

**DETERMINAÇÃO ESPECTROFOTOMÉTRICA CATALÍTICA DE
MOLIBDÊNIO EM DIGERIDOS VEGETAIS COM EMPREGO
DE RESINA DE TROCA IÔNICA EM SISTEMA
DE INJEÇÃO EM FLUXO**

LUIZ CARLOS RUIZ PESSEDA

Orientador : Prof. Dr. ANTONIO OCTAVIO JACINTHO

Tese apresentada à Escola Superior de Agricultura "Luiz de Queiroz", da Universidade de São Paulo, para obtenção do título de Doutor em Agronomia. ÁREA DE CONCENTRAÇÃO: Solos e Nutrição de Plantas.

PIRACICABA
Estado de São Paulo - Brasil
Março - 1987

À minha esposa

Marita,

e

aos nossos filhos, Andréa e Alexandre

DEDICO

A G R A D E C I M E N T O S

- Ao Centro de Energia Nuclear na Agricultura (CENA), pelas facilidades oferecidas;
- À Escola Superior de Agricultura "Luiz de Queiroz"- ESALQ;
- À Coordenação do Curso de Pós-Graduação em Solos e Nutrição de Plantas;
- À Universidade de São Paulo - USP;
- À Financiadora de Estudos e Projetos (FINEP) pelo apoio financeiro;
- Ao Dr. Antonio Octavio Jacintho, pela orientação;
- Aos pesquisadores da Seção de Radioisótopos, Elisabete A. De Nadai Fernandes, Epaminondas Sansígolo de Barros Ferraz e Virgílio Franco do Nascimento. Filho, pelo apoio e estímulo constantes durante todas as etapas deste trabalho;
- Ao José Osório Bertoli, pelos serviços datilográficos e Maria Valéria Lopes Cruz pela ajuda na parte experimental;
- Aos pesquisadores da Seção de Radioquímica e Química Analíti-

ca, Francisco José Krug, Henrique Bergamin Filho, Elias Aires Guidetti Zagatto, Boaventura Freire dos Reis, Maria Fernanda Guiné Rosias e José Roberto Ferreira, pelo apoio recebido;

. Ao Departamento de Química da PUC, na pessoa do Dr. Adilson Curtius, pelas análises realizadas.

. As pós-graduandas Ana Paula Gebelein Gervásio e Vânia Aparecida Sass, pela ajuda na parte inicial deste trabalho;

. Ao Marco Aurélio Zezzi Arruda, pela confecção dos desenhos e Ivanildo Luiz de Mattos pela colaboração.

. Aos técnicos de laboratório da Seção de Radioquímica e Química Analítica do CENA, Iolanda Aparecida Rufini, Valdemir Ap. de Barros, Aparecida de Fátima Patreze, Sheila Roberta P. Wenzel, Alexandre Ferreira e James de Moraes Marques, pela colaboração;

. Aos técnicos da Seção de Nutrição de Plantas, Cleusa P. Cabral e Francisco C. Antonioli, pela colaboração;

. As bibliotecárias, Heidi Ap. T. Epiphânio, Liamar D. Antonioli, Pedrila de F. Pelegrinotti e Silvia M. Zinsly, pela ajuda e carinhosa atenção;

. Aos colegas Benedito Herculano Davanzo e Celso de Aguiar,

responsáveis pela Gráfica do CENA, pelos trabalhos gráficos realizados;

. À Sra. Diva Athiê, pela revisão da tradução do resumo;

À todos os funcionários do CENA, pela convivência amigável e prestimosa e a todas as pessoas que, de uma forma igualmente valiosa, contribuíram para a realização deste trabalho.

Í N D I C E

	Página
RESUMO.....	xi
SUMMARY.....	xiii
1. INTRODUÇÃO.....	1
2. REVISÃO DE LITERATURA.....	3
3. MATERIAL.....	14
3.1. Instrumentos e Acessórios.....	14
3.2. Reagentes e Soluções.....	15
3.3. Resina.....	16
3.3.1. Acondicionamento e Preparo da Coluna.....	16
3.4. Amostras.....	16
4. MÉTODO.....	18
4.1. Características do Método Catalítico.....	18
4.2. Sistema FIA para Avaliação das Condições da Re- ação Catalítica.....	19
4.2.1. Influência da Acidez.....	22
4.2.2. Influência da Concentração de Iodeto de Po- tássio.....	23
4.2.3. Influência da Concentração de Peróxido de Hidrogênio.....	23
4.2.4. Influência do Volume da Alça de Amostragem	23

	Página
4.2.5. Influência das Dimensões dos Reatores (Br) e (Bm).....	24
4.2.6. Influência da Temperatura.....	24
4.3. Resina de Troca Iônica na Separação de Interferentes.....	25
4.3.1. Acoplamento da Resina de Troca Iônica no Sistema FIA.....	26
4.3.1.1. Definição do Tempo de Amostragem e Retenção do Molibdênio na Resina	29
4.3.1.2. Efeito da Concentração Iônica e da Solução Carregadora da Amostra....	29
4.3.1.3. Interferência de Fe (III).....	30
4.3.1.4. Fosfato.....	31
4.3.1.5. Cromo, Titânio, Tungstênio e Vanádio.....	31
4.3.1.6. Efeitos da Vazão e da Concentração de Eluentes.....	31
4.3.1.7. Precisão e Estabilidade.....	32
4.3.1.8. Exatidão.....	33
5. RESULTADOS E DISCUSSÃO.....	34
5.1. Influência da Acidez.....	34
5.2. Influência da Concentração de Iodeto de Potássio	36
5.3. Influência da Concentração de Peróxido de Hidrogênio.....	38
5.4. Influência do Volume da Alça de Amostragem.....	40
5.5. Influência das Dimensões dos Reatores (Br) e (Bm)	42

	Página
5.6. Influência da Temperatura.....	44
5.7. Definição do Tempo de Amostragem e Retenção do Molibdênio na Resina.....	45
5.8. Efeito da Concentração Iônica e da Solução Carregadora da Amostra.....	49
5.9. Interferência do Ferro (III).....	50
5.10. Fosfato.....	53
5.11. Cromo, Titânio, Tungstênio e Vanádio.....	53
5.12. Efeitos da Vazão e Concentração de Eluentes.....	54
5.13. Precisão e Estabilidade.....	58
5.14. Exatidão.....	60
6. CONCLUSÕES.....	62
7. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS.....	64

L I S T A D E T A B E L A S

Tabela	Página
1 - Retenção de molibdênio na resina catiônica Dowex 50W-X8 em função da concentração ácida das amostras.....	48
2 - Interferência de ferro (III) em diferentes concentrações ácidas da amostra na determinação de molibdênio.....	52
3 - Efeito das concentrações e vazões das soluções de cloreto de amônio e ácido clorídrico na eluição de Al, Ca, Fe e Mg em função do tempo.....	55
4 - Comparação dos resultados obtidos para a determinação de molibdênio em digeridos vegetais pelo método proposto e espectrometria de absorção atômica com forno de grafite.....	61

LISTA DE FIGURAS

Figura	Página
1 - Diagrama de fluxos do sistema FIA utilizado para a- valiação das condições de reação.....	20
2 - Diagrama de fluxos do sistema FIA utilizado para o estudo de interferentes e determinação de molibdê- nio em digeridos vegetais.....	27
3 - Influência da acidez na absorbância do composto formado.....	35
4 - Influência da concentração de iodeto de potássio...	37
5 - Influência da concentração de peróxido de hidrogênio	39
6 - Influência do volume da alça de amostragem.....	41
7 - Influência das dimensões dos reatores tubulares he- licoidais de reação (Br).....	43
8 - Definição do tempo de amostragem necessário para enchimento da alça de amostragem.....	46

Figura

Página

7	Análise de rotina de digeridos vegetais.....	57
---	--	----

DETERMINAÇÃO ESPECTROFOTOMÉTRICA CATALÍTICA DE MOLIBDÊNIO EM
DIGERIDOS VEGETAIS COM EMPREGO DE RESINA DE TROCA IÔNICA EM
SISTEMA DE INJEÇÃO EM FLUXO

Luiz Carlos Ruiz Pessenda

-Autor-

Antonio Octavio Jacintho

-Orientador-

RESUMO

Por intermédio de sistema de injeção em fluxo, foram estudados vários aspectos do método catalítico para a determinação espectrofotométrica de molibdênio em digeridos vegetais, empregando a reação de oxidação do iodeto pelo peróxido de hidrogênio em meio ácido. Uma coluna de resina catiônica foi incorporada ao sistema para remoção de interferentes.

Inicialmente definiram-se as concentrações dos reagentes, o volume da alça de amostragem e comprimento dos reatores helicoidais de reação e mistura. Investigou-se também o efeito da temperatura.

Após acoplamento da resina foram verificados o tempo necessário de amostragem, os efeitos da acidez na retenção do molibdênio, da concentração iônica da amostra, das interferências de ferro, fosfato, cromo, titânio, tungstênio e vaná-

dio e das vazões e concentração de agentes eluentes.

O sistema proposto permite a determinação de molibdênio em digeridos vegetais na faixa de 1,0 a 40,0 $\mu\text{g}/\text{l}$, com uma precisão superior a 98% e velocidade analítica em torno de 40 determinações por hora. No teste de exatidão, os resultados foram concordantes àqueles obtidos pela técnica de espectrometria de absorção atômica com forno de grafite.

SPECTROPHOTOMETRIC FLOW INJECTION CATALYTIC DETERMINATION OF
MOLYBDENUM IN PLANT DIGESTS USING ION EXCHANGE RESIN

Luiz Carlos Ruiz Pessenda

Author

Antonio Octavio Jacintho

Adviser

SUMMARY

A spectrophotometric flow injection analytical method based on the catalytic action of molybdenum on the oxidation of iodide by hydrogen peroxide in acidic medium is proposed for the molybdenum determination in plant digests. A cation exchange resin column is incorporated into a flow injection system for removal of interferences. The following system variables were investigated and optimized: reagent concentrations, sample injection volume, mixing and reaction coil lengths, temperature, sampling time, pumping rate and concentration of eluting agents. The effects of interfering species and of the acidity of samples on the molybdenum retention by the ion exchange resin column were investigated. The proposed method is characterized by good precision (r.s.d. (2.0%)), a sampling rate of about 40 samples per hour, and permits the determination of molybdenum in plant digests in the

range 1.0 to 40.0 $\mu\text{g}/\text{l}$. The results compare well with those obtained by graphite furnace atomic absorption spectrometry.

1. INTRODUÇÃO

O molibdênio é um micronutriente essencial para os processos vitais das plantas. A sua essencialidade é um fato comprovado visto o seu papel na fixação do nitrogênio pelas leguminosas e sua participação na redução de nitrato a nitrito (EVANS, 1956), sendo que sua faixa de concentração nas plantas situa-se entre 0,1 e 5 mg/kg (HOAGLAND, 1945 e HEWITT e MCCREADY, 1954). Do ponto de vista da agricultura, concentrações superiores ou inferiores a esta faixa são danosas (MAHR e PUNGOR, 1980). Concentrações acima de 5 mg/kg são consideradas porque podem prejudicar não somente as plantas, mas também os animais que as consomem. Por outro lado, os animais requerem baixos níveis de molibdênio em suas dietas para um desenvolvimento normal (UNDERWOOD, 1977).

A crescente demanda nas análises para a avaliação e controle de molibdênio nas plantas é um fator determinante para o desenvolvimento de uma metodologia automatizada.

Os métodos manuais usualmente recomendados utilizam-se da técnica de extração por solventes orgânicos. Além de serem extremamente morosos, exigem cuidados especiais no seu procedimento, podendo ocorrer problemas analíticos de precisão e exatidão quando baixas concentrações de molibdênio estão presentes nas amostras (QUIN e WOODS, 1979).

Os métodos automatizados segmentados por ar, na sua maioria, baseiam-se na reação catalítica, a qual apresenta

como característica principal: uma alta sensibilidade, onde o íon ferro (III) em concentrações normalmente encontradas nas plantas é o principal interferente. O problema é minimizado utilizando-se de fluoreto de amônio como complexante do ferro (BRADFIELD e STICKLAND, 1975; QUIN e WOODS, 1979; EIVAZI et alii, 1982). Contudo, observou-se que tal procedimento implica em certa ação sobre a determinação de molibdênio com consequente prejuízo à sensibilidade.

Em 1975, RUZICKA e HANSEN propuseram um processo de automatização de fluxo não segmentado denominado análise por injeção em fluxo, FIA (do inglês Flow Injection Analysis). Simplicidade na sua construção, versatilidade, baixo custo operacional e características analíticas iguais ou superiores aos procedimentos convencionais (RUZICKA e HANSEN, 1981; VALCARCEL e CASTRO, 1984) são fatores responsáveis pela sua utilização cada vez mais frequente.

Empregando-se a análise por injeção em fluxo, o presente trabalho teve como objetivo desenvolver um método automatizado para a determinação catalítica de molibdênio em digeridos vegetais, visando principalmente simplicidade operacional, velocidade analítica e adequadas condições de sensibilidade, precisão e exatidão.

O uso de resina de troca iônica se fez necessário para a separação dos íons interferentes.

2. REVISÃO DE LITERATURA

Nota-se pela literatura que o elemento molibdênio vem sendo determinado em diversas matrizes por diferentes métodos, sejam eles manuais ou automatizados. Colorimetria usando os reagentes tiocianato ou ditiol, polarografia, espectrometria de absorção ou de emissão atômica e o catalítico são de relevante importância.

Esta revisão tem como objetivo principal apresentar alguns trabalhos que se utilizam de tais métodos, com ênfase à determinação de molibdênio em digeridos vegetais.

HURD e ALLEN (1935) fizeram um estudo das variáveis envolvidas no método do tiocianato. Efeitos da acidez, concentração de tiocianato de potássio, cloreto estanoso, tempo de reação e condições para extração foram otimizados.

Modificações no referido método foram apresentadas por JOHNSON e ARKLEY (1954). Os autores utilizaram uma mistura de solventes orgânicos, álcool isoamílico e tetracloreto de carbono, a qual contribuiu para a otimização das condições de extração. Linearidade foi obtida na faixa de 0,10 a 10,0 mg/l de molibdênio.

PURVIS e PETERSON (1956) descreveram um método para determinação de molibdênio em digeridos vegetais e solos. As medidas espectrofotométricas foram feitas baseadas na cor produzida pela reação com cloreto estanoso - tiocianato de amônio. Os teores médios encontrados para as amostras situaram-se

na faixa de 0,66 a 1,93 mg/l.

Algumas modificações foram introduzidas com relação ao método tiocianato-cloreto estanoso, por HOPE (1957). Segundo o autor, a utilização de iodeto de potássio como redutor e concentração 2 N em ácido sulfúrico na reação, garantiam a completa formação de molibdênio (V), resultando em grande aumento na intensidade de cor e nenhuma interferência de tungstênio.

GLORIA (1963) apresentou uma modificação no método proposto por JOHNSON e ARKLEY (1954) para a determinação de molibdênio, a qual introduzia o uso de uma mistura dos solventes orgânicos álcool butílico e tetracloreto de carbono para a extração do complexo colorido formado na reação com tiocianato-cloreto estanoso. Com este procedimento foi possível um aumento apreciável na sensibilidade, mantendo-se a precisão e exatidão do método.

O método do tiocianato foi estudado por LOUNAMAA (1965) com respeito ao efeito de vários ácidos e concentração de reagentes. Após otimização, foi efetuada a determinação de molibdênio em aços na faixa de 0,01 a 10%. Pequenas interferências ocorriam com nióbio, vanádio e tungstênio.

Uma automação no método de determinação de molibdênio em aços, baseado na reação tiocianato-cloreto estanoso, foi proposta por BRAITHWAITE e HOBSON (1968). A frequência analítica foi de 40 determinações por hora na faixa de 0,01 a 1,00 g/l.

MEDEIROS (1979) desenvolveu um procedimento au-

tomatizado para a determinação de molibdênio, com emprego da análise por injeção em fluxo, baseado na reação tiocianato-cloreto estanoso com extração por solventes orgânicos. De acordo com o autor, tal metodologia apresentava vantagens com relação à desenvolvida por JOHNSON e ARKLEY (1954), tomada como referência, e dentre elas destacavam-se maior frequência analítica, menor consumo de reagentes e a dispensa do uso de funis de separação e outras vidrarias de preços relativamente elevados. O limite de detecção foi de 0,025 mg/l com uma recuperação média em torno de 104% e precisão da ordem de 98%.

