

UNIVERSIDADE FEDERAL DE SÃO CARLOS  
CENTRO DE CIÊNCIAS EXATAS E DE TECNOLOGIA  
DEPARTAMENTO DE QUÍMICA  
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM QUÍMICA

**Espectrometria de Emissão Atômica em Filamento de Tungstênio (WCAES):  
Potencialidades e Aplicações**

**Luana Novaes Santos\***

Tese apresentada como parte dos requisitos para obtenção do título de DOUTORA EM CIÊNCIAS, área de concentração: QUÍMICA ANALÍTICA.

**Orientador: Joaquim de Araújo Nóbrega**

\*Bolsista CNPq

**São Carlos – SP**

**2012**

**Ficha catalográfica elaborada pelo DePT da  
Biblioteca Comunitária/UFSCar**

S237ee

Santos, Luana Novaes.

Espectrometria de Emissão Atômica em Filamento de Tungstênio (WCAES) : potencialidades e aplicações / Luana Novaes Santos. -- São Carlos : UFSCar, 2013.  
93 f.

Tese (Doutorado) -- Universidade Federal de São Carlos, 2012.

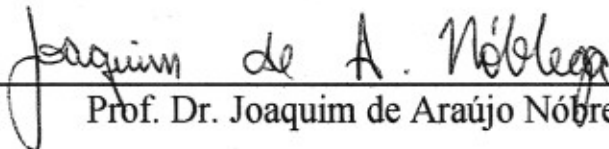
1. Química analítica. 2. WCAES. 3. Espectrometria de emissão atômica. 4. Atomização eletrotérmica. 5. Aplicação analítica. I. Título.

CDD: 543 (20<sup>a</sup>)

**UNIVERSIDADE FEDERAL DE SÃO CARLOS**  
*Centro de Ciências Exatas e de Tecnologia*  
*Departamento de Química*  
**PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM QUÍMICA**  
**Curso de Doutorado**

---


*Assinaturas dos membros da comissão examinadora que avaliou e aprovou a defesa de tese de doutorado da candidata Luana Novaes Santos, realizada em 14 de novembro de 2012:*

  
Prof. Dr. Joaquim de Araújo Nóbrega

  
Prof. Dra. Márcia Andreia Mesquita Silva da Veiga

  
Prof. Dr. Francisco José Krug

  
Prof. Dr. Edivaldo Egea Garcia

  
Prof. Dr. Edenír Rodrigues Pereira Filho

*"Não desista enquanto você ainda for capaz de fazer um esforço a mais. É nesse algo a mais que está a sua vitória."*

*Roberto Shinyashiki*

**Dedico este trabalho ao meu amado irmão  
Leonardo Novaes (*in memoriam*), por ter sido meu principal  
incentivador, meu exemplo de vida, e por nossa forte  
relação que sempre será meu guia aonde quer que eu vá.**

## AGRADECIMENTOS

Aos meus pais Amélia e José, meus irmãos Yndiara e Leonardo (*in memoriam*), meu cunhado Ricardo e meu sobrinho Mateus. Agradeço a vocês por serem meu maior exemplo de amor e convivência, por todo o apoio, incentivo e por nunca deixarem que eu desistisse nos momentos de dificuldade. Agradeço também a minha madrinha Fátima e meus afilhados, pelo constante carinho e apoio incondicional.

Ao Professor Joaquim de Araújo Nóbrega, por ter sido não só meu orientador, mas um grande exemplo do que é ser um Professor. Obrigada por esta oportunidade e por todos os momentos que compartilhamos, por todas as conversas, conselhos, risadas, enfim, por ter sido além de professor, um amigo que sempre pude contar.

Ao Professor Valfredo Azevedo Lemos, por ter me dado a oportunidade de ter ingressado na pesquisa acadêmica e por todo o apoio durante esta jornada.

Ao Professor Bradley Todd Jones, pela oportunidade de estágio na Wake Forest University (EUA) e pelo apoio, paciência e amizade dispensados a mim durante esse período.

Aos Professores Edenir Rodrigues Pereira Filho e Ana Rita de Araújo Nogueira pela amizade e por todas as sugestões dadas durante o desenvolvimento deste trabalho.

Ao Professor Fábio Rocha, pelo suporte dado na implementação do projeto de pesquisa e pela constante disponibilidade.

A todos os amigos do GAIA, integrantes e ex-integrantes, por terem sido minha família em São Carlos. Obrigada por todas as conversas, almoços, cafés, festas... Obrigada por terem sido meus companheiros em todos os momentos.

Ao amigo Mário Henrique Gonzalez por toda a ajuda, dedicação e carinho. A nossa amizade foi um belo fruto que o convívio acadêmico me proporcionou.

Ao amigo George Donati pela amizade e pelo apoio dado durante todo o desenvolvimento deste trabalho. Obrigada por seus ensinamentos com a técnica, pelas discussões e, principalmente por ter me acompanhado, mesmo a distância, durante o estágio na Wake Forest University.

Ao amigo Sidnei Gonçalves, pelo companheirismo, pelas valiosas discussões, por toda ajuda e apoio a mim dispensados.

A Monise, pela imensa ajuda, pelas risadas e prazerosas conversas.

A Silmara, Claudia, Aline, Ariane, Elane e Carol, por terem dividido comigo não só moradia, mas principalmente pelas conversas, apoio e por terem sempre uma palavra de incentivo nos momentos que precisei.

A todos os amigos de São Carlos, em especial ao Theodoro Monteleone, Eunice Donati, Andressa Gomes, queridos agregados GAIA, pelos belos momentos partilhados.

A todos que convivi durante o estágio no exterior, em especial a Bruna Selbach, obrigada por terem me compreendido e apoiado durante o difícil período de adaptação.

A todos os amigos da Bahia, que mesmo distantes sempre fizeram parte da minha vida.

À Universidade Federal de São Carlos, à Wake Forest University e à Universidade Estadual do Sudoeste da Bahia. Sinto-me honrada em poder ter feito parte dessas instituições. Obrigada por terem me proporcionado a minha formação acadêmica. Obrigada também a todos os professores e funcionários que tive o prazer de conviver.

Ao Conselho Nacional de Pesquisa e Desenvolvimento Científico e Tecnológico (CNPq) pela bolsa de estudo concedida.

À Coordenação de Aperfeiçoamento de Pessoal de Nível Superior (CAPES), pela bolsa de estágio no exterior.

À Fundação de Amparo à Pesquisa do Estado de São Paulo (FAPESP), pelo financiamento do projeto de pesquisa nº 2007/51448-0.

E a todos que de forma direta ou indireta contribuíram para que este momento se tornasse realidade... Meu muito obrigada!

## LISTA DE TABELAS

Tabela 1.1- Número de artigos empregando atomizadores metálicos publicados no período de 1970 a 2010. ....	3
Tabela 1.2- Medidas de emissão atômica com atomização eletrotérmica empregando filamento de tungstênio .....	15
Tabela 3.1- Avaliação do efeito do tempo de aquisição do sinal analítico para uma solução de Ca 5,0 mg/L (sinal líquido médio $\pm$ desvio padrão, n = 3) .....	28
Tabela 3.2- Programa de aquecimento com temperatura de secagem constante ....	30
Tabela 3.3- Otimização do programa de aquecimento com temperatura de secagem constante.....	30
Tabela 3.4- Programa de aquecimento otimizado.....	31
Tabela 3.5- Programa de aquecimento utilizado para a determinação de cálcio água de coco e sucos de frutas.....	36
Tabela 3.6- Teores determinados de Ca em amostras de água mineral, água de coco e sucos (média $\pm$ desvio padrão, n = 3).....	37
Tabela 4.1- Programa de aquecimento com temperatura de secagem variável .....	45
Tabela 4.2- Otimização do programa de aquecimento com temperatura de secagem variável .....	45
Figura 4.2- Curvas de pirólise e atomização obtidas através de medidas de uma solução 5 mg/L de Al ( $\lambda = 396,1$ nm).....	47
Tabela 4.3- Programa de aquecimento otimizado.....	48
Tabela 4.4- Avaliação do efeito do tempo de aquisição do sinal analítico (média $\pm$ desvio padrão, n = 3).....	48
Tabela 4.5- Programa de condicionamento .....	49
Tabela 4.6- Programa de limpeza .....	49
Tabela 4.7- Parâmetros de desempenho. Comprimento de onda monitorado: 396,1 nm. ....	51
Tabela 4.8- Teores médios de alumínio e desvios padrão (n = 3) em amostras de infusões de chá e chá gelado.....	52
Tabela 5.1- Programa de aquecimento. a: corrente elétrica utilizada na atomização de estrôncio, b: corrente elétrica utilizada na atomização de céσιο.....	64
Tabela 5.2- Teores médios ( $\mu\text{g}/\text{kg}$ ) e desvios padrão (n = 3) de estrôncio .....	66
Tabela 5.3- Teores médios ( $\mu\text{g}/\text{L}$ ) e desvios padrão (n = 3) de céσιο ( $\mu\text{g}/\text{L}$ ).....	67



Tabela 6.1- Programa de aquecimento .....	80
Tabela 6.2- Parâmetros de desempenho .....	81
Tabela 6.3- Determinação de cromo em amostras de água mineral (teores médios e desvios padrão, n = 4).....	82

## LISTA DE FIGURAS

Figura 1.1 Diagrama esquemático do espectrômetro de emissão atômica com atomizador de filamento de tungstênio.....	7
Figura 1.2- Publicações envolvendo WCAES de 2005 a 2011 .....	9
Figura 3.1- Representação esquemática do protótipo empregado nas medidas por WCAES.....	21
Figura 3.2- Representação da seção do volume de observação. (a: orientação vertical e b: orientação horizontal da imagem do filamento em relação a entrada do sistema óptico.) .....	23
Figura 3.3- Fragmento do espectro de emissão para medidas realizadas com o filamento na posição 1a .....	24
Figura 3.4- Fragmento de espectro de emissão para uma solução 10,0 mg/L de Ca obtido com o filamento na posição 5b.....	25
Figura 3.5- Fragmento de espectro de emissão para uma solução 10,0 mg/L de Ca obtido com o filamento na posição 4b. ....	26
Figura 3.6- Fragmento de espectro de emissão para uma solução 10,0 mg/L de Ca obtido com o filamento na posição 3b. ....	26
Figura 3.7- Fragmento de espectro de emissão para uma solução 10,0 mg/L de Ca obtido com o filamento na posição 2b. ....	27
Figura 3.8- Avaliação da tensão aplicada na etapa de atomização utilizando programa de aquecimento com temperatura de secagem constante.....	31
Figura 3.9- Efeitos causados por K, Mg e Na sobre os sinais analíticos de Ca ( $\lambda = 422,7$ nm). As barras representam intensidades médias de emissão e respectivos desvios padrão. ....	32
Figura 3.10- Fragmentos de espectros de emissão para amostras com e sem digestão <i>in situ</i> e para solução 2,5 mg/L de Ca.....	35
Figura 4.1- fragmento de espectro de emissão de uma solução 10,0 mg/L de Al.....	44
Figura 5.1- Seleção de uma fração da amostra .....	59
Figura 5.2- Amostra e solução de papaína .....	59
Figura 5.3- Suspensão da amostra .....	60
Figura 5.4- Esquema do WCAES.....	60
Figura 5.5 Curvas de pirólise e atomização .....	63

Figura 5.6- Avaliação de interferentes no sinal de emissão de 100 µg/L de Sr ( $\lambda = 460,7$ nm) .....	64
Figura 5.7- Avaliação de interferentes no sinal de emissão de 10 µg/L de Cs ( $\lambda = 852,1$ nm) .....	65
Figura 5.8- Espectros de emissão – avaliação da interferência provocada por cálcio: (a) suspensão da amostra de peixe (b) branco analítico – solução de papaína (c) espectro líquido. Cada espectro é apresentado em escala diferente para melhor visualização do sinal. ....	66
Figura 5.9- Fragmento de espectro obtido a partir da adição de 2,5 µg/L de césio em uma amostra de salmão .....	68
Figura 6.1- Efeito de cobalto sobre o sinal de emissão de cromo ( $\lambda = 425,2$ nm).....	75
Figura 6.2- Avaliação do efeito da concentração de cobalto sobre o sinal de emissão do cromo ( $\lambda = 425,2$ nm): teores médios e desvios padrão (n = 3) .....	76
Figura 6.3- Efeito de íons metálicos sobre o sinal de emissão de cromo ( $\lambda = 425,2$ nm). Em todos os casos a concentração de Cr foi de 5,0 mg/L e as concentrações de K, Rb, Ti, Co e Mg de 1000 mg/L .....	76
Figura 6.4- Avaliação do efeito de cobalto e potássio sobre o aumento da população de íons Cr <sup>+</sup> em ICP-MS .....	78
Figura 6.5 Curvas de pirólise e atomização obtidas a partir de medidas de Cr 5 mg/L ( $\lambda = 425,2$ nm) com e sem adição de cobalto.....	80

## RESUMO

**Espectrometria de Emissão Atômica em Filamento de Tungstênio (WCAES): Potencialidades e Aplicações.** Este trabalho de tese descreve a aplicação analítica de um espectrômetro de emissão atômica com filamento de tungstênio (WCAES) para a determinação de Ca, Al, Cs, Sr e Cr em amostras de diferentes composições. Em todos os estudos desenvolvidos a região de observação do detector em relação ao filamento de tungstênio foi criticamente avaliada objetivando melhores condições analíticas. No primeiro estudo, Ca foi determinado em amostras de água mineral, água de coco e sucos. Foi necessária a diluição das amostras de água de coco e suco com uma mistura oxidante composta por  $\text{HNO}_3$  e  $\text{H}_2\text{O}_2$  para promover a digestão *in situ*, corrigindo assim a interferência negativa causada pelos concomitantes orgânicos. Os resultados obtidos por WCAES foram comparados com os obtidos por ICP OES e nenhuma diferença significativa foi observada. A mesma mistura oxidante foi utilizada em um segundo estudo, no qual avaliou-se a aplicação do WCAES para a determinação de Al em amostras de infusões de chás e chás gelados. O programa de aquecimento constituído de uma etapa de secagem, pirólise e atomização foi otimizado. Os teores quantificados por WCAES também não diferiram dos encontrados pela técnica de referência (ICP OES). No terceiro estudo, um WCAES portátil foi empregado na determinação de Cs e Sr em amostras de peixes. As amostras foram preparadas em forma de suspensão por meio de digestão enzimática utilizando papaína. A mistura oxidante também foi adicionada às amostras visando promover a decomposição dos concomitantes orgânicos. Os limites de detecção obtidos nesse estudo foram comparáveis a técnicas tradicionais, como ICP-MS, por exemplo. Finalmente, o efeito de cobalto foi avaliado na determinação de cromo em medidas de emissão envolvendo filamento de tungstênio. Uma elevada concentração de cobalto causou um significativo aumento nos sinais de emissão de cromo, resultando assim em melhor sensibilidade analítica. A presença de cobalto também possibilitou maiores temperaturas na etapa de pirólise, podendo ser inferido que esse elemento agiu como modificador químico, melhorando os parâmetros de desempenho em WCAES.

## ABSTRACT

### **Tungsten coil atomic emission spectrometry: potentialities and applications.**

This thesis describes the analytical application of WCAES for the determination of Ca, Al, Cs, Sr and Cr in samples with different compositions. In all studies the observation zone of the detector related to the coil was critically evaluated. In the first study, Ca was determined in mineral water, coconut water and juice samples. It was necessary the dilution of the coconut water and juice samples with an oxidizing mixture composed by HNO<sub>3</sub> and H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> in order to perform *in situ* digestion of the samples. The results obtained by WCAES were compared with those obtained by ICP OES and no significant difference was observed. The same mixture was used in a second study where WCAES was evaluated for the determination of Al in tea infusion and iced tea samples. The heating program composed by drying, pyrolysis and atomization steps was optimized. The Al concentrations determined by WCAES were compared with those obtained by ICP OES and no difference was observed. In the third study, a portable WCAES was employed in the determination of Cs and Sr in fish samples. The fish samples were homogenized using enzymatic digestion promoted by papain. The oxidizing mixture was also added in the slurries of fish samples in order to promote the decomposition of the organic concomitants. The limits of detection were comparable to conventional methods, such as ICP-MS for example. Finally, the effect of cobalt in the determination of Cr by WCAES was evaluated. A high concentration of this element caused a significant increase in the emission signals of Cr. The presence of cobalt also allowed the application of higher temperatures during the pyrolysis step. Then, cobalt acts as chemical modifier improving figures of merit for Cr determination using WCAES.

## SUMÁRIO

<b>Capítulo 1:</b> Revisão bibliográfica.....	1
1.1. Dispositivos de tungstênio em espectrometria com atomização eletrotérmica.....	2
1.2. Espectrometria de emissão atômica em filamento de tungstênio (WCAES): sobre o desenvolvimento da técnica .....	8
<b>Capítulo 2:</b> Objetivos.....	16
<b>Capítulo 3:</b> Determinação de cálcio em água mineral, suco de frutas e água de coco utilizando digestão <i>in situ</i> e WCAES .....	18
3.1. Introdução.....	19
3.2. Experimental.....	20
3.2.1. Instrumentação .....	20
3.2.2. Reagentes e amostras.....	22
3.2.3. Procedimentos .....	22
3.3. Resultados e discussão.....	23
3.3.1. Avaliação da região de observação .....	23
3.3.2. Avaliação do efeito do tempo de aquisição do sinal .....	27
3.3.3. Avaliação do programa de aquecimento.....	28
3.3.3.1. Programa de aquecimento com temperatura de secagem constante	29
3.3.4. Avaliação de interferentes.....	32
3.3.5. Aplicação analítica .....	33
3.3.5.1. Digestão <i>in situ</i> para determinação de Ca em amostras de água de coco e sucos.....	33
3.3.6. Parâmetros analíticos de desempenho.....	37
3.4. Conclusões.....	38
<b>Capítulo 4:</b> Avaliação de WCAES para a determinação de alumínio em amostras de infusões de chás e chá gelado .....	39
4.1. Introdução.....	40
4.2. Experimental.....	41
4.2.1. Instrumentação .....	41
4.2.2. Reagentes e amostras.....	42
4.2.3. Procedimentos .....	42
4.3. Resultados e discussão.....	43
4.3.1. Avaliação da região de observação .....	43

4.3.2.	Avaliação do programa de aquecimento.....	44
4.3.2.1.	Programa de aquecimento com temperatura de secagem variável ...	45
4.3.3.	Avaliação do efeito do tempo de aquisição do sinal .....	48
4.3.4.	Programa de condicionamento .....	48
4.3.5.	Avaliação de interferentes.....	50
4.3.6.	Parâmetros de desempenho.....	51
4.3.7.	Aplicação analítica .....	51
4.4.	Conclusões.....	52
<b>Capítulo 5: Proteólise enzimática e digestão <i>in situ</i> como estratégias analíticas para determinação de céσιο e estrôncio em amostras de peixes.....</b>		<b>53</b>
5.1.	Introdução.....	54
5.2.	Experimental.....	55
5.2.1.	Materiais, reagentes e amostras.....	55
5.2.2.	Preparo das amostras.....	56
5.2.3.	Instrumentação .....	56
5.2.4.	Análises por WCAES .....	57
5.2.5.	Parâmetros de desempenho.....	58
5.3.	Resultados e discussão.....	58
5.3.1.	Avaliação da papaína como alternativa para pré-digestão de amostras de peixes .....	58
5.3.2.	Avaliação dos parâmetros instrumentais e analíticos do WCAES .....	60
5.3.2.1.	Posição do filamento .....	61
5.3.2.2.	Vazão de gás de purga .....	61
5.3.2.3.	Volume de amostra .....	61
5.3.2.4.	Comprimentos de onda monitorados .....	62
5.3.3.	Otimização do programa de aquecimento .....	62
5.3.4.	Avaliação de interferentes.....	64
5.3.5.	Aplicação analítica .....	66
5.3.6.	Parâmetros de desempenho.....	68
<b>Capítulo 6: Avaliação do efeito de cobalto em medidas de cromo em WCAES.....</b>		<b>70</b>
6.1.	Introdução.....	71
6.2.	Experimental.....	73
6.2.1.	Instrumentação .....	73

6.2.2.	Reagentes, amostras e preparo da amostra.....	73
6.2.3.	Avaliação do efeito de cobalto sobre o sinal de cromo .....	74
6.2.4.	Parâmetros de desempenho.....	74
6.3.	Resultados e discussão .....	75
6.3.1.	Avaliação do efeito de cobalto na atomização de cromo em WCAES .....	75
6.3.2.	Mecanismos.....	77
6.3.3.	Programa de aquecimento.....	79
6.3.4.	Parâmetros de desempenho.....	81
6.3.5.	Aplicação analítica .....	81
6.4.	Conclusões.....	82
<b>Capítulo 7:</b>	<b>Conclusões gerais .....</b>	<b>83</b>
<b>Capítulo 8:</b>	<b>Referências.....</b>	<b>85</b>



**CAPÍTULO 1**  
**Revisão bibliográfica**

## **1.1. Dispositivos de tungstênio em espectrometria com atomização eletrotérmica**

A espectrometria de absorção atômica com atomização eletrotérmica alia as características desejáveis de técnicas instrumentais mais avançadas, tais como baixos limites de detecção e boa seletividade, com a utilização de pequenos volumes de amostra e a possibilidade de pirólise da mesma no próprio atomizador antes da etapa de atomização. De todos os atomizadores avaliados para medidas de absorção, os tubos de grafite (GF AAS) são os que mais foram utilizados em estudos envolvendo a determinação de elementos traço e micro elementos em diversos tipos de amostras. No entanto, esses atomizadores possuem algumas limitações, as quais dificultam a maior difusão da GF AAS nos laboratórios de análises de rotina. O fato de uma fonte elétrica de elevada potência ser requerida para o aquecimento dos tubos de grafite por exemplo, contribui para que o preço final do instrumento seja elevado. Dessa forma, surge a necessidade de avaliação de atomizadores que aliem as excelentes características apresentadas por GF AAS ao menor custo operacional apresentado pela F AAS por exemplo.

