

### 3 Materiais e Métodos

#### 3.1. Reagentes, Materiais e soluções

##### 3.1.1. Reagentes, Materiais

Todas as soluções aquosas foram preparadas com água ultrapurificada (resistividade abaixo de  $18 \text{ M}\Omega \text{ cm}^{-1}$ ) obtida de um ultrapurificador de água modelo Master System 1000 da marca GEHAKA (SP, Brasil). Os hidrocarbonetos policíclicos aromáticos nitrogenados (HPAN): indol 99%, 2 metil indol 98%, 3 metil indol 98%, 7 metil indol 97%, 7,8 benzoquinolina 97%, quinolina 99% e acridina 98% foram adquiridos da Acrös Organics (NJ, EUA).

Nos estudos que envolveram a acidificação ou a alcalinização das soluções de interesse, foram utilizados o ácido nítrico e o hidróxido de sódio, ambos da Merck (Darmstadt, Alemanha).

Os sais inorgânicos utilizados no preparo das soluções de átomos pesados foram de várias procedências. Nitrato de tálio (I) 99,5 % foi da Acrös Organics; cloreto de cádmio monohidratado 99 %, nitrato de chumbo (II) 99 %, cloreto de mercúrio(II) 99,5 % e iodeto de potássio 99 %, todos da Vetec (RJ, Brasil) e nitrato de tório tetra hidratado 99 % da Carlo Erba (Milão, Itália).

O surfactante, utilizado como modificador de substrato sólido, foi o dodecil sulfato de sódio (SDS) 99% e o solvente utilizado em todo o trabalho foi o etanol P.A. ambos da Merck. Nos estudos de avaliação da influência do pH da solução contendo o analito, utilizou-se o tampão Britton-Robinson ( $0,04 \text{ mol L}^{-1}$ ), em cujo preparo utilizou-se ácido orto-fosfórico, ácido acético glacial, ácido bórico e hidróxido de sódio, todos da Merck.

O nitrogênio (99,9% da AGA) foi utilizado com a finalidade de eliminar o oxigênio do compartimento de amostra do espectrômetro de luminescência, antes e durante a medição de fosforescência. Para eliminar resíduos de oxigênio presentes no gás nitrogênio de procedência comercial, foi utilizado um sistema de desoxigenação (Figura 4). Esse sistema consistiu de dois frascos lavadores contendo solução de metavanadato de amônio e de ácido clorídrico (Merck), e

no fundo de cada frasco, uma pequena massa de amalgama feita com zinco em pó (Vetec, Brasil) e mercúrio metálico (F. Maia, Brasil)<sup>58</sup>. A eliminação do oxigênio, desse modo, ocorreu pela oxidação do íon metavanadato. Após a passagem do gás nitrogênio nestas duas soluções, o fluxo foi direcionado para duas colunas de sílica (Vetec) de modo que o gás passasse em direção vertical e contra a força da gravidade (Figura 4). Esse procedimento serviu para a remoção da umidade residual.

Micropipetas automáticas de volumes reguláveis de 1 a 10  $\mu\text{L}$  da Brand (Wertheim, Alemanha) e da Wheaton (NJ, EUA) foram utilizadas para a aplicação das soluções de analitos, soluções de sais de átomos pesados e de solução de surfactante nos substratos de celulose. Uma micropipeta regulável de 100 a 1000  $\mu\text{L}$  Brand e balões volumétricos de 10 mL foram usados no preparo de soluções. Tanto as micropipetas quanto os balões volumétricos foram calibrados em um laboratório integrante da Rede Brasileira de Calibração - RBC (Laboratório de caracterização de fluidos – LCF/PUC-Rio), conforme certificados nos anexos I, II e III.

O substrato sólido utilizado para indução de fosforescência foi o papel de filtro Whatman 42 da Whatman Ltda (Kent, Inglaterra), sendo previamente tratado para a redução do sinal de fundo<sup>44</sup>.