KRUG et alii (1984) utilizaram a análise por injeção em fluxo na determinação de molibdênio em aços pelo método do tiocianato. Efeitos de ferro (III), acidez, concentração de reagentes e espécies interferentes foram investigados. Conforme os autores, o molibdênio podia ser determinado na faixa de 0,10 a 4,00% a uma frequência analítica superior a 270 determinações por hora com desvio padrão relativo menor que 2%.

O método do ditiol para determinação de molibdênio em digeridos de plantas foi investigado por GLORIA (1964) onde foram estudados a constituição do complexo colorido, a concentração dos reativos, a velocidade de reação, e a estabilidade do complexo, entre outros aspectos.

CHAN e RILEY (1966) empregaram o método do ditiol na determinação de molibdênio em materiais biológicos e rochas. Em amostras de água do mar, utilizaram a resina de troca iônica Zeo Karb 225 e obtiveram um limite de detecção da ordem de 10 $\mu\text{g/l}$.

QUIN e BROOKS (1975) utilizaram o ditiol para a complexação e o acetato isoamílico para a extração, na determinação de molibdênio em digeridos vegetais, minerais e açós por espectrofotometria. A velocidade de análise foi de 150 amostras por dia e o limite de detecção de 0,05 mg/l.

SILVA (1975) apresentou uma modificação para a determinação de molibdênio pelo método do ditiol, o qual considerou inferior ao método do tiocianato-cloreto estanoso devido a problemas de interferências. Conforme descreveu, a sensibilidade e precisão foram melhoradas.

O método polarográfico foi utilizado por BOURBON et alii (1983) para a determinação de baixas concentrações de molibdênio. O limite de detecção foi de 0,25 $\mu\text{g/l}$ e os resultados obtidos comparáveis com os do método do tiocianato.

Uma rápida determinação polarográfica baseada na redução catalítica de molibdênio em soluções ácidas contendo nitrato foi desenvolvida por CHATELET et alii (1981). O limite de detecção foi de 1,0 $\mu\text{g/l}$.

MARTON e NIMARA (1984) determinaram molibdênio em solos e fertilizantes por polarografia. Interferências de Fe, Cu, Mn e Zn foram mínimas.

KHAN et alii (1979) desenvolveram um método para a determinação de molibdênio em digeridos vegetais e plasma de sangue por espectrometria de absorção atômica com e sem chama. As amostras foram digeridas via nitro-perclórica, molibdênio separado por quelação e extraído em metil isobutil cetona. Recuperação foi de 92 a 98,9% e os limites de detecção de 10

$\mu\text{g/l}$ e $2 \mu\text{g/l}$, respectivamente.

O efeito de vários ácidos e pH na determinação de molibdênio por espectrometria de absorção atômica com forno de grafite foi estudado por STUDNICKI (1979). Segundo o autor, os ácidos utilizados afetaram o sinal analítico, com maior contribuição para H_3PO_4 na faixa de 0,01 a 0,1%. Na faixa de pH de 4,0 a 5,5 não houve variações.

Baixas concentrações de molibdênio foram determinadas por NEUMAN e MUNSHOVER (1981) empregando digestão em HNO_3 e determinação por espectrometria de absorção atômica com forno de grafite. Uma recuperação de 94,3% foi conseguida com desvio padrão relativo de 10% para 0,50 mg Mo/l.

LYONS e ROOFAYEL (1982) fizeram uma extração seletiva de molibdênio com 8-hidroxi-quinolina e determinação por espectrometria de emissão atômica com plasma induzido em argônio (ICP-AES). O limite de detecção foi de 0,09 mg/l e Ca, Mg, Fe e Na não interferiram. Recuperação média foi da ordem de 100%.

SPIERS et alii (1983) analisaram 20 elementos em extratos de solos e digeridos vegetais por ICP-AES, otimizando condições e procedimentos analíticos. O limite de detecção para molibdênio foi de 0,10 mg/l.

O fato de que o molibdênio catalisa a oxidação do iodeto pelo peróxido de hidrogênio em meio ácido é a base do método desenvolvido por YATSIMIRSKII e AFANA'S EVA (1956). Soluções de iodeto de potássio, ácido sulfúrico e amido foram colocadas em um frasco e adicionados peróxido de hidrogênio e

molibdênio. O volume foi completado e transferido para uma célula em espectrofotômetro. Após 3 minutos, foram anotadas as absorvâncias a 553 nm, com intervalos de 1 minuto. Os resultados foram plotados como tempo em função da absorvância e as tangentes de cada curva foram calculadas e confrontadas com as concentrações de molibdênio. O limite de detecção do método foi de 0,10 mg/l e precisão de aproximadamente 10%.

Em 1966, HADJIIIOANNOU apresentou um método espectrofotométrico semi-automatizado para a determinação de molibdênio em soluções aquosas. Este método utilizava a reação entre iodeto e água oxigenada em meio de ácido clorídrico (pH=1,7) com conseqüente liberação de iodo. O autor observou que a reação era catalisada pela presença de molibdênio e a liberação de iodo proporcional à sua concentração. Efeitos da concentração hidrogeniônica, do peróxido de hidrogênio, do iodeto de potássio na reação e comprimento de onda de máxima absorção foram verificados. Ions como amônio (I), bário (II), cobalto (II), magnésio (II), manganês (II), níquel (II), potássio (I), sódio (I) e zinco (II) não interferiam na reação. Quantidades de molibdênio desde 0,036 a 2,5 µg podiam ser determinadas com erros relativos de cerca de 2%.

FUGE (1970) apresentou algumas modificações no procedimento proposto por HADJIIIOANNOU (1965), utilizando um Auto Analisador da Technicon em amostras de origem geológica (rochas) e biológica (água do mar). Com o sistema empregado foi possível a determinação de molibdênio na faixa de 2,0 a 250 µg/l a uma frequência analítica de 10 amostras por hora. Efeito

da concentração iônica das amostras foi observado na inclinação da curva de calibração. Alguns íons interferentes na reação como Fe (II), Fe (III), Cr (VI), V (V) e W (VI) foram testados, onde a maior interferência foi causada por ferro (III) e vanádio. Ânions como fosfato (10 mg), fluoreto (10 mg), borato (10 mg) e brometo (100 mg) em um litro de solução podiam ser tolerados na determinação de 10 µg de molibdênio.

BRADFIELD e STICKLAND (1975) utilizaram um sistema analítico semelhante ao de FUGE (1970), o qual otimizaram para a determinação de molibdênio pelo método catalítico. Devido à possibilidade de interferências de soluções contendo alta concentração iônica, inclusive fosfato, os autores realizaram uma extração preliminar com benzoína-monoxima e clorofórmio. Para eliminação da interferência de ferro (III) (200 µg/l na matéria seca) foi utilizada uma solução de fluoreto de amônio (0,25% m/v). O limite de detecção foi de 0,003 mg/l (usando 2 g de amostra para um volume ácido final de 20 ml) a uma frequência analítica de 40 determinações por hora.

De acordo com estudos de QUIN e WOODS (1979), o método anteriormente proposto não estava ainda suficientemente desenvolvido para uso em análises de rotina, especialmente quando níveis mais altos de interferentes (principalmente ferro) eram encontrados nas plantas. Usando um sistema da Technicon, propuseram algumas alterações, como a redução do tempo de reação e adição da água oxigenada antes do iodeto de potássio para prevenir qualquer redução do ferro (III) anterior à complexação com fluoreto. De maneira similar, a interferência

de fosfato foi eliminada. Com relação à concentração iônica das soluções, foram feitas simulações contendo separadamente 0,5% de potássio, sódio, cálcio e magnésio (correspondendo a 5% de cada um na planta) e verificado um decréscimo no sinal de molibdênio. Como sugestão dos autores, para amostras com altas concentrações iônicas, apropriadas quantidades dos íons deveriam ser adicionadas às soluções padrão. O limite de detecção do método foi de 0,01 mg/l no digerido vegetal a uma frequência analítica de 35 determinações por hora.

ALEKSEEVA et alii (1980) determinaram molibdênio pelo método catalítico em presença de tungstênio (VI). Através da adição de ácido cítrico à reação, a ação catalítica do tungstênio era completamente eliminada. Para o molibdênio, o efeito deste ácido aumentava em 5% sua ação catalítica. O pH da reação foi mantido em 1,7 e o limite de detecção para molibdênio (VI) foi de 0,2 mg/l, com um desvio padrão relativo igual a 8%.

MAHR e FUNGOR (1980) testaram alguns métodos catalíticos para a determinação de molibdênio, entre eles as reações bromato-iodeto, ácido rubeânico-peróxido de hidrogênio e iodeto-peróxido de hidrogênio, este o mais eficiente. Utilizando um sistema automatizado semelhante ao Technicon II, foram efetuados testes para a otimização da concentração dos reagentes, linearidade, precisão e limite de detecção para soluções aquosas puras. Com relação aos interferentes, dependendo da matriz a ser analisada, o mais significativo foi o ferro (III). Uma frequência analítica de 30 amostras por hora foi conseguida

e o molibdênio podendo ser determinado na faixa de 0,01 a 0,50 mg/l.

Uma modificação no método catalítico para determinação de molibdênio foi proposta por DICKSON e SVEHLA (1982), a qual era baseada na reação ácido peroxiacético-iodeto-ácido ascórbico (sistema de Landolt) em pH 4,2. O monitoramento da reação foi feito por potenciometria, sendo que este procedimento facilitava o estudo de reações lentas, além de permitir sua automação. A interferência de 30 ions foi estudada, destacando-se o cobalto que retardava a reação enquanto que outros nove ions aceleravam-na, entre eles ferro (II) e ferro (III). Para eliminar esse problema foi feita adição de uma solução a 10% de fosfato, mas com relativo sucesso. Apenas concentrações da ordem de 1,0 mg/l de ferro (III) foram suprimidas, ao passo que concentrações superiores ainda interferiam. Além disso, a adição de fosfato aumentou o pH e a instabilidade da reação. Um estudo detalhado da estequiometria, mecanismo e cinética das reações catalítica e não catalítica foi efetuado. A determinação de molibdênio foi otimizada para a faixa de 0,1 a 1,0 mg/l.

EIVAZI et alii (1982) modificaram o eliminador de bolhas do sistema Auto Analisador da Technicon e utilizaram uma célula de fluxo de 5 cm de caminho ótico na determinação catalítica de molibdênio, visando um aumento na sensibilidade do método. A interferência de ferro (III) (equivalente a 1000 µg/ml na planta) foi praticamente eliminada com a adição de uma solução 0,25% de fluoreto de amônio. Para essa concentração de ferro foi encontrada uma absorvância correspondente a 0,001

mg/l de molibdênio na solução. Outros metais que também catalisam a reação de oxidação do iodeto pelo peróxido (titânio, vanádio, tungstênio e cromo) foram complexados pelo fluoreto, atenuando a interferência. Os efeitos interferentes do fosfato e da concentração iônica das soluções foram eliminados de acordo com QUIN e WOODS (1979). O método foi aplicado para a determinação de molibdênio em tabaco e soja a uma frequência analítica de 30 determinações por hora e um limite de detecção inferior a 0,1 mg/l.

ZHAO-LUN e SHU-KUN (1983) estudaram as condições das reações catalítica e não catalítica para adaptá-las ao sistema de injeção em fluxo, na determinação de molibdênio em águas naturais. Efeitos da concentração de reagentes, interferentes e concentração iônica das soluções foram verificados. Segundo os autores, a interferência de tungstênio podia ser minimizada pela adição de 0,1% de EDTA na solução de iodeto de potássio, mas a sensibilidade da determinação era diminuída em cerca 30%. Interferência do ferro (III) foi eliminada ajustando-se o pH para 8 antes da introdução das amostras no sistema. O efeito da concentração iônica foi verificado com a injeção de uma solução de 3% de cloreto de sódio, a qual causou uma depressão no sinal em torno de 4%. A precisão do método foi de 0,83% para 50 µg Mo/l e de 1,9% para 13 µg Mo/l e a recuperação média foi de 99%. A velocidade analítica foi de 90 determinações por hora e o limite de detecção de 0,7 µg Mo/l.

Um aumento de sensibilidade na determinação cata-

lítica de molibdênio pela reação de Landolt (peróxido de hidrogênio-iodeto-ácido ascórbico) foi conseguido por AMBERSON e SVEHLA (1985). Foram introduzidas várias modificações no método anteriormente proposto por DICKSON e SVEHLA (1982), tais como concentração de reagentes, pH (1,5) e tempo de reação de 30 minutos para amostras com baixas concentrações de molibdênio. A reação foi otimizada para a faixa de 0,01 a 0,10 mg/l e a detecção feita por potenciometria ou condutometria. O tempo de 30 minutos não causava qualquer dificuldade desde que o monitoramento foi feito automaticamente. Interferências de tungstênio, vanádio, cádmio e ferro foram eliminadas por meio de uma extração prévia com benzoína-2-monoxima.

3. MATERIAL

3.1. Instrumentos e Acessórios

Espectrofotômetro Beckman 25 equipado com cubeta de fluxo Helma, modelo 178-DS caminho ótico 10 mm, volume 80

Registrador Radiometer, modelo REC 61, com unidade de alta sensibilidade REA 112.

Bomba Peristáltica ISMATEC, modelo mp 13 GJ 4.

Espectrômetro de emissão atômica com fonte de plasma induzido em argônio Jarrel-Ash modelo 975.

Comutador operado manualmente, construído em acrílico, conforme descrito por BERGAMIN F^o et alii (1978).

Junções de acrílico para confluência.

Tubos de Tygon, de diferentes diâmetros internos, para a obtenção de várias intensidades de fluxo.

Tubos de polietileno com diâmetro interno de 0,7 mm, para a construção dos reatores tubulares helicoidais e linhas de transmissão do sistema de fluxo.

Balança analítica, sistema pHmétrico para determinação de pH, mufla, vidraria e demais acessórios de uso comum em laboratórios de química.

3.2. Reagentes e Soluções

Todos os reagentes utilizados foram "pro-análise" e todas as soluções foram preparadas com água destilada deionizada aquecida para eliminação dos gases dissolvidos.

Soluções padrão de molibdênio: a solução estoque contendo 100 mg Mo/l foi preparada dissolvendo-se 150 mg de MoO_3 em 5 ml de hidróxido de amônio concentrado e diluindo-se a 1000 ml com água. Soluções padrão de 0 a 100 $\mu\text{g/l}$ foram preparadas em água e em ácido clorídrico na faixa de 0,05 N a 0,20 N por diluições adequadas da solução estoque.

Soluções aquosas de iodeto de potássio na faixa de 0,5% m/v a 4,0% m/v. Essas soluções foram preparadas diariamente e acondicionadas em frasco escuro.

Soluções de peróxido de hidrogênio na faixa de 0,005% a 0,025% em ácido clorídrico 0,10 e 0,20 N obtidas diariamente a partir da solução a 30% a qual era mantida em geladeira.

Soluções aquosas de cloreto de amônio 2, 3 e 4 N.

Soluções de ácido clorídrico na faixa de 0,025 a 4,0 N.

Soluções padrão de íons interferentes: para os elementos Al, Ca, Cr, Fe, K, Mg, P, Ti, V e W foram preparadas soluções estoque de concentração 1000 mg/l a 5000 mg/l conforme as necessidades, empregando-se os compostos $\text{AlCl}_3 \cdot 6\text{H}_2\text{O}$, CaCl_2 , $\text{K}_2\text{Cr}_2\text{O}_7$, FeCl_3 , KCl , $\text{MgSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$, Na_2HPO_4 , TiCl_4 , NH_4VO_3 e $\text{Na}_2\text{WO}_3 \cdot 2\text{H}_2\text{O}$, respectivamente. Sempre que possível as solu-

ções estoque eram 0,1% v/v em HNO_3 .

3.3. Resina

A resina utilizada foi a Dowex 50W-X8 catiônica forte, 100 - 200 mesh, com capacidade de 5 meq/g.

