



FURG

Dissertação de mestrado

**DESENVOLVIMENTO DE MÉTODO EMPREGANDO DLLME
PARA EXTRAÇÃO E PRÉ-CONCENTRAÇÃO DE FERRO EM
AMOSTRAS DE ÁGUA COM DIFERENTES SALINIDADES**

Éderson Rodrigues Pereira

PPGQTA

Rio Grande, RS - Brasil

2013

**DESENVOLVIMENTO DE MÉTODO EMPREGANDO DLLME PARA
EXTRAÇÃO E PRÉ-CONCENTRAÇÃO DE FERRO EM
AMOSTRAS DE ÁGUA COM DIFERENTES SALINIDADES**

por

ÉDERSON RODRIGUES PEREIRA

Dissertação apresentada ao Programa de Pós-Graduação em Química Tecnológica e Ambiental, da Universidade Federal do Rio Grande (RS), como requisito parcial para obtenção do grau de MESTRE EM QUÍMICA.

PPGQTA

Rio Grande, RS - Brasil

2013

Universidade Federal do Rio Grande
Escola de Química e Alimentos
Programa de Pós-Graduação em Química
Tecnológica e Ambiental

A Comissão Examinadora, abaixo assinada, aprova a Dissertação de Mestrado

**DESENVOLVIMENTO DE MÉTODO EMPREGANDO DLLME
PARA EXTRAÇÃO E PRÉ-CONCENTRAÇÃO DE FERRO EM AMOSTRAS
DE ÁGUA COM DIFERENTES SALINIDADES**

elaborada por

ÉDERSON RODRIGUES PEREIRA

Como requisito parcial para a obtenção do grau de
Mestre em Química

COMISSÃO EXAMINADORA

Prof. Dr. Fábio Andrei Duarte - Orientador (FURG - RS)

Prof. Dr. Edson Irineu Müller (UFSM - RS)

Prof. Dr. Carlos Francisco Ferreira de Andrade (FURG - RS)

Rio Grande, 09 de maio de 2013

Dedico este trabalho à minha família, em especial ao meu pai Clodomiro, por toda confiança, sacrifício, apoio, incentivo e compreensão.

AGRADECIMENTOS

Ao **Programa de Pós-Graduação em Química Tecnológica e Ambiental** da Universidade Federal do Rio Grande, meus agradecimentos pela oportunidade de realizar este trabalho.

À **Coordenação de Aperfeiçoamento de Pessoal de Nível Superior** pelo apoio financeiro prestado.

Ao Prof. Dr. **Fábio Andrei Duarte**, pela orientação, confiança, amizade, profissionalismo, paciência e seriedade que, acima de tudo, contribuíram para meu amadurecimento profissional e pessoal.

Ao Prof. Dr. **Carlos Francisco Ferreira de Andrade**, por participar como banca examinadora, pela amizade, por todo apoio e contribuição neste trabalho, além do grande exemplo profissional.

Ao Prof. Dr. **Edson Irineu Muller**, pela participação como banca examinadora e pelas contribuições que enriqueceram significativamente este trabalho.

Ao Prof. Dr. **Ednei Gilberto Primel**, pelo aprendizado, amizade, respeito, exemplo profissional e o importante apoio e contribuição durante o desenvolvimento deste trabalho.

Aos professores do Programa de Pós-Graduação em Química Tecnológica e Ambiental, em especial à **Prof^a. Dr^a. Jaqueline Garda Buffon** por participar da banca de qualificação, contribuindo de forma expressiva para o aperfeiçoamento desta dissertação.

A todos os amigos e colegas do **Laboratório de Análise de Compostos Orgânicos e Metais**, pela amizade, seriedade, respeito e comprometimento com a excelência de trabalho, além do importante espírito de grupo vivenciado diariamente.

Ao colega **Bruno Meira Soares** do LACOM, pela amizade construída, respeito, incansável apoio, companheirismo, além das inúmeras ideias compartilhadas dentro e fora do laboratório, auxiliando e contribuindo de forma expressiva para a realização deste e de vários trabalhos, meu muito obrigado.

Ao colega **Augusto Alves Vieira** do LACOM, pela amizade, respeito e companheirismo, além da grande contribuição nas atividades práticas deste e de outros trabalhos.

À colega **Juliana Villela Maciel** do LACOM, pela amizade, paciência, alegria e apoio, além de toda disponibilidade em auxiliar-me sempre que necessário possibilitando a execução deste trabalho.

Ao colega **Jaime Silvestre Mandlate** do LACOM, pela amizade, companheirismo e que, mesmo em pouco tempo, se tornou um grande colega.

À colega **Liziara da Costa Cabrera** do LACOM, pela grande amizade, incentivo, apoio, bolos de cenoura, carinho e muita atenção, qualidades estas que sempre me motivaram para prosseguir neste trabalho.

À colega **Sergiane Caldas Barbosa** do LACOM, pela grande amizade, apoio, carinho, respeito e ao auxílio incansável dentro das atividades instrumentais, estando sempre à disposição para ajudar.

Ao secretário do PPGQTA **Diego Goulart Pereira**, pelo auxílio e disposição demonstrados nas questões da pós-graduação.

SUMÁRIO

LISTA DE FIGURAS	x
LISTA DE TABELAS	xii
LISTA DE ABREVIATURAS E SÍMBOLOS	xiii
RESUMO	xv
ABSTRACT	xvi
1. INTRODUÇÃO	1
2. REVISÃO DA LITERATURA	4
2.1 Ferro	4
2.2 Métodos para extração de Fe em água	6
2.3 Microextração líquido-líquido dispersiva	8
2.4 Técnicas para determinação de Fe	11
2.4.1 Espectrofotometria.....	11
2.4.2 Espectrometria de absorção atômica.....	14
2.4.3 Espectrometria de emissão ótica com plasma indutivamente acoplado ...	15
3. MATERIAIS E MÉTODOS	16
3.1 Instrumentação	16
3.2 Reagentes	16
3.3 Amostras de água.....	17
3.4 Otimização das condições instrumentais da técnica de espectrofotometria UV-Vis para a determinação de Fe em amostras de água	18
3.4.1 Espectros de absorção do complexo Fe(APDC) ₃ em água	18
3.4.2 Estudo do tempo de formação do complexo Fe(APDC) ₃ em água	18
3.4.3 Espectros da absorção do complexo Fe(APDC) ₃ preparado em solvente dispersor	19
3.4.4 Estudo do tempo de formação do complexo Fe(APDC) ₃ preparado em solvente dispersor.....	19
3.5 Efeito do pH	19

3.6	Otimização da DLLME	20
3.6.1	Formação de fase sedimentada.....	20
3.6.2	Escolha do solvente extrator e dispersor	21
3.6.3	Escolha do volume do solvente extrator e dispersor.....	21
3.6.4	Concentração de APDC.....	21
3.6.5	Tempo de extração	22
3.6.6	Interferentes.....	22
3.7	Estudo de interconversão entre Fe(II) e Fe(III)	23
3.8	Desempenho analítico	23
3.8.1	Linearidade	23
3.8.2	Limite de detecção e limite de quantificação	24
3.8.3	Precisão e exatidão	24
3.9	Determinação de Fe por UV-Vis utilizando 1,10-fenantrolina	25
3.10	Aplicação do método desenvolvido em amostras de água com diferentes salinidades.....	25
4.	APRESENTAÇÃO E DISCUSSÃO DOS RESULTADOS	26
4.1	Ajuste das condições instrumentais para determinação de Fe por UV-Vis.....	26
4.1.1	Espectros de absorção do complexo Fe(APDC) ₃ em água	26
4.1.2	Estudo do tempo de formação do complexo Fe(APDC) ₃ em água	27
4.1.3	Estudo da absorção do complexo Fe(APDC) ₃ em meio de solvente dispersor	27
4.1.4	Estudo do tempo de formação do complexo Fe(APDC) ₃ em meio de solvente dispersor.....	28
4.2	Efeito do pH	29
4.3	Otimização das condições para DLLME	31
4.3.1	Formação da fase sedimentada.....	31
4.3.2	Seleção do solvente extrator.....	31

4.3.3 Escolha do solvente dispersor	32
4.3.4 Seleção do volume do solvente extrator	33
4.3.5 Escolha do volume de solvente dispersor	34
4.3.6 Concentração do complexante	35
4.3.7 Tempo de extração	36
4.3.8 Interferentes	37
4.4 Desempenho do método analítico	39
4.4.1 Curva de calibração e linearidade	39
4.4.2 Limite de detecção e limite de quantificação	41
4.4.3 Precisão e exatidão	42
4.5 Conversão entre as espécies	43
4.6 Aplicação do método	43
5. CONCLUSÕES	46
6. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS	47

LISTA DE FIGURAS

- Figura 1.** Esquema simplificado de um espectrofotômetro (Adaptado de *Principles and applications of UV-visible spectroscopy*) 13
- Figura 2.** Fluxograma do procedimento para extração de Fe empregando DLLME. 20
- Figura 3.** Espectros de absorção de solução de água ultrapura (10 mL, pH 4) contendo: (a) 0,3 mL de solução de APDC 1% (m/v) e (b) 0,3 mL de solução de APDC 1% (m/v) + 1,0 mg L⁻¹ Fe(III). 26
- Figura 4.** Estabilidade e tempo de formação do complexo Fe(APDC)₃ a partir de uma solução de 1 mg L⁻¹ de Fe(III) em pH 4, contendo 0,3 mL de APDC 1% (m/v) em solução aquosa. 27
- Figura 5.** Espectros de absorção de uma solução de 1 mg L⁻¹ de Fe(III) em pH 4, contendo 0,3 mL de APDC 1% (m/v) em diferentes solventes. 28
- Figura 6.** Estabilidade e tempo de formação do complexo Fe(APDC)₃ a partir de uma solução de 1 mg L⁻¹ de Fe(III), contendo 0,3 mL de APDC 1% (m/v) diluído em etanol. 29
- Figura 7.** Efeito do pH na complexação de íons Fe(III) com APDC, para faixa de pH entre 2 e 8 (a) e para faixa de pH entre 2,5 e 3,5 (b). Condições: volume de amostra: 10 mL; 1,0 mg L⁻¹ Fe(III); APDC: 0,3 mL solução 1% (m/v). 30
- Figura 8.** Efeito do tipo de solvente dispersor. Condições: volume de amostra: 10 mL; 1,0 mg L⁻¹ Fe(III); pH da amostra: 3,3; APDC: 0,3 mL solução 1% (m/v); volume do solvente dispersor (etanol): 500 µL; volume de solvente extrator: 50 µL. As letras a, b e c classificam as médias que apresentaram diferença significativa entre si. CCl₄ - tetracloreto de carbono, C₂Cl₄ - tetracloroetileno, C₆H₄Cl₂ - 1,2-diclorobenzeno e C₆H₅Cl - monoclorobenzeno. 32
- Figura 9.** Efeito do tipo de solvente dispersor. Condições: volume de amostra: 10 mL; 1,0 mg L⁻¹ Fe(III); pH da amostra: 3,3; APDC: 0,3 mL solução 1% (m/v); volume do solvente dispersor: 500 µL; volume do solvente extrator (1,2-diclorobenzeno): 50 µL. As letras a e b classificam as médias que apresentaram diferença significativa entre si. 33

- Figura 10.**Efeito dos diferentes volumes de 1,2-diclorobenzeno ($C_6H_4Cl_2$).
Condições: volume de amostra: 10 mL; $1,0\text{ mg L}^{-1}$ Fe(III); pH da amostra: 3,3; APDC: 0,3 mL solução 1% (m/v); volume de solvente dispersor (etanol): 500 μ L. As letras a e b classificam as médias que apresentaram diferença significativa entre si. 34
- Figura 11.**Efeito dos diferentes volumes de etanol (solvente dispersor). Condições: volume de amostra: 10 mL; $1,0\text{ mg L}^{-1}$ Fe(III); pH da amostra: 3,3; APDC: 0,3 mL solução 1% (m/v); volume de solvente extrator (1,2-diclorobenzeno): 50 μ L. As letras a e b classificam as médias que apresentaram diferença significativa entre si. 35
- Figura 12.**Efeito das diferentes concentrações de APDC. Condições: volume de amostra: 10 mL; $1,0\text{ mg L}^{-1}$ Fe(III); pH da amostra: 3,3; volume de solvente extrator (1,2-diclorobenzeno): 50 μ L; volume de solvente dispersor (etanol): 500 μ L. As letras a, b e c classificam as médias que apresentaram diferença significativa entre si. 36
- Figura 13.**Histograma dos RI antes da definição da faixa linear..... 39
- Figura 14.**Histograma dos RI após a definição da faixa linear..... 40
- Figura 15.**Razões A/m com LS e LI (5%) do limite de tolerância para cada concentração de Fe após a definição da faixa linear..... 40

LISTA DE TABELAS

Tabela 1. Concentrações iniciais em mg L^{-1} dos íons interferentes.	22
Tabela 3. Limites toleráveis para diferentes íons na determinação Fe por UV-Vis.	38
Tabela 4. Características dos diferentes métodos de extração e determinação de Fe em amostras de água.	41
Tabela 5. Precisão e exatidão para a determinação de Fe(III) em amostras de água com diferentes salinidades. Resultados correspondem a média \pm desvio padrão, $n = 5$	42
Tabela 6. Determinação de Fe total em amostra de água de alta salinidade a partir da adição das espécies Fe(III) e Fe(II). Resultados correspondem a média \pm desvio padrão, $n = 5$	43
Tabela 7. Determinação de Fe total em amostras de água com diferentes salinidades usando o método proposto em comparação com o método 1,10- fenantrolina. Resultados correspondem a média \pm desvio padrão ($\mu\text{g L}^{-1}$), $n = 5$	44

LISTA DE ABREVIATURAS E SÍMBOLOS

1. A/m, razão sinal/concentração
2. AAS, espectrometria de absorção atômica, do inglês *atomic absorption spectrometry*
3. ABNT, Associação Brasileira de Normas Técnicas
4. ANOVA, análise de variância, do inglês *analysis of variance*
5. APDC, pirrolidina ditiocarbamato de amônio, do inglês *ammonium pyrrolidinedithiocarbamate*
6. CONAMA, Conselho Nacional do Meio Ambiente
7. CPE, extração em ponto de nuvem, do inglês *cloud point extraction*
8. CRM, material de referência certificado, do inglês *certified reference material*
9. DGT, gradiente difusivo em filme, do inglês *diffusive gradients in thin-films*
10. DLLME, microextração líquido-líquido dispersiva, do inglês *disersive liquid-liquid microextraction*
11. EPA, Agência de Proteção Ambiental, do inglês *Environmental Protection Agency*
12. ET AAS, espectrometria de absorção atômica com atomização eletrotérmica, do inglês *electrothermal atomic absorption spectrometry*
13. ETV, vaporização eletrotérmica, do inglês *electrothermal vaporization*
14. F AAS, espectrometria de absorção atômica com chama, do inglês *flame atomic absorption spectrometry*
15. ICP OES, espectrometria de emissão óptica com plasma indutivamente acoplado, do inglês *inductively clouped plasma optical emission spectrometry*
16. LI, limite inferior
17. LLE, extração líquido-líquido, do inglês *liquid-liquid extraction*
18. LOD, limite de detecção, do inglês *limit of detection*
19. LOQ, limite de quantificação, do inglês *limit of quantification*
20. LS, limite superior
21. MIBK, metilisobutilcetona
22. RI, resíduos de interpolação

23. rpm, rotações por minuto
24. RSD, desvio padrão relativo, do inglês *relative standard deviation*
25. SFO, solidificação da gota flutuante, do inglês *solidification of floating organic*
26. SPE, extração em fase sólida, do inglês *solid-phase extraction*
27. THF, tetrahidrofurano
28. UV-Vis, ultravioleta-visível
29. ϵ , absorvidade molar
30. λ , comprimento de onda

RESUMO

Título: Desenvolvimento de Método Empregando DLLME para Extração e Pré-concentração de Ferro em Amostras de Água com Diferentes Salinidades

Autor: Éderson Rodrigues Pereira

Orientador: Prof. Dr. Fábio Andrei Duarte

Neste trabalho foi desenvolvido e validado um método analítico para a determinação de Fe total em amostras de água com diferentes salinidades empregando a microextração líquido-líquido dispersiva (DLLME), seguido de determinação espectrofotométrica na região do ultravioleta-visível. Nas extrações por DLLME, o Fe foi complexado com pirrolidina ditiocarbamato de amônio (APDC) e extraído após a injeção de uma mistura composta de 1,2-diclorobenzeno (solvente extrator) e etanol (solvente dispersor). Os fatores que influenciam a eficiência de extração (tipo e volume de solvente extrator e dispersor, concentração de APDC e tempo de extração) e subsequente determinação espectrofotométrica foram otimizados. Após otimização das condições, a curva de calibração foi linear entre 0,02 e 2,0 mg L⁻¹ ($r^2 = 0,9998$) e os limites de detecção e quantificação do método foram de 6,1 e 18,3 µg L⁻¹, respectivamente. O fator de pré-concentração foi de 3,3. A exatidão foi avaliada em termos de recuperação, com variação entre 90 e 102% e desvio padrão relativo (RSD) inferiores a 12%. A exatidão do método também foi avaliada utilizando um material de referência certificado (SRM 1643e, Elementos Traço em Água), o qual apresentou concordância de 104% e RSD de 5%. O método foi aplicado para amostras de água com diferentes salinidades, como água mineral, estuarina e de alto mar. Além disso, o método proposto apresentou concordância da ordem de 95%, quando comparado com o método 1,10-fenantrolina para a determinação de Fe total.

Palavras-chave: Microextração líquido-líquido dispersiva; Ferro; Espectrofotometria.

ABSTRACT

Title: Development of a Dispersive Liquid-liquid Microextraction Method for Iron Extraction and Pré-concentration in Water Samples with Different Salinities

Author: Éderson Rodrigues Pereira

Advisor: Prof. Dr. Fábio Andrei Duarte

A new method for iron determination in water samples with different salinities using dispersive liquid-liquid microextraction followed by UV-Vis spectrophotometric determination was developed. In the proposed method, Fe was complexed with ammonium pyrrolidinedithiocarbamate (APDC) and extracted after the injection of a mixture composed by 1,2-dichlorobenzene (extraction solvent) and ethanol (dispersive solvent) into the sample solution. The main factors that influencing the extraction efficiency (type and volume of the extraction and dispersive solvents, the amount of APDC, and extraction time) and its subsequent spectrophotometric determination were optimized. Under optimized conditions, the calibration curve was linear ranging from 0.02 to 2.0 mg L⁻¹ ($r^2 = 0.9998$) and the limit of detection and limit of quantification of method were 6.1 and 18.3 µg L⁻¹, respectively. The pre-concentration factor was 3.3. Accuracy was evaluated in terms of spike recovery, ranged from 90 to 102%, with relative standard deviation (RSD) lower than 12%. In addition, a certified reference material (SRM 1643e, Trace Elements in Water) was analyzed, with agreement of 104% and RSD of 5%. The method was applied for samples with different salinities, such as well, estuarine and seawater. In addition, the proposed method shows agreement about 95%, when compared with 1,10-phenantroline method for total Fe determination.

Keywords: Dispersive liquid-liquid microextraction; Iron; Spectrophotometry.

1. INTRODUÇÃO

Diversos elementos químicos presentes nos recursos hídricos são essenciais à vida principalmente por participar dos ciclos biogeoquímicos em macro e micro-organismos aquáticos.¹ Dentre esses elementos, diversos metais são essenciais para a vida ou meramente benéficos e, dependendo da concentração, podem ser altamente tóxicos.²

Dentre os elementos mais estudados no contexto da análise química, o Fe ganha destaque, pois é um constituinte essencial para os seres vivos. A deficiência de Fe em seres humanos têm sido associada a diversas alterações em processos metabólicos que podem afetar as funções cerebrais e motoras,^{3,4,5} além de ser a principal causa da anemia.⁶ Em ambientes aquáticos, o Fe é essencial para o crescimento e desenvolvimentos de plantas, as quais são indispensáveis na cadeia trófica, pois são produtoras primárias, suprindo de oxigênio e nutrientes muitas formas de vida. No entanto, o excesso de Fe pode causar diversos problemas de saúde tais como câncer e problemas no sistema nervoso.^{7,8} Nesse sentido, devido à importância do elemento Fe para a saúde e para o meio ambiente, torna-se muito importante o desenvolvimento de métodos analíticos para sua determinação em água.