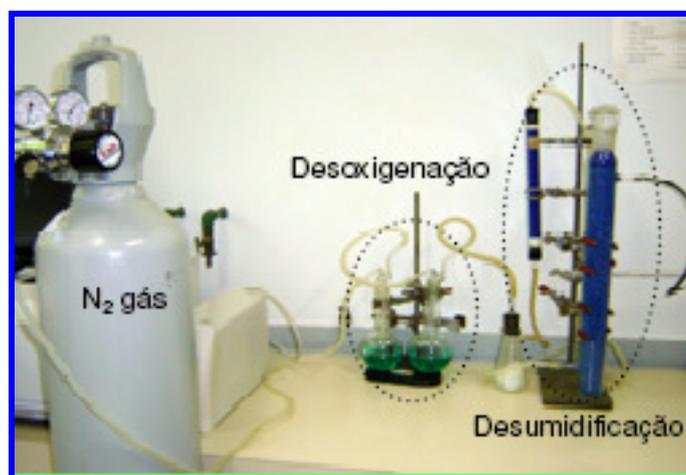


Figura 4: Sistema para desoxigenação e secagem do nitrogênio

### 3.1.2. Soluções

Soluções-estoque aquosas dos sais inorgânicos de átomos pesados foram preparadas nas seguintes concentrações: iodeto de potássio  $2,0 \text{ mol L}^{-1}$ ; nitrato de tálio  $1,0 \text{ mol L}^{-1}$ ; cloreto de cádmio  $0,5 \text{ mol L}^{-1}$ ; nitrato de chumbo  $0,25 \text{ mol L}^{-1}$ ; cloreto de mercúrio  $0,20 \text{ mol L}^{-1}$ ; e nitrato de tório  $0,25 \text{ mol L}^{-1}$ . As concentrações estudadas se basearam em estudos realizados no laboratório LEEA da PUC e em informações obtidas na literatura.<sup>44,50,54</sup> Quando necessário, as soluções foram diluídas com água ultrapurificada.

Soluções-tampão Britton-Robinson<sup>59</sup>, ajustadas no intervalo de pH entre 2 e 12, foram usadas na preparação das soluções de trabalho com valores de pH específicos. As soluções-tampão foram preparadas a partir da mistura, em quantidades iguais, das soluções de ácido fosfórico  $0,04 \text{ mol L}^{-1}$ , ácido acético  $0,04 \text{ mol L}^{-1}$  e ácido bórico  $0,04 \text{ mol L}^{-1}$ . O pH final das soluções foi ajustado com solução de hidróxido de sódio 4% m/v.

Nas soluções de analito com pH ajustado por meio de solução-tampão, este último foi incorporado de forma a substituir a água do sistema de solventes. O volume substituído foi de 50% v/v, do volume total da solução de analito. As soluções-estoque ( $1 \times 10^{-3}$  e  $1 \times 10^{-2} \text{ mol L}^{-1}$ ) de indol, 2 metil indol, 3 metil indol, 7 metil indol, quinolina, 7,8 benzoquinolina e acridina foram preparadas em etanol P.A. e utilizadas para obter soluções de menor concentração com a mistura etanol:água 50:50% v/v ou etanol/solução tampão Britton-Robinson. Essas soluções foram armazenadas por no máximo uma semana.

## 3.2. Instrumentação

### 3.2.1. Sistema de lavagem dos papéis

O sistema de tratamento do substrato de papel consistiu em duas partes: um sistema de lavagem por extração com água quente em Soxhlet (Figura 5a) e um sistema de secagem com um spot de lâmpada infravermelha de 150 W (Phillips, Brasil), como verificado na Figura 5b. Após as etapas de lavagem e de secagem, os papéis foram cortados em círculos de 18 mm de diâmetro.