3.3.1. Acondicionamento e preparo da coluna

O acondicionamento foi realizado colocando-se a resina inicialmente em uma solução de ácido clorídrico 0,1 N em frasco de vidro. Com auxílio de uma seringa de 10 ml, transferiu-se a resina para cilindros de vidro de diâmetro interno de 3 mm e comprimento igual a 9,0 cm, que acomodava 540 mg de resina. A compactação foi feita de maneira a se evitar a entrada de ar na coluna. Se porventura alguma quantidade de ar penetrasse, a técnica do fluxo reverso (backwash) era utilizada. Para impedir a saída da resina foi colocada lã de vidro. A sua conexão ao comutador foi efetuada através de tubulação de polietileno de 3 cm de comprimento.

3.4. Amostras

Amostras de tecido vegetal da parte aérea de forrageiras e leguminosas foram cedidas pelas Seções do CENA. Por ocasião do recebimento, as amostras já se encontravam moídas e foram posteriormente secas em estufa de circulação forçada a

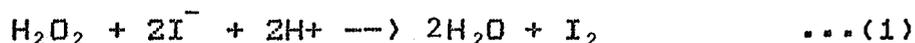
60 °C até peso constante.

Mineralização da amostra: pesou-se 1 g do material, transferiu-se para cápsula de porcelana e incinerou-se a 550 °C até obtenção de cinzas claras (3 horas), as quais foram umedecidas adicionando-se 1 a 2 ml de água destilada deionizada. Adicionou-se uniformemente 5 ml de ácido clorídrico 4 N e secou-se em banho maria a 60 °C. Após, adicionou-se 10 ml de ácido clorídrico 0,10 N, misturou-se bem e transferiu-se através de papel de filtro (Whatman nº 1) para balão de 50 ml. O processo foi repetido até completar-se o volume do balão, mantendo-se em repouso por aproximadamente 12 horas (QUIN e WOODS, 1979; EIVAZI et alii, 1982).

4. MÉTODO

4.1. Característica do Método Catalítico

YATSIMIRSKII (1964). estudou várias reações envolvendo peróxido de hidrogênio em meio ácido. Uma das reações foi a oxidação do iodeto por peróxido de hidrogênio:



sendo que o iodo liberado era medido fotometricamente a 350 nm.

A cinética dessa reação foi estudada para verificar a velocidade de formação de iodo e foi expressa pela Equação:

$$d[\text{I}_2]/dt = k[\text{H}_2\text{O}_2] [\text{I}^-] \quad \dots(2)$$

onde k é a constante de velocidade da reação, para um dado pH.

Segundo o autor, a reação (1) era catalisada por Fe (III), Zr, Nb, Mo, Ta e W e aparentemente, também por Hf.

O estudo da cinética de reações do tipo (1), envolvendo compostos dos elementos mencionados anteriormente, permitiu a YATSIMIRSKII (1964) concluir que se Mo, W e Fe fossem usados, a velocidade da reação (1) podia ser expressa pela

Equação:

$$d[I_2]/dt = \sum_{i=1} k_i [C_i] [H_2O_2] [I^-] \quad \dots(3)$$

onde: C = concentração dos metais mencionados

k = constantes de velocidade da reação dos metais

i = índice que representa a quantidade de catalisadores presentes na reação (1...n).

De acordo com MULLER (1982), muito pouco é conhecido com respeito à ação catalítica de diferentes metais em determinada reação. Assim, unicamente a soma dos efeitos pode ser considerada.

Segue então da Equação (3) que a velocidade da reação (1) na presença dos catalisadores dependia linearmente das suas concentrações e podia ser medida facilmente por meio de um colorímetro fotoelétrico (EIVAZI et alii, 1982).

4.2. Sistema FIA para avaliação das condições da reação catalítica.

Em função das características anteriormente descritas em 4.1, projetou-se um sistema FIA para o estudo do método catalítico da determinação de molibdênio baseado na reação peróxido de hidrogênio-iodeto de potássio, cujo diagrama de fluxos é apresentado na Figura 1.

Observa-se pela figura que a amostra (A) enche a

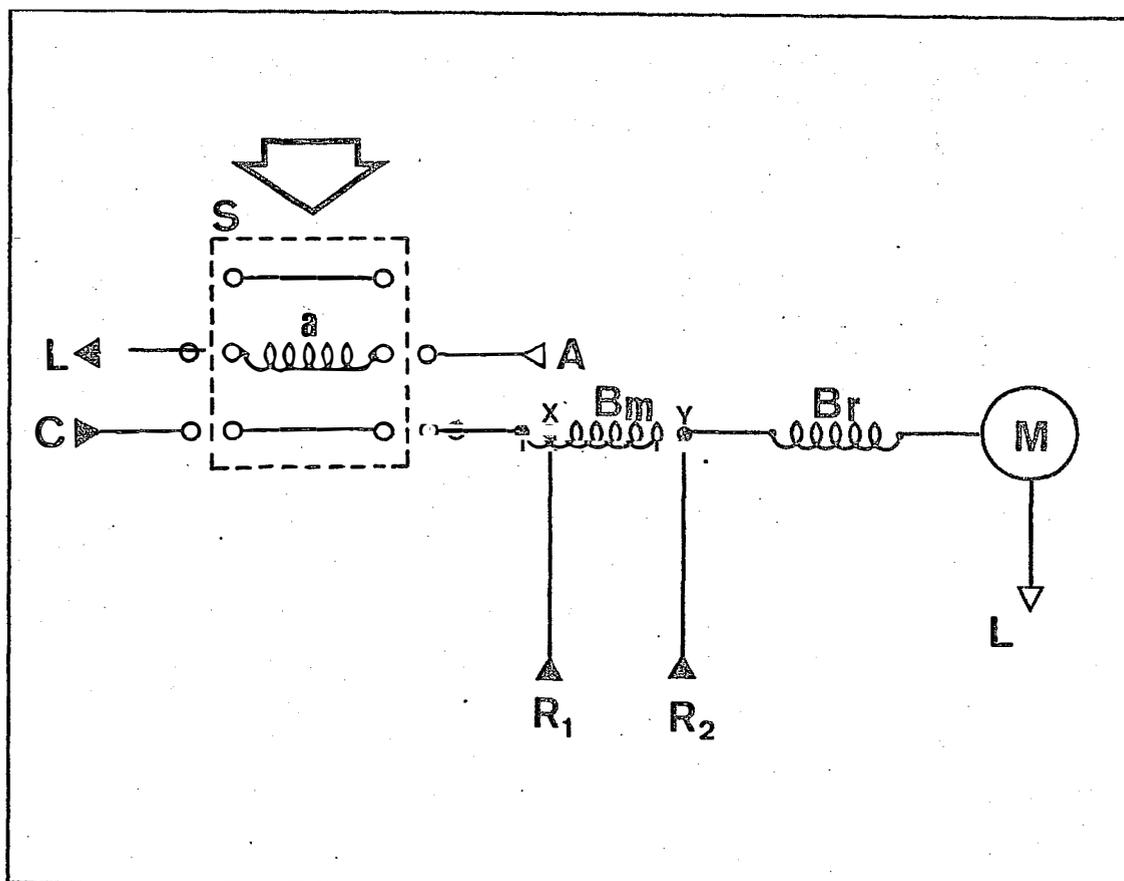


Figura 1 - Diagrama de fluxos do sistema FIA utilizado para avaliação das condições de reação.

- C = solução carregadora da amostra, água destilada deionizada, fluindo a 2,4 ml/min
- A = amostra ou padrão aspirada a 3,9 ml/min
- R₁ = solução ácida de peróxido de hidrogênio 0,02% v/v fluindo a 0,6 ml/min
- R₂ = solução de iodeto de potássio 2,0% m/v, fluindo a 1,6 ml/min
- S = comutador
- x e y = pontos de confluência
- a = alça de amostragem (100 cm; volume interno de 500 ul)
- Bm e Br = reatores tubulares helicoidais de mistura (20 cm) e reação (250 cm) respectivamente
- M = detector espectrofotométrico a 350 nm
- L = descarte para o lixo. As setas escuras indicam os locais de aplicação da bomba peristáltica e as setas claras o sentido do fluxo. A área demarcada pela linha interrompida corresponde a porção móvel do comando, o seu movimento sendo especificado pela reta.

alça de amostragem (a), que define o volume a ser introduzido, sendo o seu excesso descartado (L). A solução carregadora de amostra (C) recebe o reagente peróxido de hidrogênio em meio ácido (R_1) e iodeto de potássio (R_2) nos pontos de confluência x e y respectivamente, passando pelos reatores tubulares helicoidais de mistura (Bm) e reação (Br) e pelo detector (M), o qual registra o sinal relativo à reação não catalítica que constitui a linha de base do sistema. Após comutação, a amostra (a) é introduzida na solução carregadora (C) e os processos de mistura e reação ocorrem em (Bm) e (Br) respectivamente. A passagem pelo detector (M) determina que um sinal proporcional ao teor de molibdênio seja registrado (reação catalítica).

Nos experimentos iniciais, para definição das concentrações dos reagentes, volume da alça de amostragem dimensões dos reatores Bm e Br e das vazões de C, R_1 e R_2 foram utilizadas soluções padrão aquosas de molibdênio na faixa de 0 a 100 $\mu\text{g/l}$ e considerados os seguintes aspectos:

a) a solução carregadora da amostra (C) deveria ter a mesma composição das amostras, para que fossem evitados problemas de mudanças no índice de refração (BERGAMIN et alii, 1978) e formação de gradientes de pH na zona da amostra (BETTERIDGE e FIELDS, 1978).

b) a concentração de iodeto de potássio foi fixada em 2,0% m/v e de peróxido de hidrogênio em 0,02% v/v para se manter sempre um excesso com relação a estequiometria da reação.

c) a escolha do ácido e a acidez do meio foi ba-

seada nos trabalhos de HADJIIIOANNOU (1965) e FUGE (1970), os quais utilizaram o ácido clorídrico em pH ao redor de 1,7.

d) as vazões de C, R_1 e R_2 foram definidas de forma a permitir nesta fase de estudo uma frequência analítica em torno de 80 a 100 determinações por hora, de forma estável e que não prejudicasse o limite de detecção do método. Desta maneira, a vazão de C foi fixada inicialmente em 2,4 ml/min e as vazões de R_1 e R_2 em 1,6 ml/min e 0,6 ml/min.

e) o volume de amostra foi estabelecido de forma a se atingir boas condições de sensibilidade e velocidade analítica (RUZICKA e HANSEN, 1978).

Após montagem do sistema de fluxo, foram efetuados os estudos das principais variáveis, sendo a sensibilidade e estabilidade do sistema proposto os pontos de maior interesse a serem investigados.

Para a situação onde a separação de interferentes se torna necessária, foi sugerido um sistema empregando resina de troca iônica, o qual é apresentado no item 4.3.1.

4.2.1. Influência da Acidez

O efeito da acidez na reação foi estudado através da acidificação da solução de peróxido de hidrogênio, de forma a torná-la: 0,025, 0,050, 0,100, 0,200 e 0,400 N, em ácido clorídrico as quais correspondiam a um pH final na reação de 2,56, 2,26, 2,00, 1,76 e 1,53 respectivamente. O volume de amostra injetado foi de 500 μ l e os reatores de mistura e

reação fixados em 20 e 250 cm. O sistema de fluxo idêntico ao descrito em 4.2 e Figura 1.

4.2.2. Influência da Concentração de Iodeto de Potássio

Mantendo-se a concentração ácida da solução de peróxido de hidrogênio em 0,15 N, foi verificado o efeito da concentração de iodeto de potássio. As concentrações estudadas foram: 0,5%, 1,0%, 1,5%, 2,0% e 2,5% m/v. As mesmas condições do sistema de fluxo descritas em 4.2.1 foram utilizadas.

4.2.3. Influência da Concentração de Peróxido de Hidrogênio

Variando-se as concentrações de peróxido de hidrogênio de 0,005%, 0,010%, 0,015%, 0,020% e 0,025% v/v em 0,15 N em ácido clorídrico, verificou-se seu efeito na reação. A concentração de iodeto de potássio foi de 2,0% m/v e sistema de fluxo idêntico ao item 4.2.1.

4.2.4. Influência do Volume da Alça de Amostragem

O efeito do volume da alça de amostragem sobre o limite de detecção do método proposto foi verificado com a utilização do sistema de fluxo da Figura 1. ~~nde~~ uma modificação foi introduzida. Para minimizar o efeito de diluição da amos-

tra, foram trocados os tubos de bombeamento do carregador da amostra de 2,4 ml/min para 3,2 ml/min e de iodeto de potássio de 1,6 ml/min para 0,8 ml/min, mantendo-se portanto a vazão anterior. A concentração do reagente foi modificada de 2,0% m/v para 4,0% m/v. A concentração de peróxido de hidrogênio foi de 0,02% v/v em ácido clorídrico 0,15 N, mantendo-se sua vazão (0,6 ml/min) e as dimensões dos reatores de reação (250 cm) e de mistura (20 cm). Os volumes da alça de amostragem variaram de 100 a 1000 μ l.

4.2.5. Influência das Dimensões dos Reatores (Br) e (Bm)

A influência do reator helicoidal (Br) na reação foi verificada variando-se sua dimensão (50, 100, 150, 200 e 250 cm). O volume da alça de amostragem foi de 500 μ l. Os demais parâmetros seguiram o item 4.2.4.

Neste mesmo experimento, com o reator (Br) de 200 cm, foi definido o reator de mistura (Bm), cujas dimensões testadas foram de 20, 40 e 60 cm de comprimento.

4.2.6. Influência da Temperatura

De acordo com MULLER (1982), as determinações catalíticas podem ser afetadas se houver variações na temperatura ambiente. Visando estudar este efeito, foi conduzido um experimento no qual o reator (Br) foi mergulhado em banho de á-

gua, variando-se sua temperatura de 20 a 35°C em intervalos de 5°C. O sistema utilizado foi o da Figura 1, fixando-se o reator de mistura (Bm) em 40 cm e o de reação (Br) em 200 cm. O volume injetado foi de 500 µl.

4.3. Resina de Troca Iônica na Separação dos Interferentes

A determinação de molibdênio em digeridos vegetais pelo método catalítico apresenta como dificuldades principais a eliminação das interferências do íon ferro (III) e da concentração iônica da solução (cátions como Ca, Mg, Na e K), os quais podem estar presentes em concentrações iguais ou superiores a mil vezes às de molibdênio normalmente encontradas (BRADFIELD e STICKLAND, 1975; QUIN e WOODS, 1979).

Desta maneira, uma técnica de separação torna-se necessária. Neste trabalho, optou-se pela separação por troca iônica, sendo utilizada a resina catiônica forte Dowex 50W-X8.

A escolha desta técnica foi baseada no fato de que em soluções fracamente ácidas (0,10 a 0,20 N) todos os íons anteriormente citados são fortemente retidos nas resinas catiônicas (STRELOW, 1960 e MINCZENSKI et alii, 1982). O molibdênio por sua vez, nesta faixa de concentração ácida, apresenta-se como ânion molibdato (MARCZENKO, 1976), não sendo portanto retido nesse tipo de resina.

Outras resinas catiônicas fortes foram preliminarmente testadas, assim como resinas aniônicas para a precon-

centração de molibdênio, mas se mostraram incompatíveis com o método catalítico. As catiônicas apresentaram menor eficiência na retenção dos interferentes, ao passo que altas concentrações do eluente foram necessárias para as aniônicas, o que dificulta o controle da acidez, fundamental no método proposto.

4.3.1. Acoplamento da Resina de Troca Iônica no Sistema FIA

Através do sistema da Figura 2, foram realizados os experimentos para a definição dos parâmetros relativos ao acoplamento da resina no sistema de fluxo.

Pode-se observar pela figura, a coluna de resina na etapa de separação do molibdênio dos interferentes. Nota-se que a amostra (A) é aspirada continuamente passando por uma pequena alça de conexão (a_1), a seguir pela coluna de resina (Cr), onde são retidos os interferentes, e daí até a alça de amostragem (a_2) onde se encontra o molibdênio, sendo o excesso descartado (L). Ao mesmo tempo tem-se o bombeamento da solução eluente (E) e de água (W) para lavagem da coluna, sendo seus excessos descartados (L). No percurso analítico a solução carregadora da amostra (C) recebe as soluções reagentes (R_1) e (R_2) nos pontos de confluência x e y respectivamente, passando pelos reatores de mistura (Bm), reação (Br) e pelo detector (M). Após a comutação, a alça de amostragem (a_2) é introduzida na solução carregadora (C), recebendo os reagentes nos pontos de confluência x e y, com subsequente reação e detecção (M).