Diferentes técnicas para a determinação de Fe em amostras de água têm sido reportadas na literatura, tais como espectrofotometria na região do ultravioleta-visível (UV-Vis),^{9,10} espectrometria de absorção atômica com atomização em chama (F AAS)^{11,12} ou atomização eletrotérmica (ET AAS).¹³ Também têm sido utilizadas técnicas que fazem uso de plasma para atomização/ionização do elemento como

¹ Neto et al.; *Poluição Marinha*, 2008, 440 p.

² Ansari et al.; *J. Appl. Sci.* 4 (2004) 1-20.

³ Batra et al.; *Indian J. Clin. Biochem.* 17 (2002) 108-114.

⁴ Beard, J. I.; *J. Nutr.* 131 (2001) 568S-579S.

⁵ Jellen et al.; *Biochimie* 91 (2009) 1255-1259.

⁶ Soetan et al.; *Afr. J. Food Sci.* 4 (2010) 200-222.

⁷ Bhatia, K.; *J. Neurol.* 258 (2011) 8-8.

⁸ Cortese et al.; *World J. Biol. Psych.* 13 (2012) 223-231.

⁹ Almendral et al.; *Microchim. Acta* 147 (2004)

¹⁰ Kozak et al.; *Anal. Chim. Acta* 702 (2011) 213-217.

¹¹ Khayatian et al.; *Quim. Nova* 35 (2012) 535-540.

¹² Kremling et al.; *Anal. Chim. Acta* 70 (1974) 35-39.

¹³ Naozuka, J.; Oliveira, P. V.; *J. Braz. Chem. Soc.* 17 (2006) 521-526.

espectrometria de emissão óptica com plasma indutivamente acoplado (ICP OES),¹⁴ porém com menor frequência. A técnica de UV-Vis é interessante do ponto de vista analítico por ser simples, versátil, rápida, precisa e relativamente barata quando comparada a maioria das técnicas espectrométricas.¹⁵ No entanto, a determinação direta de Fe por UV-Vis em baixas concentrações é dificultada pela sua baixa sensibilidade quando comparada às demais técnicas. Por esta razão, uma etapa de pré-concentração pode ser requerida.

Diferentes métodos têm sido desenvolvidos com o propósito de extrair e/ou pré-concentrar o analito em amostras de água, onde podem ser citados a extração líquido-líquido (LLE),¹² extração em fase sólida (SPE),^{11,14} co-precipitação,¹⁶ extração em ponto nuvem (CPE)^{17,18} e resinas trocadoras com gradiente difusivo em filme (DGT).¹⁹ Alguns desses métodos possuem desvantagens em relação a geração de resíduos, volume de solventes e tempo de análise. Os métodos de LLE e co-precipitação, por exemplo, consomem grandes quantidades de solventes além de serem relativamente demorados, enquanto que métodos como a CPE dependem de uma etapa de aquecimento.

A microextração líquido-líquido dispersiva (DLLME) é um método de extração e pré-concentração baseado em um sistema ternário de solventes e têm sido caracterizado como rápido, preciso, de baixo custo e com grande fator de enriquecimento. No início de seu desenvolvimento, a DLLME foi empregada para a extração e posterior determinação de compostos orgânicos.²⁰ Posteriormente, diversos trabalhos têm reportado a determinação elementar em amostras de água de analitos como cobre,²¹⁻²³ cobalto,²⁴ cádmio,^{25,26} arsênio,^{27,28}

⁹ Almendral *et al.*; *Microchim. Acta* 147 (2004)

¹¹ Khayatian *et al.*; *Quim. Nova* 35 (2012) 535-540.

¹² Kremling *et al.*; *Anal. Chim. Acta* 70 (1974) 35-39.

¹⁴ Xiong *et al.*; *Anal. Chim. Acta* 559 (2006) 113-119.

¹⁵ Abadi *et al.*; *Talanta* 99 (2012) 1-12.

¹⁶ Bayon *et al.*; *Geostand. Geoanal. Res.* 35 (2011) 145-153.

¹⁷ Giokas *et al.*; *Anal. Bioanal. Chem.* 373 (2002) 237-243.

¹⁸ Giokas *et al.*; *J. Anal. Atom. Spectrom.* 16 (2001) 521-526.

¹⁹ Jezequel *et al.*; *Estuar. Coast. Shelf Sci.* 72 (2007) 420-431.

²⁰ Rezaee *et al.*; *J. Chromatogr. A* 1116 (2006) 1-9.

²¹ Khani *et al.*; *Desalination* 266 (2011) 238-243.

²² Mohammadi *et al.*; *Anal. Chim. Acta* 653 (2009) 173-177.

²³ Škrliková *et al.*; *Microchem. J.* 99 (2011) 40-45.

²⁴ Yousefi *et al.*; *Microchim. Acta* 172 (2010) 75-82.

²⁵ Li *et al.*; *Spectrochim. Acta Part B* 64 (2009) 666-671.

²⁶ Wu *et al.*; *Anal. Methods* 3 (2011) 210.

²⁷ Liang *et al.*; *Microchim. Acta* 166 (2009) 47-52.

²⁸ Rivas *et al.*; *Spectrochim. Acta Part B* 64 (2009) 329-333.

mercúrio²⁹ e ferro³⁰, entre outros. Entretanto, há poucos trabalhos que avaliam o comportamento destes métodos em amostras de água com diferentes salinidades. Desta forma, este estudo propõe o desenvolvimento e validação de um método para a extração e pré-concentração de Fe total em amostras de água com diferentes salinidades empregando a DLLME seguida da determinação por UV-Vis.

²⁹ Jia *et al.*; *Spectrochim. Acta Part B* 66 (2011) 88-92.

³⁰ Moghadam *et al.*; *J. Hazard. Mater.* 197 (2011) 176-182.

2. REVISÃO DA LITERATURA

2.1 Ferro

O Fe é o quarto elemento mais abundante da crosta terrestre, onde uma pequena parte ocorre no estado livre (origem meteorítica), enquanto que a maior parte está combinada com enxofre, oxigênio e silício.³¹ A hematita (Fe_2O_3) é o principal minério de Fe de ocorrência natural constituído por 70% de Fe, podendo ocorrer ainda como limonita [$\text{FeO}(\text{OH}) \cdot n\text{H}_2\text{O}$] (42% de Fe), magnetita (Fe_3O_4) e siderita (FeCO_3). O Fe também forma diversos compostos com enxofre, dos quais a pirita (FeS_2) e a pirrotita (FeS) são os compostos mais abundantes.³² O Fe é um metal branco-prateado quando puro, dúctil, reativo e de ocorrência natural no meio ambiente, o qual, primeiramente é oxidado a sua forma ferrosa [Fe(II)] e então a forma férrica [Fe(III)]. O estado férrico pode sofrer hidrólise facilmente, levando a formação de compostos hidroxilados insolúveis (ferrugem). Além dos estados de oxidação II e III, o Fe pode ser encontrado com estados de oxidação que variam de IV a VI, onde as formas VI e V são encontradas apenas na forma de ânions “oxo”. Menores estados de oxidação podem ocorrer em compostos que contêm aceptores “pi”, como as fosfinas, olefina e CO.³²

As fontes de contaminação por Fe podem ser naturais ou antropogênicas. As fontes naturais são provenientes do processo de intemperismo, enquanto que as fontes antropogênicas são causadas principalmente pela mineração, fundição, soldagem e polimento de metais.³¹ Os efluentes urbanos (esgotos industriais e municipais) também estão entre as principais fontes antropogênicas de contaminação por Fe.

O comportamento do Fe no meio ambiente e sua disponibilidade na biota estão ligados principalmente ao seu estado de oxidação (II ou III) e a forma físico-química o qual se encontra.³¹ No estado de oxidação (II) e em ambientes anóxicos ácidos, o Fe inorgânico (disponível) está presente essencialmente como íon e possui forte tendência em formar complexos com compostos orgânicos. Em ambientes com pH acima de 8, a espécie Fe(II) é oxidada rapidamente a Fe(III) e predomina a

³¹ Nordberg *et al.*; 3ª ed. Academic Press. Califórnia, 2007, 992 p.

³² Lee, Blucher. São Paulo, 1999, 546 p.

formação de hidróxidos.^{31,32} No entanto, Fe(III) possui baixa solubilidade em água e tende a formar complexos com ligantes orgânicos naturais.³³

Há diversos micro-organismos e plantas que possuem grande capacidade de bioacumular Fe, tornando esse elemento essencial para seu crescimento e desenvolvimento.³⁴ Para seres humanos, o Fe é um componente importante na manutenção da homeostase celular, além de participar de diversos processos fermentativos e metabólicos, como ativador enzimático, estabilizador e componente funcional de proteínas.^{35,36} A deficiência de Fe no organismo leva à anemia, à alteração do metabolismo muscular e disfunções no sistema imunológico.⁴ Do contrário, o excesso de Fe causa hemossiderose e hemocromase, caracterizada por pigmentação na pele, lesão pancreática com diabetes, cirrose hepática, entre outras.^{35,36}

Os seres humanos estão expostos ao Fe principalmente através da alimentação. A resolução do CONAMA nº 357, de 17 de Março de 2005,³⁷ estabelece o limite máximo de Fe solúvel de 0,3 mg L⁻¹ para águas de abastecimento doméstico, água salina e água salobra enquanto que, para água de irrigação o limite máximo permitido é de 5,0 mg L⁻¹. A concentração de Fe presente em águas de superfície, subterrânea e marítima é dependente, principalmente, da origem do solo e de atividades antropogênicas. Em águas subterrâneas, o Fe está presente em concentrações entre 0,5 e 10 mg L⁻¹, essencialmente na forma divalente, enquanto que em águas marítimas a concentração não excede 0,1 mg L⁻¹.³⁸

Portanto, devido à importância deste elemento em ambientes aquáticos e para o ecossistema como um todo, o conhecimento da concentração de Fe em amostras de água se torna indispensável para estudos ambientais. Neste sentido, o desenvolvimento de métodos de extração e/ou pré-concentração, assim como métodos de determinação torna-se uma necessidade crescente na área de química analítica.

⁴ Beard, J. L.; *J. Nutr.* 131 (2001) 568S-579S.

³¹ Nordberg *et al.*; 3ª ed. Academic Press. Califórnia, 2007, 992 p.

³² Lee, Blucher. São Paulo, 1999, 546 p.

³³ Rue, E. L.; Bruland, K. W; *Mar. Chem.* 50 (1995) 117-138.

³⁴ Wells *et al.*; *Mar. Chem.* 48 (1995) 157-182.

³⁵ Batista-Nascimento *et al.*; *Oxid. Med. Cell. Longev.* (2012)

³⁶ Bleackley *et al.*; *Transfus. Med. Rev.* 23 (2009) 103-123.

³⁷ CONAMA, Conselho Nacional do Meio Ambiente, resolução nº 357, 2005.

³⁸ WHO, World Health Organization. Guidelines for drinking-water quality Geneva, 1996.

2.2 Métodos para extração de Fe em água

Em amostras de água o Fe pode estar nos estados de oxidação Fe(II) e Fe(III), solubilizado, coloidal ou na forma de complexos orgânicos e/ou inorgânicos.³¹ Quando a concentração de Fe está presente em níveis de mg L⁻¹ e a determinação é feita a partir de métodos espectrofotométricos, não há necessidade de métodos de extração. Neste caso, é necessário apenas um pré-tratamento da amostra de acordo com a espécie de interesse, levando em conta as características do complexante, quando o uso deste é requerido.

Kremling e Petersen¹² fizeram a extração de Fe total utilizando extração líquido-líquido (LLE) a partir da extração com metilisobutilcetona (MIBK). Neste método, o analito foi complexado com pirrolidina ditiocarbamato de amônio (APDC) e determinado posteriormente por F AAS e sua principal aplicação foi para amostras de água salina. Para isso, em 100 mL de água do mar foram adicionados 100 µL de uma solução de ácido clorídrico 0,01 mol L⁻¹ e 50 µL de solução APDC 2%. O pH da solução foi ajustado entre 3 e 4. Nesta solução foram adicionados 100 mL de MIBK com agitação durante 3 min. Após a separação das fases (por volta de 10 min), o Fe foi determinado por F AAS. De maneira similar, Akl³⁹ também fez a extração de Fe empregando LLE em amostras de água utilizando MIBK como solvente extrator. No entanto, neste trabalho³⁹ foi utilizado 2-carbometoxi-1,3-indandiona de sódio (CEIDNa) como agente complexante para Fe(III). O complexo formado (razão molar de 1:3) apresentou coloração vermelha e o pH ótimo para complexação foi entre 1,5 e 3,5.

Devido às baixas concentrações de Fe presentes, principalmente, em amostras de água salina, diferentes métodos têm sido desenvolvidos visando a pré-concentração do analito. Khayatian *et al.*,¹¹ desenvolveram um método baseado na extração e pré-concentração de espécies de Fe utilizando extração em fase sólida (SPE), seguida de determinação por F AAS. Para isso, os autores utilizam dimetil-(E)-2-[(Z)-1-acetil-2-hidroxi-1-propenil]-2-butenodiodato como agente quelante para Fe(II) e Fe(III) enquanto que, como fase estacionária, foi utilizada uma membrana de

¹¹ Khayatian *et al.*; *Quim. Nova* 35 (2012) 535-540.

¹² Kremling *et al.*; *Anal. Chim. Acta* 70 (1974) 35-39.

³¹ Nordberg *et al.*; 3ª ed. Academic Press. Califórnia, 2007, 992 p.

³⁹ Akl *Microchem.*; *J.* 75 (2003) 199-209.

sílica octadecil modificada. Nestas condições, os autores conseguiram fatores de enriquecimento de 166 vezes, com faixa linear entre 40 e 1000 µg L⁻¹.

Giokas *et al.*,¹⁸ fizeram a extração e pré-concentração de Fe em amostras de água utilizando CPE, seguida da determinação por F AAS. Neste estudo,¹⁸ o Fe foi complexado com APDC e, após ser submetido à temperatura de 70 °C, foi extraído com auxílio do surfactante Triton X-114. As micelas formadas foram separadas, diluídas e acidificadas em solução metanólica acidificada para posterior determinação. Com este procedimento os autores encontraram um fator de enriquecimento de 20 vezes, com recuperações entre 97 e 103% para diferentes amostras de água, vinhos e material de referência certificado (CRM).

Embora métodos como LLE, SPE e CPE possuam grande aplicação, estes métodos apresentam deficiências como longo tempo de extração, consumo significativo de solventes orgânicos e conseqüentemente geração de grande quantidade de resíduos.

Em 2006, Rezzae *et al.*,²⁰ desenvolveu um método denominado microextração líquido-líquido dispersiva (DLLME) para extração e pré-concentração de compostos orgânicos em água. No entanto, diversos estudos têm reportado o uso da DLLME para extração e pré-concentração de compostos inorgânicos,^{22,24,40-42} demonstrando ser um método de fácil operação, que consome pequenas quantidades de solventes orgânicos, rápido, de custo relativamente baixo e com elevado fator de enriquecimento. Este método têm sido aplicado para determinação de Fe em amostras de água,⁴³ no entanto, poucos estudos avaliam seu comportamento em amostras de água com diferentes salinidades.

¹⁸ Giokas *et al.*; *J. Anal. Atom. Spectrom.* 16 (2001) 521-526.

²⁰ Rezaee *et al.*; *J. Chromatogr. A* 1116 (2006) 1-9.

²² Mohammadi *et al.*; *Anal. Chim. Acta* 653 (2009) 173-177.

²⁴ Yousefi *et al.*; *Microchim. Acta* 172 (2010) 75-82.

⁴⁰ Kagaya *et al.*; *Talanta* 80 (2010) 1364-1370.

⁴¹ Sereshti *et al.*; *Talanta* 83 (2011) 885-890.

⁴² Anthemidis *et al.*; *Anal. Chim. Acta* 668 (2010) 35-40.

⁴³ Bahar *et al.*; *J. Braz. Chem. Soc.* 23 (2012) 944-950.

2.3 Microextração líquido-líquido dispersiva

A DLLME é um método de extração e pré-concentração baseado em um sistema ternário de solventes. Na extração por DLLME, uma mistura apropriada de solvente extrator (apolar) e solvente dispersor (média polaridade), é injetada rapidamente com a ajuda de uma seringa em uma solução aquosa contendo o analito. Logo após a extração, é observada a formação de uma solução turva e o analito é extraído quase que instantaneamente pelo solvente extrator. Esta extração é instantânea por que a área de contato entre solvente extrator e analito é aumentada enquanto o equilíbrio da solução é retomado rapidamente. Após a extração, a separação das fases é acelerada pela centrifugação da solução e a concentração do analito é determinada na fase sedimentada.⁴⁴ Cabe destacar que alguns parâmetros como volume e o tipo do solvente extrator e dispersor, tempo de extração, tempo de centrifugação, adição de sais e pH influenciam diretamente na eficiência da DLLME e precisam ser otimizados.

Na seleção do solvente extrator, algumas características devem ser consideradas. O solvente extrator deve ser miscível no solvente dispersor e imiscível em água e não deve interferir na etapa de determinação. Entre os principais solventes extratores utilizados, destacam-se o 1,2-diclorobenzeno,^{22,45} monoclorobenzeno,⁴⁶ tetracloreto de carbono,⁴⁷⁻⁵⁰

²² Mohammadi *et al.*; *Anal. Chim. Acta* 653 (2009) 173-177.

⁴⁰ Kagaya *et al.*; *Talanta* 80 (2010) 1364-1370.

⁴⁴ Dadfarnia *et al.*; *Anal. Chim. Acta* 658 (2010) 107-119.

⁴⁵ Sorouraddin *et al.*; *J. Chin. Chem. Soc.* 57 (2010) 1346-1352.

⁴⁶ De La Calle *et al.*; *Talanta* 84 (2011) 109-115.

⁴⁷ Najafi *et al.*; *Anal. Chim. Acta* 670 (2010) 18-23.

⁴⁸ Naseri *et al.*; *Anal. Chim. Acta* 610 (2008) 135-141.

⁴⁹ Shokoufi *et al.*; *Anal. Chim. Acta* 681 (2010) 56-62.

⁵⁰ Mohammadi *et al.*; *Microchim. Acta* 168 (2010) 123-128.

clorofórmio^{40,51} e líquidos iônicos.^{21,52-55} Estes solventes possuem densidade maior que da água e, quando submetidos a centrifugação, sedimentam no fundo do tudo podendo ser retirado com o auxílio de uma seringa. No entanto, solventes menos densos que a água também tem sido utilizados na DLLME, formando as denominadas gotas orgânicas flutuantes (SFO). Wu et al.,²⁶ fizeram a determinação de Cd em amostras de água utilizando DLLME-SFO, seguida da determinação por F AAS. Neste estudo, os autores utilizaram 0,1 mL de 1-dodecanol como solvente extrator, combinado com metanol (solvente dispersor). Foi obtido um fator de enriquecimento de 133 vezes, com recuperações entre 92 e 104% e desvio padrão relativo (RSD) de 6%.

Após selecionar o tipo de solvente extrator, seu volume também deve ser otimizado. O volume de solvente extrator deve ser suficiente para extrair todo o analito do meio aquoso. Além disso, deve-se utilizar o menor volume possível com a finalidade de aumentar o fator de enriquecimento.

Por outro lado, os solventes dispersores devem ser miscíveis tanto no solvente extrator como na solução aquosa e se limitam a metanol,^{27,56} etanol,^{25,57} acetonitrila,⁴⁷ acetona^{40,58} e tetrahidrofurano (THF). De maneira similar, o volume de solvente dispersor também influencia na eficiência de extração na DLLME, pois à medida que o volume de solvente dispersor aumenta ou diminui, a dispersão do solvente extrator na fase aquosa também o faz,²⁰ diminuindo ou aumentando a eficiência de extração.