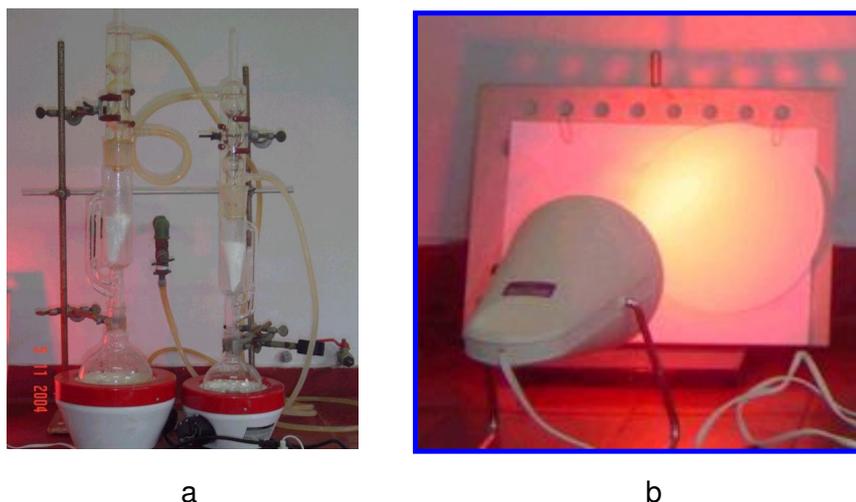


Figura 5: (a) Sistema para lavagem e (b) secagem do substrato de papel.

### 3.2.2. Reator fotoquímico

O reator fotoquímico, usado na etapa de redução de sinal de fundo do substrato de celulose, foi montado em uma carcaça de estufa conforme mostrado na Figura 6a. O reator tinha um conjunto de seis lâmpadas de vapor de mercúrio (de 6 W cada) disposto na meia-lua superior da cavidade interna do aparato. As lâmpadas de mercúrio utilizadas foram as comercialmente disponíveis para esterilização bacteriológica com emissão mais intensa em 253 nm e na faixa entre 296-313 nm. Durante a operação a temperatura interna do reator não ultrapassou 30 °C.

Após a lavagem e corte dos papéis os mesmos foram irradiados por 2 h conforme apresentado na Figura 6b. O tempo de irradiação foi pré-definido<sup>15</sup> e controlado por meio de um cronômetro digital com alarme.



Figura 6: (a) Reator fotoquímico e (b) detalhe dos papéis sendo irradiados.

### 3.2.3. Espectrômetro de luminescência

Os espectros de fosforescência foram obtidos em um espectrômetro de luminescência comercial da Perkin Elmer modelo LS55 (Perkin Elmer, CT, EUA). Este equipamento possuía (i) lâmpada pulsátil do tipo descarga de xenônio de 20 kW com 8  $\mu$ s de duração de pulso; (ii) um tubo fotomultiplicador R928 capaz de detectar radiação até em torno de 900 nm; (iii) monocromadores do tipo Monk-Gillieson cujas faixas espectrais variam de 200 a 800 nm para o de excitação e de 200 a 900 nm para o de emissão. As bandas espectrais de passagem de entrada e de saída (passíveis de ajuste no intervalo de 1 a 15 nm) foram usadas em ajuste fixo de 10 nm.

O sistema de detecção do instrumento possibilitou o ajuste temporal de aquisição de sinal (tempos de atraso e de abertura de detecção ajustáveis), discriminando o sinal de maior tempo de vida (fosforescência) do ruído de tempo mais curto (espalhamento e fluorescência). Os valores típicos usados nesse trabalho foram de 3 ms para o tempo de abertura e 0,05 ms para o tempo de atraso. Além disso, foi utilizada a velocidade de varredura de 1500 nm min<sup>-1</sup> e bandas espectrais de passagem de excitação e emissão de 10 nm. Um esquema simplificado do sistema óptico do equipamento é mostrado na Figura 7.

