

**ESTUDOS SOBRE A DETERMINAÇÃO ESPECTROFOTOMÉ-
TRICA DE COBALTO EM SISTEMAS POR INJEÇÃO EM
FLUXO EMPREGANDO SAL DE NITROSO-R**

MARCIA MARTINELLI

Orientador: Prof. ELIAS AYRES GUIDETTI ZAGATTO

Dissertação apresentada à Escola Superior de Agricultura "Luiz de Queiroz", da Universidade de São Paulo, para obtenção do título de Mestre em Agronomia. Área de Concentração: Energia Nuclear na Agricultura.

PIRACICABA
Estado de São Paulo - Brasil
Agosto - 1986

A minha mãe

A Bruna e ao Zeca,

com carinho.

AGRADECIMENTOS

Ao Professor Dr. Elias Ayres Guidetti Zagatto, pelas sugestões e orientação.

Ao Prof. Dr. Henrique Bergamin Filho e Dr. Francisco José Krug, e à seção de Radioquímica e Química Analítica do Centro de Energia Nuclear na Agricultura, pela confiança depositada, amizade e empenho para a realização deste trabalho.

Ao CNPq e a FAPESP, pelo apoio financeiro.

SUMÁRIO

	Página
RESUMO	ix
SUMMARY	xi
1. INTRODUÇÃO	01
2. REVISÃO DE LITERATURA	03
3. MATERIAL	15
3.1. Instrumentos	15
3.2. Amostras	16
3.2.1. Ligas metálicas	16
3.2.2. Suplementos minerais	17
3.2.3. Material vegetal	18
3.3. Soluções	18
3.4. Resina	22
3.4.1. Especificações	22
3.4.2. Condicionamento	22
4. MÉTODO	24
4.1. Avaliação das condições de reação	24
4.2. Determinação de cobalto em ligas metálicas	28
4.3. Determinação de cobalto em suplemento mineral	32
4.4. Determinação de cobalto em material vegetal	36
4.4.1. Procedimentos para concentração em resina através do sistema FIA	36
4.4.2. Sistema FIA para o estudo do comportamento da resina	40
4.4.3. Sistema FIA espectrofotométrico empregando a resina Chelex-100	42

	Página
5. RESULTADOS E DISCUSSÃO	45
5.1. Avaliação das condições de reação do Nitro <u>so</u> -R	45
5.2. Determinação de cobalto em ligas metálicas.	53
5.3. Determinação de cobalto em suplemento mine- ral	56
5.4. Determinação de cobalto em material vege- tal	61
5.4.1. Posicionamento da resina	61
5.4.2. Comportamento da resina	62
5.4.3. Sistema FIA espectrofotométrico em- pregando a resina Chelex-100	65
6. CONCLUSÕES	69
LITERATURA CITADA	71

LISTA DE FIGURAS

FIGURA Nº		Página
01	Diagrama de fluxos dos sistema FIA utilizado para avaliação das condições de reação envolvendo o Nitroso-R	26
02	Diagrama de fluxos do sistema FIA utilizado para a análise de cobalto em ligas metálicas	29
03	Diagrama de fluxos do sistema FIA utilizado para análise de cobalto em suplementos minerais	33
04	Diagrama de fluxos do sistema FIA utilizado para o estudo do posicionamento da coluna. Volume de amostra definido por alça de amostragem	38
05	Diagrama de fluxos do sistema FIA utilizado para o estudo do posicionamento da coluna. Injeção por tempo	39
06	Diagrama de fluxos do sistema FIA utilizado para o estudo do comportamento da resina	41
07	Diagrama de fluxos do sistema FIA espectrofotométrico empregando a resina Chellex-100	43
08	Influência do pH de reação	46

FIGURA Nº		Página
09	Influência da natureza das soluções tam pão	47
10	Influência do comprimento do reator Bl.	49
11	Efeito da adição de interferentes	50
12	Efeito da concentração do ácido em H ..	52
13	Registro típico de análise de rotina de ligas metálicas	54
14	Registro típico de análise de rotina de suplementos minerais	58

LISTA DE TABELAS

TABELA Nº		Página
01	Constituição das soluções padrão estoque	19
02	Comparação de procedimentos para a determinação de cobalto em ligas metálicas	55
03	Comparação de procedimentos para a determinação de cobalto em suplementos minerais	59
04	Concentração de alguns elementos em amostras típicas	60
05	Dados referentes a recuperação de cobalto em amostras de materiais vegetais ..	67
06	Concentração de alguns elementos em amostras típicas de material vegetal	68

ESTUDOS SOBRE A DETERMINAÇÃO ESPECTROFOTOMÉTRICA DE COBALTO
EM SISTEMAS POR INJEÇÃO EM FLUXO EMPREGANDO SAL DE NITROSO-R

Autora: MÁRCIA MARTINELLI

Orientador: Prof. ELIAS A.G. ZAGATTO

RESUMO

Foram estudadas as principais variáveis relacionadas a automação, em sistemas FIA, do método espectrofotométrico para a determinação de cobalto empregando o reagente Nitroso-R. Observou-se que: a lei de Beer é sempre obedecida; a reação de complexação de cobalto é rápida o suficiente para que sua complexação seja praticamente atingida durante o tempo de residência da amostra no reator de reação; o pH de reação e a concentração do reagente não são críticos, viabilizando a injeção da amostra no fluxo reagente em sistemas FIA caracterizados por alta dispersão; as reações de complexação envolvendo alguns íons interferentes não se completam, a automação do procedimento resultando em melhoria de seletividade; mascaramento eficiente é obtido empregando-se citrato de amônio; destruição quase quantitativa dos complexos interferentes é atingida, à temperatura ambiente pela adição de solução 6N de HNO_3 ou HCl escoando a vazão igual àquela do fluxo carregador.

Um sistema simples e estável empregando amostragem na zona dispersa, e consumindo apenas 3,75 mg de Nitroso-R por amostra, foi proposto para a determinação de cobalto em ligas metálicas na faixa de 1 a 15% m/m. Sem diluição prévia, 80 amostras podem ser analisadas por hora, os resultados sendo bastante precisos (r.s.d. em geral menor que 2%) e concordantes com aqueles obtidos por ICP-AES.

Para análise de suplementos minerais, um sistema empregando uma variação do processo de injeção - sequencial foi proposto, o que fornece, para cada amostra, três sinais analíticos, referentes a faixas de concentrações diferentes. As características analíticas favoráveis inerentes aos sistemas FIA são mantidas, os resultados sendo concordantes com aqueles obtidos por ICP-AES.

Visando pré-concentração e eventual separação do cobalto, o comportamento da resina quelante Chelex-100 em sistemas FIA-AAS e FIA-espectrofotométricos foi estudado. Boas condições de estabilidade, linearidade, sensibilidade e reprodutibilidade foram atingidas, porém efeitos interferentes restringiram a proposta de um sistema FIA para a análise de material vegetal. Vantagens e limitações são discutidas, e sugestões para pesquisas futuras são fornecidas.

ON THE SPECTROPHOTOMETRIC FLOW INJECTION DETERMINATION OF
COBALT EMPLOYING THE NITROSO-R SALT

Author: MÁRCIA MARTINELLI

Adviser: Prof. Dr. ELIAS A.G. ZAGATTO

SUMMARY

The main variables related to the automation of the Nitroso-R method for cobalt determination in FIA systems were studied. It was noticed that: Beer's law is always followed; the cobalt complexation reaction was fast enough to permit its full completion within the mean sample residence time inside the reaction coil; the pH of reaction and reagent concentration are not critical so that, for large dispersion FIA system, the sample injection into the reagent stream is feasible; the complexation of some interfering ions do not achieve completion, the automating leading to an improvement in selectivity; efficient masking is obtained by using ammonium citrate; an almost quantitative vanishment of the interfering coloured species is obtained, at room temperature, by adding a 6 N HNO_3 or HCl solution streamed at a flow rate similar of the sample carrier stream flow rate.

A simple and stable system involving zone sampling and requiring only 3.75 mg per sample, was proposed

for the cobalt determination in alloys, in the range 1 -15% w/w. Without prior sample dilution, 80 samples can be analysed per hour, precise (r.s.d. usually less than 2%) and accurate (agreement with ICP-AES) results being obtained.

A FIA system with variation of the sequential-injection process was proposed for analysing mineral supplement. For each assayed sample, it provides three analytical signals corresponding to different concentration ranges. The favorable analytical characteristics inherent to flow injection analysis are maintained, the results being in good agreement with those obtained by ICP-AES.

For cobalt concentration and separation, the behavior of the chelating resin Chelex-100, in FIA-AAS and FIA-spectrophotometric systems was studied. In spite of the favourable conditions of stability, linearity, sensitivity and reproducibility, the proposal of a FIA system for determining cobalt in plant material was restricted by interfering effects. Advantages and limitations are discussed, suggestions for future work being given.

1. INTRODUÇÃO

A necessidade de resultados rápidos de análise química têm promovido a automação de inúmeros procedimentos analíticos. Além disto, características favoráveis de precisão, e consumo de reagentes são inerentes aos sistemas automatizados de análise, na maioria das vezes superando a metodologia convencional. Dentre os sistemas automatizados de análise destacam-se aqueles empregando injeção em fluxo, FIA*, propostos original e independentemente por RUZICKA e HANSEN (1975) e STEWART et alii (1976). O potencial analítico do sistema FIA é descrito por RUZICKA e HANSEN (1981) e VALCARCEL e CASTRO (1984), sua aplicabilidade tendo sido recentemente enfatizada (RUZICKA e HANSEN, 1986).

Reveste-se de particular importância o emprego do sistema FIA quando os teores das espécies químicas de interesse encontram-se em altas concentrações, requerendo prévia diluição e também quando os teores dos anali-

* FIA, do inglês **Flow Injection Analysis**

tos encontram-se em baixas concentrações, situação esta onde a susceptibilidade a interferências tende a se intensificar.

A proposta deste trabalho é o de desenvolver sistemas FIA simples para determinação de cobalto, empregando injeção em fluxo e espectrofotometria baseado na reação do cobalto com o reagente Nitroso-R. Tais sistemas se constituem em uma alternativa adequada as nossas condições, em substituição a técnicas sofisticadas envolvendo instrumentação cara tais como espectrometria de absorção atômica convencional ou empregando forno de grafite (FLORENCE e BATLEY, 1975; KINGSTON et alii, 1978), análise por ativação neutrônica (LEE et alii, 1977), diluição isotópica substequimétrica (LANDGREBE et alii, 1965) entre outras.

Neste trabalho, um sistema FIA promovendo altas diluições é sugerido para a análise de ligas metálicas; a automação das diluições minimiza o fator erro, seja este devido a falhas humanas ou a deficiência material. A versatilidade de FIA é demonstrado na análise de suplementos minerais, os quais apresentam alta variabilidade nos teores de cobalto; o sistema proposto, envolvendo processo de injeção sequencial, permite que o método colorimétrico abranja ampla faixa de concentrações. Finalmente, em se tratando de análise de material vegetal, pré-concentração é requerida; um sistema FIA empregando troca iônica é discutido.

2. REVISÃO DE LITERATURA

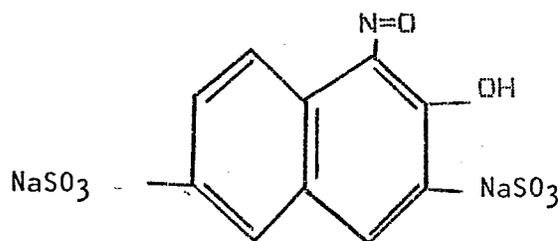
Dificuldades com sensibilidade e seletividade na determinação de cobalto tem provocado a investigação de diversos procedimentos nos métodos analíticos convencionais, tornando alguns demasiadamente complexos e inviabilizando outros.

Espectrometria de absorção atômica convencional (FANG et alii, 1984b; FLORENCE e BATLEY, 1975) ou empregando forno de grafite (KINGSTON et alii, 1978), análise por ativação neutrônica (LEE et alii, 1977), fluorescência de raios X (ELLIS et alii, 1982; Van GRIEKEN et alii, 1977) e outras técnicas, tem sido usadas. Diluição isotópica foi empregada por LANDGREBE et alii (1965). Métodos catalíticos (MUELLER, 1982) e quimioluminescentes (YAMADA et alii, 1983) tem sido também investigados.

Dentre o grande número de reagentes orgânicos empregados em espectrofotometria, os compostos do grupo nitrohidroxil tem sido utilizados para a determinação de cobalto

(KOLTHOFF et alii, 1962). Deste grupo, fazem parte o 1-nitroso-1-naftol e o sal dissódico do ácido 2 hidroxí-1 nitroso 3,6-naftalenodissulfônico, este último mais conhecido por sal de Nitroso-R, ou simplesmente Nitroso-R.

Em 1921, Van KLOOSTER reportou o sal Nitroso-R como um novo reagente para cobalto e demonstrou a sensibilidade do reagente para este cátion, mesmo em presença de excesso de níquel e de outros metais. O Nitroso-R tem como fórmula estrutural:



e apresenta-se na forma de cristais de cor amarelo ouro. Uma das grandes vantagens desse sal é a sua boa estabilidade quando protegido da luz; outra, a sua solubilidade em água a 18°C. Segundo Van KLOOSTER (1921), a sua solução aquosa é estável por um ano ou mais. Como a solução aquosa do Nitroso-R é amarelada, a remoção do excesso de reagente imediatamente antes da medida espectrofotométrica é frequentemente recomendada (KOLTHOFF et alii, 1962). Em metalurgia, grande parte das determinações do cobalto foram conduzidas empregando o Nitroso-R (YOUNG et alii, 1946; BEEGHLY et alii, 1963).

A medida de absorvância da solução do complexo pode ser realizada a 415-425 nm ou a 500-520 nm; nesta últi-

ma situação, a relação entre absorbâncias relativas ao complexo cobalto-Nitroso-R e ao Nitroso-R é favorecida, em que pese a diminuição do sinal analítico, porque a cor própria do reagente limita menos a medida. Isto foi comentado por CLAASSEN e WESTERVELD (1948); SHIPMAN et alii (1955); SHIPMAN e LAI (1956) e MARCZENKO (1976).

Com relação ao pH para o desenvolvimento da reação, McNAUGHT (1942) discutiu os resultados obtidos por MARSTON e DEWEY (1940) e mencionou a conveniência de utilizar a faixa de pH de 5 a 6 em meio acetato de sódio. OVENSTON e PARKER (1950) realizaram estudos sobre o efeito do pH na cinética de formação do complexo cobalto-Nitroso-R, apoiando-se também no trabalho de MARSTON e DEWEY (1940), os quais compararam alguns complexantes sob diferentes condições de pH.

A interferência causada pelos diversos íons tais como ferro, níquel, cobre e zinco, entre outros, foi discutida pela maioria dos autores citados. No entanto, não foram considerados como fatores limitantes, devido ao uso de brometo e amônia para níquel II (OVENSTON e PARKER, 1950); fluoreto de potássio para cério IV, cromo III, cromo VI e níquel II; brometo para vanádio IV e estanho II, além do excesso de Nitroso-R para cobre II (KOLTHOFF et alii, 1962) ou mesmo fosfato ou fluoreto para ferro III (MARCZENKO, 1976). Em geral, a adição de oxidante concentrado e alguns minutos de fervura para diminuição das interferências tem sido empregadas após as reações de complexação. Apenas o complexo formado com o cobalto não é destruído em função de sua boa estabilidade (MARCZENKO, 1976).

Para a separação e concentração do cobalto, troca iônica e extração por solventes tem sido frequentemente empregadas, precedendo a reação com o Nitroso-R (MARCZENKO, 1976). Recentemente, STELLA et alii (1985) propuseram, para concentração e separação do cobalto, uma resina contendo sítios ativos constituídos do próprio Nitroso.R. Entretanto, através de correspondência, os autores desencorajaram a aplicação desta resina em larga escala em virtude, principalmente, de sua estabilidade inadequada.

No levantamento bibliográfico conduzido preliminarmente, observou-se a inconcistência de informações relativas as técnicas manuais de separação, concentração e determinação do cobalto. Evidentemente, a necessidade de um grande número de procedimentos envolvendo sempre diversas etapas em um procedimento analítico, além de restringir à sua aplicabilidade a análises de rotina, certamente é associada ao fator propagação de erros (KOLTHOFF et alii, 1962).

No tocante à análises automatizadas em fluxo contínuo, ROZICKA e HANSEN propuseram em 1975 os primeiros sistemas FIA em linha única. Nestes sistemas, a amostra é injetada num fluído carregador reagente, interagindo com esta a medida em que é conduzida ao detector. O processo de dispersão da zona da amostra controla a interação amostra-reagente. No entanto, conforme BERGAMIN F? et alii (1978a), um sistema que apresen-

te esta condição de modo perfeito é de difícil obtenção, já que o aproveitamento do reagente é deficiente pela diluição deste causada pela zona de amostra e pelo tempo requerido para a interação de ambos na porção central da zona de amostra. Mesmo que o volume de amostra injetado seja muito pequeno, é inevitável o aparecimento de gradientes de concentração, em geral indesejáveis (BERGAMIN F^o et alii, 1978a), porém às vezes explorados benéficamente (BETTERIDGE e FIELDS, 1981; BABAN et alii, 1980; REIS et alii, 1981). Sendo assim, sua utilização se restringe a métodos em que a sensibilidade não é fator limitante, ou que não requerem a dispersão da amostra ou adição de reagentes, segundo Jacintho et alii (1981) e Attiyat e Christian (1984), citados por KRUG (1984).

BERGAMIN F^o et alii (1978a) propuseram os sistemas em confluência, nos quais a amostra é introduzida num carregador quimicamente inerte e os reagentes, adicionados através de pontos de confluência. Nestes, os gradientes de concentrações indesejados são evitados, e aumento da sensibilidade analítica é obtido, já que qualquer volume de amostra pode ser injetado. Outras propostas foram surgindo visando minimizar o consumo de reagentes (KRUG et alii, 1981), avaliar o compromisso sensibilidade e velocidade analítica através de fluxos intermitentes (RUZICKA e HANSEN, 1980), favorecer a melhor interação amostra-reagente com aprisionamento da amostra (KRUG et alii, 1983) e "stopped-flow" (RUZICKA e HANSEN, 1980) e, amostrar a zona dispersa (REIS et alii, 1981) para

selecionar diferentes graus de dispersão. Em todos os casos, ótima reprodutibilidade foi verificada.

