução do reagente e 40 μ L de solução do reagente. Número de pulsos: 50, 80, 100, 120 e 150.

2.5.5. FIGURAS DE MÉRITO.

Os resultados obtidos pelo sistema proposto foram comparados com aqueles encontrados usando o kit Vacu-vials® e o método de referência baseado na titulação com permanganato de potássio (Greenspan, MacKellar, 1948), conforme mostra a Tabela 2.5

A equação da reta obtida ao traçar a curva analítica foi $Abs = (0,0725 \pm 1,12 \times 10^{-3}) \text{ mg L}^{-1} \text{ APA} + (0,0017 \pm 0,0018)$ com um coeficiente de correlação de 0,9995. O limite de detecção (LD) foi de 0,10 mg L^{-1} APA, o LD foi estimado usando a equação: $LD = 3s_b/S$, onde S é a inclinação e s_b é o desvio padrão do sinal do branco ($n_b = 8$).

Tabela 2.5. Comparação das figuras de mérito do método proposto com o procedimento utilizando as ampolas Vacuvials® e com o método de referência. Na determinação de APA em solução de desinfetante.

Parâmetros	Método Proposto	Kit Vacu-Vials	Método de referência
Volume de amostra (µL)	80	25000	50000
Volume de reagente (µL)	40	2000	- ^a
Intervalo linear (mg L ⁻¹)	0,5 – 5,0	1,0 – 4,0	150 – 300
LQ	0,03	NI	NI
LD (mg L ⁻¹)	0,1	NI	NI
DPR (%)	4 ^c	NI	NI
Frequência analítica (h ⁻¹)	36	10	2
Volume de resíduo ^b (mL)	1,7	27	>50

NI: Não informado, ^a: Varia com a concentração da amostra, ^b: Por determinação

^c: valor calculado para a solução de concentração de 3,0 mg L⁻¹.

O desvio padrão relativo (DPR), obtido utilizando-se oito replicatas de uma solução de ácido peracético de concentração 3 mg L⁻¹, foi de 4,0 %. O consumo da amostra foi 600 vezes menor para o sistema em fluxo do que para o método de referência. A frequência de amostragem foi de 36 injeções por hora, para o sistema proposto, o que indica que a produtividade do laboratório seria aumentada de 3,6 ou 18 vezes em comparação com o Kit Vacu-vials® e o método de referência, respectivamente. Observa-se que obteve-se também maior intervalo linear com o método proposto quando comparado ao kit além de ser possível realizar 60 determinações com uma ampola que serviria para apenas uma determinação pelo kit.

O desempenho do sistema de análise por injeção em fluxo multicomutado (MCFIA) para determinação de APA foi avaliado analisando 3 amostras de desinfetante utilizando tanto o procedimento proposto como o método de referência de titulação com permanganato (Greenspan, MacKellar, 1948). Os resultados são apresentados na Tabela 2.6.

Tabela 2.6. Concentração de ácido peracético (g L^{-1}) em amostras de distintos desinfetantes obtidos pelo método proposto (MCFIA) e o método de referência (GREENSPAN; MACKELLAR, 1948).

Amostras	Método proposto (g L^{-1})	Método de Referência (g L^{-1})	Erro relativo (%)
1	$166,9 \pm 16,4$	$163,4 \pm 13,2$	+ 2,14
2	$166,8 \pm 18,2$	$162,1 \pm 4,8$	+ 4,75
3	$77,4 \pm 6,4$	$101,3 \pm 21,9$	- 23,6

Os dados apresentados indicaram a presença de concentrações de ácido peracético entre 77 e 170 g L^{-1} com um RSD entre 6,4 e 18,2%, utilizando o método em estudo, em comparação com 4,8 a 22 % para o método de referência. Os valores de erro relativo foram positivos e negativos, indicando que ambos os procedimentos fornecem resultados comparáveis sem erros sistemáticos. Pinkernell et al. (1994) afirmam que a precisão do método tradicional diminui rapidamente com a diminuição da concentração do APA. Pode-se observar que para a amostra 3 o erro relativo é o maior quando comparado ao valor das amostras 2 e 3.

