



Universidade Federal do ABC

UNIVERSIDADE FEDERAL DO ABC

Bacharelado em Química

CAROLINA YURI ARAKAKI

**Extração sólido-líquido em sistema de análise em fluxo para a determinação
de fósforo solúvel em materiais vegetais**

Trabalho de Conclusão de Curso

Santo André – SP

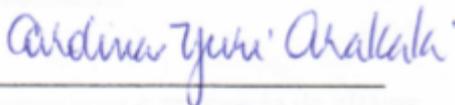
Abril de 2016

UNIVERSIDADE FEDERAL DO ABC

**Extração sólido-líquido em sistema de análise em fluxo para a determinação
de fósforo solúvel em materiais vegetais**

Trabalho apresentado à Universidade Federal
do ABC como parte dos requisitos necessários
para obtenção do título de Bacharel em
Química.

Aluna: Carolina Yuri Arakaki



Orientador: Diogo Librandi da Rocha



Santo André – SP

Abril de 2016

AGRADECIMENTOS

Ao meu orientador Prof. Dr. Diogo Librandi da Rocha, por ter supervisionado de forma extremamente responsável todas as etapas de preparação deste trabalho, por toda ajuda e paciência.

Aos meus pais Mario Arakaki (*in memoriam*) e Neusa Naoko Higa Arakaki, e irmãos Livia Mika Arakaki e Lucas Kenji Arakaki, pelo incentivo e apoio incondicional.

À Prof. Dra. Ivanise Gaubeur e ao Prof. Dr. Alexandre Z. Carvalho pelo empréstimo de equipamentos para realização do trabalho.

Ao Prof. Dr. Fábio Rodrigo Piovezani Rocha e à técnica Sheila Roberta Wenzel Perdigão, do Centro de Energia Nuclear na Agricultura da Universidade de São Paulo, pelo empréstimo de reagentes e material de laboratório.

À Prof. Dra. Wanessa Melchert Mattos, da Escola Superior de Agricultura Luiz de Queiróz da Universidade de São Paulo, pelo empréstimo de material de laboratório.

Aos técnicos dos laboratórios didáticos da UFABC que auxiliaram com o manuseio de alguns equipamentos.

Aos membros da banca pela disponibilidade e pelos comentários e sugestões apresentados.

Ao Fundo de Amparo à Pesquisa do Estado de São Paulo pelo financiamento de equipamentos e reagentes.

Aos meus amigos e colegas de curso, Lindomar, Karen, Gabriela, Iris, Débora, Michelle, Ionah e Alexandre, por me acompanharem nessa jornada e por nunca me deixarem desistir; mais que amigos, uma família.

RESUMO

A preparação de amostras é considerada uma etapa crítica em uma análise química, uma vez que é suscetível a erros sistemáticos, demanda muito tempo e gera grandes quantidades de resíduos. A determinação de fósforo em materiais vegetais é importante para avaliar a disponibilidade do nutriente, principalmente em amostras de vegetais utilizados como adubo verde. Dessa forma, foi proposto um procedimento analítico para a determinação de fósforo inorgânico solúvel em materiais vegetais. Para a determinação do ortofosfato, foi empregado o método do azul de molibdênio e a extração sólido-líquido foi realizada em linha. Foi observada resposta linear entre 1,5 e 30 mg L⁻¹, com limite de detecção estimado de 0,24 mg L⁻¹ e frequência de amostragem de 26 determinações por hora. Por determinação, foram consumidos 370 µg de Na₂MoO₄·2H₂O e 123 µg de ácido ascórbico, gerando 3,0 mL de resíduo. Os resultados das análises das amostras de *Crotalaria juncea* obtidos pelo procedimento desenvolvido foram comparados com os obtidos por um procedimento de referência, não sendo observadas diferenças significativas (nível de confiança de 95%). O procedimento reduziu as quantidades de amostra e extrator em *ca.* 10 vezes e o tempo de extração de 20 min para 60 s em comparação com procedimentos da literatura, minimizando o tempo necessário para obter o teor de fósforo nos materiais vegetais.

Palavras-Chave: Análises em fluxo; fósforo solúvel; *Crotalaria juncea*; Química Verde; extração em linha.

SUMÁRIO

1	INTRODUÇÃO	9
1.1	Fósforo em materiais vegetais	9
1.2	Preparo de amostras.....	10
1.3	Sistema de análises em fluxo.....	11
1.4	Procedimentos analíticos para a determinação de espécies de fósforo em materiais vegetais	12
2	OBJETIVOS	13
3	MATERIAIS E MÉTODOS	14
3.1	Reagentes e Soluções	14
3.2	Equipamentos e acessórios	14
3.3	Procedimento para a determinação de ortofosfato em materiais vegetais.....	14
3.4	Procedimento de Referência.....	16
4	RESULTADOS E DISCUSSÃO	16
4.1	Otimização do procedimento em fluxo para a determinação de ortofosfato.....	17
4.2	Características analíticas	21
4.3	Otimização da extração sólido-líquido de P em materiais vegetais	21
4.4	Análise dos extratos de materiais vegetais	23
5	CONCLUSÕES	24
6	ETAPAS FUTURAS	24
7	REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS	25
	APÊNDICE	28

1 INTRODUÇÃO

1.1 Fósforo em materiais vegetais

Fósforo é um importante nutriente para seres humanos, animais e plantas, uma vez que participa de processos vitais como a fotossíntese e as transformações energéticas (GRUSAK, 2002; MARUCHI; ROCHA, 2006). No ambiente celular vegetal, o fósforo participa do metabolismo e fisiologia, sendo essencial na cadeia fotossintética. Além disso, esse elemento compõe biomoléculas importantes como adenosina trifosfato, fosfolipídios, ácidos nucleicos, coenzimas, fosfato de inositol (que é a principal forma de armazenamento de fósforo nos vegetais) e outros ésteres fosfatados. As espécies de fósforo podem ser classificadas de acordo com a afinidade com o meio aquoso, sendo a fração solúvel mais facilmente liberada em água. O fósforo insolúvel se refere a moléculas hidrofóbicas, como os fosfolipídios. Comumente, mais de 50% do fósforo presente nos tecidos de plantas está na forma inorgânica solúvel (MARUCHI; ROCHA, 2006).

O fósforo inorgânico (ortofosfato e espécies derivadas, *e.g.* H_2PO_4^-), é absorvido do solo pelas raízes das plantas. A conversão enzimática do ácido fítico (forma majoritária do P no solo) a ortofosfato pode ocorrer sob determinadas condições de temperatura e pH (entre 50 e 60° C e pH 4,5 a 5,5) sob ação da enzima fitase proveniente das raízes das plantas. Isso aumenta a acessibilidade de fósforo para os vegetais nos solos (ROCHA, 2013).

Além de ser afetada pela forma do fósforo, este nutriente se torna menos acessível devido à lixiviação do solo pela água da chuva e de irrigação, exigindo a sua reposição no solo. Os fertilizantes apresentam, portanto, alta demanda (SCHACHTMAN; REID; AYLING, 1998). Além dos fertilizantes inorgânicos convencionais, a adubação verde também pode ser utilizada. Essa estratégia é baseada no cultivo de vegetais que recuperam da fertilidade do solo, aumentando o teor de nutrientes e da capacidade de troca iônica. Uma opção de espécie vegetal para adubação verde é a *Crotalaria juncea*, que também pode ser empregada como produtora de fibras e na produção de papéis finos (principalmente para cigarros) (MARUCHI; ROCHA, 2006).

Como a fração extraída em água do fósforo apresenta maior acessibilidade, a avaliação da fração solúvel se torna importante. Para isso, uma extração sólido-líquido é necessária previamente às análises, que podem ter como objetivos as determinações totais ou parciais das espécies que compõem essa fração. Esta etapa é crítica para a determinação de nutrientes (*e.g.* ortofosfato), envolvendo o preparo de amostras.

A diferenciação do fósforo inorgânico e orgânico também é importante para estudos de acessibilidade para animais, pois os vegetais fornecem quantidades significativas de ácido fítico. Devido à ausência de fitase em grande parte do sistema digestório dos animais, parte do P não é acessível. Além disso, o ácido fítico forma compostos de coordenação com alguns nutrientes (*e.g.* Ca e Fe), diminuindo a disponibilidade desses minerais (RAVIDRAN, V.; RAVIDRAN, G.; SIVALOGAN, 1994). Essas características também tornam importante o fracionamento de fósforo em alimentos. Este tipo de diferenciação normalmente exige preparo de amostras para conversão do fósforo orgânico ao inorgânico, que é mais facilmente detectável.

1.2 Preparo de amostras

O preparo de amostras é baseado no tratamento químico e físico visando aumentar a detectabilidade do analito e eliminar interferências (KRUG, 2008). Esta etapa é crítica, uma vez que há riscos de perda de analito e contaminação da amostra, além de consumir a maior parte do tempo das análises (KRUG, 2008; ROCHA *et al.*, 2013). Procedimentos clássicos de preparo de amostras consomem grandes quantidades de ácidos minerais concentrados e solventes orgânicos, gerando resíduos que exigem tratamento adequado para descarte, o que demanda tempo e aumenta os custos da análise (ROCHA *et al.*, 2013).

Nos procedimentos de extração, ocorre a separação de um ou mais componentes da amostra promovida por um solvente para o qual o soluto (geralmente o analito) é transferido (JARDIM, 2010). Uma modalidade de extração é do tipo sólido-líquido, na qual o solvente entra em contato com a amostra sólida (substrato) e o soluto é transferido para o solvente (extrator). No final do processo, obtém-se o resíduo (substrato esgotado) e o extrato (solvente com o soluto) (JARDIM, 2010). Este processo é comumente aplicado a amostras sólidas, como alimentos e materiais vegetais, para determinar teores de espécies na fração solúvel.

A realização de algumas operações preliminares à quantificação das espécies de interesse nas diferentes matrizes, como separação e concentração, ainda se constitui na etapa crítica das determinações devido às etapas de preparo de amostras. Dentro desse contexto, os sistemas de análise em fluxo têm demonstrado vantagens para o processamento dessas etapas.