A amostragem na zona dispersa, proposta por REIS et alii (1981), se constitui em uma das melhores alternativas para obtenção de dispersão grande (RUZICKA e HANSEN, 1981) de maneira controlada, tendo sido também empregada em determinações simultâneas (ZAGATTO et alii, 1981), em conexão com o método das adições padrão (GINÉ et alii, 1983), em estudos de interferências (GINÉ, 1986), entre outros. Recentemente, ZAGATTO (1986) obteve imagens da zona da amostra com auxílio deste processo. Em sistemas com reamostragem na zona dispersa, a amostra é injetada em um primeiro fluxo carregador, sofrendo dispersão a medida em que é transportada em direção a um segundo amostrador, o qual seleciona uma fração da zona dispersa a ser posteriormente amostrada, introduzida em segundo fluxo carregador, dispersada e quantificada. A porção a ser reamostrada é definida em função do dimensionamento da porção do módulo de análise associado do primeiro fluxo carregador, da dimensão do segundo amostrador e do tempo entre as injeções. Considerações sobre a reprodutibilidade dos sinais associados as diferentes regiões da zona dispersa foram feitas por REIS et alii (1981); GINÉ et alii (1983); ZAGATTO et alii (1985); ZAGATTO (1986), que enfatizaram a melhor precisão das medidas referentes a região central da zona de amostra, na qual os gradientes de concentração são menos intensos. Esta observação foi confirmada em 1986 por GISIN e THOMMEN.

Na injeção sequencial-simultânea envolvendo comutação, proposta por ZAGATTO et alii (1985), duas alças de amostragem preenchidas pela amostra são comutadas simultaneamente, originando-se duas zonas de amostra separadas entre si por um reator de retardo. A medida em que estas zonas são transportadas em direção ao detector, ocorre uma sobreposição proposital entre ambas, de forma que uma zona sobreposta* atinge o detector. São aproveitados como sinais analíticos apenas aqueles correspondendo aos máximos e mínimos da função concentração-tempo monitorada, os quais são mais reprodutíveis (ZAGATTO et alii, 1985) por se referirem a regiões da zona dispersa apresentando gradientes de concentração menos intensos. Este procedimento foi empregado objetivando análise de lotes de amostra com alta variabilidade nos teores do analito.

Independentemente do sistema empregado, torna-se particularmente útil considerar alguns parâmetros de trabalho como tipo de injeção em função do volume de amostra injetado e das características do sistema.

Em sistemas onde o procedimento de injeção da amostra é baseado em alça de amostragem, esta é que define o volume injetado. Este procedimento é bem definido e particularmente reprodutível (VALCARCEL e CASTRO, 1984). O procedimento de injeção por alça de amostragem envolvendo comutador foi descrito por BERGAMIN Fº et alii (1978b). A zona da

* do inglês **overlapped zone**

amostra estabelecida sofre contínua dispersão pelo próprio deslocamento até a célula de fluxo, quando em linha única, e ainda pela adição de reagentes confluentes. A frequência analítica é compatível com o dimensionamento de sistema e com o nível de sobreposição entre uma amostra e outra. A injeção baseada em alça é mais efetiva quando pequenos volumes são empregados (KRUG et alii, 1986). O aumento do volume injetado, enfatizando a tendência a volume "infinito", implica na diminuição da taxa de amostragem (ZAGATTO, 1986). Uma das vantagens deste procedimento de injeção é poder ser realizado sem controle de tempo.

Alternativamente, em sistemas onde o volume de amostra é proporcional ao tempo de injeção, comutador com operação automática (BERGAMINI F. et alii, 1980) é imprescindível para a reprodutibilidade do sinal analítico (KRUG et alii, 1986). Neste procedimento de injeção (ALEXANDER e THALIB, 1983; JØRGENSEN et alii, 1985), em uma posição do comutador a amostra é introduzida no percurso analítico substituindo temporariamente a solução carregadora. Se este tempo for relativamente longo, uma situação semelhante a do volume "infinito" é caracterizada, atingindo-se um estado estacionário. Na outra posição, é procedida a troca de amostras e a lavagem do percurso analítico. O emprego de injeção por tempo é recomendado para grandes volumes de amostra, conforme KRUG et alii (1981). Para pequenos volumes, pode haver limitação quanto a reprodutibilidade, particularmente quando for pequeno o tempo para injeção e as taxas de fluxo, muito altas (KRUG et alii, 1986).

Antes da incorporação de resina de troca iônica em sistemas FIA, diversos tipos de resina já haviam sido empregadas em métodos convencionais de análise. Dentre elas, a resina quelante Chelex-100 tem sido empregada para concentração de metais traços, inclusive cobalto, em água do mar a serem determinados por espectrometria de absorção atômica, ASS (LAMATHE, 1979), por ativação neutrônica (LEE et alii, 1977), por AAS com forno de grafite e por emissão atômica, ICP (BONIFORTI, 1984), entre outros.

Segundo MALAMAS et alii (1984), numerosos trabalhos reportam o uso de resinas quelantes para pré-concentração de íons metálicos em diversos materiais. Resinas quelantes tem se mostrado particularmente promissoras em função das seletividades favoráveis para um grande número de metais. Estes autores comentam, ainda, a estabilidade dos complexos, enfatizando que a Chelex-100 é uma das resinas comercialmente disponíveis mais utilizadas.

Em 1980, BERGAMIN F^o et alii incorporaram no sistema FIA, pela primeira vez, uma coluna contendo resina de troca iônica. Neste trabalho, a amostragem era realizada com a coluna com resina de troca iônica Amberlite IR-120, empregando para isso, injetor proporcional operado eletronicamente. Aqui a própria coluna era considerada como alça de amostragem.

OLSEN et alii (1983); FANG et alii (1984a), empregando resinas em sistemas FIA, demonstraram que preconcen-

tração com trocadores iônicos são efetivos para aumentar a sensibilidade em AAS e para remover interferentes. Realizaram comparação entre as resinas Chelex-100 na forma sódica; uma com base em ^P quinolinol e outra com base em formaldeído-formol, contendo como grupamento funcional ácido salicílico, chamada também resina quelante 122. Para os elementos cobre, cálcio, chumbo e zinco em água do mar, a eficiência de concentração, a reprodutibilidade e a susceptibilidade a interferentes foram avaliadas. Aqueles autores realizaram estudos sobre as propriedades de expansão e contração da Chelex-100. A performance da resina 122 foi praticamente idêntica a da Chelex-100. Usaram sistema FIA com duas resinas e eluição sequencial, comparando os resultados com aqueles obtidos com AAS empregando forno de grafite. FANG et alii (1984b), empregaram a resina quelante 122 para concentração de níquel, cobre, chumbo e cádmio em águas poluídas e do mar. Discutiram os efeitos de diâmetro da coluna e vazão sobre a sensibilidade, usando espectrometria de absorção atômica. Comentaram sobre a morosidade de procedimentos de pré-concentração, troca iônica e extração por solventes tradicionais e que a automação é promissora. Concluíram que alta sensibilidade pode ser obtida pelo aumento do volume injetado em detrimento da frequência analítica.

Em 1983, OLSEN et alii concentraram cobre, cobalto, chumbo e zinco, em água do mar poluída, empregando microcoluna contendo a resina Chelex-100. Sistemas FIA com espectrometria de absorção atômica foram usados.

JØRGENSEN et alii (1984) investigaram tipos de resina, dimensão da coluna, eluente, pH da amostra e agentes mascarantes usando o sistema FIA para a determinação de metais pesados em material biológico.

Com relação a cobalto, as resinas catiônicas Dowex 50W X8 e Dowex 40 X4, a resina aniônica Dowex 1 (envolvendo formação de cloro complexos) e resina quelante contendo grupos iminodiacetatos foram comentadas por GUIMARÃES (1979). A resina quelante Chelex-100, há anos empregada em procedimentos convencionais de análise, tem sido incorporada a sistemas FIA (JØRGENSEN et alii, 1984; OLSEN et alii, 1983; FANG et alii, 1984a). A sua seletividade, determinada pelos grupos funcionais, ácido iminodiacético, é uma medida quantitativa de afinidade da resina para um cátion particular em relação a outro. As seletividades dependem ainda das condições de pH, força iônica e presença de outras espécies químicas formando outros complexos. Discussão sobre adsorção, eluição, regeneração/conversão, vazões, e tampões é apresentada pela Bio-Rad (1983), enfatizando aplicações analíticas empregando a Chelex-100.

Face ao exposto acima, o autor considerou promissor o emprego do reagente Nitroso-R em sistemas FIA. A versatilidade deste sistema pode ser explorada para a determinação colorimétrica do cobalto em amostras de interesse agropecuário e industrial, especialmente aquelas caracterizadas por alta variabilidade deste elemento. Em situações requerendo

separação ou pré-concentração do cobalto, extração por solventes em sistemas FIA tem sido empregada com sucesso (SAHLESTROEM e KARLBERG, 1986; RUZICKA e HANSEN, 1986).

3. MATERIAL

3.1. INSTRUMENTOS

No experimental envolvendo reações colorimétricas, foi utilizado espectrofotômetro Varian 634-S equipado com cubeta de fluxo Hellma 178-0S com 10 mm de passo ótico e volume de 80 microlitros, conectado a registrador Radiometer REC-61 provido de unidade de alta sensibilidade REA-112. O comprimento de onda foi ajustado a 516 nm.

No estudo das condições de operação da resina de troca iônica, foi empregado também um espectrômetro de absorção atômica, Perkin-Elmer 306 provido de lâmpadas de cátodo de elementos monoelementares e conectado ao registrador Radiometer. Constante de tempo de 1,2 s foi selecionada.

Para determinações multielementares e para verificação da exatidão dos procedimentos propostos, foi utilizado espectrômetro de emissão atômica com fonte de plasma induzido em argônio Jarrel-Ash modelo 975. As condições de operação foram descritas por ZAGATTO, 1981.

Bomba peristáltica Ismatec mp13 GJ 4 com tubos de "Tygon" de diferentes diâmetros internos, e injetor-comutador automático Micronal B352 foram empregados. Alternativamente, comutador operado manualmente (BERGAMIN Fº et alii, 1978b)

foi também utilizado. Reatores tubulares helicoidais e linhas de transmissão foram constituídos de tubos de polietileno de 0,7 mm de diâmetro interno.

Balança analítica, sistema potenciométrico para determinação de pH, mufla, vidraria e demais acessórios de uso comum em laboratório de química foram utilizados.

3.2. AMOSTRAS

3.2.1. Ligas metálicas.

Ligas com alto teor de cobalto, do tipo COBALDUR*, foram obtidas em metalúrgica local. Sua composição básica é cobalto e ferro. Níquel, titânio, cromo e molibdênio aparecem em concentrações inferiores a 1% m/m, conforme determinações por espectrometria de emissão atômica, realizadas neste laboratório.

Como testes preliminares de desgaste de material indicaram a inviabilidade de obtenção de limalhas por perfuração, as ligas foram submetidas a recozimento térmico envolvendo aquecimento em mufla a 1100 K durante uma hora segui

* nome comercial.

do de resfriamento lento. A seguir, as ligas foram lixadas em esmeril e perfuradas em torno sob baixa rotação.

As amostras em limalhas foram solubilizadas por via úmida, em procedimento similar ao descrito por OLIVEIRA (1986). Foram solubilizadas 500 mg de limalha, em frascos erlenmeyer de 200 ml, com 10 ml de solução aproximadamente 6N em ácido clorídrico. Foi empregado aquecimento em banho de areia (ca 80°C) até quase secura. As amostras foram retomadas com 10 ml de solução 0,1N de ácido clorídrico, acrescidas de duas gotas de ácido fluorídrico. Em seguida, procedeu-se a filtração das mesmas e a completação do volume final até 100 ml com água.

3.2.2. Suplementos minerais

O suplemento mineral é constituído de um grande número de sais minerais, os quais são usados como suplemento mineral para o gado visando suprir possíveis deficiências. Eles são comercializados na forma de concentrado ou já adicionados a ração.

As amostras de suplementos minerais concentrados foram cedidas pelo I.CASA (Instituto Campineiro de Análises de Solos e Adubos), pelo Departamento de Zootecnia da ESALQ/USP e pela Cooperativa Agropecuária de Piracicaba. Alternativamente, amostras comerciais (Bayer, Purina, Fatec, Roche) foram também empregadas.

Para a solubilização das amostras foi emprega-

do o procedimento por via úmida usado pelo ICASA, segundo recomendação da Secretaria da Agricultura. Foram solubilizadas 1000 mg da amostra, em frascos erlenmeyer de 200 ml, com 20ml de ácido clorídrico concentrado. Aqueceu-se em banho de areia a ca 80°C até quase seca. A retomada foi realizada com 20 ml de solução 5N em ácido clorídrico e filtração. Volume de 100 ml foi completado com água.

3.2.3. Material vegetal

Estas amostras foram cedidas pelo Departamento de Fitotecnia da ESALQ/USP. A maioria deles constitui-se da parte aérea de forrageiras (gramíneas e leguminosas) empregadas na alimentação de gado. Por ocasião do recebimento, as amostras já se encontravam secas, moídas e acondicionadas em frascos de vidro.

Para mineralização, foram pesadas 5 g de material vegetal em cadinho de porcelana. A amostra foi umidecida com aproximadamente 4 ml de água e aquecida em mufla a 500°C por 2-4 horas (WALH, 1971). Após resfriamento, as cinzas foram solubilizadas em 4 ml de solução 5 N em ácido clorídrico. Finalmente, procedeu-se a filtração e completação do volume até 100 ml com água.

3.3. SOLUÇÕES

Para o preparo das soluções foi utilizada água

destilada-deionizada e substâncias químicas pro analisi. Especificamente para o estudo de interferências e para a preparação dos padrões de cobalto, substâncias espectrograficamente puras da Johnson & Matthey Co. (JMC) foram também usadas. As soluções padrão estoque foram preparadas conforme especificado na Tab. 1.

Tabela 1. Constituição das soluções padrão estoque.

Elemento	Concentração mg/l	Massa pesada por litro (g)	Composto
Níquel	1000	4,7892	NiSO ₄ .7H ₂ O
Cobre	1000	1,0000	Cu metálico
Zinco	1000	4,3987	ZnSO ₄ .7H ₂ O
Cobalto	1000	4,7698	CoSO ₄ .7H ₂ O
Ferro	10000	72,3410	Fe(NO ₃) ₃ .9H ₂ O
Cálcio	10000	27,6921	CaCl ₂

No estudo das condições de reações envolvendo o Nitroso-R, as soluções padrão de trabalho foram preparadas a partir de diluições das soluções padrão estoque de modo a conter: 50 mg Ni/l, 250 mg Cu/l, 250 mg Zn/l, 2000 mg Fe/l ou 10000 mg Ca/l, em 0,05% v/v HNO₃. Estas soluções padrão foram usadas individualmente em I (Fig. 1). Solução padrão de 5,00 mg Co/l, também 0,05% v/v em HNO₃, foi empregada em A, e solução 0,05% v/v de HNO₃, em C. Três diferentes concenu

trações de ácido nítrico e de ácido clorídrico (2, 4 e 6 N) foram utilizadas em H (Fig. 1) para o estudo da destruição dos complexos envolvendo íons interferentes. As soluções tampão, além de estabelecer o pH da reação, também foram empregadas como agentes complexantes. Estas soluções foram preparadas a partir de citrato de amônio, acetato de amônio, fosfato monobásico de amônio e tartarato de amônio 1 M. Desta forma, as massas utilizadas corresponderam a 244,19 - 77,08 - 115,03 e 184,15 gramas por litro, respectivamente. Hidróxido de amônio ou o respectivo ácido dos sais acima (1 M) foram empregados para o ajuste do pH das soluções tampão. Valores de pH de 5,5 - 7,0 e 8,5 foram investigados. As soluções tampão foram introduzidas no sistema via T (Fig. 1). O reagente Nitroso-R, sal dissódico do ácido 2 hidróxi-3,6-naftalenodissulfônico, foi preparado em solução aquosa a 2% m/v, mantendo-se estável em frasco escuro durante meses. Entretanto, quando solução 3% m/v de Nitroso-R foi preparada, observou-se deposição de material precipitado após algumas horas.

Para o sistema FIA a ser utilizado na determinação de cobalto em ligas, as soluções padrão, na faixa de 0 a 800 mg Co/l, eram também 0,01 N em ácido clorídrico. A solução carregadora era composta após a confluência das soluções T (1 M em citrato de sódio) e R (0,5% m/v de Nitroso-R). A solução H (Fig. 2) era 6 N em ácido clorídrico.

Para o sistema FIA sugerido para a determinação de cobalto em suplementos minerais às soluções padrão (0,00

-1,00 - 2,00 - 4,00 - 6,00 - 8,00 e 10,00 mg Co/l) e a solução carregadora C (Fig. 3) eram também 1 N em ácido clorídrico. As soluções T, R e H (Fig. 3) eram: 1 M em citrato de sódio, 2% m/v em Nitroso-R e 6 N em ácido clorídrico, respectivamente.

Para o estudo das condições de operação da resina Chelex-100 envolvendo espectrometria de absorção atômica, foram empregadas, para a etapa de concentração, as soluções 0,1 e 1,0 M de citrato, acetado, fosfato monobásico e oxalato de amônio, assim como de tartarato duplo de sódio e potássio. Os seus valores de pH (faixa de 4 a 10) foram ajustados com os respectivos ácidos ou hidróxido de amônio em soluções 1 M. As soluções padrão (5,00 mg Co/l - 3,00 mg Cu/l - 5,00 mg Ni/l - 0,50 mg Zn/l - 3,00 mg Ca/l ou 5,00 mg Fe/l) eram também 0,07 N em ácido nítrico. Para a etapa de eluição, soluções de ácido nítrico, ácido clorídrico e nitrato de sódio, nas concentrações de 2,0 - 1,5 - 0,5 - 0,25 - 0,10 e 0,05 N, foram preparadas.

Para análise de plantas (sistema FIA - Fig. 7) as soluções padrão (0,00 - 0,20 - 0,40 e 0,60 mg Co/l) eram também 0,2 M em ácido clorídrico. As demais soluções eram: T1 = solução 1 M em acetado de amônio + 0,5 M em hidróxido de amônio; E = solução 1 N em HNO_3 ; R = solução aquosa de Nitroso-R a 2% m/v; T2 = solução 1M em citrato de sódio e H = solução 6 N em HNO_3 .