Atomizadores metálicos são utilizados em espectrometria atômica desde a década de 1970, embora L'vov em seu primeiro trabalho publicado em 1959 tenha empregado um tubo de grafite revestido com uma folha de tântalo para evitar a difusão dos átomos na superfície gráfitica [1]. Os metais mais comumente empregados para construção de atomizadores são o molibdênio, a platina e o tungstênio. Em um trabalho de revisão, Suzuki e Ohta [2] destacaram as seguintes características favoráveis dos atomizadores metálicos quando comparados ao tubo de grafite: 1) não formação de carbetos; 2) elevada vida útil; 3) rápido aquecimento através de uma fonte elétrica de baixa potência e 4) menor emissão de radiação nas regiões visível e ultravioleta do espectro eletromagnético. Provavelmente a falta de eletrônica adequada para aquisição de rápidos sinais transientes foi o fator que mais contribuiu para a pouca disseminação do uso de atomizadores metálicos na década de 70. Os metais empregados na construção desses atomizadores possuem uma elevada taxa de aquecimento, pois possuem menor calor específico comparativamente ao carbono. A partir da década de 1980, detectores com tempos de resposta mais rápidos foram desenvolvidos, resolvendo assim a limitação inicial de eletrônica inadequada para instrumentos baseados em atomizadores metálicos.

De todos os metais utilizados para construção de atomizadores eletrotérmicos, o tungstênio é o que apresenta o maior ponto de fusão (3422 °C), o que amplia a faixa de analitos passíveis de serem determinados, é um bom condutor elétrico e é resistente a elevadas concentrações de ácidos comuns como clorídrico, sulfídrico e nítrico. Além disso, também possui um baixo custo de aquisição, sendo, portanto, o metal mais utilizado em medidas com atomizadores metálicos. A TABELA 1.1 apresenta um balanço dos trabalhos publicados utilizando atomizadores metálicos. Nota-se um contínuo decréscimo no número de trabalhos publicados usando outros atomizadores metálicos e esse fato pode ser justificado pelas características favoráveis do tungstênio.

**TABELA 1.1- Número de artigos empregando atomizadores metálicos publicados no período de 1970 a 2010.**

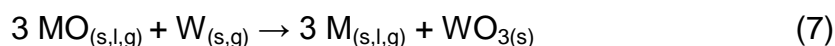
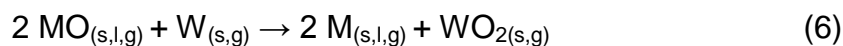
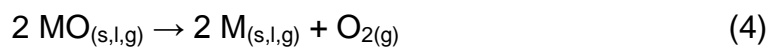
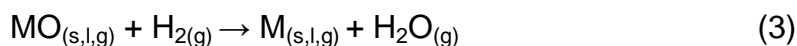
Atomizador	Publicações por período			
	1970 –1980	1981 - 1990	1991 – 2000	2001 - 2010
Molibdênio	15	18	1	0
Platina	7	0	2	0
Tântalo	13	4	0	0
Tungstênio	15	21	20	21

Comparado aos outros metais, o número de trabalhos que relatam o uso de tungstênio como atomizador metálico é amplo e variado [3]. Os atomizadores são utilizados em forma de copo, fita, barca, placa, tubo e filamento, sendo as duas últimas mais comumente utilizadas. Os dispositivos de tungstênio não são novos no campo da espectrometria atômica, e os primeiros trabalhos datam da década de 1970. Os atomizadores de tungstênio foram inicialmente utilizados em espectrometria de absorção atômica com atomização eletrotérmica [4,5,6] e em espectrometria de fluorescência atômica [7]. No entanto, a utilização desse dispositivo não se limitou somente a essas duas áreas, podendo ser encontrados trabalhos que utilizam esses dispositivos como vaporizadores eletrotérmicos em ICP OES [8] e ICP-MS [9].

Atomizadores de tungstênio requerem o uso de uma mistura gasosa, usualmente composta por hidrogênio e argônio, como gás de purga com o objetivo de proteger o dispositivo de processos de oxidação e, conseqüentemente, preservar o tempo de vida útil do mesmo. Além disso, o gás de proteção fornece um ambiente redutor ao sistema de atomização do analito. Outras características desses atomizadores são a menor emissão de radiação na região do ultravioleta-visível (UV-Vis) e não formação de carbetos, tornando-os atrativos em medidas que envolvam analitos refratários e que possuam linhas de absorção/emissão com menores comprimentos de onda.

Um tubo de tungstênio como atomizador em ET AAS foi primeiramente proposto por Sychra e colaboradores [10] no final da década de 1970. Esse atomizador foi chamado de WETA-82 e algumas características analíticas foram estabelecidas para o mesmo. Após aproximadamente uma década, o mesmo grupo de pesquisa apresentou um tubo de tungstênio com aquecimento transversal [11], possibilitando assim um ambiente térmico mais homogêneo durante a etapa de atomização. Parâmetros de desempenho foram estabelecidos para 23 elementos e esses foram comparados com os obtidos por GF AAS. Os resultados evidenciaram o bom desempenho do novo atomizador, o qual os autores chamaram de WETA-90. Os tubos de tungstênio têm sido aplicados em análises de amostras ambientais, águas, vinhos, leites, materiais biológicos, alimentos, solos, sedimentos, dentre outros. Hou e Jones [3] revisaram a maioria das aplicações analíticas descritas na literatura para esse tipo de atomizador.

Os mecanismos de atomização em atomizadores metálicos diferem dos ocorridos em GF AAS. Vyskocilová e colaboradores [12] investigaram a geração de átomos livres em um tubo de tungstênio e concluíram que esses são gerados principalmente pela dissociação térmica dos óxidos dos analitos. Os autores não consideraram qualquer reação com tungstênio abaixo de 2373 K, no entanto, sabe-se que a geração de átomos livres depende do tipo da atmosfera durante a atomização [2, 13]. Além disso, outros fatores contribuem fortemente para geração de átomos livres, como por exemplo, a natureza físico-química do analito em questão, a temperatura de atomização e a taxa de aumento de temperatura. Krakovska [14] sugeriu as seguintes reações para a geração de átomos livres em um atomizador de tungstênio onde M é o analito:



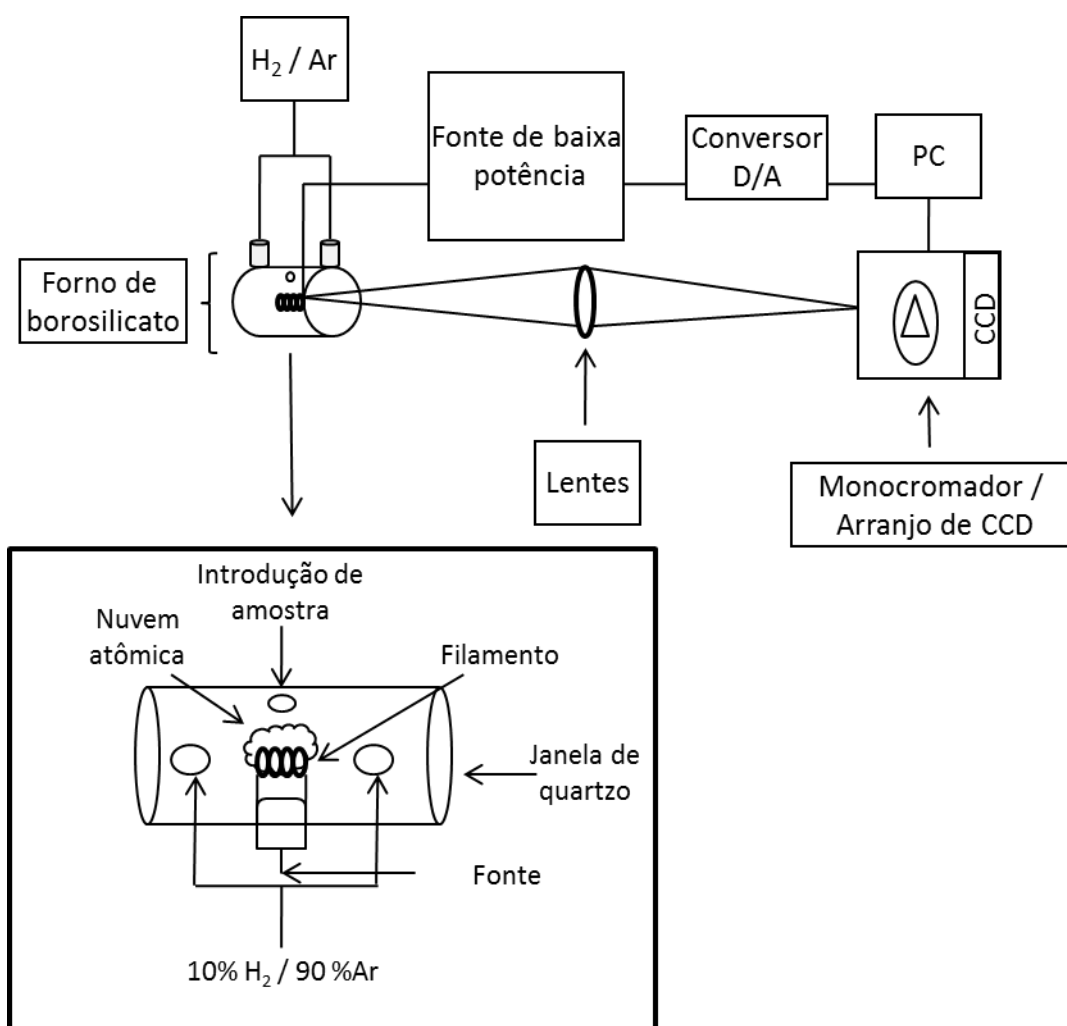
Em um atomizador de tungstênio em forma de filamento as reações que ocorrem na atomização do analito são similares aquelas que ocorrem no tubo, no entanto o caráter não isotérmico do filamento pode exercer uma maior influência em processos de recombinação do analito com os concomitantes da amostra. O uso de filamentos em espectrometria atômica data dos primeiros anos da década de 1970 quando os mesmos foram utilizados como atomizadores eletrotérmicos em absorção atômica por Piepmeier e colaboradores [15,16], bem como em fluorescência atômica [7]. O fato de atomizadores de tungstênio apresentarem baixo custo, não exigirem fontes elétricas de elevada potência para alimentação e também não necessitarem de sistemas de refrigeração fazem desses dispositivos interessantes alternativas para a construção de equipamentos portáteis para aplicação em campo. Alguns trabalhos descreveram o desenvolvimento de instrumentos potencialmente portáteis que utilizam como sistema de atomização filamentos extraídos de lâmpadas de retroprojetores [17, 18].

A maioria dos trabalhos envolvendo dispositivos de tungstênio descreveram aplicações analíticas utilizando medidas de absorção. Somente mais recentemente medidas de emissão atômica também foram consideradas. Isso pode estar relacionado à intensa radiação de fundo emitida por essas fontes que podem interferir severamente nas medidas de emissão. Outra justificativa para o pouco interesse na utilização de atomizadores metálicos em medidas de emissão é a baixa temperatura alcançada por esses atomizadores quando comparado à temperatura alcançada por um plasma, por exemplo. A energia térmica fornecida por esses sistemas não é apropriada para medidas de elementos com elevada energia de excitação.

Por outro lado, o atrativo das medidas de emissão reside no fato de que além de possibilitar determinações simultâneas, equipamentos portáteis mais simples podem ser desenvolvidos, uma vez que a fonte externa de radiação utilizada em espectrometria de absorção atômica não é necessária em medidas de emissão. Em 2000 Hou e Jones [19], em um artigo de revisão que tratava de instrumentos portáteis em espectrometria atômica, enfatizaram que um espectrômetro de absorção atômica com filamento de tungstênio é comumente a melhor opção para análises de campo. Dessa forma, pode-se inferir que espectrometria de emissão atômica tem um grande potencial para o desenvolvimento de instrumentação dedicada a análises *in situ*.

Rust e colaboradores [20] observaram sinais de emissão inesperados em um espectrômetro de absorção atômica utilizando filamento de tungstênio como atomizador. O equipamento era constituído de uma lâmpada de xenônio como fonte contínua e um detector de carga acoplada (CCD) como sistema de detecção. Os picos de emissão foram observados por causa do alinhamento entre o filamento e o detector. O filamento de tungstênio foi posicionado próximo à entrada do espectrômetro e nessa posição a radiação de fundo emitida pelo filamento na etapa de atomização foi minimizada, enquanto que a radiação emitida pela nuvem atômica excitada pôde alcançar o detector. Sinais de emissão já tinham sido observados utilizando tubos de tungstênio [21,22], no entanto não eram esperados utilizando filamentos, devido à baixa temperatura da nuvem atômica nesse atomizador [23]. Os autores denominaram a nova técnica como espectrometria de emissão atômica em filamento de tungstênio, do inglês *tungsten coil atomic emission spectrometry* (WCAES). Com exceção da fonte de radiação, toda a instrumentação utilizada em WCAES é similar aquela utilizada em WCAAS. Um filamento de 150 W, 15 V extraído de uma lâmpada disponível comercialmente é abrigado em uma cela de vidro com janelas de quartzo que são transparentes à radiação UV-Vis. Um fluxo constante de 90% Ar + 10% H<sub>2</sub> é utilizado como gás de purga e o filamento é resistivamente aquecido por uma fonte elétrica de 150 W. Uma representação esquemática do sistema utilizado pelos autores é apresentada na FIGURA 1.1. A intensa radiação de fundo observada na etapa de atomização foi minimizada fazendo o ajuste fino da posição do filamento em relação ao detector, bem como utilizando um monocromador de alta resolução. Com esse arranjo, os autores

estabeleceram algumas características analíticas para Ca, Ba e Sr. Todos os elementos foram detectados simultaneamente em uma janela espectral de 4,0 nm. As medidas foram realizadas depositando 25  $\mu\text{L}$  da solução dos metais diretamente no filamento de tungstênio e uma corrente elétrica constante foi aplicada promovendo aquecimento e, conseqüentemente, a secagem da solução. Em seguida, uma elevada corrente (10,0 A) é aplicada promovendo a atomização e excitação dos elementos em estudo. Os limites de detecção obtidos foram menores que 12,5  $\mu\text{g}$ .



**Figura 1.1 Diagrama esquemático do espectrômetro de emissão atômica com atomizador de filamento de tungstênio**

Em outro trabalho, os mesmos autores avaliaram o desempenho analítico da WCAES em medidas de elementos com diferentes características físico-

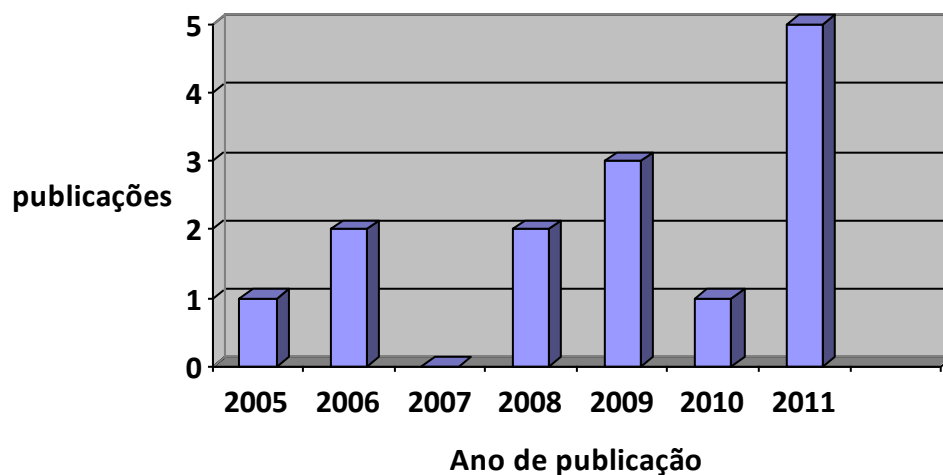
químicas [24]. O arranjo instrumental utilizado foi o mesmo do trabalho anterior, e os elementos testados foram Al, Co, Cr, Dy, Ga, K, Mn, Pb, Rb, Sc e Yb. Seis desses elementos puderam ser detectados simultaneamente em uma janela espectral de 4,0 nm (Dy, Ga, K, Mn, Pb e Sc). Alumínio, Cr, Mn e K foram quantificados em um material de referência certificado de água utilizando como estratégia de calibração o método das adições de analito. Os limites de detecção obtidos estavam na faixa de 3 a 10.000 pg. Com esse trabalho ficou evidenciado o potencial da técnica para a determinação simultânea de elementos, especialmente aqueles com baixa energia de excitação. Por outro lado, alguns processos de interferência foram observados devidos principalmente ao caráter não isotérmico do atomizador.

