

# **Estudo de Algumas Variáveis do Método de Especificação Simultânea de Cr(III) e Cr(VI) Utilizando Espectrofotometria UV-Vis e Cromatografia de Íons**

**Julianna Ferreira de Almeida Prata**

Bolsista de Iniciação Científica, Licenciatura em Química, UFRJ

**Manuel Castro Carneiro**

Orientador, Químico, D. Sc.

**Maria Inês Couto Monteiro**

Co-orientador, Química, D. Sc.

## **Resumo**

No presente trabalho, foram estudadas algumas variáveis de um método recentemente desenvolvido em nosso laboratório para determinação simultânea de Cr(III) e Cr(VI) em efluentes e águas contaminadas utilizando espectrofotometria UV-Vis e análise multicomponente (MCA). O estudo teve como finalidade melhorar sua sensibilidade analítica ou até mesmo desenvolver um outro método aplicando cromatografia iônica. Adição e recuperação das espécies de cromo em soluções-padrão usando celas de 1 e 10 cm revelaram que o aumento do caminho ótico não proporcionou uma melhoria na sensibilidade devido ao aumento do ruído. Também, o estudo cromatográfico confirmou que DPC e Cr(III) não são retidos pela coluna aniônica, como esperado; Cr(III)-EDTA não apresentou forte interação com a coluna, e houve sobreposição dos picos obtidos com Cr(VI) e EDTA entre 16 e 22 min, impossibilitando a implantação de um novo método analítico aplicando cromatografia iônica.

## **1. Introdução**

Diversas espécies são essenciais e outras são prejudiciais para os organismos vivos, dependendo da concentração e do estado de oxidação. Os dois principais estados de oxidação do cromo, Cr(III) e Cr(VI), presentes nas águas naturais, diferem significativamente nas propriedades químicas, geoquímicas, toxicológicas e biológicas. Enquanto Cr(III), dentro de uma estreita faixa de concentração, é uma espécie essencial para os mamíferos, atuando nos mecanismos de manutenção da glicose, lipídeos e proteínas, Cr(VI) é conhecido por seus efeitos tóxicos nos seres humanos (Monteiro et al., 2002). Na literatura existem diferentes métodos para determinação de Cr total e Cr(VI).

Vários métodos são utilizados para a especificação de cromo em águas e efluentes. O método colorimétrico mais usado para a determinação de Cr total e Cr(VI) é baseado na reação do Cr(VI) com difenilcarbazida (DPC). A reação ocorre na faixa de pH de 1,6 a 2,2, e a absorvância do complexo vermelho-violeta formado é medida em 540 nm (Clesceri et al, 1998). A espécie Cr(III) não reage com DPC (Pflaum & Howick, 1956). Recomenda-se que o reagente DPC seja adicionado antes da acidificação (Milacic et al., 1992), para evitar que as espécies de Cr(III) sejam solubilizadas e liberadas de complexos ou de partículas coloidais e também, para evitar a redução do Cr(VI) pelos compostos orgânicos presentes na amostra. Para a determinação de Cr(III), é utilizado um método baseado na formação de um complexo extremamente estável com ácido etilenodiaminotetracético (EDTA)

(Gómez et al., 2006). Vários autores propuseram métodos espectrofotométricos seqüenciais para a determinação de Cr(III) e Cr(VI), usando difenilcarbazida (DPC) como reagente de derivatização do Cr(VI) (Mulaudzi et al., 2002). Um dos métodos publicados consistiu de duas etapas: na primeira etapa, Cr(III) foi complexado com EDTA e determinado por espectrofotometria, e na etapa seguinte, Cr(VI) foi transformado em cromato por adição de solução de NaOH, na presença do complexo Cr(III)-EDTA, e determinado por espectrofotometria, utilizando análise multicomponente (MCA). Foram obtidos os limites de detecção de  $8 \text{ mg L}^{-1}$  para Cr(III) e de  $2 \text{ mg L}^{-1}$  para Cr(VI) (Gómez et al., 2006). Recentemente foi proposto em nosso laboratório um método de determinação simultânea de Cr(III) e Cr(VI) em efluentes e águas contaminadas por espectrofotometria e MCA (Soares et al., 2009). O método consistiu na complexação de Cr(III) com EDTA e reação de Cr(VI) com DPC. Com uma cela com 1 cm de caminho ótico, foram obtidos limites de detecção para Cr(III) de  $0,3 \text{ mg L}^{-1}$  e para Cr(VI) de  $0,003 \text{ mg L}^{-1}$ .

