



**UNIVERSIDADE FEDERAL DE SANTA CATARINA
DEPARTAMENTO DE QUÍMICA
CENTRO DE CIÊNCIAS FÍSICAS E MATEMÁTICAS**

**Parâmetros físico-químicos das reações de Zn^{2+} e
 Cd^{2+} com 8-hidroxiquinolina acompanhado por
espectrofluorimetria em meio micelar**

Evandro Sapelli

Orientadora: Profa. Haidi D. Fiedler

Co-orientador: Prof. Faruk Nome

Florianópolis



**UNIVERSIDADE FEDERAL DE SANTA CATARINA
CENTRO DE CIÊNCIAS FÍSICAS E MATEMÁTICAS
DEPARTAMENTO DE QUÍMICA**

**Parâmetros físico-químicos das reações de Zn^{2+} e
 Cd^{2+} com 8-hidroxiquinolina acompanhado por
espectrofluorimetria em meio micelar**

Dissertação apresentada ao Programa de
Pós-Graduação em Química da
Universidade Federal de Santa Catarina
como requisito parcial para obtenção do
título de Mestre em Química

Evandro Sapelli

Orientadora: Profa. Haidi D. Fiedler

Co-orientador: Prof. Faruk Nome

Florianópolis

2006

Evandro Sapelli

Parâmetros físico-químicos das reações de Zn^{2+} e Cd^{2+}
com 8-hidroxiquinolina acompanhado por
espectrofluorimetria em meio micelar

Esta dissertação foi julgada e aprovada para a obtenção do título de **Mestre em Química no Programa de Pós-Graduação em Química** da Universidade Federal de Santa Catarina

Florianópolis, 21 de fevereiro de 2006.

Prof. Dr. Faruk José Nome Aguilera
Coordenador do Programa

BANCA EXAMINADORA

Profa. Dra. Haidi D. Lentz Fiedler
Orientador

Prof. Dr. Bruno Szpoganicz

Prof. Dr. Ivan Gonçalves de Souza

Profa. Dra. Maria Marta de Souza Sierra

Prof. Dr. Faruk Nome
Co-Orientador

Aos meus pais Henrique
Sapelli e Iria Sapelli.

Cada um dos nossos pensamentos não é mais do que um instante de nossa vida. De que serviria a vida se não fosse para corrigir os erros, vencer nossos preconceitos e, a cada dia, alargar nosso coração e nossos pensamentos?

Romain Rolland, *Jean-Christophe*

AGRADECIMENTOS

A professora Haidi Fiedler, meus verdadeiros agradecimentos, pela oportunidade de fazer parte do seu grupo de pesquisa, pela transferência de seus conhecimentos, dedicação, amizade, que foram primordiais para a concretização deste trabalho.

Ao professor Faruk Nome pela co-orientação, sabedoria e colaboração no desenvolvimento deste trabalho.

Aos demais professores do Departamento de Química que contribuíram para minha formação.

A banca examinadora por sua participação.

Aos funcionários Graça e Jadir da secretaria da Pós-Graduação.

Aos meus pais Henrique e Iria Sapelli e ao meu irmão Eder Sapelli, pessoas as quais verdadeiramente e incondicionalmente amo, por todos os tipos de ajuda, apoio, carinho, afeto e exemplos que foram essenciais durante todo esse período, e por todo o resto.

Aos amigos do laboratório 203, Gizelle às vezes mal humorada, mas melhorou bastante, sempre disposta a ajudar, Renata que desde os tempos de graduação não me deixa em paz, mas uma grande amiga, Aloísio pelas ajudas “bárbaras”, Jânio o Júnior do laboratório tem futuro esse garoto e Tiago, agradeço a todos pela amizade, entusiasmo e pelo tempo que compartilhamos juntos.

A todos meus amigos que estiveram ao meu lado, em especial a Maryene sempre disposta a ajudar e ajudou bastante.

A CAPES pelo suporte financeiro.

SUMÁRIO

LISTA DE SÍMBOLOS E ABREVIATURAS.....	ix
LISTA DE FIGURAS	x
LISTA DE TABELAS	xiii
RESUMO.....	xiv
ABSTRACT	xv
I. INTRODUÇÃO	1
I.1. Riscos Ambientais e Toxicidade dos elementos químicos.....	1
I.2. Método analítico baseado na fluorescência.....	5
I.2.1. Principais características do processo de emissão na Fluorescência.....	8
I.3. Formação de Fluoróforos.....	9
I.4. Fluorimetria em meio Micelar.....	11
I.4.1. Surfactantes	11
I.4.2. Formação das micelas	14
II. OBJETIVOS	17
II.1. Objetivos específicos.....	17
III. PARTE EXPERIMENTAL.....	17
III.1. Equipamentos e aparatos analíticos.....	18
III.2. Limpeza da vidraria.....	18
III.3. Soluções e reagente utilizados	19
III.4. Procedimentos Analíticos	20
III.4.2. Determinação da constante de Equilíbrio.....	20
III.4.1. Determinação do pH ótimo com diferentes surfactantes.....	21
III.4.4. Determinação do realce da fluorescência	22
III.4.5. Medidas cinética de precipitação	25
III.4.6. Medidas cinéticas de aumento da intensidade de fluorescência.....	26
III.5. Determinação da viscosidade das soluções	27
IV. RESULTADOS E DISCUSSÃO	28
IV.1. Constante de equilíbrio para complexação de Zn ²⁺	28
IV.2. Otimização do pH na presença dos diferentes surfactantes	31

IV.3. Espectros de excitação e emissão	33
V.4. Determinação das espécies metálicas Zn^{2+} e Cd^{2+} por espectrofluorimetria em diferentes meios micelares.	36
V.4.1. Determinação de zinco e cádmio via realce de fluorescência de 8-HQ em meio micelar.....	36
V.5. Determinação dos limites de detecção (LD) e quantificação (LQ) para os íons metálicos Zn^{2+} e Cd^{2+}	42
V.6. Cinéticas de aumento da intensidade de fluorescência	45
V.7. Cinéticas de precipitação com Zn^{2+} nos diferentes meios micelares.....	49
V.7. Efeito da viscosidade na estabilização do complexo formado entre 8- HQ e Zn^{2+}	51
VI. CONCLUSÕES.....	54
VII. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS.....	55

LISTA DE SÍMBOLOS E ABREVIATURAS

8-HQ	8-hidroxiquinolina
CTABr	Brometo de cetil trimetil amônio
SDS	Dodecil sulfato de Sódio
TRITON X-100	Polioxietileno p-tercotil fenol
SB3-12	N-dodecil-N,N-di-metil-3-amônio-1-propanosulfonato
SB3-16	N-hexadecil-N,N-dimetil-3-amônio-1-propanosulfonato
CMC	Concentração micelar crítica
N	Número de agregação
Tris	Tris hidroximetil amino metano
Nm	Nanômetro
F _o	Fluorescência sem o metal
g	Grama
mL	Mililitros
L	Litro
Uv/Vis	Ultravioleta visível
λ	Comprimento de onda
LD	Limite de detecção
LQ	Limite de quantificação
K _{eq}	Constante de equilíbrio
Abs	Absorbância

LISTA DE FIGURAS

Figura 1. Diagrama de Jablonski onde estão representados os níveis energéticos de uma molécula diatômica (de acordo com Willard, et al. 1974 e Lakowicz, 1983).....	6
Figura 2. Estrutura da sonda 8-hidroxiquinolina (8-HQ).....	10
Figura 3. Formação do agregado micelar (Fendler & Fendler, 1975; Maniasso, 2001).....	15
Figura 4. Representação bidimensional das regiões que formam uma micela iônica normal com estrutura esférica, de acordo com o modelo de Stigter (Fendler & Fendler, 1975, Maniasso, 2001).....	16
Figura 5. Esquema com a metodologia adotada para o estudo do pH ótimo dos complexos formados entre 8-HQ e Zn^{2+} em diferentes meios micelares.	22
Figura 6. Esquema com a metodologia utilizada para os estudos da cinética de precipitação do M^{2+} com 8-HQ a temperatura ambiente, em diferentes meios micelares, com pH 8,5 para o surfactante TRITON-X100 e pH 8,0 para os demais surfactantes.	26
Figura 7. Variação da absorvância do complexo formado entre 8-HQ e Zn^{2+} $5,0 \times 10^{-5} \text{ mol.L}^{-1}$ em função da concentração de 8-HQ em meio micelar de CTABr $0,05 \text{ mol.L}^{-1}$, e tamponado com Tris $2,0 \times 10^{-2} \text{ mol.L}^{-1}$ a pH 8,0.	29
Figura 8. Variação do logaritmo da razão das concentrações de Zn^{2+} complexado e Zn^{2+} livre em função do logaritmo da concentração de 8-HQ na forma livre.	30
Figura 9. Variação da absorvância, em $\lambda = 380 \text{ nm}$, do complexo formado entre 8-HQ ($2,0 \times 10^{-4} \text{ mol.L}^{-1}$) e Zn^{2+} ($5,0 \times 10^{-5} \text{ mol.L}^{-1}$) em função do pH do meio na presença dos surfactantes ($0,1 \text{ mol.L}^{-1}$ 5%), aniônico (SDS), catiônico (CTABr) e não iônico (TRITON X-100).....	32
Figura 10. Variação da absorvância, em $\lambda = 380 \text{ nm}$, do complexo formado entre 8-HQ ($2,0 \times 10^{-4} \text{ mol.L}^{-1}$) e Zn^{2+} ($5,0 \times 10^{-5} \text{ mol.L}^{-1}$) em função do pH do meio na presença de surfactantes zwitterionicos ($5,0 \times 10^{-2} \text{ mol.L}^{-1}$).	33

- Figura 11. Espectros de excitação e emissão da 8-HQ $2,0 \times 10^{-4} \text{ mol L}^{-1}$ e Zn $5,0 \times 10^{-5} \text{ mol L}^{-1}$ em tampão Tris $0,01 \text{ mol L}^{-1}$ com os surfactantes, (■)TRITON X100 $5,0 \times 10^{-2} \text{ mol L}^{-1}$ (●) CTABr $5,0 \times 10^{-2} \text{ mol L}^{-1}$ (▲)lauril sulfobetaina $5,0 \times 10^{-2} \text{ mol L}^{-1}$ (▼) palmitil sulfobetaina $5,0 \times 10^{-2} \text{ mol L}^{-1}$ e (◆) SDS $5,0 \times 10^{-2} \text{ mol L}^{-1}$ 34
- Figura 12. Espectros de excitação e emissão da 8-HQ $2,0 \times 10^{-4} \text{ mol L}^{-1}$ e Cd $5,0 \times 10^{-5} \text{ mol L}^{-1}$ em tampão Tris $0,01 \text{ mol L}^{-1}$ com os surfactantes, (■)TRITON X100 $5,0 \times 10^{-2} \text{ mol L}^{-1}$ (●) CTABr $5,0 \times 10^{-2} \text{ mol L}^{-1}$ (▲)lauril sulfobetaina $5,0 \times 10^{-2} \text{ mol L}^{-1}$ (▼) palmitil sulfobetaina $5,0 \times 10^{-2} \text{ mol L}^{-1}$ e (◆) SDS $5,0 \times 10^{-2} \text{ mol L}^{-1}$ 35
- Figura 13. (a) Espectros de emissão da fluorescência do complexo formado entre Zn^{2+} e 8-HQ $2,0 \times 10^{-4} \text{ mol.L}^{-1}$ em tampão Tris $0,01 \text{ mol.L}^{-1}$ pH = 8,0, Lauril sulfobetaina $5,0 \times 10^{-2} \text{ mol L}^{-1}$. (b) Curva de calibração Zn (0 a $5,0 \times 10^{-5} \text{ mol L}^{-1}$, comprimento de onda 553 nm..... 37
- Figura 14. (a) Espectros de emissão da fluorescência do complexo formado entre Zn^{2+} e 8-HQ $2,0 \times 10^{-4} \text{ mol L}^{-1}$ em tampão Tris $0,1 \text{ mol.L}^{-1}$ pH = 8,0, palmitil sulfobetaina $5,0 \times 10^{-2} \text{ mol L}^{-1}$. (b) Curva de calibração Zn (0 a $5,0 \times 10^{-5} \text{ mol L}^{-1}$, comprimento de onda 550 nm..... 37
- Figura 15. (a) Espectros de emissão da fluorescência do complexo formado entre Zn^{2+} e 8-HQ $2,0 \times 10^{-4} \text{ mol L}^{-1}$ em tampão Tris $0,01 \text{ M}$ pH = 8,0, SDS $5,0 \times 10^{-2} \text{ mol L}^{-1}$. (b) Curva de calibração Zn (0 a $7,0 \times 10^{-5} \text{ mol L}^{-1}$, comprimento de onda 555 nm. 38
- Figura 16. (a) Espectros de emissão da fluorescência do complexo formado entre Zn^{2+} e 8-HQ $2,0 \times 10^{-4} \text{ mol L}^{-1}$ em tampão Tris $0,01 \text{ M}$ pH = 8,5, Triton X-100 $5,0 \times 10^{-2} \text{ mol L}^{-1}$. (b) Curva de calibração Zn (0 a $5,0 \times 10^{-5} \text{ mol L}^{-1}$, comprimento de onda 555 nm..... 38
- Figura 17. (a) Espectros de emissão da fluorescência do complexo formado entre Zn^{2+} e 8-HQ $2,0 \times 10^{-4} \text{ mol L}^{-1}$ em tampão Tris $0,01 \text{ M}$ pH = 8,0, CTABr $5,0 \times 10^{-2} \text{ mol L}^{-1}$. (b) Curva de calibração Zn (0 a $5,0 \times 10^{-5} \text{ mol L}^{-1}$, comprimento de onda 554 nm. 39

Figura 18. (a) Espectros de emissão da fluorescência do complexo formado entre Cd^{2+} e 8-HQ $2,0 \times 10^{-4} \text{ mol L}^{-1}$ em tampão Tris $0,01\text{M}$ $\text{pH} = 8,0$, Lauril sulfobetaína $5,0 \times 10^{-2} \text{ mol L}^{-1}$. (b) Curva de calibração Cd $(0 \text{ a } 5,0) \times 10^{-5} \text{ mol L}^{-1}$, comprimento de onda 553 nm	39
Figura 19. Espectros de emissão de fluorescência em função do tempo com $[\text{Zn}] 5,0 \times 10^{-5} \text{ mol L}^{-1}$ e $[\text{8-HQ}] 2,0 \times 10^{-4} \text{ mol L}^{-1}$, lauril sulfobetaína $0,05 \text{ mol L}^{-1}$.	45
Figura 20. Espectros de emissão de fluorescência em função do tempo com $[\text{Zn}] 5,0 \times 10^{-5} \text{ mol L}^{-1}$ e $[\text{8-HQ}] 2,0 \times 10^{-4} \text{ mol L}^{-1}$, palmitil sulfobetaína $0,05 \text{ mol L}^{-1}$	46
Figura 21. Espectros de emissão de fluorescência em função do tempo com $[\text{Zn}] 6,0 \times 10^{-5} \text{ mol L}^{-1}$ e $[\text{8-HQ}] 2,0 \times 10^{-4} \text{ mol L}^{-1}$, SDS $0,05 \text{ mol L}^{-1}$	46
Figura 22. Espectros de emissão de fluorescência em função do tempo com $[\text{Zn}] 6,0 \times 10^{-5} \text{ mol L}^{-1}$ e $[\text{8-HQ}] 2,0 \times 10^{-4} \text{ mol L}^{-1}$, Triton X-100 $0,05 \text{ mol L}^{-1}$	47
Figura 23. Espectros de emissão de fluorescência em função do tempo com $[\text{Zn}] 9,0 \times 10^{-5} \text{ mol L}^{-1}$ e $[\text{8-HQ}] 2,0 \times 10^{-4} \text{ mol L}^{-1}$, CTABr $0,1 \text{ mol L}^{-1} 5\%$	47
Figura 24. Representação gráfica da cinética de precipitação da 8-HQ $2,0 \times 10^{-4} \text{ mol L}^{-1}$ e Zn $5,0 \times 10^{-5} \text{ mol L}^{-1}$ em tampão Tris $0,01 \text{ mol L}^{-1}$ com os surfactantes, (\blacklozenge) CTABr $5,0 \times 10^{-2} \text{ mol L}^{-1}$, (\blacktriangle) palmitil sulfobetaína $5,0 \times 10^{-2} \text{ mol L}^{-1}$, (\blacksquare) lauril sulfobetaína $5,0 \times 10^{-2} \text{ mol L}^{-1}$ (\bullet) TRITON X100 $5,0 \times 10^{-2} \text{ mol L}^{-1}$ e (\blacktriangledown) SDS $5,0 \times 10^{-2} \text{ mol L}^{-1}$ e (+) ausência de surfactante.....	49
Figura 25. Representação gráfica dos espectros de excitação da 8-HQ $2,0 \times 10^{-4} \text{ mol L}^{-1}$ e Zn $5,0 \times 10^{-5} \text{ mol L}^{-1}$ em tampão Tris $0,01 \text{ mol L}^{-1}$ com os surfactantes, (\blacksquare) TRITON X-100 $5,0 \times 10^{-2} \text{ mol L}^{-1}$ (\bullet) CTABr $5,0 \times 10^{-2} \text{ mol L}^{-1}$ (\blacktriangle) Lauril sulfobetaína $5,0 \times 10^{-2} \text{ mol L}^{-1}$ (\blacktriangledown) Palmitil sulfobetaína $5,0 \times 10^{-2} \text{ mol L}^{-1}$ e (\blacklozenge) SDS $5,0 \times 10^{-2} \text{ mol L}^{-1}$	50
Figura 26. Representação gráfica dos espectros de excitação da 8-HQ $2,0 \times 10^{-4} \text{ mol L}^{-1}$ e Zn $5,0 \times 10^{-5} \text{ mol L}^{-1}$ em tampão Tris $0,01 \text{ mol L}^{-1}$ com os surfactantes, (\blacksquare) TRITON X-100 $5,0 \times 10^{-2} \text{ mol L}^{-1}$ (\bullet) CTABr $5,0 \times 10^{-2} \text{ mol L}^{-1}$ (\blacktriangle) Lauril sulfobetaína $5,0 \times 10^{-2} \text{ mol L}^{-1}$ (\blacktriangledown) Palmitil sulfobetaína $5,0 \times 10^{-2} \text{ mol L}^{-1}$ e (\blacklozenge) SDS $5,0 \times 10^{-2} \text{ mol L}^{-1}$	51

LISTA DE TABELAS

Tabela 1. Surfactantes de uso comum em Química Analítica.....	12
Tabela 2. Estrutura de alguns surfactantes zwitteriônicos.	13
Tabela 3. Valores experimentais para determinação da constante de equilíbrio do complexo formado entre 8-HQ e Zn^{2+} em tampão Tris e meio micelar de CTABr.	21
Tabela 4. Procedimento necessário para a construção das curvas de calibração do M^{2+} a temperatura ambiente, em diferentes meios micelares, com pH 8,5 para o surfactante TRITON-X100 e pH 8,0 para os demais surfactantes.	23
Tabela 5. Valores de concentração e tempo de escoamento das soluções de 8-HQ e Zn, com os surfactantes CTABr e SDS em tampão Tris a pH 8,0.....	28
Tabela 6. Parâmetros calculados para a complexação de íon Zn^{2+} na concentração de $5,0 \times 10^{-5} \text{ molL}^{-1}$ com a concentração de 8-HQ variável, em meio micelar de CTABr a pH 8,0.....	31
Tabela 7. Valores utilizados para cálculo dos (LD) e (LQ)	43
Tabela 8. Limites de detecção e quantificação.....	44
Tabela 9. Dados quantitativos das alterações observadas no $\lambda_{\text{emissão}}$ em função do tempo e mudança da coloração da solução.....	48
Tabela 10. Valores de viscosidade relativa em diferentes concentrações de Zn^{2+} e 8-HQ.....	52

RESUMO

O intenso uso de metais pesados, em muitos casos de elevada toxicidade, nas diferentes atividades industriais, faz com que a implementação de novos métodos para análise de metais seja importante. No presente trabalho estuda-se um método para determinação de Zn^{2+} e Cd^{2+} na presença de surfactantes catiônicos (CTABr), aniônicos (SDS), não-iônicos (TRITON X-100) e zwitteriônicos (Lauril e Palmitil sulfobetaína) por espectrofluorimetria. O método proposto emprega a utilização da sonda fluorescente 8-hidroxiquinolina (8-HQ).

A técnica de espectroscopia de fluorescência em meio micelar mostrou-se eficiente e de fácil aplicabilidade. A utilização de surfactantes para formação do meio micelar é muito importante porque permite a solubilização do complexo formado entre 8-HQ com Zn^{2+} e Cd^{2+} , o qual precipitaria imediatamente na ausência de surfactante.

Nas condições experimentais de análise das amostras ($[8-HQ] = 2,0 \times 10^{-4}$ mol L⁻¹ e $[Me^{2+}]$ na faixa de 0 até $6,0 \times 10^{-5}$ mol L⁻¹), os resultados indicam que o surfactante CTABr é o que atua de forma mais favorável na solubilização do complexo formado entre metal e 8-HQ, tanto no caso do zinco quanto do cádmio, e nenhuma precipitação dos complexos pôde ser observada mesmo depois de 24 horas. Os resultados dos testes de viscosidade mostram que adição de Zn^{2+} afeta significativamente a viscosidade macroscópica das soluções de CTABr, um fato que pode estar relacionado com a estabilidade do complexo em solução.