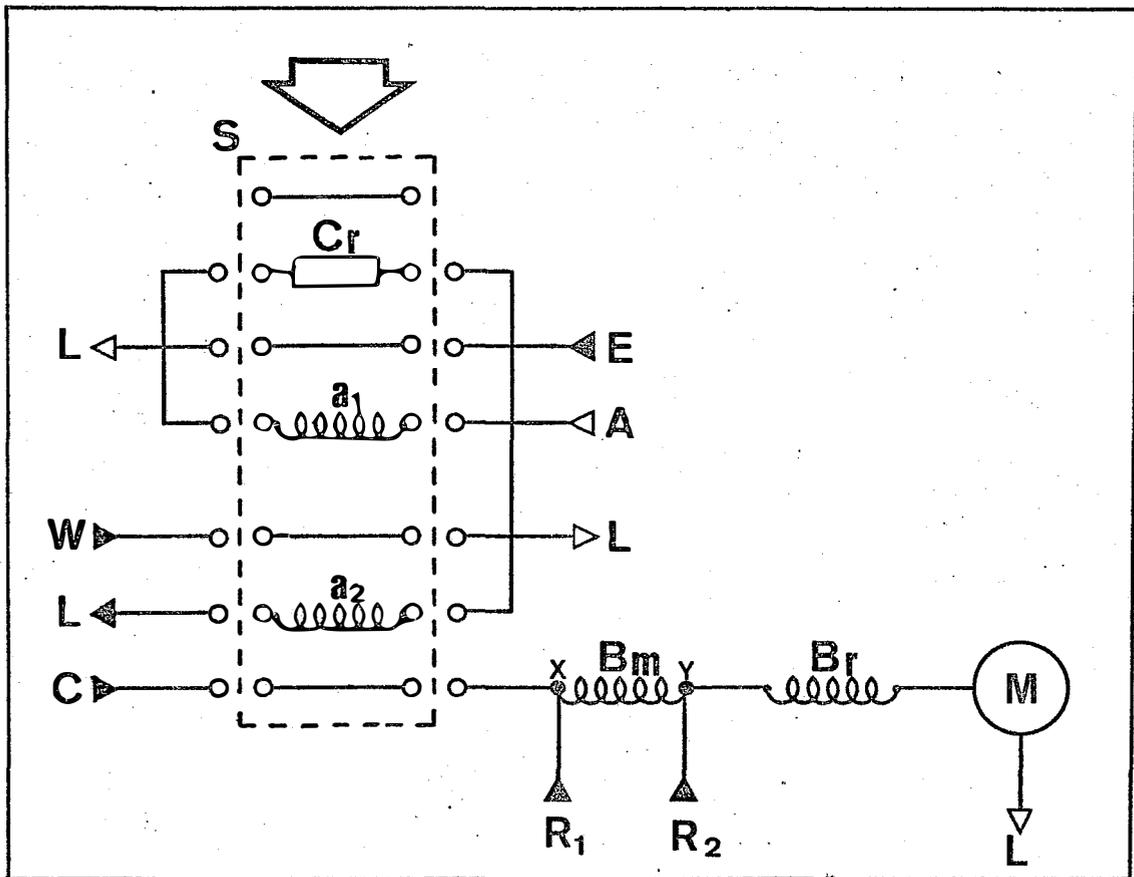


Figura 2 - Diagrama de fluxos do sistema FIR utilizado para estudo de interferentes e determinação de molibdênio em digeridos vegetais

- C = solução carregadora da amostra, água destilada deionizada, fluindo a 3,2 ml/min
 A = amostra ou padrão de molibdênio, 0,10 N em HCl, aspirada a 1,6 ml/min
 E = solução eluente, 2 N NH Cl, fluindo a 2,5 ml/min
 W = água destilada deionizada, fluindo a 1 ml/min
 R₁ = solução de peróxido de hidrogênio 0,02% v/v em ácido clorídrico 0,15 N, fluindo a 0,6 ml/min
 R₂ = solução de iodeto de potássio 4,0% m/v, fluindo a 0,8 ml/min
 a₁ = alça de correção (20 cm)
 a₂ = alça de amostragem (100 cm; volume interno de 500 ul)
 Bm e Br = reatores tubulares helicoidais de mistura (40 cm) e reação (200 cm) respectivamente
 Cr = coluna de resina
 Outros símbolos, conforme legenda da Figura 1

Simultaneamente, a solução eluente (E) passa pela coluna de resina (Cr) em sentido reverso, eluindo os cátions que seguem para o descarte (L), enquanto a próxima amostra (A) está sendo aspirada e seu excesso sendo descartado (L). Água é bombeada através da alça de conexão (a_1) a qual será na etapa de separação (posição na figura), aspirada antes da amostra (A), com a finalidade de se evitar o excesso da solução eluente (E) e facilitar a preconcentração dos cátions na coluna (Cr).

Anteriormente ao início dos testes, os reagentes foram bombeados por 20 minutos para se garantir uma boa estabilidade da linha de base do sistema. Pelo mesmo período, o condicionamento da resina foi obtido através de sucessivas lavagens com a solução eluente e água destilada deionizada.

Deve-se salientar que, devido a reação catalítica ser altamente sensível à variação da acidez do meio, o uso do ácido clorídrico como eluente poderia comprometer o controle da cinética da reação. Este fato foi comprovado preliminarmente, sendo que esta incompatibilidade não foi observada com a utilização de cloreto de amônio, que foi escolhido como eluente na realização dos testes iniciais.

A seguir são apresentados os experimentais realizados, onde o objetivo principal foi o estudo da separação dos íons interferentes. Em todas as etapas o volume da alça de amostragem foi fixado em 500 μ l e, do item 4.3.1.1 ao item 4.3.1.5, a concentração de cloreto de amônio foi 2 N a uma vazão de 2,5 ml/min e o tempo de eluição de 60 segundos.

A vazão de preconcentração das amostras foi pre-

viamente definida de acordo com PESSEDA et alii (1983), como sendo de 1,6 ml/min.

4.3.1.1. Definição do Tempo de Amostragem e Retenção do Molibdênio na Resina.

Com o emprego do sistema da Figura 2, foi verificado o tempo de amostragem necessário para o enchimento da alça (a_2), após passagem da solução de interesse pela coluna de resina. Soluções padrão contendo 0,0 e 10 $\mu\text{g Mo/l}$ em HCl 0,10 N foram aspiradas e introduzidas no sistema. Os tempos de amostragem variaram de 30 a 120 segundos a intervalos de 15 segundos. A coluna utilizada foi de 9 cm.

Empregando-se do mesmo sistema da Figura 2 e parâmetros anteriormente descritos, verificou-se a retenção de molibdênio na resina em função da concentração ácida da amostra. Inicialmente, substituiu-se a coluna por uma alça de conexão de 10 cm de comprimento. Soluções padrão 10, 20 e 40 $\mu\text{g Mo/l}$ preparadas em água, foram aspiradas e introduzidas no sistema. A seguir, conectou-se a coluna e as mesmas soluções padrão preparadas em água e em ácido clorídrico 0,10, 0,15, 0,20 e 0,50 N foram aspiradas por 60 segundos e analisadas.

4.3.1.2. Efeito da Concentração Iônica e da Solução Carregadora da Amostra.

Para verificar o efeito da concentração iônica da

amostra no método, foram empregadas soluções 0,0, 10,0, 20,0 e 40,0 $\mu\text{g Mo/l}$ em ácido clorídrico 0,10 N e 200 mg Al/l, 1000 mg Ca/l, 1000 mg K/l, 200 mg Mg/l e 100 mg Na/l na forma de cloreto. Na ausência e na presença dos cátions, as soluções carregadoras das amostras foram água destilada deionizada e cloreto de amônio 0,100, 0,125, 0,150, 0,175 e 0,200 N, respectivamente. As concentrações dos cátions foram baseadas nos máximos teores encontrados em digeridos de vegetais, em análises efetuadas nos laboratórios de Química Analítica do CENA, cuja relação entre massa de matéria seca e volume final da solução foi igual ou superior a 1/50. O sistema de fluxo foi o da Figura 2 e o tempo de amostragem de 60 segundos.

Nos itens subsequentes, as concentrações referentes aos interferentes foram calculadas com base na mesma relação entre massa de matéria seca e volume final de solução.

4.3.1.3. Interferência de Fe (III).

A interferência do íon Fe (III) em diferentes concentrações ácidas, foi verificada empregando-se soluções padrão de molibdênio (10,0 e 20,0 $\mu\text{g/l}$), 0,05, 0,10, 0,15 e 0,20 N em ácido clorídrico, as quais foram introduzidas no sistema após um tempo de amostragem de 60 segundos, em ausência e presença de 50 e 100 mg Fe/l (máxima concentração em digeridos vegetais, MALAVOLTA, 1980). A partir desse experimento, foi empregado cloreto de amônio 0,15 N como solução carregadora da amostra, no sistema da Figura 2.

4.3.1.4. Fosfato.

A interferência de fosfato na determinação de molibdênio foi verificada com o emprego de soluções em ácido clorídrico 0,10 N contendo 10 e 20 $\mu\text{g Mo/l}$ e 20, 40, 60, 80, 100 e 150 $\mu\text{g P/l}$ (concentração máxima em digeridos de vegetais de acordo com MENGEL e KIRKBI, 1978). O tempo de amostragem foi de 60 segundos.

4.3.1.5. Cromo, Titânio, Tungstênio e Vanádio.

Utilizando soluções contendo 10 e 20 $\mu\text{g Mo/l}$ em ácido clorídrico 0,10 N, e 20 $\mu\text{g/l}$ de cromo, titânio, tungstênio e vanádio, verificou-se suas interferências no método.

A concentração dos interferentes foi escolhida em função do máximo teor encontrado em digeridos de vegetais segundo GAUCH (1972) e MENGEL e KIRKBY (1978).

4.3.1.6. Efeitos da Vazão e Concentração de Eluentes.

Os efeitos das vazões (1,0 e 2,5 ml/min) e das concentrações das soluções de cloreto de amônio (2, 3 e 4 N) e ácido clorídrico (4 N) na eluição dos íons alumínio (III), cálcio (II), ferro (III) e magnésio (II) em função do tempo (30, 60, 90 e 120 segundos), foram verificados.

Inicialmente, foi preconcentrada durante 60 segundos uma solução contendo 200 mg Al/l, 1000 mg Ca/l, 50 mg Fe/l e 200 mg Mg/l em uma coluna de 9 cm. A seguir, comutou-se o injetor, sendo a solução eluente bombeada através da coluna em sentido reverso, e o efluente coletado em um frasco de vidro por um tempo de 30 segundos. Findo esse período, desligou-se a bomba peristáltica para troca de frascos e o processo foi repetido sucessivamente em intervalos de 30 segundos até 120 segundos. As alíquotas coletadas foram diluídas na proporção de 1:10 com água destilada deionizada e analisadas por espectrometria de emissão atômica com plasma induzido em argônio (ICP-AES).

4.3.1.7. Precisão e Estabilidade.

Foram analisadas por 10 vezes consecutivas soluções padrão 10 e 20 $\mu\text{g Mo/l}$ em ácido clorídrico 0,10 N, em presença de interferentes (concentrações máximas encontradas em digeridos de vegetais). A precisão foi avaliada em termos de desvio padrão porcentual das medidas obtidas. Os tempos de amostragem e eluição foram de 60 segundos, coluna de 9 cm e o eluente cloreto de amônio 2 N a uma vazão de 1 ml/min.

Neste experimento foi verificada a estabilidade do método. Atenção foi dada à variação nas curvas de padronização de 0 a 40 $\mu\text{g Mo/l}$ (intercaladas após 20 determinações) e à linha de base do sistema.

4.3.1.8. Exatidão.

Amostras de digeridos vegetais obtidas conforme 3.4, foram analisadas pelo método proposto. A exatidão foi avaliada através da comparação dos resultados com aqueles obtidos pela análise das mesmas amostras por espectrometria de absorção atômica com forno de grafite (STUDNICKI, 1979).

5. RESULTADOS E DISCUSSÃO

5.1. Influência da Acidez

De acordo com o procedimento descrito em 4.2.1, verificou-se o efeito da acidez no método proposto.

Antes da discussão dos resultados devem ser considerados alguns aspectos importantes: i) as absorvâncias relativas à reação não catalítica foram estimadas através das leituras obtidas pela linha de base do sistema em relação à água destilada deionizada. No presente estudo, assim como nos itens 5.2 e 5.3 subsequentes, estas absorvâncias estão caracterizadas nos pontos de intersecção das retas com o eixo das ordenadas (A) das Figuras 3, 4 e 5; ii) as absorvâncias correspondentes à reação catalítica foram obtidas medindo-se as alturas dos picos à partir da linha de base correspondente; iii) a sensibilidade do método está diretamente relacionada à diferença existente entre os sinais obtidos pelas reações catalítica e não catalítica. Quanto maior esta diferença (incremento) maior a sensibilidade (ZHAO-LUN e SHU-KUN, 1983).

Pode-se observar pelo exame da Figura 3, um aumento significativo na absorvância de ambas as reações quando se variou o pH do meio. A reação não catalítica não aumentou linearmente entre os valores de pH 2,53, 2,16, 2,00 e 1,76, os quais correspondiam a concentrações do ácido na reação de $3,75 \times 10^{-3}$, $7,5 \times 10^{-3}$, 15×10^{-3} e 30×10^{-3} N, respectiva-

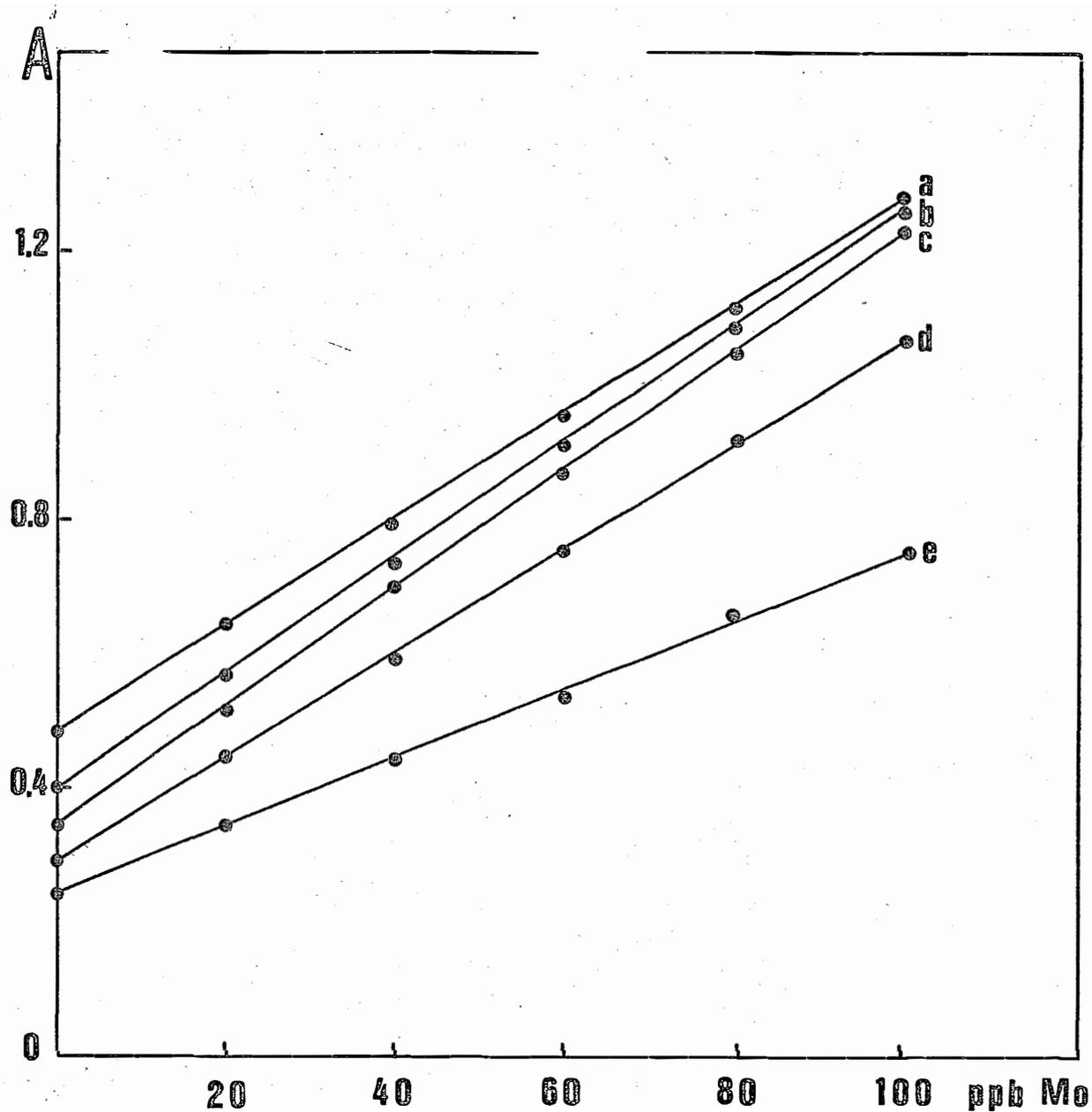


Figura 3 - Influência da acidez na absorvância das reações não catalíticas (eixo das ordenadas) e catalíticas. Resultados obtidos conforme 4.2.1. A é a absorvância.

a = pH 1,53
 b = pH 1,76
 c = pH 2,00
 d = pH 2,26
 e = pH 2,53

mente. Verifica-se também que os maiores incrementos entre as reações ocorreram entre o pH 1,76 e 2,00 (retas b e c), confirmando os resultados obtidos por HADJIIIOANNOU (1965) e FUGE (1970). Os coeficientes de regressão linear (r) para ambas as retas foram calculados e apresentaram valores de 0,9996 e 0,9995. De acordo com ZHAO-LUN e SHU-KUN, (1983) o método é linear na faixa de 0 a 1000 $\mu\text{g Mo/l}$. Similarmente para as demais situações (a, d, e) a lei de Beer foi obedecida, mas os incrementos entre as reações e a precisão, inferiores aos obtidos em b e c. Com base no exposto, optou-se pelo pH 1,90. Correspondentemente, a concentração do ácido clorídrico no reagente peróxido de hidrogênio foi fixada em 0,15 N.