3.4. RESINA

A resina utilizada para pré-concentração foi a Chelex-100, Bio-Rad.

3.4.1. Especificações

Número de controle: 3061;

Data: 27/04/65;

Capacidade total: 0,33 m moles de $(\text{Cu}(\text{NH}_3)_4)^{++}$ por ml de resina seca na forma sódica;

"Mesh": 50 - 100;

Variação do "mesh" da resina úmida: 20-50 (padrão US);

Constituição: mistura de 71-76% m/m de TyPG (estrutura estirênica com trocadores imino-diacetatos).

3.4.2. Condicionamento

O condicionamento da resina foi realizado colocando-se a resina inicialmente em uma solução de ácido nítrico diluído (aproximadamente 0,1 N). A seguir, com auxílio de uma seringa de 5 ml, procedeu-se a coloração da resina em uma coluna, a qual era um cilindro de vidro (diâmetro interno = 3 mm; comprimento = 7 cm) previamente moldado em forma de "U". Para impedir a saída da resina, foi utilizada lã de

vidro ou espuma. A conexão da coluna ao comutador era realizada através de tubulação de polietileno de 2 cm de comprimento.

Visando definição da quantidade de resina a ser empacotada, as soluções empregadas para concentração e eluição eram sucessivamente bombeadas através da coluna. Desta forma análise dos efeitos de contração e expansão permitia a definição da quantidade adequada de resina (FANG et alii, 1984; OLSÉN et alii, 1983). Em se tratando de quantidade deficiente de resina, estabelecia-se um volume morto indesejável no sistema; por outro lado, quando o volume de resina na coluna era excessivo, ocorria o rompimento das conexões.

4. MÉTODO

Primeiramente, foi projetado um sistema FIA para o estudo das condições de formação dos complexos com Nitroso-R e de mascaramento de interferente. A seguir, outros sistemas foram propostos em função das diversas diluições requeridas para as análises dos diferentes tipos de amostras. Finalmente, para situações onde pré-concentração se torna necessária, foi sugerido um sistema empregando troca iônica.

4.1. AVALIAÇÃO DAS CONDIÇÕES DE REAÇÃO

Para a investigação das reações químicas envolvidas, projetou-se o sistema FIA cujo diagrama de fluxos é apresentado na Fig. 1.

Neste sistema, o volume de amostra injetado é proporcional ao tempo de permanência do comutador na situação especificada na Fig. 1 (KRUG et alii, 1986). Desta forma, a utilização do comutador automático S1 foi requerida.

Durante o intervalo de tempo no qual o comutador S1 está na posição indicada, a amostra juntamente com a aplicação I está sendo enviada diretamente em direção ao detector. Enquanto isto, a solução carregadora C é reciclada. Após a comutação, a solução carregadora executa a limpeza do percurso analítico, empurrando a amostra anteriormente injetada. Nesta situação, pode-se proceder a substituição das soluções I ou A. Com esta configuração obtém-se, após um tempo de amostragem relativamente curto, um sinal analítico correspondente a injeção de um volume "infinito" de amostra, situação esta similar aquela conseguida envolvendo a técnica "stop-flow" (RUZICKA e HANSEN, 1981) na qual uma situação quase estacionária é atingida.

O comutador S2 tem por finalidade isolar a unidade de detecção do sistema principal, viabilizando inúmeras modificações neste sem alteração da geometria da célula de fluxo, impedindo ainda a passagem de bolhas de ar pelo detector. Na posição indicada, o sinal analítico é obtido sempre que a amostra é injetada; quando modificações no percurso analítico forem requeridas, aciona-se o comutador S2 para a sua posição alternativa, promovendo o descarte direto.

Neste sistema, a amostra injetada recebe a adição do reagente Nitroso-R, já tamponizada (ponto v), por confluência no ponto x, o qual se situa no próprio comutador. No reator B1 ocorre a formação dos complexos com o Nitroso-R. No ponto y, ácido nítrico é adicionado de modo a destruir os com

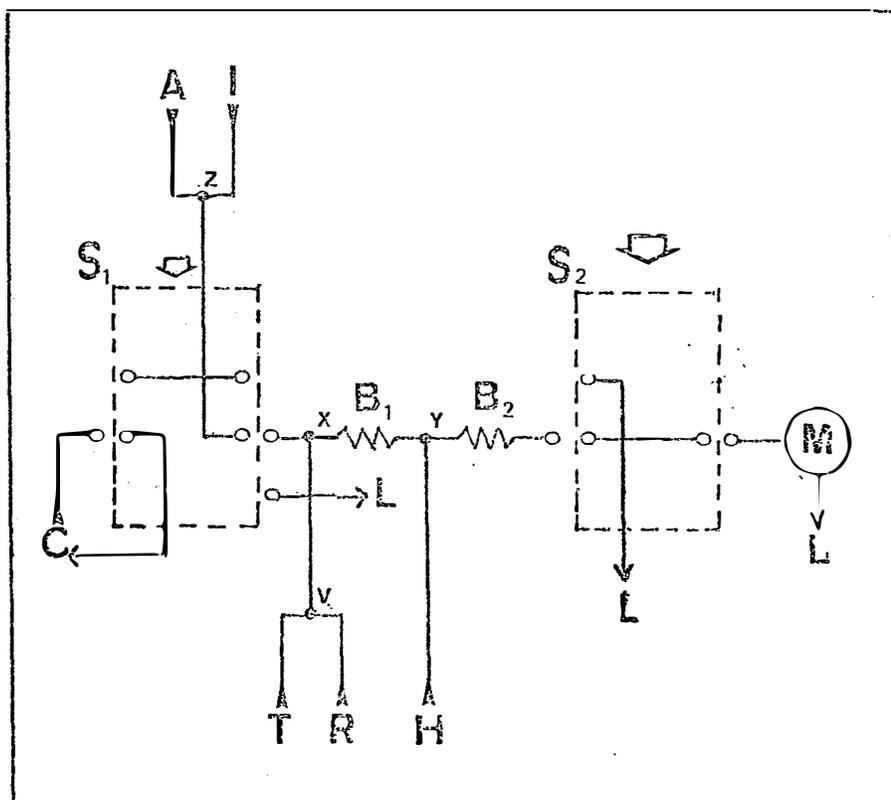


Figura 1. Diagrama de fluxos do sistema FIA utilizado para avaliação das condições de reação envolvendo Nitroso-R

- C = solução de ácido nítrico a 0,05% v/v fluindo a 2,0 ml/min
- A = solução padrão de Co (5,00 mg/l) em HNO_3 a 0,05% v/v fluindo a 1,0 ml/min;
- I = soluções de Fe, Cu, Ni, Zn ou Ca (2000, 250, 50, 250 ou 10000 mg/l, respectivamente) em HNO_3 a 0,05% v/v, fluindo a 1,0 ml/min;
- T = soluções 1 M de citrato, acetato, fosfato mono básico ou tartarato de amônio (pH 5,5 - 7,0 ou 8,5) fluindo a 0,42 ml/min;
- R = reagente, Nitroso-R em solução aquosa a 2% m/v, fluindo a 0,42 ml/min;
- H = soluções de ácido nítrico ou ácido clorídrico (2,4 ou 6 N) fluindo a 2,5 ml/min;
- S1 e S2 = comutadores;
- x, y, z e v = pontos de confluência;
- B1 (20 ou 100 cm) e B2 (50 ou 200 cm) = reatores tubulares helicoidais;
- M = detector espectrofotométrico a 516 nm;
- L = descarte para o lixo;
- A área delimitada pelas linhas interrompidas corresponde a porção móvel dos comutadores, cujo movimento é indicado pela seta. Vetores indicam pontos de aplicação da bomba peristáltica.

plexos pouco estáveis, durante o tempo médio de residência da amostra no reator B2. Conforme MARCZENKO (1976), o complexo vermelho Cobalto-Nitroso-R se mantém estável mesmo na presença de agentes oxidantes. Desta forma, este complexo não é destruído em B2, sendo quantificado a 516 nm. Aqueles complexos envolvendo íons interferentes, sendo menos estáveis em presença de ácido nítrico, são destruídos. A passagem da amostra pela célula de fluxo origina um sinal transiente o qual é registrado sob a forma de pico cuja altura corresponde ao teor de cobalto na amostra.

Para o estudo das condições de reação, a importância da acidez na formação dos complexos e a natureza dos agentes complexantes foram avaliados. Para tal, acetato, citrato, fosfato e tartarato de amônio em pH 5,5 - 7,0 e 8,5 foram empregados em T (Fig. 1).

No estudo dos possíveis interferentes, Cu, Ni, Fe, Zn ou Ca foram utilizados em I (Fig. 1). Diferentes concentrações de ácido nítrico e clorídrico foram empregadas na supressão dos complexos interferentes.

Tempos diferentes para a reação e supressão dos interferentes foram empregados variando-se o comprimento dos reatores B1 e B2, respectivamente. Após cada modificação de percurso analítico, o tempo de injeção era ajustado de forma a que um sinal analítico corresponde a 95% daquele referente ao volume "infinito" fosse sempre atingido.

4.2. DETERMINAÇÃO DE COBALTO EM LIGAS METÁLICAS

Um sistema FIA altamente diluidor de amostras foi projetado em função dos altos teores de cobalto característicos dessas amostras e da sensibilidade do método colorimétrico. Como a amostragem na zona dispersa (REIS et alii, 1981) é um processo eficiente para diluição de amostras (KRUG et alii, 1986), um sistema usando reamostragem (Fig. 2) foi empregado para análise de ligas.

Na posição indicada na Fig. 2, a amostra é aspirada de forma a preencher a alça de amostragem a1, que define o volume a ser inicialmente injetado; a solução carregadora C, fluindo através de B1, procede a lavagem deste percurso analítico, descartando a amostra anterior; a solução tampão e o reagente transportam a alíquota de amostra diluída reamostrada pela alça a2. No percurso B2, a solução T + R fornece as condições requeridas para a formação dos complexos com Nitroso-R de maneira a permitir a ocorrência das reações envolvidas. Em seguida a solução 6 N de ácido clorídrico é adicionada de forma a destruir, no reator B2, os complexos formados com os íons interferentes, bem como impedir uma possível continuação da formação do complexo Co-Nitroso-R. Em seguida, a amostra processada é quantificada durante sua passagem pelo detector M.

Quando a comutação é procedida, o volume da amostra A selecionado em a1 é injetado e dispersado pelo car-

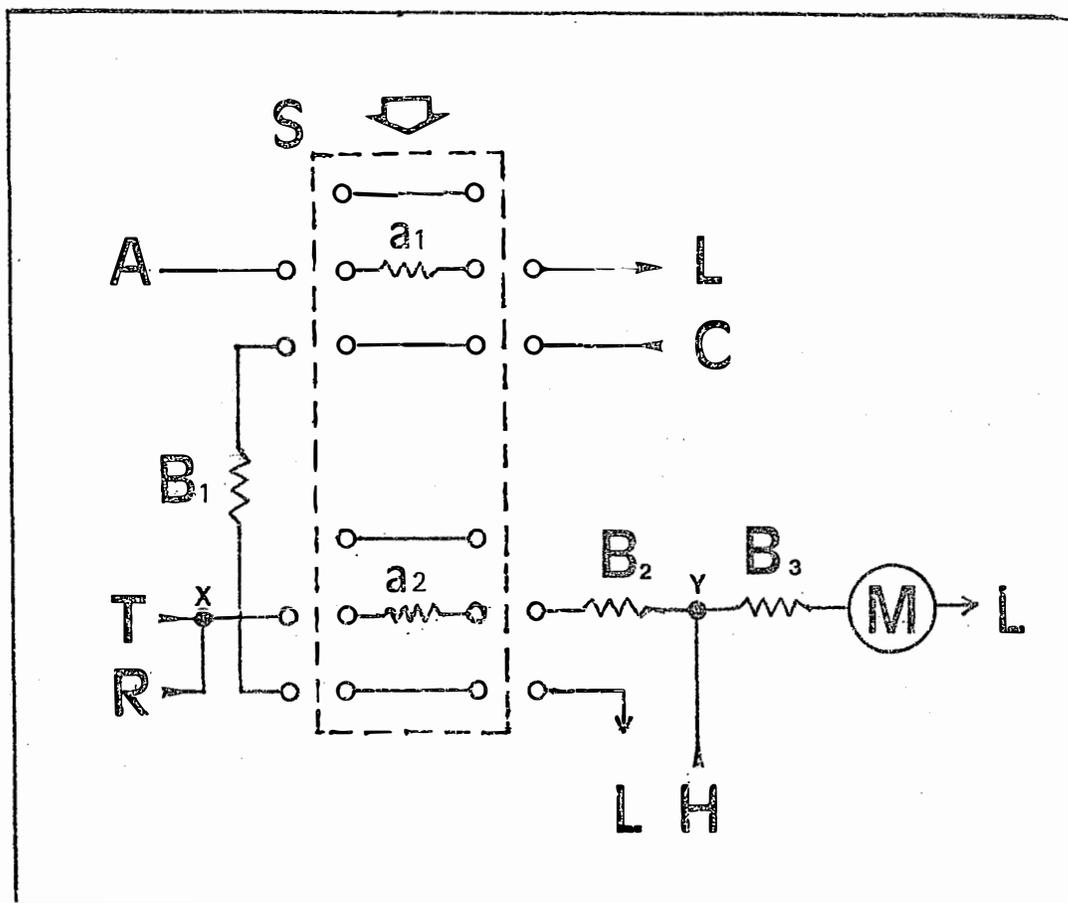


Figura 2. Diagrama de fluxos do sistema FIA utilizado para análise de cobalto em ligas metálicas.

- C = solução carregadora e dispersante da amostra, 0,01 N em HCl fluindo a 3,9 ml/min;
- A = amostra ou padrão (0,01 N em HCl) fluindo a 2 ml/min;
- T = solução 1 M em citrato de sódio fluindo a 1,0 ml/min;
- R = reagente, Nitroso-R em solução aquosa a 0,5% m/v fluindo a 1,0 ml/min;
- H = solução 6 N em HCl fluindo a 3,9 ml/min;
- S = comutador;
- x e y = pontos de confluência;
- B1 (100 cm), B2 (50 cm) e B3 (200 cm) = reatores tubulares helicoidais;
- M = detector espectrofotométrico a 516 nm;
- L = descarte para o lixo;
- a1 = alça de amostragem (3 cm);
- a2 = alça de reamostragem (10 cm);
- t1 e t2 (intervalos de tempo de permanência do comutador na posição especificada na figura e na posição alternativa) = 12 e 33 s;
- Informações adicionais: V. legenda Fig. 1.

regador C no reator B1. Após 12 segundos, uma alíquota da amostra dispersa é reamostrado pela alça a2. Enquanto isto, a linha de base é restabelecida pela ausência da amostra no detector.

Para simplificar o entendimento do sistema proposto, pode-se dividir o mesmo em dois estágios: o primeiro, de amostragem e reamostragem e o segundo, de complexação, mascaramento e detecção.

As condições para reamostragem foram definidas empregando-se solução padrão de 800 mg Co/l e dimensionando-se o sistema FIA de modo a se obter um sinal analítico de aproximadamente 1 A. com este critério, e considerando-se que boas condições de mistura devem ser atingidas, foram ajustados os comprimentos de a1, a2 e B1. Testes preliminares indicaram ser crítico o emprego de alça de amostragem a1 menor de que 3 cm, pois o emprego de dimensão menor do que esta comprometia a reprodutibilidade do sinal. Um tempo t1 de 12 segundos foi selecionado de forma a permitir a reamostragem de uma região central, mais homogênea, da amostra dispersa. A vazão de C foi fixada em 3,9 ml/min como um compromisso entre pressão hidrodinâmica do sistema, homogeneização e velocidade analítica.

Com relação ao segundo estágio, empregou-se a injeção da amostra em um fluxo carregador reagente visando simplificação do sistema. As concentrações das soluções R e T (Fig. 2) foram ajustadas de modo a fornecer excesso destes

reagentes visando compensar eventuais diferenças de acidez e concentrações iônicas entre amostras. O comprimento de a2 foi selecionado tão pequeno quanto possível a fim de possibilitar a interação amostra-reagente mais eficiente. O comprimento do reator B2 foi selecionado com 50 cm, suficiente para se atingir reação quantitativa entre cobalto e Nitroso-R. Experimentos paralelos indicaram que quando a2 era superior a 20 cm, a interação amostra-reagente era comprometida, o fluxo ácido confluente promovendo a resolução de picos distintos corroborando o trabalho de ZAGATTO (1986). A concentração e vazão de H (Fig. 2) foram definidas tão altas quanto possíveis visando otimização das condições de mascaramento. O reator B3 foi dimensionado a fim de permitir uma eficiente homogeneização entre as soluções envolvidas, minimizando o efeito "Schilieren" e determinando uma linha de base mais estável, bem como dispersar a zona da amostra.

As medidas de dispersão foram realizadas para ambos os estágios. Inicialmente, foi empregada uma solução padrão de 300 mg Co/l simulando a amostra em A e registrando-se os sinais analíticos. A seguir, as soluções A e C foram substituídas por uma solução padrão de 30,0 mg Co/l, os sinais analíticos registrados em forma de picos correspondendo, então, a ausência de dispersão no primeiro estágio.

A dispersão no primeiro estágio (d1) foi então calculada como (RUZICKA e HANSEN, 1981):

$$*D1 = h_0/h \times 10 \dots\dots\dots (1)$$

onde h_0 e h são as alturas de picos, referentes a 30,0 e 300 mg Co/l, respectivamente.

A seguir, uma solução contendo 30,0 mg Co/l + 0,05% m/v Nitroso-R + 0,1 M citrato de sódio foi empregada em A e C (Fig. 2), R e T substituídos por água. As absorvâncias referentes as alturas dos picos registrados nesta situação (h) foram medidas. Finalmente, solução análoga a anterior, porém contendo 3,0 mg Co/l foi utilizada em R e T, o comutador não sendo operado nesta situação. A absorvância referente ao sinal estacionário (h'_0) foi então obtida.