Desde a proposição da WCAES em 2005, alguns avanços foram observados principalmente na instrumentação. O que pode ser notado é a busca por um equipamento portátil que possua características favoráveis como baixo custo e simplicidade operacional, e que também produza resultados confiáveis. A grande limitação da técnica é que a sua aplicabilidade se restringe a elementos com baixos potenciais de excitação, além dos severos processos de interferência ocasionados pelo elevado gradiente de temperatura da fase gasosa. Os trabalhos publicados desde então demonstram esses fatos, bem como evidenciam a potencialidade da WCAES.

## **1.2. Espectrometria de emissão atômica em filamento de tungstênio (WCAES): sobre o desenvolvimento da técnica**

Desde a proposição da WCAES, ainda é reduzido o número de trabalhos na literatura que a empregam. A FIGURA 1.2 apresenta um demonstrativo de trabalhos publicados. Essa limitada disseminação pode estar relacionada com os poucos grupos de pesquisa que investigam a espectrometria de emissão atômica em filamento de tungstênio. Uma releitura dos trabalhos publicados oferece um panorama acerca do desenvolvimento da WCAES, considerando-se limitações e potencialidades.





**FIGURA 1.2- Publicações envolvendo WCAES de 2005 a 2011**

Em 2008 Donati e colaboradores [25] determinaram lantanídeos em amostra de material certificado de solo utilizando WCAES. A instrumentação utilizada era similar aquela empregada nos trabalhos desenvolvidos por Rust e colaboradores, com exceção de uma fenda ajustável que foi posicionada entre duas lentes colimadoras. Esse arranjo lente-fenda-lente foi colocado entre o atomizador e o sistema óptico-detector e a finalidade do mesmo era diminuir a intensa radiação de fundo proveniente do filamento durante a etapa de atomização, que pode saturar o detector antes que qualquer sinal do analito seja detectado. Um programa de condicionamento de novos filamentos também foi proposto nesse trabalho. Observou-se que a utilização de novos filamentos propiciou sinais com intensidade até 50 % menores do que quando utilizando filamentos com maior tempo de utilização. O programa de condicionamento é constituído de uma etapa na qual o filamento é exposto a um ciclo de aquecimento sem a presença de hidrogênio, seguido de uma etapa de limpeza aplicando-se um ciclo de aquecimento mais longo com o filamento na presença do gás de purga. Após esse procedimento, sinais intensos foram observados mesmo para as primeiras medidas. Parâmetros de desempenho foram estabelecidos para 14 lantanídeos, sendo que dentre esses, sete foram detectados simultaneamente em uma janela espectral de 55 nm, sendo que os limites de detecção foram, na maioria dos casos, inferiores aqueles obtidos por espectrometria de absorção atômica com chama (FAAS). Os limites de detecção estavam na faixa de 0,8 µg/L (Yb) a 600 µg/L (Nd e Pr). Limites de

detecção também foram estabelecidos fazendo o uso do somatório das intensidades de linhas de emissão [26], uma vez que várias linhas de cada analito puderam ser simultaneamente observadas para a maioria dos elementos. Usando essa estratégia obtiveram-se valores ainda menores do que aqueles estabelecidos para cada linha individualmente.

Cromo, Ga, In e V também foram simultaneamente determinados em amostras de água e solo utilizando WCAES [27]. Sinais de emissão de In e V foram observados pela primeira vez utilizando um sistema WCAES e todos os analitos foram simultaneamente monitorados em uma janela espectral de 54 nm. Os limites de detecção estabelecidos para os analitos estavam na faixa de 7 a 400 µg/L, sendo o valor mais alto obtido para o elemento V. Uma vez que múltiplas linhas de cada analito puderam ser simultaneamente detectadas, os limites de detecção também foram calculados aplicando-se o somatório de intensidades de sinais para múltiplas linhas de emissão, obtendo-se melhores limites de detecção para todos os analitos, exceto para In. A exatidão do método foi verificada utilizando material certificado de solo e água, e os teores determinados foram concordantes com os certificados. Processos de interferência foram observados para algumas linhas específicas de cada elemento.

A baixa temperatura da fase gasosa resultante em filamentos de tungstênio, além de limitar a aplicabilidade desse atomizador a elementos com baixa energia de excitação, também resulta em severas interferências, já que processos de recombinação do analito podem ocorrer em regiões mais frias do volume de observação da nuvem atômica. Gradientes de temperatura de até 1000 °C podem ser observados entre a superfície do filamento e a fase gasosa [23] e essa grande diferença é uma consequência do caráter não isotérmico desse tipo de atomizador. Objetivando a redução desses gradientes de temperatura, um sistema empregando dois filamentos de tungstênio foi proposto em 2009 [28]. A adição de um segundo filamento resultou em uma maior temperatura da fase gasosa aumentando a energia disponível para atomização e excitação dos analitos. Nesse trabalho, um volume de 25 µL da amostra foi diretamente introduzido no filamento posicionado na parte inferior e uma etapa de secagem foi aplicada somente nesse atomizador. Na etapa de atomização, uma elevada corrente elétrica foi aplicada em ambos filamentos, sendo que essa configuração resultou em um ambiente mais isotérmico, com maior

temperatura da fase gasosa. Baseado no método das duas linhas de Sn empregado para determinar a temperatura da fase gasosa em espectrometria de absorção atômica [29], os autores propuseram duas equações utilizando linhas de emissão de Dy e Eu para calcular temperaturas da fase gasosa utilizando apenas um filamento, bem como com o novo arranjo proposto. A temperatura da fase gasosa aumentou aproximadamente 500 K quando foram utilizados dois filamentos como sistema de atomização. Utilizando esse arranjo, sinais de emissão para Ag, Cu e Sn foram observados pela primeira vez em WCAES. Além disso, os limites de detecção obtidos para V e Ti foram 40 e 5 vezes menores, respectivamente, quando comparado aos limites de detecção calculados utilizando apenas um filamento.

Iodo foi indiretamente determinado utilizando WCAES [30]. Esse elemento possui energia de excitação elevada e é de difícil detecção inclusive por técnicas que atinjam elevadas temperaturas, como ICP OES por exemplo. Uma vez que um forte sinal de emissão de In é observado em WCAES, nesse trabalho os autores adicionaram uma quantidade conhecida de In em todas as soluções e a determinação indireta de iodo foi efetuada pela formação da espécie molecular InI, que é de difícil dissociação, diminuindo assim o sinal de emissão de In. A proporção do decréscimo do sinal de In é então relacionada com a concentração de iodo. O limite de detecção foi 0,6 mg/L e as soluções analíticas de calibração foram preparadas em meio contendo 10 mg/L In. A exatidão foi verificada empregando experimentos de adição e recuperação utilizando água desionizada e água de torneira. A recuperação obtida para água desionizada foi de 100%, enquanto que para água de torneira obteve-se uma recuperação de 140%. Os autores concluíram que a presença de outros halogênios, como cloro ou flúor, também pode formar uma espécie molecular diminuindo a intensidade de emissão do sinal analítico. Nesse caso, uma etapa de separação poderia ser utilizada antes da análise para remoção dos possíveis íons interferentes.

Donati e colaboradores [31] utilizaram o somatório de intensidades de linhas de emissão para a determinação de cobalto em amostra de material certificado de água. Os limites de detecção estabelecidos para a combinação de 5 linhas de emissão simultaneamente detectadas, foram melhores do que aqueles estabelecidos utilizando cada linha individualmente. A precisão também foi

significativamente melhorada utilizando a combinação das múltiplas linhas de emissão.

Em 2011, Donati e colaboradores [32] propuseram uma nova cela de atomização com o objetivo de contornar problemas causados pelo ambiente não isotérmico tipicamente associado ao atomizador com filamento de tungstênio. Problemas como interferências resultantes de processos de recombinação do analito, além de intensa radiação de fundo emitida pelo filamento são comumente as maiores limitações apresentadas por WCAES. A nova cela de atomização proposta nesse trabalho possui dimensões reduzidas e é construída com alumínio. O design da cela proporciona um ambiente mais isotérmico, diminuindo assim os gradientes de temperatura apresentado pela fase gasosa. O maior confinamento da nuvem atômica excitada resulta em sinais de emissão mais intensos. Além disso, a cela possui uma abertura ajustável que permite o maior controle da intensa radiação que chega ao detector na etapa de atomização. A composição do gás de purga também foi avaliada nesse trabalho. Esse estudo já tinha sido realizado por alguns autores para medidas de absorção envolvendo filamento de tungstênio, mas até então não tinha sido reportado nenhum estudo envolvendo medidas de emissão. Os autores avaliaram a influência de misturas gasosas contendo Ar, N<sub>2</sub>, CO<sub>2</sub> ou He com H<sub>2</sub> (0 – 40%) ou C<sub>2</sub>H<sub>2</sub> (5 ou 10%) sobre os sinais de emissão de Ca, Cr, Eu e Sr. As misturas que continham carbono em sua composição (CO<sub>2</sub> e C<sub>2</sub>H<sub>2</sub>) danificaram o atomizador, além de nenhum sinal analítico ser observado. De forma geral, foi observado que o sinal analítico cresceu à medida que se aumentou a concentração de H<sub>2</sub> até um valor máximo. Em seguida, a adição de mais hidrogênio causou uma diminuição do sinal analítico. Sinais mais intensos são obtidos utilizando uma mistura contendo 10% de H<sub>2</sub> em Ar. Esse trabalho mais uma vez evidenciou o papel do hidrogênio nos processos de atomização e excitação do analito. Os autores calcularam alguns parâmetros de desempenho utilizando a cela metálica proposta e geralmente os resultados foram melhores do que os reportados na literatura.

Um sistema óptico-detector com dimensões reduzidas foi utilizado em um sistema WCAES [33]. O objetivo desse trabalho foi avaliar a potencialidade da técnica para aplicação em campo. Para alguns elementos, especialmente aqueles com linhas de emissão na região do ultravioleta, o detector utilizado (Ocean Optics USB4000) foi menos sensível quando comparado a outros sistemas utilizados

previamente. Por outro lado, a vantagem associada ao instrumento portátil foi enfatizada pelos autores. Outra vantagem apresentada foi a janela espectral utilizada pelo novo sistema, 200 nm ao invés de 50 nm que era comumente utilizada por outros instrumentos. Nesse mesmo trabalho um filamento com maior potência (24 V, 250 W) foi avaliado objetivando maior sensibilidade. Esse filamento suporta um maior volume de amostras do que os filamentos de 150 W, além de suportar a aplicação de uma maior diferença de potencial resultando assim em sinais mais intensos. Parâmetros de desempenho para cinco elementos com diferentes características foram calculados. Quando comparado ao filamento de 150 W, os limites de detecção obtidos com o filamento de 250 W foram melhorados 2000, 200 e 50 vezes para Cu, Ag e Co, respectivamente.

Investindo nas potencialidades da técnica para aplicação em campo, o mesmo grupo de pesquisa do trabalho anterior desenvolveu um instrumento com dimensões reduzidas [34], o qual utilizou a cela metálica proposta por Donati e colaboradores [32] e um filamento de 250 W como sistema de atomização aliado ao detector Ocean Optics USB4000. Todo o arranjo instrumental é montado em um trilho de cerâmica com dimensões de 1 x 6 x 30 cm (altura x largura x comprimento). Além da cela e do detector, o sistema também possui uma lente colimadora para direcionamento da radiação proveniente da nuvem atômica excitada ao detector. Quinze elementos (Ba, Cs, Li, Rb, Cr, Sr, Eu, Yb, Mn, Fe, Cu, Mg, V, Al e Ga) foram utilizados como elementos teste e os limites de detecção ficaram na faixa de 0,04 a 1500 µg/L. A exatidão do instrumento foi verificada pela análise de materiais certificados de água, folhas de pessegueiro e folhas de tomateiro obtendo-se recuperações entre 72 a 157%.

Salido e Jones [35] observaram que alumínio e potássio quando presentes em elevadas concentrações provocaram um aumento no sinal de emissão de estrôncio. Dessa forma, os autores avaliaram o uso desses elementos como modificadores químicos na determinação de Sr por WCAES. Alguns parâmetros de desempenho foram calculados para soluções de Sr em meio contendo 100 mg/L de Al e K. O limite de detecção estabelecido para soluções sem qualquer modificador foi de 2,0 ng/L, enquanto que para soluções na presença dos modificadores, os valores estabelecidos foram 0,90 e 0,07 ng/L em meios contendo K e Al,

respectivamente. Esse pode ser considerado o primeiro trabalho que envolve a avaliação de modificadores químicos para medidas em WCAES.

Um procedimento para determinação de Sr em amostras de solos foi proposto também por Salido e Jones [36]. Uma vez que Al provocou aumento do sinal de emissão de Sr, um procedimento para prévia remoção de Al antes das análises foi necessário, já que Al é comumente encontrado em elevadas concentrações em amostras de solos. Todas as amostras tiveram o seu pH ajustado com uma solução tampão e devidamente filtradas. O aumento do pH provocou a precipitação de Al que pode ser devidamente removido por uma membrana. Com essa estratégia, os autores eliminaram a interferência positiva causada por Al na determinação de Sr em amostras de solos. Além disso, dois procedimentos de preparo de amostra foram também avaliados pelos autores. O primeiro procedimento se baseia na digestão envolvendo aquecimento, ácidos concentrados e peróxido de hidrogênio. No segundo procedimento foram utilizados ácido nítrico concentrado e forte agitação, sem nenhum aquecimento. Uma amostra de material certificado de solo foi analisada e melhor recuperação foi obtida aplicando-se o primeiro procedimento.

A TABELA 1.2 apresenta um panorama de elementos determinados, tipos de amostras e alguns parâmetros de desempenho para alguns trabalhos supracitados envolvendo WCAES.

**Tabela 1.2- Medidas de emissão atômica com atomização eletrotérmica empregando filamento de tungstênio**

<b>Elemento(s)</b>	<b>Amostra(s)</b>	<b>Limite(s) de detecção</b>	<b>Referência</b>
Ba, Ca, Sr	Soluções analíticas	0,5 – 2,2 pg	[20]
Al, Co, Cr, Dy, Ga, K, Mn, Pb, Rb, Sc, Yb	Água	3 – 10.000 pg	[24]
Ce, Dy, Er, Eu, Gd, Ho, La, Lu, Nd, Pr, Sm, Tb, Tm, Yb	Solo	0,025 – 15 pg	[25]
Cr, Ga, In, V	Solo e água	0,2 – 10 pg	[27]
Ba, Sr, Ti, V	Água poluída e água	0,07 – 3.000 µg/L	[28]
I	Água fortificada	0,6 – 3 mg/L	[30]
Co	Água poluída	10 – 70 ng	[31]
Ca, Ba, Sr, Cs, Rb	Solo	3 – 8 µg/L	[33]
Ba, Cs, Li, Rb, Cr, Sr, Eu, Yb, Mn, Fe, Cu, Mg, V, Al, Ga	Água, folhas de pessegueiro e folhas de tomateiro	0,04 – 1500 µg/L	[34]
Al	Solos	4 µg/L	[36]

## **CAPÍTULO 2**

### **Objetivos**



Diante do exposto, observam-se os esforços dos pesquisadores que investigam medidas de emissão atômica empregando filamento de tungstênio na busca por um instrumento para aplicação na quantificação de diferentes analitos. Avaliando-se os trabalhos científicos publicados, alguns avanços instrumentais são observados, mas nota-se ainda limitada investigação sobre possíveis aplicações utilizando amostras mais complexas. Nesse contexto, este trabalho de tese tem como objetivo principal a avaliação e aplicação analítica de um espectrômetro de emissão atômica com filamento de tungstênio para a determinação de Al, Ca, Cr, Cs e Sr em amostras com diferentes composições. Os objetivos específicos são:

- Avaliar a aplicação de WCAES para a determinação direta de Ca em amostras de água mineral, sucos e água de coco;
- Avaliar a aplicação de WCAES para a determinação direta de Al em amostras de infusões de chás e chás industrializados;
- Avaliar a aplicação da digestão enzimática para determinação de Cs e Sr em amostras de peixes *in natura*;
- Avaliar o efeito de cobalto sobre a atomização de cromo visando o aumento da sensibilidade analítica em WCAES.

## **CAPÍTULO 3**

**Determinação de cálcio em água mineral, suco de frutas e água de coco utilizando digestão *in situ* e WCAES**

### 3.1. Introdução

A determinação da composição mineral de alimentos e bebidas é importante considerando que muitos elementos exercem ações fisiológicas relevantes no metabolismo humano. Cálcio está presente em vários alimentos, especialmente em leites e seus derivados, fornece rigidez ao esqueleto e atua em vários processos metabólicos. A Organização Mundial de Saúde (WHO) recomenda uma ingestão diária de 1000 mg de cálcio para um adulto [37]. Embora o leite seja uma fonte de cálcio bem conhecida, algumas bebidas como sucos de frutas contêm quantidades consideráveis desse elemento, podendo assim ser usadas como complemento nutricional. Dessa forma, há interesse na disponibilidade de métodos simples e rápidos para o controle de qualidade de bebidas.

O número de técnicas analíticas para aplicações em análises de rotina é amplo e variado. Para determinação de cálcio, por exemplo, os procedimentos mais comuns são baseados em espectrometria de absorção atômica com chama (FAAS) [38,39] ou espectrometria de emissão ótica com plasma acoplado indutivamente (ICP OES) [40,41]. Chamas, arcos e plasmas são comumente empregados em espectrometria de emissão atômica, entretanto algumas limitações relacionadas ao consumo de energia e gases podem limitar algumas aplicações. A espectrometria de emissão atômica em filamento de tungstênio (WCAES) [20] possui algumas vantagens comparativamente aos métodos tradicionais, tais como baixo custo e simplicidade. Em contrapartida, algumas desvantagens ainda limitam a aplicação mais ampla da WCAES. Um aspecto crítico está relacionado com o atomizador aberto, que se caracteriza por pronunciados gradientes de temperatura [23] tendo como consequência severos processos de interferência. Para minimizar tais processos, algumas estratégias têm sido propostas como a utilização de dois filamentos para aumentar a temperatura da fase gasosa [28] e o desenho de uma cela de atomização com menor volume de observação [32].

Por outro lado, estratégias para reduzir interferências de matriz podem também ser aplicadas na etapa de preparo da amostra. Nessa etapa, a matriz pode ser eliminada aplicando-se um procedimento de decomposição térmica adequado. Métodos de preparo de amostra comumente usam frascos fechados e ambientes altamente pressurizados, como a digestão assistida por radiação micro-ondas.

Apesar de suas vantagens, a etapa de preparo de amostra é a que mais consome tempo na sequência analítica e também é onde existe a maior possibilidade de ocorrências de perdas e contaminação [42]. Uma das vantagens dos métodos baseados em atomização eletrotérmica é a possibilidade de realizar a decomposição da matriz da amostra diretamente no atomizador. Foi demonstrado que matrizes com elevado teor de carbono podem ser eliminadas em análises por espectrometria de absorção atômica com forno de grafite utilizando uma forte mistura oxidante e um programa de aquecimento adequado [43]. Uma mistura de peróxido de hidrogênio e ácido nítrico, por exemplo, foi utilizada para reduzir interferências de matriz pelo aumento da oxidação de compostos orgânicos em amostras de leites [44] e fluidos biológicos [45].