Foi possível utilizar o fenômeno de realce da fluorescência da 8-HQ, na presença de meio micelar para quantificação de Zn^{2+} e Cd^{2+} e utilizando como exemplo o CTABr pôde-se calcular que o limite de detecção é de 2,39 nanomoles de Zn^{2+} e no caso do Cd^{2+} 2,74 nanomoles. Em ambos os casos, em sistemas cromatográficos onde as amostras são injetadas na ordem de microlitros e analisadas em volumes muito pequenos, e/ou pré-tratadas em coluna de pré-concentração, o método pode atingir picomoles de metais.

ABSTRACT

The intensive use of heavy metals in several industries activities combined ?? their toxicity have enhanced the necessity of development of new and quick methods of analysis. In the present work, it is reported a spectrofluorimetric method for the determination of Zn^{2+} and Cd^{2+} in the presence of cationic (CTABr), anionic (SDS), non-ionic (TRITON X-100) and zwitterionic (Lauryl and sulfobetaine Palmityl) surfactants. The method is based in the use of 8-hidroxiquinoline (8-HQ) as a fluorescent probe. The 8-HQ fluorescence is enhanced the presence of metallic ions such as Zn^{2+} and Cd^{2+} making possible the analysis of these metals in solutions of known composition.

It was verified that the fluorescence spectroscopy technique in micellar environments exhibits efficiency and easy applicability. The use of surfactants for the formation of aqueous micelles is very important because it allows the ready solubilization of the complex formed between 8-HQ and Zn^{2+} or Cd^{2+} , which precipitates immediately in aqueous solutions.

Under the experimental conditions of sample analysis ($[8-HQ] = 2.0 \times 10^{-4} \text{ mol L}^{-1}$ and $[Me^{2+}]$ in the range of 0 to $6.0 \times 10^{-5} \text{ mol L}^{-1}$), the results indicated that CTABr acts more favorably in the solubilization of the complexes formed between metal and 8-HQ, not only in the case of zinc but also in the case of cadmium. No complex precipitation is observed within the first 24 hours after mixing. The results of the viscosity tests show that addition of Zn^{2+} significantly affects the macroscopic viscosity of the CTABr solutions, wich can be related with the complex stability in solution.

Using CTABr, it was possible to calculate the DL, which was of 2.39 nanomols for Zn^{2+} and, in the case of Cd^{2+} , 2.74 nanomols. In both cases, in chromatographic systems where the samples are injected in microliters and analyzed in very small volumes, and/or pre-treated in pre-concentration column, the method can measure picomols of metal.

I. INTRODUÇÃO

A proposição de métodos analíticos simples, para a detecção de elementos metálicos em um meio aquoso laboratorial com uma matriz conhecida, é o primeiro passo para que os mesmos possam a vir a ser otimizados com uma ampla aplicação. Portanto, sempre que os elementos de interesse estiverem presentes em meios complexos como, por exemplo, águas naturais ou fluídos humanos, uma metodologia espectroscópica, como por exemplo, a fluorescência, pode ser acoplada a outras técnicas analíticas onde os elementos de interesse possam ser isolados, para evitar efeitos de interferência da matriz.

Uma necessidade analítica importante é desenvolver metodologias de alta sensibilidade e baixo custo, já que o intenso uso dos metais pesados no setor industrial, aliados às suas toxicidades, faz com que o monitoramento destes metais em efluentes aquosos seja imprescindível. Sabendo-se que os íons Cd^{2+} e Zn^{2+} como muitos outros metais pesados e de transição atuam de forma eficiente suprimindo ou realçando a fluorescência de moléculas orgânicas via aumento do acoplamento spin-órbita, ou mecanismos de transferência de energia e/ou de elétrons (Escabi-Perez et al., 1977) o presente trabalho pretende estabelecer a possibilidade de analisar alguns metais, em soluções de composição conhecida, utilizando a metodologia de fluorescência em soluções micelares. A seguir apresentam-se: (i) uma breve análise de riscos ambientais e toxicidade associada a metais; e (ii) uma revisão bibliográfica referente à técnica de fluorescência.

I.1. Riscos Ambientais e Toxicidade dos elementos químicos

Um grande avanço tecnológico conjuntamente com atividades industriais tem caracterizado o século XX, onde milhares de novos compostos têm sido elaborados para diversos fins. Num âmbito geral, a contaminação ambiental tem sido tema de muitas discussões. Embora a comunidade científica tenha desenvolvido pesquisas e comprovado que metais são fontes importantes de contaminação de ambientes aquáticos, continua de maneira crescente, o descarte

aos recursos hídricos, de resíduos provenientes de zonas urbanas. Tal fato é sinônimo de um crescimento desordenado, e ao que tudo indica parece ser ignorado pelo próprio homem e pela comunidade em geral (Benato et al., 1999).

O crescimento demográfico e as atividades econômicas desenvolvidas vêm progressivamente aumentando a diversidade e quantidade de substâncias tóxicas de origem antropogênica liberadas ao meio ambiente. Destacam-se esgotos domésticos e industriais, despejados na rede pluvial sem tratamento prévio, depósitos de lixos, queimadas sem controle, assim como a emissão para a atmosfera de gases nocivos e materiais particulados. Em particular, a difusão rápida dos metais contaminantes exige uma especial atenção à determinação desses para mantermos o controle sobre a contaminação (Locatelli et al., 2000 e 2001).

Os metais pesados apresentam-se como poluentes bastante devastadores. São introduzidos na água a partir de resíduos de atividades industriais provenientes de diversas indústrias que envolvem produtos e atividades tais como: papel, petroquímica, cloro e potássio, fertilizantes, siderurgias, metais não-ferrosos, veículos automotores e aviões, vidro, cerâmica, cimento, têxtil, curtumes, termoelétricas e outras. (Arana et al., 1997)

Outra fonte de metais está nos minérios, que são levados pela corrente dos rios até o oceano, contribuindo para a elevação dos níveis destes no ambiente. Em alguns ecossistemas de água doce a poluição se caracteriza unicamente por precipitações atmosféricas e é naturalmente redistribuída para todo o sistema aquático. A distribuição de metais entre água, biota e sedimento nos sistemas aquáticos revelam o estado de contaminação do sistema. (Nimis et al., 2002)

Não é difícil reconhecer a importância dos metais na atividade humana e no processo de evolução e crescimento das civilizações nos diferentes períodos históricos. Um grande número de objetos de uso diário são elaborados a partir de metais, tais como, ferro, chumbo, zinco, níquel e outros. Estes fazem parte da história da humanidade há milhares de anos, e apesar dos esforços nas últimas décadas na produção de materiais sintéticos que possam substituí-los, tais como

os plásticos, os metais continuam imprescindíveis para a manufatura de produtos em geral (Castro et al., 2000).

Elevados níveis de íons metálicos no ambiente aquático, tendem a se concentrar em todas as matrizes (matéria suspensa, sedimento e biota), resultando em uma presença definitiva na cadeia alimentar, envolvendo os seres humanos, como consequência do consumo dos produtos marinhos. (Locatelli et al., 2001)

Quando o interesse é avaliar o potencial tóxico de uma determinada substância perigosa para a saúde humana ou para o meio ambiente, uma das primeiras informações necessárias é avaliar como e quando estas substâncias estariam bio-disponíveis. Entende-se que o suposto risco de um determinado metal dependerá de dois fatores: **perigo intrínseco**, que está relacionado com a forma com que se encontra presente no meio natural e as possibilidades de transformações das mesmas, que poderão sofrer com as mudanças naturais, somado ao grau (no tempo) de **exposição** do mesmo (Anastas et al., 1998).

$$\text{RISCO} = \text{PERIGO INTRÍNSECO} \times \text{EXPOSIÇÃO}$$

Portanto, para poder compreender o perigo da presença de um determinado elemento metálico no meio natural, antes de tudo, deve-se obter uma visão geral do meio (ou compartimento ambiental em estudo) em que ele está sendo avaliado (Fiedler et al., 2004).

A bio-disponibilidade de micro-nutrientes e micro-elementos tóxicos, como por exemplo o caso dos elementos metálicos, para os organismos vivos que vivem no meio hídrico, dependerá da interação desses elementos com: i) as partículas de óxidos e oxi-hidróxidos; ii) as argilas minerais em tamanho coloidal (diâmetro inserido em uma faixa de 1 nm à 0,45 µm) e iii) o material orgânico, sendo que todas estas interações estarão em constante movimento de acordo com as características intrínsecas do meio físico-químico em que encontram.

Muitos elementos metálicos são essenciais às funções bioquímicas e fisiológicas. Estes elementos participam em funções necessárias para a vida e são

compartimentalizados dentro das células vivas. Essa compartimentalização pode ser em nível sub-celular ou macromolecular, podendo os organismos vivos selecionar, transportar e compartimentalizar aqueles elementos que atuam decisivamente nos processos de oxidação, redução, catálise e estruturação, enquanto se protegem das interações biologicamente tóxicas (Santos et al., 1992).

Os metais considerados essenciais ao homem, embora possam também ser considerados tóxicos quando presentes em grandes quantidades são regulados por processos metabólicos que os mantêm em níveis adequados de equilíbrio nos animais e no homem. Como exemplo, o ferro presente na hemoglobina do sangue é responsável pelo transporte de oxigênio. Ressaltando, um determinado elemento pode ser essencial, terapêutico, tóxico e/ou carcinogênico dependendo da sua concentração e da sua forma química (Castro et al., 2000 e Santos et al., 1992).

O mecanismo de toxicidade dos metais envolve freqüentemente a competição destes metais por sítios ativos normalmente ocupados por outros metais, que por sua vez fazem parte de moléculas de função essencial, como exemplo as enzimas (Larini et al., 1987 e Klaassen et al., 1987). Muitos desses metais são cumulativos, pelo fato dos organismos vivos não eliminá-los com facilidade depois de absorvidos, provocando assim, uma serie de complicações (Claudino et al., 2003).

Especificamente em relação ao zinco (Zn^{2+}), cabe informar que é o segundo íon conhecido como metal pesado, depois do ferro, mais abundante no corpo humano. Está classificado como um microelemento essencial, já que em sistemas biológicos contribui tanto para a estrutura como para a função das proteínas. (Hanaoka et. al., 2004).

Algumas das principais fontes de zinco são: metalurgia, reciclagem de chumbo, inseticidas, pigmentos, anti-sépticos, medicamentos, produção de ferro e aço. Os impactos causados a saúde pela contaminação por zinco se manifestam por sensações como paladar adocicado e secura na garganta, tosse, fraqueza, dor generalizada, arrepios, febre, náusea, vômitos, diarreia e pneumonia. No entanto, a maior parte dos efeitos tóxicos do zinco relaciona-se à sua combinação com

outros metais pesados e contaminação durante os processos de extração e concentração de zinco (Tsalev e Zaprianov, 1983).

Metais considerados não essenciais ao homem, como por exemplo, cádmio, não são regulados por esses processos podendo ser armazenados em quantidades crescentes em alguns tecidos, causando intoxicação (Tsalev e Zaprianov, 1983).

O cádmio é um dos elementos não radioativos mais tóxicos, exibe uma latente toxicidade, e aparece no meio ambiente como um resultado de vários processos industriais. A disponibilidade de Cd^{2+} no meio ambiente depende de uma variedade de fatores que incluem pH, natureza e concentração de ligantes e íons complexantes, tipo de sorbatos presentes, envelhecimento do substrato, tempo de residência do íon metálico na superfície e temperatura (Fiedler et al., 2004 e Tessier et al., 2004).

I.2. Método analítico baseado na fluorescência

O método fluorimétrico está estreitamente relacionado com a espectrofotometria de absorção molecular. Depois das moléculas terem absorvido energia radiante e de terem sido excitadas para um estado eletrônico de mais alta energia, tendem a perder o excesso de energia para regressarem ao estado eletrônico fundamental. A **fluorescência** consiste na emissão imediata de luz (tempo da ordem de 10^{-6} - 10^{-10} segundos) por uma molécula que tenha absorvido radiação. A liberação mais lenta da energia absorvida é conhecida como **fosforescência**. Também, existe uma distinção teórica entre os dois fenômenos: a fluorescência resulta de uma transição singlete-singlete, ao passo que é uma transição triplete-singlete que determina a fosforescência (Willard et al., 1974).

Os estados eletrônicos da maior parte das moléculas orgânicas podem ser agrupados em dois tipos principais: (i) o estado singlete onde todos os elétrons da molécula têm os spins emparelhados, e (ii) o estado triplete, onde há um par de elétrons não emparelhados. Os diferentes processos fotofísicos da absorção e

emissão de luz estão ilustrados no diagrama de níveis de energia sugerido por Jablonski (**Figura 1**). Nas abscissas, representa-se a distância internuclear dos dois átomos e, nas ordenadas a energia potencial. Para uma molécula mais complexa, a energia potencial é representada por uma superfície em um espaço polidimensional, sendo que uma representação bidimensional corresponde a uma secção transversal da superfície.

Na **Figura 1** estão representados: o estado fundamental, o primeiro e segundo níveis de energia por S_0 , S_1 e S_2 , respectivamente. A absorção de energia radiante apropriada, por uma molécula, transporta esta última, de determinado nível vibracional do estado fundamental, para um dos níveis vibracionais de um dos estados eletrônicos excitados, geralmente o primeiro

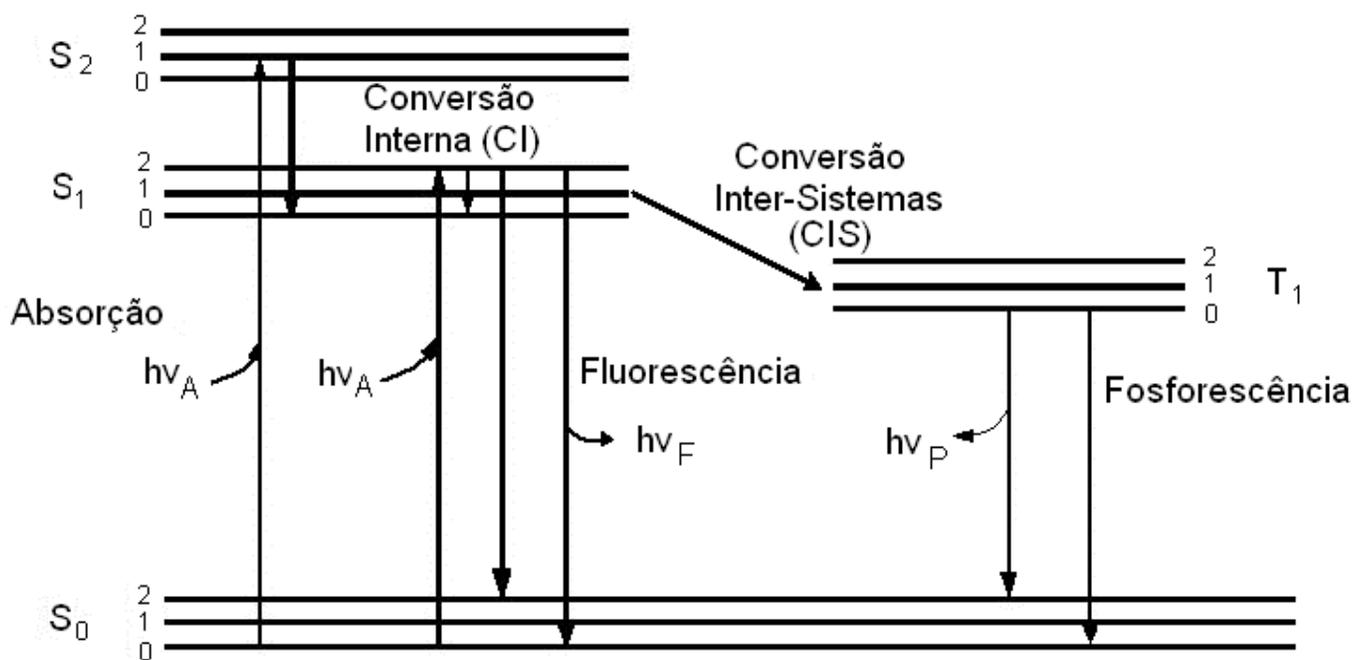


Figura 1. Diagrama de Jablonski onde estão representados os níveis energéticos de uma molécula diatômica (de acordo com Willard, et al. 1974 e Lakowicz, 1983).

Para cada um desses níveis podem existir diversos números de níveis de energia vibracional, descritos por 0, 1, 2, etc. Cada absorção ocorre em um espaço de tempo na ordem de 10^{-15} segundos. Em consequência da absorção, certo número dos níveis vibracionais do estado excitado são imediatamente ocupados. Porém, as moléculas em um estado vibracional superior, do estado excitado singlete,

regressam rapidamente ao mais baixo nível vibracional do estado excitado, transferindo o excesso de energia para outras moléculas, através de colisões, ou dividem esse excesso de energia por outros possíveis modos de vibração ou rotação, dentro da molécula excitada. Assim, a fluorescência será o resultado da transição radioativa espontânea que ocorre quando as moléculas regressam ao estado eletrônico fundamental. O processo radioativo ($S_1 \rightarrow S_0$) tem curta duração, normalmente na faixa de 10^{-6} até 10^{-10} segundos. A absorção de energia radiante excita a molécula para níveis de energia superior geralmente os níveis S_1 e S_2 , porém os elétrons em um nível de energia superior S_2 regressam rapidamente ao mais baixo nível do estado eletrônico excitado S_1 . Este processo é chamado conversão interna e ocorre em tempos menores que 10^{-12} segundos. A conversão interna é completada antes da emissão (Willard, et al. 1974 e Lakowicz, 1983).

O tempo de vida de uma espécie excitada é curto devido à existência de várias formas da molécula ou átomo perder o excesso de energia. Dois dos mais importantes desses mecanismos são a relaxação não-radioativa e a relaxação radiativa (fluorescência). Dentro da relaxação sem radiação podem-se distinguir os **cruzamentos inter-sistemas** e a **conversão interna**. Se a curva da energia potencial do estado singlete intercepta aquela do estado triplete, alguns elétrons no estado singlete excitado podem passar para o estado triplete inferior através de cruzamento inter-sistemas. Embora as transições singlete-triplete constituam processos formalmente proibidos existe uma probabilidade pequena de que ocorra, uma vez que a energia do mais baixo nível vibracional do estado triplete é inferior à que corresponde ao estado singlete. O regresso deste nível ao estado eletrônico fundamental constitui a emissão da fosforescência, transição com baixa probabilidade de ocorrer visto ser necessária uma nova inversão de spins. O acoplamento spin-orbita, que é a perturbação magnética que altera os spins é, provavelmente responsável pela origem das transições de fosforescência, de retorno ao estado fundamental singlete. Para moléculas com um tempo de vida mais longo, é importante lembrar que pode ocorrer certo grau de desativação das moléculas no estado excitado, como consequência de colisões com outras

moléculas no estado excitado, ou com moléculas do solvente, antes que a energia seja reemitida sob a forma de fluorescência, este efeito torna-se sobretudo importante no processo de fosforescência, devido a longa duração da transição $S_1 \rightarrow T_1$ e $T_1 \rightarrow S_0$ (Willard, et al. 1974 e Lakowicz, 1983). Por esta razão, a fosforescência é muito difícil de ser observada em moléculas dissolvidas e só pode observar-se com certa intensidade, quando a substância fosforescente é congelada a baixa temperatura, de modo que se impeça ou se restrinja fortemente a desativação por colisão.

Contudo, tanto na fluorescência, como na fosforescência, o fóton de energia mais baixa é emitido em uma direção arbitrária e em comprimentos de onda superiores ao de excitação. Como a elevação de uma molécula até ao estado excitado depende da energia total necessária, a luz emitida por fotoluminescência tem o mesmo comprimento de onda, independente do comprimento de onda da energia absorvida. Em ambos os casos, fluorescência e fosforescência fornecem dois tipos de espectros aplicáveis à análise qualitativa: o espectro de excitação e o de emissão. Porém, pelo fato da maior facilidade em estudar a luz de fluorescência nas mais diversas condições experimentais, quando comparado à fosforescência, justifica-se a mais generalizada aplicação da primeira (Willard, et al. 1974).

1.2.1. Principais características do processo de emissão na Fluorescência.

A fluorescência corresponde a um processo de emissão de luz e, de fato, exceto para átomos que se encontram na fase de vapor, invariavelmente se observa um deslocamento para comprimentos de onda mais altos (isto é, uma perda de energia) com uma relativa emissão da absorção. Este fenômeno observado por Stokes em 1852 foi utilizado na Universidade de Cambridge para a construção do primeiro espectrofluorímetro (Lakowicz, 1983).

Sabendo-se que as perdas de energia entre excitação e emissão são observadas universalmente para moléculas fluorescentes em solução e como na absorção, a baixa resolução instrumental molda as várias linhas na forma de um

espectro, as bandas serão provenientes do decaimento de estados excitados da molécula para estados eletrônicos fundamentais. Dentro da fluorescência temos a emissão de dois tipos de radiação: as linhas de ressonância, que aparecem em múltiplos do comprimento de onda de excitação e as conhecidas como decaimento de Stokes (*Stokes' shift*), que resultam em bandas mais largas, com deslocamento para comprimentos maiores, ou de baixa energia (Lakowicz, 1983).

Quando uma molécula fluorescente recebe uma quantidade de energia favorável para promover uma excitação eletrônica (um quantum de energia), a excitação ocorre e em 10^{-15} segundos ou menos, a molécula sofre relaxação vibracional até o zero vibracional do estado excitado. Neste ponto futuras relaxações podem ocorrer através de rotas radiativas ou não. Se uma rota radiativa for seguida, a relaxação ocorre para qualquer um dos estados vibracionais do nível eletrônico inferior. Todas estas linhas são de baixa energia, ou comprimentos de onda maiores que as linhas de excitação (Lakowicz, 1983).