## 2. Objetivo

O presente trabalho teve como objetivo aumentar o caminho ótico da cela de absorção (de 1 para 10 cm) com a finalidade de melhorar a sensibilidade do método proposto por Soares et al. (2009) e também, estudar o comportamento cromatográfico das espécies de cromo na presença ou não de EDTA ou DPC a fim de se propor outro método analítico.

## 3. Experimental

### 3.1 Reagentes

Os reagentes utilizados foram EDTA (sal dissódico etilenodiaminotetracético dihidratado) –  $\text{C}_{10}\text{H}_{14}\text{N}_2\text{O}_8\text{Na}_2 \cdot 2\text{H}_2\text{O}$ , ácido sulfúrico, etanol e difenilcarbazida ( $\text{C}_{13}\text{H}_{14}\text{N}_4\text{O}$ ) fornecidos pela Vetec Química Fina Ltda. As soluções-padrão estoque de concentração  $1000 \text{ mg L}^{-1}$  de Cr(III) e Cr(VI) foram fornecidas pela Merck. Para preparação de todas as soluções, utilizou-se água deionizada posteriormente purificada em um sistema Milli-Q e reagentes de grau analítico.

### 3.2. Preparo das soluções

As soluções foram preparadas conforme a descrição a seguir:

Solução-padrão de Cr (III): a solução padrão estoque de  $1000 \text{ mg L}^{-1}$  de Cr(III) foi utilizada tal qual fornecida pela Merck.

Solução-padrão de Cr(VI): a solução padrão de  $10 \text{ mg L}^{-1}$  de Cr(VI) foi preparada diluindo-se 1 mL da solução-padrão estoque de  $1000 \text{ mg L}^{-1}$  de Cr(VI) em 100 mL de água.

Solução de ácido sulfúrico  $0,45 \text{ mol L}^{-1}$ : Em um balão volumétrico de 1000 mL foram transferidos 100 mL de água. Em seguida, foram adicionados 25 mL de ácido sulfúrico concentrado com o auxílio de uma pipeta volumétrica. O volume foi completado com água.

Solução de EDTA: Cerca de 65 mg de EDTA foi transferido para um tubo de polipropileno graduado de 25 mL. Foram adicionados 25  $\mu\text{L}$  de ácido sulfúrico 10  $\text{mmol L}^{-1}$ . O tubo foi avolumado até 25 mL com água.

Solução estoque de DPC (difenilcarbazida): 250 mg de difenilcarbazida foram dissolvidos em etanol e transferidos para um balão volumétrico de 50 mL, em seguida foi colocado em um banho ultrassônico.

Solução de EDTA + Cr(III): 65 mg de EDTA foi transferido para um tubo de polipropileno graduado de 25 mL. Foram adicionados 25  $\mu\text{L}$  de ácido sulfúrico 10  $\text{mmol L}^{-1}$  e 750  $\mu\text{L}$  de uma solução padrão de 1000  $\text{mg L}^{-1}$  de Cr(III). O tubo foi avolumado até 25 mL com água.

Solução de DPC: Uma alíquota de 1 mL da solução estoque de DPC foi transferida para um tubo de polipropileno graduado de 25 mL. Foram adicionados 25  $\mu\text{L}$  de ácido sulfúrico 10  $\text{mmol L}^{-1}$ . O tubo foi avolumado até 25 mL com água.