A dispersão do segundo estágio (D2) foi então calculada como:

$$D2 = h'_0/h' \times 10 \dots\dots\dots (II)$$

A diluição total (Dt) da região mais concentrada da zona de amostra processada foi calculada como:

$$Dt = D1 \times D2 \times 5,9/3,9 \dots\dots\dots (III)$$

4.3. DETERMINAÇÃO DE COBALTO EM SUPLEMENTOS MINERAIS

Considerando-se a variabilidade dos teores de cobalto nas amostras, projetou-se um sistema FIA empregando injeção sequencial, cujo diagrama de fluxos é apresentado na Fig. 3.

Neste sistema, foi empregado uma variação do

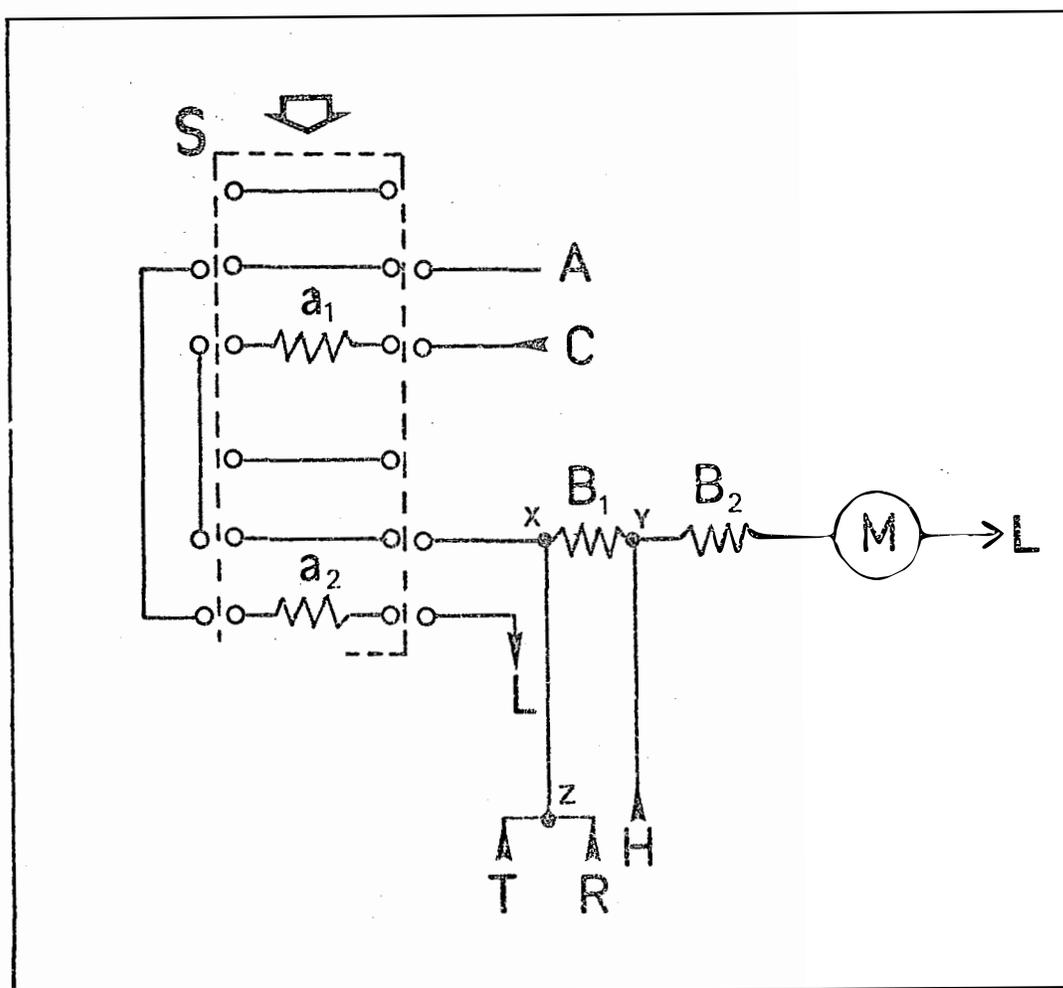


Figura 3. Diagrama de fluxos do sistema FIA utilizado para análise de cobalto em suplementos minerais.

- C = solução 1 N em ácido clorídrico fluindo a 2,0 ml/min;
- A = amostra ou padrão aspirada a 3,9 ml/min;
- T = solução 1 M em citrato de sódio e 3 M em hidróxido de sódio fluindo a 0,60 ml/min;
- R = reagente, Nitroso-R em solução aquosa a 2% m/v fluindo a 0,42 ml/min;
- H = solução 6 N em ácido clorídrico fluindo a 1,6 ml/min;
- S = comutador;
- x, y e z = pontos de confluência;
- a1 (30 cm) e a2 (100 cm) = alças de amostragem;
- B1 (50 cm) e B2 (100 cm) = reatores tubulares helicoidais;
- M = detector espectrofotométrico a 516 nm;
- L = descarte para o lixo;
- t1 e t2 = 37 e 50 s;
- Informações adicionais: V. Fig. 1.

processo de injeção sequencial-simultânea, anteriormente proposto por ZAGATTO et alii (1985). Naquela proposta, a amostra enche duas ou mais alças de amostragem; quando o comutador é acionado, as alças são colocadas no mesmo percurso analítico, de modo que cada volume de amostra recém injetado é separado do outro pelo próprio percurso analítico constituído de reatores de retardo intercalados entre uma alça e outra. O grau de interpenetração de amostras é definido principalmente pelo comprimento daqueles reatores de retardo e pelas dimensões das alças (KRUG et alii, 1986).

No sistema FIA aqui proposto, quando o comutador está na posição especificada na Fig. 3, a amostra A enche a alça a2 sendo o seu excesso descartado. A solução carregadora C transporta o volume da amostra anteriormente injetado através do percurso analítico em direção ao detector. O processamento da zona de amostra procede analogamente aquele descrito em 4.1. Quando o comutador é operado novamente, o volume da amostra selecionado por a2 é injetado e a alça a1 colocada na posição de amostragem. Nota-se então que no sistema aqui apresentado, não há reatores de retardo separando as zonas de amostra, o grau de interpenetração de amostras sendo definido pelo intervalo de tempo decorrido entre sucessivas injeções.

O comprimento da alça de amostragem a2 (100 cm) foi definido de forma a permitir que aproximadamente 95% do sinal analítico referente ao volume "infinito" fosse atingido.

A alça de amostragem a1 foi dimensionada (30 cm) de forma que o sinal analítico respectivo fosse aproximadamente a metade daquele referente a alça a2. O intervalo de tempo entre injeções t1 (37 s) foi fixado de forma a se obter um terceiro sinal analítico (V. também Fig. 14) de intensidade aproximadamente 25% daquele referente a alça a1. Desta maneira, em um ciclo de comutação obtêm-se três sinais analíticos (1º, 2º e 3º) de forma a abranger uma faixa de concentrações mais ampla.

Ainda sobre o sistema, salienta-se que as soluções reagente R e tampão T são introduzidas por confluência no percurso analítico via ponto x, localizando-se este no próprio comutador. Assim, o percurso analítico entre o ponto x e a alça injetada no sistema é desprezível. Não foi conveniente que o percurso entre os pontos x e z fosse maior que 20 cm, pois a presença de hidróxido de sódio neste percurso poderia provocar uma eventual formação de precipitado, conforme observações preliminares. Quando o percurso entre os pontos x e z é bem curto, torna-se desnecessário o estudo da estabilidade do reagente neste meio. Por outro lado, se T e R fossem introduzidos separadamente no percurso analítico, as condições de mistura do sistema FIA poderiam ser críticas devido as confluências de soluções com vazões muito diferentes entre si.

Para a realização das medidas de dispersão a solução carregadora foi substituída por uma solução padrão

(8,00 mg Co/l), o registro do sinal estacionário obtido sendo comparado aos sinais analíticos normais referentes ao mesmo padrão. A equação (1) foi então utilizada.

4.4. DETERMINAÇÃO DE COBALTO EM MATERIAL VEGETAL

Em virtude dos teores muito baixos de cobalto usualmente encontrados em material vegetal e da sensibilidade inerente a colorimetria fundamentada no Nitroso-R, torna-se necessária uma pré-concentração de amostras, conforme confirmado também em testes preliminares. Neste trabalho, optou-se por pré-concentração envolvendo troca iônica, a resina Chelex-100 Bio-Rad sendo utilizada.

Resinas catiônicas e aniônicas foram preliminarmente testadas, mas se mostraram ineficientes para concentração de cobalto nas condições deste trabalho, sendo ainda menos compatíveis com a proposta de um sistema colorimétrico envolvendo microcolunas. A incompatibilidade é devida também a necessidade de altas concentrações no eluente, o que dificulta sobremaneira o controle da acidez, fundamental para a formação do complexo Co-Nitroso-R.

4.4.1. Procedimentos para concentração em resina através do sistema FIA

Inicialmente dois procedimentos para concentração em resina pareciam viáveis. No primeiro deles, conforme in

dica a Fig. 4, o volume de amostra a ser concentrado é definido por alça de amostragem.

Esta configuração permite avaliar quanto elemento não foi retido pela resina, quanto foi retido e eluído, e quanto foi retido e não eluído. No sistema, o condicionamento da resina antes e após a concentração é sempre atingido porque as soluções C + T e E (Fig. 4) fluem intermitentemente através da coluna de resina. Durante o tempo necessário para eluição, nova amostragem está sendo realizada. No caso de interferência, supressores poderiam ser introduzidos através do ponto x. Com relação ao fluxo de T, não haveria problemas de diluição de amostra já que todo o volume de amostra injetado passa pela coluna de resina.

No sistema da Fig. 4, o volume de amostra selecionado pela alça al é intercalado em C após a comutação; a solução T é adicionada via x e após homogeneização em B1, a amostra processada flui através da resina. Novo acionamento do comutador coloca al na posição de amostragem e a coluna de resina, sobre a solução eluente E. Os íons eluídos constituem uma zona de amostra a qual é transportada em direção ao detector. Nota-se, então, que este procedimento automatizado, a semelhança daquele manual, envolve por ciclo, as etapas de concentração, eluição e "lavagem" da resina. Este sistema foi utilizado para investigação da dispersão da amostra e da eficiência da eluição.

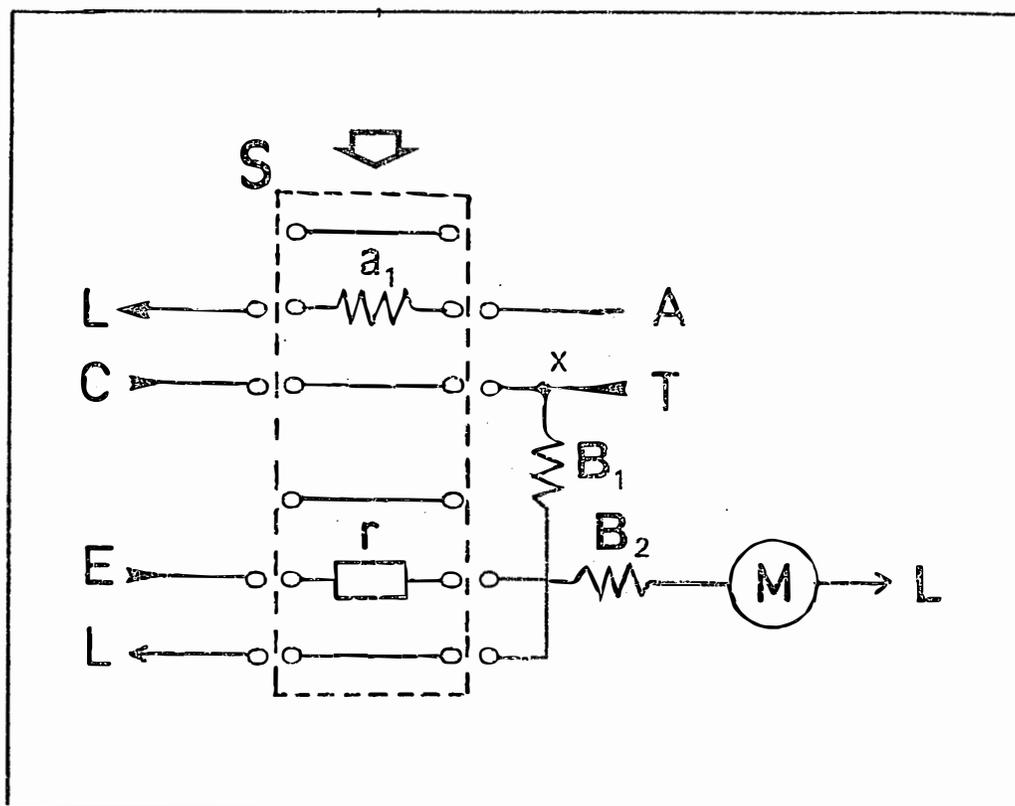


Figura 4. Diagrama de fluxos do sistema FIA utilizado para o estudo do posicionamento da coluna. Volume de amostra definido por alça de amostragem.

- C = solução carregadora, 0,014 N em HNO_3 fluindo a 4,2 ml/min;
- A = solução padrão de 5,00 mg Co/l e 0,014 N em HNO_3 fluindo a 2,0 ml/min;
- T = solução 1 M em acetado de amônio, fluindo a 1,0 ml/min;
- E = solução eluente 0,25 N em HNO_3 , fluindo a 6,7 ml/min;
- r = coluna contendo resina Chelex-100;
- x = ponto de confluência;
- B1 (50 cm) e B2 (40 cm) = reatores tubulares;
- M = espectrômetro de absorção atômica;
- L = descarte para o lixo;
- a1 = alça de amostragem de 3 ml de volume interno.
- Informações adicionais: V. Fig. 1.

O segundo procedimento (Fig. 5) envolve um intervalo de tempo de concentração o qual é proporcional ao volume de amostra.

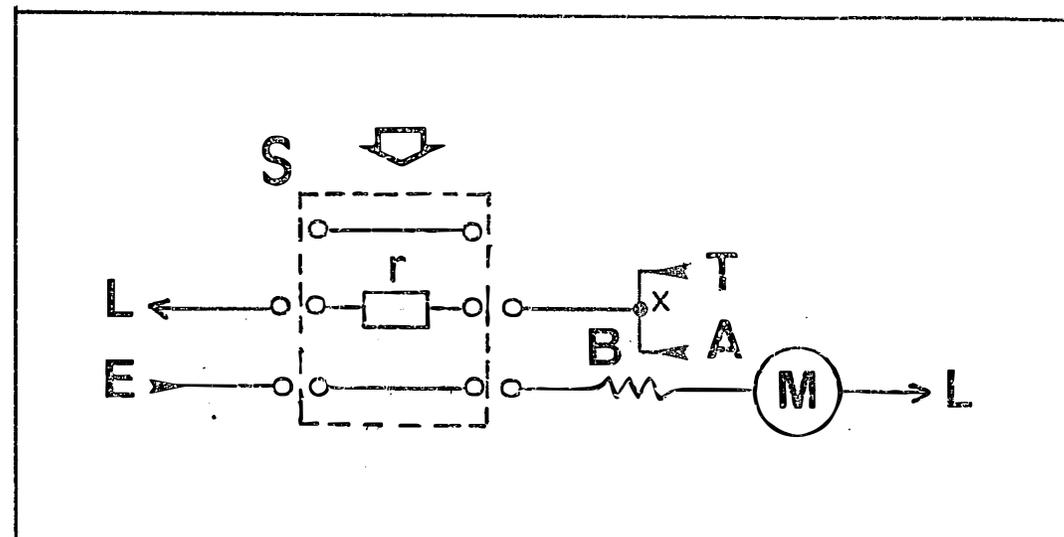


Figura 5. Diagrama de fluxos do sistema FIA utilizado para o estudo do posicionamento da coluna. Injeção por tempo.

- A = solução 5,00 mg Co/l em 0,014 N HNO₃, fluindo a 2,0 ml/min;
 - T = solução 1 M em acetado de amônio, fluindo a 1,0 ml/min;
 - r = coluna;
 - x = ponto de confluência;
 - B (40 cm) = reator tubular reto;
 - M = espectrômetro de absorção atômica;
 - E = solução 0,25 N em HNO₃, fluindo a 6,7 ml/min;
- Informações adicionais: V. Fig. 1.

Neste sistema, injeção por tempo é procedida. Durante o intervalo de tempo no qual o comutador está na posição indicada na Fig. 5, a amostra previamente tamponizada (ponto x) flui através da resina. A comutação determina a

colocação da resina sobre a solução eluente E. A eluição origina uma zona de amostra a qual é dirigida através de B em direção ao detector. Nota-se então que duas etapas são realizadas por ciclo de comutação, concentração e eluição. Aqui, a vazão de A e o tempo em que a coluna permanece na posição indicada pela figura, definem o volume de amostra. Para este sistema, foram também avaliadas a dispersão no percurso analítico e as eficiências de concentração e eluição. As soluções T, A e E foram definidas segundo experimentos análogos aos descritos em 4.4.2. Os tempos de concentração e eluição foram de 60 s e 30 s, respectivamente.

Este sistema permite o emprego de duas colunas mas requer operação eletrônica já que o controle de tempo é crítico.

4.4.2. Sistema FIA para o estudo do comportamento da resina

Na definição das condições para operação com a resina foi utilizado um sistema mostrado na Fig. 6.