Em análises fluorimétricas são utilizados métodos diretos e indiretos de determinação de fluorescência, o método direto caracteriza-se pela determinação da fluorescência nativa do analito. Já no caso do método indireto quando o analito não é uma espécie fluorescente, o mesmo é então convertido a fluoróforo por complexação com um composto orgânico (Rohatgi-Mukherjee, 1992.)

No caso do presente estudo, os íons Cd^{2+} e Zn^{2+} favorecem o realce da fluorescência pela formação de fluoróforos, conforme descrito na seqüência.

I.3. Formação de Fluoróforos

A grande maioria das análises de luminescência inorgânica é seguida pela complexação do íon metálico com uma molécula orgânica que pode ser fluorescente ou não fluorescente. A adição do íon metálico a molécula contendo um sistema de anéis conjugados favorece no desenvolvimento de fluorescência pela formação de fluoróforos (Dye et al., 1963).

São chamadas de fluoróforos as substâncias que apresentam uma significativa fluorescência, sendo que geralmente possuem elétrons

deslocalizados formalmente presentes em sistemas de duplas ligações conjugadas (Lakowicz, 1983).

A formação de fluróforos quelatos pela complexação de um íon metálico e um ligante orgânico mostra ser um método específico e sensível para muitos íons metálicos. A característica básica necessária ao ligante é a habilidade para se ligar covalentemente com o íon metálico através de pelo menos dois grupos funcionais. O íon metálico atua como ácido de Lewis (aceptor de par de elétrons) já o ligante atua como uma base de Lewis (doador de par de elétrons) (Dye et al., 1963).

Nesse trabalho, a molécula orgânica fluorescente utilizada é a 8-hidroxiquinolina (8-HQ), cuja estrutura está apresentada na **Figura 02**.

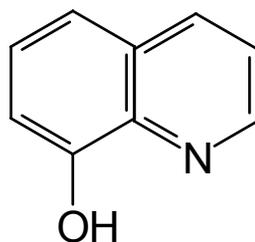


Figura 2. Estrutura da sonda 8-hidroxiquinolina (8-HQ).

A 8-hidroxiquinolina (8-HQ) e muitos de seus derivados tem sido extensivamente utilizados como reagentes quelantes em química analítica, ocupando o segundo lugar depois do EDTA e seus análogos (Devol et al., 1998).

Os dois maiores campos de aplicação da 8-hidroxiquinolina e seus derivados são a extração de íons metálicos e a determinação fluorimétrica (Devol et al., 1998). Ainda na determinação fluorimétrica pode ser ressaltado a importância de trabalhos desenvolvidos em diversos campos da química utilizando o meio micelar, onde há uma série de vantagens relacionadas à natureza do meio micelar.

I.4. Fluorimetria em meio Micelar

Recentes trabalhos têm mostrado os benefícios e a importância do meio micelar em química analítica, já que através dos processos de solubilização e compartimentalização de reagentes, possibilita supressão e/ou realce de fluorescência, bem como aumento ou inibição de reações químicas (Bunton et al., 1991, Hinze et al., 1979, 2005). O meio micelar permite solubilizar os complexos formados entre a sonda 8-hidroxiquinolina e os metais Zn^{2+} e Cd^{2+} , que se apresentam pouco solúveis em meio aquoso. Por esta capacidade de solubilizar e/ou ligar uma variedade de compostos, proporcionada pelo meio micelar na metodologia aplicada, apresenta-se na seqüência uma breve revisão das mais importantes características deste meio em química analítica. O enfoque não pretende ser geral, descrevendo somente as propriedades relevantes em termos de química analítica.

I.4.1. Surfactantes

Surfactantes, também chamados detergentes são moléculas anfifílicas onde um grupo polar unido a uma longa cauda não polar, definem regiões diferenciadas, isto é, hidrofílicas e hidrofóbicas. (Hinze et al., 1979, 2005).

Os surfactantes são importantes em Química Analítica devido principalmente à sua capacidade de modificar propriedades com conseqüente melhoria em sensibilidade e/ou seletividade. (Weest et al., 1992).

Nas últimas décadas, o uso de surfactantes teve um aumento significativo em praticamente todos os campos da química analítica, devido ao crescente emprego desses compostos nos mais variados produtos de forma natural ou sintética (Maniasso et al., 2000). Os surfactantes são empregados para modificar o meio reacional permitindo solubilizar espécies ou promover um novo meio capaz de aumentar a velocidade da reação, a posição de equilíbrio das reações químicas

e em alguns casos a estereoquímica destas, dependendo da natureza da reação, do tipo de reativo e do tipo e forma da micela (Maniasso et al., 2000).

Um surfactante típico possui uma estrutura R-X, onde R é uma cadeia de hidrocarboneto variando de 8 – 18 átomos (normalmente linear) e X é um grupo cabeça, polar (ou iônico). Dependendo de X, seu grupo polar, os surfactantes podem ser classificados como não-iônicos, catiônicos, aniônicos e zwitteriônicos (Pelizzatti et al., 1985). Num surfactante catiônico $R_nX^+Y^-$, R representa uma ou mais cadeias hidrofóbicas, X é um elemento capaz de formar uma estrutura catiônica e Y é um contra íon. Em princípio, X = N, P, S, As, Te, Sb, Bi, sendo que Y são geralmente halogênios (Saunders et al., 1966 e Attwood et al., 1970).

Dentre os surfactantes aniônicos estão os sais de ácidos carboxílicos (graxos) monopróticos ou polipróticos com metais alcalinos ou alcalinos terrosos, bem como sais de ácidos como sulfúrico, sulfônico e/ou fosfórico contendo um substituinte de hidrocarboneto saturado ou insaturado (Geer et al., 1971).

Os surfactantes não-iônicos podem ser derivados de polioxietileno, polioxipropileno, de alquil fenóis, ésteres de ácidos graxos, polialcóis, ésteres de carboidratos e outros compostos polares (Fendler et al., 1972).

A **Tabela 1** mostra os principais surfactantes empregados visando melhoria de desempenho em métodos analíticos.

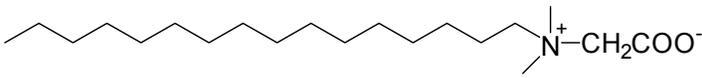
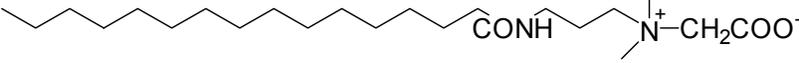
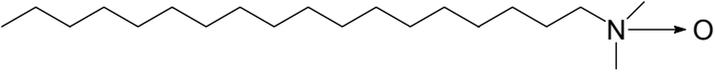
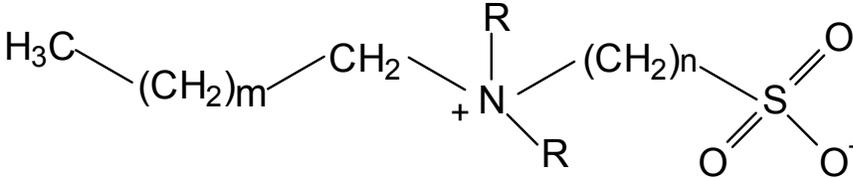
Tabela 1. Surfactantes de uso comum em Química Analítica.

TIPO	AGENTE TENSOATIVO	FÓRMULA
Catiônico	Brometo de Cetiltrimetil amônio (CTABr)	$CH_3(CH_2)_{15}N^+(CH_3)_3Br^-$
Aniônico	Docecil sulfato de sódio (SDS)	$CH_3(CH_2)_{11}SO_4^-Na^+$
Não Iônico	Polioxietileno (9-10) p-tercotil fenol (Triton X-100)	$(CH_3)_3C(CH_2)C(CH_3)_2$  $(OCH_2CH_2)_{23}OH$

Surfactantes que apresentam na mesma molécula grupos hidrofílicos positivos e negativamente carregados são chamados de surfactantes

zwitteriônicos ou bipolares (**Tabela 2**). Nestes, a carga positiva é geralmente um grupo amônio, e a fonte de carga negativa pode variar, sendo que grupos carboxilatos ou sulfonatos são os mais comuns. Surfactantes zwitteriônicos são freqüentemente referidos como anfotéricos, porém o termo não é idêntico. Um surfactante anfotérico é aquele que a partir de um surfactante zwitteriônico, passa a ter comportamento catiônico ou aniônico em baixo ou alto valor de pH. É chamado zwitteriônico se, em valores de pH muito baixos ele permanecer carregado, devido a seus baixos valores de pKa, como ocorre com as sulfobetainas (Graciani et al., 2001 e Weers et al., 1991).

Tabela 2. Estrutura de alguns surfactantes zwitteriônicos.

Betaína ou carboxibetaína	
Amidobetaína	
Amino óxido	
Sulfobetaina	

Pode-se citar como exemplo de surfactantes anfotéricos os amino óxidos, ou N-óxidos de aminas terciárias, algumas vezes classificados como zwitteriônicas, ou não iônicas e, em outras como catiônicas. Eles têm uma separação de carga formal entre os átomos de oxigênio e nitrogênio, geralmente comportando-se como não eletrólitos. Em baixo valor de pH ou na presença de surfactante aniônico eles podem liberar um próton para formar um ácido

conjugado catiônico. Pode-se citar como exemplos o N-óxido de 1,1-dimetilmiristilamino ($n\text{-C}_{14}\text{H}_{29}\text{NMe}_2\text{O}$ conhecido como DMMAO) e o N-óxido de 1,1-dipropilmiristilamino ($n\text{-C}_{14}\text{H}_{29}\text{NPr}_2\text{O}$ ou DPMAO) (Brinchi et al., 1999).

A existência de cargas opostas em surfactantes zwitteriônicos gera nos mesmos grandes momentos dipolares com hidrofiliçidade intermediária entre surfactantes iônicos e não iônicos. Muitas sulfobetaínas exibem ponto de Krafft, um fenômeno usualmente associado com surfactantes iônicos. Os surfactantes zwitteriônicos são solúveis em soluções aquosas sob ampla variação de pH, concentração, força iônica e salinidade. Sua insensibilidade a eletrólitos é típica de surfactantes não iônicos polietoxilados; porém os surfactantes zwitteriônicos não sofrem separação de fase (*cloud point*) quando aquecidos. Diferente dos surfactantes catiônicos, betaínas e sulfobetaínas são miscíveis com surfactantes aniônicos sob ampla variação de composições (Kamenka et al., 1995 e Florenzano 1997).

Em soluções diluídas todo detergente existe na forma de monômeros os quais atuam como eletrólitos fortes, porém quando sua concentração excede a um certo valor mínimo, chamado de concentração micelar crítica (CMC) e acima da temperatura de Kraft, as moléculas de surfactante associam-se dinamicamente para dar a forma a agregados aproximadamente esféricos denominadas micelas (Hinze et al., 1979 e Neves et al. 1987).

I.4.2. Formação das micelas

As micelas são agregados moleculares, possuindo regiões estruturais hidrofílicas e hidrofóbicas, que dinamicamente se associam espontaneamente em solução aquosa a partir de certa concentração crítica (CMC), formando agregados moleculares de dimensões coloidais, chamados micelas. Abaixo da CMC, o tensoativo está predominantemente na forma de monômeros, sendo que acima da CMC, existe um equilíbrio dinâmico entre monômeros e micelas (**Figura 03**). A combinação destas formas distintas confere ao agregado formado características

únicas na dissolução aquosa (Weest et al, 1992, Porter et al, 1978 e Hinze et al, 1979). Em concentrações acima da CMC, as micelas possuem um diâmetro entre 3-6 nm e aproximadamente 30-200 monômeros. A CMC depende da estrutura do tensoativo (tamanho da cadeia do hidrocarboneto) e das condições experimentais em termos de força iônica, contra-ions, temperatura, etc (Hinze et al., 1979, 2005). O processo de formação dos agregados ocorre num intervalo pequeno de concentração, e pode ser detectado pela variação brusca em propriedades físico-químicas da solução (tensão superficial, pressão osmótica e condutividade) em função da concentração do surfactante (Elworthy et al., 1968).

Assim, as micelas exibem propriedades que permitem a solubilização e compartimentalização de reagentes. As principais vantagens potenciais das micelas aplicadas a fluorimetria que devem ser destacadas são: i) maior sensibilidade; ii) diminuição de interferências; iii) as micelas são ópticamente transparentes, estáveis, fotoquimicamente inativas, baratas e não tóxicas. Assim pela escolha adequada do surfactante, pode-se suprimir ou realçar a fluorescência (Fendler et al., 1982, Hinze et al., 1979, 2005).

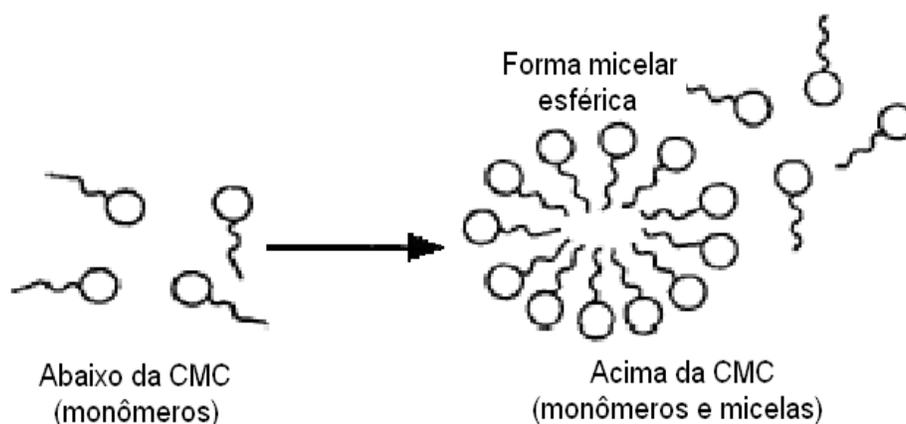


Figura 3. Formação do agregado micelar (Fendler & Fendler, 1975; Maniasso, 2001).

Cada micela é composta por certo número de moléculas de surfactante, denominado como número de agregação, que determina o tamanho e a geometria

do sistema micelar (Mukerjee et al., 1971). O termo “micela normal” é utilizado para se referir a agregados de surfactantes em meio aquoso (**Figura 4**).

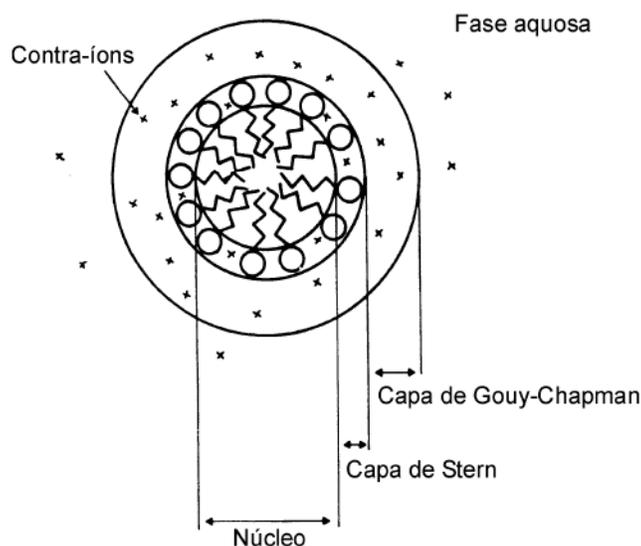


Figura 4. Representação bidimensional das regiões que formam uma micela iônica normal com estrutura esférica, de acordo com o modelo de Stigter (Fendler & Fendler, 1975, Maniasso, 2001).

Na estrutura da micela normal o grupo cabeça hidrofílico está direcionado para o contato com a solução aquosa formando uma superfície polar, enquanto que a cadeia de hidrocarboneto (cauda) está em sentido inverso ao da água, formando um núcleo central não polar (Rosen et al., 1978).

A formação do agregado micelar pode também ocorrer em vários solventes não-polares; neste caso, os agregados dos surfactantes são denominados “micelas reversas” ou “micelas invertidas”. Nos sistemas de micelas reversas, as cabeças polares dos anfifílicos estão concentradas no interior do agregado e por essa razão formam um núcleo central hidrofílico (Maniasso, 2000).

As moléculas fluorescentes têm sido muito empregadas, como por exemplo para sondar processos dinâmicos de micelização e estimar os micro-ambientes da

micela. Os resultados encontrados demonstram que o micro-ambiente em que se encontra uma molécula solubilizada em meio micelar pode ser muito diferente que em água sem presença de surfactante. Em muitos exemplos, a intensidade da fluorescência é drasticamente aumentada quando se encontra compartimentalizada por um conjunto de micelas (Turro et al., 1980; Fendler et al., 1982; Bunton et al., 1991).

II. OBJETIVOS

O objetivo geral do grupo de trabalho é desenvolver metodologia analítica para determinar elementos metálicos e não-metálicos de interesse ambiental, bem como caracterizar de forma cinética e termodinâmica os processos químicos de equilíbrio de adsorção de metais e não-metais normalmente detectados em amostras de diferentes fases geoquímicas dos sedimentos. (Nome et al., 2001, Fritzen et al., 2005, Westrup et al., 2005).

II.1. Objetivos específicos

Os objetivos principais deste trabalho são:

- Desenvolver metodologia analítica para estudos relacionados principalmente com os íons metálicos Zn^{2+} e Cd^{2+} , estabelecendo uma metodologia de análise de soluções de composição conhecida, utilizando a espectroscopia de fluorescência.
- Estudar o efeito de diferentes surfactantes na determinação e solubilização dos íons metálicos Zn^{2+} e Cd^{2+} .

III. PARTE EXPERIMENTAL

III.1. Equipamentos e aparatos analíticos

Para realização das medidas de fluorescência foi utilizado um espectrofluorímetro modelo SLM Aminco[®] SPF- 500 C, conectado a um espectrômetro USB2000 ligado a um PC com o programa Ocean Optics OOIBase32. As cubetas usadas são de quartzo de 1,0 cm. As medidas espectrofotométricas foram realizadas usando um espectrofotômetro UV/Vis Shimadzu[®] modelo UV-210-A.

Um pHmetro Metrohm modelo 713 foi utilizado para as determinações de pH das soluções-tampão. Um sistema desionizador Milli-Q NANOpure, modelo D 4744 (Millipore[®]) com condutividade máxima de $10 \mu\Omega \text{ cm}^{-1}$ foi utilizado para obtenção da água necessária para a preparação das soluções, reagentes e para lavagem final de todas as vidrarias utilizadas.

Uma capela de fluxo laminar, marca Trox[®], foi utilizada para preparar todas as soluções-padrão e reagentes utilizados neste trabalho. O ambiente controlado foi classificado como classe 100 (100 partículas por pé cúbico). Esta classificação foi realizada pelo Núcleo de Manutenção da UFSC, credenciado pelo IMETRO, com aparelho de contagem de partículas tipo: MEI-ONE 277-B calibrado pela Instrutécnica, S.P. Foram utilizadas micropipetas Gilson[®] com capacidade de 1,0, 0,25 e 0,1 mL.

III.2. Limpeza da vidraria

O método utilizado para limpeza das vidrarias é conhecido como lavagem de arraste e consiste primeiramente na lavagem da vidraria com forte corrente de água, deixando a água da torneira transbordar ao encher os recipientes. Tal procedimento é repetido no mínimo cinco vezes. Em seguida, a vidraria é imersa em ácido nítrico 40% por 24 horas e após este tempo, é novamente enxaguada com água destilada e desionizada até retirar todo o ácido (no mínimo quatro vezes deixando transbordar).

III.3. Soluções e reagente utilizados

Os reagentes utilizados foram: 8-hidroxiquinolina (Fluka), tris hidroximetil amino metano p.a. (Vetec), etanol (F. MAIA), ácido clorídrico p.a. (Carlo Erba), hidróxido de sódio p.a. (Vetec), cádmio em pó (Vetec), padrão de zinco (Fluka), ácido nítrico (Suprapur-Merck). Os surfactantes utilizados foram: dodecil sulfato de sódio (SDS, Sigma), brometo de N-cetil-N,N,N-trimetilamônio (CTABr, VETEC), polioxietileno p-tercetil fenol (TRITON X-100, VETEC), N-dodecil-N,N-di-metil-3-amônio-1-propanosulfonato (Lauril sulfobetaina, SIGMA), N-hexadecil-N,N-dimetil-3-amônio-1-propanosulfonato (palmitil sulfobetaina, SIGMA).

Solução estoque de Zn^{2+} : a solução padrão de Zn^{2+} $1,53 \times 10^{-2} \text{ molL}^{-1}$, foi preparada a partir do padrão Fluka (442868/1) em 1000 mL de água, contendo 2% v/v de HNO_3 concentrado (Suprapur-Merck).

Solução estoque de Cd^{2+} : a solução padrão de $Cd(II)$ $8,90 \times 10^{-3} \text{ molL}^{-1}$ foi preparada pela dissolução de 1,0 g do metal puro (VETEC) em 1000 mL de água contendo 2% v/v de HNO_3 (Suprapur-Merck) concentrado.

Solução estoque de 8-hidroxiquinolina: a solução de $0,01 \text{ molL}^{-1}$ de 8-hidroxiquinolina foi preparada dissolvendo 0,0145g do padrão (Fluka) em 100 mL de etanol (MAIA).

Soluções com surfactantes: foram pesadas as massas correspondentes de cada surfactante na concentração de $0,1 \text{ molL}^{-1}$: 0,2884g de SDS (SIGMA), 0,3644g de CTABr (VETEC), 0,6468g de TRITON X100 (VETEC), 0,3355g de lauril sulfobetaina (SIGMA) e 0,3917g de palmitil sulfobetaina (SIGMA). As soluções contendo os surfactantes foram preparadas em 100 mL de tampão Tris $2,0 \times 10^{-2} \text{ mol L}^{-1}$ (VETEC).