Solução de DPC + Cr(VI): Uma alíquota de 1 mL da solução estoque de DPC foi transferida para um tubo de polipropileno graduado de 25 mL. Foram adicionados 750  $\mu\text{L}$  de solução de 10  $\text{mg L}^{-1}$  de Cr(VI). O tubo foi avolumado até 25 mL com água.

### 3.3. Instrumentação

Para aquecimento das amostras foi usada uma placa de aquecimento AMA 085 da Mistura Equipamentos para Laboratório. Todas as medidas de pH foram realizadas usando tiras de papel pH Merck.

Para determinação colorimétrica de Cr (III) e Cr (VI), foram utilizados um espectrômetro Agilent 8453 com detector UV-Vis e cubetas de fluxo contínuo de 62  $\mu\text{L}$  com caminho ótico de 1,0 cm e de 25 mL com caminho ótico de 10 cm. Nos cálculos foi utilizado o método avançado de análise multicomponente (UV-Visible ChemStation Versão A.10.0181) na faixa de 350 a 750 nm.

Para obtenção dos cromatogramas foi utilizado um cromatógrafo de íons Metrohm, com um amostrador automático acoplado a um sistema de diálise modelo 788 IC, um degasificador modelo 837 IC e um detector condutimétrico modelo 819 IC. Para a separação de ânions foi utilizada uma coluna METROSEP A Supp 5 250/4.0 com partícula de tamanho igual a 4,5  $\mu\text{m}$  e como eluente uma mistura de carbonato de sódio ( $\text{Na}_2\text{CO}_3$ ) 3,2  $\text{mmol L}^{-1}$  e hidrogenocarbonato de sódio ( $\text{NaHCO}_3$ ) 1,0  $\text{mmol L}^{-1}$ . As condições utilizadas foram: vazão de trabalho de 0,7  $\text{mL min}^{-1}$ ; pressão de trabalho de 10,8 MPa; temperatura da coluna de 35  $^\circ\text{C}$ ; alça de amostragem (loop) de 10  $\mu\text{L}$ ; tempo de corrida de 40 min e solução de ácido sulfúrico 100  $\text{mmol L}^{-1}$  utilizada como supressor químico.

Para dissolução do reagente DPC em etanol, foi utilizado um banho de ultrassom modelo 1400 USC Unique com potência de 120 W e frequência de 40 kHz.

### 3.4. Procedimento

#### 3.4.1. Procedimento para determinação espectrofotométrica de Cr(III) e Cr(VI)

##### Preparação das soluções-amostra

Foram transferidos, com o auxílio de pipeta automática, 250 µL de solução de H<sub>2</sub>SO<sub>4</sub> 0,45 mol L<sup>-1</sup>, para ajustar o pH em 4,5. Um excesso de EDTA foi adicionado (65 mg) para complexação de Cr(III). Foram adicionados volumes iguais de padrões de 1000 mgL<sup>-1</sup> de Cr(III) e 10 mgL<sup>-1</sup> de Cr(VI): 12,5 µL, 25,0 µL, 125,0 µL, 250,0 µL, 500,0 µL e 750,0 µL, e os tubos de polipropileno de 25 mL foram avolumados até 24 mL com água. Em seguida, a solução foi aquecida a 90° C por 5 min em banho-maria. Após arrefecimento à temperatura ambiente, foi adicionado 1 mL de solução de DPC para reagir com Cr(VI). A solução foi deixada em repouso por 5 min para o completo desenvolvimento da cor. A solução foi centrifugada durante 3 minutos a 3000 rpm. Uma alíquota foi transferida automaticamente pelo sistema Sipper para a cubeta de fluxo contínuo, e as medidas de absorvância foram lidas na faixa de 350 a 750 nm. A cubeta de 25 mL foi preenchida manualmente.