1.3 Sistema de análises em fluxo

Os sistemas de análises em fluxo são empregados na automação de procedimentos analíticos. Esses sistemas versáteis apresentam vantagens para o preparo de amostras, reduzindo custos, tempo de análise, riscos de contaminação e perdas do analito (FACCHIN; PASQUINI, 1998). Nos sistemas de análises por injeção em fluxo (FIA), uma alíquota da amostra é introduzida em um fluido carregador que a transporta através do percurso analítico (REIS; GINÉ; KRONKA, 1989; KAMAYA; FURUKI; NAGAGSHIMA, 1998). Se necessário, a amostra pode receber reagentes e sofrer reações químicas durante o transporte até o sistema de detecção (ROCHA; MARTELLI; REIS, 2000). No decorrer do processo, a amostra sofre dispersão, produzindo uma zona de amostra com gradiente de concentração. Em função desse gradiente e da medida realizada de forma dinâmica, um sinal transiente é obtido e a altura pode ser relacionada à concentração do analito (ROCHA; MARTELLI; REIS, 2000).

Para a implementação dos sistemas FIA, é necessário um dispositivo para a propulsão de fluidos, sendo frequentemente empregada a bomba peristáltica, que permite a propulsão a vazão constante e com mínima pulsação (ROCHA; MARTELLI; REIS, 2000). Um injetor introduz a amostra no percurso analítico e permite explorar configurações diversas para implementação de diferentes processos para o preparo das amostras, por exemplo (REIS; GINÉ; KRONKA, 1989). O percurso analítico é composto por tubos de pequeno diâmetro (em geral, de 0,5 a 0,8 mm) e com comprimentos que costumam variar de 10 a 500 cm. O seu dimensionamento influencia o tempo de residência (tempo necessário para a amostra percorrer do ponto de injeção até o sistema de detecção) e na dispersão da zona de amostra, que afetam características analíticas importantes, tal como a sensibilidade (REIS; GINÉ; KRONKA, 1989). Diversos sistemas de detecção têm sido empregados em sistemas FIA. Em geral, são necessárias apenas algumas modificações para se empregar a detecção de forma dinâmica (REIS; GINÉ; KRONKA, 1989; ROCHA; MARTELLI; REIS, 2000). Ao contrário de metodologias em batelada, os sistemas FIA fornecem condições altamente reprodutíveis, tornando o tempo de residência altamente preciso e possibilitando a aplicação de procedimentos sem que as reações atinjam o equilíbrio químico (KARLBERG; PACEY, 1989; REIS; GINÉ; KRONKA, 1989). Todas as características dos sistemas FIA trazem vantagens para o preparo de amostras, exigindo apenas algumas adaptações.

Um procedimento em fluxo com preparo em linha foi proposto para determinação de ferro, cobre e zinco em multivitamínicos (SWEILEH, 2000) e fluoreto em rochas fosfatadas (SWEILEH, 2007). Em ambos os casos, a amostra sólida foi pesada e inserida em uma câmara

de PVC construída no laboratório para amostragem. Em seguida, o transportador direcionou a amostra para um reator térmico para extração das espécies previamente à detecção espectrofotométrica (SWEILEH, 2000) ou potenciométrica (SWEILEH, 2007). Uma etapa de filtração foi necessária para remover os sólidos e poderia ter sido evitada com a utilização de extração sólido-líquido das espécies, tornando o sistema mais simples e evitando constante limpeza do filtro. Além disso, devido à movimentação da suspensão no percurso analítico, agentes anti-sedimentação devem ser empregados para estabilizar a suspensão e não afetar a eficiência da extração (SWEILEH, 2000).

Uma estratégia simples para extração sólido-líquido foi adotada para a determinação de potássio em solos utilizando um sistema com multisseringas (ALMEIDA *et al.*, 2006). Uma massa de *ca.* 2,0 g de solo foi pesada em um recipiente de vidro, que foi acoplado ao sistema. Após a adição do extrator, a mistura foi agitada por cinco minutos e posteriormente o extrato foi coletado para a determinação potenciométrica de potássio. Foi necessário um filtro na ponta do tubo de coleta do extrato para evitar a aspiração de suspensão. Apesar de mecanizado, o procedimento efetua a extração em um sistema aberto, o que limita as vantagens trazidas pelos sistemas de análises em fluxo.

Um procedimento para determinação de amônio em materiais de construção utilizou uma câmara para conter uma massa do sólido (*ca.* 200 mg) posicionada em um banho ultrassônico (TIMOFEEVA *et al.*, 2015). Em seguida, foi adicionada solução de NaOH para extração do amônio assistida por ultrassons e para conversão a amônia. Um fluxo de N₂ transportou a NH₃ gerada para uma câmara de difusão gasosa. A solução aceptora era composta pelo indicador ácido-base vermelho de cresol, cuja mudança na coloração foi detectada por espectrofotometria. Este é um procedimento semi-mecanizado, uma vez que a adição do extrator depende da intervenção do analista.

Apesar das potencialidades, as estratégias para extração sólido-líquido em linha não têm sido amplamente exploradas. A extração em linha do fósforo solúvel em materiais vegetais e alimentos, por exemplo, seria vantajosa se realizada em sistemas mecanizados.

1.4 Procedimentos analíticos para a determinação de espécies de fósforo em materiais vegetais

A extração da fração solúvel de fósforo é realizada em meio aquoso. Apesar das variações propostas para este fim, eficiências similares são observadas em todos os casos. O método mais empregado para a determinação de fósforo em materiais vegetais se baseia no uso

de 100 mg de amostra vegetal seca e 2 mL de HClO_4 0,2 mol L^{-1} como solução extratora (HOGUE; WILCOX; CANTILIFFE, 1970). Após agitação por 10 minutos, a matéria orgânica é removida com carvão ativado e o fósforo é determinado pelo método do azul de molibdênio. No caso das determinações totais, o extrato ou a amostra são submetidos à digestão nitro-perclórica.

Um procedimento para extração de fósforo solúvel em materiais vegetais foi proposto utilizando 20 mL de água deionizada como extrator. Comparada ao método oficial, a extração foi quantitativa após 10 minutos de agitação. A fração de fósforo solúvel foi determinada pelo método do azul de molibdênio em um sistema de análises em fluxo monossegmentado (MARUCHI; ROCHA, 2006). Apesar da mecanização da determinação de P, o preparo apresenta as desvantagens inerentes das etapas realizadas em sistemas abertos.

A utilização de ácido tricloroacético também foi explorada para extração de espécies de P em cereais e derivados (RAVIDRAN, V.; RAVIDRAN, G.; SIVALOGAN, 1994). No extrato, o ortofosfato foi determinado pelo método do amarelo de molibdênio. O fitato foi precipitado na forma de fitato férrico e convertido a hidróxido férrico após adição de NaOH. O precipitado foi dissolvido em ácido clorídrico os íons Fe(III) foram determinados por espectrofotometria. Neste trabalho, não foram divulgados os detalhes do procedimento de extração. De qualquer forma, o ácido orgânico poderia ser facilmente substituído por água. Além disso, seria necessário um estudo detalhado acerca das espécies que podem ser extraídas com o ácido tricloroacético.

Devido às desvantagens relacionadas aos procedimentos da literatura para a extração sólido-líquido de P em materiais vegetais, estratégias para mecanização ainda podem ser amplamente exploradas para a determinação desse nutriente de forma mais rápida e com mínima geração de resíduos.

2 OBJETIVOS

Desenvolver um procedimento analítico em um sistema de análises em fluxo visando à extração sólido-líquido em linha de fósforo inorgânico em materiais vegetais e posterior quantificação empregando o método do azul de molibdênio.

3 MATERIAL E MÉTODOS

3.1 Reagentes e Soluções

Todos os reagentes utilizados foram de grau analítico e todas as soluções foram preparadas com água desionizada.

Solução estoque de H_2SO_4 $7,0 \text{ mol L}^{-1}$ (Synth) foi preparada a partir da diluição do ácido concentrado em água. Alíquotas do ácido foram adicionados à massa do sal $\text{Na}_2\text{MoO}_4 \cdot 2\text{H}_2\text{O}$ (Merck) e a solução foi avolumada com água a fim de se obter 79 mmol L^{-1} de molibdato de sódio em H_2SO_4 $0,25 \text{ mol L}^{-1}$ (reagente R1). A solução de ácido ascórbico 60 mmol L^{-1} (Quimex) foi preparada diariamente a partir da dissolução em água (reagente R2). Para obtenção do coeficiente de dispersão, foi utilizada solução de KMnO_4 $0,2 \text{ mmol L}^{-1}$ (Merck), preparada a partir da dissolução do sal em água.

3.2 Equipamentos e acessórios

Para o sistema de análises em fluxo, foram utilizados bomba peristáltica (Gilson), tubos de polietileno de 0,7 mm de diâmetro interno e um injetor proporcional e confluências construídos em acrílico. Para a aquisição dos dados, um microcomputador (Samsung R640) foi acoplado ao espectrofotômetro (Femto, 600S). O *software* Cirrus App fornecido pelo fabricante do espectrofotômetro foi utilizado nesta etapa. As colunas para extração em linha foram construídas com tubos de TygonTM com 4 mm de diâmetro interno.

3.3 Procedimento para a determinação de ortofosfato em materiais vegetais

A figura 1 apresenta o módulo de análises utilizado para o desenvolvimento do procedimento analítico.

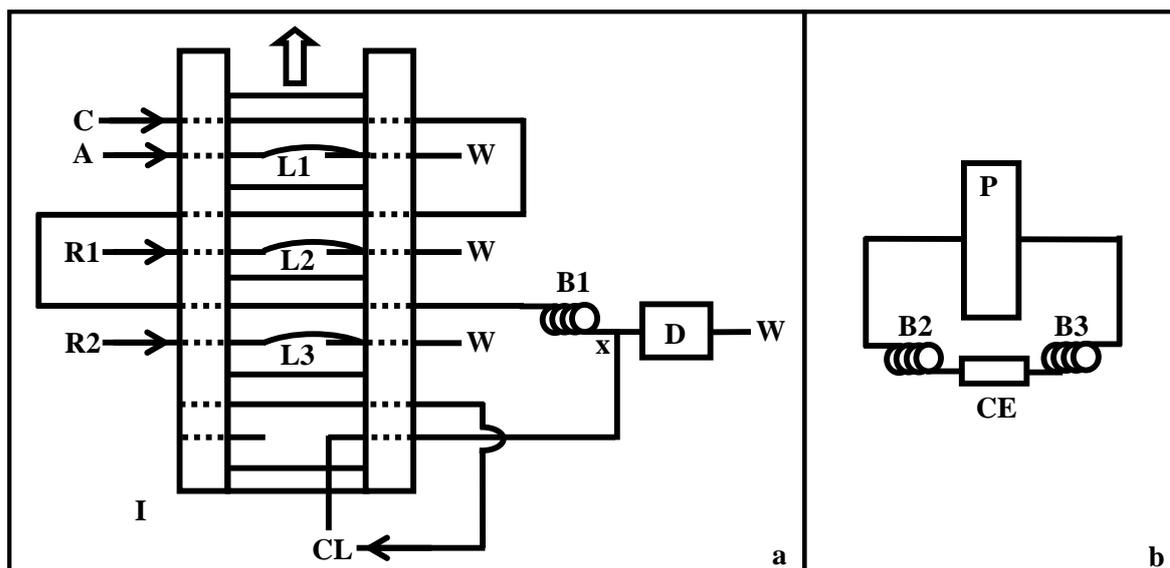


Figura 1 – Sistemas em fluxo para a determinação (a) e extração (b) de fósforo inorgânico solúvel em materiais vegetais. A: amostra; C, CL: H₂O; W: recipientes de descarte; R1: NaMoO₄.2H₂O em H₂SO₄; R2: Ácido ascórbico; L1-L3: alças de amostragem; B1-B3: reatores helicoidais; x: ponto de confluência; D: sistema de detecção espectrofotométrica; I: injetor proporcional; P: bomba peristáltica; CE: coluna para extração.