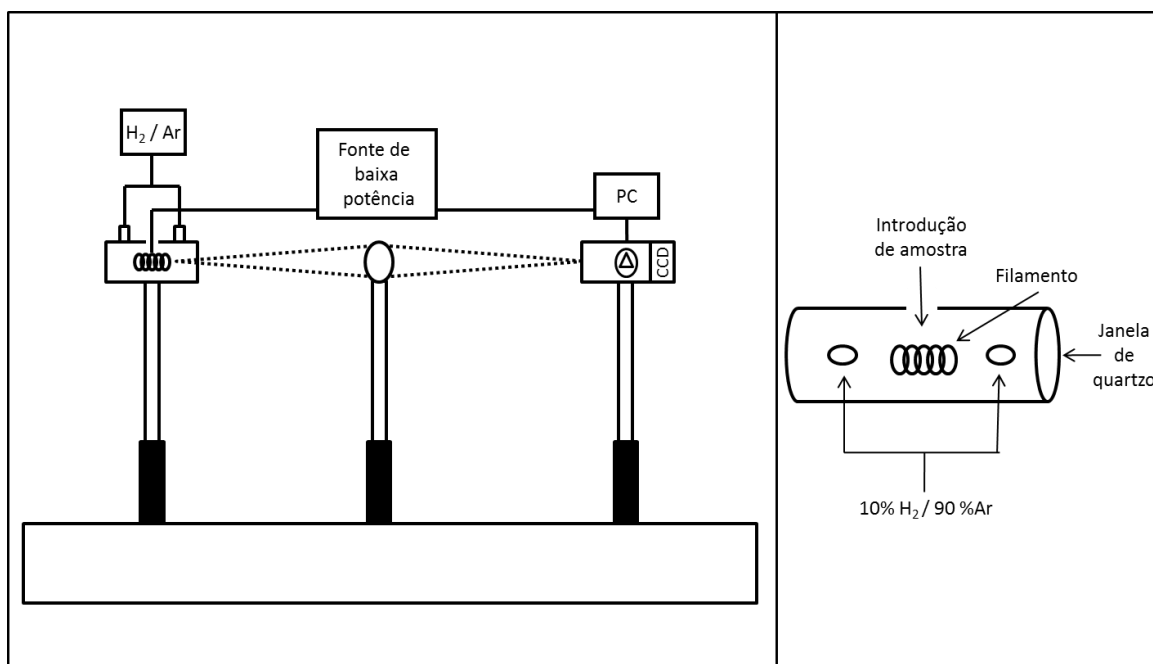
Neste trabalho, WCAES foi utilizado para determinar cálcio em amostras de água mineral, sucos de frutas e água de coco. Efeitos de interferência na atomização de Ca causados por Na, K e Mg foram investigados. Um procedimento de digestão *in situ* baseado na decomposição da matriz sob condições oxidantes também foi avaliado. A exatidão do procedimento foi verificada comparando com os resultados obtidos por ICP OES.

## **3.2. Experimental**

### **3.2.1. Instrumentação**

Uma representação esquemática do protótipo utilizado está apresentada na FIGURA 3.1. O atomizador consiste de um filamento de tungstênio comercialmente disponível (Osram, Pullach, Alemanha) conectado a dois eletrodos de cobre. O filamento é abrigado em uma câmara de vidro borossilicato na forma de T, com janelas de sílica nas duas extremidades. Uma fonte de baixa potência (Anacom Científica, São Bernardo do Campo, SP, Brasil), conectada diretamente à porta paralela do microcomputador (Intel Pentium 4, com 1 Gb de memória RAM) foi empregada para aquecer resistivamente o filamento durante a vaporização e atomização da amostra. Para controle da fonte, foi empregado um programa fornecido pelo fabricante. Uma vazão constante de gás composto por 10% v/v de hidrogênio e 90% v/v de argônio foi usada para prevenir a oxidação do filamento. A radiação emitida pela nuvem atômica na etapa de atomização foi coletada por lentes

de sílica e a imagem foi direcionada para o espectrômetro (Ocean Optics, HR 4000, Dunedin, FL, EUA) conectado ao microcomputador através de uma porta USB, a aquisição dos dados foi feita pelo programa fornecido pelo fabricante. O sistema de detecção possui dimensões de 149 x 105 x 45 mm (comprimento x largura x altura), consiste de um arranjo linear de 3648 fotodetectores e fornece uma janela espectral de aproximadamente 100 nm (330 – 425 nm). O sistema possui uma fenda de entrada de 50  $\mu\text{m}$  e resolução espectral da ordem de 0,02 nm. Com esse sistema de detecção é possível trabalhar com tempos de aquisição do sinal analítico na ordem de ms. Para cálcio, a melhor razão sinal-ruído foi obtida usando um tempo de aquisição de 200 ms. Adotando esse valor, as intensidades de emissão máximas foram geralmente observadas no segundo espectro, com o sinal analítico retornando a linha de base após 800 ms. Considerando variações entre o programa de aquecimento da fonte elétrica e o programa de aquisição de dados do detector, 15 espectros sucessivos foram coletados no início da etapa de atomização para garantir que todo o sinal de emissão fosse adquirido.



**FIGURA 3.1- Representação esquemática do protótipo empregado nas medidas por WCAES**

### 3.2.2. Reagentes e amostras

Toda vidraria foi mantida em  $\text{HNO}_3$  10% v/v por 24 h e lavada com água desionizada. Água ultrapura foi obtida usando um sistema Milli-Q<sup>®</sup> (Millipore, Bedford, MA, EUA). Ácido nítrico concentrado (Synth, Diadema, SP, Brasil) e peróxido de hidrogênio 30% m/m (Synth) foram empregados na digestão *in situ* promovida diretamente na superfície do atomizador. Soluções de Ca, Mg, Na e K foram preparadas pela diluição de soluções estoque na concentração de 1000 mg/L (Titrisol<sup>®</sup>, Merck, Darmstadt, Alemanha). Amostras de água mineral de cinco diferentes estados do Brasil (Alagoas, Bahia, Rio de Janeiro, Minas Gerais e São Paulo) foram analisadas. Três amostras de água de coco e sucos de frutas foram adquiridas no mercado local.

### 3.2.3. Procedimentos

Alíquotas de 5,0 mL das amostras de água mineral foram diluídas até 10,0 mL com ácido nítrico para uma concentração final de 1% de  $\text{HNO}_3$  (v/v) e 20  $\mu\text{L}$  dessa mistura foram dispensados na superfície do filamento seguido pela aplicação do programa de aquecimento apresentado na TABELA 3.4. Uma análise semi-quantitativa foi feita para determinar a faixa de concentração de cálcio nas amostras de água de coco e sucos, a fim de adequá-las à faixa linear da curva analítica de calibração. Nesse caso, 20  $\mu\text{L}$  da amostra original foram diretamente dispensados no filamento e o programa de aquecimento apresentado na TABELA 3.5 foi aplicado. Baseado nos resultados obtidos, volumes apropriados de cada amostra foram transferidos para frascos volumétricos de 10,0 mL e 5,0 mL de uma mistura oxidante contendo  $\text{H}_2\text{O}_2$  15% v/v e  $\text{HNO}_3$  1% v/v foram adicionados. Finalmente, a mistura foi diluída para 10,0 mL com água desionizada. Três medidas sucessivas foram feitas para cada amostra. Todas as medidas desses estudos foram realizadas em termos da altura do pico de emissão ( $\lambda = 422,7 \text{ nm}$ ).

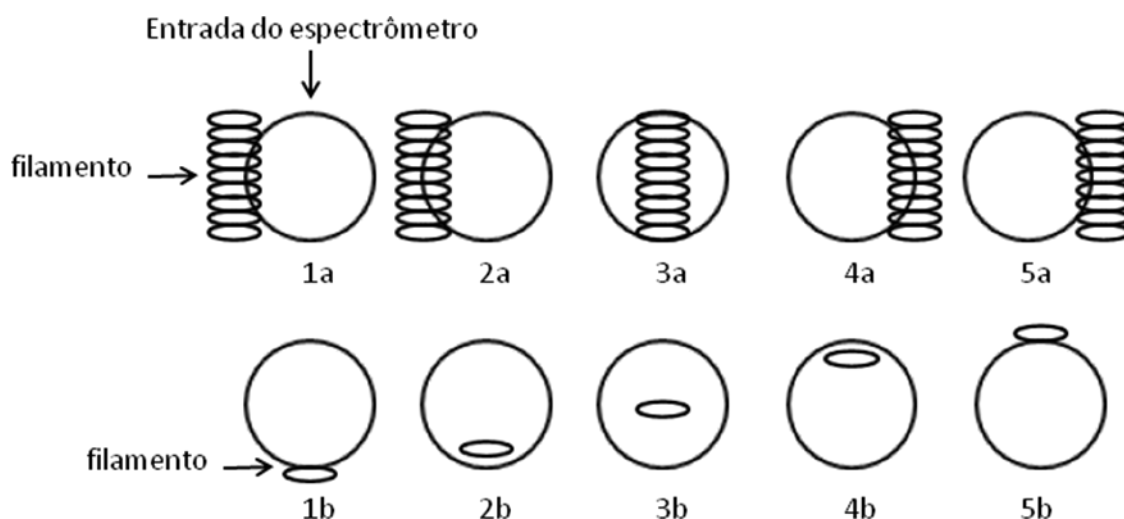
Para fins de comparação, todas as amostras foram analisadas por ICP OES com configuração axial (ICP OES, Vista PRO-CCD, Varian, Mulgrave, Austrália) usando condições de operação padrão. Nesse caso, as amostras foram diluídas similarmente ao método WCAES descrito anteriormente. No entanto,

nenhuma mistura oxidante foi adicionada e todas as amostras foram diluídas para uma concentração final de 2% v/v HNO<sub>3</sub>.

### 3.3. Resultados e discussão

#### 3.3.1. Avaliação da região de observação

A observação de linhas de emissão atômica é altamente dependente da posição do filamento em relação à fenda de entrada do detector. Dessa forma, foi investigada a influência da posição do filamento sobre a aquisição dos sinais transientes de emissão. As posições foram avaliadas nas orientações vertical e horizontal, variando a posição desde o centro até as extremidades, conforme o esquema apresentado na FIGURA 3.2.

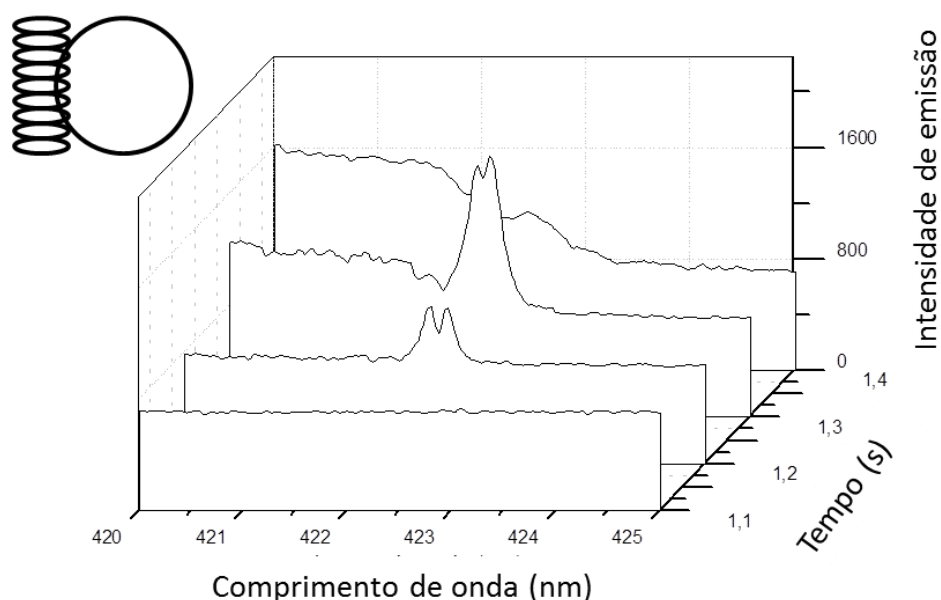


**FIGURA 3.2-** Representação da seção do volume de observação. (a: orientação vertical e b: orientação horizontal da imagem do filamento em relação a entrada do sistema óptico.)

O forno borossilicato com filamento de tungstênio se caracteriza por um ambiente não isotérmico. Dessa forma, a influência da região de observação deve ser avaliada. A dispersão da nuvem atômica é influenciada pelo gás de purga utilizado. Além disso, podem-se verificar zonas frias no sistema de atomização e, conseqüentemente, podem ocorrer processos de recombinação do analito, diminuindo a sensibilidade analítica. Dessa forma, é necessário determinar a melhor região, onde se tenha uma maior temperatura, que forneça energia necessária para

os processos de atomização e excitação do analito. Outro fator a ser considerado na avaliação da região de observação é a obtenção de uma condição na qual o sinal de fundo incidente no detector seja o mínimo possível, para que, dessa forma, seja possível obter a separação temporal entre o sinal de fundo e o sinal do analito.

De todas as medidas realizadas na orientação vertical somente foi possível observar picos de emissão quando o filamento foi posicionado nas extremidades da entrada do detector (posições 1a e 2a), sendo que na posição 1a, picos mais intensos foram observados (FIGURA 3.3).



**FIGURA 3.3- Fragmento do espectro de emissão para medidas realizadas com o filamento na posição 1a**

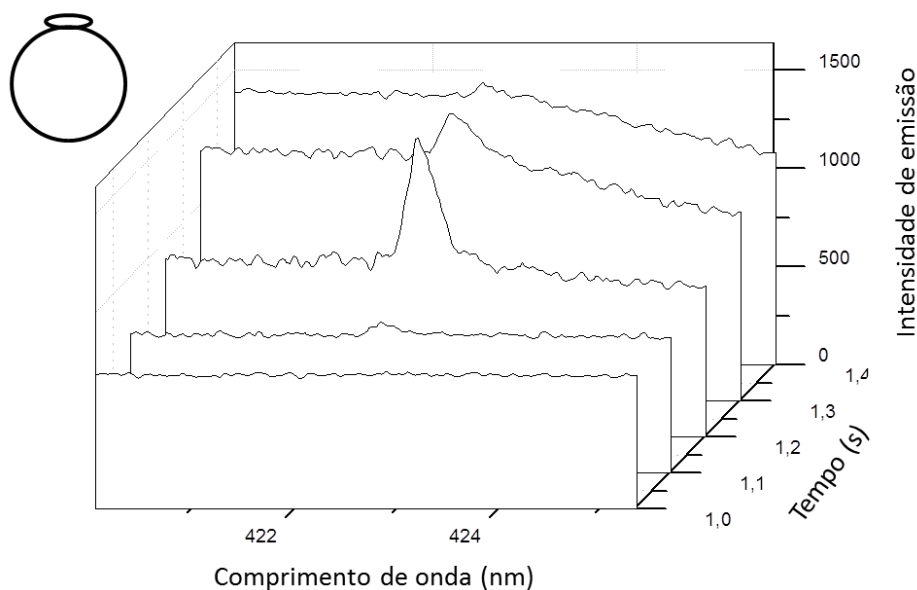
Todas as medidas foram feitas com soluções de cálcio 100 mg/L em meio 0,014 mol/L de ácido nítrico.

Avaliando os espectros obtidos (FIGURA 3.3), pode-se notar que há a formação de um pico duplo ( $\lambda = 422,7$  nm) devido ao fenômeno de autoabsorção resultante da formação de uma nuvem atômica fria, sendo esse fenômeno típico em medidas que envolvem elevadas concentrações do analito. Dessa forma, foram realizadas medidas diminuindo a concentração do analito até aquela na qual tal

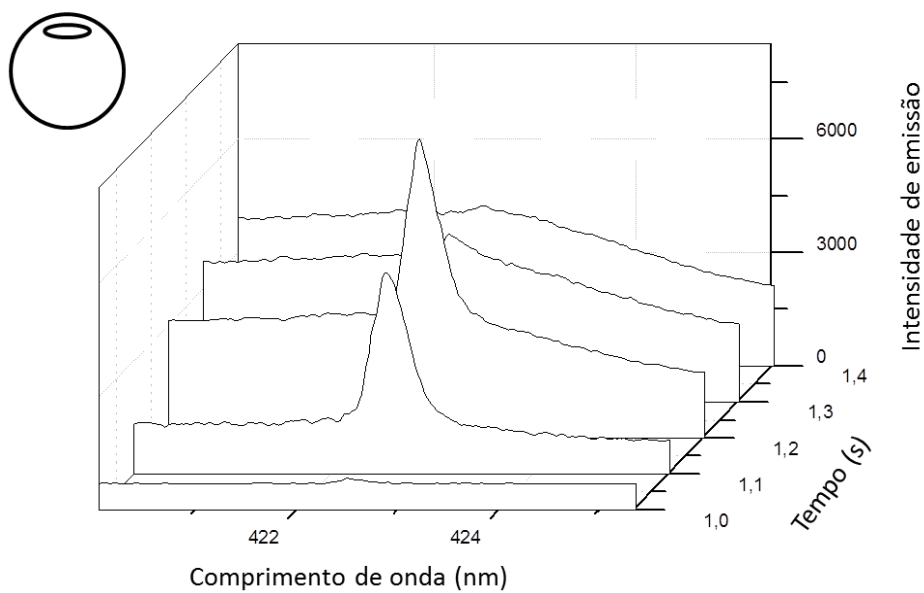


fenômeno não fosse mais observado. Utilizando soluções com concentração igual ou inferior a 10 mg/L, não ocorria formação de picos duplos. Assim, a concentração de 10 mg/L foi fixada para os estudos posteriores.

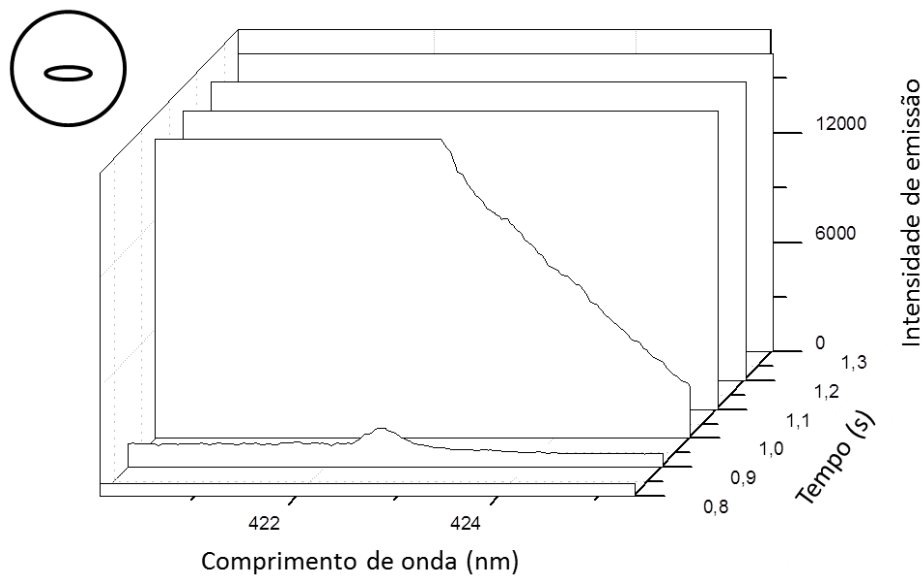
Fazendo a avaliação com o filamento na orientação horizontal, pode-se observar que, quando o filamento foi posicionado de acordo com a posição 4b (FIGURA 3.2), sinais de emissão com intensidades relativamente altas foram obtidos (FIGURA 3.5). Sinais de emissão também foram obtidos quando o filamento foi deslocado para cima (posição 5b – FIGURA 3.2). Os espectros obtidos com o filamento nessa posição são mostrados na FIGURA 3.4. No entanto, os sinais obtidos com o filamento nessa posição mostram-se menos intensos do que aqueles obtidos com o filamento na posição 4b. Tal fato evidencia uma região mais fria, o que pode ser ocasionado pela convergência dos gases que são introduzidos no forno. Quando o filamento é movido do centro para baixo (posições 3b e 2b), ocorreu a saturação do detector com o sinal de fundo decorrente da emissão do filamento de tungstênio e sinais analíticos pouco intensos foram obtidos (FIGURAS 3.6 E 3.7).