Solução estoque de tampão Tris $2,0 \times 10^{-2} \text{ mol L}^{-1}$: foi dissolvido 0,6057g de tris hidroximetil amino metano em um béquer de 100 mL com água desionizada até total dissolução, na seqüência foi transferido para um balão de 250 mL onde foi completado o volume com água desionizada.

III.4. Procedimentos Analíticos

III.4.2. Determinação da constante de Equilíbrio

Para a determinação da constante de equilíbrio do complexo formado entre o ligante 8-HQ e o íon Zn^{2+} , foram preparadas soluções de 8-HQ na faixa de concentração de 0 a $4,5 \times 10^{-4} \text{ mol L}^{-1}$ e Zn^{2+} na concentração de $5,0 \times 10^{-5} \text{ mol.L}^{-1}$ em tampão Tris $0,01 \text{ mol.L}^{-1}$ com 5% de SDS $0,1 \text{ mol.L}^{-1}$, em balões de 10mL. Conforme as seguintes etapas.

Etapa 01: Foram transferidas alíquotas de 5 mL de tampão Tris $2,0 \times 10^{-2} \text{ mol.L}^{-1}$ em pH 8,0 (utilizando uma pipeta volumétrica) para os balões de 10 mL.

Etapa 02: alíquotas de 0 a 450 μL (utilizando micropipeta) de 8-HQ $0,01 \text{ mol.L}^{-1}$ foram adicionadas.

Etapa 03: 50 μL de Zn^{2+} $0,01 \text{ mol L}^{-1}$ foi adicionado aos balões de 10 mL

Etapa 04: Foi completado o volume dos balões com água desionizada, na seqüência foi transferida uma alíquota de aproximadamente 3 mL da solução para uma cubeta.

Etapa 05: No espectrofotômetro Shimadzu 210-A foi feita varredura nos comprimentos de onda de 320 a 600 nm.

A **Tabela 03** apresenta a sistemática que foi seguida para a realização do experimento.

Tabela 3. Valores experimentais para determinação da constante de equilíbrio do complexo formado entre 8-HQ e Zn^{2+} em tampão Tris e meio micelar de CTABr.

Balões de 10 mL	8-HQ 0,01 mol L ⁻¹	Zn ²⁺ 0,01 mol L ⁻¹	Tampão Tris/SDS
01	0	50 µL	5 mL
02	25	50 µL	5 mL
03	50	50 µL	5 mL
04	75	50 µL	5 mL
05	100	50 µL	5 mL
06	125	50 µL	5 mL
07	150	50 µL	5 mL
08	175	50 µL	5 mL
09	200	50 µL	5 mL
10	250	50 µL	5 mL
11	300	50 µL	5 mL
12	350	50 µL	5 mL
13	450	50 µL	5 mL
14	550	50 µL	5 mL

III.4.1. Determinação do pH ótimo com diferentes surfactantes

O estudo do pH foi realizado com os surfactantes lauril sulfobetaína, palmitil sulfobetaína, SDS, TRITON X-100 e CTABr. O experimento foi realizado conforme ilustrado no esquema representado na **Figura 5**, sendo que as soluções foram preparadas em dois balões volumétricos de 10 mL, ao balão 01 (branco) não foi adicionado o metal, ao balão 02 o metal foi adicionado.

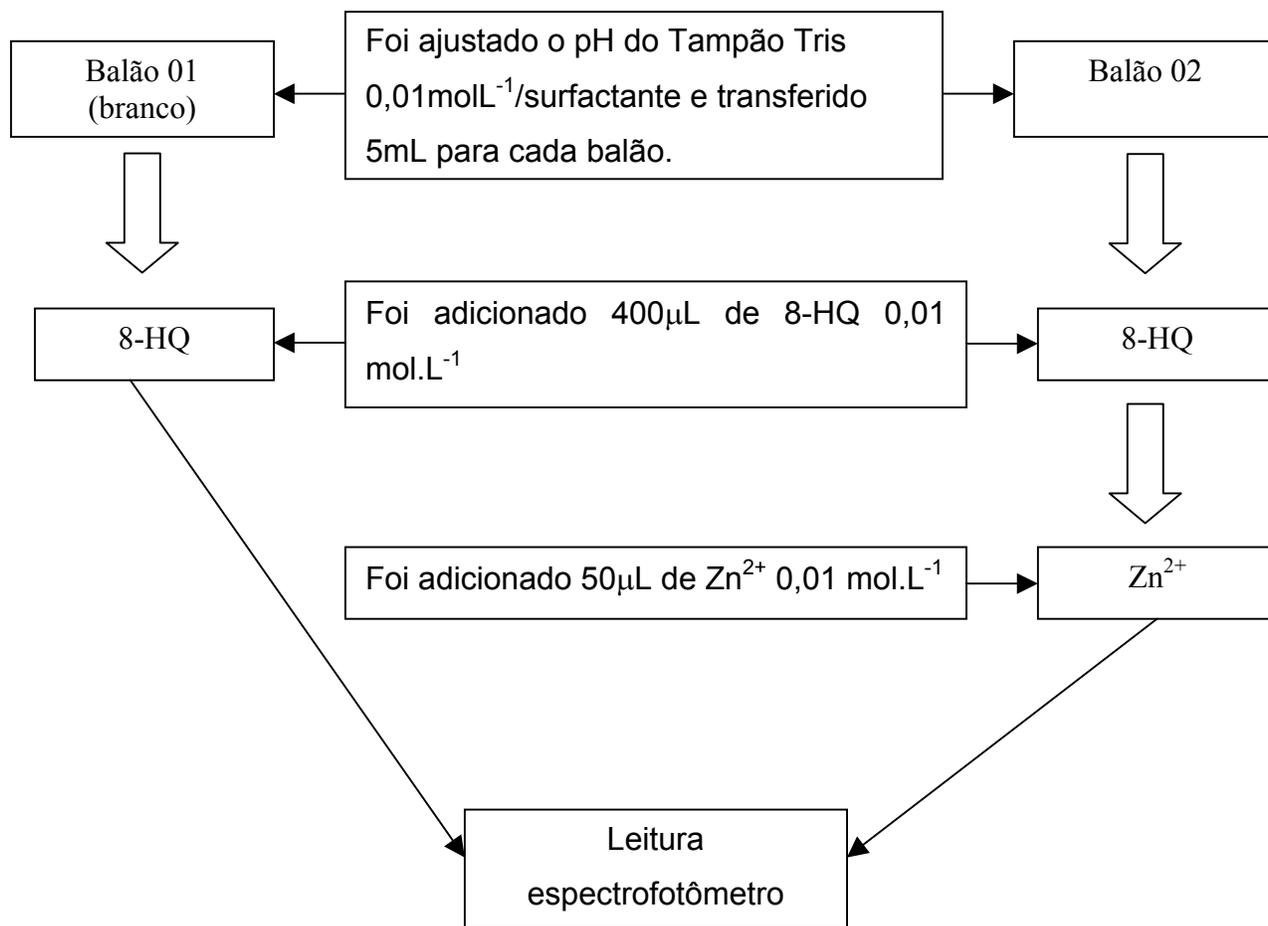


Figura 5. Esquema com a metodologia adotada para o estudo do pH ótimo dos complexos formados entre 8-HQ e Zn^{2+} em diferentes meios micelares.

Para determinar o pH ótimo dos surfactantes: lauril sulfobetaína, palmitil sulfobetaína, Triton X100, SDS e CTABr, foi utilizado o tampão Tris nos seguintes valores de pH: 7,5, 8,0, 8,5, 9,0 e para pH = 12 o pH é controlado pela base adicionada (pH = 12) e pelo ácido adicionado para os demais valores de pH.

III.4.4. Determinação do realce da fluorescência

Para a determinação do realce da fluorescência da 8-HQ foram selecionados os metais Zn^{2+} e Cd^{2+} , os quais apresentaram boa eficiência no realce da fluorescência, o que permite sua quantificação.

A curva de calibração de Zn^{2+} e Cd^{2+} foi preparada a partir de soluções estoques de Zn^{2+} $0,01 \text{ mol L}^{-1}$ e Cd^{2+} $0,01 \text{ mol L}^{-1}$. Foram preparadas soluções na faixa de concentração de 0 a $5,0 \times 10^{-5} \text{ mol.L}^{-1}$ de Zn^{2+} e Cd^{2+} .

Observação: Para facilitar a descrição do procedimento experimental os metais Zn^{2+} e Cd^{2+} estão representados por M^{2+} , pois o procedimento utilizado para construção da curva de calibração tanto de Zn^{2+} quanto de Cd^{2+} foi semelhante.

As curvas de calibração foram realizadas com os surfactantes CTABr, SDS, TRITON X-100, lauril sulfobetaina e palmitil sulfobetaina, porém, na descrição do experimento estão chamados de forma geral de surfactantes.

Na **Tabela 05** está a representação sistemática do procedimento experimental seguido para a determinação do realce da fluorescência e na seqüência, as etapas utilizadas.

Tabela 4. Procedimento necessário para a construção das curvas de calibração do M^{2+} a temperatura ambiente, em diferentes meios micelares, com pH 8,5 para o surfactante TRITON-X100 e pH 8,0 para os demais surfactantes.

Balões (10 mL)	8-hidroxiquinolina ($10^{-2} \text{ mol.L}^{-1}$)	M^{2+} ($10^{-2} \text{ mol.L}^{-1}$)	Tampão Tris/surfactante*
01	200 μ L	0	05 mL
02	200 μ L	10 μ L	05 mL
03	200 μ L	20 μ L	05 mL
04	200 μ L	30 μ L	05 mL
05	200 μ L	40 μ L	05 mL
06	200 μ L	50 μ L	05 mL

*A concentração utilizada de tampão Tris foi de $2,0 \times 10^{-2} \text{ molL}^{-1}$ e os surfactantes $0,1 \text{ molL}^{-1}$.

Etapa 01: A cada balão volumétrico de 10 mL foi transferida uma alíquota de 5 mL de surfactante $0,01 \text{ mol.L}^{-1}$ solubilizado em tampão Tris $2,0 \times 10^{-2} \text{ mol.L}^{-1}$ (utilizando uma pipeta volumétrica).

Etapa 02: Na seqüência foi adicionado $200\mu\text{L}$ (utilizando micro-pipeta) de 8-HQ $0,01 \text{ mol L}^{-1}$ a todos os balões de 10 mL.

Etapa 03: Ainda aos balões de 10 mL, foi adicionado M^{2+} variando a concentração de 0 a $5,0 \times 10^{-5} \text{ mol.L}^{-1}$, conforme mostrado na **Tabela 05**.

Etapa 04: Na etapa final, após completado o volume dos balões de 10 mL com água desionizada, alíquotas de aproximadamente 3 mL foram transferidas para cubeta, no espectrofluorímetro foram realizadas as leituras das intensidades de fluorescência.

As tabelas 05 e 06 mostram os valores de comprimento de onda de excitação e emissão para Zn^{2+} e Cd^{2+} com 8-HQ em diversos meios micelares. Os valores de $\lambda_{\text{excitação}}$ foram utilizados nas medidas de fluorescência, já os valores $\lambda_{\text{emissão}}$ máximos foram utilizados para construir as curvas de calibração.

Tabela 05. Valores de comprimento de ondas de excitação e emissão de Zn^{2+} com 8-HQ nos diferentes meios micelares.

Tabela 06. Valores de comprimento de ondas de excitação e emissão de Cd^{2+} com 8-HQ

	$\lambda_{\text{excitação}} \text{ (nm)}$	$\lambda_{\text{emissão}} \text{ (nm)}$
Lauril sulfobetaína	386	553
Palmitil sulfobetaína	391	550
SDS	372	548
TRITON X-100	370	550
CTABr	391	554

em diferentes meios micelares.

	$\lambda_{\text{excitação}} \text{ (nm)}$	$\lambda_{\text{emissão}} \text{ (nm)}$
Lauril sulfobetaína	383	553
Palmitil sulfobetaína	387	550

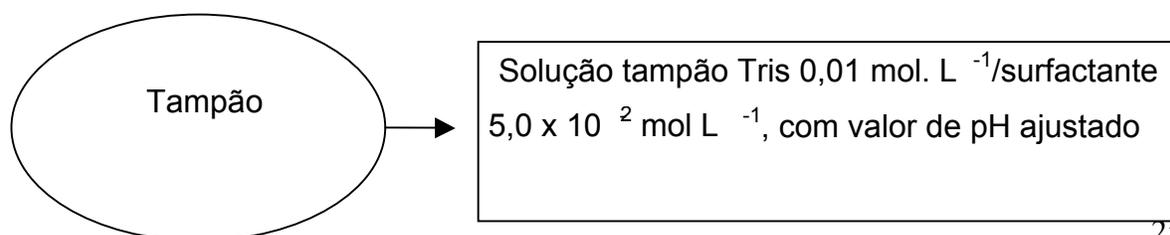
SDS	375	555
TRITON X-100	380	555
CTABr	387	554

III.4.5. Medidas cinética de precipitação

O acompanhamento da cinética de precipitação com os surfactantes, lauril, palmitil, TRITON X-100, SDS e CTABr, e sem surfactante, foi realizado utilizando a técnica de espectrofotometria, no espectrofotômetro Shimadzu 210.

Em um balão de 10 mL foi adicionado tampão Tris com o surfactante desejado na concentração de $5,0 \times 10^{-2} \text{ mol L}^{-1}$ no pH ótimo para cada surfactante. Na seqüência foi adicionado 8-HQ $0,01 \text{ mol L}^{-1}$. A cinética foi iniciada pela adição de $M^{2+} 5,0 \times 10^{-5} \text{ mol L}^{-1}$.

O experimento foi realizado conforme a seqüência demonstrada na **Figura 05**.



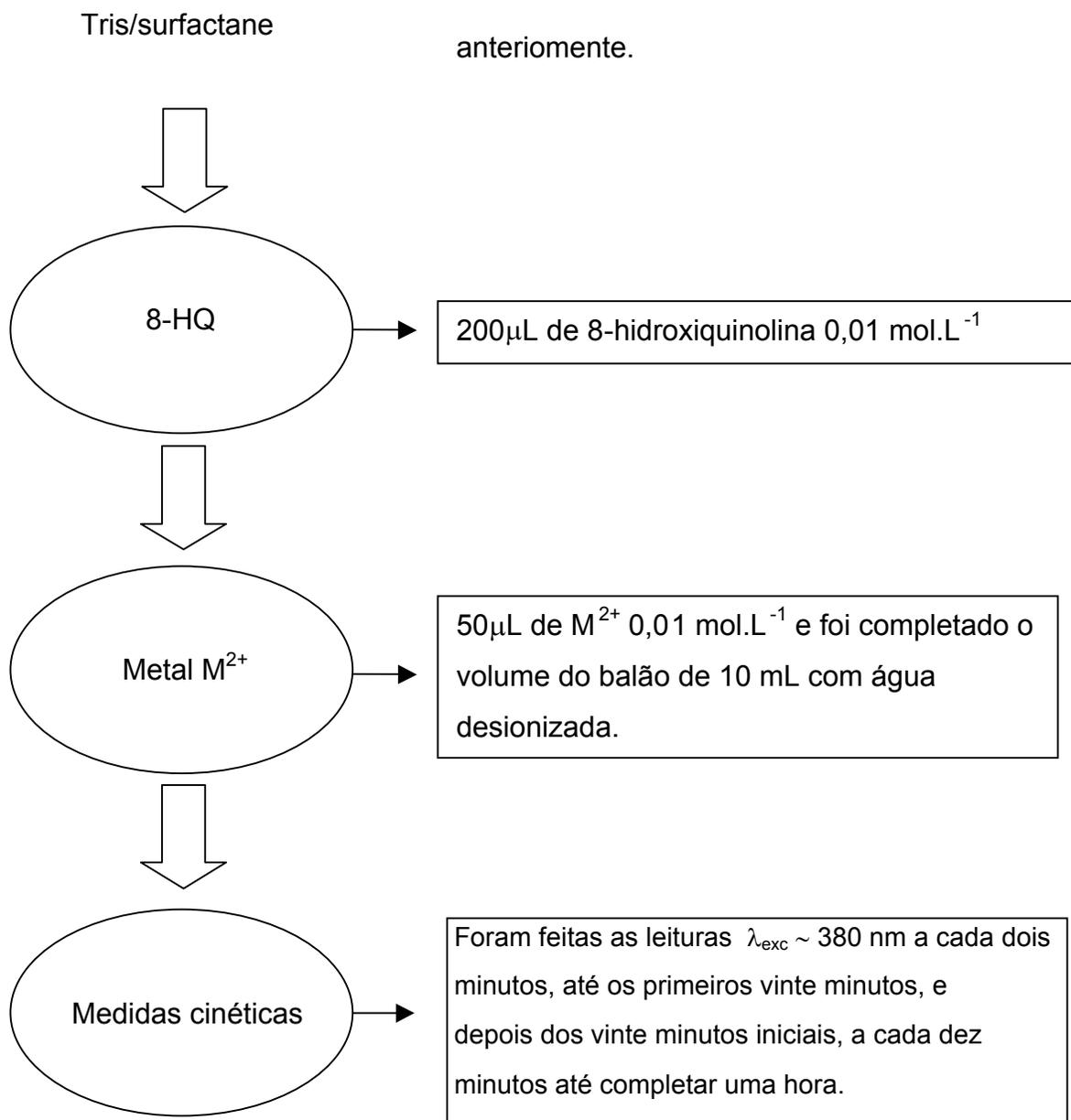


Figura 6. Esquema com a metodologia utilizada para os estudos da cinética de precipitação do M^{2+} com 8-HQ a temperatura ambiente, em diferentes meios micelares, com pH 8,5 para o surfactante TRITON-X100 e pH 8,0 para os demais surfactantes.

III.4.6. Medidas cinéticas de aumento da intensidade de fluorescência.

O acompanhamento cinético da reação foi realizado utilizando a técnica de espectrofluorimetria. A forma como foi procedido o experimento é semelhante à

demonstrada na **Figura 05**, porém, a técnica utilizada para o acompanhamento cinético no caso do presente experimento foi a espectrofluorimetria.

Foram utilizados os surfactantes, lauril, palmitil, TRITON X-100, SDS e CTABr. Este experimento foi realizado apenas com o íon metálico Zn^{2+} , pois o efeito do aumento da intensidade com o tempo não foi observado para o íon Cd^{2+} .

Em um balão de 10 mL foi adicionado tampão Tris com o surfactante desejado na concentração de $5,0 \times 10^{-2}$ e no pH específico para cada surfactante. Na seqüência, foi adicionado o ligante 8-HQ na concentração $2,0 \times 10^{-4} \text{ mol.L}^{-1}$. A reação foi iniciada com a adição de uma determinada concentração de Zn^{2+} , que pôde variar de acordo com o surfactante utilizado, foi observado o aumento gradativo da fluorescência com o tempo.

A concentração de Zn^{2+} que foi adicionada variou para cada surfactante sendo adicionado de Zn^{2+} na concentração de: $5,0 \times 10^{-5} \text{ mol.L}^{-1}$ para palmitil, lauril, TRITON X-100 e CTABr, e $6,0 \times 10^{-5} \text{ mol.L}^{-1}$ para SDS.

Ao final foi completado o volume do balão de 10 mL com água desionizada e uma alíquota de 3 mL foi transferida para uma cubeta. A cubeta foi colocada no espectrofluorímetro onde foram feitas as leituras, em comprimento de onda de excitação de aproximadamente 380 nm, o λ_{exc} pode variar para cada surfactante utilizado, conforme os valores mostrados anteriormente na tabela 05, a cada duzentos segundos, até atingir o máximo de intensidade da fluorescência observada.

III.5. Determinação da viscosidade das soluções

No viscosímetro de Ostwald, foram colocados 10 mL das soluções nº 01, 02, 03, 04 e 05, conforme a **Tabela 5**. Com o auxílio de uma pêra de sucção, o líquido foi puxado até o bulbo superior. O tempo necessário para que o líquido escorresse entre as marcas do viscosímetro foi cronometrado em triplicata. O mesmo foi feito para a medida da viscosidade da água desionizada, sendo que o viscosímetro foi devidamente ambientado com cada solução antes das medidas.

Tabela 5. Valores de concentração e tempo de escoamento das soluções de 8-HQ e Zn, com os surfactantes CTABr e SDS em tampão Tris a pH 8,0.

Balão 10 mL	[Surfactante] 0,1 molL ⁻¹	[TRIS] molL ⁻¹	[8-HQ] molL ⁻¹	[Zn] molL ⁻¹	Tempo de escoamento médio(min)
01	CTABr	0,1	0	1,4 x 10 ⁻²	9'02''08
02	CTABr	0,1	1,26 x 10 ⁻²	1,4 x 10 ⁻³	3'36''39
03	CTABr	0,1	1,33 x 10 ⁻³	7,0 x 10 ⁻⁴	1'39''86
04	CTABr	0,1	1,4 x 10 ⁻²	0	1'04''83
05	SDS	0,1	0	1,4 x 10 ⁻²	0'56''43

IV. RESULTADOS E DISCUSSÃO

Neste trabalho foram otimizados métodos para quantificar Zn²⁺ e Cd²⁺, e os resultados obtidos para cada elemento serão apresentados separadamente. Inicialmente, mostram-se os resultados referentes à determinação da constante de equilíbrio do íon Zn²⁺ com o ligante 8-HQ em meio micelar e os estudos realizados em diferentes valores de pH com diferentes surfactantes. Em seguida, a determinação de ambos metais através da técnica de espectrofluorimetria em meio micelar, e posteriormente, os resultados correspondentes às cinéticas de precipitação e aumento da intensidade de fluorescência.

IV.1. Constante de equilíbrio para complexação de Zn²⁺

A **Figura 7** mostra as absorvâncias do complexo formado entre 8-HQ e Zn²⁺ para a reação estudada na presença de diferentes concentrações de 8-HQ,

mantendo constante a concentração total de Zn^{2+} na presença do surfactante CTABr.