Na posição de amostragem, mostrada na Figura 1a, a alça L1 foi preenchida pelo extrato ou soluções de referência de P enquanto as alças L2 e L3 foram preenchidas pelos reagentes R1 (Na₂MoO₄ em H₂SO₄) e R2 (ácido ascórbico), respectivamente. Quando a barra central do injetor foi deslocada para a posição de injeção, a amostra foi injetada em um fluxo de água (2,0 mL min⁻¹), que atravessou as alças dos reagentes R1 e R2 e o reator B1 até o sistema de detecção espectrofotométrico D. Água foi adicionada ao ponto de confluência x quando o injetor retornou para a posição de amostragem visando à diminuição do tempo de limpeza.

A extração em linha foi realizada de acordo com o diagrama apresentado na figura 1b. As amostras foram coletadas, trituradas em moinho de facas e secas em estufa. Foi utilizado 20 mg de amostra imobilizada em uma coluna cilíndrica (CE) de 1,5 cm de comprimento e 4,0 mm de diâmetro interno, acoplada a um percurso de 600 µL (B2 e B3). Para a otimização, o percurso foi preenchido com 2,5 mL de água (extrator), cuja recirculação foi mantida por 60 s. Posteriormente, o extrato foi recolhido em um tubo de graduado de 15 mL e diluído 2 vezes previamente às determinações. Para a análise das amostras, um outro injetor proporcional foi utilizado de forma a reproduzir a recirculação executada na Figura 1b. Após atingir o tempo de recirculação, o extrato foi direcionado até a alça L1 do sistema mostrado na Figura 1a para determinação de P.

3.4 Procedimento de Referência

Para avaliar a exatidão, foi realizada a extração e determinação de ortofosfato em batelada de acordo com um procedimento proposto na literatura (MARUCHI; ROCHA, 2006) modificado. Foram misturados 200 mg de material vegetal e 20 mL de água deionizada em tubos de polipropileno de 50 mL. Após 10 minutos de extração com agitação constante, a mistura foi centrifugada por 10 minutos para o isolamento das fases, seguida da determinação de ortofosfato. Para a quantificação do P em batelada, foi utilizado o método do azul de molibdênio modificado. Foi adicionado 1 mL do extrato a 1 mL das soluções de molibdato de amônio 2,5 mmol L⁻¹ em H₂SO₄ 0,1 mol L⁻¹ e de ácido ascórbico 0,15 mol L⁻¹. Após 10 minutos de reação, foram realizadas medidas espectrofotométricas das soluções em 730 nm.

4 RESULTADOS E DISCUSSÃO

O método utilizado para a determinação espectrofotométrica de fósforo inorgânico em material vegetal foi baseado na formação do azul de molibdênio. A reação do ortofosfato com o molibdato de sódio em meio ácido forma um composto amarelo, com máximo de absorção em 400 nm (MASINI, 2008). O emprego de um agente redutor, *e.g.* o ácido ascórbico, gera o azul de molibdênio, de coloração azul intensa e que também pode ser determinado por espectrofotometria (ROCHA, 2013). Uma vantagem atribuída a essa derivação química é minimizar a interferência espectral devido à absorção de radiação pela matéria orgânica que é extraída juntamente com o ortofosfato. A formação do azul de molibdênio segue as relações estequiométricas apresentadas nas reações 1-3 (ROCHA, 2013).



Esse método tem sido explorado em diversos trabalhos para determinação de ortofosfato, porém os mecanismos de formação do azul de molibdênio não foram completamente esclarecidos (CROUCH; MALMSTADT; 1967). Na etapa de redução do ácido fosfomolibdico (Eq. 2 e 3), apenas parte do Mo(VI) é reduzido a Mo(V), resultando em duas espécies H₃[PMo₁₂O₃₉] e H₃[PMo₁₂O₃₈], cuja separação por cromatografia a líquido foi

proposta na literatura, apresentando absorvidades iguais a 2300 e 17000 L mol⁻¹ cm⁻¹, respectivamente (KOSHIISHI; IMANARI, 1986).

A velocidade das reações para a formação dos produtos é diferente e depende de parâmetros químicos como concentração de molibdato e pH. Ambas as espécies são formadas independente do agente redutor utilizado, porém a velocidade de formação do H₃[PMo₁₂O₃₉] é influenciada pela natureza do agente redutor (ROCHA, 2013).

Neste trabalho, inicialmente determinou-se o comprimento de onda de máxima absorção do azul de molibdênio. Para isso, foi obtido um espectro de absorção molecular de uma solução contendo 0,32 mmol L⁻¹ P (0,01 g L⁻¹ P), MoO₄²⁻ 52 mmol L⁻¹ em H₂SO₄ 0,25 mol L⁻¹ e ácido ascórbico 60 mmol L⁻¹. A máxima absorção foi observada em 730 nm, sendo este o comprimento de onda selecionado para os estudos posteriores.

Em seguida, a determinação de ortofosfato em sistema de análises em fluxo foi otimizada, partindo de condições iniciais próximas às reportadas anteriormente para a determinação de fósforo em materiais vegetais (ROCHA, 2013).

4.1 Otimização do procedimento em fluxo para a determinação de ortofosfato

A otimização dos parâmetros para a determinação de ortofosfato foi realizada de forma univariada visando máxima sensibilidade e frequência de amostragem (usualmente definida como o número de soluções de referência analisadas por unidade de tempo, de acordo com Zagatto, Oliveira e Collins, 1999), melhor precisão e mínimo consumo de reagentes e geração de resíduos.

Os estudos iniciais foram conduzidos utilizando os reagentes Na₂MoO₄.2H₂O e ácido ascórbico nas concentrações, respectivamente, de 52 mmol L⁻¹ (em H₂SO₄ 0,25 mol L⁻¹) e 60 mmol L⁻¹, utilizadas anteriormente (ROCHA, 2013). As estratégias de amostragem baseadas em zonas coalescentes e em penetração de zonas foram comparadas. Em ambas, o monitoramento espectrofotométrico foi realizado em 730 nm.

No sistema em fluxo com zonas coalescentes, alíquotas de reagentes e amostras selecionadas por alças de amostragem individuais são injetadas simultaneamente em carregadores independentes até um ponto de confluência, onde se inicia a mistura. Dessa forma, o consumo de reagente é minimizado porque não há adição contínua de soluções (REIS; GINÉ; KRONKA, 1989). No sistema com penetração de zonas (Figura 1a), os reagentes e a amostra também são selecionados através de alças de amostragem. Entretanto, as soluções não são direcionadas para um ponto de confluência, evitando a diluição. Nessa configuração, amostra e

reagentes são adicionados em um fluido carregador que faz o transporte até o detector através de uma bobina de reação. A sobreposição das zonas ocorre unicamente devido à dispersão. Dessa forma, a extensão com que a reação ocorre depende da sobreposição das zonas de amostra e reagentes. Como esperado, sob as mesmas condições de volume e concentração, o sinal analítico utilizando penetração de zonas foi 1,2 vezes maior, sendo essa configuração selecionada para estudos posteriores.

Para avaliar o efeito do volume de amostra sobre o sinal analítico (que considera a subtração do branco), variou-se o volume da alça de amostragem de 20 a 290 μL . Apesar do aumento do volume de amostra, que implica em menor dispersão, a sobreposição das zonas de amostra e dos reagentes se torna limitada, o que causou mínima variação do sinal analítico (ROCHA, 2013) a partir de 190 μL , sendo este volume selecionado para estudos posteriores. Como esperado, o sinal do branco não apresentou variações significativas, não ultrapassando $(0,010 \pm 0,001)$.

Para avaliar a influência do volume do reagente R1 sobre o sinal analítico, foram injetados de 10 a 100 μL de reagente (Figura A1, apêndice). Foi observado maior sinal analítico utilizando 40 μL , porém com metade desse volume, não houve perda significativa de sensibilidade (*ca.* 1,0%). Assim, optou-se por utilizar 20 μL de molibdato. De forma análoga à amostra, o volume de reagente é definido pelo comprimento da alça L2, não sendo possível utilizar alças menores devido à limitação física do sistema. A diminuição do sinal a partir de 40 μL foi observada devido ao afastamento dos centros das zonas de amostra e do reagente R2, o que diminuiu a quantidade de produto formado. A tendência ao aumento do sinal do branco com o aumento do volume de R1 pode ser explicado pela formação do composto azul na ausência de fósforo, que é observado dependendo das concentrações dos reagentes (CROUCH; MALMSTADT, 1967).

De forma análoga ao estudo do volume do reagente R1, foi avaliada a influência do volume de ácido ascórbico (R2) sobre o sinal analítico (Figura A2, apêndice). Foi selecionado o volume de 10 μL , uma vez que não foi observado aumento significativo no sinal analítico em relação ao emprego de volumes maiores. O aumento do branco ocorreu devido à maior concentração de R2 na zona de amostra, favorecendo a formação do composto azul na ausência de fósforo, assim como observado em trabalhos anteriores (ROCHA, 2013).