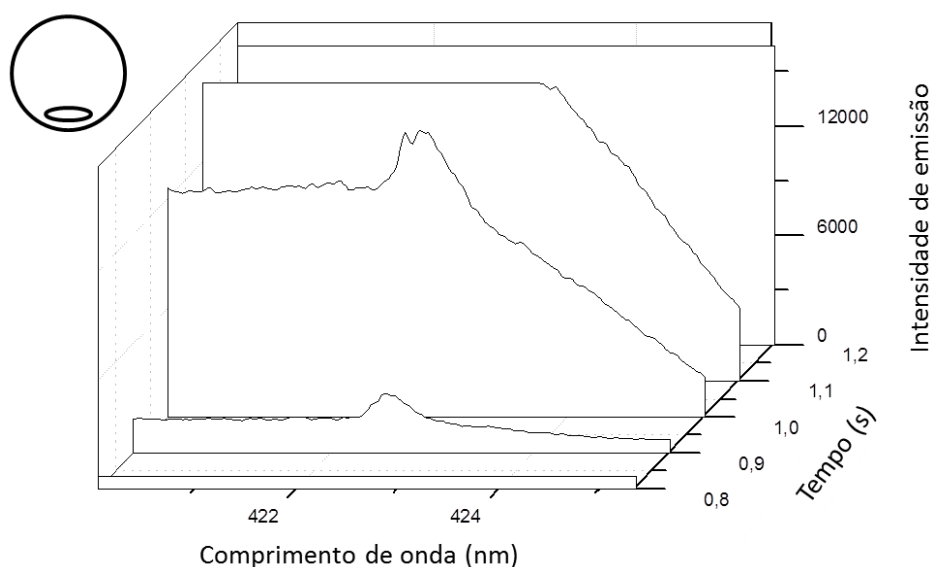
**FIGURA 3.4- Fragmento de espectro de emissão para uma solução 10,0 mg/L de Ca obtido com o filamento na posição 5b**



**FIGURA 3.5- Fragmento de espectro de emissão para uma solução 10,0 mg/L de Ca obtido com o filamento na posição 4b.**



**FIGURA 3.6- Fragmento de espectro de emissão para uma solução 10,0 mg/L de Ca obtido com o filamento na posição 3b.**



**FIGURA 3.7- Fragmento de espectro de emissão para uma solução 10,0 mg/L de Ca obtido com o filamento na posição 2b.**

Assim, considerando-se que os sinais analíticos obtidos com o filamento na posição 4b foram mais intensos e bem resolvidos, essa posição foi fixada para os estudos posteriores.

### 3.3.2. Avaliação do efeito do tempo de aquisição do sinal

A sensibilidade e velocidade de aquisição de dados do sistema de detecção foram avaliadas empregando-se diferentes tempos de aquisição. Nesse estudo, a separação temporal dos sinais de emissão do analito e do sinal de fundo emitido pelo filamento (BG) foi criticamente avaliada visando a diferenciação entre ambos. Todas as medidas foram realizadas em altura de pico.

O tempo de aquisição do sinal transiente foi avaliado variando este parâmetro de 100 a 500 ms. Os espectros foram obtidos através de medidas com soluções de cálcio na concentração 5,0 mg/L. A avaliação do tempo de aquisição é um parâmetro crítico em medidas que envolvem a geração de um sinal transiente. Em atomização eletrotérmica com atomizadores metálicos, os sinais gerados possuem tempo de duração curtos, geralmente inferior a 1 s, dependendo da

volatilidade do analito. A TABELA 3.1 apresenta os sinais líquidos obtidos das medidas utilizando tempos de aquisição de 100, 200, 300 e 500 ms.

**TABELA 3.1- Avaliação do efeito do tempo de aquisição do sinal analítico para uma solução de Ca 5,0 mg/L (sinal líquido médio  $\pm$  desvio padrão, n = 3)**

<b>Tempo de aquisição (ms)</b>	<b>Sinal líquido</b>
100	1592 $\pm$ 53
200	2025 $\pm$ 47
300	1885 $\pm$ 62
500	2155 $\pm$ 108

Utilizando um tempo de aquisição de 500 ms obteve-se maior intensidade no sinal analítico. Entretanto, o tempo de aquisição escolhido foi de 200 ms, pois utilizando um tempo 500 ms as medidas utilizando concentrações menores foram comprometidas, ou seja, picos mal definidos e pouco intensos foram obtidos. Isso pode estar associado à inadequação de longos tempos para a aquisição de rápidos sinais transientes que são originados em atomizadores eletrotérmicos.

### **3.3.3. Avaliação do programa de aquecimento**

Oliveira e colaboradores [46] avaliaram programas de aquecimento para espectrometria de absorção atômica com atomização eletrotérmica em filamento de tungstênio. Para isso, utilizaram dois programas de aquecimento, sendo um programa com temperatura de secagem variável e outro com temperatura de secagem constante. Para medidas de elementos mais voláteis, a utilização do programa de aquecimento com temperatura de secagem constante proporcionou melhores resultados do que quando foi utilizado programa com temperatura de secagem variável. No programa de aquecimento com temperatura de secagem variável um único valor de tensão foi aplicado durante todo o intervalo de tempo de secagem do solvente. Observou-se que a partir de um determinado tempo de duração da etapa de secagem ocorreu uma significativa variação de temperatura na superfície do filamento, sendo que esse efeito foi explicado devido ao fato de que inicialmente a corrente elétrica originada a partir da aplicação da tensão produz calor que é consumido tanto para aquecer o filamento quanto para aquecer a solução da

amostra. Após completa vaporização do solvente, o mesmo calor produzido passa a aquecer somente o filamento ocorrendo assim um contínuo aumento de temperatura do filamento, podendo ocasionar perdas do analito dependendo de sua volatilidade. No caso do programa de aquecimento com temperatura de secagem constante, valores decrescentes de temperatura são aplicados durante o tempo de secagem compensando então o efeito supracitado.

Neste estudo, avaliou-se o programa de aquecimento proposto por Oliveira e colaboradores com temperatura de secagem constante fazendo algumas adaptações no tempo de secagem, pois o volume de amostra introduzido no filamento foi duas vezes maior que o volume utilizado no estudo prévio [46]. Um teste preliminar utilizando o programa com temperatura de secagem variável foi realizado, no entanto uma queda de aproximadamente 10% do sinal analítico foi observada.

#### **3.3.3.1. Programa de aquecimento com temperatura de secagem constante**

O programa de aquecimento com temperatura de secagem constante utilizado neste estudo está apresentado na TABELA 3.2. Todas as medidas deste estudo foram realizadas com soluções de cálcio na concentração 5,0 mg/L. As temperaturas atingidas pela superfície do filamento correspondentes a cada tensão aplicada foram estimadas com base em dados produzidos no Centro de Energia Nuclear na Agricultura (CENA) [47] os quais foram originados utilizando a mesma fonte de baixa potência utilizada neste trabalho de tese, com exceção do estudo apresentado no Capítulo 5.

**TABELA 3.2- Programa de aquecimento com temperatura de secagem constante**

<b>Etapa</b>	<b>Tempo (s)</b>	<b>Tensão aplicada (V)</b>	<b>Temperatura (°C)</b>
Secagem	20	0,70	660
Secagem	10	0,65	ND*
Secagem	10	0,60	572
Secagem	10	0,50	484
Secagem	10	0,40	313
Secagem	10	0,30	261
Atomização	3	14,0	2886

\*valor não determinado experimentalmente

Foi investigado também, o perfil das medidas realizadas eliminando algumas etapas de secagem. As etapas eliminadas e as intensidades obtidas para cada programa são apresentadas na TABELA 3.3.

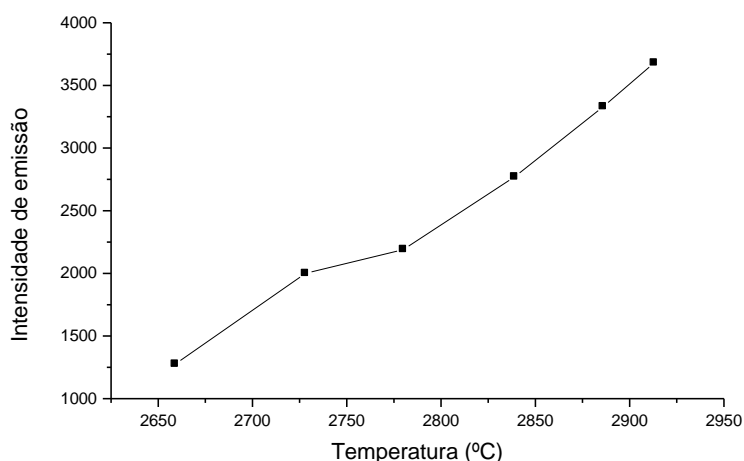
**TABELA 3.3- Otimização do programa de aquecimento com temperatura de secagem constante**

<b>Etapa de secagem eliminada em relação ao programa da Tabela 3.2</b>	<b>Sinal líquido</b>
—	1799
0,30 V / 10 s	2101
0,30 V / 10 s e 0,40 V / 10 s	2322

Melhores intensidades de sinal de emissão foram obtidas eliminando as duas últimas etapas de secagem do programa original. Essa estratégia diminui o tempo total do ciclo de aquecimento e minimiza as possibilidades de perdas por volatilização.

### 3.3.3.2. Otimização da tensão aplicada na etapa de atomização

A tensão aplicada na etapa de atomização também foi avaliada (FIGURA 3.8). Avaliou-se a tensão aplicada na etapa de atomização em um intervalo de 10 a 15 V (2659 a 2913 °C). Sinais mais intensos foram obtidos com o aumento da tensão aplicada. Apesar de 15 V (2913 °C) na etapa de atomização fornecer um sinal mais intenso, a tensão aplicada foi mantida em 14 V (2886 °C), garantindo assim, um maior tempo de vida útil do filamento.



**FIGURA 3.8- Avaliação da tensão aplicada na etapa de atomização utilizando programa de aquecimento com temperatura de secagem constante**

O programa de aquecimento utilizado para o levantamento dos parâmetros de desempenho, aplicação analítica e demais medidas é apresentado na TABELA 3.4.

**TABELA 3.4- Programa de aquecimento otimizado**

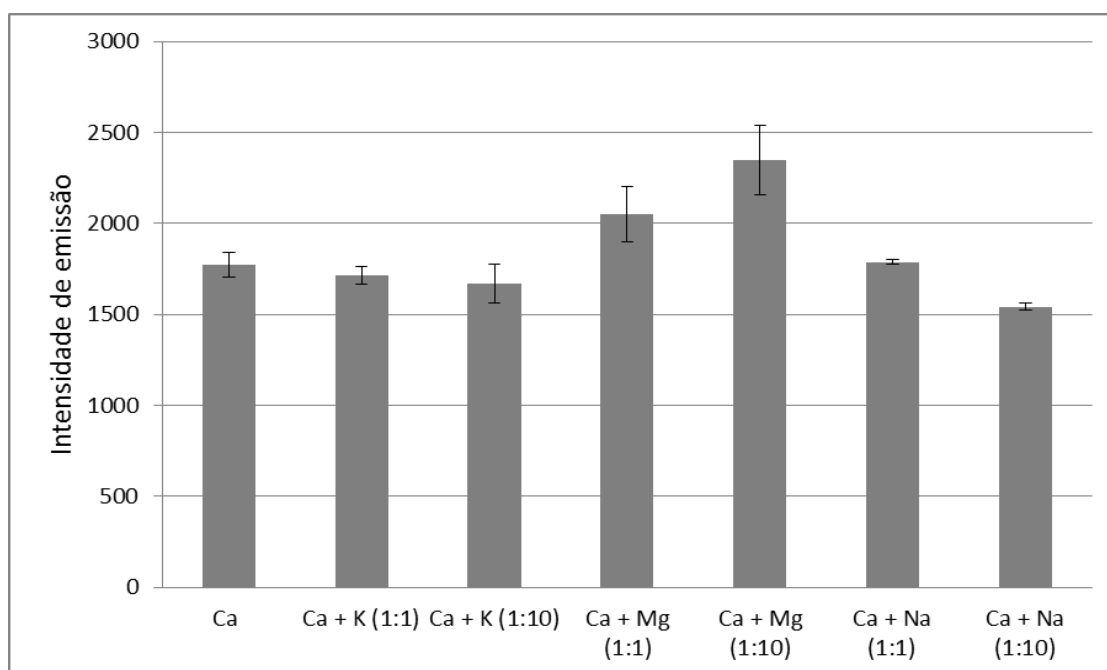
<b>Etapa</b>	<b>Tempo (s)</b>	<b>Tensão aplicada (V)</b>	<b>Temperatura (°C)</b>
Secagem	20	0,70	660
Secagem	10	0,65	ND*
Secagem	10	0,60	572
Secagem	10	0,50	484
Atomização	3	14,0	2886

\*valor não determinado experimentalmente

### 3.3.4. Avaliação de interferentes

A atmosfera não isotérmica no volume de observação e a baixa temperatura relativa da fase gasosa contribui para várias interferências de matriz. A formação de compostos estáveis analito-concomitante contribui com um efeito negativo na sensibilidade e exatidão, especialmente considerando altas concentrações do concomitante. Esses efeitos são mais acentuados em filamentos do que nos atomizadores na forma de tubo considerando-se os gradientes de temperatura que caracterizam o atomizador aberto. O efeito negativo também pode ser explicado pela competição dos concomitantes inorgânicos pelo hidrogênio disponível no meio. A presença de hidrogênio no gás de proteção composto também por argônio é essencial para promover a redução termoquímica da maioria dos precursores atômicos.

Após fixar a região de observação e avaliado o programa de aquecimento, o efeito da presença de alguns concomitantes sobre as determinações de cálcio foi avaliado. Foram feitas medidas variando as proporções dos concomitantes Na, K e Mg em relação ao analito. Os resultados obtidos estão apresentados na FIGURA 3.9.



**FIGURA 3.9- Efeitos causados por K, Mg e Na sobre os sinais analíticos de Ca ( $\lambda = 422,7$  nm).  
As barras representam intensidades médias de emissão e respectivos desvios padrão.**



Observa-se na FIGURA 3.9 que o elemento que causou maior interferência foi o magnésio, mesmo quando em concentração igual a do analito. Tal efeito pode ser explicado por algum processo de modificação química, ou seja, eventualmente a presença de magnésio pode facilitar os processos de atomização e excitação do analito. Outra possível explicação para esse efeito seria a ocorrência de interferência espectral, no entanto a linha de emissão de Ca em questão (422,7 nm) não coincide com as linhas mais intensas de Mg, sendo então pouco provável a ocorrência de tal interferência. Sódio também provocou uma redução no sinal analítico de Ca e esse efeito, tal como citado anteriormente, pode estar relacionado ao consumo de hidrogênio por espécies inorgânicas, uma vez que esse redutor atua um importante papel na atomização de macroelementos [48].

### **3.3.5. Aplicação analítica**

O procedimento desenvolvido foi aplicado para a determinação de cálcio em amostras de água mineral, sucos e água de coco. Os resultados são apresentados na TABELA 3.6.

#### **3.3.5.1. Digestão in situ para determinação de Ca em amostras de água de coco e sucos**

A WCAES foi aplicada para a determinação de cálcio em amostras de água de coco e sucos. No entanto, com o programa de aquecimento otimizado, observou-se a ocorrência de interferências, causando um decréscimo significativo no sinal analítico. Teores determinados por WCAES diferiam significativamente quando comparados com as concentrações de Ca medidas por ICP OES. Isso pode ser explicado pela presença de matéria orgânica e constituintes inorgânicos na matriz da amostra. Supõe-se que elementos tais como K, Mg e Na, podem competir com o analito por hidrogênio e o decréscimo do hidrogênio pode afetar negativamente os processos de atomização do analito, causando um decréscimo no sinal analítico. As espécies orgânicas, por outro lado, podem combinar-se com o analito, formando compostos refratários, o que dificulta a atomização.

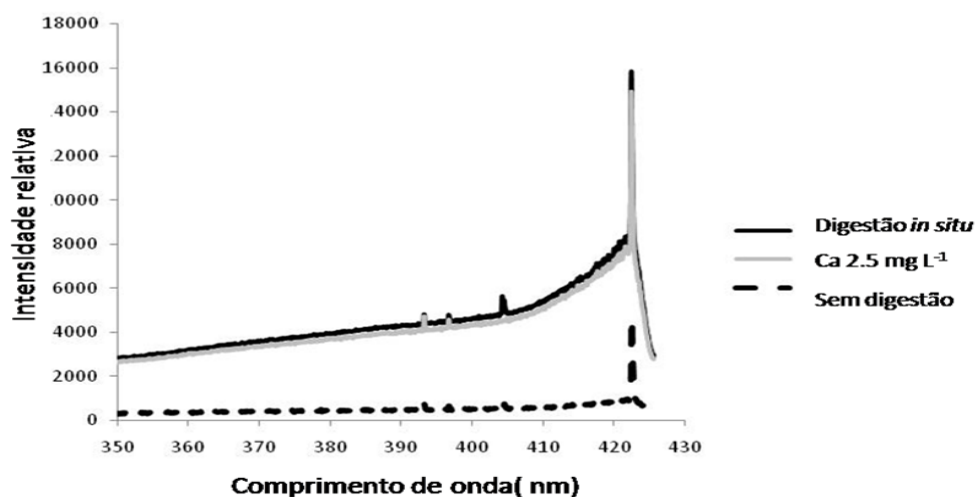
A hipótese de que os macroelementos possam interferir nas análises foi excluída, pois os testes realizados a fim de verificar a interferência provocada por esses elementos evidenciaram que nenhum processo de interferência significativo pôde ser observado, exceto para Mg, que provocou um aumento do sinal analítico, principalmente quando esse ocorria em concentrações dez vezes superiores às daquelas do analito.

Uma alternativa para eliminação dos concomitantes orgânicos da matriz seria a inclusão de uma etapa de pirólise no programa de aquecimento. Assim, avaliou-se a aplicação de 2,0 V (1345 °C) por 5 s logo após a etapa de secagem. A aplicação dessa etapa, no entanto, provocou uma diminuição de aproximadamente 20 % do sinal analítico. Outras estratégias, tais como uma etapa prévia de digestão da amostra ou o método das adições de padrão, poderiam ser utilizadas para correção de interferências. Contudo, tais estratégias possuem algumas desvantagens como por exemplo o maior tempo de análise.

Uma das principais vantagens que os métodos baseados em atomização eletrotérmica apresentam é a possibilidade de realizar a digestão *in situ*, ou seja, efetuar a digestão da amostra no próprio atomizador. Isso pode ser feito utilizando um diluente adequado, tal como uma mistura oxidante composta de H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> e HNO<sub>3</sub> associada a um programa de aquecimento apropriado. Naozuka e Oliveira [49] utilizaram essa estratégia para determinar Al, Cu e Fe em amostras de água de coco utilizando GF AAS. Além de reduzir interferências provocadas pela matriz, um aumento de 75% na vida útil do atomizador foi observado.