Decidiu-se então observar se existia efeito de matriz analisando amostras pelo método de adição de analito. De cada concentração estudada, foram preparadas 4 soluções de APA. Na primeira solução não se adicionou APA, na segunda adicionou-se 1,018 mg L^{-1} de APA, na terceira adicionou-se 2,037 mg L^{-1} de APA e na quarta adicionou-se 3,055 mg L^{-1} de APA. Traçou-se uma curva com os quatro pontos fazendo um ajuste linear. Por extrapolação da reta, encontrou-se o valor da concentração de APA na solução inicial. Pode-se observar na Tabela 2.7, que não houve efeito de

matriz e que os resultados de recuperação estão entre 95 e 106 %, estando de acordo os valores encontrados por Pettas e Karayannis (2004) conforme citado anteriormente.

Tabela 2.7. Concentração do APA pelo método de adição de padrão e taxa de recuperação.

Amostra	Valor estimado (mg L ⁻¹)	Valor encontrado (mg L ⁻¹)	Recuperação (%)
1	1,00	1,01 ± 0,04	101 ± 4
2	1,69	1,79 ± 0,16	106 ± 9
3	1,35	1,32 ± 0,05	97 ± 3
4	1,22	1,17 ± 0,09	95 ± 7
5	2,00	1,94 ± 0,12	97 ± 5

2.6. CONCLUSÕES

A metodologia proposta (MCFIA), com detecção espectrofotométrica, oferece diversas vantagens sobre o método de referência para análises de rotina de amostras de ácido peracético (titulação com permanganato) (GREENSPAN; MACKELLAR, 1948) tais como maior frequência analítica e baixo custo, entretanto, para implementar o procedimento é necessário adquirir o kit Vacu-vials®. Outra vantagem do método proposto é a economia dos reagentes, um kit contém trinta ampolas que são utilizadas para fazer trinta determinações, no método proposto o volume de reagente de uma única ampola é suficiente para fazer 60 análises. Com isso, o volume de resíduo também é bem menor.

A reação e detecção estão integrados no mesmo módulo de análise e todas as operações podem ser controladas pelo computador, fornecendo confiabilidade quando comparado com a titulação redox, usando solução de permanganato de potássio. Considerando as vantagens apresentadas, é possível empregar este procedimento para análise de ácido peracético para uma faixa de concentração de 0,5 a 5 mg L⁻¹.

2.7. PERSPECTIVAS FUTURAS

Realizar estudos para inserir o reagente iodeto de potássio através de uma minibomba, pois este reagente é colocado no recipiente que contém a amostra, como apenas uma pequena quantidade de amostra é inserida no sistema perde-se uma razoável quantidade do referido reagente.

Realizar análise de possíveis interferentes tais como cloreto e cianeto.

Realizar análises de amostras de águas que foram tratadas com ácido peracético para desinfecção, como por exemplo águas de piscinas.

REFERÊNCIAS BLIOGRÁFICAS.

ALVARO, J.E.; MORENO, S.; DIANEZ, F.; SANTOS ,M.; CARRASCO, G.; URRESTARAZU, M.. Effects of peracetic acid disinfectant on the postharvest of some fresh vegetables, **J. Food Engineering**, v. 95, p. 11-15, 2009.

ANGELINI, R.; BINI, L.M.; STARLING, F.L.R.M.. Efeitos de diferentes intervenções no processo de eutrofização do Lago Paranoá (Brasília – DF). **Oecol. Bras**, v. 12, n. 3, p. 564-571, 2008.

ARRUDA, M.A.Z.; SANTELLI, R.E. Mecanização no preparo de amostras por microondas: o estado da arte, **Química Nova**, v. 20, n. 6, p. 638-643, 1997.