5.2. Influência da Concentração de Iodeto de Potássio

A influência da concentração de iodeto de potássio foi verificada segundo procedimento descrito no Item 4.2.2. Observa-se pelo eixo das ordenadas (A) da Figura 4 que o aumento da cinética de reação não catalítica com a concentração de iodeto de potássio não foi linear. Nota-se ainda que o maior incremento entre as duas reações ocorreu com a concentração de 2%. Embora melhores sensibilidades fossem verificadas para maiores concentrações de iodeto de potássio, a absorvância e o ruído da linha de base foram maiores também, e nenhuma vantagem adicional foi obtida em relação ao limite de detecção. Assim, a concentração de 2% de iodeto de potássio foi proposta. Na reação, esta concentração apresenta-se uma a duas vezes superior

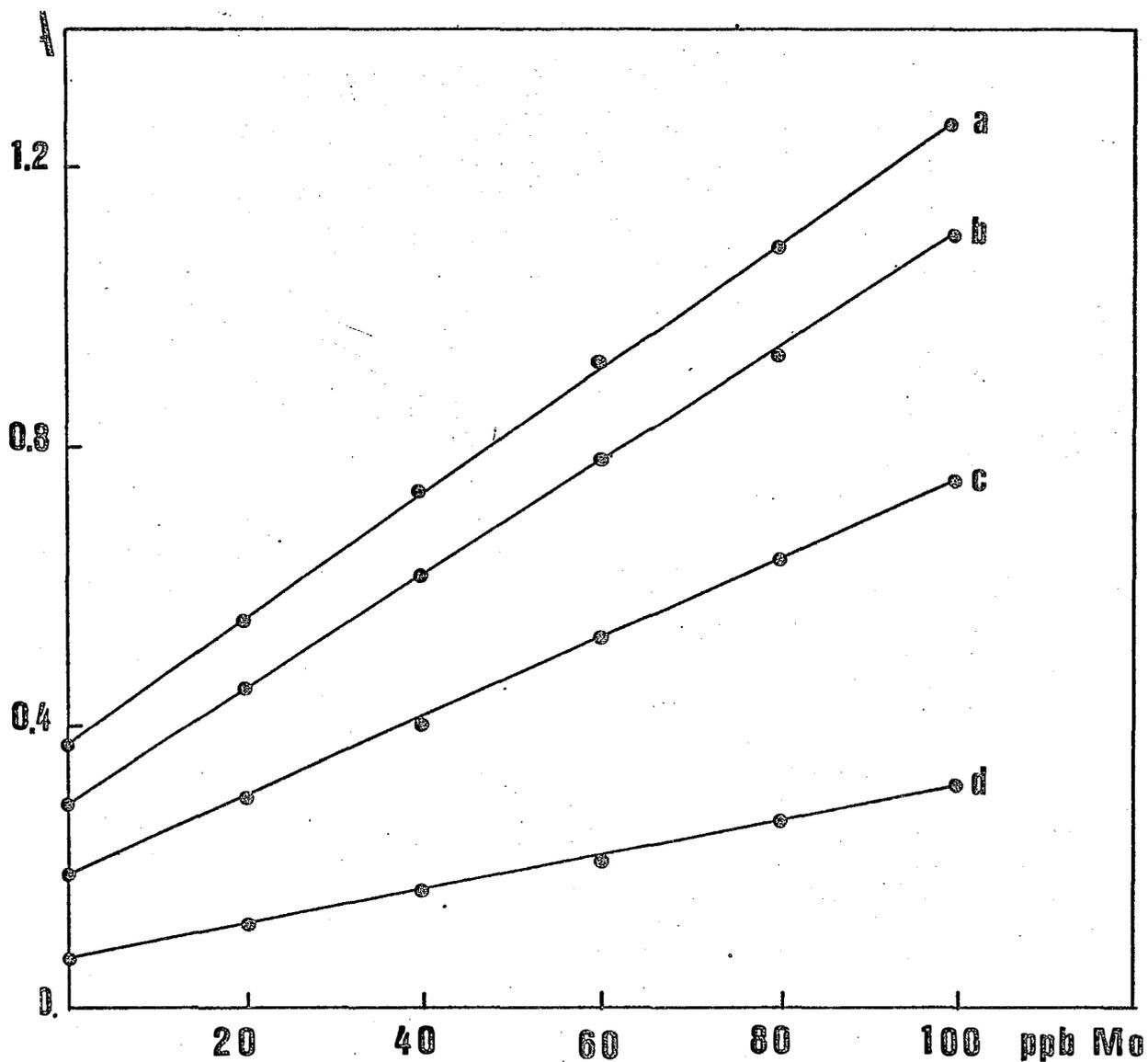


Figura 4 - Influência da concentração de iodeto de potássio. A é a absorvância. Resultados obtidos conforme 4.2.2.

a = KI 2,0% m/v
b = KI 1,5% m/v
c = KI 1,0% m/v
d = KI 0,5% m/v

às usadas nos métodos manuais ou sistemas automatizados segmentados, em função das condições de cinética desejáveis para os sistemas FIA.

Os resultados obtidos com relação às concentrações de 2,5 e 3,0% não foram plotados na Figura 4 pelo fato de que para concentrações acima de 40 $\mu\text{g/l}$ (absorbâncias maiores que 1,2) sérios problemas de ruído (instabilidade) foram observados, afetando a precisão e conseqüentemente inviabilizando estas medidas.

5.3. Influência da Concentração de Peróxido de Hidrogênio

Em função dos dados obtidos segundo procedimento descrito em 4.2.3, representados na Figura 5, observa-se a influência da concentração de peróxido de hidrogênio no método proposto. Na faixa de concentração estudada, verifica-se um aumento significativo na absorbância das reações catalítica e não catalítica, onde o máximo incremento entre as reações ocorreu para a concentração de 0,025%. Esta concentração poderia ser escolhida mas, devido a problemas de instabilidade na linha de base assim como perda de precisão, que comprometeriam sobremaneira a exatidão do método, optou-se pela concentração de 0,020%. Nos métodos automatizados segmentados e no sistema FIA apresentado por ZHAO-LUN e SHU-KUN (1983), a concentração do peróxido de hidrogênio esteve na faixa de 0,020 a 0,030%. De acordo com estes autores, acima da concentração de 0,030% não foram observados aumentos significativos na absorbância da re-

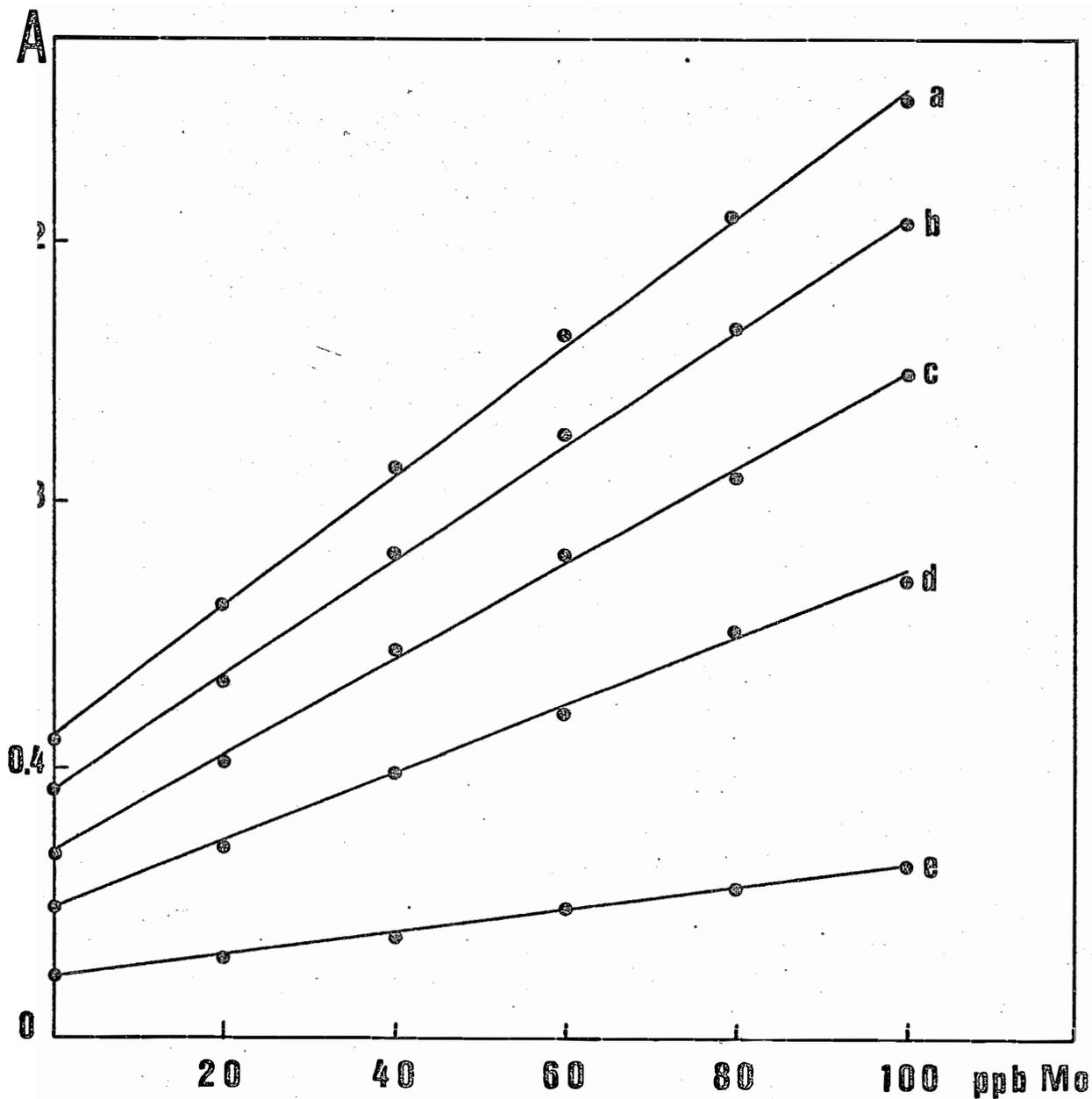


Figura 5 - Influência das concentrações de peróxido de hidrogênio. A é a absorbância. Resultados obtidos conforme 4.2.3.

- 0,025% v/v
- 0,020% v/v
- 0,015% v/v
- 0,010% v/v
- 0,005% v/v

ação catalítica, enquanto que a reação não catalítica manteve-se linear até a concentração de 0,10%.

5.4. Influência do Volume da Alça de Amostragem

Conforme procedimento descrito no item 4.2.4, verificou-se o efeito do volume da alça de amostragem no limite de detecção do método.

Observa-se pelas curvas obtidas na Figura 6 um significativo aumento na absorbância das soluções padrão de molibdênio em função do aumento do volume de amostra (V). Desta forma, poder-se-ia optar pelo volume de 1000 μl , o qual foi superior em aproximadamente 10, 30 e 55% aos volumes de 750, 500 e 250 μl . Contudo, de acordo com RUZICKA e HANSEN (1981), desde que os sistemas de injeção em fluxo operam sob condições transientes, a utilização de um volume excessivamente grande prejudica sensivelmente a frequência analítica do método. Assim, fez-se a opção pelo volume da alça de amostragem de 500 μl o qual certamente não viria comprometer de forma efetiva a velocidade analítica, embora nestas condições o limite de detecção possa ser afetado.

Deve-se salientar também que, quando da adaptação da coluna de resina ao método, o volume a ser introduzido é um parâmetro de fundamental importância. Quanto maior o volume, maior será o tempo necessário de amostragem para seu completo preenchimento, o que contribuirá para diminuir a velocidade analítica. Este aspecto será discutido em 5.7.

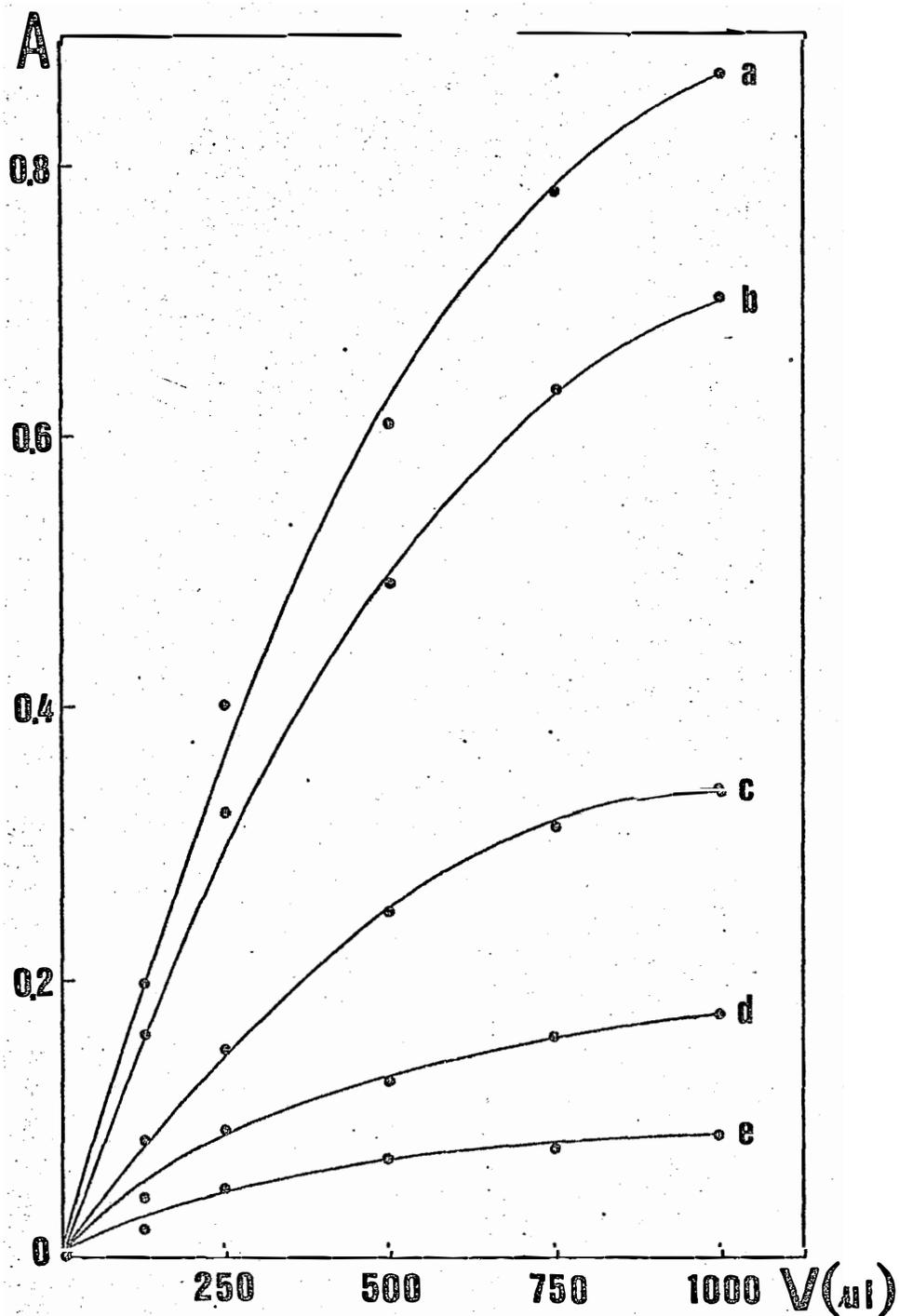


Figura 6 - Influência do volume da alça de amostragem. V são os volumes em microlitros e A a absorbância. Resultados obtidos conforme 4.2.4.