Na posição indicada na Fig. 6, a solução A, tampouco no ponto x, flui através da coluna contendo resina durante um período de 60 s, enquanto a solução E executa a "lavagem" do sistema. Ao se acionar o comutador S1 a coluna é colocada no percurso analítico e a eluição das espécies concentradas anteriormente, é realizada através do fluxo rever-

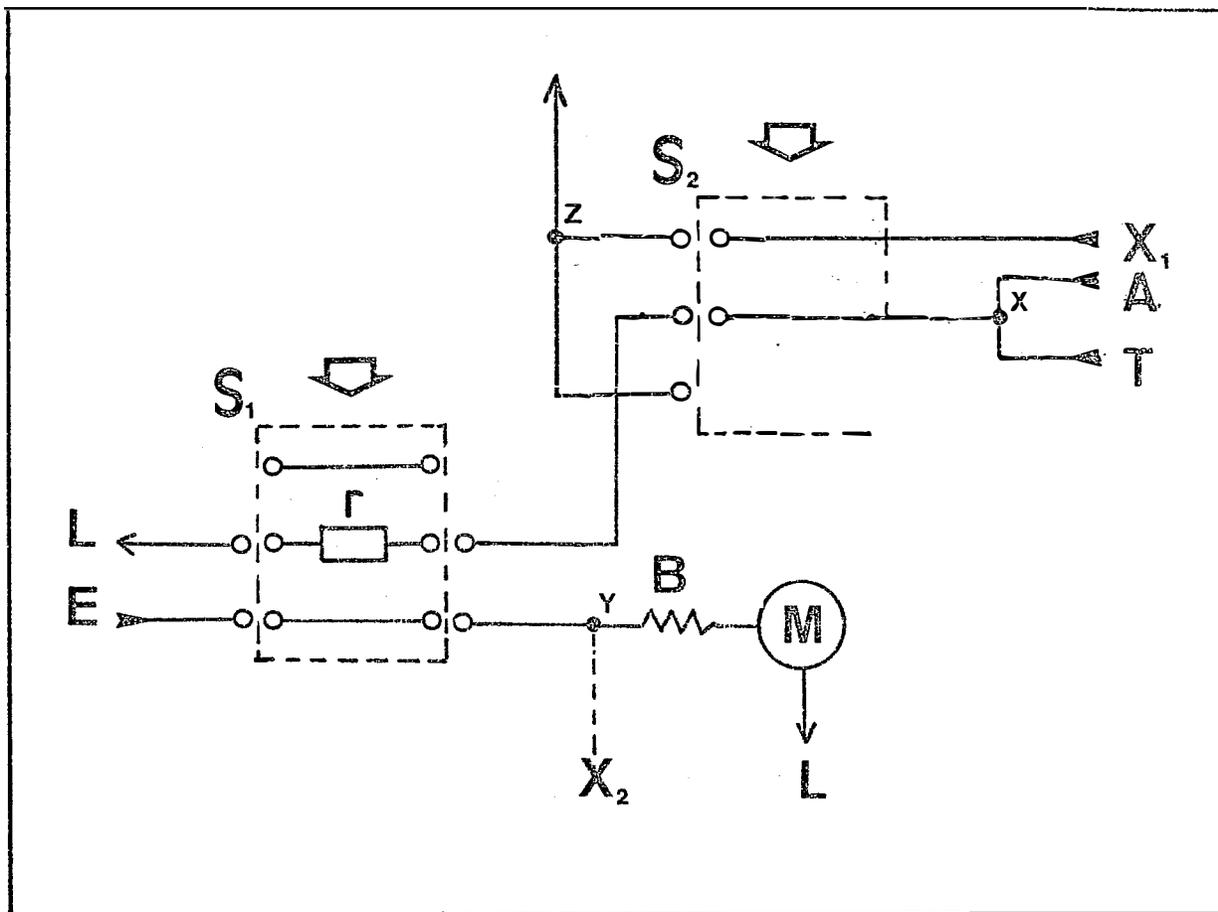


Figura 6. Diagrama de fluxos do sistema FIA utilizado para o estudo do comportamento da resina.

- A = soluções de Co, Fe, Ni, Cu, Zn ou Ca preparadas conforme 3.3 e fluindo a 2,0 ml/min;
 T = solução tampão fluindo a 1,0 ml/min;
 E = solução eluente, fluindo a 5,0 ml/min;
 r = coluna;
 X1 = água para "lavagem", fluindo a 2,9 ml/min;
 X2 = água para compensar variação de pressão hidrodinâmica decorrente da variação da vazão de E;
 B (30 cm) = reator;
 M = espectrômetro de absorção atômica;
 S1 = comutador que controla concentração e eluição;
 S2 = comutador que aciona concentração e limpeza;
 x, y e z = pontos de confluência;
 L = descarte para o lixo.
- Informações adicionais. V. Fig. 1.

so E. Modificações deste sistema permitiram investigações sobre: etapa de lavagem ou condicionamento da resina (introdução de X1) antes e após a concentração; intensidade do fluxo de eluição; natureza e concentração do eluente; possíveis perdas durante a etapa de concentração.

Assim, foram avaliadas as soluções usadas para eluição, suas concentrações e pH; efeitos danosos provocados na resina pelas diferentes soluções tampão e viabilidade das mesmas em função da expansão e contração sofrida pela resina.

Uma vez definidas as condições de operação da resina Chelex-100, um sistema adaptado às exigências do sistema colorimétrico foi proposto (Fig. 7).

4.4.3. Sistema FIA espectrofotométrico empregando a resina Chelex-100

Neste sistema, a amostra, tamponizada em x, flui através da resina durante 90 s, controlados por comutador automático. Enquanto isto, o sinal de linha base é registrado em função da ausência da amostra no detector. Ao se acionar o comutador, as espécies encontradas na etapa anterior são eluídas pela solução E. No ponto y, localizado no próprio comutador, as soluções R e T2, previamente misturadas (w - Fig. 7), são introduzidas, as reações de complexação envolvidas ocorrendo no reator B1. O mascaramento é conseguido em B2 após a adição de H (ponto z). A passagem da amostra pelo detector

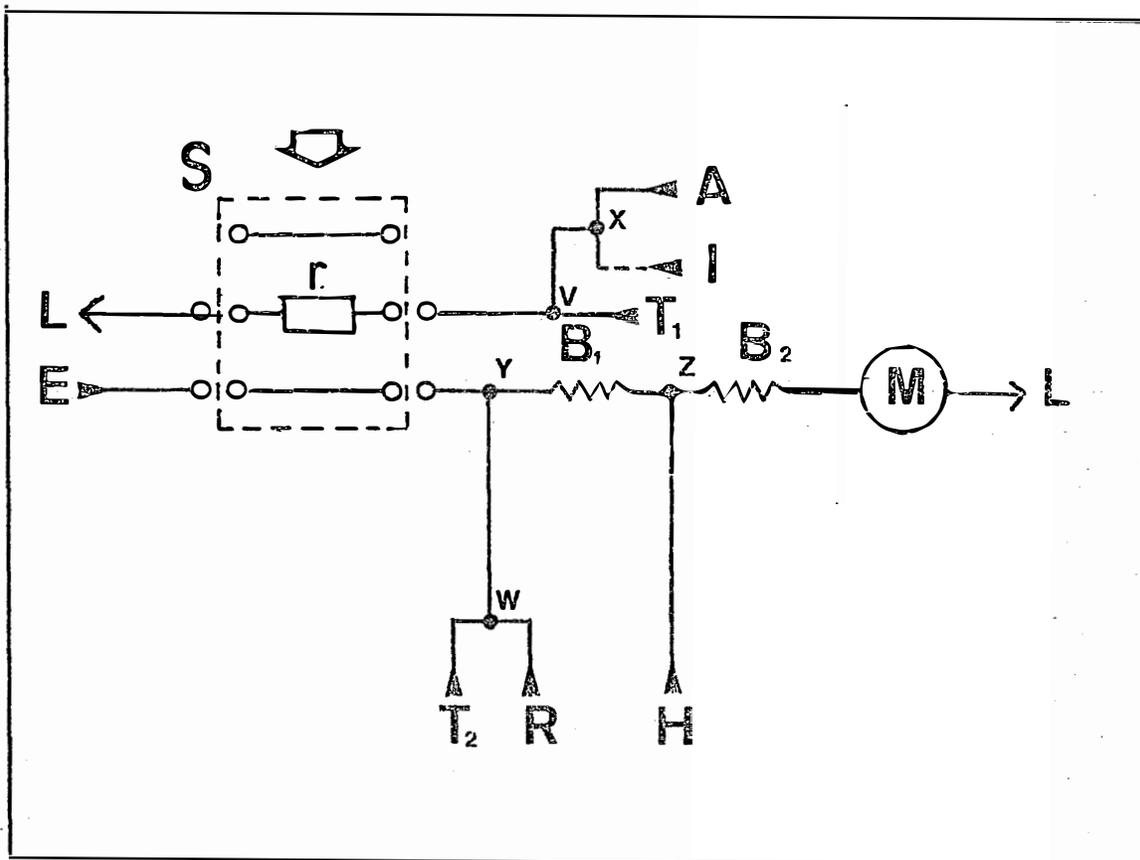


Figura 7. Diagrama de fluxos do sistema FIA espectrofotométrico empregando a resina Chelex-100.

- A = amostra ou padrão (0,00 - 0,20 - 0,40 e 0,60 mg Co/l), 0,2 N em HNO_3 , fluindo a 2,4 ml/min;
- T1 = solução 1 M em acetado de amônio, e 0,5 M em hidróxido de amônio, fluindo a 0,8 ml/min;
- E = solução eluente, 1 N em HNO_3 , fluindo a 2,0 ml/min;
- R = reagente, Nitroso-R em solução aquosa a 2% m/v, fluindo a 0,42 ml/min;
- T2 = solução 1 M em citrato de sódio, fluindo a 0,42 ml/min;
- H = solução 6 N em ácido nítrico, fluindo a 1,6 ml/min;
- I = solução contendo interferente em potencial, fluindo a 0,42 ml/min;
- x, y, z, v e w = pontos de confluência;
- B1 (50 cm) e B2 (100 cm) = reatores helicoidais;
- M = detector espectrofotométrico a 516 nm;
- r = coluna;
- Informações adicionais V. Fig. 1.

determina que um sinal proporcional ao teor de cobalto na amostra seja registrado.

Nota-se que o sistema utilizado é de injeção por tempo. Observa-se ainda que a etapa de "lavagem" da resina não foi utilizada.

Como na etapa de concentração a amostra foi tamponizada a pH aproximadamente igual a 7 e como a colocação da resina sobre o eluente E gera gradientes de pH, optou-se pela adição de citrato de sódio juntamente com o Nitroso-R. Desta maneira, a região de gradientes pode ser explorada visando a formação do complexo Co-Nitroso-R bem como a eficiente complexação dos íons interferentes pelo citrato. Nesta situação de gradientes, o pH da zona de amostra será em torno de 7, não podendo ser deslocado para valores muito maiores, já que outras espécies mais alcalinas não são empregadas. Não foi conveniente usar citrato na solução eluente E uma vez que, em condições mais ácidas, ele não é complexante tão eficiente e não estaria presente naquela região da amostra em que o Nitroso-R reage. Ainda, testes preliminares indicaram que, em presença de citrato, o cobalto não é retido na resina.

5. RESULTADOS E DISCUSSÃO

5.1. AVALIAÇÃO DAS CONDIÇÕES DE REAÇÃO DO NITROSO-R

A partir dos espectros de absorção apresentados por MARCZENKO (1976) e SHIPMAN (1955), e após testes de comprovação, optou-se por utilizar o comprimento de onda 516 nm, já que a medida de absorção do complexo Co-Nitroso-R na faixa de 500-520 nm, apesar de apresentar menor sensibilidade, não apresenta sinal analítico significativo para a cor própria do reagente. Nesta situação, água pode ser utilizada como referência.

Apesar de vários autores terem estudado a abrangência da faixa de pH usada para a reação (MARSTON et alii, 1940), diferentes procedimentos são apresentados (OVENSTON et alii, 1950; KOLTHOFF et alii, 1962; SANGAL, 1966; GUIMARÃES, 1968, entre outros). Aqui, pode-se observar (Fig. 8) que apenas leve diferença no final analítico é observada comprando-se os pH 5,5 e 7,0 mas praticamente nenhuma entre os pH 7,0 e

8,5. Após desligamento da bomba peristáltica, comprovou-se experimentalmente que em valores de pH inferiores a 4, o complexo cobalto-Nitroso-R forma-se muito lentamente. Segundo OVENSTON e PARKER (1950), em pH 1,1 ocorre complexa inibição do desenvolvimento da reação. Segundo estes mesmos autores, em situações onde os valores de pH são superiores a 9, há grande probabilidade de precipitação de hidróxidos.

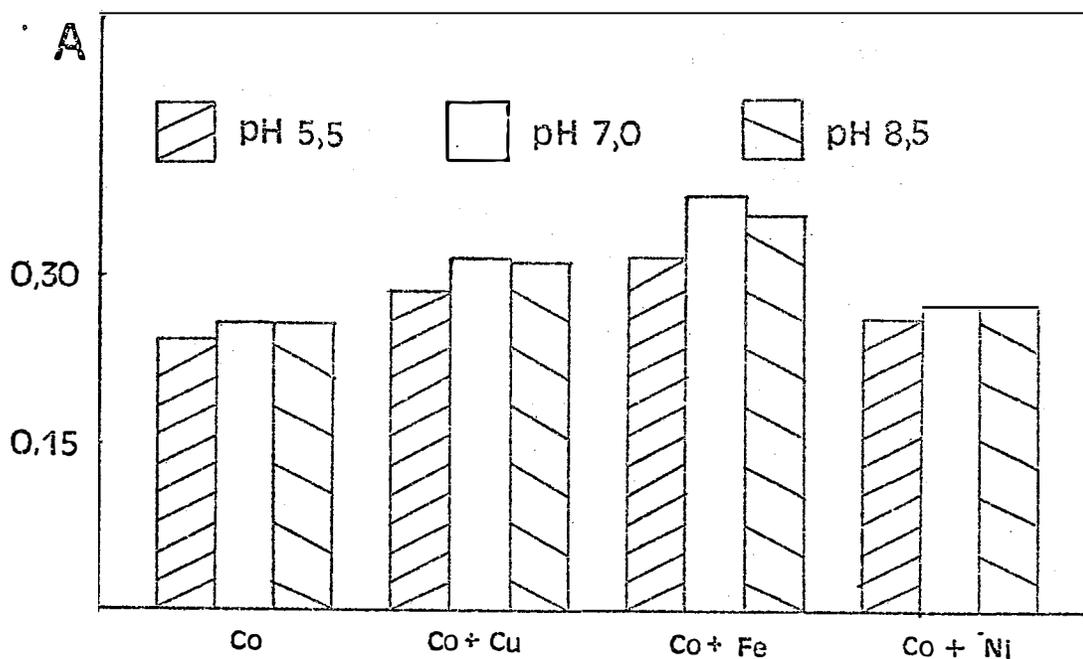


Figura 8. Influência do pH de reação. Os valores se referem ao sistema FIA da Fig. 1, com H = 4 N em HNO_3 , T = sol. de citrato de amônio; B1 = 20 cm e B2 = 50 cm.

A análise apenas do pH de reação não foi totalmente conclusiva uma vez que soluções tampão de diferentes naturezas tem sido citadas (MARSTON et alii, 1940; McNAUGHT, 1942; SHIPMAN et alii, 1956). Observa-se (Fig. 9) que, para

o cobalto e também para o níquel e o cobre, a natureza do agente tampão é irrelevante. No entanto, a interferência causada pelo ferro parece ser potencializada na presença de acetato, independentemente da acidez empregada. Os resultados experimentais indicaram ainda que a presença de tartarato deteriora sobremaneira a reprodutibilidade das medidas e que fosfato deprime o sinal referente a cobalto. Para altas concentrações de cálcio (maior do que 1000 mg/l em I - Fig. 1) a presença do fosfato promove ainda a precipitação de fosfato de cálcio.

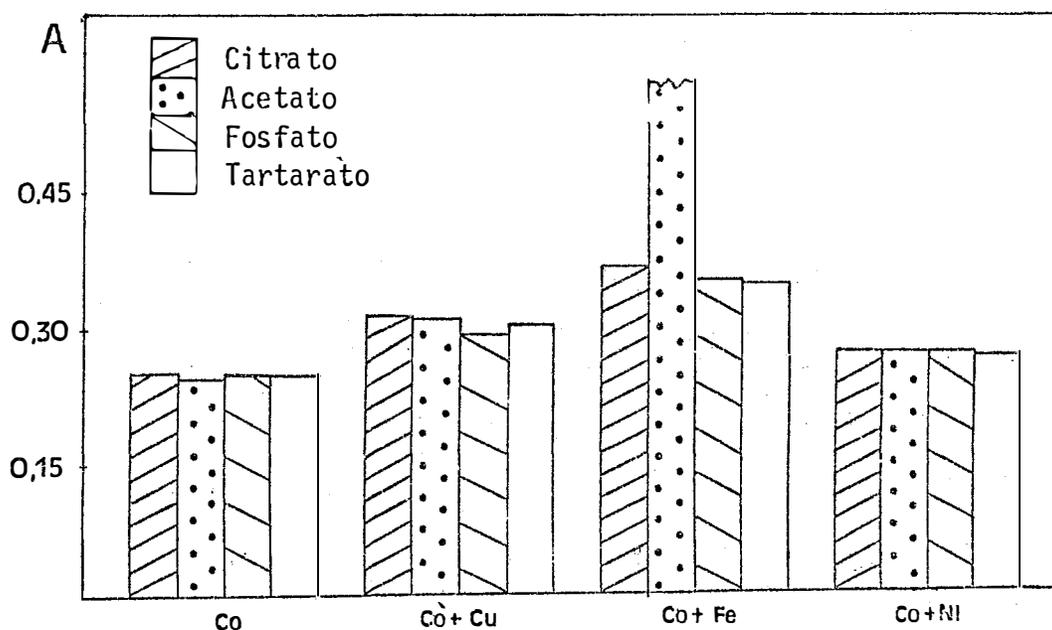


Figura 9. Influência da natureza das soluções tampão. Os valores se referem ao sistema da Fig. 1, com $H = 4 N$ em HNO_3 , $pH = 7$, $B1 = 20$ cm e $B2 = 50$ cm.

Oxalato, tris(hidroximetil)-aminometano, tri-etanolamina e EDTA também foram testados. Destes, o primeiro formou precipitado branco, oxalato de cálcio; o segundo, ape-

sar de apresentar vantagem por ter melhor capacidade tamponante a pH 7, faixa ideal para reação, mostrou-se deficiente no tocante a complexação dos íons interferentes; trietanol-amina e EDTA, mesmo em baixas concentrações (0,01 M), complexaram o cobalto quase completamente, deixando-o indisponível para a reação com o Nitroso-R. Portanto, todos mostraram-se inviáveis para o sistema proposto.

Com relação a reação de complexação do cobalto, observou-se que, em todas as situações, a completação da reação era praticamente total. Verificou-se também que aumento da concentração do Nitroso-R não determina aumento no sinal analítico. Entretanto, a concentração deste reagente foi mantida em isso para evitarem-se as interferências devido a reações competitivas.

Variando-se o comprimento do reator B1 tentou-se comprovar a hipótese de que o complexo cobalto-Nitroso-R é formado mais rapidamente que o complexo do Nitroso-R e demais íons. Observa-se que esta hipótese é confirmada experimentalmente apenas com relação ao ferro (Fig. 10). Aumentando-se o comprimento de B1 (Fig. 1) e conseqüentemente, o tempo disponível para complexação, a formação do complexo ferro-Nitroso-R torna-se mais acentuada. Pode-se então concluir que a automação deste procedimento em sistema FIA resulta em um benefício adicional, qual seja, a diminuição da formação de complexos interferentes.