AWAD, M.I.; ORITANI, T.; OHSAKA, T. Simultaneous potentiometric determination of peracetic acid and hydrogen peroxide, **Anal. Chem.**, n. 75, p. 2688-2693, 2003.

BAEZA, M.M.; IBANEZ-GARCIA, N.; BAUCCELLS, J; BARTROLÍ, J; ALONSO, J. Microflow injection system based on a multicommutation technique for nitrite determination in wastewaters, **Analyst**, v. 131, n. 10, p. 1109-1115, 2006.

BAIRD, C. **Química Ambiental**. 2 edição;.Porto Alegre Bookman, 2002.

BALDRY, M.G.C. The bactericidal, fungicidal and sporicidal properties of hydrogen peroxide and peracetic acid, **J. Appl. Bacteriol**. V. 54, p. 417-423, 1983.

BALDRY, M.G.C.; CAVADORE, A.; FRENCH, M.S.; MASSA G.; RODRIGUES, L.M.; SCHIRCH, P.F.T.; THREADGOLD, T.L. Effluent disinfection in warm climates with peracetic acid, **Water Sci. Technol**, v. 31, p. 161-164, 1995.

BARROS NETO, B. de; SCARMINIO, I.S.; BRUNS, R.E. **Como fazer experimentos: Pesquisa e desenvolvimento na ciência e na indústria**. 2ª edição. Campinas: Editora Unicamp 2003 401p.

BARROS NETO, B. de; SCARMINIO, I.S.; BRUNS, R.E. 25 anos de quimiometria no Brasil, **Química Nova**, v. 29, n. 6, p. 1401-1406.

BORGES, S.S.; PEIXOTO, J.S.; FERESB, M.A.; REIS, B.F. Downscaling a multicommutated flow injection analysis system for the photometric determination of iodate in table salt, **Analytica Chimica Acta**, v. 668, p. 3–7 , 2010.

BORGES, S.S.; REIS, B.F. An automatic falling drop system based on multicommutation process for photometric chlorine determination in bleach. **Analytica Chimica acta**, v. 600, p. 66–71, 2007.

BORTOLON, L. Fósforo em sistema plantio direto afetado pelo histórico de uso do solo e os efeitos agrônômico e ambiental. Tese de doutorado. Faculdade de Agronomia, Universidade Federal do Rio Grande do Sul, Porto Alegre, 2009.

BRASIL, 1998. **PORTARIA Nº 15 DE 23 DE AGOSTO DE 1988** em www.anvisa.gov.br/legis/portarias/15_88.htm. Acessado em 30/11/2010.

BRASIL, 1993. **PORTARIA Nº 122/DTN, DE 29 DE NOVEMBRO DE 1993** em www.anvisa.gov.br/legis/portarias/122_93.htm. Acessado em 30/11/2010.

BRASIL, 2005- **RESOLUÇÃO Nº 359, DE 29 DE ABRIL DE 2005** em <http://www.mma.gov.br/port/conama/res/res05/res35905.pdf>. Acessado em 30/11/2010.

BURAKHAM, R.; OSHIMA, M.; GRUDPAN, K; MOTOMIZU, S. Simple flow-injection system for the simultaneous determination of nitrite and nitrate in water samples, **Talanta**, v. 64, n. 5, p. 1259-1265, 2004.

BURGUERA, J.L.; BURGUERA, M.; RONDÓN, C. An on-line flow-injection microwave-assisted mineralization and a precipitation/dissolution system for the determination of molybdenum in blood serum and whole blood by electrothermal atomic absorption spectrometry, **Talanta**, v. 58, p. 1167-1175, 2002.

CARMOUZE, J.P. O metabolismo dos ecossistemas aquáticos: fundamentos teóricos, métodos de estudo e análises químicas. Ed. Edgard Blücher Ltda: São Paulo. 253 p. 1994.

CAVICCHIOLI, A. ; GUTZ, I.G.R . O Uso de Radiação Ultravioleta para o Preparo de Amostra em Análise Inorgânica. **Química Nova**, v. 26, p. 913, 2003.