a = 50 $\mu\text{g Mo/l}$
 = 40 $\mu\text{g Mo/l}$
 = 20 $\mu\text{g Mo/l}$
 = 10 $\mu\text{g Mo/l}$
 = 5 $\mu\text{g Mo/l}$

5.5. Influência das Dimensões dos Reatores Tubulares Heli- coidais de Reação (Br) e de Mistura (Bm)

Segundo MULLER (1982), o controle da cinética das reações catalítica e não catalítica é um fator limitante no desenvolvimento do método manual, uma vez que estas reações são dependentes do tempo. No sistema de injeção em fluxo, o tempo de reação pode ser prontamente determinado pela medida da altura do sinal analítico, uma vez que desde a injeção da amostra ou confluência do reagente até o aparecimento do sinal o tempo é constante. A técnica da parada dos fluxos (stopped-flow) tem sido recomendada para as medidas dos tempos de reação (RUZICKA e HANSEN, 1981). Entretanto, estudos preliminares com esta técnica mostraram que sua utilização não era viável para esta particular reação, devido à impossibilidade de se distinguir os sinais correspondentes à oxidação do iodeto pelo peróxido (reação não catalítica) e à reação catalítica. A alternativa foi utilizar reatores tubulares de diferentes dimensões, com os quais pode-se variar os tempos de reação sem o inconveniente citado.

Por meio dos dados obtidos referentes ao experimento descrito no item 4.2.5, verificou-se a influência das dimensões do reator tubular de reação no limite de detecção do método. Os resultados, já descontados os valores de absorbância da reação não catalítica, são mostrados na Figura 7, onde o maior incremento entre as reações catalítica e não catalítica foi observado com o reator de 250 cm. Ocorre que, nessa condi-

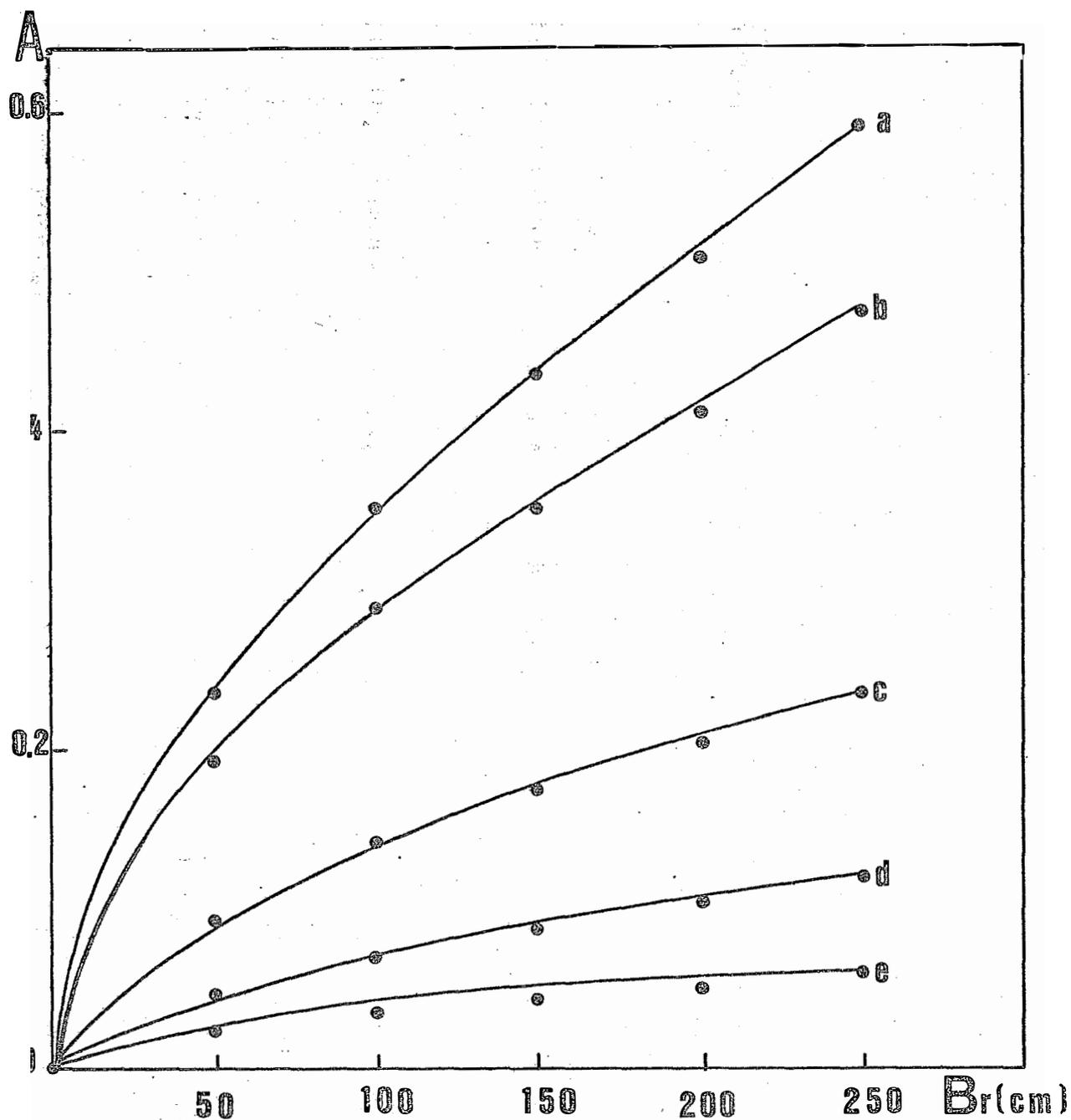


Figura 7 Influência das dimensões dos reatores tubulares helicoidais de reação (Br). Resultados obtidos conforme 4.2.5. A é a absorvância.

a = 50 ug Mo/l
 b = 40 ug Mo/l
 c = 20 ug Mo/l
 d = 10 ug Mo/l
 e = 5 ug Mo/l

ção, a absorbância da linha de base e o ruído também foram maiores, o que não traria vantagens reais para o limite de detecção. Desde que o reator de 200 cm proporcionou favoráveis condições de estabilidade e sensibilidade, fez-se a opção por sua utilização.

Neste mesmo experimento, verificou-se a influência das dimensões do reator de mistura. Nenhuma diferença significativa foi observada na estabilidade e sensibilidade do método com os reatores de 40 e 60 cm, ao passo que para o de 20 cm observou-se uma maior variação da linha de base. Em vista desses resultados, escolheu-se o reator de 40 cm, para garantir a eficiência da mistura.

5.6. Influência da Temperatura

De acordo com experimento descrito no item 4.2.6 foi verificado o efeito da temperatura no método. Com o aumento da temperatura ambiente do reator (Br) de 20 a 35 °C, as absorbâncias das soluções padrão assim como da linha de base resultante da reação não catalítica apresentaram um acréscimo de 5%, o que corresponderia a uma variação de 0,3% para uma flutuação de 1 °C. Desde que a temperatura do laboratório pode ser controlada dentro de ± 2 °C durante uma análise de rotina, fica evidenciado que não existe a necessidade do uso de um banho de água para controle da temperatura ambiente.

5.7. Definição do Tempo de Amostragem e Retenção do Molibdênio na Resina

O resultado do experimento descrito no item 4.3.1.1 com relação à definição do tempo de amostragem necessário para enchimento do volume da alça (a_2) é apresentado na Figura 8.

Inicialmente, observa-se que as absorvâncias das soluções padrão 0 e 10 $\mu\text{g Mo/l}$ para um tempo de 30 segundos são significativamente maiores do que para os outros tempos. Para uma discussão desse resultado, deve-se considerar que a coluna de resina apresentava alta concentração de cloreto de amônio antes da passagem das soluções padrão. À medida em que se comutou o injetor e as soluções foram aspiradas através da coluna, houve um deslocamento da solução eluente para a alça de amostragem (a_2) e provavelmente após 30 segundos ocupava a maior parte do seu volume. Desde que a solução carregadora da amostra foi água destilada deionizada, após introdução da alça (a_2) no percurso analítico ocorreu uma mudança no índice de refração do meio causada pela diferença de concentração salina. Conseqüentemente, um aumento na absorvância das soluções padrão foi observado. A confirmação deste fato pode ser verificada para os outros tempos, onde se nota uma diminuição na absorvância das soluções padrão para o tempo de 45 segundos, até atingir-se uma estabilidade entre 60 e 120 segundos.

Este resultado é concordante com BERGAMIN et alii (1978). Para se evitar problemas relacionados com mudanças no

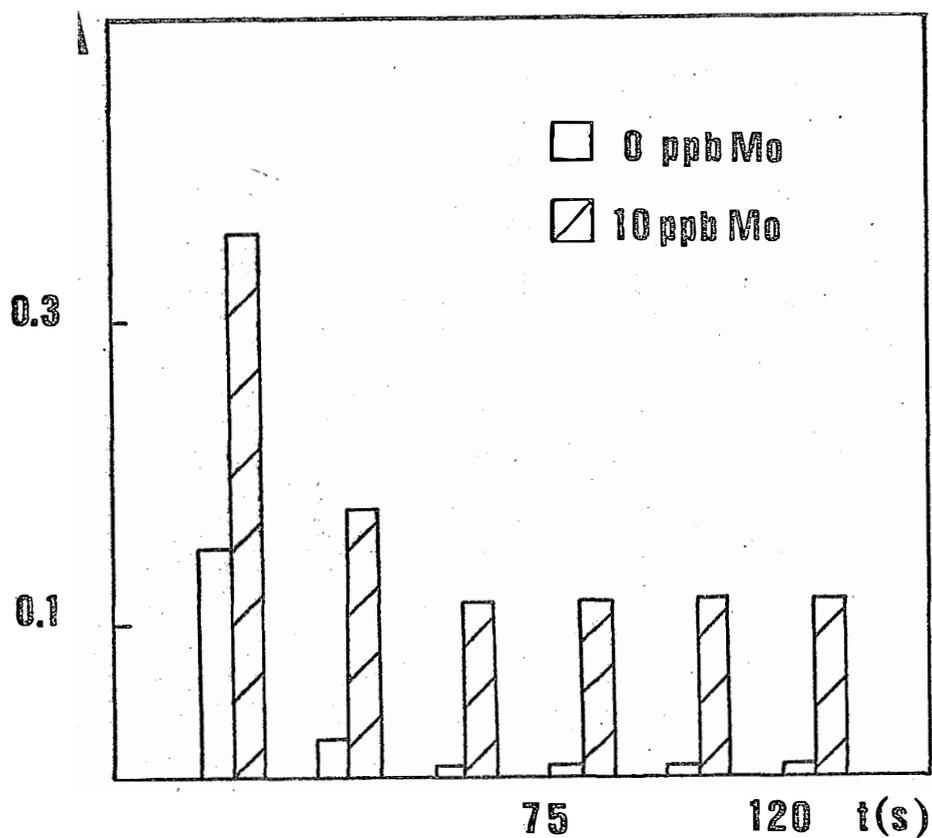


Figura 8 - Definição do tempo de amostragem necessário para enchimento do volume da alça de amostragem. A é a absorbância e t o tempo em segundos. Resultados obtidos conforme 4.3.1.1.

índice de refração do meio e conseqüente prejuízo à análise em questão, a solução carregadora da amostra deveria ter composição semelhante à amostra injetada.

Levando-se em consideração a frequência analítica do método, o tempo de amostragem de 60 segundos foi escolhido. Com este resultado, verifica-se que, para os volumes da alça (a_2) de 750 e 1000 μ l previamente testados em 4.2.4, os tempos necessários de amostragem deveriam ser de 90 e 120 segundos respectivamente, o que implicaria em significativa diminuição na frequência analítica.

Um outro aspecto a ser mencionado refere-se ao sinal da prova em branco, nos tempos de 60 a 120 segundos. Este fato deveu-se à constante troca entre os íons hidrogênio provenientes das soluções padrão e os íons amônio previamente adsorvidos na resina (MINCZEWSKI et alii, 1982), os quais foram deslocados e, em conjunto com os íons cloreto introduzidos no sistema, originando uma pequena mudança no índice de refração. Para eliminar esse efeito, o uso de uma solução de cloreto de amônio como carregadora da amostra se fez necessário e sua utilização será discutida em 5.8.

No mesmo experimento do item 4.3.1.1, verificou-se a retenção de molibdênio na resina catiônica em função da concentração ácida das soluções e os dados obtidos são apresentados na Tabela 1. Nota-se pelos resultados que, para as soluções padrão preparadas em água que foram aspiradas através da resina, os valores de absorbância mantiveram-se constantes em comparação às mesmas soluções analisadas diretamente. Semelhan-

tes resultados foram encontrados para as soluções em 0,10, 0,15 e 0,20 N em ácido clorídrico, estando de acordo com MINCZEWSKI et alii (1982), o qual afirmou que em soluções ácidas diluídas o molibdênio apresenta-se como íon molibdato, não sendo portanto retido nas resinas catiônicas. Para a concentração 0,50 N verificou-se um decréscimo em torno de 10% na absorvância, provavelmente devido à presença de cátions molibdenil MoO_2^{2+} que ocorrem em concentrações ácidas mais elevadas (MARCZENKO, 1976).

Tabela 1 - Retenção de molibdênio na resina catiônica Dowex 50W-X8 em função da concentração ácida das amostras (dados expressos em unidades de absorvância e obtidos conforme 4.3.1.1.

PADRÕES ($\mu\text{g}/\text{l}$)	DIRETO H_2O	RESINA				
		H_2O	HCl 0,10N	HCl 0,15N	HCl 0,20N	HCl 0,50N
10	0,120	0,121	0,120	0,121	0,120	0,108
20	0,242	0,240	0,239	0,240	0,240	0,217
40	0,480	0,479	0,479	0,478	0,481	0,434

5.8. Efeito da Concentração Iônica e da Solução Carregadora da Amostra

Conforme descrito no item 4.3.1.2 foi verificada a influência da concentração iônica e da solução carregadora da amostra no método.

FUGE (1970) e BRADFIELD e STICKLAND (1975) reportaram que, em amostras biológicas, concentrações superiores a 3,0% de cloreto de sódio e de cálcio causavam um decréscimo ao redor de 30% no sinal analítico de molibdênio. Ambas as reações catalítica e não catalítica foram afetadas e variações no sinal da prova em branco foram obtidas.

No método proposto com emprego de soluções com alta concentração iônica (superior as normalmente encontradas em tecidos vegetais) tais interferências não foram observadas, provavelmente devido à associação de dois fatores, ou seja, uso de resina de troca iônica para a retenção dos cátions e utilização de reagentes com concentrações mais elevadas. De acordo com STRELOW (1960), RIEMAN III e WALTON (1970) e MINCZEWSKI et alii (1982), em soluções ácidas diluídas (0,10 N) os cátions Ca, Mg, Na, K, Fe e Al, assim como Cu e Mn entre outros são fortemente adsorvidos na resina Dowex 50W-X8. Ocorrida a retenção dos cátions presentes houve um decréscimo na concentração iônica da solução analisada e conseqüente minimização da interferência. O segundo fator a ser analisado foi o uso de cloreto de amônio nas concentrações de 0,10 a 0,20 N como solução carregadora da amostra. Desde que na preconcentração dos

cátions quantidades equivalentes do íon amônio foram desalojadas da resina em conjunto com íons cloreto (provenientes das soluções padrão), a introdução dessa solução em um carregador inerte da amostra (água deionizada) poderia provocar uma mudança no índice de refração do meio e conseqüente variação no sinal analítico (como demonstrado no item 4.3.1.1). No presente estudo, dentro da faixa de concentração utilizada (0,10 a 0,20 N) não foram observadas diferenças significativas entre as leituras das soluções padrão, além de se eliminar completamente o sinal analítico da prova em branco. Com base nesses resultados, optou-se pela solução 0,15 N de cloreto de amônio como carregadora da amostra. Nesta condição, o pH final da reação manteve-se em torno do recomendado (1,90).