Outro parâmetro avaliado na DLLME é o tempo de extração. Este tempo é definido como o intervalo entre a injeção da mistura dos solventes (extrator e

²⁰ Rezaee et al.; *J. Chromatogr. A* 1116 (2006) 1-9.

²¹ Khani et al.; *Desalination* 266 (2011) 238-243.

²⁵ Li et al.; *Spectrochim. Acta Part B* 64 (2009) 666-671.

²⁶ Wu et al.; *Anal. Methods* 3 (2011) 210.

²⁷ Liang et al.; *Microchim. Acta* 166 (2009) 47-52.

⁴⁰ Kagaya et al.; *Talanta* 80 (2010) 1364-1370.

⁴⁷ Najafi et al.; *Anal. Chim. Acta* 670 (2010) 18-23.

⁵¹ Kokya et al.; *J. Hazard. Mater.* 169 (2009) 726-733.

⁵² Abdolmohammad-Zadeh et al.; *Cent. Eur. J. Chem.* 8 (2010) 617-625.

⁵³ Berton et al.; *Anal. Chim. Acta* 662 (2010) 155-162.

⁵⁴ Gharehbaghi et al.; *F. Chem. Toxicol.* 49 (2011) 423-428.

⁵⁵ Molaakbari et al.; *J. Hazard. Mater.* 185 (2011) 647-652.

⁵⁶ Jia et al.; *Microchim. Acta* 171 (2010) 49-56.

⁵⁷ Birjandi et al.; *J. Chromatogr. A* 1193 (2008) 19-25.

⁵⁸ Shamsipur et al.; *Microchim. Acta* 166 (2009) 235-242.

dispersor) na fase aquosa até o início da centrifugação.²² Por se tratar de um parâmetro fundamental em métodos de microextração, este é um parâmetro avaliado por diversos trabalhos na literatura.^{20,22,48} No entanto, diversos autores têm destacado a independência da DLLME em relação ao tempo de extração. Mohammadi *et al.*,²² fizeram a determinação de Cu em amostras de água utilizando DLLME, avaliando o efeito do tempo de extração entre 0 e 30 min. Neste estudo,²² os autores concluíram que o tempo de extração não teve influência significativa na extração do analito. De maneira similar, Naseri, *et al.*,⁴⁸ estudaram a influência do tempo de extração (entre 0 e 60 min) na determinação de Pb em amostras de água utilizando DLLME, os quais também chegaram a mesma conclusão. Ambos os autores enfatizam que o fato da DLLME ser independente do tempo é devido à grande área superficial entre solvente extrator e solução aquosa, criada pelo solvente dispersor, possibilitando maior contato entre o analito e o solvente extrator.

A eficiência de extração na DLLME ainda pode ser aumentada quando uma etapa de adição de sal (e.x., NaCl) é feita antes da extração. Em solução aquosa, as moléculas de água tendem a solubilizar os íons dispersos na solução diminuindo assim a solubilidade do solvente extrator, aumentando conseqüentemente o volume da fase sedimentada.

Cabe salientar que para a determinação elementar é requerida uma etapa de complexação previamente à DLLME, pois os metais não possuem grupamentos orgânicos, o que impossibilita a interação/extração entre o solvente apolar e analito. Diversos complexantes tem sido utilizados com este propósito, especialmente os ditiocarbamatos.^{22,27,42,43,47,48,53,56,59,61} Suas propriedades estão diretamente ligadas à presença de dois átomos de enxofre doadores que, na grande maioria das vezes, estão coordenadas com o metal. São estes átomos que determinam a natureza do

²⁰ Rezaee *et al.*; *J. Chromatogr. A* 1116 (2006) 1-9.

²² Mohammadi, *et al.*; *Anal. Chim. Acta* 653 (2009) 173-177.

²⁷ Liang, *et al.*; *Microchim. Acta* 166 (2009) 47-52.

⁴² Anthemidis, *et al.*; *Anal. Chim. Acta* 668 (2010) 35-40.

⁴³ Bahar, *et al.*; *J. Braz. Chem. Soc.* 23 (2012) 944-950.

⁴⁷ Najafi, *et al.*; *Anal. Chim. Acta* 670 (2010) 18-23.

⁴⁸ Naseri, *et al.*; *Anal. Chim. Acta* 610 (2008) 135-141.

⁵³ Berton, *et al.*; *Anal. Chim. Acta* 662 (2010) 155-162.

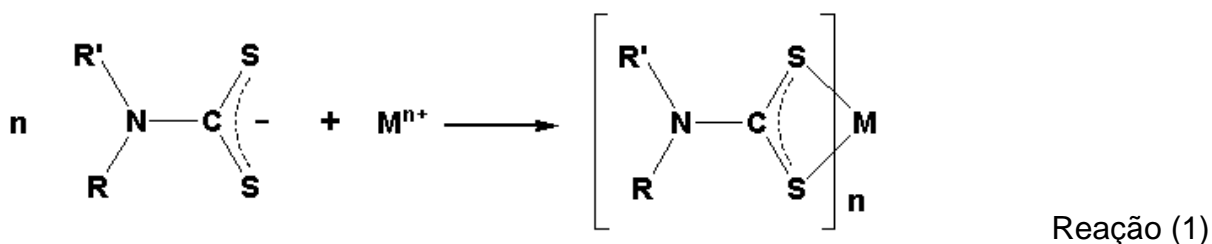
⁵⁶ Jia, *et al.*; *Microchim. Acta* 171 (2010) 49-56.

⁵⁹ Mirzaei, *et al.*; *J. Hazard. Mater.* 186 (2011) 1739-1743.

⁶⁰ Tabrizi, A. B.; *J. Hazard. Mater.* 183 (2010) 688-693.

⁶¹ Liang, *et al.*; *Microchim. Acta* 168 (2009) 45-50.

metal a ser complexado, assim como sua estabilidade após a complexação.⁶² A reação entre íon metálico e o ânion ditiocarbamato está mostrada na reação 1.



onde, R e R' são substituintes orgânicos, os quais não influenciam nas ligações enxofre-metal, mas podem definir diferentes propriedades analíticas.

2.4 Técnicas para determinação de Fe

As técnicas analíticas têm desempenhado um importante papel na resolução de problemas ambientais e têm sido extensivamente aplicadas para a determinação de diferentes constituintes em amostras de água. Muitos métodos empregados para a determinação de Fe em amostras de água utilizam a característica do Fe em formar compostos coordenados com estruturas que possuem, principalmente, átomos de enxofre e oxigênio. Os complexos resultantes destas coordenações absorvem radiação eletromagnética e podem ser determinados por espectrofotometria na região do UV-Vis. Entre as técnicas mais utilizadas para detecção de Fe, podem ser citadas a espectrofotometria, F AAS, ET AAS e ICP OES. Poucos métodos fazem uso de uma etapa de separação das espécies Fe(II) e Fe(III) previamente à detecção, pois Fe(II) em solução é muito instável podendo ser facilmente oxidado a Fe(III). Algumas aplicações destas técnicas de determinação serão discutidas a seguir.

2.4.1 Espectrofotometria

A espectrofotometria tem sido amplamente utilizada em laboratórios de pesquisa e indústria por ser relativamente simples, versátil, rápida, precisa e, principalmente, de baixo custo quando comparada às técnicas

⁶² Hulanick, A.; *Talanta* 14 (1967) 1371-1392.

espectrométricas.⁶³ As principais razões deste interesse pela técnica são os avanços tecnológicos feitos, especialmente nos detectores, além do uso de fibra óptica e *softwares* mais modernos.

A base da espectrofotometria está baseada na absorção, transmissão e/ou reflexão de radiação UV-Vis por determinados compostos, possibilitando assim a execução de medidas qualitativas e quantitativas. A radiação visível, uma pequena parte do espectro magnético (400 - 700 nm), é visível aos olhos enquanto que a radiação ultravioleta (UV, 180 - 400 nm) não é visível.⁶⁴ Quando uma radiação contínua atravessa um material, parte da radiação pode ser absorvida. Neste caso, a radiação residual, quando passada por um prisma (ou grade de difração), produzirá um espectro de absorção. A energia absorvida por um átomo ou molécula irá promover elétrons de um estado de menor energia (estado fundamental) para um estado de maior energia (estado excitado) sendo, portanto, este estado quantizado. Assim, a promoção do elétron de um nível para outro deve corresponder a uma variação quantizada de energia.⁶⁵

Diferentes íons de metais de transição ou grupamentos moleculares com várias ligações insaturadas carbono-carbono (cromóforos) absorvem radiação em comprimentos de onda característicos. Nos metais de transição, a radiação é absorvida devido aos orbitais *d* ou *f* estarem degenerados (grupos de orbitais com energias diferentes) em solução, sendo possível a transição eletrônica entre os níveis. A absorção de radiação está intimamente ligada à geometria do complexo e ao número de ligantes ligados a ele em solução.³²

O espectrofotômetro UV-Vis é composto basicamente por uma fonte de radiação, monocromador, cela de amostra e um detector (Figura 1).

³² Lee, Blucher. São Paulo, 1999, 546 p.

⁶³ Abadi *et al.*; *Talanta* 99 (2012) 1-12.

⁶⁴ Higson, McGraw-Hill. Trad. Mauro Silva. São Paulo, 2009, 452 p.

⁶⁵ Pavia, Trad. Pedro Barros, 4ª ed. São Paulo, 2010, 716 p.

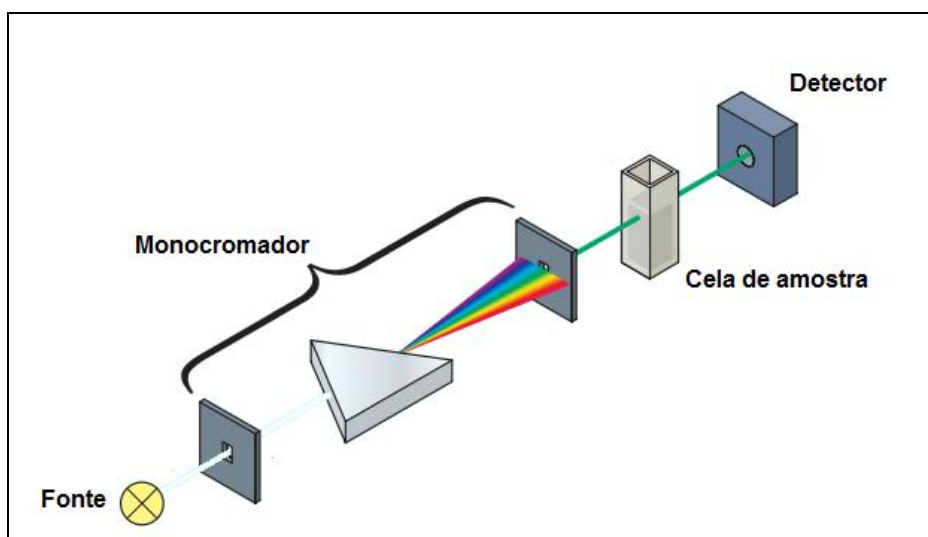


Figura 1. Esquema simplificado de um espectrofotômetro (Adaptado de *Principles and applications of UV-visible spectroscopy*⁶⁶)

A fonte de radiação pode ser composta por uma lâmpada de deutério (região do UV) associada a uma segunda fonte (lâmpada de tungstênio - região do visível). O monocromador é composto por uma rede de difração e tem a função de separar o feixe de radiação nos comprimentos de onda correspondentes, enquanto que o detector é, geralmente, um tubo fotomultiplicador ou no caso de instrumentos mais modernos, composto por fotodiodos. Há dois tipos de espectrofotômetros, os de feixe simples e os de feixe duplo. Em instrumentos de feixe simples, a radiação passa em apenas uma cela contendo amostra, sendo necessária uma etapa de linha-base antes das determinações. Já em sistemas de feixe duplo, a radiação incidente é dividida em dois feixes: cela de amostra e de referência.^{64,65}

A cela de amostra também precisa ter algumas características, pois são determinantes na qualidade das medições. A cela deve ser constituída de material transparente à radiação e compatível com a região do espectro em estudo. Para determinações na faixa que compreende a região visível, celas de vidro ou plástico são adequadas. Para medições na região do UV, estes materiais não são adequados, pois absorvem radiação nesta região do espectro sendo necessário o uso de celas de quartzo. A cela de amostra permite ainda melhorar a sensibilidade do método, pois quanto maior o caminho óptico da cela, maior o número de

⁶⁴ Higson, McGraw-Hill. Trad. Mauro Silva. São Paulo, 2009, 452 p.

⁶⁵ Pavia, Trad. Pedro Barros, 4ª ed. São Paulo, 2010, 716 p.

⁶⁶ Principles and applications of UV-visible spectroscopy.

substâncias absorvedoras presentes no feixe de radiação e, conseqüentemente, maior será o sinal analítico.

Outro parâmetro muito importante na espectrofotometria é o tipo de solvente a ser usado em uma determinação. O solvente não deve absorver radiação na mesma região em que analito está sendo determinado. Outro critério é o efeito do solvente na banda de absorção, a qual pode ser mais larga ou mais fina dependendo da interação solvente-soluto.⁶⁵

Kozak *et al.*,¹⁰ fizeram a determinação de Fe(II) e Fe(III) por espectrofotometria em amostras de água. Neste estudo,¹⁰ os autores utilizaram ácido sulfosalicílico e 1,10-fenantrolina para fazer a determinação simultânea das concentrações de Fe(II) e Fe(III). A faixa linear encontrada para Fe(II) foi entre 0,05 e 4,0 mg L⁻¹, enquanto que para Fe(III) a faixa linear foi entre 0,09 e 6,0 mg L⁻¹. Os limites de quantificação (LOQ) para Fe(II) e Fe(III) nestas condições foram 0,03 e 0,08 mg L⁻¹, respectivamente.

2.4.2 Espectrometria de absorção atômica

A espectrometria de absorção atômica é uma técnica largamente utilizada para determinação de elementos traço em diversas amostras.^{17,67,68} Os dois sistemas de atomização mais utilizados em AAS são F AAS e ET AAS. A técnica de F AAS é utilizada quando a concentração de Fe em água está presente em níveis de mg L⁻¹ enquanto que a ET AAS, devido à maior sensibilidade, é utilizada para determinação de Fe em amostras de água onde a concentração do elemento está presente em níveis de µg L⁻¹ ou ng L⁻¹.¹³

Tautkus *et al.*,⁶⁸ fizeram a determinação de Fe em amostras de água natural e mineral empregando F AAS. Neste trabalho,⁶⁸ Fe foi extraído por LLE e a complexação do íon foi feita com 8-hidroxiquinolina com posterior extração utilizando clorofórmio. Os autores encontram limites de detecção (LOD) de 0,10 µg L⁻¹. Já Naozuka e Oliveira,¹³ utiliza ET AAS para determinação de Fe em água de côco. As recuperações encontradas foram em torno de 97%, com RSD de 1%. O baixo LOD

¹⁰ Kozak *et al.*; *Anal. Chim. Acta* 702 (2011) 213-217.

¹³ Naozuka, J.; Oliveira, P. V.; *J. Braz. Chem. Soc.* 17 (2006) 521-526.

¹⁷ Giokas *et al.*; *Anal. Bioanal. Chem.* 373 (2002) 237-243.

⁶⁵ Pavia, Trad. Pedro Barros, 4ª ed. São Paulo, 2010, 716 p.

⁶⁷ Hoffmeister, *Fresenius Z. Anal. Chem.* 290 (1978) 289-291.

⁶⁸ Tautkus *et al.*; *J. Serb. Chem. Soc.* 69 (2004) 393-402.

(10 $\mu\text{g L}^{-1}$) encontrado neste trabalho¹³ é resultado da alta sensibilidade da técnica empregada, a qual permite fazer a determinação do analito sem diluir a amostra.

2.4.3 Espectrometria de emissão ótica com plasma indutivamente acoplado

A técnica de ICP OES possui grande sensibilidade quando comparada às técnicas como F AAS e UV-Vis, e sensibilidade similar a ET AAS para determinação de Fe.⁶⁹ No entanto, quando as determinações são feitas em amostras de água salina, é requerida uma etapa de diluição ou uso de um método de extração seletivo.⁶⁹⁻⁷¹ A presença de sais é uma interferência da matriz que pode influenciar diretamente no processo de emissão dos elementos a serem determinados, além de causar redução na temperatura do plasma.⁷¹

Xiong *et al.*,¹⁴ empregaram a técnica de ICP OES para a determinação de Fe(II), Fe(III) e Fe total em amostras de água e utilizaram vaporização eletrotérmica (ETV) como sistema de nebulização. Os autores utilizaram uma micro-coluna com complexante adequado para reter as diferentes espécies de Fe. Em seguida, o analito foi vaporizado e carregado até o plasma. O LOD encontrado neste estudo¹⁴ foi de 0,053 $\mu\text{g L}^{-1}$, com RSD inferior a 5%. O fator de enriquecimento foi de 156 vezes. Comparado ao nebulizador pneumático, o ETV possui maiores vantagens quanto à eficiência de transporte, baixo consumo de amostra, possibilidade de introdução de amostras líquidas e sólidas, entre outras.¹⁴

Embora os LODs encontrados para compostos determinados por UV-Vis sejam maiores do que àqueles encontrados para técnicas espectrométricas (AAS e ICP), a espectrofotometria é uma alternativa de baixo custo quando comparado às demais técnicas citadas, principalmente por dispensar o uso de gases inertes ou combustíveis. A técnica de UV-Vis possui ainda, dentre outras características, simplicidade de operação, versatilidade, rapidez e precisão.

¹³ Naozuka, J.; Oliveira, P. V.; *J. Braz. Chem. Soc.* 17 (2006) 521-526.

¹⁴ Xiong *et al.*; *Anal. Chim. Acta* 559 (2006) 113-119.

⁶⁸ Tautkus *et al.*; *J. Serb. Chem. Soc.* 69 (2004) 393-402.

⁶⁹ Grotti *et al.*; *Anal. Bioanal. Chem.* 375 (2003) 242-247.

⁷⁰ Karacan *et al.*; *J. Hazard. Mater.* 155 (2008) 551-557.

⁷¹ Kuhn *et al.*; *Wat. Res.* 32 (1998) 265-274.

3. MATERIAIS E MÉTODOS

3.1 Instrumentação

As determinações de Fe foram feitas utilizando um espectrofotômetro na região do UV-Vis de feixe duplo da Shimadzu (modelo 2550, Japão) equipado com duplo monocromador e cubetas de quartzo com caminho óptico de 1,0 cm.

A salinidade das amostras foi medida em um condutivímetro Yellow Springs (modelo 33 SCT, EUA). Previamente às determinações, as amostras de água foram acidificadas e filtradas com o propósito de remover qualquer material particulado. Para isso foi utilizado um sistema de filtração em membrana de acetato de celulose (Sartorius Biolab products, Alemanha), com 0,45 μm de diâmetro de poro e equipado com bomba a vácuo Tecnal (modelo TE-058, Brasil). O pH foi ajustado com pHmetro digital Hanna (modelo pH21, Brasil) com eletrodo de vidro combinado, sensor de temperatura e resolução de 0,01 unidades de pH.

Para separação das fases durante o procedimento de extração foi utilizada uma centrífuga Centribio (modelo 80-2B, Brasil) com capacidade para doze frascos de 15 mL. Foi utilizada balança analítica de precisão (Bioprecisa, modelo FA 2104N, Brasil) e micropipetadores de volume variável (Labmate, Polônia). A água ultrapura (resistividade de 18,2 $\text{M}\Omega\text{ cm}^{-1}$) foi obtida por um sistema de purificação Milli-Q Direct-Q UV3[®] (Millipore, EUA).

As avaliações estatísticas foram feitas com auxílio do programa InStat, versão 3.0 (Copyright 1992-1998 GraphPad Software Inc., Microsoft Corporation). Para comparação de duas médias foi usado o teste *t-student*. Para a comparação de três ou mais médias, foi usada a análise de variância (ANOVA), com o teste de múltiplas comparações de *Tukey-Kramer*, com um nível de confiança de 95%.