CERDÀ, A.; CERDÀ, V.. **An Introduction to Flow Analysis**. SCIWARE, Palma de Mallorca, 2009

CERDÀ, V.; ESTELA, J.M.; FORTEZA, R.; CLADERA, A.; BECERRA, E.; ALTIMIRA, P.; Sitjar, P.. **Flow techniques in water analysis**. *Talanta* 50 (1999) 695-705.

COSTA, L.M.; KORN, M.G.A.; CASTRO, J.T. Panejamento fatorial aplicado à digestão de amostras de feijão assistida por radiação microondas, **Química Nova**, v. 29, n. 1, p. 149-152, 2006.

DALLAGO, R.M.; DELANORA, R.; DRESSLER, V.L.; FLORES, E.M.M. Avaliação da influência do método de abertura de amostras sólidas orgânicas na determinação de fósforo total empregando métodos espectrofotométricos, **Resumos da 29ª Reunião Anual da Sociedade Brasileira de Química**, Águas de Lindóia, Brasil, 2006.

D'ANS, J.; FREY, W., *Ibid.*, 45, 1845 (1912). Apud GREENSPAN, F.P.; MACKELLAR D.G., Analysis of aliphatic per acids, **Anal. Chem.** 20 (1948) 1061-1063.

DELL'ERBA, A.; FALSANISI, D.; LIBERTI, L.; NOTAMICOLA, M.; SANTORO, D. **Disinfecting behaviour of peracetic acid for municipal wastewater reuse Desalination.** 168 (2004) 435-442.

DEYONG HE, Z.Z.; YING HUANG, Y.H. Chemiluminescence microflow injection analysis system on a chip for the determination of nitrite in food. **Food Chemistry**, v. 101, p. 667-672, 2002.

DRUMMOND, L.; MAHER, W. Determination of phosphorus in aqueous solution via formation of the phosphoantimonymolybdenumblue complex Re-examination of optimum conditions for the analysis of phosphate, **Analytica Chimica Acta**, V. 302, p. 69-74, 1995.

ELLIOTT, W. N.; MOSTYN R. A.. The Determination of Phosphate in Detergents by Cool-f lame Emission Spectroscopy, **Analyst**, v. 96, p. 452-456, 1971.

ESTELA, J. M; CERDÀ, V. Flow analysis techniques for phosphorus: an overview. **Talanta**, v. 66, n. 2, p. 307-331, 2005.

FARAJI, M.; YAMINI, Y.; SALEH, A.; REZAEI, M.; GHAMBARIAN, M.; HASSANI, R. A nanoparticle-based solid-phase extraction procedure followed by flow injection inductively coupled plasma-optical emission spectrometry to determine some heavy metal ions in water samples, **Analytica Chimica Acta**, v. 659, p. 172–177, 2010.

Fili, S.P.; OLIVEIRA, E.; OLIVEIRA, P.V. On-line digestion in a focused microwave-assisted oven for elements determination in orange juice by inductively coupled plasma optical emission spectrometry, **J. Braz. Chem. Soc.**, v. 14, n. 3, p. 435-441, 2003.

GALBÁN, J. ; SANZ, V.; MARCOS ,S. Selective peracetic acid determination in the presence of hydrogen peroxide using a label free enzymatic method based on catalase. **Anal Bioanal Chem**, n. 398, p. 2117–2124, 2010.

GRASSI, V.; DIAS, A.C.B.; ZAGATTO, E.A.G. Flow systems exploiting in-line prior assays. **Talanta**, v. 64, p. 1114-1118, 2004.

GREENSPAN, F.P.; MACKELLAR D.G. Analysis of aliphatic per acids. **Anal. Chem.**, v. 20, p. 1061-1063, 1948.

HARMS, D.; KARST, U. Rapid and selective determination of peroxyacetic acid in disinfectants using flow injection analysis. **Analytica Chimica Acta**, v. 389, p. 233-238, 1999.