Um aspecto importante a ser considerado refere-se a uma possível saturação da resina (break-through) pelos cátions adsorvidos. Cálculos efetuados indicaram que a quantidade de resina apresentava-se em excesso de aproximadamente 5 a 6 vezes às concentrações dos cátions presentes (inclusive H_3O^+). Em adição, após a etapa de preconcentração, procedeu-se à eluição com cloreto de amônio 2 N pelo período de 60 segundos, condições plenamente satisfatórias para a realização de todo o experimento sem que problemas de saturação da resina fossem observados.

5.9. Interferência de Ferro (III)

A interferência de ferro (III) em diferentes con-

centrações ácidas foi verificada através do experimento descrito em 4.3.1.3. A Tabela 2 indica que, para as concentrações de 0,05 a 0,15 N em ácido clorídrico, o íon ferro (III) foi totalmente retido pela resina catiônica, confirmando os resultados obtidos por STRELOW (1960) e MINCZEWSKI et alii (1982). Para a concentração de 0,20 N observaram-se significativas interferências nas soluções padrão de molibdênio, indicando que a retenção não foi completa. Segundo RIEMAN III e WALTON (1970), em determinadas concentrações de ácido clorídrico ocorre a formação do complexo $FeCl_4^-$, o qual não é adsorvido nas resinas catiônicas. Em função dos resultados obtidos, definiu-se a concentração de 0,10 N em ácido clorídrico para as amostras.

Em trabalhos baseados na determinação catalítica de molibdênio, alguns autores (BRADFIELD e STICKLAND, 1975; QUIN e WOODS, 1979; EIVAZI et alii, 1982) utilizaram o reagente fluoreto de amônio para complexar o ferro. De acordo com suas citações, uma concentração de ferro de 100 mg/l (1000 mg/l no tecido vegetal) correspondia a uma absorvância de 1 μ g Mo/l. Testes efetuados com esse reagente, em condições similares às descritas na literatura, indicaram que a complexação do ferro nas concentrações de 25 e 50 mg/l foi de 90%, o que correspondia a absorvâncias de 5 e 10 μ g Mo/l, respectivamente, com o agravante deste metal ser também complexado em aproximadamente 30%. Assim, para o sistema proposto, verificou-se que o emprego de fluoreto de amônio não foi satisfatório.

Tabela 2 - Interferência de ferro (III) em diferentes concentrações ácidas da amostra na determinação de molibdênio. Dados obtidos conforme 4.3.1.3. H^+ (N) significa a concentração de ácido clorídrico na qual as amostras foram preparadas. 10 Mo + 50 Fe corresponde a solução padrão 10 ug Mo/l preparada em presença de 50 mg Fe/l e assim sucessivamente.

H^+ (N)	AMOSTRAS	DESVIOS RELATIVOS (%)*
0,05	10 Mo + 50 Fe	0,0
	20 Mo + 50 Fe	0,0
	10 Mo + 100 Fe	0,0
	20 Mo + 100 Fe	0,0
0,10	10 Mo + 50 Fe	0,0
	20 Mo + 50 Fe	0,0
	10 Mo + 100 Fe	0,0
	20 Mo + 100 Fe	0,0
0,15	10 Mo + 50 Fe	0,0
	20 Mo + 50 Fe	0,0
	10 Mo + 100 Fe	0,0
	20 Mo + 100 Fe	0,0
0,20	10 Mo + 50 Fe	+49,0
	20 Mo + 50 Fe	+53,0
	10 Mo + 100 Fe	+78,0
	20 Mo + 100 Fe	+83,0

* Aos teores de molibdênio em ausência do íon interferente.

5.10. Fosfato

YATSIMIRSKII (1964) e BRADFIELD e STICKLAND (1975) reportaram que, em presença de fosfato, a ação catalítica do molibdênio era reduzida devido à formação do ácido fosfomolibdico.

Testes efetuados preliminarmente, onde a adição do iodeto de potássio antecedeu à do reagente peróxido de hidrogênio em ácido clorídrico 0,15 N, indicaram que significativas interferências (até 20%) ocorreram para concentrações superiores a 80 mg/l de fósforo. No método proposto, de acordo com procedimento descrito em 4.3.1.4, não foram observadas interferências até a concentração de 150 mg/l. Tal fato deveu-se provavelmente a inversão da ordem de adição dos reagentes (peróxido em meio de ácido clorídrico antes do iodeto). De acordo com SNELL e SNELL (1949), KRESHKOV e YAROSLAVTSEV (1977) e PESSENDA et alii (1983), a reação de formação do ácido fosfomolibdico é sensivelmente afetada pela presença de íons cloreto. QUIN e WOODS (1979) e EIVAZI et alii (1982) eliminaram a interferência de fosfato de maneira similar, entretanto, não justificaram o procedimento empregado.

5.11. Cromo, Titânio, Tungstênio e Vanádio

As interferências de cromo, titânio, tungstênio e vanádio no método foram verificadas através do procedimento descrito em 4.3.1.5. De maneira semelhante ao ferro, estes

metais catalisam a oxidação do iodeto pelo peróxido de hidrogênio, entretanto, não foi observada nenhuma interferência nas determinações de molibdênio. Provavelmente, este resultado deveu-se a uma retenção dos metais (exceção ao cromo e tungstênio) na resina (STRELOW, 1960; SAMUELSON, 1963), o que contribuiu para um decréscimo nas concentrações analisadas. Soma-se a isto a constatação feita por EIVAZI et alii (1982) de que cromo, titânio, tungstênio e vanádio possuem uma ação catalítica 10,5, 10 e 5 vezes, respectivamente, menor do que o molibdênio.

Outros fatores combinam para eliminar qualquer significativa interferência em amostras reais: i) todos os quatro metais estão usualmente presentes nos tecidos vegetais em concentrações similares ou menores do que o molibdênio; ii) interferências de titânio e vanádio (metais que se apresentam em concentrações suficientes para causar interferências) foram reduzidas mantendo-se as amostras em repouso por uma noite, presumivelmente como resultado de precipitação e hidrólise (QUIN e WOODS, 1979 e EIVAZI et alii, 1982).

5.12. Efeitos da Vazão e Concentração de Eluentes

Os resultados do experimento descrito de acordo com o ítem 4.3.1.6, relativos aos efeitos das vazões e das concentrações das soluções de cloreto de amônio e do ácido clorídrico na eluição dos íons alumínio (III), cálcio (II), ferro (III) e magnésio (II) em função do tempo, são apresentados na Tabela

Tabela 3 - Efeito das concentrações e vazões das soluções de cloreto de amônio e ácido clorídrico na eluição do íons Al, Ca, Fe e Mg em função do tempo. Os resultados relativos aos íons no efluente (%) foram calculados considerando-se que a retenção foi total (100%). Dados obtidos conforme 4.3.1.6.

VAZÃO (ml/min)	ELUENTE	TEMPO DE ELUI- ÇÃO (s)	ÍONS NO EFLUENTE (%)			
			Al	Ca	Fe	Mg
1,0	NH ₄ Cl 2N	30	23,9	26,2	24,2	36,2
		60	81,9	84,7	82,8	86,6
		90	89,7	90,9	89,7	93,6
		120	90,0	94,1	91,3	95,2
1,0	HCl 4N	30	22,7	26,8	24,9	37,1
		60	75,7	83,2	88,9	86,6
		90	86,8	91,6	94,8	92,1
		120	90,8	93,6	96,8	93,9
2,5	NH ₄ Cl 2N	30	58,5	65,2	58,8	71,9
		60	77,0	82,0	76,0	83,0
		90	83,0	84,6	78,2	86,3
		120	86,6	88,4	80,2	89,5
2,5	HCl 4N	30	57,0	66,2	60,8	72,0
		60	76,8	81,8	79,5	84,2
		90	84,2	85,4	88,0	87,0
		120	86,3	89,8	92,8	90,6

Pelos dados obtidos, observa-se que a partir do tempo de 60 segundos de eluição, nas duas vazões utilizadas, foram encontradas concentrações significativas (maiores que 70%) de Al, Ca, Fe e Mg no efluente. Comparando-se o efeito das soluções de cloreto de amônio e ácido clorídrico na vazão de 1 ml/min verifica-se que para um tempo de 120 segundos as porcentagens de Al, Ca e Mg encontradas no efluente foram praticamente as mesmas (diferenças ao redor de 1%). Para o Fe, a eluição com ácido clorídrico foi superior em 5,5%. Resultados semelhantes foram obtidos para a vazão de 2,5 ml/min, com exceção da eluição do Fe pelo ácido clorídrico a qual foi superior em aproximadamente 10%.

De uma maneira geral, nota-se que a eluição com uma vazão de 1 ml/min, a partir de 60 segundos, foi ligeiramente superior à de 2,5 ml/min. Este resultado é coerente com as observações feitas por RIEMAN II e WALTON (1970) e MINCZEWSKI (1982) em suas publicações e KORKISCH (1986) em comunicação pessoal. De acordo com esses pesquisadores, quando se utiliza uma vazão menor (ao redor de 0,5 a 1,0 ml/min), o tempo de contato entre os íons da solução eluente e os adsorvidos à resina é maior, favorecendo o processo de troca iônica e conseqüentemente a eluição.

Através dos resultados obtidos, outros aspectos devem ser considerados: i) alguns autores (STRELOW, 1960 e STRELOW et alii, 1965), utilizando colunas de 20 a 40 cm de comprimento e 1,2 cm de diâmetro interno e eluindo os íons Ca (II), Mg (II) e Fe (III) (concentrações similares às presen-

temente empregadas) no mesmo sentido de sua preconcentração, dispenderam volumes de 80 a 150 ml de ácido clorídrico 4 N. No sistema proposto, com o uso de uma coluna de menores dimensões (9 cm de comprimento e 0,3 cm de diâmetro interno), diminuiu-se o volume morto ou intersticial, o que facilitou a adsorção do íon logo no início da coluna. Eluindo-se em sentido reverso (OLSEN et alii, 1983), os íons foram prontamente desalojados e, com apenas 2 ml de solução, conseguiu-se uma recuperação superior a 90% no efluente; ii) o ácido clorídrico nas concentrações de 2 a 4 N é um dos reagentes recomendados na literatura (STRELOW, 1959; FRITZ e KARRAKER, 1960; STRELOW, 1960; MINCZEWSKI, 1982) para a eluição de Al, Ca, Mg e principalmente Fe. Este íon forma com o ácido o complexo $FeCl_4^-$, que não é retido nas resinas catiônicas. Uma vez que a solução de cloreto de amônio apresentou uma eficiência de eluição similar à do ácido clorídrico, conclui-se que em ambas as situações ocorreu a formação do complexo, fato este não mencionado nas literaturas consultadas.

Com base nas considerações até aqui apresentadas, poder-se-ia recomendar o uso de qualquer uma das soluções como eluente. Contudo, de acordo com testes realizados preliminarmente, onde se empregou o ácido clorídrico como eluente, observaram-se significativas variações nas absorbâncias obtidas com solução de molibdênio ($40 \mu\text{g/l}$), na qual foram adicionadas quantidades crescentes de cátions (Ca, Mg, Na e K). Este efeito pode ser explicado devido aos seguintes motivos: i) desde que a resina se apresentava na forma ácida (H^+), na etapa de precon-

centração, os cátions adsorvidos deslocaram uma quantidade equivalente de íons hidrogênio, que foram coletados na alça de amostragem proporcionalmente à concentração iônica das soluções; ii) sendo o método sensível a flutuações do ácido do meio (como demonstrado em 5.1) variações na absorbância foram observadas.

Com o íon amônio, tais interferências não ocorreram, optando-se pela solução de cloreto de amônio 2 N como eluente a uma vazão de 1 ml/min. Considerando-se a frequência analítica do método, fixou-se o tempo de eluição em 60 segundos.

5.13. Precisão e Estabilidade

A precisão do método foi avaliada segundo procedimento descrito em 4.3.1.7. Desvios padrões relativos de medidas sucessivas das soluções padrão utilizadas foram inferiores a 2%. Os resultados mostrados na Figura 9 fornecem também uma indicação da precisão.

No teste de estabilidade, após 60 determinações, observou-se um acréscimo em torno de 10% nas absorbâncias das soluções padrão de molibdênio, indicando uma provável saturação da coluna de resina. Regenerando-se a coluna com cloreto de amônio 2 N por 10 minutos, não foram observadas quaisquer alterações nas absorbâncias das soluções em 40 determinações posteriores. Em amostras de digeridos vegetais não é comum a presença simultânea dos interferentes em suas concentrações máximas, entretanto, recomenda-se regenerar a coluna após 40 determina-

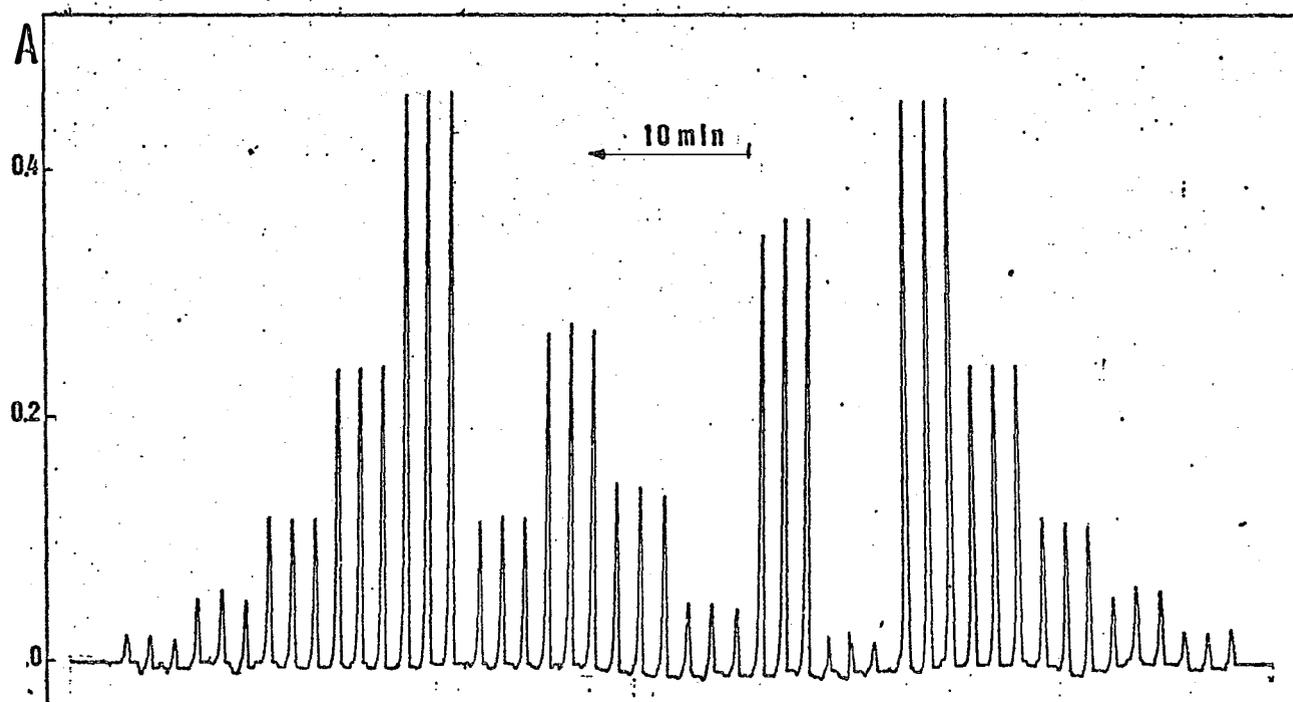


Figura 9 - Análise de rotina de digeridos vegetais. O sistema de injeção em fluxo empregado foi o da Figura 2, mantendo-se cloreto de amônio 0,15 N como solução carregadora da amostra. Da direita para a esquerda uma série de soluções padrão de molibdênio (2,5, 5,0, 10,0, 20,0 e 40,0 $\mu\text{g}/\text{l}$) seguida de amostras e as mesmas soluções padrão de molibdênio na ordem decrescente de concentrações. Todas as soluções foram injetadas em triplicata.