O efeito do tempo de residência sobre o sinal analítico (Figura A3, apêndice) foi avaliado utilizando reatores de 50 a 200 cm (200 a 800 μL). Apesar da maior dispersão causada por reatores mais extensos, as condições de mistura entre amostra e reagentes podem ser melhoradas, especialmente quando a penetração de zonas é utilizada. Além disso, como uma

reação lenta foi empregada, a taxa de conversão dos reagentes pode compensar a diminuição da concentração no centro da zona de amostra devido à dispersão, aumentando o sinal analítico. Assim, o comprimento do reator deve ser escolhido em função do compromisso entre taxa de conversão do analito e dispersão da zona de amostra (REIS; GINÉ; KRONKA, 1989). De acordo com a Figura A3 (apêndice), foi observado aumento do sinal analítico com o tamanho do reator até 175 cm (750 μL). Entretanto, com 150 cm não foram observadas diferenças significativas no sinal analítico (diminuição de *ca.* 1,4 %). Reactores maiores proporcionaram variação máxima do sinal de 32%, porém com frequência de amostragem 1,2 vezes menor. Levando em consideração o compromisso entre sensibilidade e frequência de amostragem, foi selecionado o reator de 150 cm para estudos posteriores.

O tempo de residência também foi avaliado através da variação da vazão do transportador, através da variação dos diâmetros dos tubos de propulsão do carregador (Figura A4, apêndice). Constatou-se o aumento do sinal analítico para menores vazões devido ao maior tempo de residência da zona de amostra, que fornece maior tempo para que as reações ocorram. Entretanto, a frequência de amostragem foi drasticamente afetada, sendo observada diminuição em *ca.* 3 vezes utilizando vazão de 0,3 mL min^{-1} em relação à condição inicial (1,0 mL min^{-1}). A diminuição do sinal analítico com o uso de 2,0 mL min^{-1} acarretou na perda de sinal de *ca.* 11 % e aumento da frequência de amostragem em 2 vezes em relação à condição inicial. Sendo assim, a vazão de 2,0 mL min^{-1} foi selecionada para estudos posteriores.

A dispersão do sistema proposto também foi investigada. Na configuração utilizada, a zona de amostra é transportada em direção ao detector através da bomba peristáltica e a sobreposição da amostra e reagentes se dá por dispersão. Com isso, a extensão com que a reação acontece depende, além do tempo de residência no sistema, do grau de sobreposição das zonas de reagentes e amostra (MASINI, 2008). Fixando-se os parâmetros físicos do sistema, o grau de sobreposição de duas zonas adjacentes foi avaliado injetando-se corante ao invés dos reagentes e amostra e registrando-se os sinais correspondentes aos gradientes de concentração. A sobreposição dos sinais mostra como as zonas estão sobrepostas no instante em que a detecção ocorre (Figura A5, apêndice). O coeficiente de dispersão (D) foi calculado através da razão entre os sinais no volume infinito e após a dispersão. Para a amostra, foi estimado o valor de D igual a 7,6. Os coeficientes de dispersão das zonas dos reagentes apresentaram valores estimados em 36 e 54 pra R1 e R2, respectivamente.

Após a otimização dos parâmetros físicos, foram avaliadas as concentrações dos reagentes. Uma vez que a formação de ácido fosfomolibdico (e posterior redução a azul de molibdênio) ocorre em meio ácido, a concentração de H_2SO_4 em R1 foi variada, fixando a

concentração de $\text{Na}_2\text{MoO}_4 \cdot 2\text{H}_2\text{O}$ em 52 mmol L^{-1} (Figura 6, apêndice). Uma variedade de razões das concentrações molares entre íons hidrônio e átomos de molibdênio (razão H^+ / Mo) são reportadas em literatura, sendo 10 a razão geralmente encontrada para formação do produto colorido (WORSFOLD *et al.*, 2005). A melhor resposta foi obtida com H_2SO_4 $0,125 \text{ mol L}^{-1}$, o que corresponde a razão molar H^+/Mo igual a 4,8. Esta razão deve se manter aproximadamente constante por todo o percurso analítico porque o mesmo coeficiente de dispersão é aplicado para a zona do reagente R1 com mínimas variações devido às diferenças na difusão das moléculas. É importante ressaltar que a pureza do molibdato afeta a taxa de formação do azul de molibdênio devido à possível polimerização do reagente. Para concentrações menores do ácido (razões H^+/Mo menores), o sinal analítico sofre um drástico decréscimo, indicando que o pH não foi adequado para a formação do ácido fosfomolibdico.

A influência da concentração do $\text{Na}_2\text{MoO}_4 \cdot 2\text{H}_2\text{O}$ sobre o sinal analítico foi avaliada (Figura A7, apêndice), sendo observado aumento no sinal analítico com a concentração até 79 mmol L^{-1} . Neste ponto, foi estimado um excesso de reagente de *ca.* 200 vezes em relação ao ortofosfato, levando em consideração os coeficientes de dispersão calculados através dos dados obtidos na Figura A5. Esse excesso é necessário devido à velocidade da reação, que geralmente é promovida com o aumento da concentração dos reagentes. Grandes excessos também foram observados anteriormente quando o método do azul de molibdênio foi aplicado (ROCHA, 2013). Para concentrações maiores de molibdato, foi observada a diminuição do sinal analítico devido à diminuição da razão H^+/Mo , como foi observado nos estudos anteriores e previamente na literatura (ROCHA, 2013).

Com a variação da concentração de ácido ascórbico, foi observado que o sinal aumentou com a concentração até 60 mmol L^{-1} (Figura A8, apêndice). Esta foi a concentração selecionada porque valores maiores não proporcionaram aumento no sinal analítico. Nesta condição, o ácido ascórbico estava *ca.* 100 vezes em excesso em relação ao fósforo. O aumento do branco ocorreu devido ao produto azul formado na ausência de ortofosfato, assim como foi observado nos estudos de variação de volume de R2 e naqueles realizados previamente na literatura (ROCHA, 2013).

A Tabela 1 apresenta os parâmetros avaliados bem como os valores selecionados na otimização do procedimento proposto.

Tabela 1 – Parâmetros avaliados e valores selecionados do sistema de análises por injeção em fluxo para determinação de fósforo em materiais vegetais.

<i>Parâmetro</i>	<i>Faixa avaliada</i>	<i>Valor selecionado</i>
Volume de amostra (μL)	19 – 290	190
Volume de R1 (μL)	10 – 100	20
Volume de R2 (μL)	10– 100	10
Tamanho do reator (cm)	50 – 200	150
Concentração de $\text{Na}_2\text{MoO}_4 \cdot 2\text{H}_2\text{O}$ (mmol L^{-1})	26– 130	79
Concentração de H_2SO_4 (mmol L^{-1})	62 – 320	125
Concentração de ácido ascórbico (mmol L^{-1})	30 – 150	60
Vazão de solução transportadora (mL min^{-1})	0,30 – 2,0	2,0

Após a otimização dos principais parâmetros físicos e químicos do sistema, foram obtidas as características analíticas previamente à otimização da extração sólido-líquido de P em materiais vegetais em linha.

4.2 Características analíticas

Nas condições otimizadas, foi observada resposta linear entre 1,5 e 30 mg L^{-1} , descrita pela equação $A = 0,0183 C_P + 0,0664$, $r = 0,990$, onde A é a absorvância e C_P é a concentração de fósforo em mg L^{-1} . A média de 20 medidas utilizando solução 20 mg L^{-1} de P foi de $(0,558 \pm 0,017)$, resultando em um coeficiente de variação de 3,0%. O limite de detecção, estimado a partir do desvio de 20 medidas do branco, com 99,7% de confiança, foi de 0,24 mg L^{-1} . Por determinação, foram gerados 3,0 mL de resíduos e consumidos 370 μg de $\text{Na}_2\text{MoO}_4 \cdot 2\text{H}_2\text{O}$ e 123 μg de ácido ascórbico. A frequência de amostragem foi estimada em 35 determinações por hora.

4.3 Otimização da extração sólido-líquido de P em materiais vegetais

Para a otimização da extração em linha, foi utilizada água desionizada como solução extratora, assim como previamente empregado (MARUCHI; ROCHA, 2006). Nesses estudos, a amostra foi pesada (40 mg) e imobilizada em uma coluna de 3,0 cm de comprimento e 4 mm de diâmetro. A otimização dos parâmetros foi baseada na determinação dos teores de P obtidos com as condições otimizadas na seção 4.1. As extrações foram realizadas de forma dinâmica e

posteriormente os extratos foram coletados em tubos de 15 mL e submetidos à diluição adequada previamente às determinações.

Para avaliar o efeito da vazão sobre a extração (Figura A9, apêndice), variou-se a rotação da bomba peristáltica responsável pela propulsão do extrator no reator. A massa de amostra foi fixada em 40 mg. Foram avaliadas vazões entre 1,8 e 3,5 mL min⁻¹. Vazões maiores não foram avaliadas porque foi observado vazamento na coluna de fase sólida. Foi selecionada a vazão de 2,2 mL min⁻¹ cujo teor de P não apresentou diferenças significativas com relação ao obtido com 1,8 mL min⁻¹. Apesar do maior teor obtido com 3,5 mL min⁻¹, a extração apresentou constantes vazamentos devido à impedância hidrodinâmica do sistema.

Para avaliar a influência do volume do extrator sobre o teor de P obtido (Figura A10, apêndice), foram utilizados volumes entre 1,8 e 2,5 mL de extrator. O volume foi variado com a alteração do tamanho dos reatores B2 e B3 (Figura 1b). Foi observada maior eficiência com o aumento do volume de solução extratora. Optou-se por manter os 2,3 mL de extrator, uma vez que tempos menores afetaram a eficiência da extração e volumes maiores não acarretaram no aumento significativo do teor de P. Isto ocorreu porque com 60 s, volumes maiores que 2,3 mL precisariam de mais tempo para que todo o extrator tivesse o contato com a amostra, não sendo possível afirmar se ocorreu extração quantitativa.

O tempo de extração foi variado entre 60 e 180 s (Figura A11, apêndice). O aumento da eficiência com o tempo atingiu um incremento máximo de 8,0 %. Como o procedimento foi desenvolvido em um sistema em fluxo, não foi necessária a extração quantitativa, embora os resultados indiquem que uma condição muito próxima foi atingida. Tempos menores não foram avaliados porque não ocorreria a recirculação completa do extrator no sistema.

O efeito da massa da amostra foi avaliado (Figura A12, apêndice). Para a variação da massa, o volume da coluna foi alterado proporcionalmente, evitando possível diluição do extrato no volume morto da coluna de fase sólida e minimizar as alterações das condições físicas do sistema. A eficiência de extração foi inversamente proporcional à massa da amostra. Isto ocorreu porque com maior massa para um mesmo tempo de extração, a quantidade de P transferida para a água diminuiu. Foi selecionado 20 mg de amostra devido à maior eficiência. Massas menores não foram empregadas para evitar maiores coeficientes de variação relacionados à pesagem da amostra.