HIGASHI, N.; YOKOTA, H.; HIRAKI, S.; OZAK, Y. Direct Determination of Peracetic Acid, Hydrogen Peroxide, and Acetic Acid in Disinfectant Solutions by Far-Ultraviolet Absorption Spectroscopy, **Anal. Chem.**, v. 77, p. 2272-2277, 2005.

HORSTKOTTE, B.; ELSHOLZ, O.; CERDÁ, V. Review on Automation using Multisyringe Flow Injection Analysis., **J. Flow Injection Anal.**, v. 22, n. 2, p. 99–109, 2005.

HUANG, X.; ZHANG, J. Neutral persulfate digestion at sub-boiling temperature in an oven for total dissolved phosphorus determination in natural waters, **Talanta**, n. 78, p. 1129–1135, 2009.

JING-FU, L.; GUI-BIN, J. Selective determination of orthophosphate and total inorganic phosphates in detergents by flow injection photometric method, **Talanta**, v. 52, p. 211-216, 2000.

JOHTNSON, K.S.; PETTY, R.L. Determination of Phosphate in Seawater by Flow Injection Analysis with Injection of Reagent, **Anal. Chem.**, v. 54, p. 1185-1187, 1982.

KARLBERG, B.; PACEY, G.E.; **Flow Injection Analysis: A practical guide.** Elsevier:Amsterdam, 1989 372p.

KORN, M.; PRIMO, P.M. ; Sousa, C.S. Influence of ultrasonic waves on phosphate determination by the molybdenum blue method, **Microchemical Journal**, v. 73, p. 273–277 , 2002.

KHANMOHAMMADI, M.; ASHORI, A.; KARGOSHA, K.; GARMARUDI, A. B. Simultaneous Determination of Sodium Tripolyphosphate, Sodium Sulfate and Linear Alkylbenzensulfonate in Washing Powder by Attenuated Total Reflectance: Fourier Transform Infrared Spectrometry, **J Surfact Deterg**, v. 10, p.81-86, 2007

KITIS, M. Disinfection of wastewater with peracetic acid: a review, **Environ. Int.**, v. 30, p.47-55, 2004.

KOVALEVA, J.; DEGENER, J.E.; van der Mei, H.C. Mimicking disinfection and drying of biofilms in contaminated endoscopes, **Journal of Hospital Infection**, v. 76, p. 345-350, 2010.

KRONKA, E.A.M.; REIS, B.F.; KORN, M.; BERGAMIN, H. Multicommutation in Flow Analysis .5. Binary Sampling for Sequential Spectrophotometric Determination of Ammonium and Phosphate in Plant Digests, **Analytica Chimica Acta**, 334: 287, 1996.

KRUG, F.J. **Métodos de preparo de amostras: Fundamentos sobre preparo de amostras orgânicas e inorgânicas para análise elementar.** 1º edição. Piracicaba: 2008, 340p.

LAËS, A.; VUILLEMIN, R.; LEILDE, B.; SARTHOU, G.; BOURNOT-MAREC, C.; BLAIN, S. Impact of environmental factors on in situ determination of iron in seawater by flow injection analysis, **Marine Chemistry**, v. 97, n. 3-4, p. 347-356, 2005.

LAVORANTE, A.F. **Desenvolvimento de instrumentação e procedimentos analíticos automáticos para a determinação espectrofotométrica de tensoativos em águas.** Tese de doutorado. Centro de Energia nuclear na Agricultura, USP, Piracicaba, 2006.

LAVORANTE, A.F.; MORALES-RUBIO, A.; GUARDIA, M.; REIS, B. F. A multicommutated stop-flow system employing LEDs-based photometer for the sequential determination of anionic and cationic surfactants in water, **Analytica Chimica Acta**, v. 600, n. 1-2, p. 58-65, 2007.

LEFEVRE, F.; AUDIC, M.; FERRAND, F. Peracetic acid disinfection of secondary effluents discharged off coastal seawater, **Water Sci. Tech.**, n. 25, p. 155-164 , 1992.