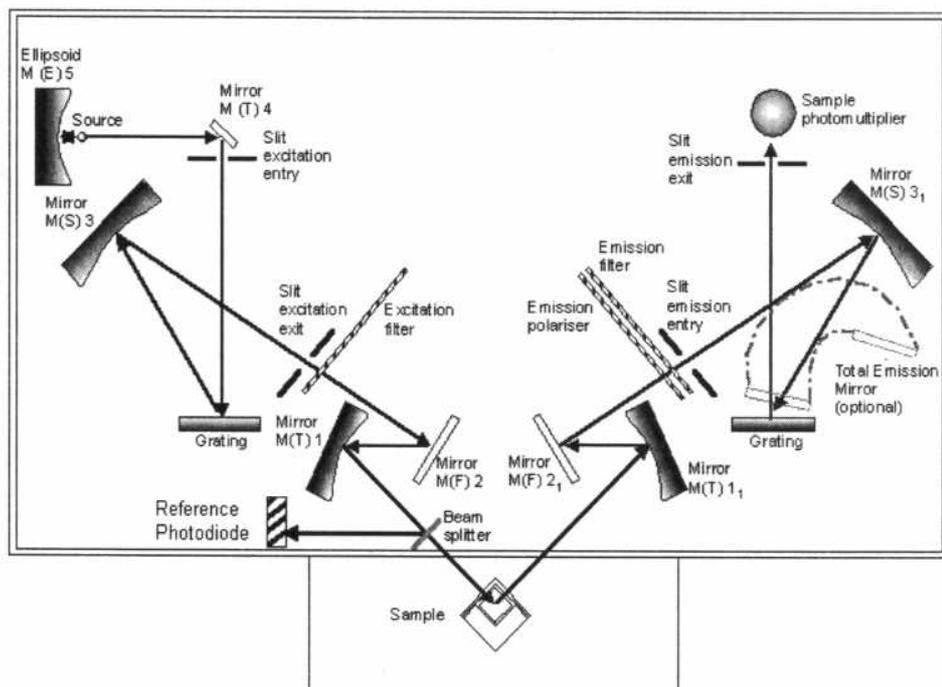
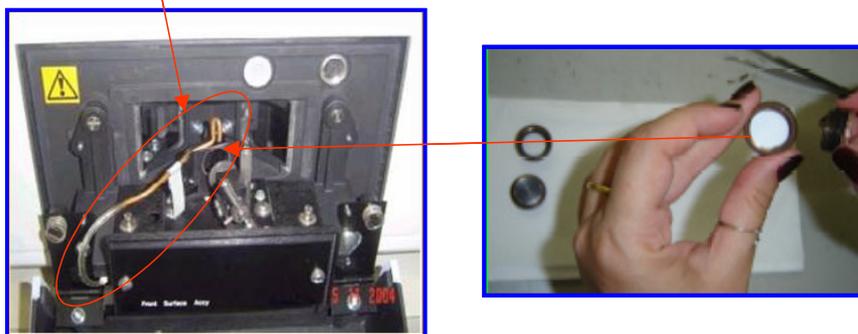


Figura 7: Esquema óptico do espectrofóscóforo LS55 – Perkin Elmer.

Medições de fosforescência foram realizadas em substrato sólido com a utilização de um aparato de amostragem em superfície sólida. Este aparato foi acoplado ao compartimento de amostra do espectrofotômetro de luminescência, como mostrado na figura 8a. Para que fosse possível fazer a purga da atmosfera em torno do substrato, um tubo para insuflar nitrogênio foi adaptado de modo a permitir um fluxo contínuo de nitrogênio no centro do substrato de celulose, onde foram depositadas as soluções. A Figura 8b mostra o suporte onde o substrato sólido é colocado antes do acoplamento no aparato de superfície sólida.

Tubo para carrear nitrogênio



a

b

Figura 8: (a) Aparato de medição em superfície sólida e (b) Detalhe da colocação do substrato de papel na cela antes da colocação do mesmo no aparato de substrato sólido.

### 3.2.4. Outros equipamentos auxiliares

Todas as pesagens foram realizadas em balança analítica (0,01 mg – modelo AT 261), fornecida pela Mettler Toledo (OH, EUA), calibrada pela RBC, conforme certificado no anexo IV. Um banho ultra-sônico, modelo USB124, de potência 40 W, (CTA do Brasil, São Paulo, Brasil) foi utilizado para auxiliar a dissolução de alguns dos sais de átomos pesados e do modificador de superfície.