3.2 Reagentes

Todos os reagentes utilizados foram de grau analítico enquanto que para o preparo das soluções foi utilizada água ultrapura. Foram preparadas soluções estoque contendo 1000 mg L^{-1} de Fe a partir da dissolução de $\text{FeNH}_4(\text{SO}_4)_2 \cdot 12\text{H}_2\text{O}$ 99% (Vetec, Brasil) e $\text{Fe}(\text{NH}_4)_2(\text{SO}_4)_2 \cdot 6\text{H}_2\text{O}$ 99% (Sigma-Aldrich, Brasil) em HCl 0,1

mol L⁻¹ (Merck, Alemanha) e armazenadas em frasco âmbar e sob refrigeração (4 °C). O pH das amostras foi ajustado com soluções 0,1 mol L⁻¹ de HCl e NaOH (Merck). As soluções estoque de Fe foram preparadas semestralmente enquanto que as diluições (otimização e curvas de calibração) foram preparadas diariamente.

O complexante APDC (Sigma-Aldrich) foi preparado diariamente pela dissolução de quantidades adequadas em etanol (J.T.Baker, EUA) e mantido na ausência de luz para evitar degradação do mesmo. Como agente redutor foi utilizada uma solução de 0,1% (m/v) de hidroxilamina (Vetec), a qual foi preparada diariamente pela dissolução em água ultrapura.

Como solventes extratores foram utilizados tetracloreto de carbono tetracloroetileno, monoclorobenzeno e 1,2-diclorobenzeno, fornecidos pela Vetec, enquanto que clorofórmio foi fornecido pela Merck. Como solventes dispersores foram utilizados metanol, etanol, acetona, acetonitrila e tetrahidrofurano (THF), todos fornecidos pela J.T.Baker. Toda vidraria foi previamente descontaminada por imersão em solução de HNO₃ 20% (v/v) (Merck) por um período de, no mínimo, 24 h e, posteriormente, lavada com água ultrapura.

3.3 Amostras de água

Para a otimização do método foram utilizadas amostras de água de alta salinidade (> 30), adquiridas junto ao Instituto de Oceanografia (Universidade Federal do Rio Grande, Brasil), as quais foram coletadas no período entre maio e junho de 2011 na região costeira da cidade de Rio Grande - RS, Brasil.

Para os ensaios de aplicabilidade do método proposto, foram utilizadas oito amostras de água, incluindo mineral, de torneira, de poço, estuarina e de alto mar. Todas as amostras foram adquiridas na região de Rio Grande. As amostras de água mineral foram adquiridas em supermercado local e nomeadas como A, B, C, D e E. As amostras de água de torneira foram obtidas no próprio laboratório (Universidade Federal do Rio Grande), enquanto que a água de poço foi coletada na região do Taim (RS, Brasil). Amostras de água estuarina e de alto mar foram coletadas na região costeira e a 322 km (~200 Mi) da costa (Oceano Atlântico Sul), respectivamente. Amostras de água mineral, torneira e poço foram selecionadas para representar as amostras de baixa salinidade (< 0,5). Água estuarina foi selecionada para representar amostras de água de média salinidade (0,5 a 30),

enquanto que as amostras coletadas em alto mar representam as de alta salinidade (> 30). Após a coleta, foi feita a medição da salinidade de todas as amostras e classificadas segundo resolução do CONAMA,³⁷ nº 357 de 17 de março de 2005. As mostras foram acidificadas a pH 2, filtradas e estocadas em frasco âmbar e sob refrigeração (4 °C).

3.4 Otimização das condições instrumentais da técnica de espectrofotometria UV-Vis para a determinação de Fe em amostras de água

As condições como concentração de APDC e pH de complexação utilizadas para a otimização da técnica espectrofotométrica foram fixadas segundo Satake *et al.*⁷²

3.4.1 Espectros de absorção do complexo Fe(APDC)₃ em água

Os espectros de absorção do complexo formado entre APDC e Fe(III) em água ultrapura (pH 4), foram obtidos pela mistura entre uma solução de 1 mg L⁻¹ de Fe(III) e 0,3 mL de uma solução de APDC 1% (m/v). O espectro de absorção apenas do APDC foi obtido de forma similar, porém sem adição de Fe(III). Após a mistura, as soluções foram transferidas para as cubetas posicionadas no espectrofotômetro para monitoramento da absorbância em função do comprimento de onda (λ).

3.4.2 Estudo do tempo de formação do complexo Fe(APDC)₃ em água

Foi feito um estudo do tempo de formação do complexo para determinar o tempo necessário para que a reação de complexação de Fe(III) pelo APDC atinja o equilíbrio. Para avaliar o tempo necessário para a formação do complexo em água, foi feita a complexação de Fe(III) (item 3.4.1) e, após rápida homogeneização, alíquotas foram transferidas para a cubeta posicionada no espectrofotômetro para monitoramento da absorbância em função do tempo utilizando o λ de máxima absorção do complexo. O monitoramento foi feito por durante um período entre 0 e 3 horas.

³⁷ CONAMA, Conselho Nacional do Meio Ambiente, resolução nº 357, 2005.

⁷² Satake *et al.*; *Def. Sci. J.* 32 (1982) 201-205.

3.4.3 Espectros da absorção do complexo Fe(APDC)₃ preparado em solvente dispersor

Devido ao pequeno volume da fase sedimentada formada (~50 µL) e imiscibilidade da fase sedimentada (solvente apolar) com a fase aquosa (solvente polar) foi necessária uma adaptação na determinação espectrofotométrica. Devido a esta incompatibilidade, a fase sedimentada não poderia ser diluída em água para atingir o volume necessário para completar a cubeta. No entanto, o complexo Fe(APDC)₃ é altamente solúvel em solventes como acetonitrila e etanol (solventes dispersores), assim como os diversos solventes extratores utilizados, possibilitando a utilização desses solventes dispersores como diluentes da fase sedimentada. Os espectros de absorção do complexo formado em meio de solvente dispersor foram obtidos pela mistura entre uma solução de 1 mg L⁻¹ de Fe(III) e 0,3 mL de uma solução de APDC 1% (m/v). O espectro de absorção apenas do APDC foi obtido de forma similar, porém sem adição de Fe(III). Após a mistura, as soluções foram transferidas para as cubetas posicionadas no espectrofotômetro para monitoramento da absorbância em função do λ.

3.4.4 Estudo do tempo de formação do complexo Fe(APDC)₃ preparado em solvente dispersor

Estudo semelhante ao item 3.4.2 foi feito com o intuito de verificar o tempo necessário para a formação do complexo, porém utilizando solvente dispersor como solvente.

3.5 Efeito do pH

O pH da amostra é um dos fatores essenciais para a formação do complexo metal-quelante. Nesta etapa ocorre a formação de um composto com propriedades hidrofóbicas, o qual pode ser extraído com solvente orgânico adequado. A influência do pH na extração foi estudada com valores entre 2,0 e 8,0, com variação de 1 unidade de pH. Para este estudo, foram utilizados 10 mL de uma solução contendo 1,0 mg L⁻¹ de Fe(III) e 0,3 mL de APDC 1% (m/v) em água ultrapura.

3.6 Otimização da DLLME

Durante todo o procedimento de otimização, a velocidade e o tempo de centrifugação foram mantidos em 3000 rotações por minuto (rpm) e 5 min, respectivamente. Todas as otimizações foram feitas com amostras de alta salinidade com concentração de 1 mg L^{-1} de Fe(III). Foram otimizados diversos parâmetros que influenciam a extração do analito na DLLME, tais como tipo e volume de solvente extrator e dispersor, concentração de APDC e tempo de extração. Os resultados foram expressos em função da recuperação do analito. Os procedimentos envolvidos no método estão mostrados na Figura 2. Para todos os estudos de otimização da DLLME foram utilizadas réplicas com $n = 3$.

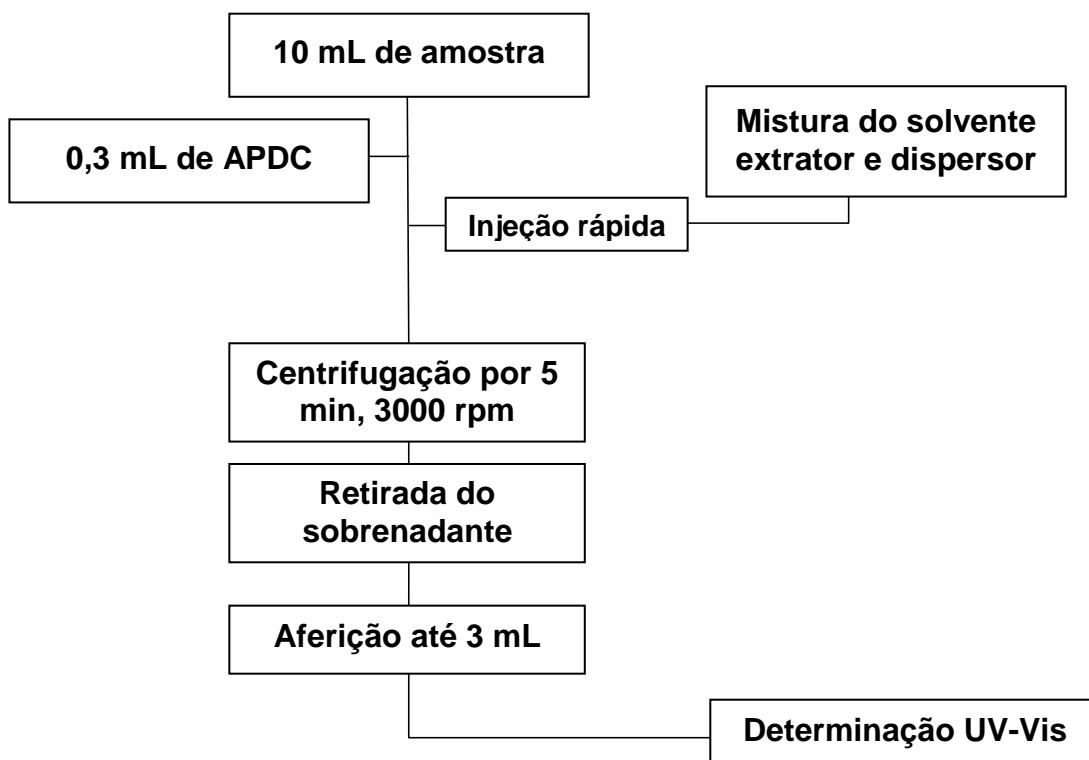


Figura 2. Fluxograma do procedimento para extração de Fe empregando DLLME.

3.6.1 Formação de fase sedimentada

Inicialmente, foi feito um ensaio preliminar para avaliar a possível formação da fase sedimentada a partir da mistura de diferentes solventes extratores e dispersores encontrados na literatura. Entre os possíveis extratores com densidade maior que da água, foram avaliados monoclorobenzeno, 1,2-diclorobenzeno,

clorofórmio, tetracloroetileno e tetracloreto de carbono. Os solventes extratores foram combinados com diferentes solventes dispersores, tais como metanol, etanol, acetonitrila, acetona e THF.

3.6.2 Escolha do solvente extrator e dispersor

O tipo de solvente extrator e dispersor usado na DLLME é um parâmetro importante para garantir boa eficiência de extração. O solvente extrator deve ter a habilidade de extrair os analitos e ter baixa solubilidade em água, enquanto que o solvente dispersor deve possuir miscibilidade tanto no solvente extrator quanto na fase aquosa.²⁰ Assim, a partir do estudo da formação da fase sedimentada (item 3.6.1), foram selecionados os possíveis solventes extratores e dispersores, os quais, assim como todas as variáveis neste estudo, foram avaliados de forma univariada. Inicialmente, o tipo de solvente extrator foi avaliado pela combinação de 50 µL deste solvente com 500 µL de etanol como solvente dispersor. Para avaliar o tipo de solvente dispersor, foram combinados 50 µL do solvente extrator selecionado na otimização do tipo de solvente extrator com 500 µL de metanol, etanol, acetonitrila, THF e acetona.

3.6.3 Escolha do volume do solvente extrator e dispersor

No estudo do efeito do volume de solvente extrator na eficiência de extração, foram feitos experimentos com diferentes volumes de solvente extrator (variando entre 10 e 100 µL) com volume do solvente dispersor fixado em 500 µL. Para avaliar o efeito do volume de solvente dispersor na eficiência de extração, foram combinados diferentes volumes de solvente dispersor (variando entre 200 e 1000 µL) juntamente com o volume previamente otimizado de solvente extrator.

3.6.4 Concentração de APDC

O efeito da concentração de APDC na recuperação do analito foi avaliado usando concentrações do complexante variando entre 0,1 e 3,0% (m/v) (0,2 e 5,5 mmol L⁻¹). O estudo foi feito com as condições previamente fixadas, enquanto que o parâmetro tempo de extração (ainda não otimizado), foi fixado em 3 min.²⁷

²⁰ Rezaee *et al.*; *J. Chromatogr. A* 1116 (2006) 1-9.

²⁷ Liang *et al.*; *Microchim. Acta* 166 (2009) 47-52.

3.6.5 Tempo de extração

Na DLLME, o tempo de extração é definido como o intervalo entre a injeção da mistura do solvente extrator e dispersor até o início da centrifugação.⁷³ O tempo de extração foi estudado em um intervalo entre 0,5 e 30 min, utilizando os parâmetros da DLLME otimizados previamente.

3.6.6 Interferentes

A presença de alguns íons podem reduzir a eficiência de extração ou reagir com o complexante, causando interferências. Dessa forma, foi realizado um estudo para avaliar a influência dos íons, tais como Al^{3+} , As^{3+} , Ca^{2+} , Cd^{2+} , Cl^- , Co^{2+} , Cr^{3+} , Cu^{2+} , F^- , Hg^{2+} , K^+ , Mg^{2+} , Mn^{2+} , Na^+ , Ni^{2+} , Pb^{2+} , PO_4^{3-} , SO_4^{2-} e Zn^{2+} (Tabela 2) presentes em diferentes concentrações. Para isso, foram utilizados 10 mL de água ultrapura contendo $0,1 \text{ mg L}^{-1}$ de Fe(III) com diferentes concentrações dos possíveis interferentes. A adição inicial dos íons Ca^{2+} , Cl^- , Na^+ , F^- , K^+ , Mg^{2+} , SO_4^{2-} e foram feitas de maneira que as concentrações em solução apresentassem um fator duas vezes maior quando comparados a concentração desses íons em uma água do mar.⁷⁴ Para As^{3+} e diferentes elementos de transição, tais como Al^{3+} , Cd^{2+} , Co^{2+} , Cr^{3+} , Cu^{2+} , Hg^{2+} , Mn^{2+} , Ni^{2+} , Pb^{2+} e Zn^{2+} as concentrações foram fixadas em 1 mg L^{-1} . A concentração inicial de PO_4^{3-} foi estipulada segundo Liang *et al.*²⁷ A concentração limite do interferente foi considerada a concentração que causou um decréscimo de até 10% na recuperação de $0,1 \text{ mg L}^{-1}$ Fe(III).

Tabela 1. Concentrações iniciais em mg L^{-1} dos íons interferentes.

Íons interferentes	Concentração
Al^{3+} , As^{3+} , Cd^{2+} , Co^{2+} , Cr^{3+} , Cu^{2+} , Hg^{2+} , Mn^{2+} , Ni^{2+} , Pb^{2+} e Zn^{2+}	1
F^-	10
K^+ , SO_4^{2-}	1000
Ca^{2+} , Mg^{2+} , PO_4^{3-} ,	5000
Na^+	20000
Cl^-	30000

²⁷ Liang *et al.*; *Microchim. Acta* 166 (2009) 47-52.

⁷³ Rezaee *et al.*; *J. Chromatogr. A* 1217 (2010) 2342-2357.

⁷⁴ Baumgarten, Imprensa Rio Grande. Rio Grande, 1996, 132 p.

3.7 Estudo de interconversão entre Fe(II) e Fe(III)

Após a otimização das condições experimentais da DLLME, foi feito um estudo complementar para avaliar a conversão entre as espécies de Fe(II) em Fe(III).⁶² Neste estudo foram empregadas soluções de Fe de ambas as espécies em duas concentrações (150 e 300 µg L⁻¹), utilizando amostras de água de alta salinidade.

3.8 Desempenho analítico

Os parâmetros utilizados para avaliar o desempenho analítico do método proposto foram linearidade (curva de calibração), LOD, LOQ, precisão e exatidão.

3.8.1 Linearidade

A linearidade expressa a correlação entre o sinal analítico e a massa/concentração do analito dentro de uma faixa de aplicação (curva de calibração). A curva de calibração foi preparada em etanol nas concentrações de 0,01; 0,02; 0,05; 0,10; 0,50; 0,80; 1,20 1,60; 2,00; 2,50 e 3,00 mg L⁻¹, em triplicata e com três leituras de cada replicata. A partir da curva de calibração foi possível avaliar a faixa linear dinâmica do método, avaliando além do coeficiente de correlação linear (r^2), os resíduos de interpolação (RI), razão sinal/concentração (A/m), limites inferior (LI) e superior (LS) com tolerância para a razão A/m de 5%.⁷⁵ Os resíduos de interpolação foram calculados conforme a equação 1.

$$RI_i = A_i - \langle A \rangle_i \quad (1)$$

onde A_i e $\langle A \rangle_i$ são os sinais analíticos e interpolações obtidas para o i -ésimo ponto da curva de calibração, sendo que, $\langle A \rangle_i$ foi calculado conforme a equação 2.

$$\langle A \rangle_i = a \cdot C_i + b \quad (2)$$

⁶² Hulanick, A.; *Talanta* 14 (1967) 1371-1392.

⁷⁵ Ribeiro *et al.*; *Quim. Nova* 31 (2008) 164-171.

onde a e b representam os coeficientes angular e linear respectivamente, enquanto C_i representa a concentração para o i -ésimo ponto da curva de calibração.

As razões A/m_i calculadas para o i -ésimo ponto da curva de calibração foram calculadas a partir da equação 3.

$$A/m_i = \frac{A_i - b}{C_i} \quad (3)$$

Os LI e LS foram calculados segundo as equações 4 e 5.

$$LI = 0,95 \cdot a \quad (4)$$

$$LS = 1,05 \cdot a \quad (5)$$

3.8.2 Limite de detecção e limite de quantificação

O LOD representa a menor quantidade de um composto que pode ser detectada, mas não necessariamente mensurável com certo grau de confiabilidade. Entretanto, o LOQ do método representa a menor quantidade deste mesmo composto quantificado com certo grau de confiabilidade dentro de um procedimento aplicável.⁷⁶ O LOD e LOQ foram estimados pela multiplicação por 3 e por 10 do valor do desvio padrão de 10 medidas do branco, respectivamente. Foi utilizada uma mistura de 10 mL de etanol e 0,3 mL de solução APDC 1% (m/v) como branco.⁷⁷

3.8.3 Precisão e exatidão

A precisão, geralmente expressa em termos de desvio padrão (SD) ou RSD, é o grau de concordância entre resultados independentes quando extraídos de um procedimento experimental.⁷⁸ Já a exatidão, representa o grau de concordância entre os resultados encontrados em um procedimento experimental comparados a uma referência aceita como verdadeira.⁷⁶

A precisão do método foi avaliada em termos de repetitividade utilizando como critério o RSD entre as medidas enquanto a exatidão foi avaliada através da concordância entre os valores de recuperação de diferentes concentrações de Fe(III)

⁷⁶ Ribani *et al.*; *Quim. Nova* 27 (2004) 771-780.

⁷⁷ Christian, 6th ed. Wiley, New York, USA, 2004.

⁷⁸ Thompson *et al.*; *Pure Appl. Chem.* 74 (2002) 835-855.

(60, 300 e 600 $\mu\text{g L}^{-1}$) avaliadas através da extração e quantificação de Fe total em amostras de água de baixa, média e alta salinidade. Cada nível de concentração foi feito com $n = 5$ e com três leituras de cada replicata. A exatidão do método também foi avaliada com o uso de CRM de água (1643e, Elementos Traço em Água).