ções. Na linha básica do sistema, observou-se uma variação inferior a 5,0% durante o experimento.

Em análises de rotina, o uso de um injetor automático (BERGAMIN et alii, 1980) se faz necessário.

5.14. Exatidão

Os resultados contidos na Tabela 4 mostram que existe boa concordância entre o método proposto e a espectrometria de absorção atômica com forno de grafite. Ensaios de recuperação nas amostras apresentaram valores entre 92 e 106% (média de 100,7%), confirmando a boa exatidão do método. A frequência analítica pode ser observada na Figura 9 e se apresenta em torno de 40 determinações por hora.

Tabela 4 - Comparação dos resultados obtidos para a determinação de molibdênio em digeridos vegetais pelo método proposto e espectrometria de absorção atômica com forno de grafite. Amostras subsequentes foram analisadas somente pelo método proposto.

AMOSTRA (TECIDO FOLIAR)	mg Mo/l (MATÉRIA SECA)	
	MÉTODO PROPOSTO**	AAS COM FORNO DE GRAFITE***
Arroz	0,22	0,24
Feijão	1,97	2,03
Café	0,13	0,15
Soja	0,31	0,31
Composta*	0,05	0,06
Cana	1,01	-
Gramínea (pasto)	1,15	-
Gramínea (feno)	0,74	-
Forageira	0,71	-
Milho	0,53	-
Feijão + soja	1,03	-

* Mistura de frutíferas.

** Média de 6 determinações por amostra, sendo 3 determinações por repetição.

*** Média de 2 determinações por amostra.

6. CONCLUSÕES

a) O método espectrofotométrico catalítico, baseado na reação de oxidação do iodeto pelo peróxido de hidrogênio, em sistema de injeção em fluxo, empregando resina de troca iônica, pode ser utilizado para a determinação de molibdênio em tecidos vegetais.

b) Vantagens com relação aos métodos manuais referem-se principalmente à sensibilidade, velocidade analítica e simplicidade operacional.

c) O emprego da resina de troca iônica, Dowex 50W-X8, eliminou a interferência de ferro (III) e mostrou-se superior ao emprego de fluoreto de amônio. Em associação com cloreto de amônio 0,15 N como solução carregadora da amostra, eliminou a interferência da concentração iônica das amostras.

d) As interferências de cromo, titânio, tungstênio e vanádio não foram observadas. A interferência de fosfato foi eliminada adicionando-se o reagente peróxido de hidrogênio em ácido clorídrico 0,15 N antes do iodeto de potássio no sistema proposto.

e) Um tempo de 60 segundos foi suficiente para eluir uma quantidade superior a 80% dos cátions previamente retidos na resina. Em análises de rotina, após 40 determinações, deve-se regenerar a resina por 10 minutos. O ácido clorídrico como eluente mostrou-se incompatível com o método proposto.

f) Para a faixa de concentração de 1 a 100 $\mu\text{g Mo/l}$, a lei de Beer foi obedecida. A velocidade analítica foi de aproximadamente 40 determinações por hora, com uma precisão superior a 98% e concordante à espectrometria de absorção atômica com forno de grafite. Concentrações inferiores a 1,0 $\mu\text{g/l}$ podem ser determinadas após aumento do volume da alça de amostragem.

g) As concentrações dos reagentes, pH e parâmetros do sistema de injeção em fluxo (diagrama da Figura 2), foram definidos como se segue: solução carregadora da amostra, cloreto de amônio 0,15 N, fluindo a 3,2 ml/min; peróxido de hidrogênio 0,02% v/v em ácido clorídrico 0,15 N, fluindo a 0,6 ml/min; iodeto de potássio 4% m/v, fluindo a 0,8 ml/min; pH final de reação de 1,90; reatores helicoidais de mistura e reação de 40 e 200 cm respectivamente; volume da alça de amostragem de 500 μl ; coluna de resina de 9,0 cm de comprimento e 0,3 cm de diâmetro interno, onde preconcentrou-se as amostras a uma vazão de 1,6 ml/min por um período de 60 segundos; solução eluente, cloreto de amônio 2 N, fluindo a 1 ml/min durante 60 segundos.

7. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- ALEKSEEVA, I.I.; RUZINOV, L.P.; KHACHATURYAN, E.G.;
CHERNYSHOVA, L.M. - Kinetic determination of molybdenum
(VI) and tungsten (VI) in each other's presence. Zhur.
Anal. Khim., Moscow, 35(1): 60 - 63, 1980.
- AMBERSON, J.A. & SVEHLA, G. - Catalytic determination of
molybdenum with improved sensitivity by means of the
hydrogen peroxide-iodide-ascorbic acid Landolt reaction.
Anal. Chim. Acta, Amsterdam, 178: 255 - 261, 1985.
- BERGAMIN FILHO, H.; ZAGATTO, E.A.G.; KRUG, F.J.; REIS, B.F.-
Merging zones in flow injection analysis. Part 1. Double
proportional injector and reagent consumption. Anal. Chim.
Acta, Amsterdam, 101: 17 - 23, 1978.
- BERGAMIN FILHO, H.; REIS, B.F.; JACINTO, A.O.; ZAGATTO, E.A. G.
- Ion exchange in flow injection analysis. Determination of
ammonium ions at the ug/l level in natural waters with
pulsed Nessler reagent. Anal. Chim. Acta, Amsterdam, 117:
81 - 89, 1980.
- BETTERIDGE, D. & FIELDS, B. - Construction of pH gradients in
flow injection analysis and their potential use for
multielement analysis in a single sample bolus. Anal.
Chem., Washington, 50: 654 - 656, 1978.
- BOURBON, P.; ESCLASSAM, J.; VANDAELE, J. - Determination of
molybdenum traces by differential pulse polarography of
hydroxyquinoline-molybdenum Analisis, Paris,

11(17): 341 - 344, 1983.

BRADFIELD, E.G. & STICKLAND, J.F. The determination of molybdenum in plants by automated catalytic method. Analyst, London, 100: 1 - 6, 1975.

BRAITHWAITE, K. & HOBSON, J.D. - An automatic analytical procedure for the colorimetric determination of molybdenum in steel. Analyst, London, 93: 633 - 637, 1968.

CHAN, K.M. & RYLEY, J.P. - The determination of molybdenum in natural waters, silicates and biological materials. Anal. Chim. Acta, Amsterdam, 36: 220 - 229, 1966.

CHATELET-CUZIN, A.M.; ECREMENT, F.; DURAND, G. - Polarographic determination of molybdenum in plants. Analisis, Paris, 9(9): 433 - 440, 1981.

DICKSON, E.L. & SVEHLA, G. - Determination of molybdenum by the catalysed peroxyacetic acid-iodide-ascorbic acid reaction. Anal. Chim. Acta, Amsterdam, 139: 117 - 126, 1982.

EIVAZI, F.; SIMS, J.L.; CRUTCHFIELD, J. - Determination of molybdenum in plant materials using a rapid, automated method. Comm. Soil Sci. Plant Anal., New York, 13(2): 135 - 150, 1982.

EVANS, H.J. - Role of molybdenum in plant nutrition. Soil Sci. Soc. Amer. Proc., Madison, 81(13): 199 - 208, 1956.

FRITZ, S.J. & KARRAKER, S.K. - Ion exchange separation of metal cations. Anal. Chem., Washington, 37(8): 957 - 960, 1960.

FUGE, R. - An automated method for the determination of

- molybdenum in geological and biological samples. Analyst, London, 95: 171 - 176, 1970.
- GAUCH, H.G. - Inorganic plant nutrition. Stroudsburg, Dowden, Houtchinson e Ross, 1972, 488 p.
- GLORIA, N.A. - Sobre uma modificação na determinação de molibdênio em plantas. An. Esc. Sup. Luiz de Queiroz. Piracicaba, 20: 3 - 12, 1963.
- GLORIA, N.A. - O método colorimétrico do ditiol na determinação de molibdênio. Piracicaba, 1964. 109 p. (Doutorado - Escola Superior de Agricultura "Luiz de Queiroz" - USP).
- HADJIIOANNOU, T.P. - Microdetermination of molybdenum by an automatic reaction rate method. Anal. Chim. Acta, Amsterdam, 35: 360 - 364, 1966.
- HEWITT, E.J. & McCREADY, C.C. - Relation of nitrogen supply to the molybdenum requirement of tomato plants grown in sand culture. Nature, Hants, 174: 186 - 187, 1954.
- HOAGLAND, D.R. - Molybdenum in relation to plant growth. Soil Sci., Baltimore, 60: 119 - 123, 1945.
- HOPE, R.P. - Colorimetric determination of molybdenum in sheelite ores and concentrates. Anal. Chem., Washington, 29(7): 1053 - 1055, 1957.
- HURD, L.C. & ALLEN, H.O. - Colorimetric determination of molybdenum: A study of variables involved. Ind. Eng. Chem., Washington, 7(6): 396 - 398, 1935.
- JOHNSON, C.M. & ARKLEY, T.H. - Determination of molybdenum in plant tissue. Anal. Chem., Washington, 26: 572 - 573, 1954.
- KHAN, S.; CLOUTIER, R.; HIDIROGLOU, M. - Atomic absorption

- spectroscopic determination of molybdenum in plant tissue and blood plasma. J. Assoc. Off. Anal. Chem., Arlington, 12: 348 - 351, 1979.
- KORKISCH, J. - (Universidade de Viena). Comunicação Pessoal. 1986.
- KRESHKOV, A.P. & YAROSLAVTSEV, A.A. - Course of analytical chemistry. Moscou, Mir, 1977, v. I.
- KRUG, F.J.; BAHIA FILHO, O.; ZAGATTO, E.A.G. - Determination of molybdenum in steels by flow injection spectrophotometry. Anal. Chim. Acta, Amsterdam, 161: 245 - 255, 1984.
- LOUNAMAA, N. - The absorptiometric determination of molybdenum as molybdenum (V) thiocyanate in steel. Anal. Chim. Acta, Amsterdam, 33: 21 - 35, 1965.
- LYONS, D.J. & ROOPAYEL, R.L. - Determination of molybdenum in plant material using inductively coupled plasma emission spectroscopy. Analyst, London, 107 (1272): 331 - 335, 1982.
- MAHR, M.H. & FUNGOR, E. - Determination of molybdenum with flow type automatic analysis. Kemia-Kemi, Budapest, 10: 585 - 587, 1980.
- MALAVOLTA, E. - Elementos de nutrição mineral de plantas. São Paulo, Ceres, 1980, 251 p.
- MARCZENKO, Z. - Spectrophotometric determination of elements. Chichester, Ellis Horwood, 1976, 643 p.
- MARTON, L. & NIMARA, A. - Polarographic determination of molybdenum (VI). Rev. Chim., Bucharest, 35(5): 447 - 449, 1984.
- MEDEIROS, J.X. - Determinação de molibdênio em material de

plantas por extração com solventes em fluxo contínuo. Piracicaba, 1979. 104 p. (Mestrado - Escola Superior de Agricultura "Luiz de Queiroz" - USP).

MENGEL, K. & KIRKBY, E.A. - Principles of plant nutrition. Bern. De. Bund, 1978, 592 p.

MINCZEWSKI, J.; CHWASTOWSKA, J.; DYBCZYNSKI, R.- Separation and preconcentration methods in inorganic trace analysis. Chichester, Ellis Horwood, 1982, 543 p.

MULLER, H. - Catalymetric methods of analysis. CRC Critical Reviews in Analytical Chemistry, Palm Beach, 12: 313 - 372, 1982.

NEUMAN, D.R. & MUNSHOVER, F.F. - Rapid determination of molybdenum in botanical material by electrothermal atomic absorption spectrometry. Anal. Chim. Acta, Amsterdam, 123: 325 - 328, 1981.

OLSEN, S.; PESSEDA, L.C.R.; RUZICKA, J.; HANSEN, E.H. - combination of flow injection analysis with flame atomic absorption spectrometry: detemination of trace amounts of heavy metals in polluted sea water. Analyst, London, 108: 905 - 917, 1983.

PESSEDA, L.C.R.; JACINTHO, A.O.; KRUG, F.J. - Determinação espectrofotométrica de baixas concentrações de fosfato em águas naturais, através da preconcentração em resina de troca iônica em sistema de injeção em fluxo. Energia Nuclear e Agricultura, Piracicaba, 5(2): 115 - 144, 1983.

PURVIS, E.R. & PETERSON, N.K. - Methods of soil and plant analysis for molybdenum. Soil Sc. Soc. Amer. Proc.,

Madison, 81(3): 223 - 228, 1956.

QUIN, B.F. & BROOKS, R.R. - The rapid colorimetric determination of molybdenum with dithiol in biological, geochemical and steel samples. Anal. Chim. Acta, Amsterdam, 74: 75 - 84, 1975.

QUIN, B.F. & WOODS, P.H. - Automated catalytic method for the routine determination of molybdenum in plant materials. Analyst, London, 104: 552 - 559, 1979.

RIEMAN III, W. & WALTON, H.F. - Ion exchange in analytical chemistry. Oxford, Pergamon Press, 1970, 294 p.

RUZICKA, J. & HANSEN, E.H. - The concept of a new, simple, ultrafast continuous flow analyser. Part I. Anal. Chim. Acta, Amsterdam, 78: 145 - 157, 1975.

RUZICKA, J. & HANSEN, E.N. - Flow injection analysis. New York, John Wiley, 1981, 207 p.

SAMUELSON, O. - Ion exchange separation in analytical chemistry. New York, John Wiley, 1963, 291 p.

SILVA, M.E.M.S. - A selective method for the determination of molybdenum using toluene-3,4 dithiol. Analyst, London, 100: 517 - 521, 1975.

SNELL, F.D. & SNELL, C.T. - Colorimetric methods of analysis. New York, Van Nostrand, 1949, v. II.

SPIERS, G.A.; DUDAS, M.J.; HODGINS, L.W. - Conditions and procedure for multielement analysis of soils and plant tissue by ICP-AES. Comm. Soil Sci. Plant Anal., New York, 14(7): 629 - 644, 1983.

STRELOW, F.W.E. - Separation of thorium from rare earths,

- zirconium, and other elements. by cation exchange chromatography. Anal. Chem., Washington, 31: 1201 - 1204, 1959.
- STRELOW, F.W.E. An ion exchange selectivity scale of cations based on equilibrium distribution coefficients. Anal. Chem., Washington, 32(9): 1185 - 1188, 1960.
- STRELOW, F.W.E., RETHEMEYER, R.; BOTHMA, C.J.C. - Ion exchange selectivity scales for cations in nitric acid and sulfuric acid media with a sulfonated polystyrene resin. Anal. Chem., Washington, 37(1): 106 - 110, 1965.
- STUDNICKI, M. - Matrix effects in the determination of molybdenum in plants by carbon furnace atomic absorption spectrometry. Anal. Chem., Washington, 51(8): 1336 - 1338, 1979.
- UNDERWOOD, E.J. - Trace elements in human and animal nutrition. 4 ed. New York, Academic Press, 1977, 1333 p.
- VALCARCEL, M. & CASTRO, M.D.L. - Analisis por inyección en flujo. Cordoba-Espana, Imprenta São Pablo, 1984, 450 p.
- YATSIMIRSKII, K.B. & AFANAS'ÉVA, L.P. - Kinetic methods of quantitative analysis. Determination of small amounts of molybdenum. Zhur. Anal. Khim., Moscow, 11: 319 - 322, 1956.
- YATSIMIRSKII, K.B. - The use of catalytic reactions involving hydrogen peroxide in the study of the formation of complexes and in the development of very sensitive analytical methods. In: Catalytic and chemical kinetics. Moscow, Naukou Techniczne, 1964, p. 201 - 206.
- ZHAO-LUN, F. & SHU-KUN, X. - Determination of molybdenum at

$\mu\text{g/l}$ levels by catalytic spectrophotometric flow injection analysis. Anal. Chim. Acta, Amsterdam, 145: 143 - 150, 1983.