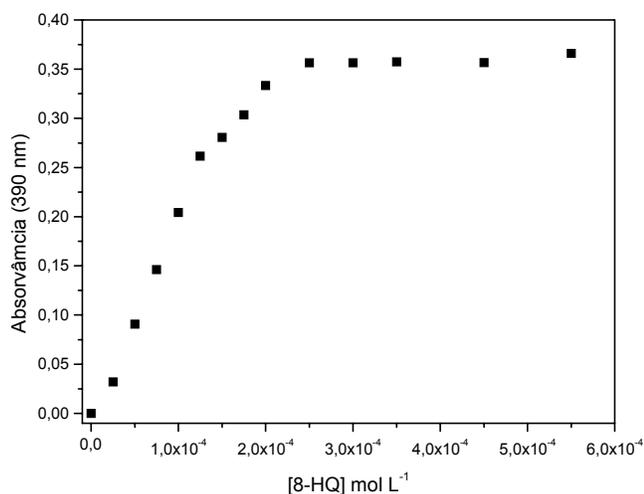
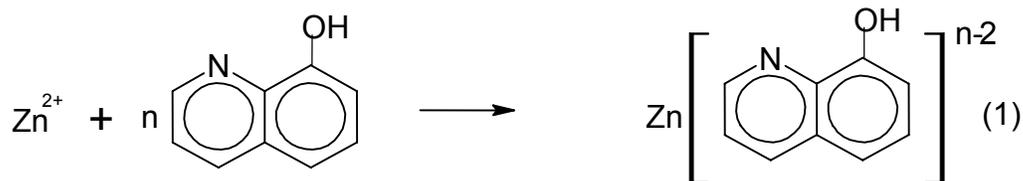


Figura 7. Variação da absorvância do complexo formado entre 8-HQ e Zn^{2+} $5,0 \times 10^{-5}$ molL⁻¹ em função da concentração de 8-HQ em meio micelar de CTABr $0,05$ molL⁻¹, e tamponado com Tris $2,0 \times 10^{-2}$ molL⁻¹ a pH 8,0.

O aumento de absorvância em função da concentração de 8-HQ observado na **Figura 7** é consistente com a reação de formação do complexo mostrado na **Equação 1**, onde n indica a estequiometria da reação.



Utilizando os valores do intervalo da curva da **Figura 7** onde há variação da absorvância com o aumento da concentração de 8-HQ, foi possível estudar o equilíbrio representado na **Equação 2**, onde os parâmetros n e K_{eq} são relacionados com as concentrações de equilíbrio das diferentes espécies químicas envolvidas na reação.

$$K_{eq} = \frac{[Zn^{+2}(8HQ)_n^-]_{eq}}{[Zn^{+2}]_{eq} \cdot [8HQ]_{eq}^n} \quad (2)$$

A partir da **Equação 2** é possível derivar a **Equação 3**, substituindo concentrações por absorvâncias, de acordo com a relação de Lambert-Beer. A **Equação 3** tem o formato de uma equação linear, onde os coeficientes angular e linear representam respectivamente a estequiometria da reação (n) e a constante de equilíbrio ($\log K_{eq}$). A linearização da curva da **Figura 7** está representada na **Figura 8**, para o surfactante CTABr.

$$\log\left(\frac{A_{liv}}{A_{com} - A_{liv}}\right) = \log K_{eq} + n \log\left([8-HQ]_{liv} - n \frac{A_{liv}}{\epsilon_{com} \cdot b}\right) \quad (3)$$

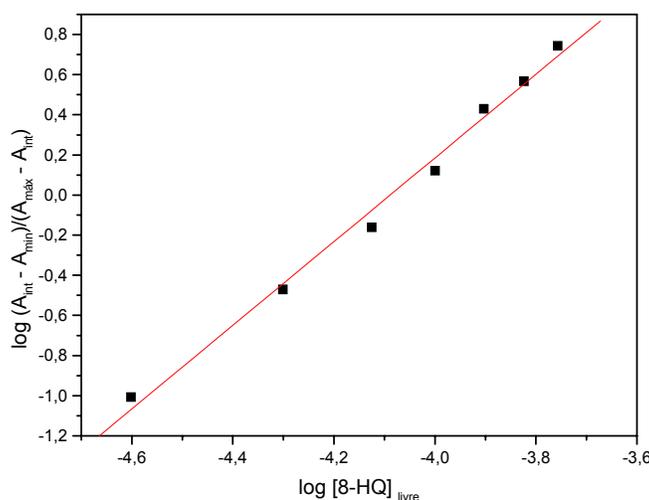


Figura 8. Variação do logarítmo da razão das concentrações de Zn^{2+} complexado e Zn^{2+} livre em função do logarítmo da concentração de 8-HQ na forma livre.

A **tabela 6** mostra os resultados calculados a partir dos dados da **Figura 8**, utilizando a **equação 3**. A estequiometria da reação de complexação do íon Zn^{2+} com 8-HQ apresenta aparentemente uma proporção de 1:2 e o Log da constante de equilíbrio nas reações realizadas em meio aquoso, é de aproximadamente 8,5.

Como os dados foram obtidos na presença de surfactante para a solubilização do complexo, as constantes de estabilidade são aparentes, já que a concentração na fase micelar não é conhecida exatamente.

Tabela 6. Parâmetros calculados para a complexação de íon Zn^{2+} na concentração de $5,0 \times 10^{-5} \text{ molL}^{-1}$ com a concentração de 8-HQ variável, em meio micelar de CTABr a pH 8,0.

Parâmetro	Valores em CTABr
$\log K_{eq}$	8,5
n	2

IV.2. Otimização do pH na presença dos diferentes surfactantes

A reação de complexação dos íons Zn^{2+} com a 8-HQ em meio micelar mostrou sensibilidade ao pH do meio, portanto, foi analisado o efeito do pH na reação de complexação, visando estabelecer as melhores condições experimentais, conforme mostrado nas **Figura 9 e 10**.

Foi considerado como melhor pH, aquele que apresentou o maior valor da absorvância em função do pH no comprimento de onda de aproximadamente 380 nm, que corresponde ao λ_{max} de formação do complexo. O efeito do pH do meio pode ser complexo já que favorece a desprotonação da 8-HQ, o valor de pH o qual ocorre a desprotonação pode variar dependendo do meio micelar utilizado e ainda, em valores de pH elevados há precipitação de óxidos/hidróxidos metálicos. Entretanto, os resultados mostram que o pH ótimo para os surfactantes CTABr, SDS, Lauril sulfobetaína e palmitil sulfobetaína é aproximadamente igual a 8,0. Já para surfactante Triton X-100 o melhor valor de pH encontrado foi de 8,5.

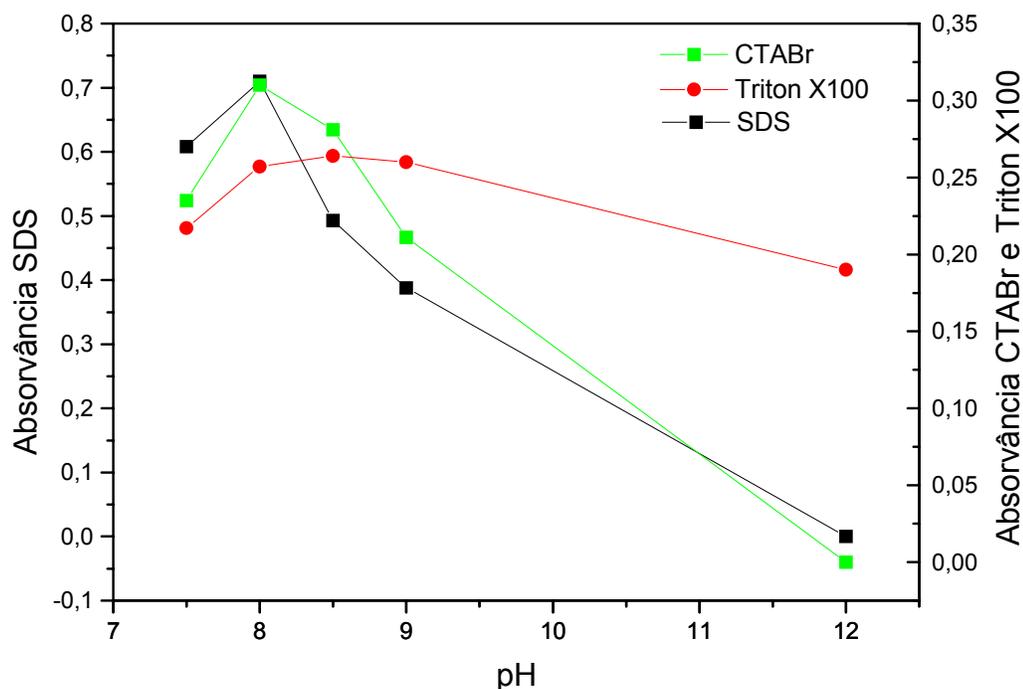


Figura 9. Variação da absorvância, em $\lambda = 380 \text{ nm}$, do complexo formado entre 8-HQ ($2,0 \times 10^{-4} \text{ mol.L}^{-1}$) e Zn^{2+} ($5,0 \times 10^{-5} \text{ mol.L}^{-1}$) em função do pH do meio na presença dos surfactantes ($0,1 \text{ mol.L}^{-1}$ 5%), aniônico (SDS), catiônico (CTABr) e não iônico (TRITON X-100).

A seguir na **Figura 10**, está a representação gráfica de absorvância em função do pH para o complexo formado entre 8-HQ e Zn^{2+} em meio micelar, com os surfactantes zwitterionicos, Lauril e Palmitil sulfobetaína, pode-se perceber que o pH ótimo para a complexação em meio micelar com os surfactantes zwitteriônicos é também $\text{pH} = 8,0$.

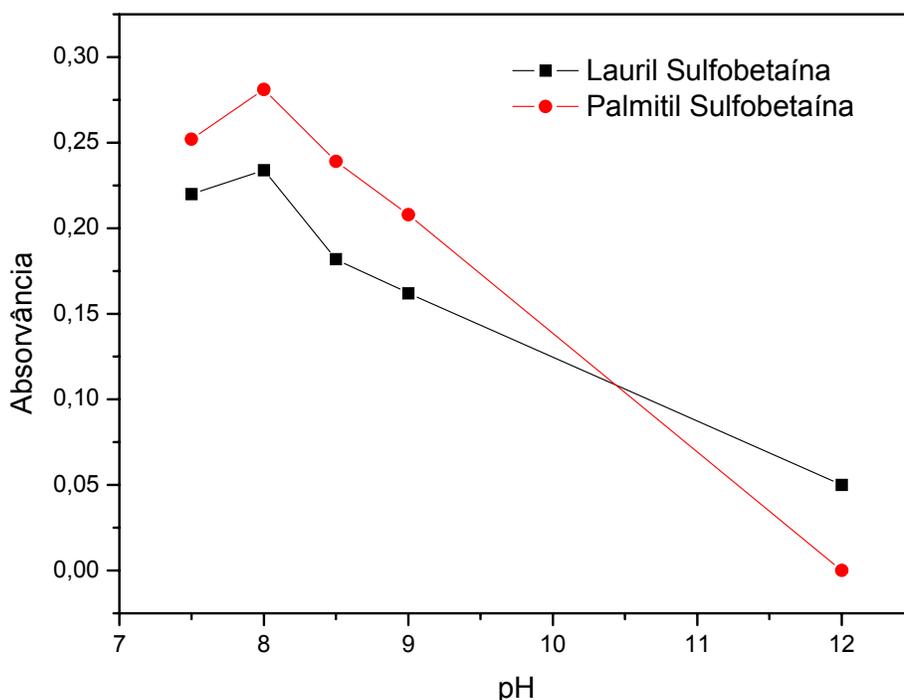


Figura 10. Variação da absorvância, em $\lambda = 380 \text{ nm}$, do complexo formado entre 8-HQ ($2,0 \times 10^{-4} \text{ mol.L}^{-1}$) e Zn^{2+} ($5,0 \times 10^{-5} \text{ mol.L}^{-1}$) em função do pH do meio na presença de surfactantes zwitterionicos ($5,0 \times 10^{-2} \text{ mol.L}^{-1}$).

IV.3. Espectros de excitação e emissão

A **Figura 11** mostra os espectros de excitação e emissão do complexo formado entre 8-HQ e Zn^{2+} na presença de diferentes surfactantes. Os valores dos comprimentos de onda de excitação que podem ser visualizados no espectro de excitação **Figura 11 (a)** e **Tabela 05**, dependem do tipo de surfactante utilizado e, um maior valor de intensidade e comprimento de onda são observados para CTABr e para a palmitil sulfobetaina. Os valores de λ_{max} foram utilizados para estabelecer em qual comprimento de onda a molécula deveria ser excitada no fluorímetro. Após passar do nível energético fundamental para um nível de maior energia, quando a molécula retorna ao estado fundamental, esta emite luz,

caracterizando o processo chamado de fluorescência, que pode ser visualizado no espectro de emissão, **Figura 11 (b)**. O comprimento de onda obtido no espectro de emissão de fluorescência é semelhante para todos os surfactantes (valores apresentados nas tabelas 05 e 06 da parte experimental). Pode-se perceber intensidades de fluorescência significativamente maiores para CTABr e palmitil sulfobetaina.

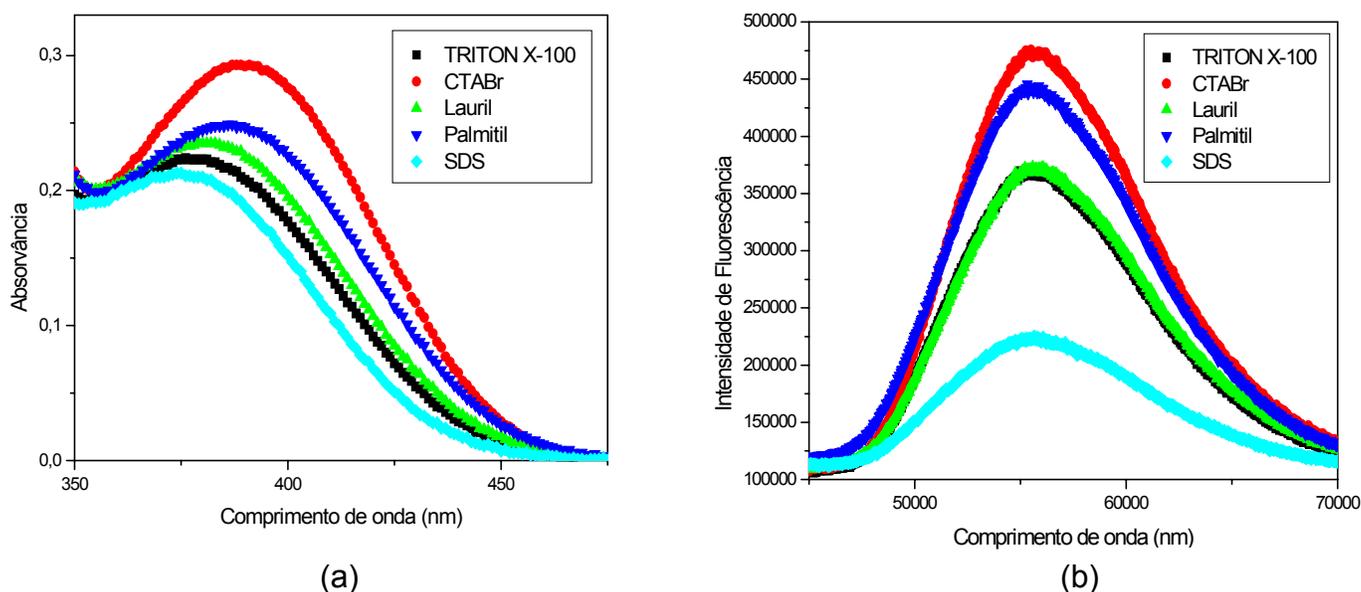


Figura 11. Espectros de excitação e emissão da 8-HQ $2,0 \times 10^{-4} \text{ mol L}^{-1}$ e Zn $5,0 \times 10^{-5} \text{ mol L}^{-1}$ em tampão Tris $0,01 \text{ mol L}^{-1}$ com os surfactantes, (■)TRITON X100 $5,0 \times 10^{-2} \text{ mol L}^{-1}$ (●) CTABr $5,0 \times 10^{-2} \text{ mol L}^{-1}$ (▲)lauril sulfobetaina $5,0 \times 10^{-2} \text{ mol L}^{-1}$ (▼) palmitil sulfobetaina $5,0 \times 10^{-2} \text{ mol L}^{-1}$ e (◆) SDS $5,0 \times 10^{-2} \text{ mol L}^{-1}$.

A seguir na **Figura 12 (a) e (b)**, estão os espectros de excitação e emissão, respectivamente, do complexo formado entre 8-HQ e Cd^{2+} nos diferentes meios micelares utilizados.

Os espectros de excitação e emissão obtidos para o complexo formado entre 8-HQ e Zn^{2+} , bem como os espectros de excitação e emissão de Cd^{2+} e 8-HQ, foram utilizados para determinar os comprimentos de onda adequados para a

excitação e para a leitura da intensidade da emissão da fluorescência. Estes conhecimentos foram utilizados para as determinações analíticas de Cd^{2+} e Zn^{2+} .

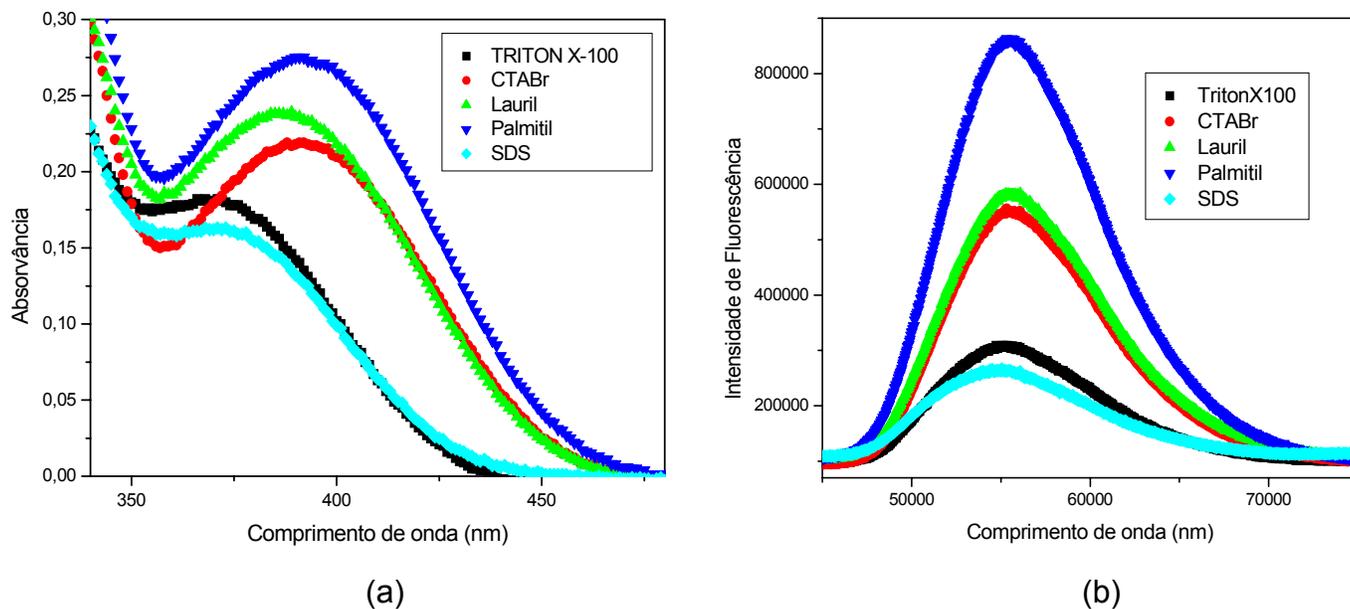


Figura 12. Espectros de excitação e emissão da 8-HQ $2,0 \times 10^{-4} \text{ mol L}^{-1}$ e $\text{Cd } 5,0 \times 10^{-5} \text{ mol L}^{-1}$ em tampão Tris $0,01 \text{ mol L}^{-1}$ com os surfactantes, (■)TRITON X100 $5,0 \times 10^{-2} \text{ mol L}^{-1}$ (●) CTABr $5,0 \times 10^{-2} \text{ mol L}^{-1}$ (▲)lauril sulfobetaina $5,0 \times 10^{-2} \text{ mol L}^{-1}$ (▼) palmitil sulfobetaina $5,0 \times 10^{-2} \text{ mol L}^{-1}$ e (◆) SDS $5,0 \times 10^{-2} \text{ mol L}^{-1}$.

Como pode ser observado, no caso do cádmio, o valor de λ_{max} de excitação depende do tipo de surfactante, sendo os valores maiores de intensidade e de λ_{max} obtidos para as sulfobetainas e CTABr e menores para SDS e Triton X-100. Em todos os casos, os complexos formados entre Cd^{2+} e 8-HQ mostram um espectro de fluorescência com um máximo de emissão em torno de 550 nm. O maior aumento na emissão, é observado na presença das sulfobetainas, especialmente a palmitil.

No caso de todos os detergentes estudados, os resultados mostram uma dependência linear em relação à concentração de metal e que permite uma quantificação adequada.

V.4. Determinação das espécies metálicas Zn^{2+} e Cd^{2+} por espectrofluorimetria em diferentes meios micelares.