LIANG, Y.; YUAN, D.; LI, Q.; LIN, Q. Flow injection analysis of nanomolar level orthophosphate in seawater with solid phase enrichment and colorimetric detection, **Marine Chemistry**, v. 103, p. 122–130, 2007.

LONGMAN, G.F. **The Analysis of Detergents and Detergent Products.** Chichester, 1975.

LUQUE DE CASTRO, M. D.; PRIEGO-CAPOTE, F. Ultrasound-assisted preparation of liquid samples, **Talanta**, v.72, p. 321-334, 2007.

MACEDO, S.M.; JESUS, R.M.; GARCIA, K.S.; HATJE, V.; QUEIROZ, A.F.S.; FERREIRA, S.L.C., Determination of total arsenic and arsenic (III) in phosphate fertilizers and phosphate rocks by HG-AAS after multivariate optimization based on Box-Behnken design, **Talanta**, v.80, n.2, p. 974-979, 2009.

MAHAN, B.M.; MYERS, R.J. **Química: um curso universitário.** 4 ed, São Paulo: Edgard Blücher Ltda, 1995.

MAHER, W.; KRIKOWA, F.; WRUCK, D.; LOUIE, H.; NGUYEN, T.; HUANG, W.Y. Determination of total phosphorus and nitrogen in turbid waters by oxidation with alkaline potassium peroxodisulfate and low pressure microwave digestion, autoclave heating or the use of closed vessels in a hot water bath: comparison with Kjeldahl digestion, **Analytica Chimica Acta**, v. 463, n. 2, p. 283-293, 2002.

MAZZOLA, P.G.; PENNA, T.C.V.; MARTINS, A.M.S. Determination of decimal reduction time (D value) of chemical agents used in hospitals for disinfection purposes, **BMC Infectious Diseases**, v. 3, 2003.

MORRIS, R. Reduction of microbial levels in sewage effluents using chlorine and peracetic acid disinfectants, **Water Sci. Tech.**, n. 27, p. 387-393, 1993.

MUTIC, J.J.; NIKOLIC-MANDIC, S.D.; LOLIC, A.Dj.; MANOJLOVIC, D.D. Determination of iodide and bromide by flow methods with amperometric detection, **Journal of Analytical Chemistry**, v. 63, n. 9, p 907-913, 2008.

NAKAMURA, H.; HASEGAWA, M.; NOMURA, Y.; IKEBUKURO, K.; ARIKAWA, Y.;KARUBE, I. Improvement of a CL-FIA system using maltose phosphorylase for the determination of phosphate-ion in freshwater, **Analytical Letters**, v. 36, n. 9, p. 1805-1807, 2003.

NAKATANI, N.; KOZAKI, D.; MASUDA, W.; NAKAGOSHI, N.; HASEBE, K.; MORI, M.; TANAKA, K. Simultaneous spectrophotometric determination of phosphate and silicate ions in river water by using ion-exclusion chromatographic separation and post-column derivatization, **Analytica Chimica Acta**, v. 619, n. 1,p. 110-114, 2008.

NÓBREGA, J.A.; TREVIZAN, L.C.; ARAÚJO, G.C.L.; NOGUEIRA, A.R.A. Focused-microwave-assisted strategies for sample preparation, **Spectrochimica Acta Part B**, v. 57, p. 1855-1876, 2002.

OSIBANJO, O.; ALTAMRAH, S.A.; TOWNSHEND, A. Molecular-emission cavity analysis .26. determination of total phosphate in detergents, **Analytica Chimica Acta**, v. 162, p. 409-411, 1984.

ORTH, R. The importance of disinfection for the hygiene in the dairy and beverage production, **International Biodeterioration & Biodegradation**, v. 41, p. 201-208, 1998.