4.4 Análise dos extratos de materiais vegetais

A exatidão do procedimento desenvolvido foi avaliada. Os extratos obtidos com a extração e determinação em linha e em batelada (MARUCHI; ROCHA, 2006) foram comparados. O procedimento de referência modificado para a determinação de ortofosfato foi descrito na seção 3.4. Os resultados obtidos nas análises estão apresentados na tabela 2.

Tabela 2. Teores médios e incertezas (n = 3) obtidos na extração de fósforo solúvel em amostra vegetais pelos procedimentos proposto e de referência.

Amostra	Teor de P (mg g ⁻¹)	
	Proposto	Referência
Crotalaria 1	1,28 ± 0,02	1,73 ± 0,01
Crotalaria 2	1,17 ± 0,02	1,79 ± 0,02
Café	0,17 ± 0,01	0,27 ± 0,01

Os resultados obtidos pelos procedimentos de referência e proposto não apresentaram diferenças significativas com nível de confiança de 95 %. As análises de *Crotalaria juncea* apresentaram valores mais próximos na comparação entre os procedimentos. Por outro lado, a amostra de folha de café apresentou desvio negativo de 0,10 mg g⁻¹, indicando que a extração pode ser incompleta dependendo do material vegetal. Nesse caso, um fator de correção deve ser determinado para comparar os métodos. As análises das amostras de folhas de cana não apresentaram resultados satisfatórios (diferença de 1,02 mg g⁻¹), comprovando que estudos adicionais precisam ser realizados para aplicação a outras amostras. A presença de espécies concomitantes (e.g. Ca, Fe) será avaliada visando elucidar as diferenças observadas na extração de P de diferentes materiais vegetais.

Em um procedimento que explorou a extração de fosfato de amostras vegetais em batelada, foi empregada a reação de formação de azul de molibdênio para a determinação de ortofosfato em um sistema de análises em fluxo com multicomutação e fluxo monossegmentado². Este procedimento apresentou limite de detecção *ca.* 10 vezes menor em relação ao procedimento proposto. Isto se deve ao longo tempo de residência da amostra e mínima dispersão devido ao uso de monossegmentos no sistema em fluxo. Por outro lado, o sistema apresenta alta suscetibilidade à segmentação de bolhas, o que afeta drasticamente a precisão. Além disso, o consumo de reagentes foi *ca.* 15 e 40 vezes maior para molibdato e ácido ascórbico, respectivamente, e o tempo para extração foi 10 vezes maior.

O método mais empregado na área agrônômica para extração do P em materiais vegetais se baseia na utilização de 30 mL de HClO_4 0,2 mol L^{-1} e agitação por 10 minutos (HOGUE; WILCOX; CANTLIFFE, 1970). No procedimento proposto, o tempo para extração foi diminuído e o ácido foi substituído por água, minimizando a geração de resíduos. Além disso, após a extração com HClO_4 seria necessária a adição de carvão ativado para remover matéria orgânica.

Um procedimento em fluxo com microbombas solenoide foi proposto para o fracionamento de fósforo solúvel em extratos de alimentos, empregando foto-oxidação em linha do fósforo orgânico a ortofosfato, que foi quantificado pelo método do azul de molibdênio (ROCHA, 2013). Foi obtido limite de detecção similar ao do procedimento proposto (0,5 mg L^{-1}), porém com consumo *ca.* 7 vezes maior dos reagentes colorimétricos. Além disso, a extração do P foi realizada em batelada, apresentando maior tempo das análises.

5 CONCLUSÕES

O desenvolvimento de um procedimento analítico em um sistema de análises em fluxo para a extração sólido-líquido em linha de fósforo inorgânico em materiais vegetais e quantificação empregando o método do azul de molibdênio foi desenvolvido com baixo consumo de reagentes e diminuição na geração de resíduos. Água foi utilizada como extrator do fósforo inorgânico em substituição aos ácidos empregados em métodos convencionais. Isto também diminui o custo das análises. Em comparação ao procedimento de referência, houve redução no consumo de amostra e extrator, no tempo de extração e na geração de resíduos.

O tempo de extração exige *ca.* 60 s para a *Crotalaria juncea*. Entretanto, esse tempo de extração não foi satisfatório para outros materiais vegetais (*e.g.* folhas de cana e figo), requerendo estudos adicionais para que o procedimento seja aplicado a uma variedade de amostras. O procedimento desenvolvido é uma alternativa para a extração e quantificação de ortofosfato em materiais vegetais, visando aos estudos agrônômicos envolvendo *Crotalaria juncea*.

6 ETAPAS FUTURAS

Em etapas futuras, a extração de P de diferentes tipos de materiais vegetais e a presença de espécies concomitantes serão avaliadas, visando aumentar a exatidão do procedimento para diferentes amostras. A extração sólido-líquido será avaliada através do acoplamento de

microbombas solenoide, que podem melhorar a extração devido ao fluxo pulsado gerado por esses dispositivos. Além disso, leito fluidizado também poderá ser explorado visando aumentar a eficiência da extração de P.

O uso de persulfato de potássio como extrator será avaliado visando ao fracionamento de fósforo solúvel em linha. Com o acoplamento de uma fonte de radiação ultravioleta (e.g. lâmpada germicida), o fósforo solúvel total poderá ser quantificado, possibilitando o fracionamento de P. Em caso de conversões incompletas, uma coluna de fase sólida com carvão ativado poderá ser empregada para implementar uma etapa de limpeza da amostra (remoção de matéria orgânica isenta de fósforo).

7 REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- ALMEIDA, M. I. G. S.; SEGUNDO, M. A.; LIMA, J. L. F. C.; RANGEL, A. O. S. S. *Potentiometric multi-syringe flow injection system for determination of exchangeable potassium in soils with in-line extraction*. **Microchemical Journal**, v. 83, p. 75-80, 2006.
- CROUCH, S. R.; MALMSTADT, H. V. *A mechanistic investigation of molybdenum blue method for determination of phosphate*. **Analytical Chemistry**, v. 39, p. 1084-1089, 1967.
- FACCHIN, I.; PASQUINI, C. *Extração líquido-líquido em sistemas de fluxo*. **Quím. Nova**, n. 21, p. 60-68, 1998.
- GRUSAK, M. A. *Enhancing mineral content in plant food products*. **Journal of the American College of Nutrition**, v. 21, n.3, p. 178S-182S, 2002.
- HOGUE, E.; *et al.* *Effect of soil phosphorus levels on phosphate fraction in tomato leaves*. **Journal of the American Society for Horticultural Science**, v. 95, p. 174-176, 1970.
- JARDIM, I. C. S. F.; *Extração em fase sólida: Fundamentos teóricos e novas estratégias para preparação de fases sólidas*. **Scientia Chromatographica**, v. 2, n. 1, p. 13-25, 2010.
- KAMAYA, M.; FURUKI, T.; NAGAGSHIMA, K. *Flow injection analysis of phytic acid by a modified molybdenum blue method*. **Photochemical Analysis**, v. 9, p. 119-123, 1998.
- KARLBERG, B.; PACEY, G. E. *Flow injection analysis: a practical guide*. Elsevier Science Publisher B. V., 1989.
- KOSHIISHI, I; IMANARI, T. *Study of the coloured substances in molybdenum blue using high-performance liquid chromatographic*. **Journal of Chromatographic**, v. 358, p. 195-200, 1986.
- KRUG, F. J., editor. *Métodos de preparo de amostras: fundamentos sobre preparo de amostras orgânicas e inorgânicas para análise elementar*. 1 ed. Piracicaba, 2008.

- MARUCHI, A. K.; ROCHA, F. R. P. *An improved procedure for phosphorous fractionation in plant materials exploiting sample preparation and monosegmented flow analysis. Microchemical Journal*, v. 82, p. 207-213, 2006.
- MASINI, Jorge Cesar. *Demonstrando os fundamentos, potencialidades e limitações da análise por injeção seqüencial. Quím. Nova*, v. 31, n. 3, p. 704-708, 2008.
- RAVIDRAN, V.; RAVIDRAN, G.; SIVALOGAN, S. *Total and phytate phosphorus contents of various foods and feedstuffs of plant origin. Food Chemistry*, v. 50, p. 133-136, 1994.
- REIS, B. F.; GINÉ, A. F.; KRONKA, E. A. M. *A análise por injeção em fluxo contínuo. Quím. Nova*, v. 12, n. 1, p. 82-91, 1989.
- ROCHA, D. L. da. *Desenvolvimento de procedimentos analíticos em fluxo com multicomutação e foto-oxidação em linha para a determinação espectrofotométrica de espécies de interesse ambiental, alimentício e clínico*. 167p. 2013. Tese (Doutorado em Química) - Instituto de Química da Universidade de São Paulo, São Paulo, 2013.
- ROCHA, D. L.; BATISTA, A. D.; ROCHA, F. R. P.; DONATI, J. A. N. *Greening sample preparation in inorganic analysis. Trends in Analytical Chemistry*, v. 45, p. 79-92, 2013.
- ROCHA, F. R. P.; MARTELLI, P. B.; REIS, B. F.; *Experimentos didáticos utilizando sistema de análise por injeção em fluxo. Quím. Nova*, v. 23, p. 119-125, 2000.
- SCHACHTMAN, D. P.; REID, R. J.; AYLING, S. M. *Phosphorus uptake by plants: from soil to cell. Plant Physiology*, v. 116, p. 447-453, 1998.
- spectrophotometric and atomic absorption determination of iron, copper and zinc in multivitamin tablets. Microchemical Journal*, v. 65, p. 87-95, 2000.
- SWEILEH, J. A. *On-line flow injection solid sample introduction digestion and analysis: SWEILEH, J. A. On-line flow injection solid sample introduction, leaching and potentiometric determination of fluoride in phosphate rock. Analytica Chimica Acta*, v. 581, p. 168-173, 2007.
- TIMOFEEVA, I. I.; BULATOV, A. V.; MOSKVIN, A. L.; KOLEV, S. D. *A gas-diffusion flow injection method coupled with online solid-liquid extraction for the determination of ammonium in solid samples. Talanta*, v. 142, p. 140-144, 2015.
- WORSFOLD, P. J; GIMBERT, L. J.; MANKASINGH, U.; OMAKA, O. N.; HANRAHAN, G.; GARDOLINSKI, P. C. F. C.; HAYGARTH, P. M.; TURNER, B. L.; KEITH-ROACH, M.; MCKELVIE, I. D. *Sampling, sample treatment and quality assurance issues for the determination of phosphorus species in natural waters and soils. Talanta*, v. 66, p. 273-293, 2005.