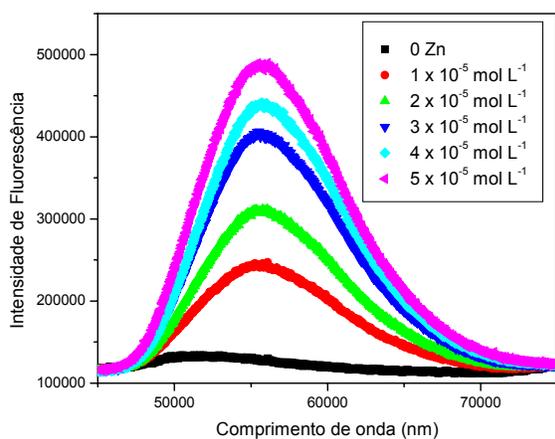
O realce da fluorescência da 8-HQ pelos íons metálicos Zn^{2+} e Cd^{2+} em diferentes meios micelares podem ser observados nas **Figuras 13, 14, 15, 16, 17, 18, 19, 20, 21 e 22**.

Neste estudo, foi testada separadamente a habilidade do surfactante aniônico (SDS), do catiônico (CTABr), do não-iônico (TRITON-X100) e dos zwitterionicos (Lauril e Palmitil sulfobetaina) em relação ao aumento da sensibilidade e estabilidade das soluções na determinação de Cd^{2+} e Zn^{2+} , em meio aquoso. Experimentos preliminares, verificando a estabilidade das soluções em relação à precipitação, mostrou que os efeitos favoráveis mais significativos ocorrem quando o surfactante CTABr é utilizado.

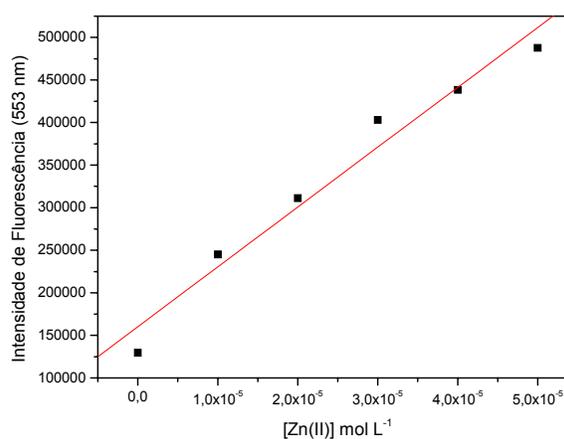
Uma função importante do meio micelar, percebida neste estudo, é a possibilidade de se trabalhar em pH moderadamente básico na presença de 8-HQ, Sem que haja precipitação de hidróxido de zinco e hidróxido de cádmio. Os resultados da dependência de pH mostram que é preferível estudar a complexação em meio moderadamente básico (pH 8,0 – 8,5), pois as melhores condições para o ligante 8-HQ são em meio básico em que o ligante está na forma quinolinato Q^- .

V.4.1. Determinação de zinco e cádmio via realce de fluorescência de 8-HQ em meio micelar.

Na seqüência apresentam-se os espectros mostrando o realce da fluorescência e as curvas de calibração para os experimentos de 8-HQ com Zn^{2+} (**Figuras 13 até 17**), seguido dos resultados com 8-HQ e Cd^{2+} (**Figuras 18 até 22**) na presença dos diferentes surfactantes utilizados.

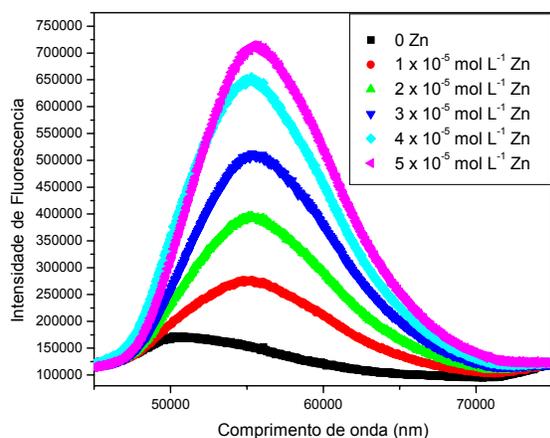


(a)

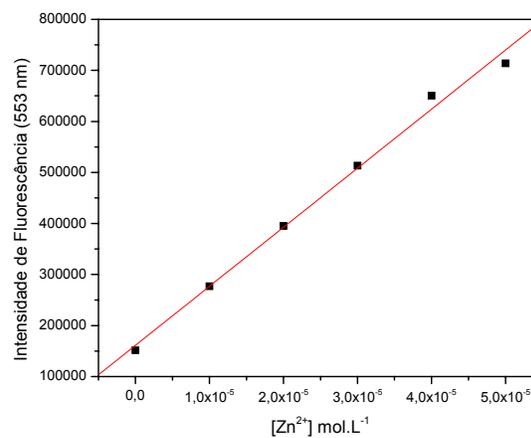


(b)

Figura 13. (a) Espectros de emissão da fluorescência do complexo formado entre Zn^{2+} e 8-HQ $2,0 \times 10^{-4} \text{ mol.L}^{-1}$ em tampão Tris $0,01 \text{ mol.L}^{-1}$ pH = 8,0, Lauril sulfobetaína $5,0 \times 10^{-2} \text{ mol L}^{-1}$. (b) Curva de calibração Zn (0 a $5,0 \times 10^{-5} \text{ mol L}^{-1}$, comprimento de onda 553 nm.



(a)



(b)

Figura 14. (a) Espectros de emissão da fluorescência do complexo formado entre Zn^{2+} e 8-HQ $2,0 \times 10^{-4} \text{ mol L}^{-1}$ em tampão Tris $0,1 \text{ mol.L}^{-1}$ pH = 8,0, palmitil sulfobetaína $5,0 \times 10^{-2} \text{ mol L}^{-1}$. (b) Curva de calibração Zn (0 a $5,0 \times 10^{-5} \text{ mol L}^{-1}$, comprimento de onda 550 nm.

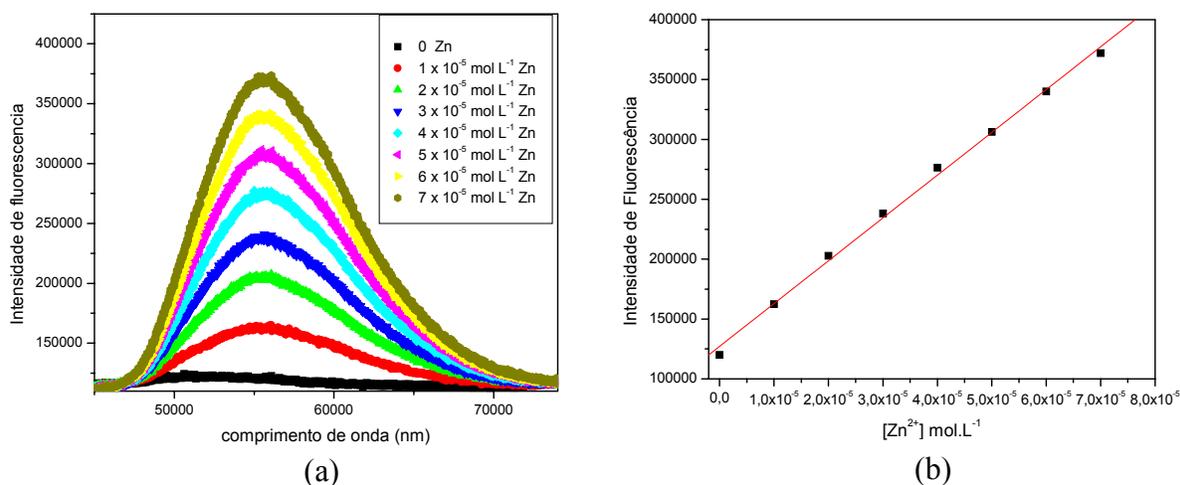


Figura 15. (a) Espectros de emissão da fluorescência do complexo formado entre Zn²⁺ e 8-HQ $2,0 \times 10^{-4}$ mol L⁻¹ em tampão Tris 0,01M pH = 8,0, SDS $5,0 \times 10^{-2}$ mol L⁻¹. (b) Curva de calibração Zn (0 a $7,0 \times 10^{-5}$ mol L⁻¹, comprimento de onda 555 nm.

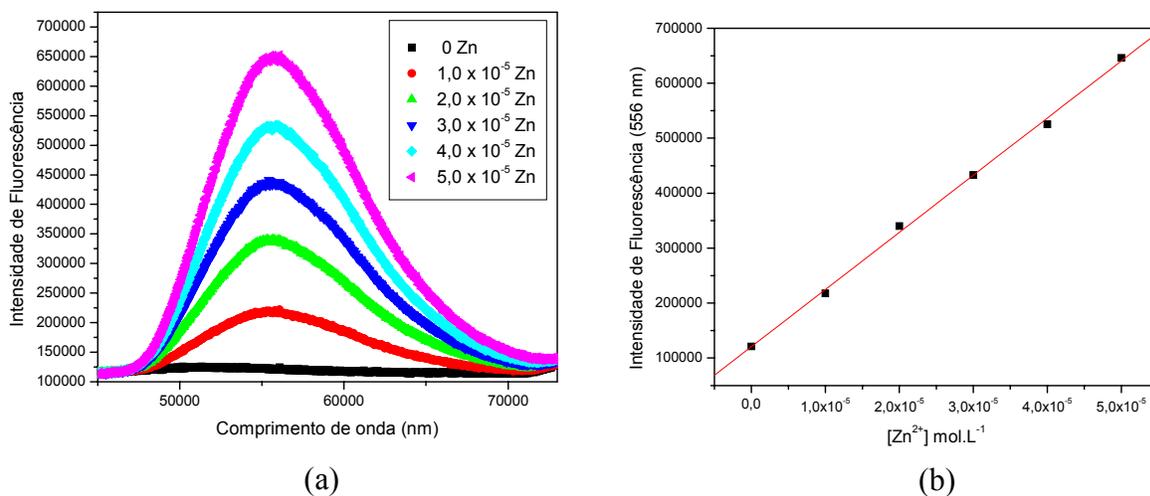


Figura 16. (a) Espectros de emissão da fluorescência do complexo formado entre Zn²⁺ e 8-HQ $2,0 \times 10^{-4}$ mol L⁻¹ em tampão Tris 0,01M pH = 8,5, Triton X-100 $5,0 \times 10^{-2}$ mol L⁻¹. (b) Curva de calibração Zn (0 a $5,0 \times 10^{-5}$ mol L⁻¹, comprimento de onda 555 nm.

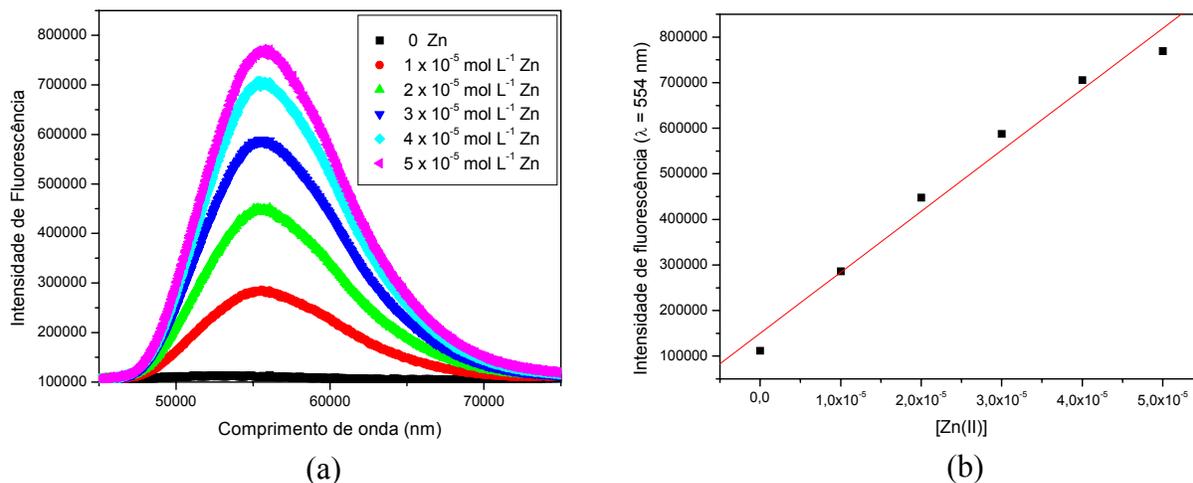


Figura 17. (a) Espectros de emissão da fluorescência do complexo formado entre Zn^{2+} e 8-HQ $2,0 \times 10^{-4} \text{ mol L}^{-1}$ em tampão Tris $0,01\text{M}$ $\text{pH} = 8,0$, CTABr $5,0 \times 10^{-2} \text{ mol L}^{-1}$. (b) Curva de calibração Zn (0 a $5,0$) $\times 10^{-5} \text{ mol L}^{-1}$, comprimento de onda 554 nm .

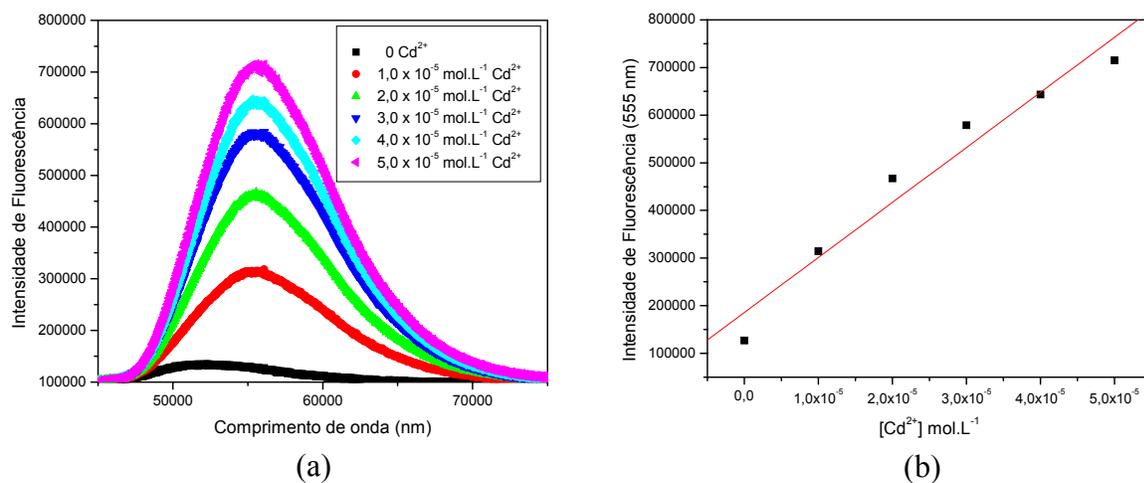
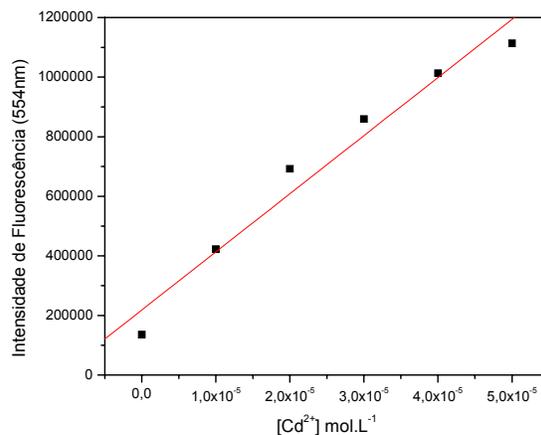
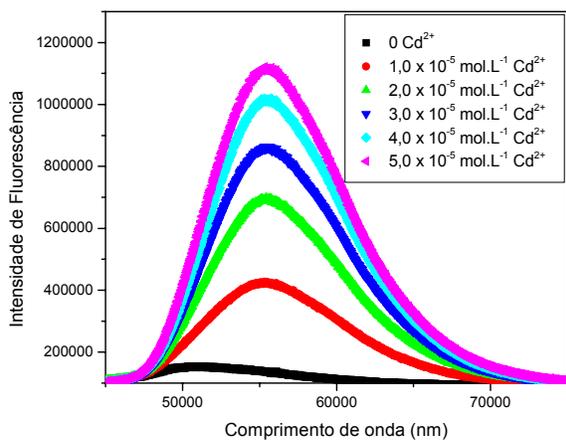


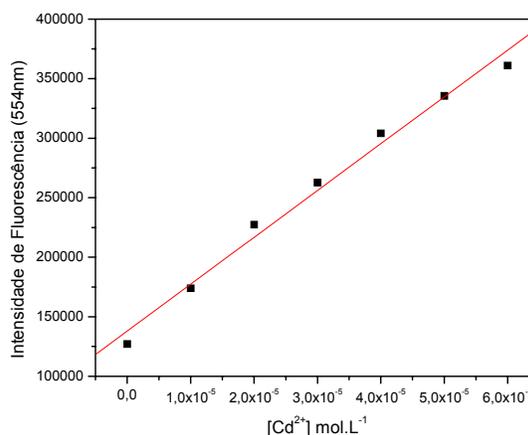
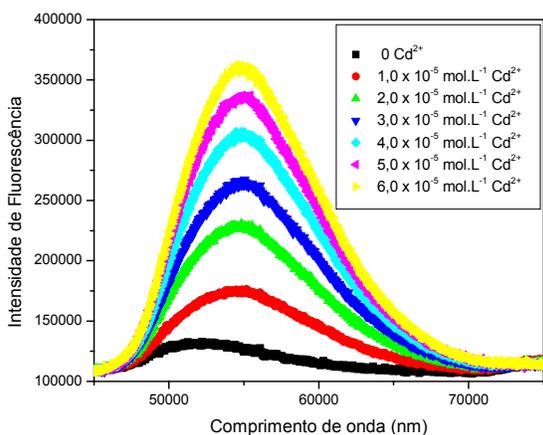
Figura 18. (a) Espectros de emissão da fluorescência do complexo formado entre Cd^{2+} e 8-HQ $2,0 \times 10^{-4} \text{ mol L}^{-1}$ em tampão Tris $0,01\text{M}$ $\text{pH} = 8,0$, Lauril sulfobetaina $5,0 \times 10^{-2} \text{ mol L}^{-1}$. (b) Curva de calibração Cd (0 a $5,0$) $\times 10^{-5} \text{ mol L}^{-1}$, comprimento de onda 553 nm .



(a)

(b)

Figura 19. (a) Espectros de emissão da fluorescência do complexo formado entre Cd²⁺ e 8-HQ 2,0 x 10⁻⁴ mol L⁻¹ em tampão Tris 0,01M pH = 8,0, palmitil sulfobetaina 5,0 x 10⁻² mol L⁻¹. (b) Curva de calibração Cd (0 a 5,0) x 10⁻⁵ mol L⁻¹, comprimento de onda 554 nm.



(a)

(b)

Figura 20. (a) Espectros de emissão da fluorescência do complexo formado entre Cd²⁺ e 8-HQ 2,0 x 10⁻⁴ mol L⁻¹ em tampão Tris 0,01M pH = 8,0, SDS 5,0 x 10⁻² mol L⁻¹. (b) Curva de calibração Cd (0 a 6,0) x 10⁻⁵ mol L⁻¹, comprimento de onda 554 nm.

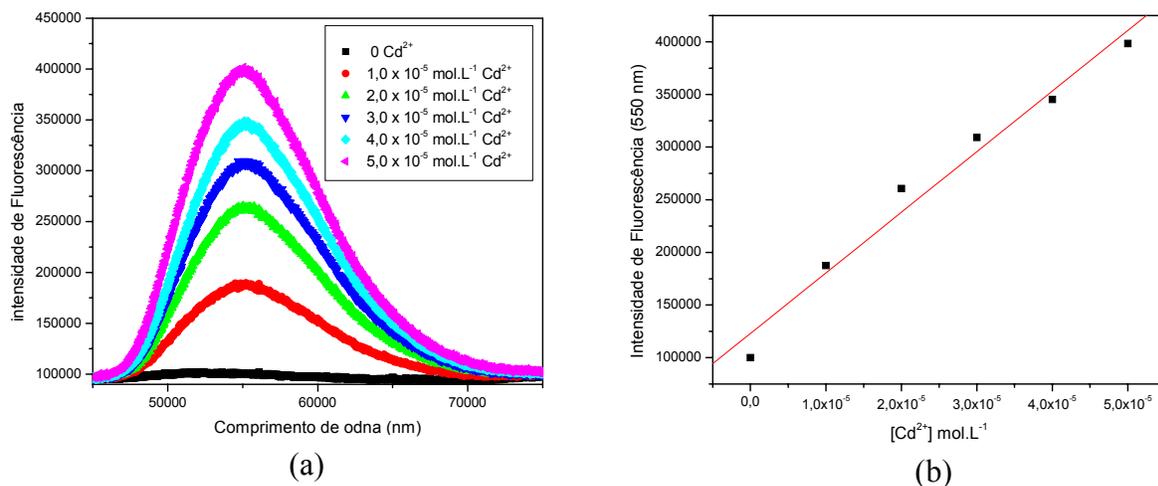


Figura 21. (a) Espectros de emissão da fluorescência do complexo formado entre Cd²⁺ e 8-HQ 2,0 x 10⁻⁴ mol L⁻¹ em tampão Tris 0,01M pH = 8,0, TRITON X-100 5,0 x 10⁻² mol L⁻¹. (b) Curva de calibração Cd (0 a 5,0) x 10⁻⁵ mol L⁻¹, comprimento de onda 550 nm.