3.9 Determinação de Fe por UV-Vis utilizando 1,10-fenantrolina

Primeiramente, em 50 mL de cada amostra foi feito o ajuste até pH 4,5. Em alíquotas de 10 mL foram adicionados 1 mL de solução hidroxilamina 0,1% para redução das espécies de Fe(III) para Fe(II). Em seguida, foi adicionado 1 mL de solução 0,2 mol L^{-1} de 1,10-fenantrolina. Nestas condições, o Fe(II) reage com 1,10-fenantrolina gerando um complexo de coloração vermelho-alaranjado, o qual pode ser detectado em comprimento de 510 nm. Como a hidroxilamina é um agente redutor muito forte, todo Fe(III) presente na solução é reduzido a Fe(II), podendo ser determinado como Fe total. Cabe destacar que estas condições seguem as normas da Associação Brasileira de Normas Técnicas (ABNT, norma NBR 13934/1997 - Água - Determinação de Fe - Método colorimétrico da ortofenantrolina).⁷⁹

3.10 Aplicação do método desenvolvido em amostras de água com diferentes salinidades

O método proposto foi aplicado para a determinação de Fe total em amostras de água mineral, torneira, poço, estuarina e de alto mar. Adicionalmente, foi feito um estudo para monitorar a eficiência da extração de Fe utilizando concentrações de 60 e 300 $\mu\text{g L}^{-1}$ em uma amostra de baixa salinidade (água mineral A) e em uma amostra de alta salinidade (alto mar).

⁷⁹ ABNT, Associação Brasileira de Normas Técnicas, Rio de Janeiro, 1997.

4. APRESENTAÇÃO E DISCUSSÃO DOS RESULTADOS

4.1 Ajuste das condições instrumentais para determinação de Fe por UV-Vis

4.1.1 Espectros de absorção do complexo $\text{Fe}(\text{APDC})_3$ em água

A adição do complexante na solução aquosa contendo Fe(III) levou a formação de uma solução ligeiramente escura (esverdeada). Conforme mostrado na Figura 3, podem ser observados três máximos de absorção em 352, 505 e 595 nm para o complexo $\text{Fe}(\text{APDC})_3$, sendo a primeira banda de absorção a mais intensa. No entanto, o espectro de varredura de uma solução aquosa contendo apenas APDC em meio aquoso também apresentou uma banda em 350 nm, indicando que o complexante absorve fortemente, tornando esta região inapropriada para a determinação de Fe devido à possível sobreposição de bandas.

O complexo formado apresentou intensidades de absorção semelhantes nas regiões de 505 e 595 nm. No entanto, a região de 505 nm é mais propícia a interferências espectrais. Neste sentido, o λ de 595 nm foi selecionado como região ótima para determinação de Fe.

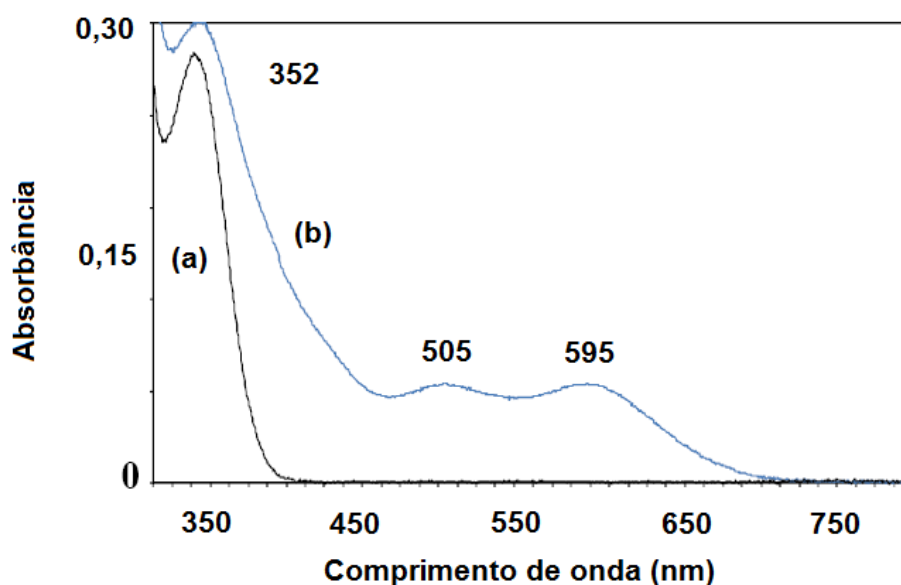


Figura 3. Espectros de absorção de solução de água ultrapura (10 mL, pH 4) contendo: (a) 0,3 mL de solução de APDC 1% (m/v) e (b) 0,3 mL de solução de APDC 1% (m/v) + 1,0 mg L⁻¹ Fe(III).

4.1.2 Estudo do tempo de formação do complexo $\text{Fe}(\text{APDC})_3$ em água

A eficiência de extração pode ser maximizada a partir de um estudo do tempo de formação do complexo $\text{Fe}(\text{APDC})_3$, pois os metais quando presentes na forma inorgânica, não são extraídos por solventes imiscíveis em água, devendo assim, serem complexados e extraídos nas suas formas hidrofóbicas. Pelo fato da extração se tratar de uma reação, o tempo necessário é um fator importante para que o equilíbrio seja atingido.

A reação de complexação entre $\text{Fe}(\text{III})$ e APDC atinge o equilíbrio quase que instantaneamente (Figura 4), possibilitando assim o uso deste complexante em procedimentos de extração sem comprometer o tempo de análise. É possível observar também que a estabilidade do complexo é relativamente longa, pois mesmo após 2 horas em solução, a resposta permanece constante.

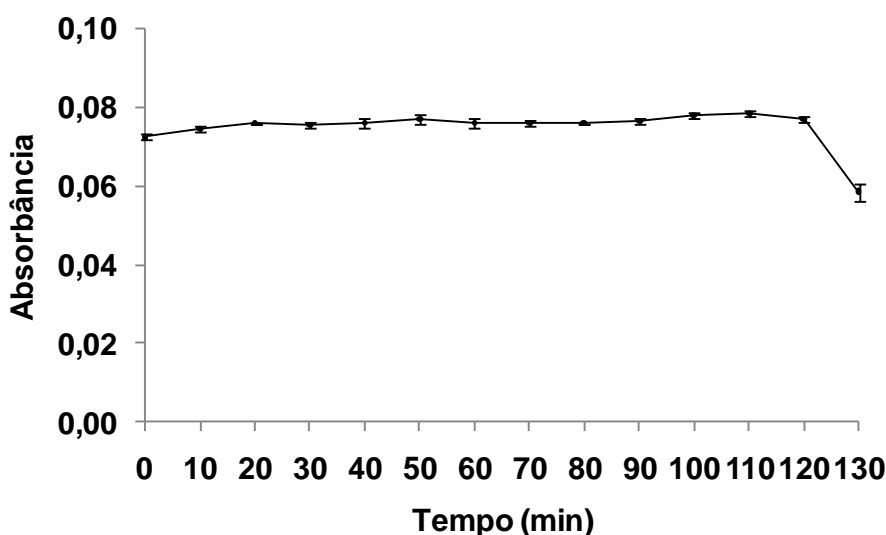


Figura 4. Estabilidade e tempo de formação do complexo $\text{Fe}(\text{APDC})_3$ a partir de uma solução de 1 mg L^{-1} de $\text{Fe}(\text{III})$ em pH 4, contendo 0,3 mL de APDC 1% (m/v) em solução aquosa.

4.1.3 Estudo da absorção do complexo $\text{Fe}(\text{APDC})_3$ em meio de solvente dispersor

Devido à imiscibilidade da fase sedimentada com a fase aquosa, não seria possível utilizar água para diluir a fase sedimentada até o volume necessário para determinação por UV-Vis. Uma alternativa foi escolher entre os solventes dispersores utilizados na otimização do método de extração, um solvente que permitisse a completa dissolução da fase sedimentada e não absorvesse nas

mesmas regiões do complexo formado. Neste sentido, acetonitrila e etanol apresentaram ótimos resultados ao serem utilizados como diluentes da fase sedimentada. No entanto, devido ao baixo custo e grande solubilidade no solvente extrator quando comparado com acetonitrila, etanol foi escolhido para os demais experimentos.

Utilizando etanol como solvente, foi possível verificar que o complexo $\text{Fe}(\text{APDC})_3$ apresenta o mesmo comportamento espectral e com as mesmas intensidades de absorção nos respectivos λ (Figura 5), quando comparado com o meio aquoso. Este comportamento espectral semelhante entre os solventes (água e etanol) permitiu a redissolução da fase sedimentada em etanol para posterior determinação de Fe por UV-Vis.

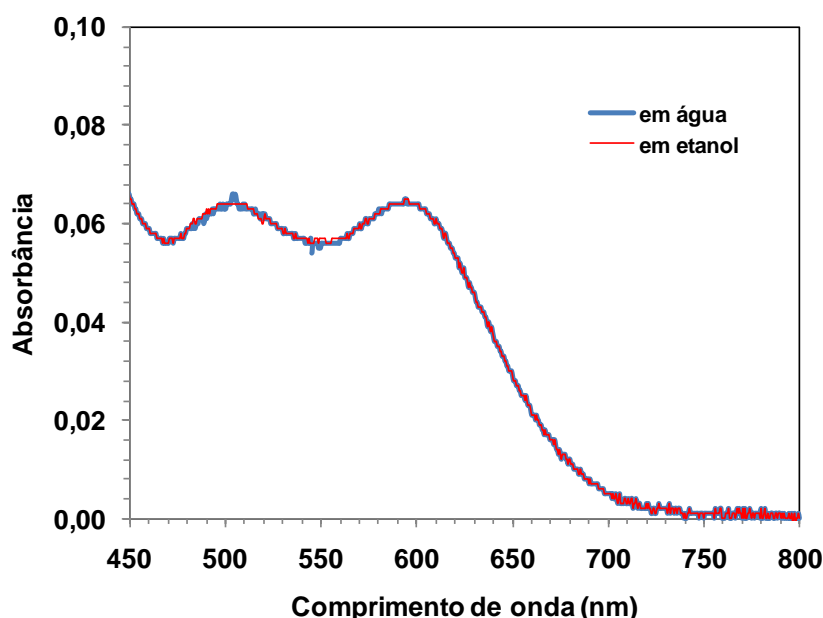


Figura 5. Espectros de absorção de uma solução de 1 mg L^{-1} de $\text{Fe}(\text{III})$ em pH 4, contendo $0,3 \text{ mL}$ de APDC 1% (m/v) em diferentes solventes.

4.1.4 Estudo do tempo de formação do complexo $\text{Fe}(\text{APDC})_3$ em meio de solvente dispersor

A partir de um estudo da cinética de formação do complexo em etanol, monitorando a absorbância em função do tempo (Figura 6), foi possível estipular o tempo necessário para a formação do complexo e sua estabilidade em etanol. Assim como em solução aquosa, foi possível verificar que o complexo é formado instantaneamente e apresenta estabilidade de até 2 horas após ser diluído em

etanol. Este tempo relativamente curto é um aspecto positivo, pois permite ao analista fazer extrações simultâneas sem comprometer os resultados. A absorvidade molar (ϵ) para o complexo $\text{Fe}(\text{APDC})_3$ em meio de etanol foi de $4,29 \times 10^3 \text{ L mol}^{-1} \text{ cm}^{-1}$ ($\lambda = 595 \text{ nm}$).

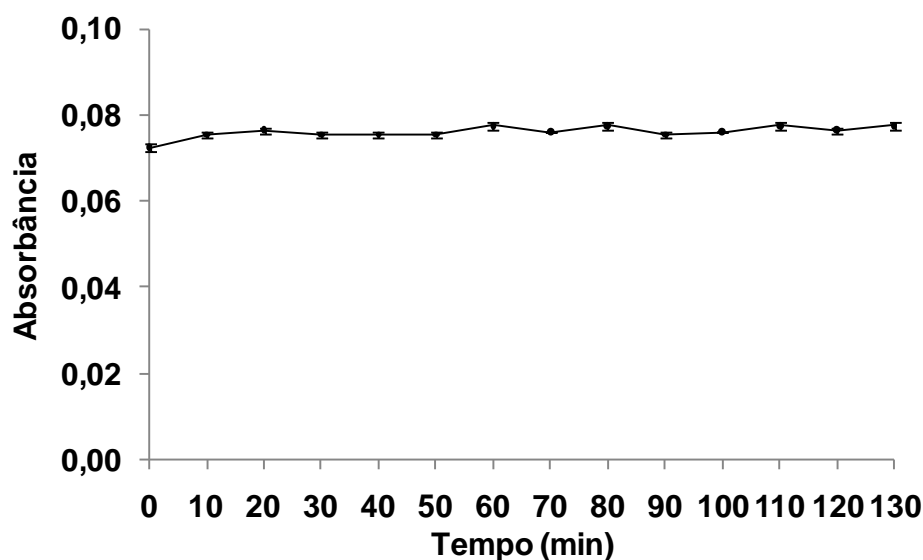
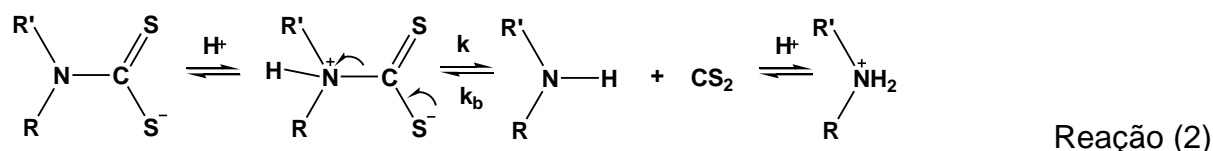


Figura 6. Estabilidade e tempo de formação do complexo $\text{Fe}(\text{APDC})_3$ a partir de uma solução de 1 mg L^{-1} de $\text{Fe}(\text{III})$, contendo $0,3 \text{ mL}$ de APDC 1% (m/v) diluído em etanol.

4.2 Efeito do pH

O complexante APDC tem grande habilidade em se ligar a diferentes íons metálicos, principalmente a metais de transição. No entanto, algumas de suas propriedades quelantes, como a dependência do pH, não diferem de outros complexantes. A faixa de pH entre 2 e 8 foi estudada com incrementos de 1 unidade e está mostrada na Figura 7a. É possível verificar que o sinal analítico aumenta rapidamente entre pH 2 e 3 e decresce rapidamente entre pH 3 e 4. É possível verificar qual a melhor faixa de pH para formação do complexo. No entanto, não é possível saber qual o comportamento da reação nos intervalos entre 2 e 3 e entre 3 e 4 unidades de pH. Neste sentido, um novo estudo foi feito na faixa de pH entre 2,5 e 3,5 com incrementos de 0,2 unidades, o qual está mostrado na Figura 7b. É possível verificar que o complexo $\text{Fe}(\text{APDC})_3$ possui máxima absorbância por volta de pH 3,3, o qual foi selecionado para os demais experimentos. Para valores de pH

superiores a 4, o sinal analítico decresce devido a formação de hidróxido de Fe(III). Para valores inferiores a pH 3, o sinal analítico decresce provavelmente devido a dissociação do complexo, levando a formação de $\text{CS}_2 + \text{R}'\text{RNH}_2^+$,⁶² segundo a Reação 2.



A faixa de pH ótimo encontrada para o método proposto foi inferior aos valores encontrados por outros autores que utilizaram o mesmo complexo para extração em ponto nuvem^{17,18} e absorção por naftaleno.⁷²

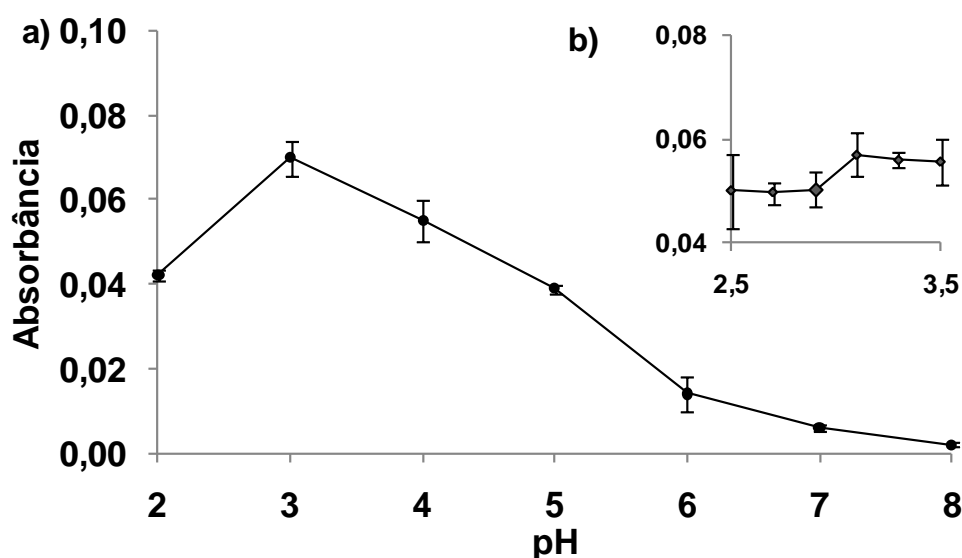


Figura 7. Efeito do pH na complexação de íons Fe(III) com APDC, para faixa de pH entre 2 e 8 (a) e para faixa de pH entre 2,5 e 3,5 (b). Condições: volume de amostra: 10 mL; 1,0 mg L⁻¹ Fe(III); APDC: 0,3 mL solução 1% (m/v).

A partir desses resultados, foi estimada a ϵ do complexo formado em meio aquoso, a qual foi de $4,30 \times 10^3 \text{ L mol}^{-1} \text{ cm}^{-1}$ ($\lambda = 595 \text{ nm}$, pH 3,3). Esta ϵ é muito próxima da encontrada para o complexo formado em etanol ($4,29 \times 10^3 \text{ L mol}^{-1} \text{ cm}^{-1}$),

¹⁷ Giokas et al.; *Anal. Bioanal. Chem.* 373 (2002) 237-243.

¹⁸ Giokas et al.; *J. Anal. Atom. Spectrom.* 16 (2001) 521-526.

⁶² Hulanick, A.; *Talanta* 14 (1967) 1371-1392.

⁷² Satake et al.; *Def. Sci. J.* 32 (1982) 201-205.

justificado pela alta concordância entre os espectros de absorção (Figura 5, item 4.1.3).

4.3 Otimização das condições para DLLME

4.3.1 Formação da fase sedimentada

Nos ensaios realizados a partir da combinação dos solventes extratores (monoclorobenzeno, 1,2-diclorobenzeno, clorofórmio, tetracloroetileno e tetracloreto de carbono) com os solventes dispersores (metanol, etanol, acetonitrila, acetona e THF), foi observada a formação de duas fases para todas as combinações. Quando clorofórmio foi combinado com acetonitrila e acetona foi possível observar um aspecto diferenciado da fase sedimentada, sendo que para ambas as combinações, foi obtido um menor volume de fase sedimentada. Este fato se deve a maior solubilidade do clorofórmio nos solventes dispersores utilizados, o que acaba limitando seu uso na DLLME. Por este motivo, clorofórmio não foi utilizado para os experimentos posteriores.

4.3.2 Seleção do solvente extrator

Entre os quatro solventes extratores avaliados (Figura 8), monoclorobenzeno e 1,2-diclorobenzeno foram os solventes que apresentaram as maiores recuperações (49 e 81%) e com RSDs de 2 e 7%, respectivamente, enquanto que as recuperações para tetracloreto de carbono e tetracloroetileno foram inferiores a 42% e com RSDs menores que 7%. Devido à alta eficiência de extração e baixo RSD, 1,2-diclorobenzeno foi selecionado para os experimentos subsequentes.

Este mesmo solvente têm sido utilizado para extração e pré-concentração de Cu em amostras de água utilizando DLLME.²² No entanto, neste trabalho²² o autor dispensa o uso de complexantes, extraindo o analito na forma de hidróxido.