ZAGATTO, E. A. G.; OLIVEIRA, C. C.; COLLINS, C. H. *Classificação e definição dos métodos de análises em fluxo (Recomendações - IUPAC 1994)*. **Quím. Nova**, v. 22, n. 1, p. 143-146, 1999 .

APÊNDICE

Figuras relativas à otimização do procedimento para a determinação (A1-A8) e extração em linha de fósforo em materiais vegetais (A9-A12).

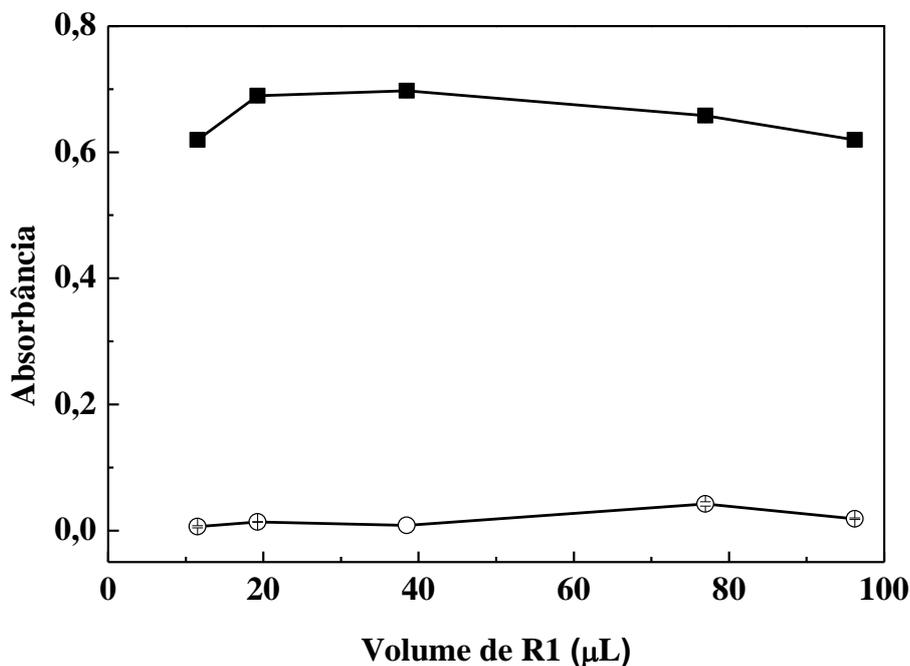


Figura A1 – Efeito do volume de R1 sobre o sinal do P (-■-) e do branco (-○-), n = 3. Solução de $\text{Na}_2\text{MoO}_4 \cdot 2\text{H}_2\text{O}$ 52 mmol L^{-1} em 0,25 mol L^{-1} de H_2SO_4 , ácido ascórbico 60 mmol L^{-1} (40 μL), 0,64 mmol L^{-1} P (0,02 g L^{-1} P, 190 μL), reator de 100 cm. Transportador H_2O (1,0 mL min^{-1}).

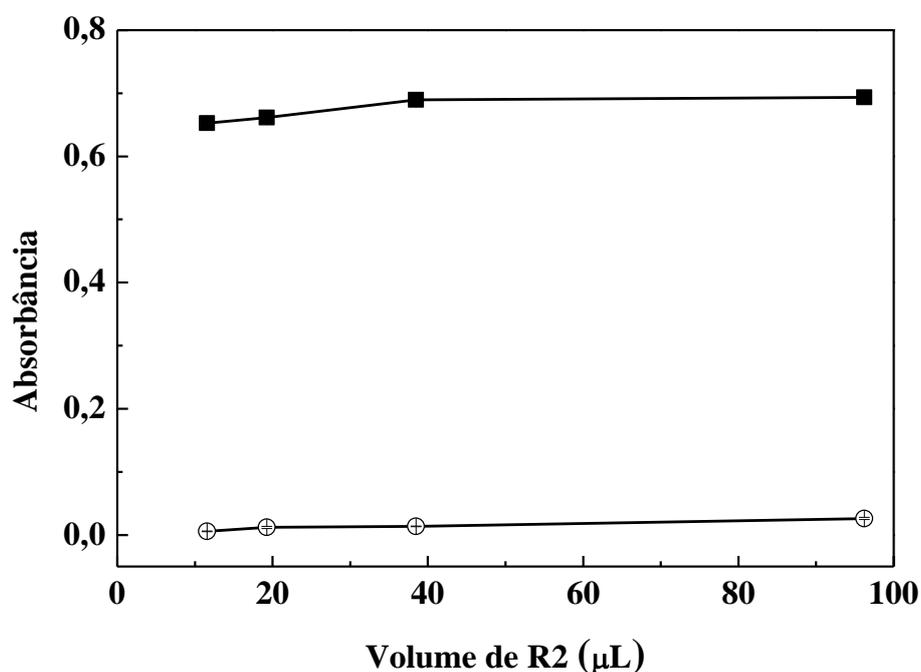


Figura A2 – Efeito do volume de R2 sobre o sinal do P (-■-) e do branco (-○-), n = 3. Solução de $\text{Na}_2\text{MoO}_4 \cdot 2\text{H}_2\text{O}$ 52 mmol L^{-1} em 0,25 mol L^{-1} de H_2SO_4 (20 μL), ácido ascórbico 60 mmol L^{-1} , 0,64 mmol L^{-1} P (0,02 g L^{-1} P, 190 μL), reator de 100 cm. Transportador H_2O (1,0 mL min^{-1}).

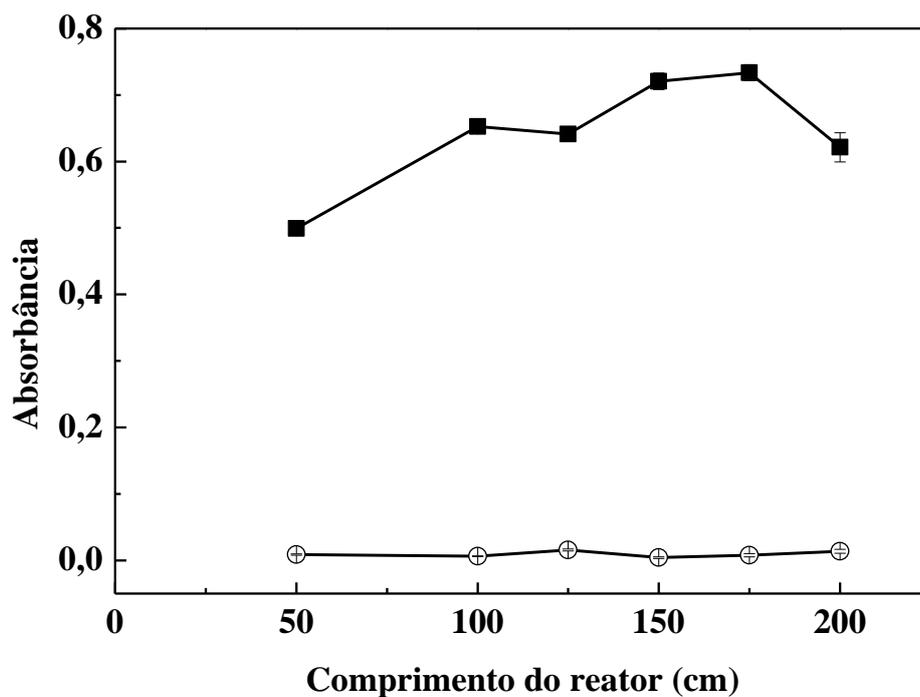


Figura A3 – Efeito do comprimento do reator sobre o sinal do P (-■-) e do branco (-○-), $n = 3$. Solução de $\text{Na}_2\text{MoO}_4 \cdot 2\text{H}_2\text{O}$ 52 mmol L^{-1} em $0,25 \text{ mol L}^{-1}$ de H_2SO_4 ($40 \mu\text{L}$), ácido ascórbico 60 mmol L^{-1} ($10 \mu\text{L}$), $0,64 \text{ mmol L}^{-1}$ P ($0,02 \text{ g L}^{-1}$ P, $190 \mu\text{L}$). Transportador H_2O ($1,0 \text{ mL min}^{-1}$).

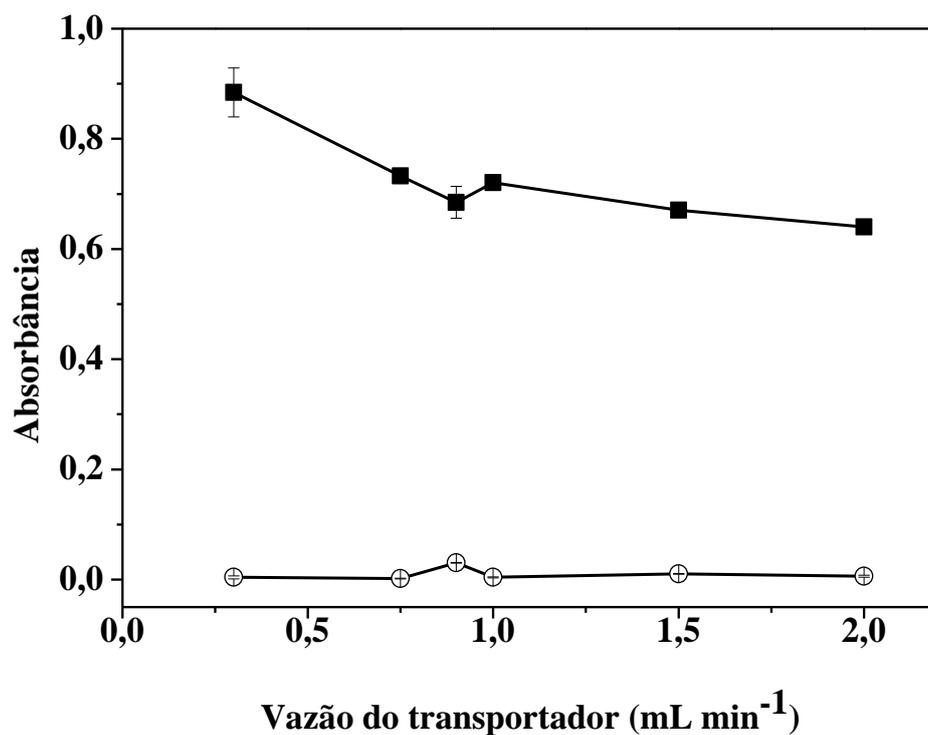


Figura A4 – Efeito da vazão do transportador sobre o sinal do P (-■-) e do branco (-○-), $n = 3$. Solução de $\text{Na}_2\text{MoO}_4 \cdot 2\text{H}_2\text{O}$ 52 mmol L^{-1} em $0,25 \text{ mol L}^{-1}$ de H_2SO_4 ($40 \mu\text{L}$), ácido ascórbico 60 mmol L^{-1} ($10 \mu\text{L}$), $0,64 \text{ mmol L}^{-1}$ P ($0,02 \text{ g L}^{-1}$ P, $190 \mu\text{L}$), reator de 150 cm . Transportador H_2O ($1,0 \text{ mL min}^{-1}$).