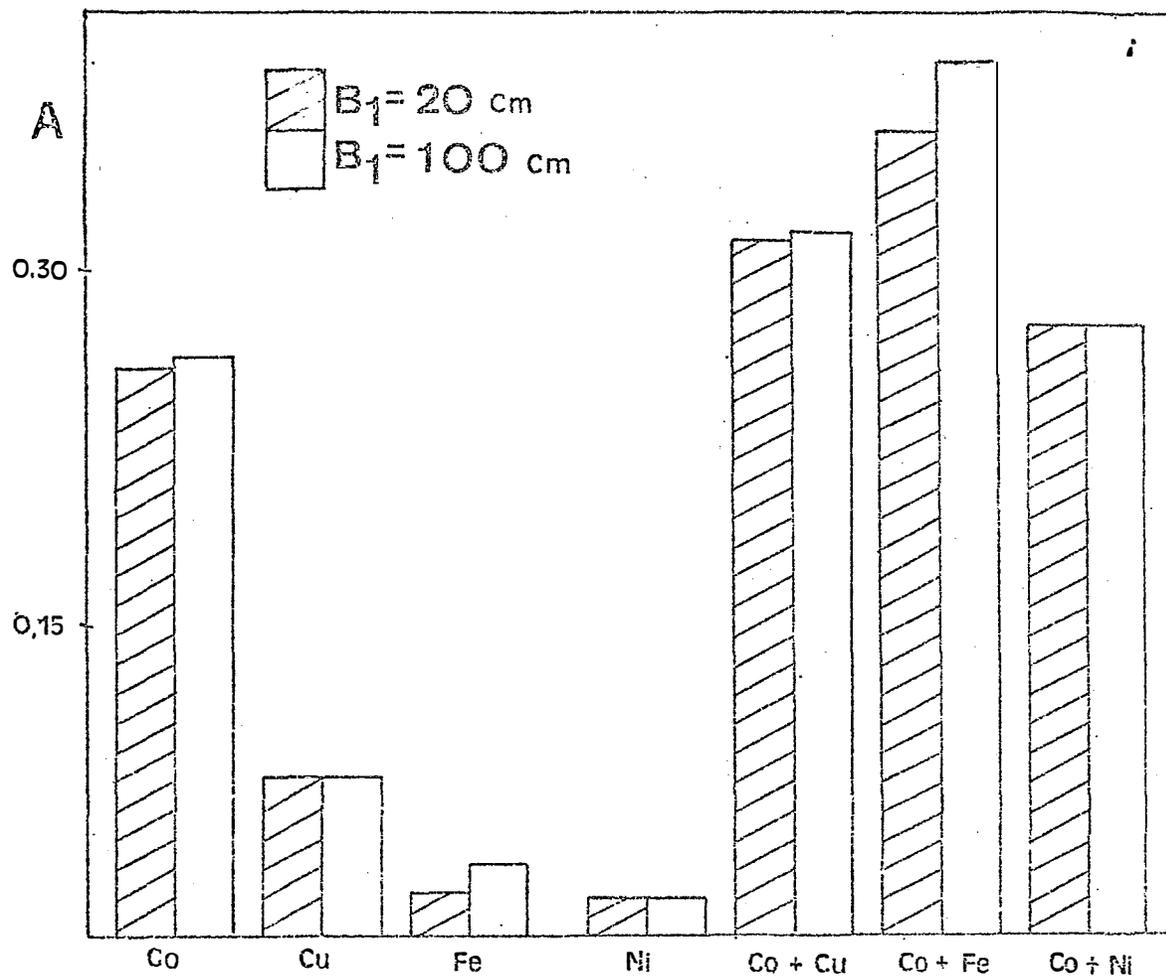


Figura 10. Influência do comprimento do reator B_1 .
Os valores se referem ao sistema FIA na Fig. 1, com
 $H = 4$ N em HNO_3 , $T =$ sol. de citrato de amônio,
 $\text{pH} = 8,5$ e $B_2 = 50$ cm.

A. Fig. 11 mostra que a aditividade no sinal analítico é observada apenas com relação ao cobalto e com: níquel, cobre e cálcio. Em presença do ferro, ocorre um fenômeno difícil de ser explicado, já que o cobalto parece potencializar a interferência do ferro, aditividade dos sinais analíticos não sendo então observada. Levanta-se então a hipótese de que o cobalto atua como catalizador, fazendo com que

a barreira do potencial requerida para a formação do complexo ferro-Nitroso-R seja diminuída promovendo sobremaneira a interferência. Desde que a aditividade não foi sempre observada, torna-se pouco provável o desenvolvimento de sistema FIA para determinação simultânea de elementos envolvendo Nitroso-R e baseada em cinética diferencial. Experimentos paralelos envolvendo aprisionamento de zonas (KRUG et alii, 1986) desconraçaram o direcionamento do projeto neste sentido.

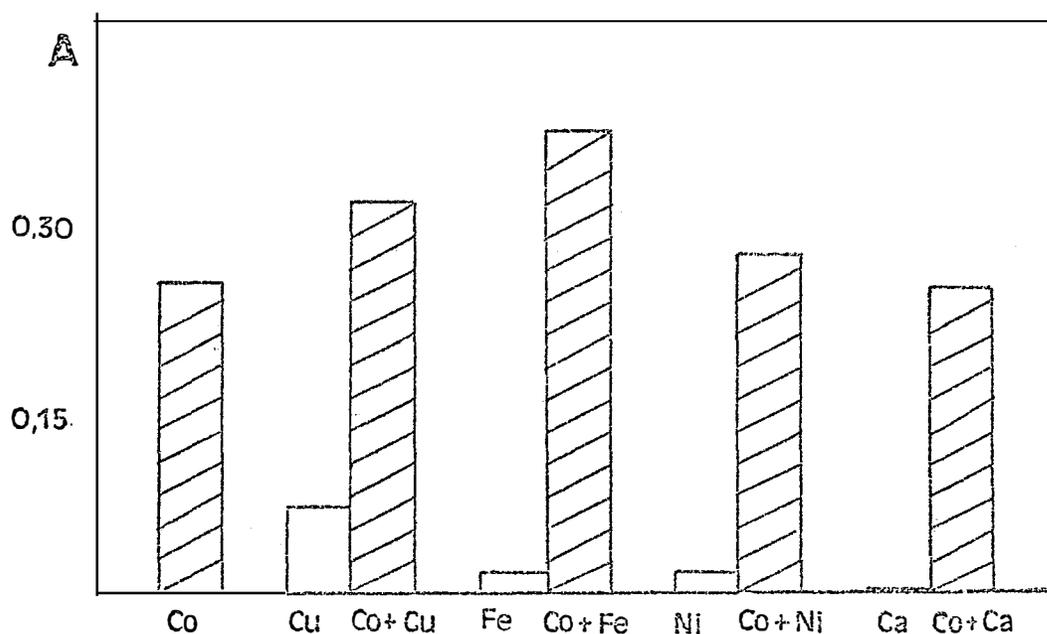


Figura 11. Efeito da adição de interferentes.

Os valores se referem ao sistema FIA da Fig. 1 com $H = 4 \text{ N}$ em HNO_3 , $T = \text{sol. de citrato de amônio}$, $\text{pH} = 7$, $B1 = 20 \text{ cm}$ e $B2 = 50 \text{ cm}$.

Analisando-se a Fig. 12, pode-se verificar a decomposição dos complexos dos íons interferentes e Nitroso-R nas diferentes condições de acidez, bem como a estabilida-

de do complexo cobalto-Nitroso-R. Este gráfico é bastante ilustrativo no que se refere à tendência geral das interferências, quer isoladamente ou na presença de cobalto. Constatou-se novamente o comportamento distinto do ferro comparativamente aos demais. Esta tendência foi verificada mesmo quando diferentes comprimentos do reator B2 (Fig. 1) foram empregados. Alguns experimentos complementares foram realizados com finalidade de obter informações adicionais sobre o comportamento dos interferentes frente a outros agentes oxidantes. Assim, ácido clorídrico teve eficiência semelhante ao ácido nítrico. Solução 1 + 1 de água régia ($\text{HNO}_3 + \text{HCl}$, 3:1, v/v) não mostrou-se eficiente e água oxigenada, além de ineficiente, provocou o desprendimento de bolhas de ar no sistema, o que inviabilizou o seu emprego. Visando melhorar as condições de destruição dos complexos interferentes, imersão de B2 em banho térmico foi também testada mas, mesmo com temperaturas inferiores a 40°C , houve desprendimento esporádico de bolhas de ar. Este problema ocorreu, provavelmente, pelo aquecimento contínuo da fina tubulação de polietileno, a qual deve ter elevado a temperatura da solução com conseqüente liberação de ar. Deve-se reportar que, com o emprego de banho térmico a 40°C não se obteve completa supressão das interferências nos níveis investigados.

Neste ponto, deve-se enfatizar a importância de se projetar um sistema FIA envolvendo aquecimento.

Pode-se observar também que as absorbâncias per-

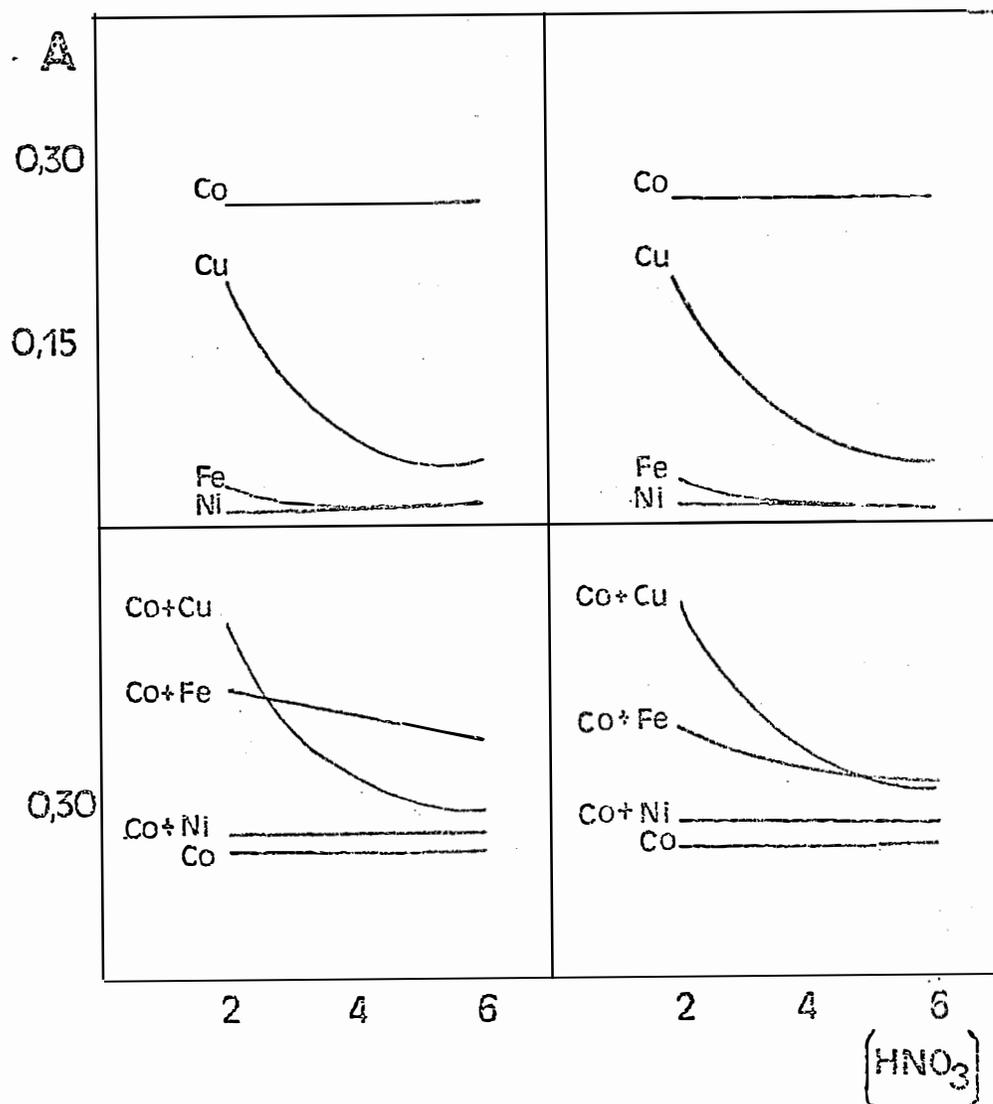


Figura 12. Efeito da concentração do ácido em H.
 Os valores se referem ao sistema da Fig. 1 com T =
 solução citrato de amônio, pH = 7, B1 = 50 cm e B2
 = 200 cm, H = 2, 4 e 6 N em HNO_3 .

maneceram praticamente constantes quando o percurso analítico foi aumentado em 150 cm (Fig. 11). Isto significa que o volume da amostra era suficientemente grande de forma que a dispersão ocorrida neste percurso, não teria contribuído de maneira significativa na diminuição do sinal analítico final.

Nestas condições, segundo ZAGATTO (1986), a adição do fluxo confluyente faz com que a dispersão em B2 seja desprezível de forma que o final analítico torna-se menos dependente do comprimento de B2.

5.2. DETERMINAÇÃO DO COBALTO EM LIGAS METÁLICAS

O sistema FIA proposto para a determinação de cobalto em ligas metálicas (Fig. 2) é bastante estável, com pequenas variações nos coeficientes da equação de calibração, em geral menores de que 5%, sendo observados em diferentes dias. A curva de calibração apresenta boa linearidade ($r = 0,9991$; $N = 6$) como pode se observar também na Fig. 13. O sistema é caracterizado por boas condições de mistura, como demonstra a linha de base (Fig. 13).

Apesar de o sistema empregar o injeção da fração diluída de amostra diretamente sobre o carregador reagente, os sinais referentes a solução padrão $0,00 \text{ mg Co/l}$ não negligíveis (Fig. 13) em virtude da alta dispersão ($D2 = 10,0$) ocorrendo no segundo estágio. A dispersão no primeiro estágio foi calculada como $D1 = 12,4$, o que implica em uma dispersão total (Dt) igual a 187 ao longo do percurso analítico. O sistema proposto poderia ser adaptado para outras faixas de concentração, variando-se as alças de amostragem e o valor $t1$. Como a amostra dispersa apresenta regiões menos reprodutíveis, a porção reamostrada deve ser sempre aquela mais central.

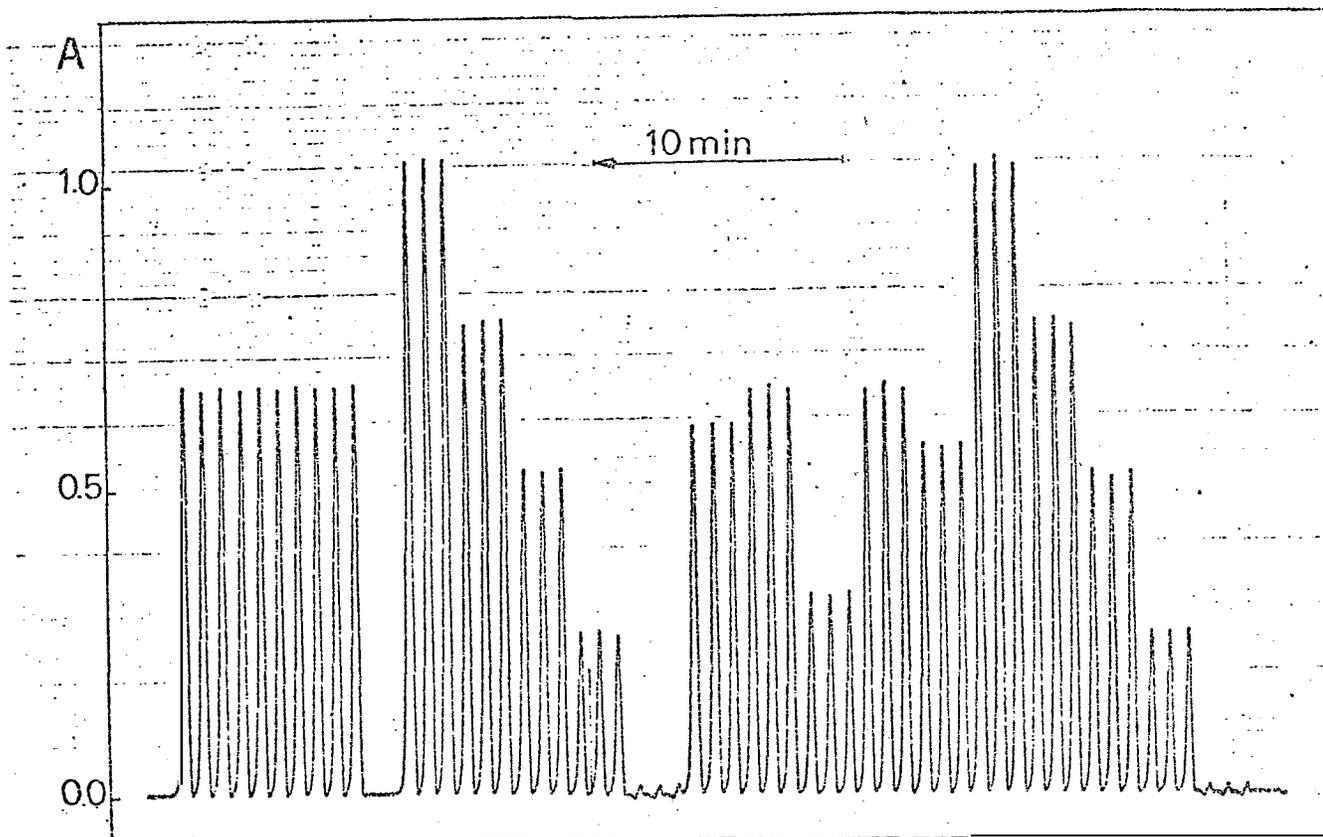


Figura 13. Registro típico de análise de rotina de ligas metálicas.

Da direita para a esquerda sinais analíticos referentes a 5 soluções padrão (0,00 - 200 - 400 - 600 e 800 mg Co/l); 5 amostras e novamente os padrões, todos obtidos em triplicata. O conjunto de picos mais a esquerda se referem a testes de precisão envolvendo amostra típica.