##### Cálculo das Concentrações de Cromo pela Análise Multicomponente

A determinação e quantificação simultânea das concentrações das espécies de Cr(III) e Cr(VI), realizada pelo software do espectrofotômetro, utiliza uma extensão da Lei de Beer para m componentes, chamada de Análise Multicomponente (MCA) (Equação 1):

$$A = \sum_{i=1}^m E_i c_i d \quad (1)$$

Onde:

**A** é a absorvância da mistura dos m componentes; **E<sub>i</sub>** é a absorvidade molar ou coeficiente de extinção dos i-ésimos componentes (L mol<sup>-1</sup>cm<sup>-1</sup>); **c<sub>i</sub>** é a concentração dos i-ésimos componentes (mol L<sup>-1</sup>) e **d** é o caminho ótico da cubeta (cm).

A Equação (1) foi aplicada para cada comprimento de onda no intervalo de 350 a 750 nm, em incrementos de 1 nm. A calibração foi realizada através da combinação das medidas de absorvância e suas derivadas para calcular os resultados de concentração dos analitos e os erros inerentes às medidas. Porém, em vez de calcular a função analítica como uma média, como ocorre na análise de monocomponente, determina-se a função multicomponente individual resultante para cada comprimento de onda.

A suposição básica na Análise Multicomponente está contida na equação da Lei de Beer (1) aplicada a cada comprimento de onda, acrescida de um erro estatístico provocado pelo uso dos valores experimentais (Equação 2).

$$f_j = \sum_{i=1}^m E_{ji} c_i d + \varepsilon_j \quad j = 1, \dots, n \quad (2)$$

Onde:

$m$  é o número de componentes;  $n$  é o número de comprimentos de onda;  $f_j$  é o resultado da função para  $j$ -ésimos comprimentos de onda;  $E_{ji}$  é a absortividade molar ou coeficiente de extinção molar dos  $i$ -ésimos componentes nos  $j$ -ésimos comprimentos de onda;  $\epsilon_j$  é o erro estatístico para o comprimento de onda  $j$ .

#### 3.4.2. Procedimento para separação cromatográfica de Cr(III) e Cr(VI).

As soluções individuais e combinadas de Cr(VI), DPC, DPC + Cr(VI), EDTA e EDTA + Cr(III) foram injetadas no cromatógrafo de íons utilizando uma coluna aniônica.

### 4. Resultados e Discussão

#### 4.1. Influência do tamanho do caminho ótico da cela de absorção na sensibilidade do método analítico

Estudos de adição e recuperação com soluções-padrão indicaram que a utilização de uma cubeta com maior capacidade (25 mL) e maior caminho ótico ( $d = 10$  cm) resultou em boas recuperações das espécies de cromo (94 a 108%) semelhantes àsquelas obtidas por Soares et al., 2009 (88 a 103%). Entretanto, devido ao maior ruído, os limites de quantificação (LQ) foram menores. Os LQs, definidos como as menores concentrações que apresentaram um desvio-padrão relativo menor que 6% ( $n = 3$ ), foram de  $0,95 \text{ mg L}^{-1}$  para Cr(III) e  $0,01 \text{ mg L}^{-1}$  para Cr(VI) utilizando a cubeta de 10 cm, enquanto que aqueles obtidos por Soares et al. (2009) foram de  $0,5 \text{ mg L}^{-1}$  para Cr(III) e  $0,005 \text{ mg L}^{-1}$  para Cr(VI).