Um sistema sob vácuo (Figura 9) foi utilizado para a secagem dos substratos de papel após a deposição das soluções analito e demais soluções (surfactante, sal de átomo pesado, etc). O sistema consistiu em um dessecador de polietileno coberto com papel alumínio, de modo a impedir que os substratos ficassem expostos à luz ambiente. Esse dessecador foi acoplado a uma bomba de vácuo modelo 820 da Fisatom, sendo um frasco Erlenmeyer instalado entre o dessecador e a bomba (armadilha de segurança para coletar refluxo de óleo da bomba). O vácuo foi medido por meio de um manômetro, sendo a pressão interna menor ou igual a 25 Pol Hg.



Figura 9: Sistema de secagem a vácuo.

Para as medições de pH, um pHmetro modelo MPA 210 versão 2.3, Tecnopon (São Paulo, Brasil) foi utilizado juntamente com um eletrodo selado de membrana de vidro conjugado com eletrodo de referência de Ag/AgCl. O equipamento foi calibrado com soluções-tampão de pH 4,00 e 7,00, fornecidas pela Merck.

### **3.3. Procedimentos**

#### **3.3.1. Procedimentos gerais**

Todo material de vidro foi previamente lavado com água corrente, sendo então imerso em solução de ácido nítrico 10% v/v por um período mínimo de 24 horas. Esse material foi enxaguado com água destilada e posteriormente com água ultrapurificada, seco e mantido em recipientes hermeticamente fechados.

#### **3.3.2. Procedimento de preparação de substrato de celulose de baixo sinal de fundo**

Para reduzir o sinal de fundo dos substratos de celulose, estes foram lavados com água destilada em extrator Soxhlet por um período mínimo de 2 h. Após lavagem, o papel foi seco sob lâmpada de infravermelho por aproximadamente 30 min. Em seguida, o papel foi cortado em círculos de 18 mm de diâmetros e foram expostos à radiação ultravioleta em um reator fotoquímico por aproximadamente 2 h<sup>44</sup>.

### 3.3.3. Procedimento geral para medição do sinal fosforescente

Para a realização das medições fosforescentes em substrato de celulose, as soluções de analito e de coadjuvantes foram depositadas em volumes de 5  $\mu$ L (uma única adição ou em múltiplas adições). As seguintes soluções foram adicionadas, necessariamente nesta ordem: solução de SDS (quando necessário), solução de sal de metal pesado (quando utilizado) e solução de amostra ou branco. Todas as soluções foram depositadas no substrato por meio de uma micropipeta. As adições foram realizadas no centro do substrato sólido cuja centralização foi feita com o auxílio de uma planilha marcada (Figura 10).

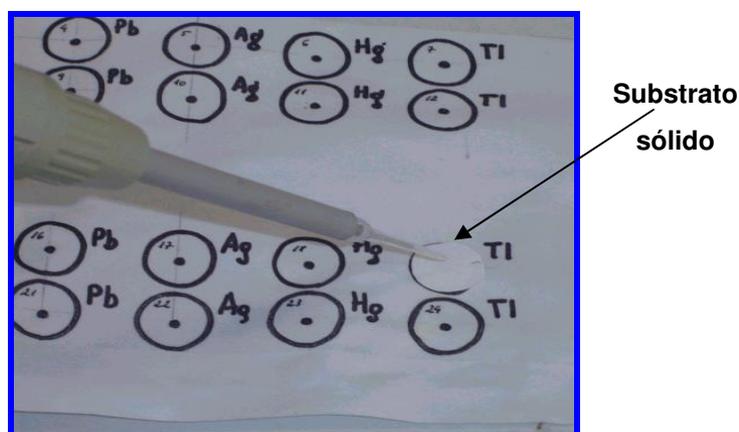


Figura 10: Aplicação das soluções no substrato sólido

Em seguida, os substratos sólidos foram colocados para secar no dessecador sob vácuo. No momento das medições, cada substrato foi colocado em um suporte para leituras de substratos sólidos (Figura 8), o qual foi acoplado ao aparato de medições em superfícies sólidas. Em seguida, a atmosfera ao redor do substrato foi purgada com nitrogênio (seco e desoxigenado) por um período de aproximadamente 2 min. O fluxo de nitrogênio foi direcionado na posição onde o analito/soluções foi depositado. Após este intervalo de tempo e, ainda sob o fluxo de nitrogênio, foram realizadas as medições de fosforescência.