A estratégia proposta por Naozuka e Oliveira [49] foi avaliada neste trabalho. Para realizar a digestão no próprio filamento, as amostras foram preparadas em meio contendo uma mistura oxidante composta por peróxido de hidrogênio e ácido nítrico. Assim, alíquotas das amostras foram adicionadas em frascos volumétricos, em seguida foram adicionados 5,0 mL da mistura oxidante (15% v/v H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> e 1% v/v HNO<sub>3</sub>) e, finalmente, cada frasco teve seu volume ajustado para 10,0 mL com água desionizada. Supõe-se que a mistura oxidante proporcionará a digestão *in situ* da amostra, reduzindo assim, processos de interferências. A mistura oxidante também deverá reduzir a formação de resíduos carbonáceos, promovendo um significativo aumento do tempo de vida útil do filamento. O programa de aquecimento também foi ajustado visando promover a

digestão da amostra *in situ*. Sabe-se que no forno de grafite, a ação da mistura oxidante tem seu início com o aumento da temperatura já na etapa de secagem, prosseguindo até a etapa de pirólise. Para simular o mesmo efeito de aumento de temperatura na etapa de secagem, a tensão aplicada na primeira etapa do programa de aquecimento foi elevada para 0,80 V (785 °C). Esse aumento na etapa de secagem de 0,70 para 0,80 V provoca um aumento na temperatura da superfície do filamento de aproximadamente 100 °C e dessa forma o intervalo de tempo dessa primeira etapa foi reduzido pela metade, pois foi observado a evaporação mais rápida do solvente. O programa de aquecimento utilizado para determinação de cálcio nas amostras de água de coco e sucos está apresentado na TABELA 3.5. Esse programa de aquecimento é recomendado para determinação de cálcio em amostras com altos teores de concomitantes orgânicos, tal como açúcares. A FIGURA 3.10 apresenta espectros de emissão para amostra de água de coco (com concentração de aproximadamente 2,5 mg/L) com e sem digestão *in situ* e para uma solução analítica contendo 2,5 mg/L Ca, podendo se notar a similaridade dos sinais de emissão para a solução analítica e para a amostra que foi submetida à digestão *in situ*.



**FIGURA 3.10-** Fragmentos de espectros de emissão para amostras com e sem digestão *in situ* e para solução 2,5 mg/L de Ca

**TABELA 3.5- Programa de aquecimento utilizado para a determinação de cálcio água de coco e sucos de frutas**

<b>Etapa</b>	<b>Tempo (s)</b>	<b>Tensão aplicada (V)</b>	<b>Temperatura (°C)</b>
Secagem	10	0,80	785
Secagem	10	0,65	ND*
Secagem	10	0,60	572
Secagem	10	0,50	484
Atomização	3	14,0	2886

\*valor não determinado experimentalmente

Os teores de cálcio nas amostras de água de coco e sucos estão apresentados na TABELA 3.6. Os valores são concordantes com os obtidos por ICP OES a um nível de confiança de 95%.

**TABELA 3.6- Teores determinados de Ca em amostras de água mineral, água de coco e sucos (média ± desvio padrão, n = 3)**

<b>Amostra*</b>	<b>WCAES (mg/L)</b>	<b>ICP OES (mg/L)</b>
AM <sub>1</sub>	2,1 ± 0,2	1,9 ± 0,2
AM <sub>2</sub>	1,8 ± 0,2	1,2 ± 0,1
AM <sub>3</sub>	2,1 ± 0,1	1,8 ± 0,1
AM <sub>6</sub>	6,6 ± 0,1	5,8 ± 0,3
AM <sub>4</sub>	1,9 ± 0,1	1,4 ± 0,1
AM <sub>5</sub>	8,7 ± 0,6	7,8 ± 0,5
AM <sub>6</sub>	6,0 ± 0,6	6,6 ± 0,3
AM <sub>7</sub>	4,3 ± 0,4	3,5 ± 0,2
AM <sub>8</sub>	15 ± 1	16 ± 1
AM <sub>9</sub>	17 ± 1	16 ± 1
AC <sub>1</sub>	160 ± 10	150 ± 10
AC <sub>2</sub>	290 ± 10	290 ± 10
AC <sub>3</sub>	210 ± 10	200 ± 10
SF <sub>1</sub>	800 ± 10	790 ± 10
SF <sub>2</sub>	23 ± 2	24 ± 1
SF <sub>3</sub>	20 ± 2	20 ± 1

\*AM = água mineral, AC = água de coco e SF = suco de frutas

### **3.3.6. Parâmetros analíticos de desempenho**

Alguns parâmetros de desempenho foram estabelecidos. Duas linhas de emissão (393,3 e 422,7 nm) foram observadas na janela espectral utilizada. A linha mais intensa (422,7 nm) foi utilizada em todos os estudos realizados neste trabalho. O limite de detecção (3 x desvio padrão do branco / coeficiente angular da curva analítica de calibração) e o limite de quantificação (10 x desvio padrão do branco / coeficiente angular da curva analítica de calibração) foram estabelecidos e os resultados foram 0,02 e 0,07 mg/L, respectivamente. Os limites de detecção obtidos com WCAAS na maioria das vezes são menores do que os obtidos por

WCAES. Havesov e colaboradores [50], por exemplo, obtiveram limite de detecção de 0,1 µg/L na determinação de Ca em amostras de paratungstato de amônio. A maior sensibilidade pode ser explicada devido ao fato que a energia necessária para promover o átomo ao estado fundamental é relativamente menor do que a necessária para sua elevação ao estado excitado. Dessa forma, a população de átomos no estado fundamental é maior do que a de átomos no estado excitado.

O desvio padrão do branco analítico composto por 5 mL de água ultrapura e 5 mL da mistura oxidante contendo H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> 15% v/v e HNO<sub>3</sub> 1% v/v foi determinado realizando 20 medidas consecutivas.

A faixa linear da curva analítica de calibração foi 0,07 – 10,0 mg/L e o coeficiente de correlação foi 0,9980. A precisão do procedimento foi determinada pelo desvio padrão relativo (RSD) de 10 medidas consecutivas de uma solução padrão contendo 2,5 mg/L de Ca, uma amostra de suco e uma amostra de água de coco. Os valores obtidos foram 3,8, 4,8 e 4,4%, respectivamente. A precisão para amostras não submetidas ao procedimento de digestão *in situ* também foi estabelecida. Os valores obtidos foram de 7,9 % para a amostra de suco e de 9,2% para a amostra de água de coco.

### 3.4. Conclusões

A WCAES forneceu exatidão e precisão adequadas para determinação de cálcio em amostras de bebidas. O procedimento desenvolvido se constitui em uma alternativa simples e econômica aos métodos tradicionais. Para água mineral, nenhuma interferência significativa foi observada. Na determinação de cálcio em amostras de sucos e água de coco foi observada a ocorrência de interferência negativa causada por concomitantes orgânicos presentes na amostra. Essa interferência foi corrigida pela adição de uma mistura oxidante às amostras e modificação do programa de aquecimento. Dessa forma, a matriz orgânica foi eliminada antes da etapa de atomização. Usando o procedimento de digestão *in situ*, nenhuma diferença significativa foi observada nos teores determinados de cálcio em amostras de sucos e água de coco por WCAES e ICP OES.

## **CAPÍTULO 4**

### **Avaliação de WCAES para a determinação de alumínio em amostras de infusões de chás e chá gelado**

## 4.1. Introdução

O alumínio é o elemento metálico mais abundante da crosta terrestre e algumas de suas características como resistência a corrosão e baixo ponto de fusão permitem que esse metal seja amplamente empregado em diversas áreas. Em alimentos, a concentração de alumínio é geralmente baixa, embora possam ocorrer teores de até centenas de mg/L. O consumo de alimentos é uma das mais importantes vias pela qual alumínio pode ingressar no ser humano. Segundo a Organização Mundial de Saúde (WHO) [51], a ingestão diária de alumínio por adultos varia entre os diferentes países, sendo de 1,9 a 2,9 mg na Austrália, 3,9 mg no Reino Unido, 6,7 mg na Finlândia e 8 a 11 mg na Alemanha. Por muito tempo acreditou-se que o alumínio seria um elemento inofensivo, no entanto a partir da década de 70 a relação desse elemento com algumas doenças motivou sua avaliação toxicológica. Indivíduos portadores de doenças renais crônicas não conseguem excretar alumínio do organismo, tendo como consequência intoxicações agudas. Uma possível relação de alumínio com a doença de Alzheimer foi investigada, uma vez que nos pacientes com a doença foi detectado o aumento da concentração do elemento no cérebro, músculos e ossos [52]. Em 1989 a FAO/WHO (*Food and Agriculture Organization/World Health Organization*) apresentou um relatório, elaborado pelo Comitê de Especialistas em Aditivos de Alimentos, recomendando o estabelecimento de limite máximo provisório para a ingestão semanal de alumínio (PTWI – *Provisional Tolerable Weekly Intake*) para humanos, correspondente a 7 mg de alumínio por kg de massa corporal [53].

Chá é uma das bebidas mais consumidas no mundo e é preparada a partir de folhas de *Camellia sinensis*. No Brasil, seu preparo pode também ser realizado a partir de folhas de diferentes plantas como erva cidreira (*Melissa officinalis*) e camomila (*Matricaria recutita*). Esse tipo de bebida contém constituintes que são essenciais para a saúde humana, como flavonóides e minerais, no entanto também pode apresentar elementos potencialmente tóxicos como arsênio, cádmio, cobre e alumínio. Diferentes literaturas indicam que alumínio encontra-se em concentrações significativas em infusões de chás [54, 55]. Sendo assim, decorre a necessidade do controle da composição mineral, especialmente da presença de alumínio nesse tipo de bebida.



Vários estudos empregando espectrometria de absorção atômica (AAS) [56], espectrometria de emissão óptica com plasma acoplado indutivamente (ICP OES) [57], espectrometria de massas com plasma acoplado indutivamente [58] e eletroforese capilar [59] têm sido realizados para determinação de minerais em amostras de chás. A WCAES é uma técnica alternativa que apresenta potencial para a determinação de elementos metálicos. Embora apresente algumas vantagens como capacidade multielementar, baixo custo e possibilidade de aplicação em análises de campo, tem-se observado desde a proposição da técnica pouco avanço no que se refere a sua aplicação para amostras mais complexas. Uma das maiores dificuldades que limitam a expansão do seu uso é o fato de WCAES possuir um sistema de atomização aberto com elevados gradientes de temperatura e, dessa forma, a ocorrência de severos processos de interferência.

Neste trabalho, WCAES foi avaliada para a determinação de alumínio em amostras de infusões de chás e chás gelados. Assim como no capítulo anterior, a região de observação foi criticamente avaliada objetivando melhores condições de temperatura e, conseqüentemente, menor ocorrência de interferência causada por possíveis recombinações entre o analito e os concomitantes da amostra. Também foi avaliada a adição da mistura oxidante nas amostras de chás gelados com o intuito de minimização dos efeitos causados pelos açúcares presentes nesse tipo de amostra.

## **4.2. Experimental**

### **4.2.1. Instrumentação**

Na FIGURA 3.1 (página 21) está apresentado um esquema do protótipo utilizado em todas as medidas de emissão. Os detalhes dos componentes instrumentais e a descrição do funcionamento do WCAES foram apresentados no Capítulo anterior.

#### 4.2.2. Reagentes e amostras

Toda vidraria utilizada foi previamente descontaminada em HNO<sub>3</sub> 10% v/v por 24 h. Água ultrapura foi obtida utilizando um sistema Milli-Q<sup>®</sup> (Millipore, Bedford, MA, EUA). Ácido nítrico (Synth, Diadema, SP, Brasil) e peróxido de hidrogênio (Synth) de grau analítico foram empregados para diluir as amostras de chás gelados. Soluções de referência de Ca, Fe, K, Mg e Na foram preparadas a partir da diluição de soluções estoque 1000 mg/L (Titrisol<sup>®</sup>, Merck, Darmstadt, Alemanha). Folhas de chás e chás gelados foram adquiridas no comércio local.

#### 4.2.3. Procedimentos

As infusões de chás foram preparadas adicionando 2,0 g da erva seca em 40,0 mL de água a 95 °C. Essa mistura foi mantida até atingir a temperatura ambiente. Para as amostras de chás gelados, um volume de 2,5 mL de cada amostra foi transferido para frascos volumétricos e 5,0 mL de uma mistura oxidante contendo 15% v/v H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> e 1% v/v HNO<sub>3</sub> foram adicionados. Finalmente, a mistura foi diluída para 10,0 mL com água desionizada.

Visando aumentar o sinal de emissão atômica nos primeiros ciclos de aquecimento, novos filamentos foram submetidos a um programa de condicionamento. Em uma primeira etapa um programa de aquecimento foi aplicado ao filamento sem a presença do gás de purga. Em seguida, outro programa de aquecimento foi aplicado com o filamento na presença do gás de purga contendo 10% de hidrogênio em argônio, sob uma vazão de 1,0 L/min. Esse último programa de aquecimento tem como objetivo remover as espécies oxidadas resultantes da aplicação do primeiro programa de aquecimento.

As medidas por WCAES foram feitas pela adição direta de 20 µL de cada amostra no atomizador. Um programa de aquecimento consistindo de etapa de secagem, pirólise e atomização foi aplicado sob uma vazão do gás de purga a 1,0 L/min. Na etapa de secagem, uma tensão de 0,70 V foi aplicada por 60 s, promovendo assim a geração de calor suficiente para a completa evaporação do solvente da amostra. Após essa etapa, 5,0 V foram aplicados por 5 s para a decomposição térmica dos concomitantes da amostra sem qualquer perda do analito. Finalmente, 14,0 V foram aplicados promovendo assim a atomização e

excitação do analito, sendo a radiação emitida pela nuvem atômica devidamente medida em termos de altura do pico de emissão ( $\lambda = 396,1$  nm).

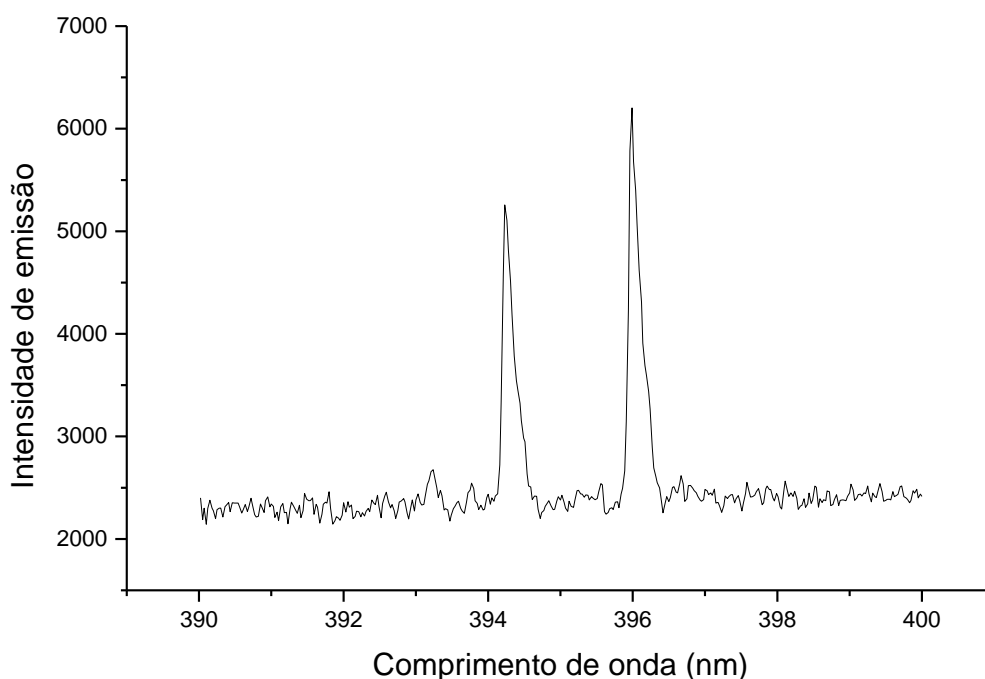
Para fins de comparação, as concentrações de alumínio em todas as amostras foram determinadas por espectrometria de emissão óptica com plasma acoplado indutivamente (ICP OES configuração axial, Vista PRO-CCD, Varian, Mulgrave, Austrália). Nesse caso, as amostras foram diluídas com água desionizada e analisadas usando condições padrão de operação.

Os limites de detecção e quantificação foram determinados. O branco analítico foi composto de água e a mistura oxidante ( $H_2O_2$  15% v/v e  $HNO_3$  1% v/v). A precisão do procedimento desenvolvido foi calculada como o desvio padrão relativo (RSD,  $n = 10$ ) para uma solução de Al contendo 2,5 mg/L e, também, para uma amostra de infusão de chá e chá gelado. Com o objetivo de verificar o efeito de outros íons (Ca, Fe, K, Mg e Na) medidas foram feitas com o analito e interferentes em diferentes proporções.

### **4.3. Resultados e discussão**

#### **4.3.1. Avaliação da região de observação**

Foram realizados os primeiros testes com uma solução contendo 10 mg/L de Al, tendo como base a região de observação adotada na determinação de cálcio. Avaliando todo o espectro fornecido pela janela espectral do sistema (328,8 até 425,5 nm), observaram-se picos de emissão nas regiões de 396,1 e 394,4 (FIGURA 4.1). Consulta à base de dados do NIST (*National Institute of Standards and Technology*) confirmam essas linhas como sendo características de transições eletrônicas para o alumínio. Sendo a linha de emissão em 396,1 nm a mais intensa, essa foi fixada para estudos posteriores.



**FIGURA 4.1- fragmento de espectro de emissão de uma solução 10,0 mg/L de Al**

Tal como para Ca, a investigação da região de observação do detector em relação ao filamento também foi realizada para Al. A avaliação foi realizada fixando-se o filamento nas orientações horizontal e vertical, e movendo o filamento conforme esquematizado na FIGURA 3.2 (página 23). Assim como ocorreu na avaliação de Ca, melhores sinais analíticos foram obtidos quando o filamento foi mantido na posição 4b (FIGURA 3.2). A importância da avaliação da melhor região de observação para cada elemento se deve ao fato do distinto comportamento termoquímico que os elementos apresentam [60]. No entanto, o alumínio apresentou um comportamento similar ao cálcio, o que pode inclusive viabilizar medidas simultâneas desses dois elementos.

#### **4.3.2. Avaliação do programa de aquecimento**

O programa de aquecimento com temperatura de secagem variável proposto por Oliveira e colaboradores [46] foi avaliado para a determinação de alumínio por WCAES. A escolha desse programa se deve ao fato de que alumínio possui uma maior temperatura de ebulição (i.e. 2519 °C), possibilitando assim a

aplicação de um potencial constante em um determinado tempo, sem risco de perdas do analito. A avaliação do programa de aquecimento foi realizada através da injeção direta de 20 µL de uma solução 5 mg/L de Al.

#### 4.3.2.1. Programa de aquecimento com temperatura de secagem variável

O programa de aquecimento com temperatura de secagem variável avaliado para medidas de solução padrão de alumínio consiste de uma etapa de secagem e uma etapa de atomização conforme é apresentado na TABELA 4.1.

**TABELA 4.1- Programa de aquecimento com temperatura de secagem variável**

<b>Etapa</b>	<b>Tempo (s)</b>	<b>Tensão aplicada (V)</b>	<b>Temperatura (°C)</b>
Secagem	70	0,70	660
Atomização	3	14,0	2886

O programa também foi avaliado diminuindo o tempo de secagem de 70 para 60 s. Tempos menores nessa etapa não são recomendados devido à incompleta secagem do solvente que ocorre em tempos inferiores a 60 s para um volume de 20 µL de solução. Os resultados da otimização do programa de aquecimento são mostrados na TABELA 4.2.