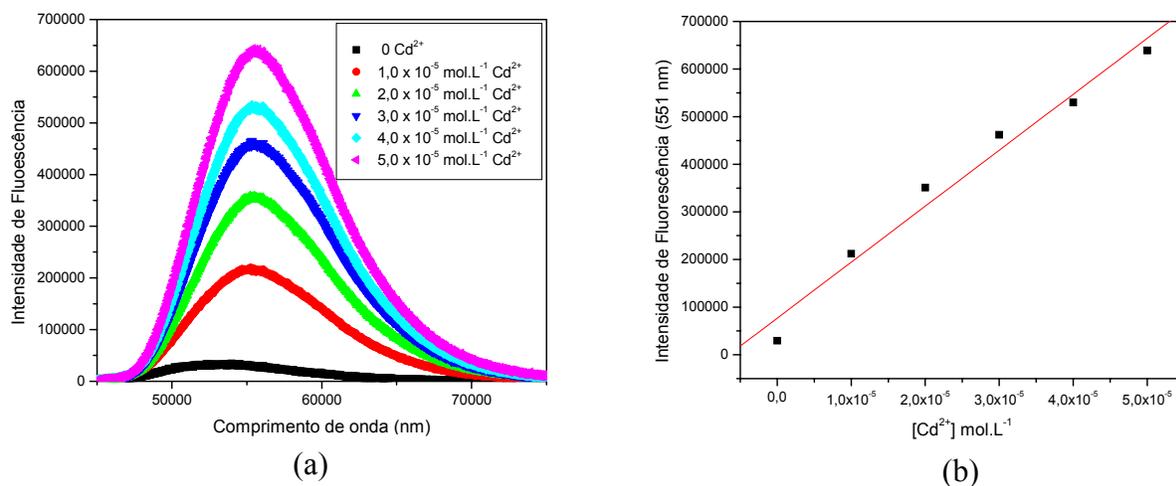


Figura 22. (a) Espectros de emissão da fluorescência do complexo formado entre Cd²⁺ e 8-HQ 2,0 x 10⁻⁴ mol L⁻¹ em tampão Tris 0,01M pH = 8,0, CTABr 5,0 x 10⁻² mol L⁻¹. (b) Curva de calibração Cd (0 a 5,0) x 10⁻⁵ mol L⁻¹, comprimento de onda 551 nm.

Os resultados mostram que é possível analisar metais, em soluções de composição conhecida, utilizando a espectroscopia de fluorescência em soluções micelares. Há uma série de vantagens relacionadas à natureza do meio micelar que, através dos processos de solubilização preferencial e compartimentalização de reagentes, possibilita o aumento da fluorescência, bem como a catálise ou inibição de reações químicas (Escabi-Perez et al, 1977, Bunton et al., 1991).

V.5. Determinação dos limites de detecção (LD) e quantificação (LQ) para os íons metálicos Zn²⁺ e Cd²⁺.

Os dados de intensidade de fluorescência em função da concentração de metal mostrados nas figuras **13(b)** até **22(b)** para os diferentes surfactantes foram analisados estatisticamente utilizando um programa de ajuste linear dos dados disponível no programa Origin 5.0 para poder comparar os efeitos observados experimentalmente.

Em linhas gerais, os coeficientes de correlação linear foram satisfatórios, com um menor valor de $R=0,978$ para o caso de Cd²⁺ na presença da lauril sulfobetaina. Nos casos onde os coeficientes lineares são menos satisfatórios, aparece claramente no gráfico que há uma tendência ao desvio da linearidade em elevadas concentrações de metal.

Tratando o conjunto de dados experimentais dos diferentes surfactantes com uma metodologia de regressão polinomial de segunda ordem, obtém-se uma excelente correlação em todos os casos. Entretanto, não é possível comparar os diferentes surfactantes entre si, já que os pesos atribuídos pelo programa estatístico aos termos de primeira e segunda ordem são diferenciados e atribuídos automaticamente pelo programa. Assim, opta-se por utilizar os dados da correlação linear para fins de comparação, sendo os mesmos incluídos na **Tabela 7**. É importante salientar que após a análise comparativa, os melhores sistemas certamente deveriam utilizar uma regressão polinomial de segunda ordem para

fins analíticos, o que resultaria numa extrapolação ou interpolação de maior confiabilidade.

Tabela 7. Valores utilizados para cálculo dos (LD) e (LQ)

Surfactante	Metal	A → intercepto	B → coeficiente angular	R
CTABr	Zn	150080 ± 29375	1,33E10 ± 9,70 E8	0,98965
SDS	Zn	127841 ± 3445	3,56 E9 ± 8,24 E7	0,9984
Triton X100	Zn	118923 ± 5643	1,05 E10 ± 1,86E8	0.99937
Lauril sulfobetaína	Zn	160019 ± 19334	7,03E9 ± 6,38 E8	0,98391
Palmitil sulfobetaína	Zn	162761 ± 14867	1,14 E10 ± 4,91 E8	0,99632
CTABr	Cd	79795 ± 29398	1,16E10 ± 9,7 E8	0,9864
SDS	Cd	138192 ± 7894	3,92 E9 ± 2,18E8	0,99232
Triton	Cd	123571 ± 14379	5,79 E9 ± 4,74 E8	0.9868
Lauril sulfobetaína	Cd	184109 ± 37011	1,15E10 ± 1,22E9	0,97817
Palmitil sulfobetaína	Cd	219757 ± 56440	1,95 E10 ± 1,86E9	0.98222

Os coeficientes angulares da Tabela 7 mostram que os diferentes surfactantes afetam de forma diferenciada aos elementos metálicos. No caso do Zn^{2+} os coeficientes angulares decrescem na ordem CTABr > Palmitil sulfobetaína > Triton X-100 > Lauril sulfobetaína > SDS. A ordem no caso da formação do complexo entre Cd^{2+} e 8-HQ é substancialmente diferente, sendo Palmitil sulfobetaína > CTABr ≈ Lauril sulfobetaína > Triton X-100 > SDS. Nos dois casos, o detergente aniônico SDS é aquele de menor eficiência no realce da fluorescência observada.

Para calcular o limite de detecção, foram inicialmente encontrados o valor médio do sinal do branco (F_0) e o desvio padrão a ele associado (S_B). O valor encontrado (em regiões onde aparece somente a flutuação da intensidade observada devido a luz difusa) para 50 leituras independentes de desvio padrão dos brancos foi de $S_B = 10587$ unidades de sinal de fluorescência. Usando este

valor, é possível definir um valor de limite de detecção (LD), que marca a fronteira entre a existência e ausência do analito (IUPAC, 1976; Miller & Miller, 1993).

O limite de detecção (LD) de acordo à definição da IUPAC corresponde, neste método, ao valor dado por $LD = F_0 + 3,00 S_B$. Esta definição corresponde a um limite de confiança de 99,6 %, sendo que F_0 corresponde à ordenada da curva de calibração para uma concentração do analito igual a zero.

Assim, o LD corresponde ao valor do desvio padrão dos brancos ($S_B=10587$) multiplicado por 03, sendo este valor dividido pelo coeficiente angular da reta. A incerteza do LD corresponde à razão entre duas vezes o desvio do coeficiente angular e o valor do coeficiente angular, sendo esta razão multiplicada pelo valor encontrado para o LD.

Para o cálculo do limite de quantificação (LQ) foi utilizada a definição estabelecida internacionalmente (IUPAC, 1976; Miller & Miller, 1993), $LQ = F_0 + 10 S_B$. Sendo que foi calculado utilizando o mesmo limite de confiança que no caso do LD. Foi utilizado o mesmo valor de desvio padrão, $S_B = 10587$, multiplicado por 10, e após o mesmo procedimento adotado para encontrar o LD.

A **Tabela 8** apresenta os valores dos LD e LQ encontrados para Zn(II) e Cd(II) na presença de 8-HQ e os diversos surfactantes utilizados.

Tabela 8. Limites de detecção e quantificação.

Surfactante	Metal	LD ($mol L^{-1}$)	LQ ($mol L^{-1}$)
CTABr	Zn	$2,39 E^{-6} \pm 3,49 E^{-7}$	$7,96 E^{-6} \pm 1,16 E^{-6}$
SDS	Zn	$8,92 E^{-6} \pm 4,13 E^{-7}$	$2,97 E^{-5} \pm 1,37 E^{-6}$
Triton	Zn	$3,02 E^{-6} \pm 1,07 E^{-7}$	$1,01 E^{-5} \pm 3,58 E^{-7}$
SB3-12Lauryl	Zn	$4,52 E^{-6} \pm 8,20 E^{-7}$	$1,51 E^{-5} \pm 2,74 E^{-6}$
SB3-16 Palmityl	Zn	$2,79 E^{-6} \pm 2,40 E^{-7}$	$9,29 E^{-6} \pm 8,00 E^{-7}$
CTABr	Cd	$2,74 E^{-6} \pm 4,58 E^{-7}$	$9,13 E^{-6} \pm 1,53 E^{-6}$
SDS	Cd	$8,10 E^{-6} \pm 9,01 E^{-7}$	$2,70 E^{-5} \pm 3,00 E^{-6}$
Triton	Cd	$5,48 E^{-6} \pm 8,97 E^{-7}$	$1,83 E^{-5} \pm 3,00 E^{-6}$
SB3-12Lauryl	Cd	$2,76 E^{-6} \pm 5,85 E^{-7}$	$9,21 E^{-6} \pm 1,95 E^{-6}$
SB3-16 Palmityl	Cd	$1,63 E^{-6} \pm 3,11 E^{-7}$	$5,43 E^{-6} \pm 1,03 E^{-6}$

Utilizando como exemplo os valores obtidos para análises na presença de CTABr, onde é possível realizar análises de metais num volume final de 1 mL, é possível calcular que o valor de LD é equivalente a 2,39 nanomoles de Zn^{2+} . Em sistemas cromatográficos aonde as amostras são injetadas e analisadas em volumes de alguns microlitros e/ou muitas vezes pré-tratadas em coluna de pré-concentração a sensibilidade pode chegar a várias ordens de magnitude menor, atingindo picomoles de metais.

V.6. Cinéticas de aumento da intensidade de fluorescência

As **Figuras 19, 20, 21, 22 e 23** abaixo, mostram um significativo aumento na intensidade da fluorescência da 8-HQ com Zn^{2+} , com o tempo, nos diferentes meios micelares, sob as condições especificadas anteriormente na parte experimental.

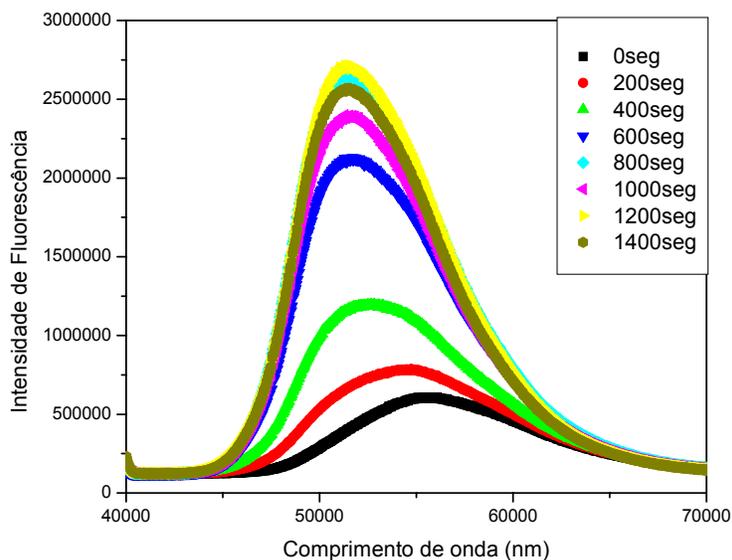


Figura 19. Espectros de emissão de fluorescência em função do tempo com $[Zn] 5,0 \times 10^{-5} \text{ mol L}^{-1}$ e $[8\text{-HQ}] 2,0 \times 10^{-4} \text{ mol L}^{-1}$, lauril sulfobetaina $0,05 \text{ mol L}^{-1}$.

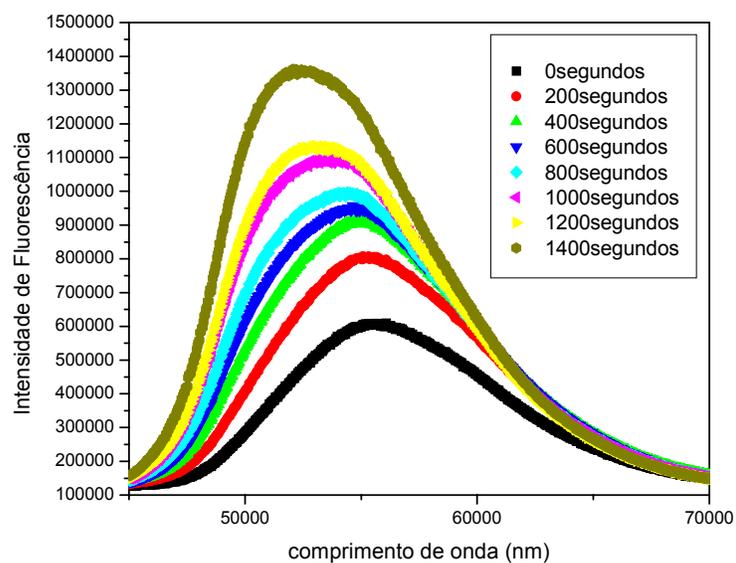


Figura 20. Espectros de emissão de fluorescência em função do tempo com $[Zn] 5,0 \times 10^{-5} \text{ mol L}^{-1}$ e $[8\text{-HQ}] 2,0 \times 10^{-4} \text{ mol L}^{-1}$, palmitil sulfobetaína $0,05 \text{ mol L}^{-1}$.

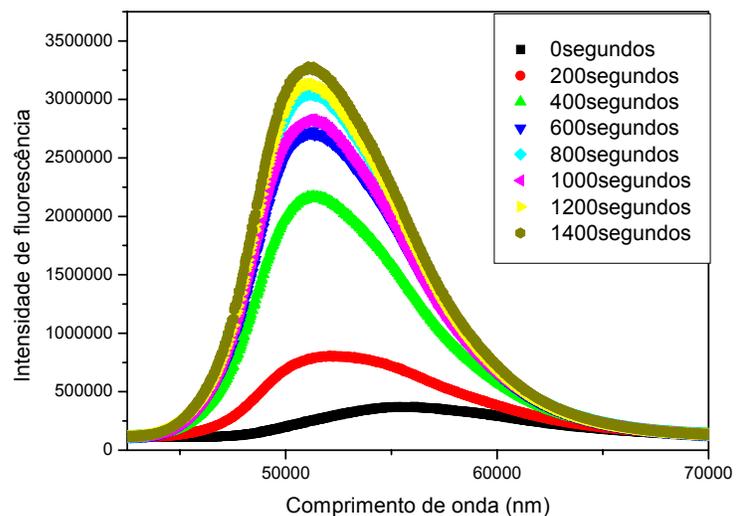


Figura 21. Espectros de emissão de fluorescência em função do tempo com $[Zn] 6,0 \times 10^{-5} \text{ mol L}^{-1}$ e $[8\text{-HQ}] 2,0 \times 10^{-4} \text{ mol L}^{-1}$, SDS $0,05 \text{ mol L}^{-1}$.

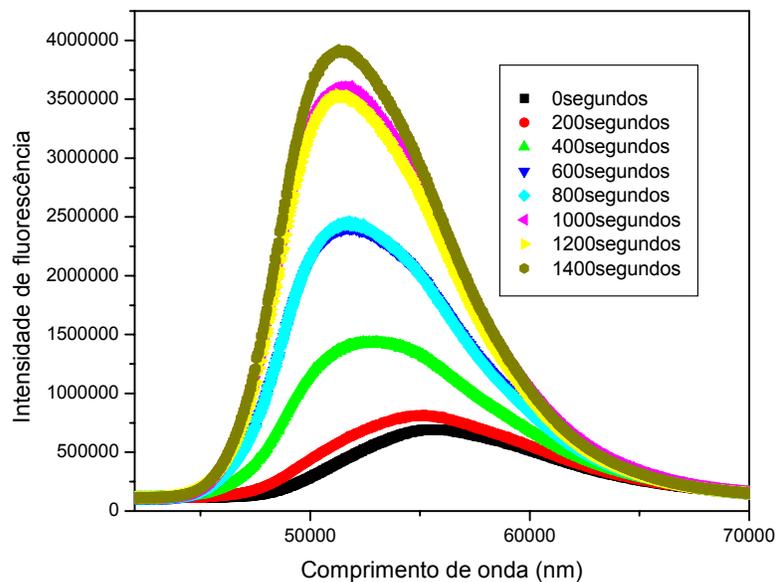


Figura 22. Espectros de emissão de fluorescência em função do tempo com $[Zn]$ $6,0 \times 10^{-5} \text{ mol L}^{-1}$ e $[8\text{-HQ}]$ $2,0 \times 10^{-4} \text{ mol L}^{-1}$, Triton X-100 $0,05 \text{ mol L}^{-1}$.

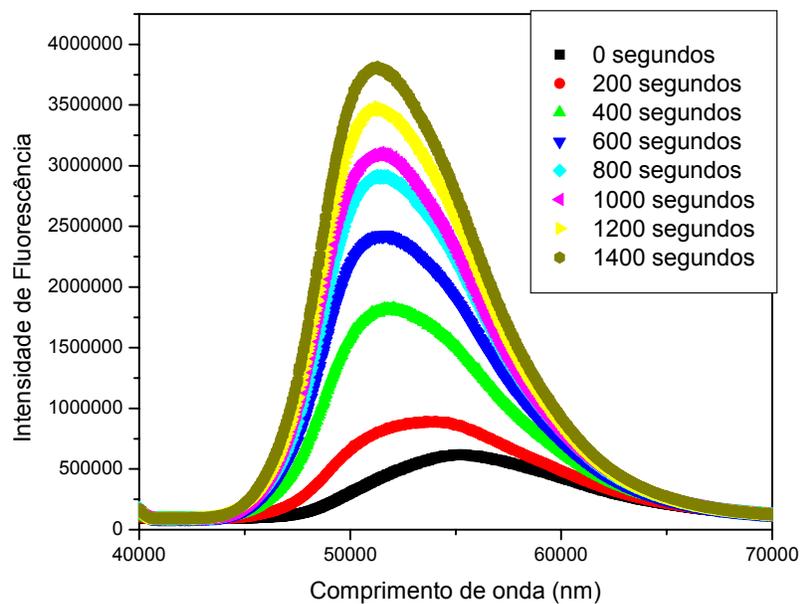


Figura 23. Espectros de emissão de fluorescência em função do tempo com $[Zn]$ $9,0 \times 10^{-5} \text{ mol L}^{-1}$ e $[8\text{-HQ}]$ $2,0 \times 10^{-4} \text{ mol L}^{-1}$, CTABr $0,1 \text{ mol L}^{-1}$ 5%.

Em todos os casos, o primeiro espectro registrado corresponde ao tempo zero onde ocorre a mistura dos reagentes. Nesse processo de complexação inicial observa-se a coloração amarela da solução que está no interior do fluorímetro. A partir do segundo espectro observa-se um deslocamento no comprimento de onda de emissão, para um comprimento de onda de maior energia, e alteração da coloração da solução para verde, com aumento da intensidade da fluorescência.

O aumento da intensidade e demais alterações observadas, provavelmente estão associadas à formação do complexo fluorescente formado entre Zn e 8-HQ, que começa a precipitar quando a concentração de surfactante não é suficiente para mantê-lo solúvel no meio aquoso. Quando o complexo fluorescente começa a precipitar, observa-se o aumento gradativo da intensidade da fluorescência em relação ao tempo e também acontece o deslocamento do comprimento de onda máximo de emissão para comprimentos de onda de maior energia.

A **Tabela 9** mostra os valores dos comprimentos de onda inicial e final observado para cada surfactante, bem como o aumento da intensidade da fluorescência e mudança da coloração da solução no fluorímetro.

Tabela 9. Dados quantitativos das alterações observadas no $\lambda_{\text{emissão}}$ em função do tempo e mudança da coloração da solução.

	$\lambda_{\text{emissão}}$ (nm) (inicial)	$\lambda_{\text{emissão}}$ (nm) (final)	$\Delta\lambda$ (nm)	Intensidade final	Coloração da solução
CTABr	550	513	37	3.776.934	Amarela→Verde
SDS	555	511	44	3.242.200	Amarela→Verde
TRITON X-100	555	514	41	3.870.000	Amarela→Verde
Lauril sulfobetaína	555	513	42	2.812.500	Amarela→Verde
Palmitil sulfobetaína	554	523	31	1.380.000	Amarela→Verde

Na presença de CTABr, os valores de intensidade final são em torno de 6 vezes maiores que o valor da intensidade de fluorescência inicial, obtida para o complexo de Zn^{2+} e 8-HQ (1:2), o que indica que o complexo formado em tempos

maiores pode ser analisado com maior sensibilidade, ainda que o tempo necessário para a formação do complexo (20-25 minutos) dificulte a possibilidade do acoplamento com técnicas em linha, como por exemplo cromatografia iônica.

V.7. Cinéticas de precipitação com Zn^{2+} nos diferentes meios micelares.

Quando a solução de Zn^{2+} e misturada com 8-HQ na ausência de surfactantes observa-se a precipitação, imediatamente após o complexo ser formado, **Figura 24**. De fato, em aproximadamente 5-10 minutos, há desaparecimento total da absorvância do complexo. Entretanto, na presença de surfactantes este fenômeno é afetado significativamente. Através da análise do gráfico de cinética de precipitação da 8-HQ e Zn^{2+} com os diferentes surfactantes, mostrado na **Figura 24**, pode-se ver que durante os primeiros 10-20 minutos praticamente não houve precipitação do complexo, com exceção do complexo solubilizado com o surfactante TRITON-X100, que começa a precipitar logo após a solução ter sido preparada.