Tabela 1. Recuperação simultânea de Cr(III) e Cr(VI) em solução aquosa pelo método espectrofotométrico

Concentração (mg/L) para $d = 10 \text{ cm}$		Recuperação		Concentração (mg/L) para $d = 1 \text{ cm}^*$		Recuperação %	
Cr(III)	Cr(VI)	Cr(III)	Cr(VI)	Cr(III)	Cr(VI)	Cr(III)	Cr(VI)
$0,95 \pm 0,06$	$0,0095 \pm 0,0006$	94	94	$0,50 \pm 0,01$	$0,005 \pm 0,001$	102	101
$5,69 \pm 0,06$	$0,0569 \pm 0,0006$	108	108	$5,0 \pm 0,1$	$0,050 \pm 0,001$	103	103
$10,43 \pm 0,04$	$0,1043 \pm 0,0004$	98	98	$10,0 \pm 0,04$	$0,100 \pm 0,0004$	98	98
$20,1 \pm 0,1$	$0,201 \pm 0,001$	103	103	$30,0 \pm 0,6$	$0,30 \pm 0,01$	100	91
$31,2 \pm 0,3$	$0,312 \pm 0,003$	103	103	$50,0 \pm 0,5$	$0,50 \pm 0,01$	97	88

\* valores obtidos por Soares et. al, 2009

#### 4.2. Determinação cromatográfica de Cr(III) e Cr(VI) na presença ou não de EDTA ou DPC

A Figura 1 apresenta os cromatogramas obtidos com as soluções de EDTA e EDTA + Cr(III). Observa-se que uma das espécies do EDTA elui em aproximadamente 4 min. Neste tempo (tempo morto), todas as espécies que não interagem com a coluna são eluídas, incluindo a espécie catiônica Cr(III). Foi observado também que a solução de EDTA + Cr(III) apresentou maior condutividade que a solução de EDTA no tempo de 4 min, mas o possível complexo aniônico  $[\text{EDTA-Cr(III)}]^-$  também não apresentou forte interação com a coluna, impossibilitando a quantificação Cr(III) através de sua reação com EDTA.

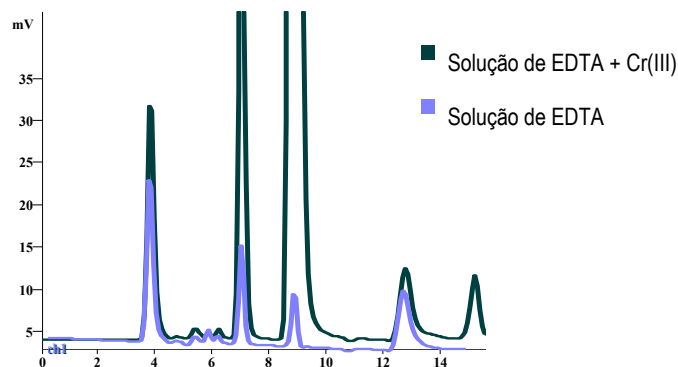


Figura 1. Cromatogramas obtidos com as soluções de EDTA e EDTA + Cr(III).

A Figura 2 (A) indica que a espécie hexavalente de cromo, como esperado para uma espécie aniônica, apresenta forte interação com a coluna, eluindo em cerca de 18 min. Também, podemos observar a sobreposição dos picos provenientes de Cr(VI) e de EDTA entre 16 e 22 minutos, impossibilitando a determinação de Cr(VI) na presença do complexante EDTA. Por outro lado, observa-se que na Figura 2 (B), o pico de Cr(VI) desaparece na presença de DPC, provavelmente devido à reação de oxidação-redução que ocorre entre DPC e Cr(VI).