**TABELA 4.2- Otimização do programa de aquecimento com temperatura de secagem variável**

<b>Tempo de secagem (s)</b>	<b>Sinal de emissão líquido</b>
60	3464
70	3545

#### 4.3.2.2. Curvas de pirólise e atomização

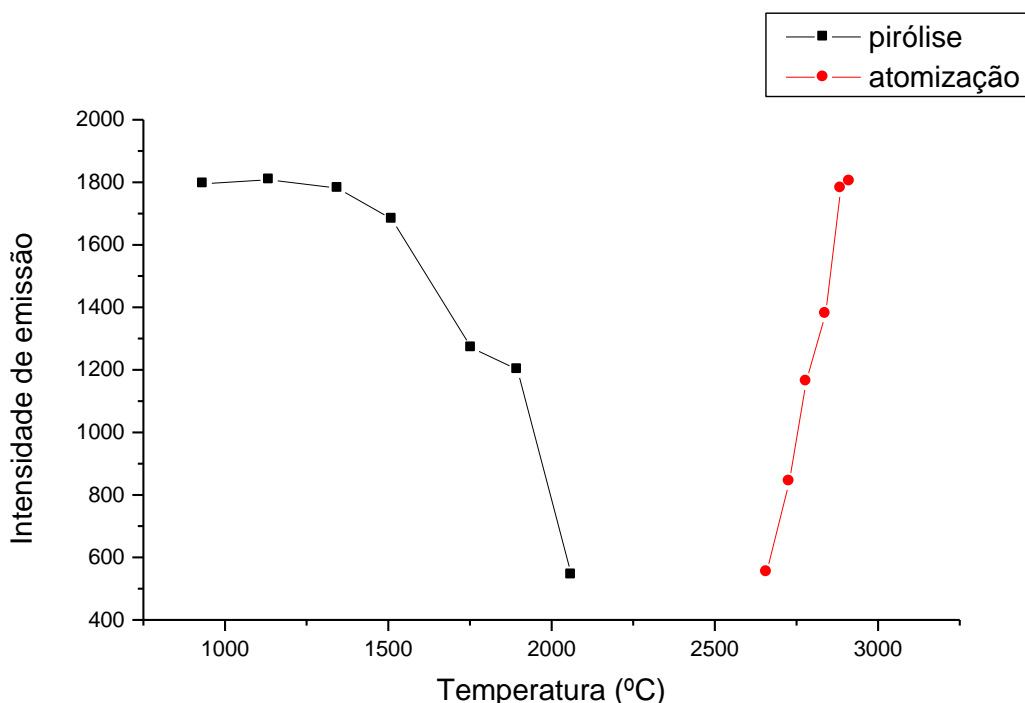
A inclusão de uma etapa de pirólise no programa de aquecimento com temperatura de secagem variável foi avaliada para a determinação de alumínio em

amostras de chás. A etapa de pirólise em atomização eletrotérmica pode viabilizar a determinação de analitos em matrizes complexas, promovendo a decomposição térmica dos concomitantes presentes na amostra, ocasionando assim a redução ou eliminação das interferências que esses compostos causam durante todo o processo de atomização e excitação do analito. Alumínio é um metal com elevado ponto de ebulição, o que viabiliza a inclusão de uma etapa de pirólise sem a ocorrência de perdas por volatilização. A etapa de pirólise foi avaliada variando a diferença de potencial no intervalo entre 1,0 a 5,0 V (933 a 2061 °C), com duração de 5 s e mantendo fixa a tensão aplicada durante a etapa de atomização. Também foi avaliada a tensão aplicada na etapa de atomização, dessa vez fixando a tensão aplicada no filamento durante a pirólise e variando a tensão aplicada durante a atomização. Os resultados desses estudos foram combinados em um único gráfico, no qual podem ser visualizados os efeitos provocados pela temperatura resultante da aplicação de um determinado valor de tensão nas etapas de pirólise e atomização. Observando a FIGURA 4.2, pode-se notar que aplicando 2,0 V (1345 °C) na etapa de pirólise as intensidades dos sinais permaneceram praticamente constantes. Para temperaturas mais elevadas, ocorreu uma queda acentuada dos sinais analíticos. Dessa forma, o valor selecionado como ótimo foi 2,0 V (1345 °C). Na etapa de atomização, o sinal analítico cresceu à medida que se aumentou a tensão, até atingir um patamar em 13,0 V (2839 °C). O valor selecionado como ótimo nessa etapa foi de 14,0 V (2886 °C).

Aplicando 14,0 V no filamento de tungstênio, a temperatura alcançada pela fase gasosa pode estar por volta de 1700 °C [23]. Fazendo uma associação da tensão aplicada com a temperatura alcançada, pode-se perceber que em atomização eletrotérmica com filamento de tungstênio a temperatura necessária para atomização do alumínio é menor do que para atomização em forno de grafite. Isso pode ser um indicativo de que em atomizadores com filamento de tungstênio, os mecanismos de atomização do alumínio são mais influenciados por processos químicos, tais como as reações de redução promovidas pelo hidrogênio, do que por processos térmicos [61]. Donati e Jones [60] determinaram a temperatura da fase gasosa em um atomizador de tungstênio e compararam os perfis de emissão dos elementos Li e Cr com os perfis de temperatura do atomizador. Esses autores notaram que Cr apresenta sinais de emissão mais intensos em um ambiente mais

reductor e Li é menos dependente da temperatura e da composição do gás de purga, refletindo assim, que Li possui menor energia de excitação, enquanto cromo possui características refratárias. Alumínio, também sendo um elemento formador de óxidos refratários, é mais facilmente atomizado em um sistema de atomização que disponha de um ambiente reductor, que pode ser fornecido pelo gás de purga contendo hidrogênio na sua composição, ocasionando a formação de compostos com baixa energia de dissociação.

A TABELA 4.3 mostra o programa de aquecimento final, constituído por uma etapa de secagem, pirólise e atomização, o qual foi utilizado em todas as medidas posteriores.



**FIGURA 4.2- Curvas de pirólise e atomização obtidas através de medidas de uma solução 5 mg/L de Al ( $\lambda = 396,1 \text{ nm}$ )**

**TABELA 4.3- Programa de aquecimento otimizado**

<b>Etapa</b>	<b>Tempo (s)</b>	<b>Tensão aplicada (V)</b>	<b>Temperatura (°C)</b>
Secagem	60	0,70	660
Pirólise	5	2,0	1345
Atomização	3	14,0	2886

#### **4.3.3. Avaliação do efeito do tempo de aquisição do sinal**

O tempo de aquisição do sinal também foi avaliado, variando este parâmetro de 100 a 500 ms. Os espectros foram obtidos através de medidas com soluções de Al 5,0 mg/L.

A TABELA 4.4 apresenta os sinais de emissão líquidos obtidos para medidas utilizando tempos de aquisição de 100, 200, 300 e 500 ms.

**TABELA 4.4- Avaliação do efeito do tempo de aquisição do sinal analítico (média ± desvio padrão, n = 3)**

<b>Tempo de aquisição (ms)</b>	<b>Sinal de emissão líquido</b>
100	3547 ± 138
200	3570 ± 44
300	3430 ± 44
500	3701 ± 273

O tempo de aquisição fixado foi de 200 ms. Apesar de 500 ms fornecer sinais mais intensos, a precisão das medidas foi comprometida.

#### **4.3.4. Programa de condicionamento**

Dois programas de aquecimento foram utilizados para condicionar cada novo filamento utilizado no protótipo. Deve-se salientar que ao iniciar a utilização de um novo filamento de tungstênio sem qualquer tratamento prévio são necessários vários ciclos de aquecimento até a obtenção de um sinal de emissão intenso. É relatado na literatura que um filamento no início de seu uso atinge sinais analíticos constantes após cem ciclos de aquecimento [25]. A diferença entre um sinal analítico



no início da utilização de um filamento novo e após 100 ciclos pode atingir até 50 %. Uma possível explicação para esse efeito é que filamentos novos contêm compostos não estequiométricos de fórmula molecular  $M_xWO_3$  em sua superfície que podem aumentar a área superficial, favorecendo a adesão dos átomos do analito durante o ciclo de aquecimento, influenciando assim nos processos de atomização e excitação dos mesmos. Para o condicionamento do filamento foi realizada uma etapa de limpeza que consiste na aplicação de dois programas de aquecimentos ao novo filamento, os quais são apresentados nas TABELAS 4.5 e 4.6.

**TABELA 4.5- Programa de condicionamento**

<b>Tensão aplicada (V)</b>	<b>Tempo (s)</b>
3,0	10
3,5	2
0	10
3,5	3

**TABELA 4.6- Programa de limpeza**

<b>Tensão aplicada (V)</b>	<b>Tempo (s)</b>
2,5	200
3,0	200
3,5	100
7,0	50
11,0	20

Primeiramente, foi aplicado ao filamento o programa de aquecimento apresentado na TABELA 4.5, sem a presença do gás de purga, ocorrendo assim a oxidação da superfície externa do filamento. O segundo programa (TABELA 4.6) foi aplicado ao filamento na presença do gás de purga promovendo a remoção dos compostos oxidados. Com a aplicação dessa etapa de condicionamento, sinais analíticos intensos foram obtidos já nos primeiros ciclos de aquecimento.

#### 4.3.5. Avaliação de interferentes

A presença de alguns concomitantes inorgânicos, como por exemplo, Ca, Mg, Fe, Na etc., pode afetar a magnitude do sinal analítico. Esses efeitos podem estar relacionados ao consumo de hidrogênio que pode ser provocado por tais espécies, diminuindo a disponibilidade do redutor no meio. Os estudos foram realizados considerando os elementos normalmente presentes em amostras de chás (Ca, Fe, K, Mg e Na), variando a concentração do interferente em relação a concentração do analito em 1, 5, 10 e 25 vezes. Nenhum dos elementos mostrou interferência significativa. Somente Fe provocou uma interferência positiva quando presente em uma concentração 10 vezes maior que o analito. Isso pode ser explicado devido a algum efeito de interferência espectral, uma vez que ferro possui linhas características (i.e. 396,9 nm) que podem estar muito próximas à linha de emissão do analito. No entanto, tal efeito de interferência pode ser compensado fazendo uso da linha 394,6 nm.

Em todas as amostras de infusões de chás analisadas, nenhum efeito de interferência provocado por concomitantes orgânicos foi observado. A etapa de pirólise aplicada antes da atomização fornece energia térmica para dissociação dos compostos orgânicos comumente encontrados nesse tipo de matriz. No entanto, na análise das amostras de chás gelados, a precisão foi significativamente comprometida (RSD ~ 20%, n = 10). Além disso, o filamento tornou-se quebradiço após poucos ciclos de aquecimento. Isso pode ter sido ocasionado pela presença de alguns açúcares, tais como sacarose e glicose. De acordo com dados físicos [62], glicose é fundida a 150 °C e desidratada a 200 °C, seguido por decomposição térmica a aproximadamente 300 °C. Os resíduos de carbono formam uma espécie quebradiça como carbetos de tungstênio com ponto de fusão de 800 °C, temperatura menor que para o tungstênio metálico. A formação de carbetos de tungstênio foi previamente enfatizada [63] e dados de difração de raios-x evidenciaram a ação de compostos de carbono como redutores em superfície de tungstênio [64]. Para minimizar este problema, as amostras de chás gelados foram diluídas com uma mistura oxidante constituída por HNO<sub>3</sub> e H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>. Como discutido no capítulo anterior, a mistura composta por peróxido de hidrogênio tem sido utilizada para reduzir interferências de matriz pela promoção da oxidação de compostos orgânicos em GF AAS. Naozuka e Oliveira [49] usaram essa estratégia para determinar Al, Cu e Fe

em amostras de água de coco. Além de reduzir as interferências de matriz, um aumento de 75% no tempo de vida útil do forno de grafite foi observado devido à minimização da formação de resíduos carbonáceos na superfície do atomizador. Em filamento de tungstênio, similarmente ao forno de grafite, a mistura oxidante age na degradação de compostos orgânicos, inclusive de açúcares, já na primeira etapa do programa de aquecimento. Com essa estratégia, foi possível determinar alumínio nas amostras de chás gelados, preservando o tempo de vida do filamento de tungstênio (i.e. aproximadamente 200 ciclos) e melhorando a precisão das medidas.

#### 4.3.6. Parâmetros de desempenho

Após a otimização dos parâmetros instrumentais e programa de aquecimento, alguns parâmetros analíticos de desempenho foram estabelecidos para medidas no comprimento de onda de 396,1 nm. Os resultados são mostrados na TABELA 4.7.

**TABELA 4.7- Parâmetros de desempenho. Comprimento de onda monitorado: 396,1 nm.**

<b>Limite de detecção (mg/L)</b>	0,07
<b>Limite de quantificação (mg/L)</b>	0,23
<b>Coefficiente de correlação linear</b>	0,9986
<b>Precisão (RSD, n = 20)</b>	5,7%

#### 4.3.7. Aplicação analítica

O procedimento desenvolvido foi aplicado para a determinação de alumínio em amostras de infusões de chás de ervas secas e chás gelados. As determinações foram feitas utilizando a primeira infusão de chá. As infusões foram diretamente analisadas e os resultados são apresentados na TABELA 4.8.

As amostras de chás gelados foram apropriadamente diluídas e diretamente analisadas por WCAES. No entanto, como descrito anteriormente, foi verificado que, ao analisar as amostras que contém altos teores de açúcares (amostras de chás gelados) o filamento tornava-se quebradiço, o que limitava o seu

uso a poucos ciclos de aquecimento. Nesse caso, também foi necessária a diluição da amostra utilizando a mesma mistura oxidante previamente utilizada para a determinação de cálcio em água de coco e sucos. Assim, a vida útil do filamento foi suficientemente preservada. Os resultados obtidos para as amostras de chás gelados também são mostrados na TABELA 4.8. Os resultados foram comparados aos obtidos por ICP OES e exceto para a amostra de chá preto, todos os valores foram concordantes a um nível de confiança de 95%

**TABELA 4.8- Teores médios de alumínio e desvios padrão (n = 3) em amostras de infusões de chá e chá gelado**

<b>Amostra</b>	<b>WCAES (mg/L)</b>	<b>ICP OES (mg/L)</b>
Chá gelado 1	3,4 ± 0,5	3,5 ± 0,2
Chá gelado 2	3,5 ± 0,2	3,2 ± 0,1
Chá gelado 3	2,3 ± 0,1	2,1 ± 0,1
Mate 1	1,5 ± 0,2	1,2 ± 0,1
Mate 2	1,0 ± 0,1	0,9 ± 0,1
Camomila	3,9 ± 0,2	3,8 ± 0,1
Chá preto	52,1 ± 1,1	48,3 ± 0,9

#### **4.4. Conclusões**

A WCAES foi eficiente para a determinação de alumínio em amostras de infusões de chás e chás gelados. O programa de aquecimento foi otimizado considerando-se a composição da amostra de infusão de chá. Curvas de pirólise e atomização também foram obtidas utilizando uma amostra de chá gelado e os resultados foram similares aos obtidos com a infusão de chá. Dessa forma, o mesmo programa de aquecimento pode ser aplicado para os dois tipos de amostras. Os limites de detecção e quantificação obtidos, embora inferiores aqueles obtidos com WCAAS [61], foram adequados para a determinação de alumínio, uma vez que esse elemento comumente encontra-se em elevadas concentrações nesses tipos de amostras.

## **CAPÍTULO 5:**

**Proteólise enzimática e digestão *in situ* como estratégias analíticas para determinação de céσιο e estrôncio em amostras de peixes**

## 5.1. Introdução

Peixe é altamente recomendável para a dieta humana, uma vez que esse alimento possui elevados níveis de proteínas e alguns nutrientes como ácidos graxos. Por outro lado, estudos prévios têm demonstrado que o consumo de peixe pode ser fonte de exposição a elementos tóxicos [65]. O peixe tem sido indicado como principal via de intoxicação do ser humano por mercúrio, por exemplo. Mesmo em regiões com níveis normais de mercúrio em água, podem ser observados níveis altos desse elemento em peixes, pois ao ser incorporado na cadeia trófica o mercúrio é biomagnificado e bioacumulado devido a sua longa meia-vida nos organismos [66]. Outros poluentes também podem ser acumulados em peixes e transferidos para seres humanos.

Os procedimentos analíticos para determinação de minerais em peixes frequentemente envolvem uma etapa de digestão da amostra com subsequente quantificação do analito utilizando técnicas bem consolidadas como por exemplo a espectrometria de absorção atômica em chama (F AAS), espectrometria de emissão óptica com plasma acoplado indutivamente (ICP OES) e a espectrometria de massas com plasma acoplado indutivamente (ICP-MS). A digestão da amostra pode ser realizada por meio de utilização de ambientes altamente pressurizados e a utilização de ácidos concentrados ou diluídos. O preparo da amostra é comumente a etapa mais laboriosa de um procedimento analítico, que consome mais tempo e mais suscetível a contaminação e perdas do analito, sendo frequentemente reconhecida como a principal fonte de erros do procedimento [67]. Uma alternativa para simplificar essa etapa é realizar a digestão da amostra no próprio atomizador em procedimentos que envolvam atomização eletrotérmica. Essa estratégia tem sido realizada através da utilização de uma forte mistura oxidante e um programa de aquecimento adequado em GF AAS [43,44]. Apesar da engenhosidade dessa abordagem, alguns problemas relacionados à homogeneidade da suspensão da amostra introduzida no atomizador podem comprometer a exatidão e precisão da análise.

Proteólise é o processo de degradação das proteínas que é realizado por enzimas. Proteases são enzimas de ocorrência natural, presentes em todos os organismos vivos, que são capazes de quebrar as ligações peptídicas durante o

processo de digestão [68]. Papaína, por exemplo, é uma protease derivada do fruto da papaya (*Carica papaya*) e algumas outras plantas, sendo extraída a partir do látex do fruto da papaia [69]. Essa enzima tem várias aplicações, como por exemplo, pode ser utilizada em formulações de medicamentos bem como em amaciantes de carnes. Papaína também é utilizada em digestões e extrações enzimáticas para determinação de vitaminas e carotenóides em alimentos [70,71]. Digestões e extrações enzimáticas também têm sido utilizadas para a determinação total de elementos traço [72] e especiação química [73]. Uma extensa revisão sobre essa estratégia foi publicada por Bermejo e colaboradores [74].

No presente trabalho, papaína foi utilizada para quebrar as ligações peptídicas de proteínas de peixes resultando assim em suspensões homogêneas, as quais adicionou-se uma mistura oxidante contendo  $\text{HNO}_3$  e  $\text{H}_2\text{O}_2$  com o objetivo de realizar a digestão da amostra no próprio atomizador de um WCAES portátil, seguida da determinação de césio e estrôncio.

Césio tem características similares ao potássio e é facilmente absorvido e concentrado em músculos [75]. Estrôncio, por outro lado, pode substituir o cálcio em ossos e permanecer no corpo humano por um longo período de tempo. Problemas ósseos em crianças podem ocorrer ao consumirem alimentos com elevados teores de estrôncio, especialmente se a dieta é baixa em cálcio e proteínas. Corpos de águas próximos a usinas nucleares têm o potencial para contaminação com césio e estrôncio caso acidentes nucleares ocorram [76]. Além disso, estrôncio é um mineral presente em suplementos usados em criadouros de peixes, dessa forma um método efetivo e portátil para a determinação desses metais é altamente desejável.