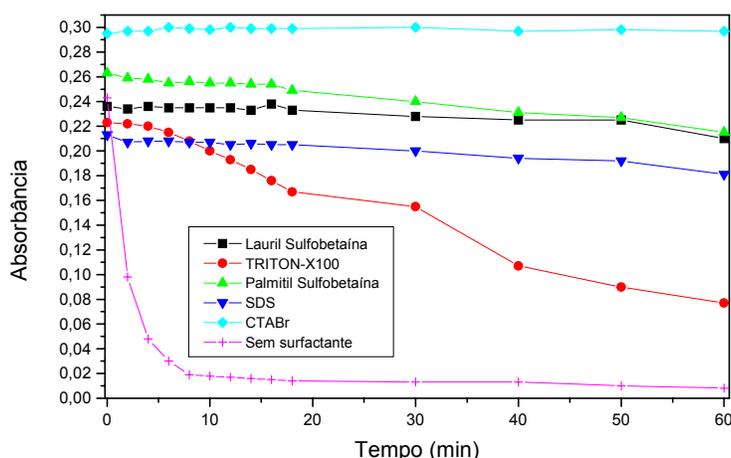


Figura 24. Representação gráfica da cinética de precipitação da 8-HQ $2,0 \times 10^{-4} \text{ molL}^{-1}$ e Zn $5,0 \times 10^{-5} \text{ molL}^{-1}$ em tampão Tris $0,01 \text{ molL}^{-1}$ com os surfactantes, (\blacklozenge) CTABr $5,0 \times 10^{-2} \text{ molL}^{-1}$, (\blacktriangle) palmitil sulfobetaina $5,0 \times 10^{-2} \text{ molL}^{-1}$, (\blacksquare) lauril sulfobetaina $5,0 \times 10^{-2} \text{ molL}^{-1}$ (\bullet)TRITON X100 $5,0 \times 10^{-2} \text{ molL}^{-1}$ e (\blacktriangledown) SDS $5,0 \times 10^{-2} \text{ molL}^{-1}$ e (+) ausência de surfactante.

Após esse tempo inicial de aproximadamente vinte minutos, pode ser observado um lento decaimento na absorvância, para quase todos os surfactantes, que corresponde à lenta precipitação do complexo. O mesmo não ocorre para o complexo solubilizado em meio micelar de CTABr, que permanece inalterado durante os sessenta minutos de acompanhamento da cinética e até 24 horas após a solução ter sido preparada.

Um experimento semelhante para o complexo formado entre 8-HQ e Cd^{2+} , mostra que o mesmo também permanece perfeitamente solubilizado em meio micelar de CTABr por um período de 24 horas, conforme mostram as **Figura 25** e **26**, que correspondem à representação gráfica dos espectros de excitação obtidos logo após os reagentes terem sido misturados (**Figura 25**) e aos espectros de excitação obtidos após 24 horas (**Figura 26**).

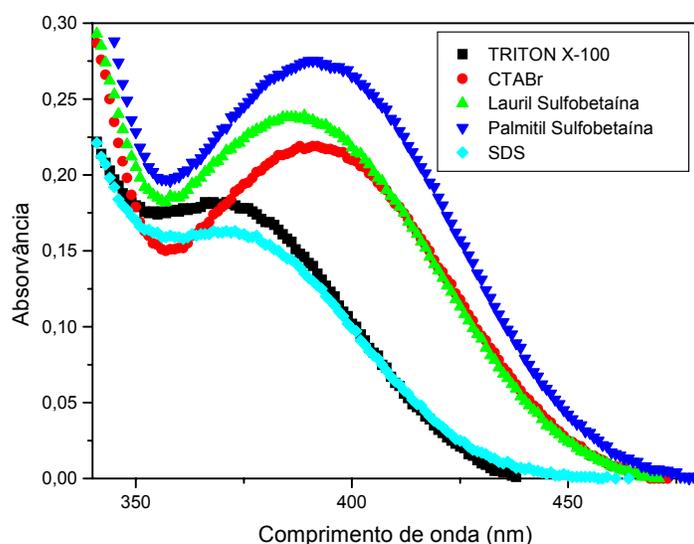


Figura 25. Representação gráfica dos espectros de excitação da 8-HQ $2,0 \times 10^{-4} \text{ mol L}^{-1}$ e Zn $5,0 \times 10^{-5} \text{ mol L}^{-1}$ em tampão Tris $0,01 \text{ mol L}^{-1}$ com os surfactantes, (■) TRITON X-100 $5,0 \times 10^{-2} \text{ mol L}^{-1}$ (●) CTABr $5,0 \times 10^{-2} \text{ mol L}^{-1}$ (▲) Lauril sulfobetaina $5,0 \times 10^{-2} \text{ mol L}^{-1}$ (▼) Palmitil sulfobetaina $5,0 \times 10^{-2} \text{ mol L}^{-1}$ e (◆) SDS $5,0 \times 10^{-2} \text{ mol L}^{-1}$.

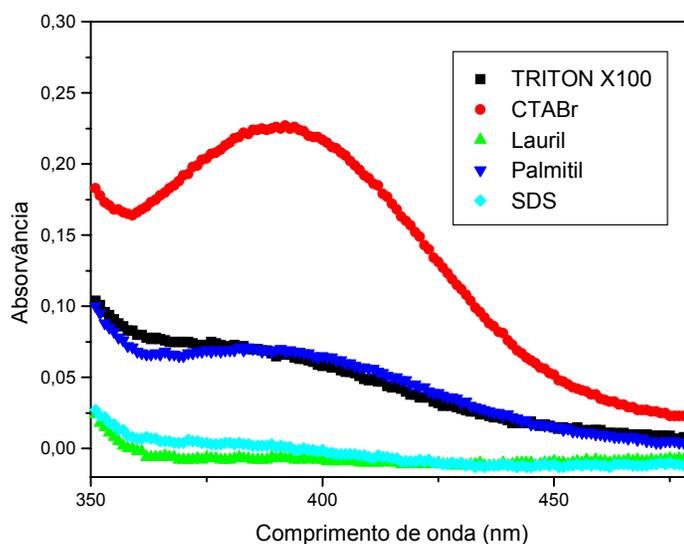


Figura 26. Representação gráfica dos espectros de excitação da 8-HQ $2,0 \times 10^{-4} \text{ mol L}^{-1}$ e Zn $5,0 \times 10^{-5} \text{ mol L}^{-1}$ em tampão Tris $0,01 \text{ mol L}^{-1}$ com os surfactantes, (■) TRITON X-100 $5,0 \times 10^{-2} \text{ mol L}^{-1}$ (●) CTABr $5,0 \times 10^{-2} \text{ mol L}^{-1}$ (▲) Lauril sulfobetaina $5,0 \times 10^{-2} \text{ mol L}^{-1}$ (▼) Palmitil sulfobetaina $5,0 \times 10^{-2} \text{ mol L}^{-1}$ e (◆) SDS $5,0 \times 10^{-2} \text{ mol L}^{-1}$.

O fato do meio micelar de CTABr conseguir manter o complexo solubilizado por mais tempo, talvez seja devido a um conjunto de efeitos que incluem a mudança da viscosidade observada experimentalmente, conforme descrito no item **V.7**, além da mudança de polaridade da fase micelar, que normalmente favorece a solubilização de complexos orgânicos.

V.7. Efeito da viscosidade na estabilização do complexo formado entre 8- HQ e Zn²⁺

Os resultados dos testes de viscosidade mostram que o complexo formado entre 8-HQ e Zn²⁺ quando solubilizado em meio micelar de CTABr ocasiona um aumento significativo na viscosidade relativa (η_r) (**Tabela 10**), este aumento da viscosidade deve ocorrer por haver uma maior interação entre o complexo e o meio micelar de CTABr, fato que não ocorre para os outros surfactantes.

Tabela 10. Valores de viscosidade relativa em diferentes concentrações de Zn^{2+} e 8-HQ.

[Surfactante] $0,1 \text{ mol.L}^{-1}$	[TRIS] mol.L^{-1}	[8-HQ] mol.L^{-1}	[Zn] mol.L^{-1}	η_r
CTABr	0,1	0	$1,4 \times 10^{-2}$	11,20
CTABr	0,1	$1,4 \times 10^{-2}$	$1,4 \times 10^{-3}$	4,32
CTABr	0,1	$1,4 \times 10^{-2}$	$7,0 \times 10^{-4}$	2,00
CTABr	0,1	$1,4 \times 10^{-2}$	$1,0 \times 10^{-4}$	1,39
CTABr	0,1	$1,4 \times 10^{-2}$	$5,0 \times 10^{-5}$	1,34
CTABr	0,1	$1,4 \times 10^{-2}$	0	1,30
CTABr	0,1	$8,4 \times 10^{-3}$	0	1,19
CTABr	0,1	$2,0 \times 10^{-4}$	0	1,15
CTABr	0,1			1,12
SDS	0,1	0	$1,4 \times 10^{-2}$	1,06

Pode-se perceber que, na ausência de zinco, a concentração de 8-HQ mostra um efeito muito pequeno sobre a viscosidade da solução. De fato, aumentando a concentração do ligante orgânico de $2,0 \times 10^{-4} \text{ mol.L}^{-1}$ para $1,4 \times 10^{-2} \text{ mol.L}^{-1}$ resulta num aumento de apenas aproximadamente 10% na viscosidade. Um efeito muito maior é observado quando é aumentada a concentração de Zn^{2+} , quer seja na presença ou na ausência do ligante orgânico, mostrando que quanto maior a concentração de Zn^{2+} no meio, maior é a viscosidade da solução. Este fato talvez seja explicado pela formação de complexos entre o íon Zn^{2+} e o contra íon do CTABr, o Br^- , que altere a viscosidade do meio. Ou seja, há uma modificação do contra-íon da micela e da espécie iônica de zinco presente em solução. O mesmo efeito de aumento de viscosidade não é observado na presença de SDS, que mostra uma viscosidade semelhante com aquela esperada para uma solução de SDS sem aditivos, sendo apenas 6% maior que a viscosidade da água.

Como em todo fenômeno de transferência de massa, o aumento da viscosidade deve diminuir a velocidade, por esta razão, a precipitação, que representa a transferência de massa da solução para o estado sólido deve dificultar significativamente o fenômeno de nucleação e crescimento de cristais. Assim, a viscosidade sendo maior favorece a permanência do complexo sem

precipitar. É importante salientar que ainda que a viscosidade macroscópica aumentou em torno de 11 vezes, é possível que a viscosidade microscópica, na fase micelar, seja muito maior ainda devido a forte interação entre zinco e o contra-íon brometo.

VI. CONCLUSÕES

Com base nos resultados apresentados, verificou-se que a técnica de espectroscopia de fluorescência em meio micelar mostra-se eficiente e de fácil aplicabilidade, e pode-se chegar a algumas conclusões:

1. A formação do meio micelar é muito importante porque permite a solubilização do complexo formado entre 8-HQ com Zn^{2+} e Cd^{2+} , o qual precipitaria imediatamente na ausência de surfactante;
2. Nas condições experimentais de análise das amostras ($[8-HQ] = 2,0 \times 10^{-4} \text{ mol L}^{-1}$ e $[Me^{2+}]$ na faixa de 0 até $6,0 \times 10^{-5} \text{ mol L}^{-1}$), os resultados indicam que o surfactante CTABr, é o que atua de forma mais favorável na solubilização do complexo formado entre metal e 8-HQ, tanto no caso do zinco quanto do cádmio, e nenhuma precipitação dos complexos pode ser observada até 24 depois.
3. Os resultados dos testes de viscosidade mostram que adição de Zn^{2+} afeta significativamente a viscosidade macroscópica das soluções de CTABr, um fato que pode ser responsável pela estabilidade do complexo em solução;
4. É possível utilizar o fenômeno de realce da fluorescência da 8-HQ, na presença de meio micelar para determinação de Zn^{2+} e Cd^{2+} e utilizando como exemplo o CTABr pode-se calcular que o LD é equivalente a 2,39 nano moles de Zn^{2+} e de 2,74 nano moles de Cd^{2+} . Em ambos os casos, em sistemas cromatográficos onde as amostras são injetadas em microlitros e analisadas em volumes muito pequenos, e/ou pré-tratadas em coluna de pré-concentração, o método pode atingir pico moles de metais.

VII. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

ANASTAS, P.T.; WAENER.C. **Green Chemistry. Theory and Practice** Oxford University Press. U.K. 1998 135p.

ARANA, L. V., **Princípios químicos da qualidade da água em Aqüicultura**, Editora da UFSC, Florianópolis, 1997.

ATTWOOD, D.; ELWORTHY, P. H.; KAYNE, S. B.; J. Phys.Chem. **1970**, 74, 3529.

BEBER, ROSANE C., **Inorporação e reatividade diferencial de ânions em micelas zwitteriônicas de sulfobetâinas**, Tese de doutorado, Universidade Federal de Santa Catarina, Florianópolis, SC, 2005.

BENATO, V. S., **Produtos químicos descartados no mar de Florianópolis e pesquisa de metais pesado em tecido muscular de tainhota e parati (gênero Mugil)**, Dissertação de mestrado, Universidade Federal de Santa Catarina, Florianópolis, 1999.

BERTOCINI, CÉLIA R.A., **Efeito de aditivos em micelas catiônicas**, Dissertação, UFSC, Florianópolis SC, 1989.

BRINCHI, L.; DIONIGI, C.; PROFIO, P.; GERMANI, R.; SAVELLI, G. E BUNTON, C. A. Effects of amine oxide surfactants on reactions of bromide and hydroxide ions methylnaphthalene-2-sulfonate. **J. Colloid Interface Sci.**, v. 211, p. 179-184, 1999.

BUNTON;C.A; NOME, F; QUINA, F.H E ROMSTED, L.S. Ion Binding and Reactivity at Charged Aqueous Interfaces Aqueous. **Research**, 24,1991, 357.

CASTRO, E., N., F., **Química na Sociedade**. 2ª ed., Ed. Universidade de Brasília, 2000.

CLAUDINO, A., **Determinação de íons de metais traço (Cu²⁺, Pb²⁺ e Zn²⁺) Por Voltametria De Redissolução Em Água Do Mar Da Baía Norte Da Grande Florianópolis**, Dissertação de mestrado, Universidade Federal de Santa Catarina, Florianópolis, SC, 2003.

DEVOL, I., BARDEZ, E. Complexation of Al(III) by 8-Hydroxyquinoline and Drastic Fluorescence Enhancement in Reverse Micelles. **Journal of colloid and Interface science**, 200, p 240-248, 1998.

DYE B. W.; BRETTHAUER ERICH, SEIM.; *et al.* **Fluorometric Determination of Selenium in Plants and animals whit 3,3`-Diaminobenzidine**. **Analytical Chemistry** University of Nevada, University Station, Reno, Nev. V. 35, N. 11, p.1687-1692, October **1963**.

ELWORTH, P.H.; FLORENCE, T.A. MACFARLANE,C.B.; **Solubilization by surface active agentes and its applications in chemistry and the biological sciences**, London, Ed. Chapman & Hall, 1968.

ESCABIPEREZ, J.R.; NOME, F.; FENDLER, J.H. Energy-Transfer In Micellar Systems - Steady-State And Time Resolved Luminescence Of Aqueous Micelle Solubilized Naphthalene And Terbium Chloride. **Journal of the American Chemical Society**, 99, 7749-7754, 1977.

FENDLER, E. J.; FENDLER, J. H.; **Catalysis in micellar and macromoléculas systems**, **Academic Press**, 1975, 516p.

FENDLER, E. J.; DAY, C. L.; FENDLER, J. H.; **J. Phys. Chem.** **1972**, 76, 3529.

FENDLER J. H. **Membrane Minetic Chemistry**, Willey New YorK 1982.

FIEDLER, H.D.; WESTRUP, J.L.; SOUZA, A.J.; PAVEI, A.D.; CHAGAS, C.U.; NOME, F. Cd(II) determination in the presence of aqueous micellar solution. **TALANTA**. **2004**, *64*, 190.

FRITZEN, M. B.; SOUZA, A. J.; SILVA, T. A. G. SOUZA, I.; NOME, R. A.; FIEDLER, H. D.; NOME F. Distribution of Hexavalent Cr species between the Clay Mineral Surface-Water Interface. **Journal of Colloid and Interface Science**, 1-7, 2006 (available online at www.sciencedirect.com).

GEER, R. D.; EYLAR, E. H.; ANACKER, E. W.; *J. Phys. Chem.* **1971**, *75*, 369.

GRACIANI, M. D. M.; RODRIGUEZ A.; MUÑOS, M. E MOYÁ, M. L. Study of the reaction 2-(p-nitrophenyl)ethyl bromide + OH⁻ in sulfobetaine aqueous micellar solutions in the presence and absence of added salts. **J. Colloid Interface Sci.**, v. 235, p. 260-264, 2001.

HANAOKA, K.; KIKUCHI, K.; KOJIMA, H.; URANO, Y E NAGANO, T. **J. Am. Chem. Soc.** 2004. *126*, 12470.

HINZE,W.L.; MITTA K.L. **Solution Chemistry of Surfactants**, vol.1, Plenum Press, New YorK. 1979. 79-127.

HINZE, W.L. ACS Colloid and Surface Science Symposium. **Nanoparticles and Colloids in Analysis**. 12-15 de Junho, 2005. Potsdam, NY.

KLAASSEN, C. D. Metais pesados e seus antagonistas. In Gilman, A. G., et all, **As Bases Farmacológica da Terapêutica**, 7 ed., Editora Guanabara, 1987.

LAKOWICZ J.R. **Principles of Fluorescence Spectroscopy** Plenum Press New York 1983.

LOCATELLI, C., TORSI, G., Voltammetric trace metal determinations by cathodic and anodic stripping voltammetry in environmental matrices in the presence of mutual interference. **J. of Electroanalytical Chemistry**, v. 509, p.80-89, 2001.

LOCATELLI, C., TORSI, G., Determination of Se, As, Cu, Pb, Cd, Zn and Mn by anodic and cathodic stripping voltammetry in marine environmental matrices in the presence of reciprocal interference. Proposal of a new analytical procedure. **Microchemical Journal**, v. 65, p.293-303, 2000.

MANIASSO, N., Ambientes micelares em química analítica. **Química Nova**, v. 24, n. 01, p. 87-93, 2000.

MUKERJEE, P.; MYSELS, K. J.; **Critical micelles concentration of aqueous surfactant systems**, Washington: U.S. Gov. Printing Office, Superintendent of Documents, 1971. (NSRDS-NBS 36.)

NEVES, MARIA F. S., **Propriedades físico-químicas de detergentes catiônicos**. Dissertação de Mestrado, Universidade Federal de Santa Catarina, Departamento de Química, Florianópolis, SC, 1987.

NIMIS, P. L., et all, Bryophytes as indicators of trace metals pollution in the River Brenta (NE Italy), **The Science of the Total Environment**, v. 286, p.233-242, 2002.

PELIZZETTI, E.; PRAMAURO, E.; *Anal. Chim. Acta* **1985**, 169, .

PORTER, M. R.; Recent developments in the analysis of surfactants. Critical reports on applied chemistry, N.Y., vol. 32 Ed. **Elsevier Science Ltde**, 1978.

ROSEN, M. J.; **Surfactants and interfacial phenomena**, N.Y., Ed. Wiley-Interscience, 1978. Acta 1989, 219, 295.

ROHATGI-MUKHERJEE, K.K. **Fundamentals of Photochemistry**, New Delhi. New Age International Limited, Publishers. 1992.

SANTOS, E., **Contribuição ao estudo de poluição ambiental por metais pesados: a área do banhado da Estiva dos Pregos**, Dissertação de mestrado, Universidade Federal de Santa Catarina, Florianópolis, SC, 1992.

SAPELLI, E.; FIEDLER, H.D., e NOME, F., **Efeito de Surfactantes na Complexação de 8-Hidroxiquinolina e Zn(II)**. 28^a Reunião Anual da Sociedade Brasileira de Química 2005.

SAUNDERS, L.; Biochim.Biophys. Acta 1966, 125, 70.

TESSIER A., D.R. TURNER (EDS), **Metal Speciation and Bioavailability in aquatic Systems**, IUPAC, Wiley, Oxford, UK, 1995.

TSALEV, D. L.; ZAPRIANOV, Z. K. **Atomic Absorption Spectrometry in Occupational and Environmental Health Significance**. USA : VI Analytical Significance. CRC Press., 1983. 251 p.

VARGAS, L. V. **Determinação Fluorimétrica de Pb(II) em Sistemas Aquáticos. Aplicação do método para análise de outros metais e estudos de biodisponibilidade**. Dissertação de Mestrado Curso de Pós-Graduação em Química, UFSC, Florianópolis, SC, **2004**.

VARGAS, L.V.; SAND, J.; BRANDÃO, T.A.S.; FIEDLER, H.D.; QUINA, F.H.; NOME, F. Determination of environmentally important metal ions by

fluorescence quenching in anionic micellar solution. **The Analyst**, 130, 242, 2005.

WEEST, C. C.; HARWELL, J. H.; Environ. Sci. and Techn. **1992**, 26, 2324.

WESTRUP, J.L., FRITZEN, M.B., SOUZA, A.J., BEDENDO, G.C., NOME, F., FIEDLER, H.D., 2005. Sorption and Desorption of Cd(II) at the Clay Particle-Water Interface and its Relevance to the Distribution of Metal Ions in Natural Systems. **J. Braz. Chem. Soc.** V. 16 No.5, 982-987 .

WEERS, J. G.; RATHMAN, J. F.; AXE, F. U.; CRICHLLOW, C. A.; FOLAND, L. D.;SCHEUING, D. R.; WIERSEMA, R. J. E ZIELSKE, A. Effects of intramolecularcharges separation distance on the solutions properties of betaines and sulfobetaines. **Langmuir**, v. 7, n. 5, p. 854-867, 1991.

WILLARD.H.L.; MERRIT, JR.; DEAN J. **Analise Instrumental** 2^a ed. Fundação Colouste Gulbenkian Lisboa 1974 986 p.