Com o procedimento sugerido, 80 amostras podem ser analisadas por hora com boa precisão (Fig. 13). Após 10 sucessivas medidas de uma amostra típica (10,51% Co, m/m), desvio padrão relativo igual a 0,53% foi estimado. A velocidade analítica pode ser aumentada por não haver impedimentos de cinética das reações e de pressão hidrodinâmica do sistema. Apesar de o reagente estar em largo excesso, seu consumo não é exagerado, tendo sido calculado como 3,75 mg de Nitroso-R por amostra.

A exatidão do procedimento proposto pode ser avaliada analisando-se a Tab. 2.

Tabela 2. Comparação de procedimentos para a determinação de cobalto em ligas metálicas.

Dados em % Co m/m; valores entre parênteses indicam os desvios padrão relativos dos teores determinados em três solubilizados de cada amostra.

Amostra	Procedimento proposto	Emissão atômica-ICP
	9,46 (2,51)	9,60 (0,99)
2	10,50 (0,83)	10,21 (1,46)
3	9,75 (2,28)	9,88 (0,90)
4	10,01 (2,31)	10,22 (0,16)
5	4,96 (6,52)	4,95 (0,80)
6	10,43 (0,71)	10,29 (0,13)
7	10,63 (0,70)	10,57 (0,60)
8	10,22 (0,62)	10,45 (0,92)
9	10,37 (1,43)	10,65 (0,65)
10	8,54 (0,43)	8,86 (0,85)
11	9,89 (1,30)	9,96 (0,11)
12	10,32 (0,95)	10,37 (0,95)

A correlação entre métodos foi calculada como 0,9931 (N = 12). Testes estatísticos indicam que não há diferenças estatísticas entre métodos ao nível de 1% de probabilidade (F = 0,017 NS). Pequenas diferenças entre resultados de algumas amostras são provavelmente devidas a diluição manual

requerida para a análise em ICP, a qual, em testes paralelos envolvendo operadores e vidraria diferentes, atingiu até 5%.

5.3. DETERMINAÇÃO DE COBALTO EM SUPLEMENTO MINERAL

O sistema FIA proposto para a determinação de cobalto em suplemento mineral (Fig. 3) também apresenta boa estabilidade, já que as variações nos coeficientes das equações de calibração referentes a dias diferentes não ultrapassaram 5%.

Também neste sistema, as curvas apresentam boa linearidade, os coeficientes de regressão linear sendo calculados como 0,9983 - 0,9994 e 0,9999 ($N = 7$) com relação ao primeiro pico (1°), ao segundo pico (2°) e ao sinal intermediário (3°), respectivamente. Após sete replicações de uma amostra típica (7,95 mg Co/l), os desvios padrão relativos associados as medidas dos 1°, 2° e 3° sinais analíticos foram calculados como 0,80% - 0,60% e 1,12%, respectivamente. Em função das boas condições de linearidade da curva de calibração e de reprodutibilidade das medidas, pode-se comparar qualquer sinal analítico da amostra com qualquer sinal analítico referente aos padrões. A transposição entre as diversas curvas de calibração é realizada empregando-se fatores simples, experimentalmente determinados. Neste trabalho, os fatores foram calculados como 1.956 e 3.656 para transposição entre o 1° e 2° e en

tre o 1º e 3º sinais analíticos, respectivamente. Desta forma, para sete soluções padrão, dezenove sinais analíticos foram obtidos, permitindo a determinação de teores de cobalto abrangendo maiores faixas de concentração.

Durante a execução do experimental, notou-se que este sistema é mais flexível a ajustes, relativamente aquele envolvendo injeção sequencial-simultânea (ZAGATTO et alii, 1985), ambos apresentando características analíticas semelhantes.

A estabilidade da linha de base (Fig. 14) representa as boas condições de mistura do sistema proposto. A partir da Fig. 14, pode-se confirmar também que o sinal referente a prova em branco é negligível, característico dos sistemas em confluência.

Um total de 40 amostras por hora são analisadas com um consumo de 12,6 mg de Nitroso-R por amostra. Similarmente ao sistema da Fig. 3, a velocidade analítica pode ser aumentada, dada a ausência de limitações de cinética de reações ou de pressão hidrodinâmica. Uma comparação entre velocidades analíticas deste sistema e de um sistema FIA tradicional requerendo três alterações em módulo de análise e três análises do lote de amostras não foi conduzida, porque a superioridade do sistema proposto neste aspecto seria mais ou menos enfatizada, em função da variabilidade dos teores de cobalto das amostras e do grau de interpenetração de amostras, "carryover", pré-estabelecido para o sistema FIA tradicional.

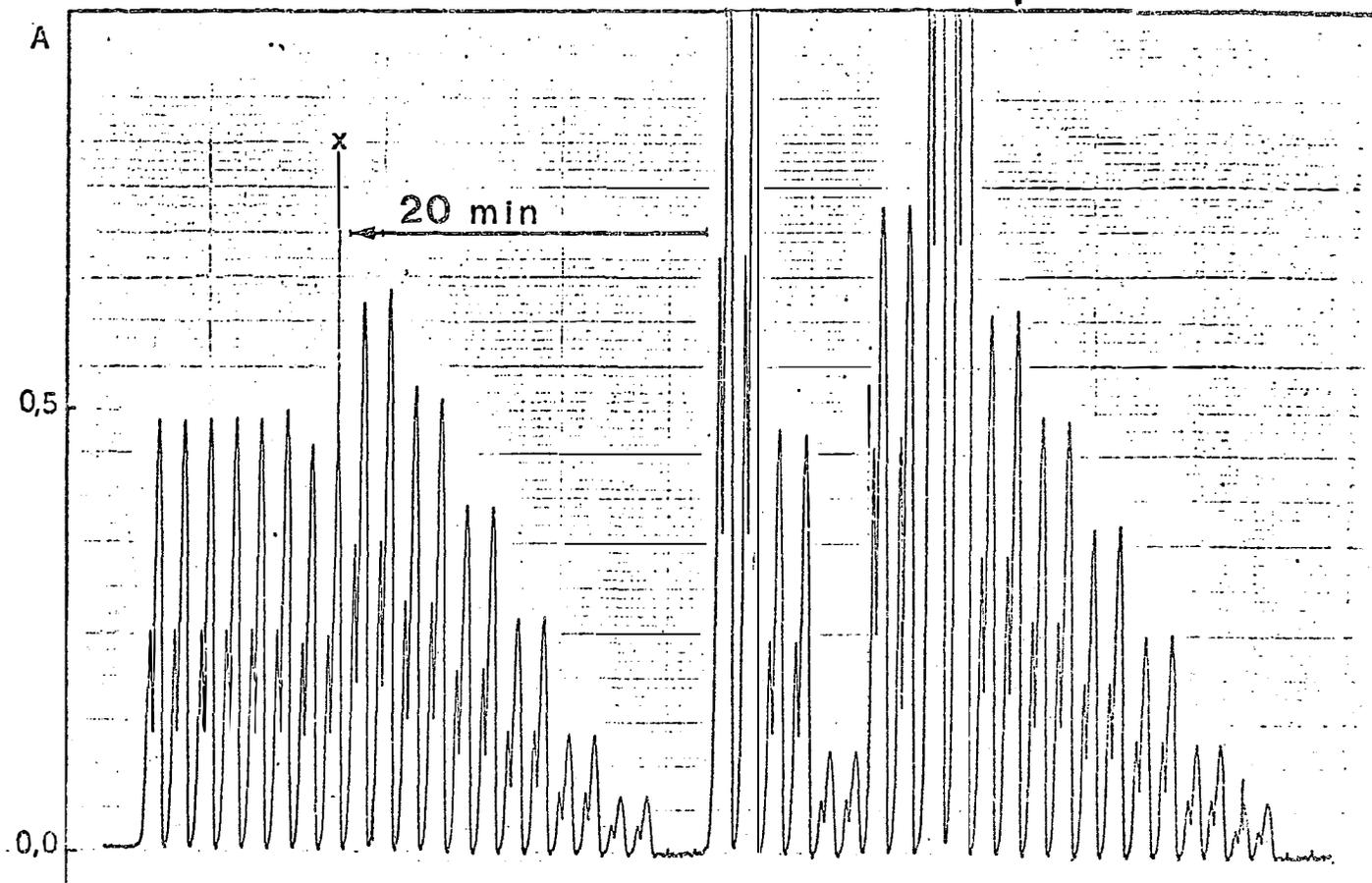


Figura 14. Registro típico de análise de rotina de suplemento mineral.

Da direita para a esquerda sinais analíticos referentes a sete soluções padrão (0,00 - 1,00 - 2,00 - 4,00 - 6,00 - 8,00 - 10,00 mg Co/l), 5 amostras e novamente os padrões, todos obtidos em duplicata. O conjunto mais a esquerda se refere a testes de precisão envolvendo amostra típica. O sinal referente a x representa passagem de bolha de ar que inutiliza o sinal analítico até obtenção de estabilidade.

A Tabela 3 inclui os resultados referente a 6 amostras analisadas pelo procedimento proposto e por espectrometria de emissão atômica com plasma induzido em argônio (ICP). Os desvios padrão relativos não são apresentados porque, esp

radicamente, foram observadas diferenças inaceitáveis entre repetições, as quais se devem provavelmente a limitações nas etapas de amostragem ou de solubilização. Isto não foi sistematicamente investigado por não se enquadrar perfeitamente nos objetivos deste trabalho.

Testes estatísticos indicam que não há diferença significativa entre métodos, ao nível de 1% de probabilidade ($F = 0,052$ NS).

Tabela 3. Comparação de procedimentos para a determinação de cobalto em suplementos minerais.

Dados em mg Co/l referidos ao solubilizados.

Amostra	Procedimento proposto-FIA	Espectrometria de emissão atômica
1	19,33	19,09
2	0,45	0,53
3	6,98	6,06
4	1,81	1,52
5	16,02	15,34
6	6,52	7,08

A partir dos resultados referentes a 10 amostras processadas em rotina e já analisadas por emissão atômica, boa correlação entre métodos ($r = 0,9622$) foi verificada. Cumpre salientar que efeitos de salinidade não afetam significativamente o procedimento FIA proposto, uma vez que o sinal

1º se refere a uma amostra em situação tendendo aquela de volume "infinito". Ainda, as concentrações dos interferentes em potencial nas amostras (Tab. 4) estão abaixo dos níveis acima dos quais as interferências se manifestam (V. também Fig. 11).

Tabela 4. Concentração de alguns elementos em amostras típicas. Os dados, em mg Co/g, constam dos certificados de fabricação (*) e foram obtidos também por ICP (**).

Elem.	Suplemento mineral									
	*	**	*	**	*	**	*	**	*	**
Co	3,77	3,12	0,06	0,02	0,35	0,26	4	5,54	1	1,0
Cu	3,94	3,27	0,07	0,11	1,3	1,26	30	25,8	20	18,8
Fe	69,94	52,7	4,0	6,37	4,0	5,60	180	57,6	40	41,4
Zn	1,14	0,95	0,6	0,78	5,5	3,72	140	3,32	99	3,4
Mn	17,11	8,92	1,0	1,46	1,5	1,52	80	-	50	-

Com o sistema proposto pode-se, ainda, lançar mão de um critério adicional para avaliar exatidão. Para algumas amostras, a concentração de cobalto pode ser calculada considerando-se dois ou até três sinais analíticos. Nestas, a mesma concentração foi calculada, em que pese as diferentes diluições envolvidas.

5.4. DETERMINAÇÃO DE COBALTO EM MATERIAL VEGETAL

5.4.1. Posicionamento da coluna de resina

Estudando-se o sistema da Fig. 4, parece ser bastante lógica a viabilidade de concentrar um volume de amostra previamente definido por alça de amostragem, já que as três etapas de condicionamento da resina estariam implícitas na comutação usada normalmente; o tempo requerido para nova amostragem estaria, simultaneamente, sendo empregado para eluição das espécies retidas. Entretanto, quando um experimental qualitativo, usando solução colorida, foi realizado, pôde-se perceber que o esvaziamento da alça de amostragem era fator limitante na frequência analítica. Isto vem confirmar que, para maiores volumes injetados, injeção baseada em alça de amostragem é menos eficiente (KRUG et alii, 1976). Neste trabalho, mais de dois minutos eram necessários para garantir que o volume total de amostra passaria pela resina. A morosidade do sistema e a incerteza do controle do tempo empregado para a etapa de concentração, que implica em não reprodutibilidade dos sinais, determinaram o abandono deste projeto. Evidentemente, para sistemas onde a lavagem da resina é fator limitante, especialmente aqueles colorimétricos, esta geometria pode ser eventualmente recomendada.

Com o sistema no qual o volume de amostra é controlado pelo tempo (Fig. 5), foi possível uma concentração

do cobalto significativamente maior do que aquela referente ao sistema FIA da Fig. 4. O sinal analítico obtido após 90s de concentração foi de aproximadamente 5 vezes aquele obtido pela leitura direta. Testes rápidos indicaram que otimização das etapas de concentração e eluição são viáveis. A minimização da dispersão deste sistema pode ser obtida diminuindo o percurso analítico (reator B, Fig. 5).

5.4.2. Comportamento da resina

Com o sistema da Fig. 6, o qual incluiu espectrometria de absorção atômica, verificou-se que diferentes naturezas do agente complexante/tampão usado em T implicam em diferentes comportamentos da resina na etapa de concentração. Primeiramente, citrato foi empregado já que, conforme comentado em 5.1, mostrou-se eficiente no mascaramento dos interferentes. Neste caso porém, impediu quase totalmente a retenção do cobalto pela resina. Tartarato provocou uma redução no sinal de cobalto quando zinco, cobre, cálcio ou ferro estavam presentes; a reprodutibilidade do sinal piorou, mas aparentemente a resina não parecia afetada. Oxalato, quando cálcio estava presente, formou precipitado de oxalato de cálcio. Trietanolamina favorece sobremaneira a retenção do ferro. Ácido ascórbico degrada a resina. EDTA aniquila o sinal do cobalto. Tris - (hidroximetil) aminometano, apesar de ótimo tampão, não tem poder complexante com íons interferentes. Acetato, ape-

sar dos resultados de 5.1, foi o único que apresentou-se satisfatoriamente para a etapa de concentração de cobalto.

O pH na etapa de concentração não é crítico, já que para os diversos ítems estudados, observou-se uma constância em termos de retenção na faixa de pH de 5 a 8. Assim, provavelmente não é obtida uma separação seletiva mas sim uma concentração total para cobalto e parcial para os demais. Nestes experimentos, a concentração do eluente foi de 2 N em NH_4NO_3 , definida em testes preliminares. Para estudo sistemático da etapa de eluição, foram empregados vários eluentes em diferentes concentrações. Os resultados obtidos para HCl e HNO_3 foram praticamente idênticos. A rapidez de eluição está relacionada com a concentração do ácido embora seja quantitativa para todas as diluições. Usando-se solução de nitrato de sódio não houve eluição. Caso tivesse sido possível a eluição com esta solução, não haveria futuros problemas com o pH da reação com o Nitroso-R.

Para todos os testes com AAS, foram empregadas soluções tampão de citrato, acetato, etc., de amônio, devido a forte coloração na chama e precipitação no queimador do AAS, quando sais sódicos são empregados.

Alguns destes testes foram refeitos empregando-se o sistema FIA colorimétrico, uma vez que foram observadas diferenças no sinal do cobalto quando outros íons eram introduzidos. Isto dificultada a interpretação dos resultados por não se ter certeza se a interferência era de origem química no AAS, ou referentes ao comportamento da resina.

Com relação a etapa de condicionamento ou lavagem da resina, experimentos complementares indicaram que ela é perfeitamente dispensável, e que os efeitos da expansão e contração não são significativos para o processo como um todo. Com uma solução padrão de 5,00 mg Co/l, as vazões dos fluxos amostrador e eluente foram variadas. Utilizaram-se vazões iguais a 50 - 100 - 150 e 200% relativamente as vazões "padrão" de 2,0 ml/min. Para vazão do fluxo amostrador igual a 50%, obteve-se um sinal analítico igual a 49% daquele obtido na situação "normal", o que indica a linearidade da concentração em função das vazões de concentração e eluição nesta situação. Entretanto, a linearidade não foi observada com relação as maiores vazões, aumento de sinal analítico de apenas 28 e 41% sendo obtido com o emprego de vazões 150 e 200% daquela "normal".

Com a vazão padrão restaurada, variaram-se os tempos de concentração (30 - 60 - 90 e 120 s), obtendo-se sinais de 49, 75, 90% com relação ao tempo de concentração de 120 s. Verifica-se então que o aumento do tempo de concentração também diminui, de maneira menos pronunciada, a % de cobalto retida na resina. Optou-se por empregar a vazão "normal" e um tempo de concentração de 90s, mesmo considerando-se que, nesta situação, apenas aproximadamente 90% do cobalto era retido. Aumento na vazão ou no tempo de concentração implicou ainda em pressão excessiva na resina com conseqüente rompimento nas conexões.

5.4.3. Sistema FIA espectrofotométrico empregando a resina Chelex-100

Neste sistema (Fig. 7), o procedimento adotado para determinar o volume de amostra foi por controle de tempo já que a etapa de condicionamento pode ser dispensada.

O eluente usado foi uma solução 1 N em HNO_3 . Soluções mais concentradas não são convenientes em função do efeito "Schlieren" que torna-se mais pronunciado. Por outro lado, a diminuição desta concentração piora as condições de eluição, picos mais largos e de menor altura sendo registrados.

Após definição da concentração do eluente foi realizado tamponização do percurso analítico usando NaOH e citrato de sódio. Observou-se que, quando o comutador era acionado e a coluna com resina introduzida no percurso analítico, o pH de uma fração limitada da amostra processada era deslocado para a faixa alcalina, em torno de pH 10, conforme medição envolvendo papel indicador de pH. Retirando T2, o sinal para cobalto permanecia quase inalterado. Comprovou-se assim o gradiente de pH existente na zona de amostra eluída, o qual é mais intenso nos primeiros instantes após a comutação. Nesta situação inicial, o pH da porção mais central da zona de amostra não contém ainda o eluente em concentração significativa, de forma que o seu pH é praticamente igual ao pH da etapa de concentração. Mas com isso um segundo problema surgiu pois o

acetato não é bom complexante para os interferentes e assim eles continuavam se manifestando. Desta forma, manteve-se o citrato de sódio em T2.