PACENTI, M.; DUGHER, S.; BOCCALON, P.; ARCANGEL, G.; DOLARA, P.; CUPELLI, V. Air Monitoring and Assessment of Occupational Exposure to Peracetic Acid in a Hospital Environment, **Industrial Health**, v. 48, p. 217–221, 2010.

PAIM, A.P.S.; REIS, B.F.; KORN, M.. Determinação Espectrofotométrica de Ácido Ascórbico Em Fármacos Empregando amostragem Binária Em Fluxo, **Química Nova**, v. 21, n. 2, p. 47-50, 1998

PAIM, A.P.S.; PEREIRA, E.R.; SANTOS, H.R.; ZAIAT, M. Digestão de Amostras de águas Residuárias para Determinação de Fósforo. **Analytica**, v. 12, p. 45-49, 2004

PÁSCOA, R.N.M.J.; TÓTH, I.V.; RANGEL, A.O.S.S.. Sequential injection trace determination of iron in natural waters using a long-pathlength liquid core waveguide and different spectrophotometric chemistries, **Limnol. Oceanogr.: Methods**, v. 7, p. 795–802, 2009.

PEIXOTO, E.M.A.; Fósforo, **Química Nova na Escola**, número 15, p. 51, 2002.

PESSOA NETO, O.D. **Determinação de Fósforo em Tônicos Fortificantes por Fotometria de Chama Usando um Titulador Fluxo-Batelada**. 2006. Dissertação (Mestrado em Química). Departamento de Química, Universidade Federal da Paraíba, João Pessoa. 2006.

PETTAS, I.A.; KARAYANNIS, M.I. Simultaneous spectra-kinetic determination of peracetic acid and hydrogen peroxide in a brewery cleaning-in-place disinfection process, **Analytica Chimica Acta**, v. 522, p. 275-280, 2004.

PINKERNELL, U.; KARST, U.; CAMMANN, K. Determination of peroxyacetic acid using high-performance liquid chromatography with external calibration, **Anal. Chem.**, v.66, p. 2599-2602, 1994.

PINKERNELL, U.; LUKE, H.J.; KARST, U. Selective photometric determination of peroxycarboxylic acids in the presence of hydrogen peroxide, **Analyst**, v. 122, p. 567-571, 1997.

QUARESMA, M.C.B.; CASSELLA, R.J.; Guardia, M.; Santelli, R.E. Rapid on-line sample dissolution assisted by focused microwave radiation for silicate analysis employing flame atomic absorption spectrometry: iron determination, **Talanta** 62 (2004) 807–811

RAJALA-MUSTONEN, R.L.; TOIVOLA, P.S.; HEINONEN-TANSKI, H. Effects of peracetic acid and UV irradiation on the inactivation of coliphages in wastewater, **Water Sci. Technol.**, v. 35, p. 237-241, 1997.

REIS, B.F.; BERGAMIN FILHO, H. Evolução dos Injetores Empregados Em Sistemas de Análise Química Por Injecao Em Fluxo, **Química Nova**, v. 16, n. 6, p. 570-573, 1993.

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**, v. 293, p. 129-138, 1994.

REIS, B.F. Análise Química Em Fluxo. Vinte Anos de Desenvolvimento. **Química Nova**, v. 19, n. 1, p. 51, 1996.

RIBEIRO, M.F.T. **Sistemas de fluxo contínuo baseados em novos conceitos de gestão de flúidos**. Tese de doutorado. Faculdade de farmácia da Universidade do Porto. Porto, 2008.

ROCHA, F.R.P.; REIS, B.F. A flow system exploiting multicommutation for speciation of inorganic nitrogen in waters. **Analytica Chimica Acta**, v. 409, n. 1-2, p. 227-235, 2000.

ROCHA, F.R.P.; REIS, B.F.; ZAGATTO, E.A.G.; LIMA, J.L.F.C. Multicommutation in flow analysis: concepts, applications and trends, **Analytica Chimica Acta**, v. 468, p. 119-131, 2002.