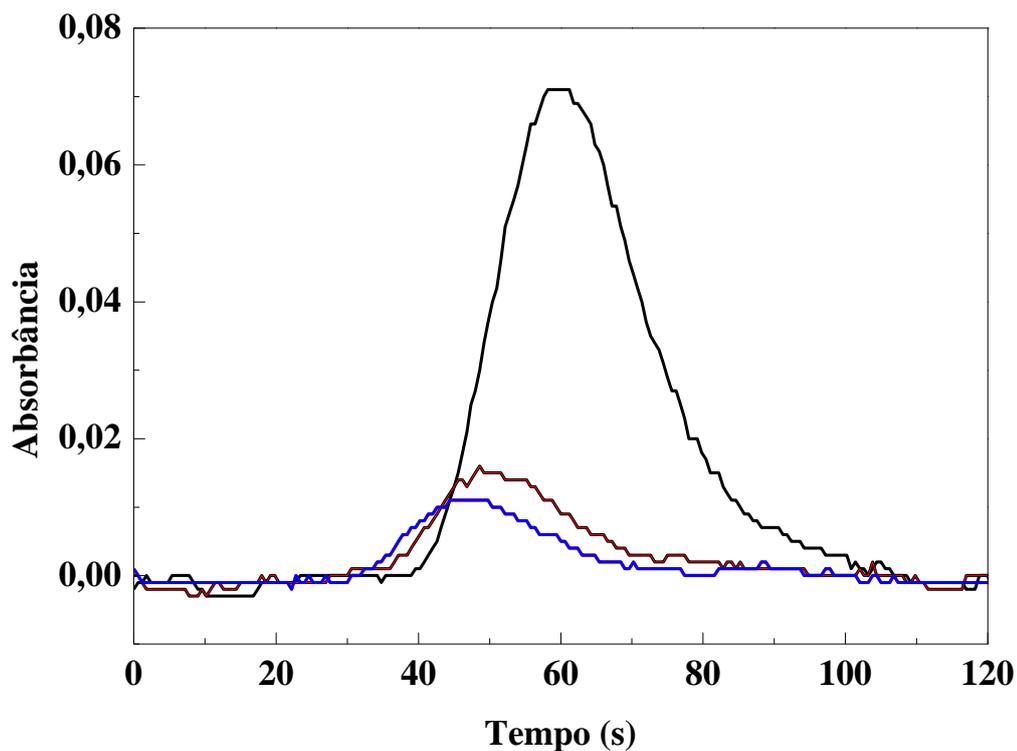


Figura A5 – Sinais transientes referentes à sobreposição das zonas de amostra (—), R1 (—) e R2 (—), obtidos com solução de KMnO_4 $0,20 \text{ mmol L}^{-1}$. Sinal no volume infinito igual a $0,544$.

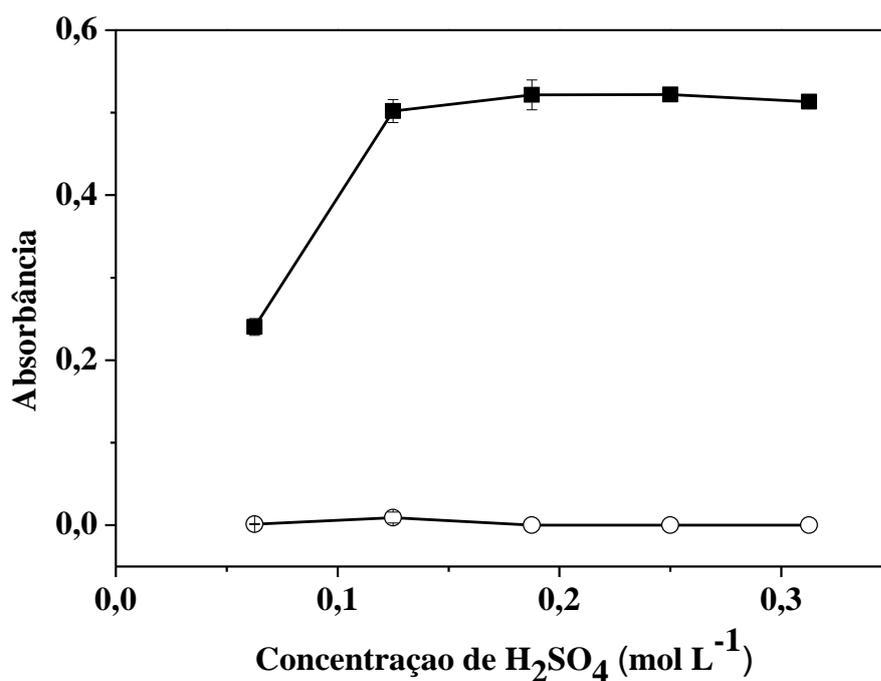


Figura A6 – Efeito da concentração de H_2SO_4 sobre o sinal do P (—■—) e do branco (—○—), $n = 3$. Solução de $\text{Na}_2\text{MoO}_4 \cdot 2\text{H}_2\text{O}$ 52 mmol L^{-1} em H_2SO_4 ($40 \mu\text{L}$), ácido ascórbico 60 mmol L^{-1} ($10 \mu\text{L}$), $0,64 \text{ mmol L}^{-1}$ P ($0,02 \text{ g L}^{-1}$ P, $190 \mu\text{L}$), reator de 150 cm . Transportador H_2O ($2,0 \text{ mL min}^{-1}$).

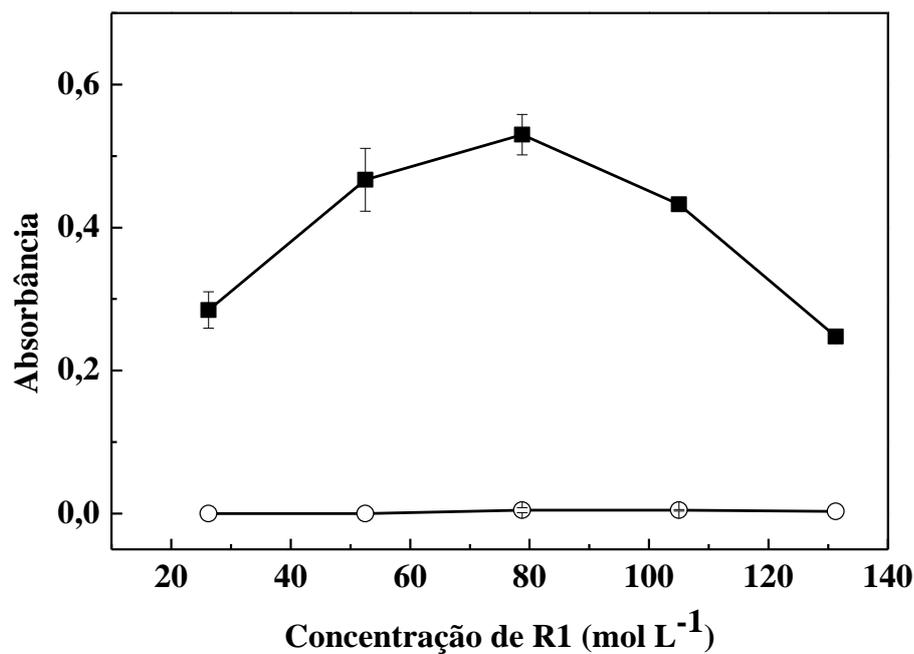


Figura A7 – Efeito da concentração de $\text{Na}_2\text{MoO}_4 \cdot 2\text{H}_2\text{O}$ sobre o sinal de P (-■-) e do branco (-○-), $n = 3$. Solução de $\text{Na}_2\text{MoO}_4 \cdot 2\text{H}_2\text{O}$ em H_2SO_4 $0,125 \text{ mol L}^{-1}$ ($40 \mu\text{L}$), ácido ascórbico 60 mmol L^{-1} ($10 \mu\text{L}$), $0,64 \text{ mmol L}^{-1}$ P ($0,02 \text{ g L}^{-1}$ P, $190 \mu\text{L}$), reator de 150 cm . Transportador H_2O ($2,0 \text{ mL min}^{-1}$).

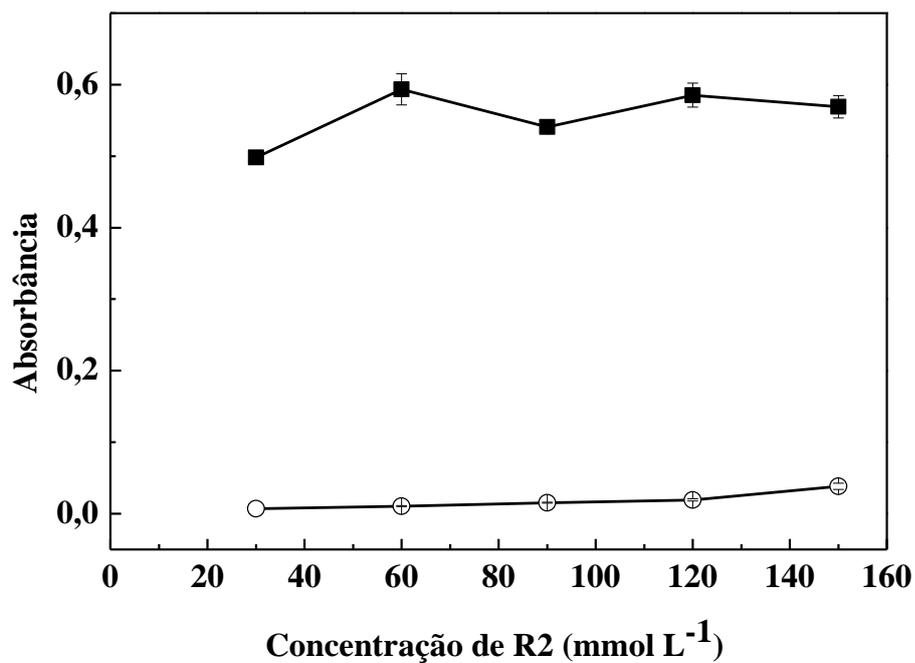


Figura A8 – Efeito da concentração de ácido ascórbico sobre o sinal de P (-■-) e do branco (-○-), $n = 3$. Solução de $\text{Na}_2\text{MoO}_4 \cdot 2\text{H}_2\text{O}$ 79 mmol L^{-1} em H_2SO_4 $0,125 \text{ mol L}^{-1}$ ($40 \mu\text{L}$), ácido ascórbico ($10 \mu\text{L}$), $0,64 \text{ mmol L}^{-1}$ P ($0,02 \text{ g L}^{-1}$ P, $190 \mu\text{L}$), reator de 150 cm . Transportador H_2O ($2,0 \text{ mL min}^{-1}$).