²² Mohammadi *et al.*; *Anal. Chim. Acta* 653 (2009) 173-177.

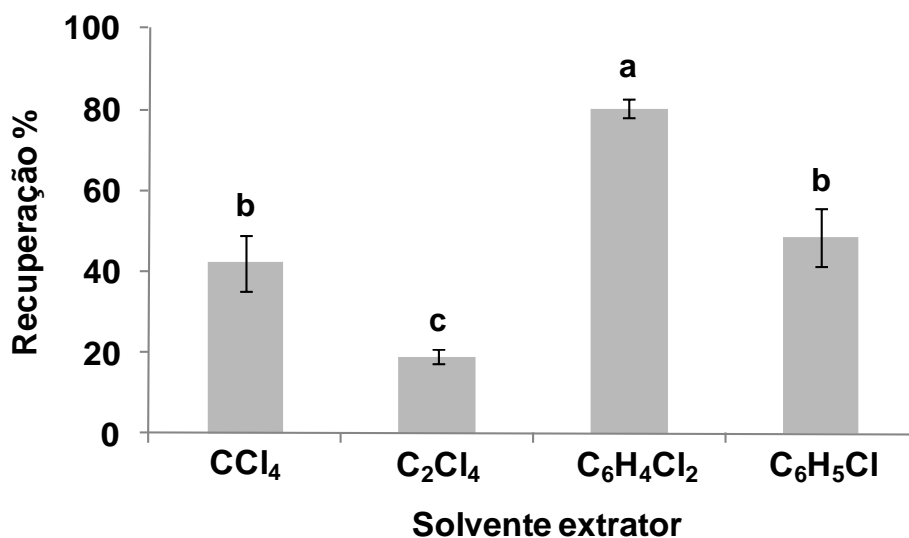


Figura 8. Efeito do tipo de solvente dispersor. Condições: volume de amostra: 10 mL; $1,0 \text{ mg L}^{-1}$ Fe(III); pH da amostra: 3,3; APDC: 0,3 mL solução 1% (m/v); volume do solvente dispersor (etanol): 500 μL ; volume de solvente extrator: 50 μL . As letras a, b e c classificam as médias que apresentaram diferença significativa entre si. CCl_4 - tetracloreto de carbono, C_2Cl_4 - tetracloroetileno, $\text{C}_6\text{H}_4\text{Cl}_2$ - 1,2-diclorobenzeno e $\text{C}_6\text{H}_5\text{Cl}$ - monoclorobenzeno.

4.3.3 Escolha do solvente dispersor

Entre os solventes dispersores, etanol e acetona foram os solventes que apresentaram maiores recuperações (Figura 9), sendo 82% para etanol e 74% para acetona, com RSDs de 4 e 6%, respectivamente. Metanol apresentou recuperações de 48% com RSD de 3%, enquanto que para acetonitrila as recuperações foram de apenas 39%. Entre os solventes avaliados, acetonitrila apresentou valores de RSD relativamente elevados (14%), fato que pode ser explicado pelo aumento do ruído instrumental nas determinações por UV-Vis quando este solvente foi utilizado. Assim, etanol foi selecionado como solvente dispersor para os futuros experimentos devido à sua alta eficiência de extração, baixo RSD e menor toxicidade, quando comparado aos demais solventes estudados.

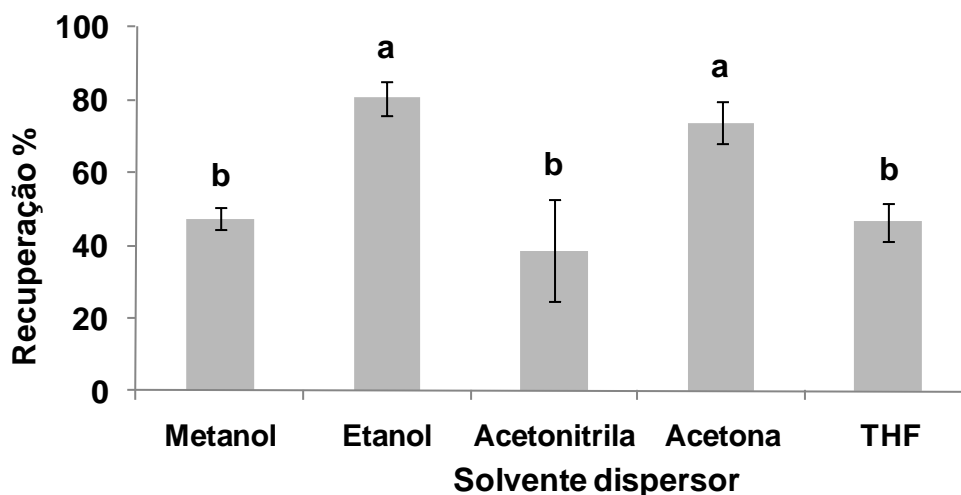


Figura 9. Efeito do tipo de solvente dispersor. Condições: volume de amostra: 10 mL; $1,0 \text{ mg L}^{-1}$ Fe(III); pH da amostra: 3,3; APDC: 0,3 mL solução 1% (m/v); volume do solvente dispersor: 500 μL ; volume do solvente extrator (1,2-diclorobenzeno): 50 μL . As letras a e b classificam as médias que apresentaram diferença significativa entre si.

Moghadam *et al.*,³⁰ também utiliza etanol como solvente dispersor para extração e determinação espectrofotométrica de Fe em amostras de água utilizando DLLME. No entanto, neste trabalho³⁰ o autor utilizou a combinação de etanol com 1-undecanol (solvente extrator) e 2-tenoiltrifluoroacetona (TTA) como agente complexante para Fe.

4.3.4 Seleção do volume do solvente extrator

Maiores recuperações são encontradas quando o volume de 1,2-diclorobenzeno varia entre 30 e 80 μL (78 a 85%), com RSDs menores que 2% (Figura 10). É possível observar que as recuperações também não apresentaram diferença significativa ($p > 0,05$) para este intervalo de volumes. Para o volume de 30 μL de solvente extrator, as recuperações são superiores a 85%. No entanto, a manipulação da fase sedimentada é extremamente difícil. Quando 10 μL de 1,2-diclorobenzeno são utilizados, a recuperação foi de 66%, com RSD de 5%. Este comportamento pode ser explicado pela baixa eficiência de extração causada pela insuficiência de solvente extrator. Deste modo, 50 μL foi escolhido para os demais experimentos por apresentar recuperações satisfatórias (82%) e baixo RSD (2%).

³⁰ Moghadam *et al.*; *J. Hazard. Mater.* 197 (2011) 176-182.

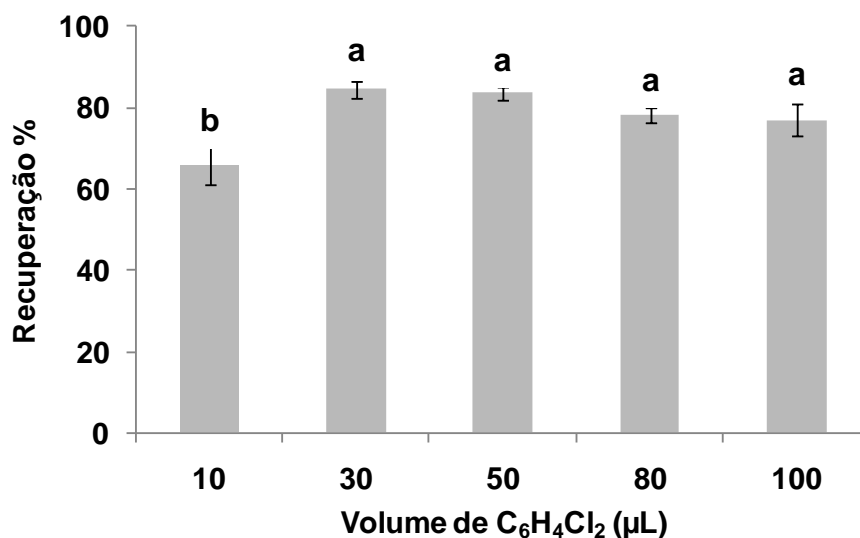


Figura 10. Efeito dos diferentes volumes de 1,2-diclorobenzeno (C₆H₄Cl₂). Condições: volume de amostra: 10 mL; 1,0 mg L⁻¹ Fe(III); pH da amostra: 3,3; APDC: 0,3 mL solução 1% (m/v); volume de solvente dispersor (etanol): 500 µL. As letras a e b classificam as médias que apresentaram diferença significativa entre si.

4.3.5 Escolha do volume de solvente dispersor

Na otimização do volume de solvente dispersor (Figura 11), utilizando 700 µL de etanol são alcançadas recuperações de 89% e RSD de 6%. Com o aumento do volume de solvente dispersor para 1000 µL, a recuperação é reduzida para 85% (RSD de 2%). Este fato pode ser explicado pelo aumento da dissolução do 1,2-diclorobenzeno no meio aquoso causado pelo aumento do volume de etanol no meio. Por se tratar de um sistema ternário de solventes, quanto maior a porcentagem de etanol em relação à água, maior será a porcentagem do 1,2-diclorobenzeno dissolvido.⁸⁰

⁸⁰ Atkins, Editora L.T.C. Rio de Janeiro, 1999, 252 p.

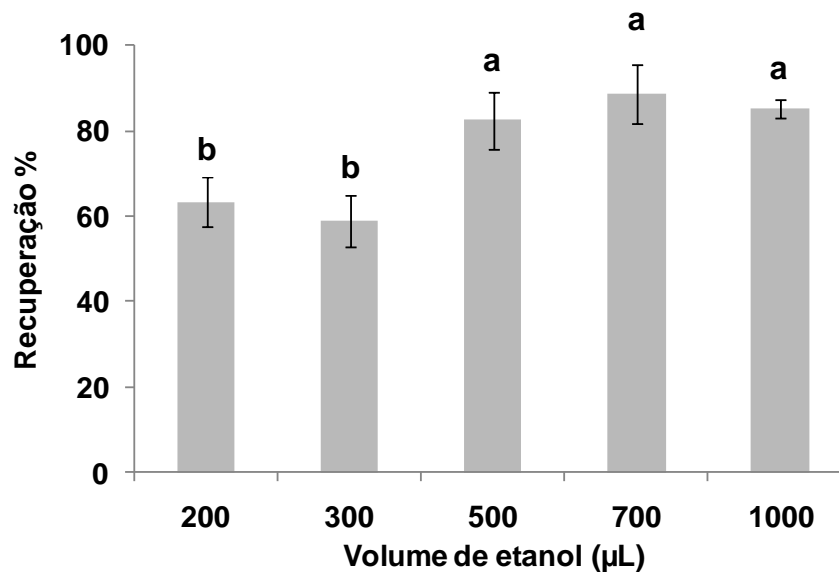


Figura 11. Efeito dos diferentes volumes de etanol (solvente dispersor). Condições: volume de amostra: 10 mL; $1,0 \text{ mg L}^{-1}$ Fe(III); pH da amostra: 3,3; APDC: 0,3 mL solução 1% (m/v); volume de solvente extrator (1,2-diclorobenzeno): 50 µL. As letras a e b classificam as médias que apresentaram diferença significativa entre si.

Para volumes de 200 e 300 µL, as recuperações foram de 63 e 59%, respectivamente, com RSD de 6% para ambos os volumes. Este efeito é causado pela diminuição da área de contato (dispersão) entre solvente extrator e o complexo devido ao pequeno volume de etanol. Ao utilizar 500 µL de etanol, também são obtidas boas recuperações (83%) e RSD em torno de 6%. Cabe destacar que a faixa de estudo entre 500 e 1000 µL não apresentou diferença significativa. Desta forma, 700 µL de solvente dispersor foi o ponto médio entre os ensaios e foi selecionado para os próximos estudos.

4.3.6 Concentração do complexante

Quando foram utilizadas concentrações de 0,5, 1,0, 2,0 e 3,0% (m/v) (0,9, 1,8, 3,6 e $5,5 \text{ mmol L}^{-1}$, respectivamente) de APDC na extração de Fe(III), as recuperações foram de 87, 95, 80 e 92%, com RSDs de 3, 3, 4 e 6%, respectivamente (Figura 12).

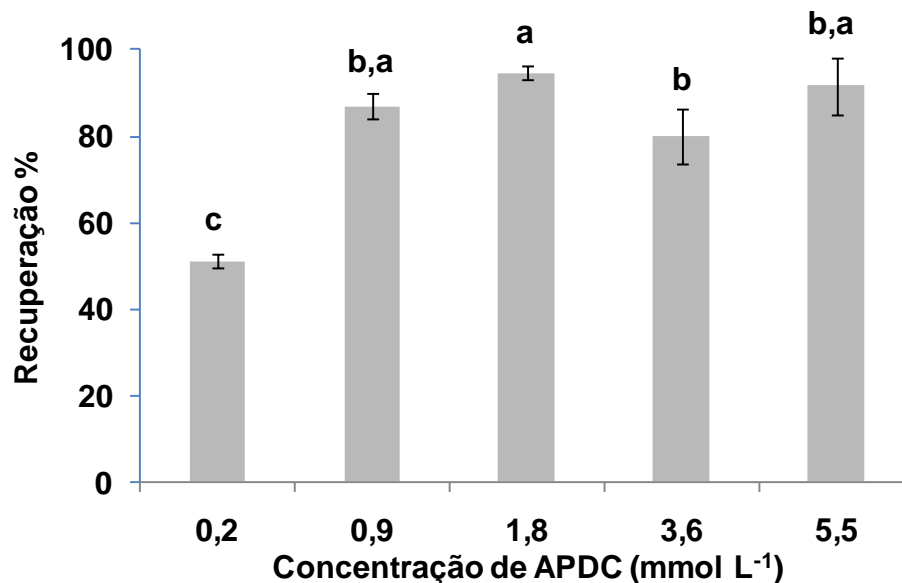


Figura 12. Efeito das diferentes concentrações de APDC. Condições: volume de amostra: 10 mL; 1,0 mg L⁻¹ Fe(III); pH da amostra: 3,3; volume de solvente extrator (1,2-diclorobenzeno): 50 µL; volume de solvente dispersor (etanol): 500 µL. As letras a, b e c classificam as médias que apresentaram diferença significativa entre si.

Não foi observado aumento significativo ($p > 0,05$) nesta faixa de concentração de APDC. Como pode ser observado na Figura 12, o RSD aumenta quando são utilizadas concentrações maiores que 1% (m/v) (1,8 mmol L⁻¹). Este efeito pode ser atribuído ao aumento do ruído instrumental causado pela incompleta dissolução do APDC. Ao se utilizar 0,1% (m/v) (0,2 mmol L⁻¹) de APDC, as recuperações são reduzidas significativamente para 52%, com RSD de 2%. Nesta faixa de concentração, a baixa recuperação pode ser atribuída à incompleta complexação de Fe(III) pelo APDC. Deste modo, 1% (m/v) (1,8 mmol L⁻¹) de APDC foi empregado para os demais experimentos.

4.3.7 Tempo de extração

No intervalo de tempo estudado (entre 0,5 e 30 min), são encontradas recuperações entre 94 e 97%, demonstrando que o tempo de extração não mostrou influência significativa ($p > 0,05$) nas recuperações de Fe(III), indicando que a extração ocorre instantaneamente, sendo esta uma das maiores vantagens da DLLME. A mistura do solvente extrator no solvente dispersor permite uma grande

área de contato entre solvente extrator e analito, permitindo a rápida migração do analito da fase aquosa para a fase extratora. Esta vantagem é enfatizada por diversos trabalhos na literatura tanto para compostos orgânicos^{20,81-83} quanto para metais,^{22,47-49,52,54,60} onde o tempo de extração é inferior a 3 min.

4.3.8 Interferentes

Alguns interferentes podem reduzir a eficiência de extração ou apresentar bandas de absorção na mesma região com complexo Fe(APDC)₃. Na Tabela 3 estão mostrados os resultados para os diferentes interferentes avaliados. Os resultados mostraram que Hg²⁺ e Mn²⁺ interferem na eficiência de extração do analito apenas na razão de 1:10 (analito:interferente, mg L⁻¹). Para Al³⁺, As³⁺, Ni²⁺ e Zn²⁺ a eficiência de extração é reduzida em 10% quando presente em uma proporção de 1:5 (analito:interferente, mg L⁻¹). Para Cd²⁺, Cr³⁺ e Pb²⁺ a proporção destes elementos na amostra não pode ser maior que 1:3 (analito:interferente, mg L⁻¹). O caso mais crítico é para Co²⁺ e Cu²⁺, onde a proporção de 1:1 (analito:interferente, mg L⁻¹), as recuperações não superam 90%. Os elementos de transição tem a característica de formar compostos de coordenação com bases de Lewis, ou seja, com grupos capazes de doar pares de elétrons, nesse caso o enxofre.⁶² O Co²⁺ forma mais complexos e compostos que qualquer outro elemento, exceto o carbono.³²

²⁰ Rezaee *et al.*; *J. Chromatogr. A* 1116 (2006) 1-9.

²² Mohammadi *et al.*; *Anal. Chim. Acta* 653 (2009) 173-177.

³² Lee, Blucher. São Paulo, 1999, 546 p.

⁴⁷ Najafi *et al.*; *Anal. Chim. Acta* 670 (2010) 18-23.

⁴⁸ Naseri *et al.*; *Anal. Chim. Acta* 610 (2008) 135-141.

⁴⁹ Shokoufi *et al.*; *Anal. Chim. Acta* 681 (2010) 56-62.

⁵² Abdolmohammad-Zadeh *et al.*; *Cent. Eur. J. Chem.* 8 (2010) 617-625.

⁵⁴ Gharehbaghi *et al.*; *F. Chem. Toxicol.* 49 (2011) 423-428.

⁶⁰ Mirzaei *et al.*; *J. Hazard. Mater.* 186 (2011) 1739-1743.

⁶² Hulanick, A.; *Talanta* 14 (1967) 1371-1392.

⁸¹ Campone *et al.*; *Anal. Bioanal. Chem.* 399 (2010) 1279-1286.

⁸² Campillo *et al.*; *J. Chromatogr. A* 1217 (2010) 7323-7330.

⁸³ Zhang *et al.*; *Chromatographia* 72 (2010) 1195-1199.

Tabela 2. Limites toleráveis para diferentes íons na determinação Fe por UV-Vis.

Espécies interferentes	Limites toleráveis (analito:interferente, mg L ⁻¹)
Co ²⁺ , Cu ²⁺	1:1
Cd ²⁺ , Cr ³⁺ , Pb ²⁺	1:3
Al ³⁺ , As ³⁺ , Ni ²⁺ , Zn ²⁺	1:5
Hg ²⁺ , Mn ²⁺ ,	1:10
F ⁻	1:100
Ca ²⁺	1:10 000
PO ₄ ³⁻ , SO ₄ ²⁻	1:10 000
Mg ²⁺	1:50 000
K ⁺ , Na ⁺ ,	1:100 000
Cl ⁻	1:200 000

Em termos de interferência espectral, nenhum dos possíveis interferentes absorve na mesma região espectral do complexo Fe(APDC)₃. Cabe salientar que o complexo de Cu²⁺ com APDC absorve fortemente na região entre 400 e 500 nm. Dependendo das concentrações de Cu²⁺, a banda de absorção é tão intensa que pode distorcer a banda do complexo Fe(APDC)₃, tornando-se um possível interferente espectral. Neste sentido, o estudo deste interferente mostrou que, em concentrações de até 0,1 mg L⁻¹, a banda de absorção do complexo Fe(APDC)₃ não apresenta distorção e podem ser obtidas recuperações de até 90%. Este fato também foi enfatizado por Satake & Singh,⁷² que estudaram de maneira similar a influência de interferentes na determinação de Fe utilizando APDC como agente quelante e determinação por espectrofotometria.