RÓDENAS-TORRALBA, E.; MORALES-RUBIO, A.; LAVORANTE, A.F.; REIS, B.F.; GUARDIA, M. Micropumping multicommutation turbidimetric analysis of waters, **Talanta**, n. 73, p. 742–747, 2007.

RÓDENAS–TORRALBA, E.; ROCHA, F.R.P.; REIS, B.F.; MORALES-RUBIO, A.; GUARDIA, M.. Evaluation of a multicommutated flow system for photometric environmental measurements, **J. Autom. Methods Manage. Chem.**, p.1-9, 2006

RÜTTINGER, H.; RADSCHUWEIT, A. Determination of peroxides by capillary zone electrophoresis with amperometric detection, **Journal of Chromatography A**, v. 868, p. 127–134, 2000.

RUZICKA, J.; HANSEN, E.H.. Flow injection analyses. Part.1. A new concept of fast continuous flow analysis. **Analytica Chimica Acta**, v. 78, p. 145-157, 1975.

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

SAAD, B.; WAI, W.T.; JAB, MD. S.; NGAH, W.S.W.; SALEH, M.I.; SLATER, J.M. Development of flow injection spectrophotometric methods for the determination of free available chlorine and total available chlorine: comparative study, **Analytica Chimica Acta**, v. 537, n. 1-2, p. 197-206, 2005.

SALAMI, F.H.; BONIFÁCIO, V.G.; FATIBELLO-FILHO, O. Determinação espectrofotométrica em fluxo de cloro em água usando célula de longo caminho óptico e multicomutação, **Química Nova**, v.. 32, n. 1, p. 112-115, 2009.

SANCHES, S. M.; VIEIRA, E.M.; PRADO, E.L.; BENETTI, F.; TAKAYANAGUI, A. M. M. Estudo da presença da toxina microcistina-LR em água utilizada em clínica de hemodiálise e validação de um método analítico, **Ecl. Qui.**, vol. 32, n. 4, p. 43-48, 2007.

SANCHEZ-RUIZ, C.; MARTINEZ-ROYANO, S.; TEJERO-MONZON, I. An evaluation of the efficiency and impact of raw wastewater disinfection with peracetic acid prior to ocean discharge, **Water Sci. Tech.**, v. 32, p. 159-166, 1995.

SHOWELL, M. S. et al. **Powdered Detergents**. New York, 1998

SKEGGS, L. Automatic method for colorimetric analysis, **Am. J. Clin. Path.** v. 28, p. 311-322, 1957.

SOSTAR-TURK, S.; PETRINIC, I.; SIMONIC, M.; RES. Laundry wastewater treatment using coagulation and membrane filtration **Conserv. Recycl.**, v. 44, p.185-196, 2005.

SOUZA, J.B.. **Avaliação de métodos para desinfecção de água, empregando cloro, ácido peracético, ozônio e o processo de desinfecção combinado ozônio/cloro**. Tese de doutorado. Escola de Engenharia de São Carlos, USP. São Carlos 2006.

SREBERNICH, S.M. Utilização do dióxido de cloro e do ácido peracético como substitutos do hipoclorito de sódio na sanitização do cheiro-verde minimamente processado, **Ciênc. Tecnol. Aliment.**, v. 27, n. 4, p. 744-750, 2007.

STANDARD METHODS FOR THE EXAMINATION OF WATER AND WASTEWATER, 20th Ed, Washington, DC, USA, 1998.

SUTILI, F.K.; MIOTTO, N.; RIGOTI, E.; PERGHER, S.B.C.; PENHA, F.G. Aplicação de zeólitas sintéticas como coadjuvante em formulação detergente, **Quim. Nova**, v.. 32, n. 4, p. 879-883, 2009.

VIEIRA, J.A.; RAIMUNDO JR, I.M.; ROHWEDDER, J.J.R.; REIS, B.F. A versatile set up for implementing different flow analysis approaches: Spectrophotometric determination of nickel in steel alloys, **Microchemical Journal**, v.82, n. 1, p. 56-60, 2006.