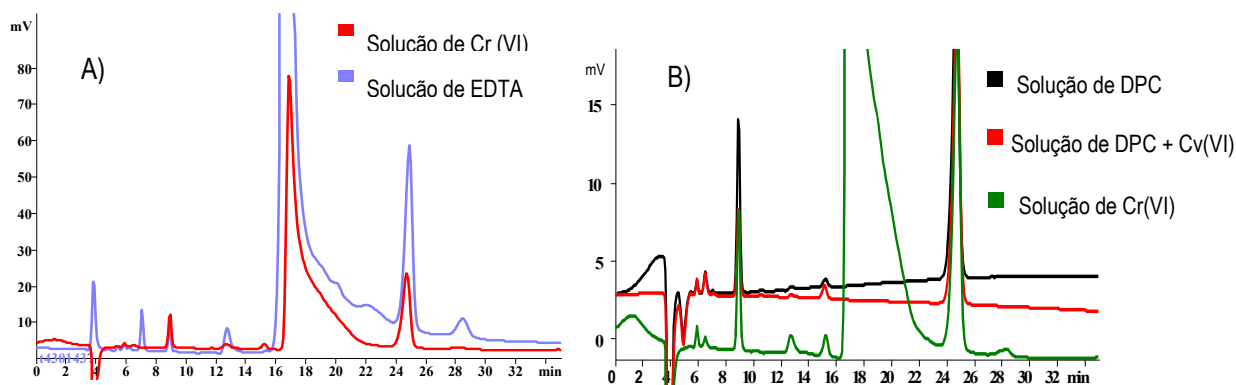


Figura 2. Cromatogramas obtidos com as soluções de EDTA e Cr(VI) (A) e com as soluções de DPC, Cr(VI) + DPC e Cr(VI) (B).

## 5. Conclusão

O aumento do caminho óptico (10 vezes) não proporcionou uma melhoria na sensibilidade do método por causa do aumento do ruído. Foram obtidos limites de quantificação de  $0,95 \text{ mg L}^{-1}$  para Cr(III) e  $0,01 \text{ mg L}^{-1}$  para Cr(VI). Também, o estudo cromatográfico confirmou que DPC e Cr(III) não são retidos pela coluna aniônica, como esperado; Cr(III)-EDTA não apresentou forte interação com a coluna, e houve sobreposição dos picos obtidos

com Cr(VI) e EDTA entre 16 e 22 min, impossibilitando a implantação de um novo método analítico aplicando a técnica de cromatografia iônica.

## 6. Agradecimentos

Agradeço ao Programa Institucional de Bolsa de Iniciação Científica - PIBIC /CNPq, por conceder a bolsa e aos que trabalham no Centro de Tecnologia Mineral – CETEM, e àqueles que ajudaram na execução deste artigo.

## 7. Referências Bibliográficas

Clesceri, L.S., Greenberg, A.E., Eaton, A.D. Standard Methods for the Examination of Water and Wastewater, 20th edition, USA, 3-66, 1998.

Gómez, V., Larrechi, M.S., Callao, M.P. **Chromium speciation using sequential injection analysis and multivariate curve resolution.** Anal. Chim. Acta., 571, 129-135, 2006.

Milacic, R., Stupar, J., Kozuh, N., Korosin, J. **Critical evaluation of three analytical techniques for the determination of chromium (VI) in soil extracts.** Analyst 117, 125-130, 1992.

Monteiro, M.I.C., Fraga, I.C.S., Yallouz, de Oliveira, A. V., N.M.M., Ribeiro, S.H. **Determination of total chromium traces in tannery effluents by electrothermal atomic absorption spectrometry, flame atomic absorption spectrometry and UV-visible spectrophotometric methods.** Talanta 58, 629-633, 2002.

Mulaudzi, L.V., van Staden, J.F., Stefan, R.I. **Determination of chromium(III) and chromium(VI) by use of a spectrophotometric sequential injection system.** Anal. Chim. Acta., 467, 51-60, 2002.

Pflaum, R.T. & Howick L.C. **The Chromium-Diphenylcarbazide Reaction.** J. Am. Chem. Soc. 78, 4862-4866, 1956.

Soares, R., Henrique, Jr., S. S., Carneiro, M. C., da Silva, L. I.D., Pontes, F. V.M., Monteiro, M. I. C., Neto, A. A., Santelli, R. E. **Chromium simultaneous speciation by spectrophotometric method and multicomponent analysis.** Chem. Speciation and Bioavailability, no prelo, 2009.