Resultados contrários são observados para halogênios (Cl⁻ e F⁻), alguns metais alcalinos e alcalinos terrosos (K⁺, Mg²⁺, Na⁺), além de ânions como PO₄³⁻ e SO₄²⁻. Para estes compostos, as concentrações que podem interferir na extração do analito são relativamente elevadas. No caso do Cl⁻, as recuperações do analito diminuem em 10% apenas quando a concentração deste íon atinge 20 g L⁻¹. Fluoreto interfere quando presente em concentrações superiores a 10 mg L⁻¹. Para os íons como K⁺, Mg²⁺ e Na⁺ as recuperações diminuem em 10% quando suas concentrações são maiores que 5,0 g L⁻¹. Já para Ca²⁺, PO₄³⁻ e SO₄²⁻ as concentrações não devem ultrapassar 1,0 g L⁻¹.

⁷² Satake *et al.*; *Def. Sci. J.* 32 (1982) 201-205.

Cabe destacar que para todos os interferentes, as concentrações que podem reduzir a eficiência de extração de Fe estão muito acima das concentrações encontradas em ambientes aquáticos, seja para águas de baixa, média ou de alta salinidade. Mesmo para os interferentes metálicos, onde as concentrações máximas são pequenas quando comparadas às concentrações de elementos majoritários (ex: Ca^{2+} , K^+ , Mg^{2+} e Na^+), as concentrações estão acima de $0,1 \text{ mg L}^{-1}$. Cabe destacar que alguns íons metálicos estão presentes geralmente em níveis traço nos ambientes aquáticos (salinidade baixa e média) ou até mesmo em ultratraço, quando presentes em ambientes marinhos (alta salinidade).¹

4.4 Desempenho do método analítico

4.4.1 Curva de calibração e linearidade

O ponto correspondente a $0,01 \text{ mg L}^{-1}$ Fe (III) não apresentou sinal analítico e foi desconsiderado. Para a faixa estudada entre $0,02 - 3,00 \text{ mg L}^{-1}$, foi possível verificar um padrão típico de não linearidade a partir do cálculo de resíduos (Figura 13) e do r^2 ($0,9637$) encontrado a partir da construção da curva de calibração utilizando esses pontos. Para concentração de $2,50$ e $3,00 \text{ mg L}^{-1}$ Fe(III) (correspondentes às barras 9 e 10 da Figura 13), os resíduos mostram claramente este comportamento, podendo assim serem excluídos da curva de calibração para uma nova avaliação.

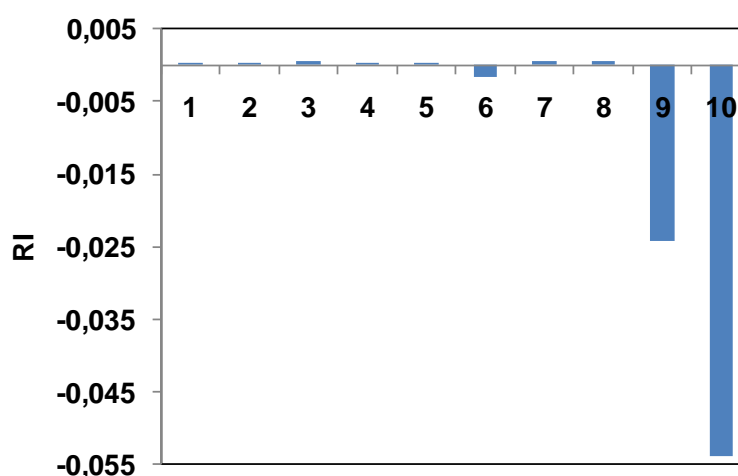


Figura 13. Histograma dos RI antes da definição da faixa linear.

¹ Neto et al.; *Poluição Marinha*, 2008, 440 p.

Com a exclusão dos dois últimos pontos foi possível construir uma nova curva de calibração, a qual apresentou r^2 de 0,9998 para a faixa de concentração entre 0,02 e 2,00 mg L^{-1} (representados pelas barras de 1 a 8 da Figura 14), caracterizando uma grande correlação entre os pontos.

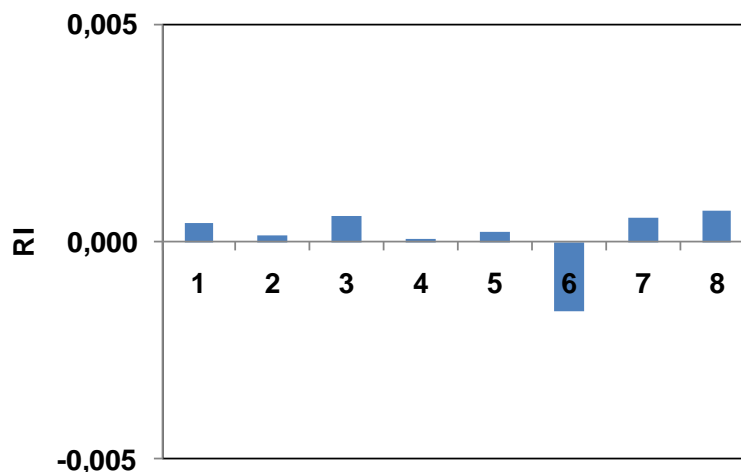


Figura 14. Histograma dos RI após a definição da faixa linear.

A partir do histograma dos resíduos de interpolação mostrado na Figura 14, é possível verificar o novo comportamento dos dados. Estes resultados podem ser confirmados na Figura 15, onde as razões A/m (e os limites de tolerância) são plotadas em função da concentração.

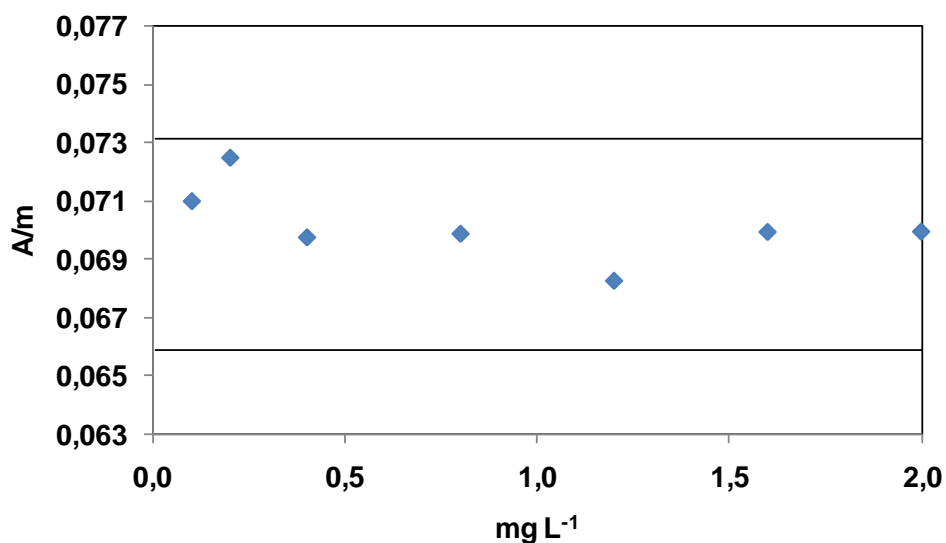


Figura 15. Razões A/m com LS e LI (5%) do limite de tolerância para cada concentração de Fe após a definição da faixa linear.

Com este tratamento estatístico foi possível definir a curva de calibração, pois a mesma apresenta boa linearidade ($r^2 > 0,999$) e pequena dispersão entre os dados. Desta maneira, a equação linear da curva de calibração foi definida como sendo $Y = 0,0696x + 0,0003$, válida para a faixa de concentração entre 0,02 e 2,00 mg L⁻¹.

4.4.2 Limite de detecção e limite de quantificação

O LOD e o LOQ do instrumento utilizando DLLME e UV-Vis para a determinação de Fe total foram de 20 e 60 µg L⁻¹, respectivamente, enquanto que o LOD do método (LODm) e LOQ do método (LOQm) foram de 6 e 18 µg L⁻¹, respectivamente.

Um ponto importante é que o LODm encontrado neste estudo é menor que o LOD encontrado para o método padrão (reação entre Fe(II) e 1,10-fenantrolina⁷⁹) e para o método sugerido pela Agência de Proteção do Meio Ambiente (EPA), onde as determinações são feitas utilizando F AAS,⁸⁴ apresentando LOD de 30 µg L⁻¹.

Como pode ser observado na Tabela 4, devido à pré-concentração proporcionada pela DLLME, o LOD obtido para Fe no método proposto é comparável ou até mesmo inferior a diferentes técnicas de determinação como F AAS e UV-Vis, as quais também fazem uso de pré-concentração.

Tabela 3. Características dos diferentes métodos de extração e determinação de Fe em amostras de água.

Método	Técnica de detecção	r^2	FP	LOD (µg L ⁻¹)	Referências
CPE	F AAS	0,997	20	19	17
CPE	UV-Vis	0,997	50	7,0	18
SPE	ICP OES	ni	156	0,053	14
LLE	UV-Vis	0,999	20	29	9
LLE	F AAS	ni	-	100	68
DLLME	UV-Vis	0,999	3,3	6,1	Método proposto

ni = não informado; FP = fator de pré-concentração.

⁷⁹ ABNT, Associação Brasileira de Normas Técnicas, Rio de Janeiro, 1997.

⁸⁴ U. S. Environmental Protection Agency (online), 1978.

⁹ Almendral *et al.*; *Microchim. Acta* 147 (2004)

¹⁴ Xiong *et al.*; *Anal. Chim. Acta* 559 (2006) 113-119.

¹⁷ Giokas *et al.*; *Anal. Bioanal. Chem.* 373 (2002) 237-243.

¹⁸ Giokas *et al.*; *J. Anal. Atom. Spectrom.* 16 (2001) 521-526.

⁶⁸ Tautkus *et al.*; *J. Serb. Chem. Soc.* 69 (2004) 393-402.

4.4.3 Precisão e exatidão

A precisão e a exatidão estimadas a partir do RSD e de ensaios de recuperação do analito para cada tipo de salinidade estão mostrados na Tabela 5. Para as amostras de água de baixa salinidade foram encontrados recuperações entre 92 e 100% com RSDs inferiores a 5%. Para amostras de média salinidade as recuperações encontradas foram entre 92 e 100% com RSDs inferiores a 12%. Já para amostras de alta salinidade as recuperações encontradas foram entre 90 e 102% enquanto os RSDs não excederam 9%.

Tabela 4. Precisão e exatidão para a determinação de Fe(III) em amostras de água com diferentes salinidades. Resultados correspondem a média \pm desvio padrão, n = 5.

Amostra	Adicionado ($\mu\text{g L}^{-1}$)	Certificado ($\mu\text{g L}^{-1}$)	Encontrado ($\mu\text{g L}^{-1}$)	Recuperação (%)
Salinidade baixa ^a	-	-	48 \pm 2	-
	60	-	113 \pm 2	100
	300	-	345 \pm 17	100
	600	-	596 \pm 12	92
Salinidade média ^b	-	-	23 \pm 3	-
	60	-	81 \pm 2	100
	300	-	302 \pm 3	97
	600	-	566 \pm 5	92
Salinidade alta ^c	-	-	< 18.1	-
	60	-	61 \pm 1	102
	300	-	272 \pm 2	90
	600	-	537 \pm 3	90
CRM 1643e	-	98,1 \pm 1	102 \pm 5	104*

^a Água de torneira.

^b Água estuarina.

^c Água de alto mar

* Concordância com o valor certificado.

É possível observar que entre as diferentes salinidades, a amostra de alta salinidade foi a que apresentou menores valores de recuperações nas concentrações estudadas (300 e 600 $\mu\text{g L}^{-1}$), evidenciando assim uma possível interferência da matriz salina na extração do Fe. No entanto, em um estudo adicional dos coeficientes angulares das curvas feitas com adição de analito e curva no solvente, foi encontrada uma redução de apenas 8% nas inclinações das curvas, demonstrando que a exatidão do método não é comprometida nas condições de

extração e aplicação aqui estabelecidas. Adicionalmente, a exatidão foi avaliada utilizando um CRM e os resultados foram concordantes com o valor certificado (104%) e com RSD de 5%.

4.5 Conversão entre as espécies

Para avaliar a conversão entre as espécies de Fe(II) e Fe(III) causada pelo complexante, foi feito um estudo adicional que está mostrado na Tabela 6. O estudo apresentou excelentes recuperações, variando entre 97 e 100% e com RSDs inferiores a 9% para as concentrações estudadas, mostrando a total oxidação de Fe(II) para Fe(III) causada pelo APDC.

Tabela 5. Determinação de Fe total em amostra de água de alta salinidade a partir da adição das espécies Fe(III) e Fe(II). Resultados correspondem a média \pm desvio padrão, n = 5.

Amostra	Adicionado ($\mu\text{g L}^{-1}$)		Encontrado ($\mu\text{g L}^{-1}$) (Fe total)	Recuperação (%)
	Fe(III)	Fe(II)		
Alta salinidade	0	0	< 18,1	-
	300	0	293 \pm 27	98
	0	300	290 \pm 3	97
	150	150	300 \pm 6	100

4.6 Aplicação do método

O método proposto foi aplicado para determinação de Fe total em amostras de água mineral, água de poço, estuarina e marinha. Adicionalmente, foi feito um novo ensaio de recuperação com concentrações de 60 e 300 $\mu\text{g L}^{-1}$ de Fe(III) para acompanhar a eficiência de extração da DLLME em amostras de baixa salinidade (água mineral A) e de alta salinidade. Os resultados estão mostrados na Tabela 7. As recuperações variaram entre 86 e 102%, com RSDs inferiores a 9% para as duas amostras de água. Já para as amostras de água mineral e para a amostra de água de alto mar, as concentrações de Fe total foram abaixo do LODm (18,1 $\mu\text{g L}^{-1}$). Em águas oceânicas, a concentração de Fe dissolvido é extremamente baixa (da ordem

de $\mu\text{g L}^{-1}$ ou ng L^{-1})^{85,86} e somente podem ser detectadas e quantificadas quando se utilizam métodos de preparo de amostras de alto fator de pré-concentração e/ou técnicas de elevada sensibilidade.

Tabela 6. Determinação de Fe total em amostras de água com diferentes salinidades usando o método proposto em comparação com o método 1,10-fenantrolina. Resultados correspondem a média \pm desvio padrão ($\mu\text{g L}^{-1}$), n = 5.

Salinidade	Amostras	Adicionado	Método proposto	R (%)	1,10-fenantrolina
Baixa	A	-	< 18,1	-	< 30
		60	51	86	-
		300	270	90	-
	B	-	< 18,1	-	< 30
	C	-	< 18,1	-	< 30
	D	-	< 18,1	-	< 30
Média	E	-	25 \pm 1	-	< 30
	Poço	-	35 \pm 2	-	37 \pm 2
Alta	Estuarina	-	< 18,1	-	< 30
Alta	Alto mar	-	< 18,1	-	< 30
		60	61	102	-
		300	272	91	-

Utilizando o método proposto foi encontrado Fe total com concentrações de 25 \pm 1 e 35 \pm 2 $\mu\text{g L}^{-1}$ nas amostras água mineral E e água de poço, respectivamente. Enquanto que, com o método 1,10-fenantrolina, as concentrações encontradas para Fe total foram abaixo do LOD (30 $\mu\text{g L}^{-1}$) para água mineral E e de 37 \pm 2 $\mu\text{g L}^{-1}$ para água de poço. No caso da água de poço, foi obtida concordância de 95% entre os dois métodos, não apresentando diferença significativa ($p > 0,05$). A concentração encontrada nas amostras de água mineral e de poço estão abaixo do valor máximo permitido pela portaria 1469 do Ministério da Saúde,⁸⁷ e pelo CONAMA,³⁷ os quais estabelecem limites máximos de 300 $\mu\text{g L}^{-1}$ de Fe para água de consumo humano e de abastecimento.

³⁷ CONAMA, Conselho Nacional do Meio Ambiente, 2005.

⁸⁵ Armstrong, F. A. J.; *J. Mar. Biol. Assoc. UK* 36 (1957) 509-517.

⁸⁶ Achterberg *et al.*; *Anal. Chim. Acta* 442 (2001) 1-14.

⁸⁷ Ministério da saúde - Portaria nº 1469, de 29 de dezembro de 2000.

Um importante ponto é a etapa de pré-concentração do método utilizando DLLME, a qual permite a determinação de Fe total na amostra de água mineral E ($25 \pm 1 \mu\text{g L}^{-1}$). Esta determinação não foi possível utilizando o método 1,10-fenantrolina devido ao LOQm ($30 \mu\text{g L}^{-1}$). Outro ponto é a etapa desnecessária de redução ou oxidação do elemento para posterior determinação ao se utilizar o método proposto, pois ambas as espécies são complexadas por APDC.

5. CONCLUSÕES

Um novo método utilizando DLLME combinado com UV-Vis foi desenvolvido para a extração, pré-concentração e determinação de Fe total em amostras de água de diferentes salinidades. O método é baseado na formação do complexo $\text{Fe}(\text{APDC})_3$, o qual pode ser determinado espectrofotometricamente em 595 nm. O método foi caracterizado como sendo simples e rápido e, devido à etapa de pré-concentração, o LOD alcançado é relativamente baixo quando comparado a técnicas espectrométricas, tais como F AAS e ICP OES. Além disso, o método desenvolvido necessita de baixos volumes de solventes, gerando assim menor quantidade de resíduos.

O método desenvolvido é baseado na extração e pré-concentração de Fe após complexação com o reagente quelante APDC. Para isso, uma mistura adequada de solvente extrator (50 μL de 1,2-diclorobenzeno) e solvente dispersor (700 μL de etanol) foi injetado rapidamente com auxílio de uma seringa em 10 mL de amostra acidificada a pH 3,3, contendo 0,3 mL de solução de APDC 1% (m/v) (1,8 mmol L^{-1}). Durante a injeção foi possível observar a formação de microgotas. Em seguida, esta solução turva foi centrifugada por 5 min (3000 rpm) e o solvente extrator contendo o analito foi sedimentado no inferior do tubo cônico (15 mL). A fase aquosa foi retirada e a fase sedimentada foi diluída até 3 mL com etanol, para posterior determinação por UV-Vis em 595 nm.

A determinação de Fe total utilizando DLLME seguida de determinação espectrofotométrica é interessante do ponto de vista econômico, por ser uma técnica não destrutiva e apresentar alta exatidão e precisão. Outro ponto importante é o uso da DLLME como método de preparo, pois além da etapa de pré-concentração, o extrato (fase sedimentada) pode ser manipulado de acordo com a técnica de determinação, podendo alcançar maiores fatores de pré-concentração.

6. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- 1 Neto, J. A. B.; Wallner-Kersanach, M.; Patchineelam, S. M. *Poluição marinha*. Rio de Janeiro, 2008, 440 p.
- 2 Ansari, T. M.; Marr, I. L.; Tariq, N. Heavy metals in marine pollution perspective - A mini review. *J. Appl. Sci* 4 (2004) 1-20.
- 3 Batra, J.; Seth, P. K. Effect of iron deficiency on developing rat brain. *Indian J. Clin. Biochem.* 17 (2002) 108-114.
- 4 Beard, J. L. Iron biology in immune function, muscle metabolism and neuronal functioning. *J. Nutr.* 131 (2001) 568S-579S.
- 5 Jellen, L. C.; Beard, J. L.; Jones, B. C. Systems genetics analysis of iron regulation in the brain. *Biochimie* 91 (2009) 1255-1259.
- 6 Soetan, K. O.; Olaiya, C. O.; Oyewole, O. E. The importance of mineral elements for humans, domestic animals and plants - A review. *Afr. J. Food Sci.* 4 (2010) 200-222.
- 7 Bhatia, K. Neurodegeneration with brain iron accumulation disorders: an update. *J. Neurol.* 258 (2011) 8-8.
- 8 Cortese, S.; Azoulay, R.; Castellanos, F. X.; Chalard, F.; Lecendreux, M.; Chechin, D.; Delorme, R.; Sebag, G.; Sbarbati, A.; Mouren, M. C.; Dalla Bernardina, B.; Konofal, E. Brain iron levels in attention-deficit/hyperactivity disorder: A pilot MRI study. *World J. Biol. Psych.* 13 (2012) 223-231.
- 9 Almendral, M. J.; Alonso, A.; Porras, M. J.; García, M. A.; Curto, Y. Determination of iron in tap and waste water using liquid-liquid extraction in a flow-injection system. *Microchim. Acta* 147 (2004).
- 10 Kozak, J.; Jodłowska, N.; Kozak, M.; Kościelniak, P. Simple flow injection method for simultaneous spectrophotometric determination of Fe(II) and Fe(III). *Anal. Chim. Acta* 702 (2011) 213-217.
- 11 Khayatian, G.; Hassanpoor, S.; Nasiri, F.; Zolali, A. Pre-concentration, determination and speciation of iron by solid-phase extraction using dimethyl-(E)-2-[(Z)-1-acetyl-2-hydroxy-1-propenyl]-2-butenedioate. *Quim. Nova* 35 (2012) 535-540.