O sistema espectrofotométrico empregando resina Chelex-100 é muito estável, sendo a lei de Beer sempre seguida ($r = 0,999$ e $N = 5$). O desvio padrão relativo à alturas de picos referentes a 12 medidas de uma mesma amostra (0,21 mg Co/l) foi de 0,12%, o que reflete a boa precisão do procedimento.

A velocidade analítica é de 30 amostras por hora, podendo ser aumentada para lotes de amostras com maiores teores de cobalto, os quais requerem tempo de concentração menores. Nesse aspecto, o emprego duas resinas pode quase duplicar esta taxa de amostragem.

Entretanto, o procedimento pode ser bastante limitado por interferentes. Verificou-se que a presença de cálcio, cobre, zinco, ferro e níquel em 1 (Fig. 7), em concentrações suficientes para similar concentrações de 25000, 125, 125, 1000 e 25 mg/l na amostra, provocou sinais analíticos correspondentes a concentrações hipotéticas de cobalto de aproximadamente 0; 0,25; 0; 0 e 0,22, respectivamente. Ressaltam-se os baixos sinais de cobre e ferro. Entretanto, a presença destes interferentes determinou uma redução significativa, a qual atingiu até 43% no caso do ferro, do sinal do cobalto. Minimização destes efeitos empregando-se maior quantidade de resina, diferentes complexantes, maiores concentrações de T1

(o qual determina o tempo disponível para a complexação em Bl) e maiores concentrações de HNO_3 em H foram testadas com pouco sucesso.

Considerando-se que a boa linearidade da curva padrão é típica do sistema, o método das adições padrão pode ser alternativa viável neste caso.

Os testes de recuperação apresentam boa resposta como índice de precisão (Tab. 5).

Tabela 5. Dados referentes a recuperação de cobalto em amostras de material vegetal.

Sistema FIA espectrofotométrico empregando resina Chelex-100.

Amostra	ppb cobalto na matéria seca			Recuperação (%)
	inicial	estimado	adição*	
1	710	2568	2000	77,80
2	680	2544	2460	96,70
3	1230	2984	2860	95,84
4	1740	3292	3260	99,03
5		2970	2850	95,96

* determinado pela adição de 5,0 ml de solução 1,00 mg Co/l em 20 ml de amostra.

A Tabela 6 apresenta os teores de alguns elementos considerados interferentes em potencial, em cada amostra.

Tabela 6. Concentração de alguns elementos em amostras típicas de material vegetal.

Determinados por ICP-AES sem correção de interferências. Valores em mg/l no solubilizado.

Amostra	Co	Fe	Zn	Cu	Ca	Mn	Mg
	0,01	36,39	1,25	0,62	238,2	5,86	77,7
2	0,04	9,90	0,95	0,41	214,2	1,05	164,7
3	0,08	10,14	0,78	0,23	48,0	1,89	57,4
4	0,12	25,11	2,19	0,58	181,8	7,62	91,4
5	0,06	6,95	0,48	0,11	72,05	3,21	44,0

Apesar dos resultados indicarem a viabilidade do sistema para amostras de materiais vegetais, este não é proposto como definitivo, uma vez que estudos mais amplos envolvendo inclusive outras resinas são sugeridos pelo autor.

6. CONCLUSÕES

O reagente Nitroso-R é perfeitamente adequado para sistemas automatizados empregando injeção em fluxo. A alta absorvidade molar do complexo permite o projeto de sistemas FIA bastante sensíveis, a lei de Beer sendo sempre obedecida. A complexação do cobalto é sempre rápida, ao contrário daquelas relativas a alguns íons interferentes, característica esta que determina uma melhor seletividade dos sistemas FIA relativamente aos procedimentos manuais. A acidez e a concentração do reagente colorimétrico não são críticas, o que permite o projeto de um sistema robusto, viabilizando também o emprego de injeção de amostra diretamente sobre a solução reagente em situações requerendo alta dispersão da amostra.

Recomendam-se estudos visando a automação em sistemas FIA de métodos requerendo reações a quente.

Para determinação de cobalto em ligas metálicas o sistema proposto apresenta-se vantajoso no que se refere a rapidez analítica, consumo de reagente, tolerância a in-

terferentes, precisão analítica, versatilidade e custo, não requerendo diluição prévia das amostras.

Para análise de suplementos minerais, o sistema abrange uma ampla faixa de concentrações, erros intrínsecos à diluição manual e triagem prévia das amostras sendo consequentemente evitados.

A proposta de um sistema para determinação de cobalto em material vegetal não foi possível. Boa sensibilidade foi atingida mas severa interferência, provavelmente, na etapa de concentração com resina quelante foi observada. Apesar disto, os sistemas estudados se mostraram muito estáveis, fornecendo sempre resultados precisos. Isto confirma que sistemas FIA incluindo troca iônica podem ser aplicados a outros tipos de amostras. A possibilidade de uma aplicação a material vegetal pode talvez se viabilizar após estudos envolvendo outras resinas e/ou outros complexantes.

Finalizando, deve-se ressaltar as potencialidades e versatilidades dos sistemas FIA como procedimento de análise.

LITERATURA CITADA

ALEXANDER, P.W. e THALIB, A., 1983. Nonsegmented rapid-flow analysis with ultraviolet/visible detection for short sampling times. *Anal. Chem*, Washington, 55: 497-501.

BABAN, S.; BEETLESTONE, D.; BETTERIDGE, D. e SWEET, P., 1980. The determination of sulphate by flow injection analysis with exploitation of pH gradients and EDTA. *Anal. Chim. Acta*, Amsterdam, 114: 319-323.

BEEGHLY, H.F. e PASZTOR, L.C., 1963. Ferrous metallurgy. *Anal. Chem.* 35: 88R-96R.

BERGAMIN Fº, H.; REIS, B.F.; JACINTHO, A.O. e ZAGATTO, E.. A. G., 1980. 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.

BERGAMIN Fº, H.; REIS, B.F. e ZAGATTO, E.A.G., 1978a. A new device for improving sensitivity and stabilization in flow injection analysis. *Anal. Chim. Acta.*, Amsterdam, 97: 427.

- BERGAMIN Fº, H.; ZAGATTO, E.A.G.; KRUG, F.J. e REIS, F.B., 1978b. Merging zones in flow injection analysis. Part 1. Double proportional injector and reagent consumption. **Anal. Chim. Acta.**, Amsterdam, **101**: 17-23.
- DETERIDGE, D. e FIELDS, B., 1981. The application of pH gradients in flow injection analysis. A method of simultaneous determination of binary mixtures of metal ions in solution. **Anal. Chim. Acta.**, **132**: 139-155.
- BIO-RAD LABORATORIES, Product Information 2020, Bio-Rad Co. New York, March, 1981, 8p.
- BONIFORTI, R.; FERRAROLI, R.; FRIGIERI, P.; HELTAI, D. e QUEIRAZZA, G., 1984. Intercomparasion of five methods for determination of trace metals in sea waters. **Anal. Chim. Acta**, Amsterdam, **162**: 33-46.
- CLAASSEN, A. e WESTERVELD, W., 1948. The photometric determination of cobalt with Nitroso-R salt. **Recueil**, **67**: 720-724.
- ELLIS, A.T.; LEYDEN, D.E.; WEGSCHEIDER, W.; JABLONSKI, B.B. e BODNAR, W., 1982. Preconcentration methods for the determination of trace elements in water by X - ray fluorescence spectrometry. **Anal. Chim. Acta**, Amsterdam, **142**: 89-100.
- FANG, Z.; RUZICKA, J. e HANSEN, E.H., 1984a. An efficjent flow-injection of trace amounts of heavy metals by atomic absorption spectrometric. **Anal. Chim. Acta.**, Amsterdam, **164**: 23-29.

- FANG, Z.; XU, S. e ZHANG, S., 1984b. The determination of trace amounts of heavy metals in water by a flow-injection system including ion-exchange preconcentration and flame atomic absorption spectrometric detection. *Anal. Chim. Acta*, Amsterdam, 164: 41-50.
- FLORENCE, T.M. e BATLEY, G.E., 1975. Removal of trace metals from sea water by a chelating resin. *Talanta*, Londres, 22: 201-204.
- GINE, M.F.G.R., 1986. Análises de rochas por espectrometria de emissão atômica com plasma induzido empregando sistema de injeção em fluxo e método generalizado das adições padrão. ESALQ-USP, Piracicaba. 94pp. (Tese de Doutorado).
- GINE, M.F.G.R.; REIS, B.F.; ZAGATTO, E.A.G.; KRUG, F.J. e JACINTHO, A.O., 1983. A simple procedure for standard additions in flow injection analysis. Spectrophotometric determination of nitrate in plant extracts. *Anal. Chim. Acta*, Amsterdam, 155: 131-138.
- GISIN, M.; THOMMEN, C. e MANSFIELD, K.F., 1986. Hydrodynamically limited precision of gradient techniques in flow injection analysis. *Anal. Chim. Acta*, Amsterdam, 179: 149-167.
- GUIMARÃES, J.M., 1968. Microdeterminação de cobre e cobalto em materiais biológicos. *Pesq. Agropec. Bras.*, 3: 341-345.
- GUIMARÃES, L.F.L., 1979. Desenvolvimento de um procedimento para a separação de ^{57}Co e ^{58}Co , na forma "livre carregador", a partir de alvos de níquel irradiados, Campinas, Universidade Estadual de Campinas, 92p. (Dissertação de Mestrado).

JØRGENSEN, S.S.; PETERSEN, K.M. e HANSEN, L.A., 1984. Comunicação pessoal.

JØRGENSEN, S.S.; PETERSEN, K.M. e HANSEN, L.A., 1985. A simple multifunctional valve for flow injection analysis. *Anal. Chim. Acta*, Amsterdam, **169**: 51-57.

KINGSTON, H.M.; BARNES, I.L.; BRADY, T.Y.; RAINS, T.C. e CHAMP, M.A., 1978. Separation of eight transition elements from alkali and alkaline earth elements in estuarine and seawater with chelating resin and their determination by graphite furnace atomic absorption spectrometry. *Anal. Chem.*, Chicago, **50**: 2064-2070.

KOLTHOFF, I.M.; ELVING, P.J. e SANDELL, E.B., 1962. Treatise on Analytical Chemistry. Ed. Interscience Publishers. V. 2.

KOLTHOFF, I.M.; SANDELL, E.B.; MEEHAN, E.J. e BRUCKENSTEIN, S. 1969. Quantitative chemical analysis. London, Collier-Macmillan Limited, 4ed., 1199p.

KRUG, F.J., 1984. A determinação de sulfato em águas naturais e digeridos de vegetais por turbidimetria empregando sistema de injeção em fluxo. Piracicaba, ESALQ - USP, (Tese de Doutorado).

KRUG, F.J.; BERGAMIN Fº, H. e ZAGATTO, E.A.G., 1986. Commutation in flow injection analysis. *Anal. Chim. Acta*. Amsterdam, **179**: 103-119.

KRUG, F.J.; PESSENDA, L.C.R.; ZAGATTO, E.A.G.; JACINTHO, A.O. e REIS, B.F., 1981. Spectrophotometric flow injection determination of chloride in ethanol. *Anal. Chim. Acta*, Amsterdam, **130**: 409-413.

- KRUG, F.J.; REIS, B.F.; GINE, M.F.; ZAGATTO, E.A.G.; FERREIRA, J.R. e JACINTHO, A.O., 1983. Zone trapping in flow injection analysis. Spectrophotometric determination of low levels of ammonium ion in natural waters. **Anal. Chim. Acta**, Amsterdam, **151**: 39-48.
- LAMATHE, J., 1979. Methodē d'Elution selective pour l'extraction des metaux lourdes de l'eau der mer sur resine chelatante. **Anal. Chim. Acta**, Amsterdam, **104**: 307-317.
- LANDGREBE, A.R.; McCLENDON, L.T. e De VOE, 1965. Substoichiometric radiometric analysis: determination of trace amounts of cobalt. **Radiochem. Methods of Analysis**, Vol. II, IAEA, 14pp.
- LEE, C.; KIM, N.B.; LEE, I.C. e CHUNG, K.S., 1977. The use of a chelating resin column for preconcentration of trace elements from sea-water in their determination by neutron-activation analysis. **Talanta**, Londres, **24**: 241-245.
- MALAMAS, F.; BENGTTSSON, M. e JOHANSSON, G., 1984. On - line trace metal enrichment and matrix isolation in atomic absorption spectrometry by a column containing immobilized 8-quinolinol in flow-injection system. **Anal. Chim. Acta**, Amsterdam, **160**: 1-10.
- MARCZENKO, Z., 1976. Spectrometric determination of elements. Ed. John Wiley & Sons Inc. 643pp.
- MARSTON, H.R. e DEWEY, D.W., 1940. The estimation of cobalt in plant and animal tissues. **Australian Exptl. Biol. Med. Sci.**, **18**: 343-352.

- McNAUGHT, K.J., 1942. The determination of cobalt in animal tissues. *The Analyst*, Londres, **67**: 97-98.
- MUELLER, H., 1982. Catalytic methods of analysis. *CRC Crit. Rev. Anal. Chem.*, London, **3**(4): 313-372.
- OLIVEIRA, E., 1986. Comunicação pessoal.
- OLSEN, S.; PESSENDA, L.C.R.; RUZICKÁ, J. e HANSEN, E.H., 1983. Combination of flow injection analysis with flame atomic-absorption spectrometry: determination of trace amounts of heavy metals in polluted sea water. *Analyst*, London, **108**: 905-917.
- OVENSTON, T.C.J. e PARKER, C.A., 1950. Notes on the spectrophotometric determination of cobalt and nickel in the microgram range. *Anal. Chim. Acta*, Amsterdam, **4**: 142-252.
- REIS, B.F.; JACINTHO, A.O.; MORTATTI, J.; KRUG, F.J.; ZAGATTO, E.A.G.; BERGAMIN Fº, H. e PESSENDA, L.C.R., 1981. Zone sampling processes in flow injection analysis. *Anal. Chim. Acta*, Amsterdam, **123**: 221-228.
- RUZICKA, J. e HANSEN, E.H., 1975. Flow injection analysis. Part 1. A new concept of fast continuous flow analysis. *Anal. Chim. Acta*, Amsterdam, **78**: 145-157.
- RUZICKA, J. e HANSEN, E.H., 1980. Flow injection analysis. Principles, applications and trends. *Anal. Chim. Acta*, Amsterdam, **114**: 19-44.
- RUZICKA, J. e HANSEN, E.H., 1981. Flow injection analysis. New York, John Wiley, 207pp.

- RUZICKA, J. e HANSEN, E.H., 1986. The first decade of glow injection analysis. From serial assay to diagnostic tool. *Anal. Chim. Acta*, Amsterdam, **179**: 1-58.
- SANGAL, S.P., 1966. Un agent chromogine interessant: le sel Nitroso-R. *Chimie Analytique*, **48**: 351-353.
- SHIPMAN, W.H.; FOTI, S.C. e SIMON, W., 1955. Nature and elimination of interferences in the determination of cobalt with Nitroso-R salt. *Anal. Chem.*, Chicago, **27**: 1240-1245.
- SHIPMAN, W.H. e LAI, J.R., 1956. General photometric micro-determination of cobalt with Nitroso-R salt. *Anal. Chem.* Chicago, **28**: 1151-1152.
- STELLA, R.; VALENTINI, M.T.G. e MAGGI, L., 1985. Cobalt pre-concentration on a Nitroso-R salt functional resin and elution with titanium (III). *Anal. Chem.*, Chicago, **57**: 1941-1943.
- STEWART, K.K.; BEECHER, G.H. e HARE, P.E., 1976. Rapid analysis of discrete samples: the use of nonsegmented, continuous flow. *Anal. Biochem.*, New York, **10**: 167-173.
- VACALCEL, M. e CASTRO, M.D.L., 1984. Analysis for injection en flujo. Cordoba-España, Imprenta São Pablo, 450pp.
- VanGRIEKEN, R.E.; BRESSELEERS, C.M. e VanDERBORGHT, B.M., 1977. Chelex-100 ion-exchange filter membranes for pre-concentration in X-ray fluorescende analysis of water. *Anal. Chem.*, Chicago, **49**: 1326-1331.

- VANKLOOSTER, H.S., 1921. Nitroso-R salt, a new reagent for the detection of cobalt. *J. Am. Chem. Soc.*, Washington, **43**: 746-749.
- WALSH, L.M., 1971. Instrumental methods for analysis of soils and plant tissue. Svil. Science Society of American, Inc., Wisconsin.
- SAHLESTRÖM, Y. e KARLBERG, B., 1986. An unsegments extration system for flow injection analysis. *Anal. Chim. Acta*, Amsterdam, **179**: 315-323.
- YAMADA, M.; NAKAHARA, S. e SUZUKI, S., 1983. Improved chemiluminescence determination of traces of cobalt (II) by continuous flow and flow injection methods. *Anal. Chim. Acta*, Amsterdam, **155**: 259-262.
- YOUNG, R.B.; PINKNEY, E.T. e DICK, R., 1946. Colorimetric determination of cobalt in metallurgical products with Nitroso-R salt. *Ind. and Eng. Chem.*, **18**: 472-476.
- ZAGATTO, E.A.G., 1981. Análises químicas multielementares em sistemas FIA-ICP-GSAM e classificação dos solos do Estado de São Paulo. Universidade de Campinas, 84p. (Tese de Doutorado).
- ZAGATTO, E.A.G., 1986. A confluência nos sistemas de análise por injeção em fluxo. Piracicaba, ESALQ/USP, 78p. (Tese de Livre Docência) (no prelo).
- ZAGATTO, E.A.G.; GINE, M.F.; FERNANDES, E.A.N.; REIS, B.F. e KRUG, F.J., 1985. Sequential injection in flow systems as an alternative to gradient exploitation. *Anal. Chim. Acta*, Amsterdam, **173**: 289-297.

ZAGATTO, E.A.G.; JACINTHO, A.O.; PESSEDA, L.C.R.; KRUG, F.J.; REIS, B.J. e BERGAMIN Fº, H., 1981. Merging zones in flow injection analysis. Part 5. Simultaneous determination of aluminium and iron in plant digest by a zone - sampling approach. *Anal. Chim. Acta*, Amsterdam, 1: 25-37.