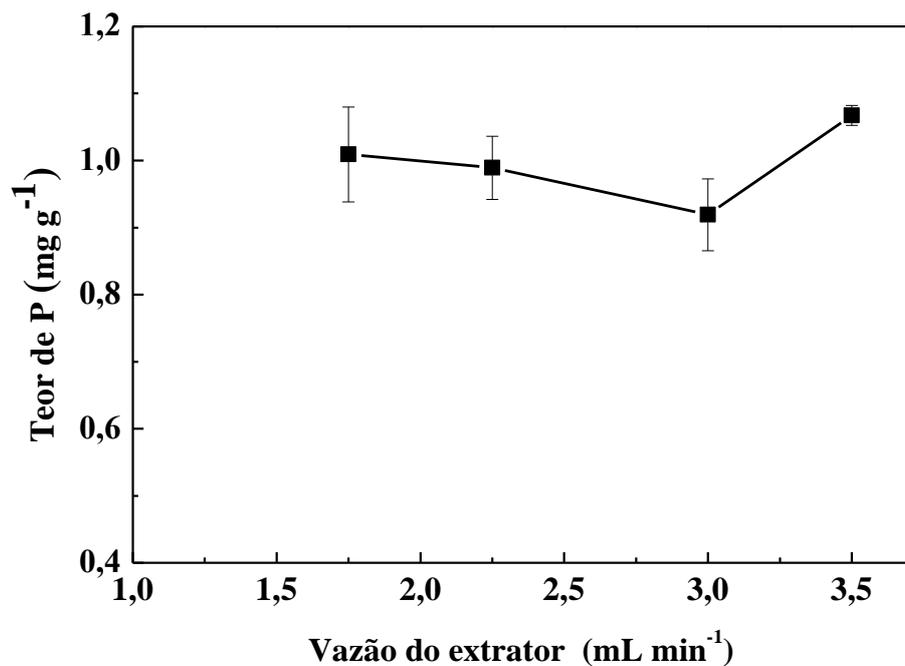


Figura A9 – Efeito da vazão do extrator sobre o teor de P. As determinações de P foram realizadas com procedimento analítico em fluxo otimizado (condições descritas na Figura A8). Massa da amostra de 40 mg imobilizada em coluna de 3,0 cm de comprimento e 4 mm d.i. Reator de 100 cm (500 μ L) e tempo de extração de 60 s, n = 3.

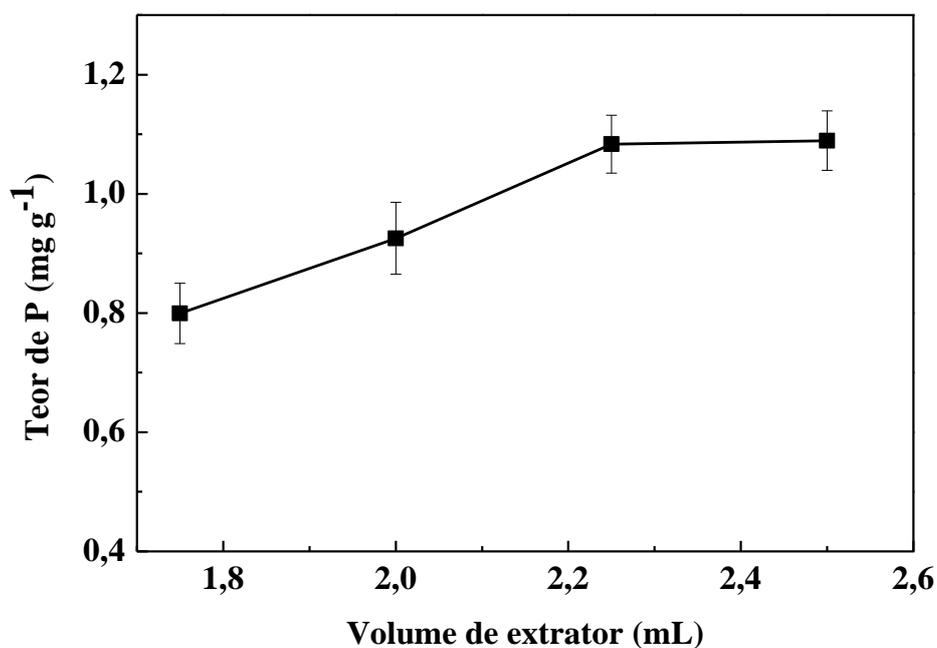


Figura A10 – Efeito do volume do extrator sobre o teor de P. As determinações de P foram realizadas com procedimento analítico em fluxo otimizado (condições descritas na Figura A8). Massa da amostra de 40 mg imobilizada em coluna de 3,0 cm de comprimento e 4 mm d.i. Vazão de 2,3 mL min⁻¹ e tempo de extração de 60 s, n = 3.

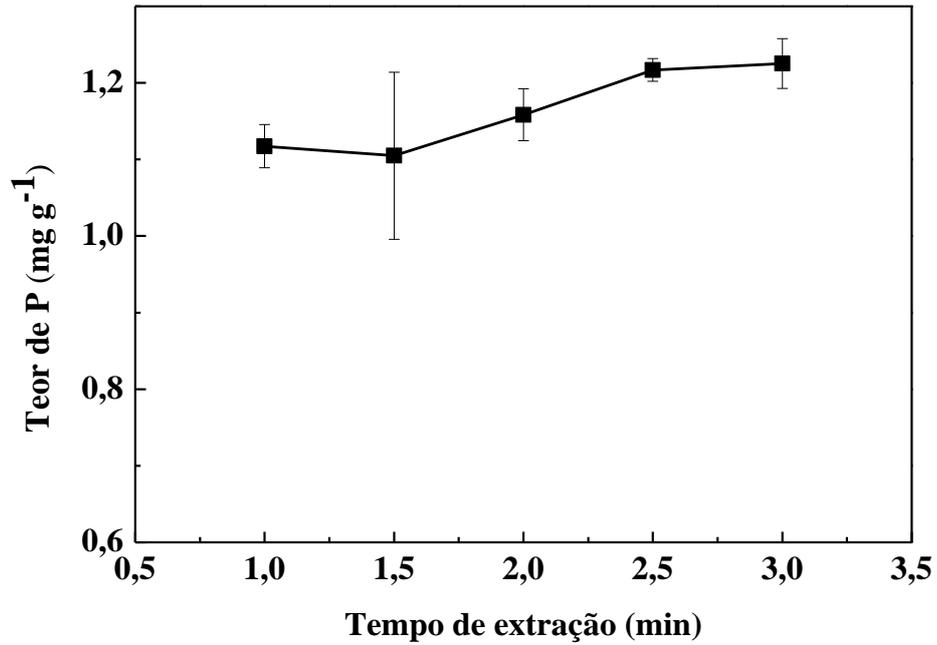


Figura A11 – Efeito do tempo de extração sobre o teor de P. As determinações de P foram realizadas com procedimento analítico em fluxo otimizado (condições descritas na Figura A8). Massa da amostra de 40 mg immobilizada em coluna de 3,0 cm de comprimento e 4 mm d.i. Volume do extrator de 2,3 mL e vazão de 2,3 mL min⁻¹, n = 3.

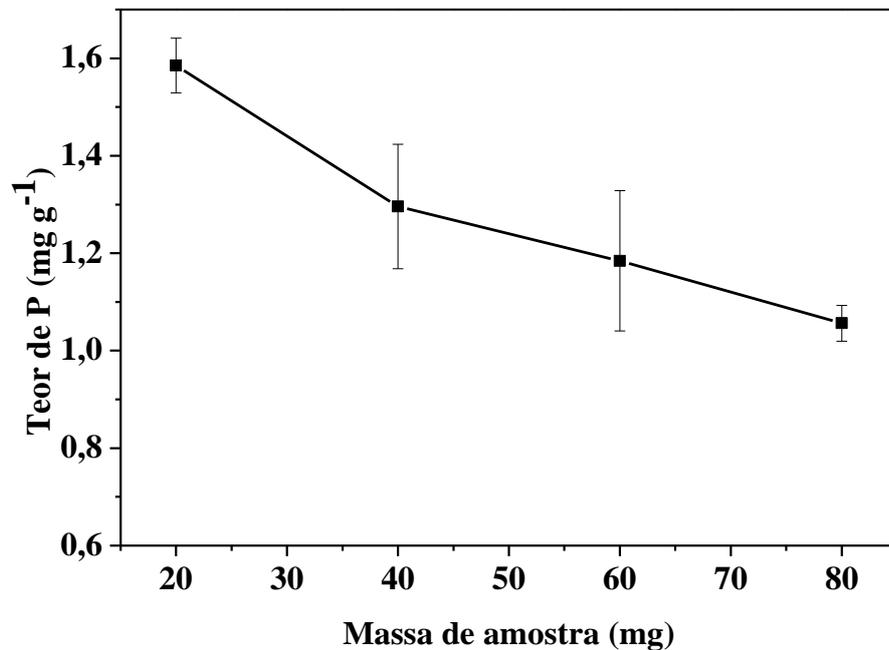


Figura A12 – Efeito da massa da amostra sobre o teor de P. As determinações de P foram realizadas com procedimento analítico em fluxo otimizado (condições descritas na Figura A8). Volume do extrator de 2,3 mL, vazão de 2,3 mL min⁻¹ e tempo de extração de 60 s, n = 3.