- 12 Kremling, K.; Petersen, H. APDC-MIBK extraction system for determination of copper and iron in 1 cm³ of sea-water by flameless atomic-absorption spectrometry. *Anal. Chim. Acta* 70 (1974) 35-39.
- 13 Naozuka, J.; Oliveira, P. V. Minimization of sample pretreatment for Al, Cu and Fe determination in coconut water by electrothermal atomic absorption spectrometry. *J. Braz. Chem. Soc.* 17 (2006) 521-526.
- 14 Xiong, C.; Jiang, Z.; Hu, B. Speciation of dissolved Fe(II) and Fe(III) in environmental water samples by micro-column packed with N-benzoyl-N-phenylhydroxylamine loaded on microcrystalline naphthalene and determination by electrothermal vaporization inductively coupled plasma-optical emission spectrometry. *Anal. Chim. Acta* 559 (2006) 113-119.
- 15 Abadi, M. D. M.; Ashraf, N.; Chamsaz, M.; Shemirani, F. An overview of liquid phase microextraction approaches combined with UV-Vis spectrophotometry. *Talanta* 99 (2012) 1-12.
- 16 Bayon, G.; Birot, D.; Bollinger, C.; Barrat, J. A. Multi-element determination of trace elements in natural water reference materials by ICP-SFMS after Tm addition and iron co-precipitation. *Geostand. Geoanal. Res.* 35 (2011) 145-153.
- 17 Giokas, D.; Paleologos, E.; Karayannis, M. Speciation of Fe(II) and Fe(III) by the modified ferrozine method, FIA-spectrophotometry, and flame AAS after cloud-point extraction. *Anal. Bioanal. Chem.* 373 (2002) 237-243.
- 18 Giokas, D. L.; Paleologos, E. K.; Tzouwara-Karayanni, S. M.; Karayannis, M. I. Single-sample cloud point determination of iron, cobalt and nickel by flow injection analysis flame atomic absorption spectrometry-application to real samples and certified reference materials. *J. Anal. Atom. Spectrom.* 16 (2001) 521-526.
- 19 Jezequel, D.; Brayner, R.; Metzger, E.; Viollier, E.; Prevot, F.; Fievet, F. Two-dimensional determination of dissolved iron and sulfur species in marine sediment pore-waters by thin-film based imaging. Thau lagoon (France). *Estuar. Coast. Shelf Sci.* 72 (2007) 420-431.
- 20 Rezaee, M.; Assadi, Y.; Milani Hosseini, M.-R.; Aghaee, E.; Ahmadi, F.; Berijani, S. Determination of organic compounds in water using dispersive liquid-liquid microextraction. *J. Chromatogr. A* 1116 (2006) 1-9.

- 21 Khani, R.; Shemirani, F.; Majidi, B. Combination of dispersive liquid-liquid microextraction and flame atomic absorption spectrometry for preconcentration and determination of copper in water samples. *Desalination* 266 (2011) 238-243.
- 22 Mohammadi, S. Z.; Afzali, D.; Baghelani, Y. M. Ligandless-dispersive liquid-liquid microextraction of trace amount of copper ions. *Anal. Chim. Acta* 653 (2009) 173-177.
- 23 Škrliková, J.; Andruch, V.; Balogh, I. S.; Kocúrová, L.; Nagy, L.; Bazel', Y. A novel, environmentally friendly dispersive liquid-liquid microextraction procedure for the determination of copper. *Microchem. J.* 99 (2011) 40-45.
- 24 Yousefi, S. R.; Ahmadi, S. J. Development a robust ionic liquid-based dispersive liquid-liquid microextraction against high concentration of salt combined with flame atomic absorption spectrometry using microsample introduction system for preconcentration and determination of cobalt in water and saline samples. *Microchim. Acta* 172 (2010) 75-82.
- 25 Li, S.; Cai, S.; Hu, W.; Chen, H.; Liu, H. Ionic liquid-based ultrasound-assisted dispersive liquid-liquid microextraction combined with electrothermal atomic absorption spectrometry for a sensitive determination of cadmium in water samples. *Spectrochim. Acta Part B* 64 (2009) 666-671.
- 26 Wu, Q.; Wu, C.; Wang, C.; Lu, X.; Li, X.; Wang, Z. Sensitive determination of cadmium in water, beverage and cereal samples by a novel liquid-phase microextraction coupled with flame atomic absorption spectrometry. *Anal. Methods* 3 (2011) 210.
- 27 Liang, P.; Peng, L.; Yan, P. Speciation of As(III) and As(V) in water samples by dispersive liquid-liquid microextraction separation and determination by graphite furnace atomic absorption spectrometry. *Microchim. Acta* 166 (2009) 47-52.
- 28 Rivas, R. E.; López-García, I.; Hernández-Córdoba, M. Speciation of very low amounts of arsenic and antimony in waters using dispersive liquid-liquid microextraction and electrothermal atomic absorption spectrometry. *Spectrochim. Acta Part B* 64 (2009) 329-333.
- 29 Jia, X.; Han, Y.; Liu, X.; Duan, T.; Chen, H. Speciation of mercury in water samples by dispersive liquid-liquid microextraction combined with high

- performance liquid chromatography-inductively coupled plasma mass spectrometry. *Spectrochim. Acta Part B* 66 (2011) 88-92.
- 30 Moghadam, M. R.; Shabani, A. M. H.; Dadfarnia, S. Spectrophotometric determination of iron species using a combination of artificial neural networks and dispersive liquid-liquid microextraction based on solidification of floating organic drop. *J. Hazard. Mater.* 197 (2011) 176-182.
- 31 Nordberg, G. F.; Fowler, B. A.; Nordberg, M.; Friberg, L. T. *Handbook on the toxicology of metals*. 3^a ed. Academic Press. Califórnia, 2007, 992 p.
- 32 Lee, J. D. *Química Inorgânica não tão concisa*. Blucher. São Paulo, 1999, 546 p.
- 33 Rue, E. L.; Bruland, K. W. Complexation of iron(III) by natural organic ligands in the Central North Pacific as determined by a new competitive ligand equilibration/adsorptive cathodic stripping voltammetric method. *Mar. Chem.* 50 (1995) 117-138.
- 34 Wells, M. L.; Price, N. M.; Bruland, K. W. Iron chemistry in seawater and its relationship to phytoplankton: a workshop report. *Mar. Chem.* 48 (1995) 157-182.
- 35 Batista-Nascimento, L.; Pimentel, C.; Menezes, R. A.; Rodrigues-Pousada, C. Iron and Neurodegeneration: From Cellular Homeostasis to Disease. *Oxid. Med. Cell. Longev.* (2012).
- 36 Bleackley, M. R.; Wong, A. Y. K.; Hudson, D. M.; Wu, C. H. Y.; MacGillivray, R. T. A. Blood Iron Homeostasis: Newly Discovered Proteins and Iron Imbalance. *Transfus. Med. Rev.* 23 (2009) 103-123.
- 37 CONAMA. Conselho Nacional do Meio Ambiente, resolução nº 357, de 17 de março de 2005, disponível em: http://www.cetesb.sp.gov.br/agua/praias/res_conama_357_05.pdf, acessado em: 31 de fevereiro de 2013.
- 38 WHO. World Health Organization. Guidelines for drinking-water quality Geneva, 1996.
- 39 Akl, M. A. Preconcentration extractive separation, speciation and spectrometric determination of iron(III) in environmental samples. *Microchem. J.* 75 (2003) 199-209.
- 40 Kagaya, S.; Takata, D.; Yoshimori, T.; Kanbara, T.; Tohda, K. A sensitive and selective method for determination of gold(III) based on electrothermal atomic

- absorption spectrometry in combination with dispersive liquid-liquid microextraction using dicyclohexylamine. *Talanta* 80 (2010) 1364-1370.
- 41 Sereshti, H.; Khojeh, V.; Samadi, S. Optimization of dispersive liquid-liquid microextraction coupled with inductively coupled plasma-optical emission spectrometry with the aid of experimental design for simultaneous determination of heavy metals in natural waters. *Talanta* 83 (2011) 885-890.
- 42 Anthemidis, A. N.; Ioannou, K.-I. G. Development of a sequential injection dispersive liquid-liquid microextraction system for electrothermal atomic absorption spectrometry by using a hydrophobic sorbent material: Determination of lead and cadmium in natural waters. *Anal. Chim. Acta* 668 (2010) 35-40.
- 43 Bahar, S.; Zakerian, R. Speciation of Fe(II) and Fe(III) by using Dispersive Liquid-Liquid Microextraction and Flame Atomic Absorption Spectrometry. *J. Braz. Chem. Soc.* 23 (2012) 944-950.
- 44 Dadfarnia, S.; Haji Shabani, A. M. Recent development in liquid phase microextraction for determination of trace level concentration of metals-A review. *Anal. Chim. Acta* 658 (2010) 107-119.
- 45 Sorouraddin, M. H.; Khoshmaram, L. Combination of dispersive liquid-liquid microextraction with flame atomic absorption for determination of trace Ni and Co in water samples and vitamin B-12. *J. Chin. Chem. Soc.* 57 (2010) 1346-1352.
- 46 De La Calle, I.; Pena-Pereira, F.; Cabaleiro, N.; Lavilla, I.; Bendicho, C. Ion pair-based dispersive liquid-liquid microextraction for gold determination at ppb level in solid samples after ultrasound-assisted extraction and in waters by electrothermal-atomic absorption spectrometry. *Talanta* 84 (2011) 109-115.
- 47 Najafi, N. M.; Tavakoli, H.; Alizadeh, R.; Seidi, S. Speciation and determination of ultra trace amounts of inorganic tellurium in environmental water samples by dispersive liquid-liquid microextraction and electrothermal atomic absorption spectrometry. *Anal. Chim. Acta* 670 (2010) 18-23.
- 48 Naseri, M. T.; Hemmatkhan, P.; Hosseini, M. R. M.; Assadi, Y. Combination of dispersive liquid-liquid microextraction with flame atomic absorption spectrometry using microsample introduction for determination of lead in water samples. *Anal. Chim. Acta* 610 (2008) 135-141.

- 49 Shokoufi, N.; Hamdamali, A. Laser induced-thermal lens spectrometry in combination with dispersive liquid-liquid microextraction for trace analysis. *Anal. Chim. Acta* 681 (2010) 56-62.
- 50 Mohammadi, S. Z.; Afzali, D.; Taher, M. A.; Baghelani, Y. M. Determination of trace amounts of palladium by flame atomic absorption spectrometry after ligandless-dispersive liquid-liquid microextraction. *Microchim. Acta* 168 (2010) 123-128.
- 51 Kokya, T. A.; Farhadi, K. Optimization of dispersive liquid-liquid microextraction for the selective determination of trace amounts of palladium by flame atomic absorption spectroscopy. *J. Hazard. Mater.* 169 (2009) 726-733.
- 52 Abdolmohammad-Zadeh, H.; Ebrahimzadeh, E. Determination of cobalt in water samples by atomic absorption spectrometry after pre-concentration with a simple ionic liquid-based dispersive liquid-liquid micro-extraction methodology. *Cent. Eur. J. Chem.* 8 (2010) 617-625.
- 53 Berton, P.; Wuilloud, R. G. Highly selective ionic liquid-based microextraction method for sensitive trace cobalt determination in environmental and biological samples. *Anal. Chim. Acta* 662 (2010) 155-162.
- 54 Gharehbaghi, M.; Shemirani, F. Ionic liquid-based dispersive liquid-liquid microextraction and enhanced spectrophotometric determination of molybdenum (VI) in water and plant leaves samples by FO-LADS. *F. Chem. Toxicol.* 49 (2011) 423-428.
- 55 Molaakbari, E.; Mostafavi, A.; Afzali, D. Ionic liquid ultrasound assisted dispersive liquid-liquid microextraction method for preconcentration of trace amounts of rhodium prior to flame atomic absorption spectrometry determination. *J. Hazard. Mater.* 185 (2011) 647-652.
- 56 Jia, X.; Han, Y.; Liu, X.; Duan, T.; Chen, H. Dispersive liquid-liquid microextraction combined with flow injection inductively coupled plasma mass spectrometry for simultaneous determination of cadmium, lead and bismuth in water samples. *Microchim. Acta* 171 (2010) 49-56.
- 57 Birjandi, A. P.; Bidari, A.; Rezaei, F.; Hosseini, M. R. M.; Assadi, Y. Speciation of butyl and phenyltin compounds using dispersive liquid-liquid microextraction and gas chromatography-flame photometric detection. *J. Chromatogr. A* 1193 (2008) 19-25.

- 58 Shamsipur, M.; Ramezani, M.; Sadeghi, M. Preconcentration and determination of ultra trace amounts of palladium in water samples by dispersive liquid-liquid microextraction and graphite furnace atomic absorption spectrometry. *Microchim. Acta* 166 (2009) 235-242.
- 59 Mirzaei, M.; Behzadi, M.; Abadi, N. M.; Beizaei, A. Simultaneous separation/preconcentration of ultra trace heavy metals in industrial wastewaters by dispersive liquid-liquid microextraction based on solidification of floating organic drop prior to determination by graphite furnace atomic absorption spectrometry. *J. Hazard. Mater.* 186 (2011) 1739-1743.
- 60 Tabrizi, A. B. Development of a dispersive liquid-liquid microextraction method for iron speciation and determination in different water samples. *J. Hazard. Mater.* 183 (2010) 688-693.
- 61 Liang, P.; Peng, L. Determination of silver(I) ion in water samples by graphite furnace atomic absorption spectrometry after preconcentration with dispersive liquid-liquid microextraction. *Microchim. Acta* 168 (2009) 45-50.
- 62 Hulanick, A. Complexation reactions of dithiocarbamates. *Talanta* 14 (1967) 1371-1392.
- 63 Dehghani Mohammad Abadi, M.; Ashraf, N.; Chamsaz, M.; Shemirani, F. An overview of liquid phase microextraction approaches combined with UV-Vis spectrophotometry. *Talanta* 99 (2012) 1-12.
- 64 Higson, S. P. J. *Química Analítica*. McGraw-Hill. Trad. Mauro Silva. São Paulo, 2009, 452 p.
- 65 Pavia, D. L. *Introdução à espectroscopia*. Trad. Pedro Barros, 4^a ed. São Paulo, 2010, 716 p.
- 66 Agilent Technologies. Principles and applications of UV-visible spectroscopy, disponível em: http://www.chem.agilent.com/Library/primers/Public/59801397_020660, acessado em 19 de fevereiro de 2013.
- 67 Hoffmeister, W. Determination of iron in ultrapure water by atomic-absorption spectroscopy. *Fresenius Z. Anal. Chem.* 290 (1978) 289-291.
- 68 Tautkus, S.; Steponieniene, L.; Kazlauskas, R. Determination of iron in natural and mineral waters by flame atomic absorption spectrometry. *J. Serb. Chem. Soc.* 69 (2004) 393-402.

- 69 Grotti, M.; Abelmoschi, M. L.; Soggia, F.; Frache, R. Determination of ultratrace elements in natural waters by solid-phase extraction and atomic spectrometry methods. *Anal. Bioanal. Chem.* 375 (2003) 242-247.
- 70 Karacan, M. S.; Aslantas, N. Simultaneous preconcentration and removal of iron, chromium, nickel with N,N'-ethylenebis-(ethane sulfonamide) ligand on activated carbon in aqueous solution and determination by ICP-OES. *J. Hazard. Mater.* 155 (2008) 551-557.
- 71 Kuhn, M.; Niewohner, C.; Isenbeck-Schroter, M.; Schulz, H. D. Determination of major and minor constituents in anoxic thermal brines of deep sandstone aquifers in Northern Germany. *Wat. Res.* 32 (1998) 265-274.
- 72 Satake, M.; Singh, H. B. Spectrophotometric determination of iron(III) after separation by adsorption of its pyrrolidinedithiocarbamate on naphthalene. *Def. Sci. J.* 32 (1982) 201-205.
- 73 Rezaee, M.; Yamini, Y.; Faraji, M. Evolution of dispersive liquid-liquid microextraction method. *J. Chromatogr. A* 1217 (2010) 2342-2357.
- 74 Baumgarten, M. G. Z. *Manual de análises em Oceanografia química*. Imprensa Rio Grande. Rio Grande, 1996, 132 p.
- 75 Ribeiro, F. A. D.; Ferreira, M. M. C.; Morano, S. C.; da Silva, L. R.; Schneider, R. P. Validation spreadsheet: A new tool for estimating the analytical figures of merit for the validation of univariate methods. *Quim. Nova* 31 (2008) 164-171.
- 76 Ribani, M.; Bottoli, C. B. G.; Collins, C. H.; Jardim, I.; Melo, L. F. C. Validation for chromatographic and electrophoretic methods. *Quim. Nova* 27 (2004) 771-780.
- 77 Christian, G. D. *Analytical Chemistry*. 6th ed. Wiley, New York, USA, 2004.
- 78 Thompson, M.; Ellison, S. L. R.; Wood, R. Harmonized guidelines for single-laboratory validation of methods of analysis - (IUPAC technical report). *Pure Appl. Chem.* 74 (2002) 835-855.
- 79 ABNT, Associação Brasileira de Normas Técnicas, NBR 13934 - Água - determinação de ferro - Método colorimétrico da ortofenantrolina. Rio de Janeiro, 1997.
- 80 Atkins, P. W. *Físico-Química*. Editora L.T.C. Rio de Janeiro, 1999, 252 p.
- 81 Campone, L.; Piccinelli, A. L.; Rastrelli, L. Dispersive liquid-liquid microextraction combined with high-performance liquid chromatography-tandem mass spectrometry for the identification and the accurate

- quantification by isotope dilution assay of Ochratoxin A in wine samples. *Anal. Bioanal. Chem.* 399 (2010) 1279-1286.
- 82 Campillo, N.; Viñas, P.; Cacho, J. I.; Peñalver, R.; Hernández-Córdoba, M. Evaluation of dispersive liquid-liquid microextraction for the simultaneous determination of chlorophenols and haloanisoles in wines and cork stoppers using gas chromatography-mass spectrometry. *J. Chromatogr. A* 1217 (2010) 7323-7330.
- 83 Zhang, H.; Cheng, M.; Jiang, X. Determination of Benzoic Acid in Water Samples by Ionic Liquid Cold-Induced Aggregation Dispersive LLME Coupling with LC. *Chromatographia* 72 (2010) 1195-1199.
- 84 U. S. Environmental Protection Agency (online), Method #236.1, approved for NPDES (Editorial Revision 1974, 1978), disponível em: <http://www.epa.gov/safewater/hfacts.html>, acessado em 9 de fevereiro de 2013.
- 85 Armstrong, F. A. J. The iron content of sea water. *J. Mar. Biol. Assoc. UK* 36 (1957) 509-517.
- 86 Achterberg, E. P.; Holland, T. W.; Bowie, A. R.; Fauzi, R.; Mantoura, C.; Worsfold, P. J. Determination of iron in seawater. *Anal. Chim. Acta* 442 (2001) 1-14.
- 87 Ministério da saúde - Portaria nº 1469, de 29 de dezembro de 2000, disponível em: http://www.comitepcj.sp.gov.br/download/Portaria_MS_1469-00.pdf, acessado em 27 de fevereiro de 2013.