## **5.2. Experimental**

### **5.2.1. Materiais, reagentes e amostras**

Toda vidraria utilizada foi devidamente descontaminada em  $\text{HNO}_3$  10% v/v. Ácido nítrico concentrado (Fischer, Pittsburg, PA, EUA), peróxido de hidrogênio 30% m/m (Acros, Morris Plains, NJ, EUA) e papaína (Acros) foram empregados para o preparo da amostra. Soluções de Ca, Cs, Fe, K, Mg e Sr foram preparadas a partir

de soluções estoque (SPEX CertPrep, Metuchen, NJ, EUA). Três amostras de peixes (atum, salmão e tilápia) foram adquiridas no comércio da cidade de Winston-Salem, Carolina do Norte, EUA.

### 5.2.2. Preparo das amostras

Primeiramente pesou-se 0,200 g da amostra de peixe (*in natura*) diretamente em um tubo de polietileno de 15,0 mL. Em seguida, foram adicionados 300 µL de solução de papaína 2,5 g/L. O tubo foi agitado em um agitador vórtex por 2 min e logo após foi aquecido por 20 min a uma temperatura de aproximadamente 60 °C. Após esse período, o tubo foi aferido para um volume de 2,0 mL com água desionizada e novamente agitado por mais 2 min. Finalmente, ao tubo foram adicionados 5,0 mL de uma mistura oxidante composta por HNO<sub>3</sub> 1 % v/v e H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> 15% v/v e aferido até o volume de 10,0 mL com água desionizada.

Para fins de comparação, as concentrações de Cs e Sr nas amostras de peixes foram determinadas por ICP OES. Nesse caso, 1,0 g do músculo de peixe fresco (*in natura*) foi devidamente pesado em um tubo de ensaio e um volume de 15 mL de HNO<sub>3</sub> concentrado foi adicionado. A mistura foi deixada em repouso por 12 h e após esse período foi adicionado 5 mL de H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> 30% m/m. A mistura foi aquecida a 100 °C em um bloco digestor por aproximadamente 6 h. Finalmente, o digerido foi transferido para um tubo de 25 mL e o volume completado com solução de HCl 5% v/v [77].

Tanto para medidas envolvendo WCAES como para ICP OES, tomou-se o devido cuidado para que a coleta do músculo fosse realizada na mesma região do peixe, objetivando melhor precisão das medidas.

### 5.2.3. Instrumentação

O protótipo utilizado está esquematicamente apresentado na FIGURA 5.4 (página 60). O sistema é constituído por um filamento de tungstênio de 24 V e 250 W como atomizador, lente colimadora e um pequeno espectrômetro com uma fenda de 25 µm (USB 4000, Ocean Optics, Dunedin, FL, EUA). Todo o arranjo instrumental é montado em um trilho de cerâmica de 1 x 6 x 30 cm (altura x largura x comprimento) e é facilmente transportado. O filamento é abrigado em uma cela



metálica de 2,54 cm que foi esquematicamente desenhada para fornecer um melhor controle da radiação que alcança o detector. Informações adicionais sobre esse protótipo podem ser encontradas na literatura [34].

Para a realização das medidas, a imagem do atomizador foi posicionada adjacente ao espectrômetro, conforme apresentado na FIGURA 5.4. Uma vazão constante de 1,5 L/min da mistura gasosa composta por 10% de H<sub>2</sub> em Ar foi utilizada em todas as medidas tendo a finalidade de proteger o filamento de processos oxidativos e, dessa forma, proporcionando um maior tempo de vida útil ao mesmo. O atomizador foi resistivamente aquecido por uma fonte elétrica com tensão controlada (Victor, VI-LU1-EU-BM, Andover, MA, EUA). Uma simples interface operada por um programa Visual Basic (VB) possibilitou um controle preciso da corrente elétrica aplicada na faixa de 0 - 15 A. A interface e o espectrômetro foram controlados por um microcomputador. Devido à larga diferença entre os comprimentos de onda de emissão dos analitos (852,1 e 460,7 nm para Cs e Sr, respectivamente), os elementos foram determinados separadamente, em duas janelas espectrais distintas. Um ICP OES (Teledyne Leeman Labs, Hudson, NH, EUA) foi usado para medidas comparativas a fim de avaliar a exatidão do procedimento desenvolvido.

#### **5.2.4. Análises por WCAES**

Uma alíquota de 50 µl da amostra foi diretamente introduzida no atomizador com uma micropipeta 20 – 200 µl (Eppendorf, Westbury, NY, EUA) e submetida ao programa de aquecimento da TABELA 5.1. Diferentes correntes de pirólise e atomização foram usadas para cada analito. Uma etapa de limpeza no final da análise foi utilizada para evitar efeitos de memória. A melhor razão sinal/ruído para ambos analitos foi obtida utilizando tempo de aquisição de 100 ms. Quinze sucessivos espectros foram coletados durante a etapa de atomização. Em geral, o primeiro sinal de emissão surgiu com tempo de atomização de 0,8 s e a linha de base foi retomada com 1,4 s.

### **5.2.5. Parâmetros de desempenho**

Os limites de detecção foram determinados como 3 vezes o desvio padrão de 20 medidas do branco dividido pelo coeficiente angular da curva analítica de calibração. O branco analítico foi composto por uma solução contendo 75 mg/L de papaína, HNO<sub>3</sub> 0,5 % v/v e H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> 15% v/v. A precisão do procedimento desenvolvido foi calculada a partir de 10 medidas consecutivas de uma amostra com adição de 2,5 µg/L de Cs e 100 µg/L de Sr. A exatidão foi determinada por comparação dos resultados obtidos por WCAES com os obtidos por ICP OES. Ensaio de adição e recuperação foram realizados para Cs, uma vez que esse elemento não foi detectado nas amostras por WCAES e por ICP OES.

## **5.3. Resultados e discussão**

### **5.3.1. Avaliação da papaína como alternativa para pré-digestão de amostras de peixes**

Papaína é uma eficiente enzima proteolítica capaz de degradar qualquer proteína que contenha resíduos de cisteína. Neste trabalho papaína foi avaliada para a digestão de amostras de peixes objetivando melhor homogeneização da amostra, resultando assim em melhor precisão e exatidão nas análises diretas por WCAES.

O procedimento de preparo da amostra utilizando papaína foi otimizado. A concentração da solução de papaína utilizada para pré-digerir a amostra de peixe *in natura* foi estabelecida como a menor concentração possível para a obtenção de uma suspensão visualmente homogênea. Em concentrações inferiores a 2,5 g/L, soluções pouco homogêneas foram obtidas. Dessa forma, a concentração ótima da solução de papaína foi de 2,5 g/L. Após a adição da protease aos tubos contendo a amostra que foi previamente pesada, a mistura é levada a aquecimento durante 20 minutos, pois se sabe que a máxima atividade enzimática da papaína ocorre na faixa de 60 – 70 °C. Finalmente, ao tubo foram adicionados 5,0 mL de uma mistura oxidante composta por HNO<sub>3</sub> 1 % v/v e H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> 15% v/v e aferido até o volume de 10,0 mL com água destilada-desionizada. Em procedimentos baseados em atomização eletrotérmica, a adição da mistura oxidante e a aplicação

de um programa de aquecimento adequado possibilita a realização da digestão da amostra no próprio atomizador, diminuindo ou eliminando interferências que são resultantes da presença de concomitantes orgânicos na matriz da amostra.

As FIGURAS 5.1 e 5.2 ilustram o aspecto da amostra antes do procedimento e a FIGURA 5.3 ilustra a suspensão obtida após todo o procedimento. A solução da papaína deve ser preparada imediatamente antes do preparo da amostra, uma vez que a protease perde gradualmente sua atividade enzimática. Nenhum estudo foi feito para avaliar a extensão deste decréscimo, no entanto misturas visualmente pouco homogêneas foram obtidas quando utilizado soluções de papaína com mais de 1 h de preparo.



**FIGURA 5.1- Seleção de uma fração da amostra**



**FIGURA 5.2- Amostra e solução de papaína**

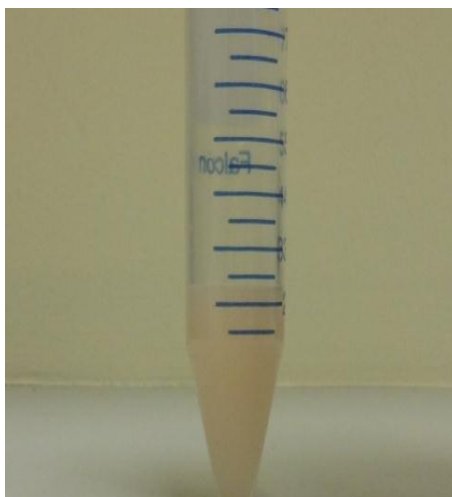


FIGURA 5.3- Suspensão da amostra

### 5.3.2. Avaliação dos parâmetros instrumentais e analíticos do WCAES

O protótipo do WCAES utilizado em todas as medidas está esquematicamente representado na FIGURA 5.4. Ao contrário do protótipo utilizado nos estudos anteriores, o sistema utilizado neste trabalho possui dimensões reduzidas, o que possibilita a aplicação *in situ* do procedimento proposto. Outra vantagem desse sistema é a utilização de uma cela utilizada metálica que possui uma abertura ajustável, o que possibilita um maior controle da radiação que chega ao detector. Alguns parâmetros foram avaliados com o objetivo de estabelecer as condições que resultasse em um melhor desempenho analítico.

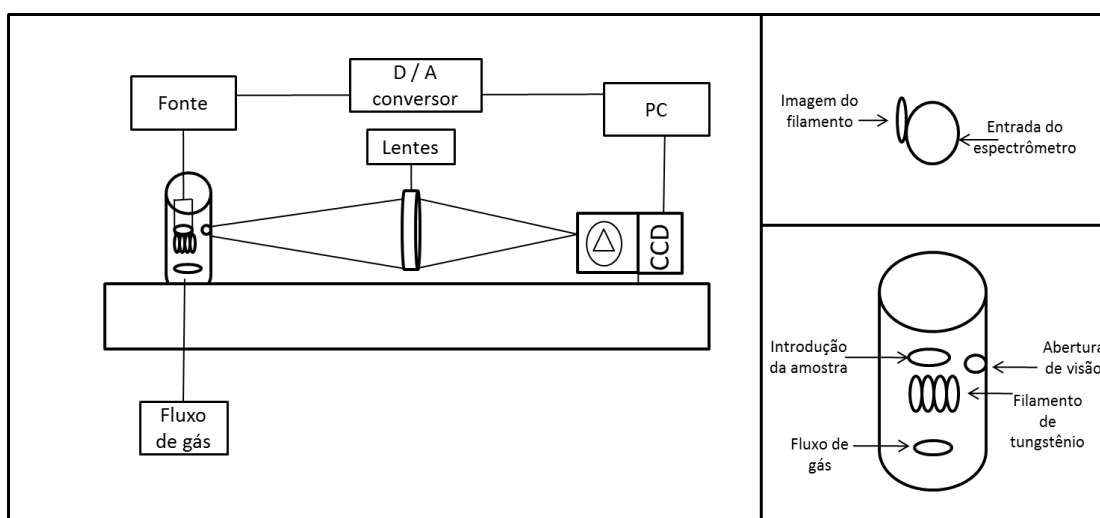


FIGURA 5.4- Esquema do WCAES

### **5.3.2.1. Posição do filamento**

A região de observação foi avaliada e sinais analíticos mais intensos foram obtidos com a imagem do filamento posicionada como mostra a FIGURA 5.4. Nessa região de observação também se obteve a melhor separação temporal entre o sinal de fundo e o sinal do analito. Sabe-se que atomizadores tipo filamento são caracterizados por apresentarem elevados gradientes de temperatura. Dessa forma, obter a melhor região de observação é crucial para a redução de interferências que são resultantes dos processos de recombinação do analito com os concomitantes da amostra.

### **5.3.2.2. Vazão de gás de purga**

Devido à complexidade da matriz da amostra, se fez necessário a utilização de uma vazão de gás de purga de 1,5 L/min, valor esse maior do que os valores comumente encontrados na literatura. Isso resultou em uma atmosfera redutora mais concentrada ocasionando uma maior proteção ao filamento, aumentando o tempo de vida do mesmo. Suzuki e Ohta [78] mostraram que a adição de até 20% v/v de hidrogênio ao gás de purga aumentou a vida útil do filamento, reduziu processos de interferências e aumentou o sinal analítico.

A magnitude do sinal analítico não diferiu daquela obtida quando utilizado 1,0 L/min, dessa forma uma vazão de 1,5 L/min não provocou diluição da nuvem atômica o que poderia afetar a intensidade do sinal de emissão.

### **5.3.2.3. Volume de amostra**

Um filamento de tungstênio de 250 W foi utilizado como atomizador. Apesar de esse tipo de filamento possibilitar uma injeção de até 70 µL de amostra aquosa, o mesmo não ocorre com injeção desse volume da suspensão, a qual possui diferentes características físicas. O volume utilizado em todas as medidas foi de 50 µL.

#### **5.3.2.4. Comprimentos de onda monitorados**

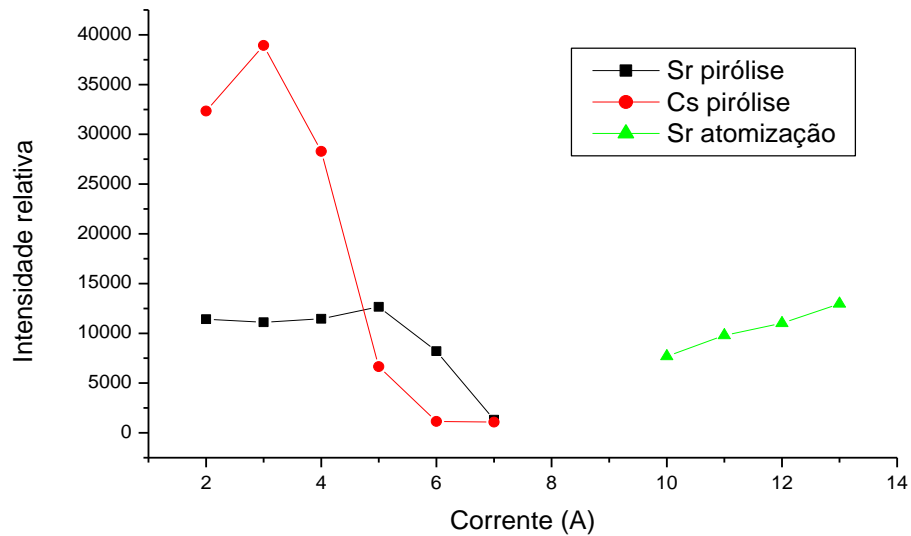
Por possuírem comprimentos de onda distintos, estrôncio e céσιο foram monitorados em duas janelas espectrais distintas. Por esse motivo não foi possível a realização simultânea das medidas. Estrôncio foi monitorado no comprimento de onda de 460,7 nm. Céσιο apresenta duas linhas de emissão intensas na região de 850 – 860 nm, sendo a linha de emissão no comprimento de onda de 852,1 nm a mais intensa, essa foi fixada em todos os estudos desse elemento.

#### **5.3.3. Otimização do programa de aquecimento**

Para a secagem da amostra, foi utilizado o programa proposto por Hanna e colaboradores [79] no qual a evaporação da amostra é realizada automaticamente pela aplicação de uma corrente elétrica constante e o fim da secagem é indicado por uma abrupta variação do valor de diferença de potencial.

Devido à complexidade da matriz, fez-se necessário a inclusão de uma etapa de pirólise no programa de aquecimento. A otimização foi feita com a adição dos analitos em uma amostra previamente selecionada. Em uma temperatura de 5,0 A (1597 °C) não ocasionou perda de Sr, ao passo que a partir de 4,0 A (1288 °C) já ocorreu uma queda no sinal analítico do Cs (FIGURA 5.5). No entanto, a aplicação de 4,0 A na etapa de pirólise resultou em uma maior precisão analítica e maior tempo de vida útil do filamento. Portanto, esse foi o valor fixado na etapa de pirólise para Cs.

A inclusão da etapa de pirólise no programa de aquecimento é importante porque atua na decomposição térmica do alto teor de concomitantes presentes na amostra que foi minimamente diluída.



**FIGURA 5.5** Curvas de pirólise e atomização

Na etapa de atomização do Sr foi utilizada a máxima corrente elétrica suportada pela fonte, ou seja, 13 A (3277 °C). Para a janela espectral utilizada na determinação de Sr, tal corrente aplicada na etapa de atomização não ocasionou intenso sinal de fundo, sendo possível assim a separação do sinal analítico e do sinal de fundo, sem a saturação do detector. Para Cs, correntes aplicadas mais elevadas proporcionaram sinais mais intensos. No entanto, o elevado sinal de fundo observado para essa janela espectral somente viabilizou a utilização de 10 A (3141 °C) na etapa de atomização, pois em correntes mais elevadas ocorreu a saturação do detector, o que comprometeu a separação do sinal analítico e, conseqüentemente, a calibração analítica. Dessa forma, não foi necessária a otimização da corrente elétrica aplicada na etapa de atomização do Cs.

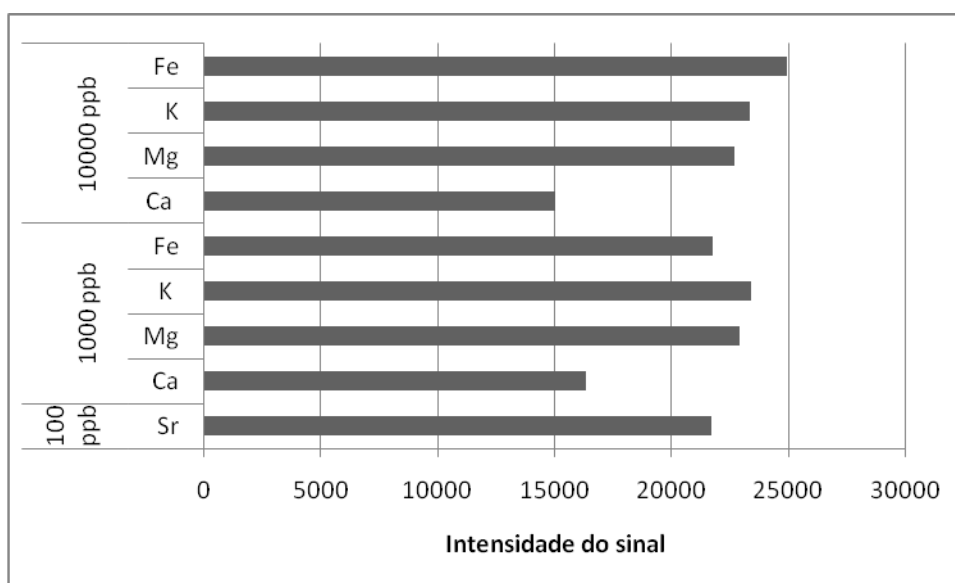
Ao final do programa de aquecimento foi aplicada uma corrente elétrica de 4 A por 5 s a fim de que fosse removido qualquer resíduo de amostra, permitindo assim que a próxima medida fosse realizada sem efeito de memória. O programa de aquecimento otimizado está apresentado na TABELA 5.1. As temperaturas correspondentes a cada corrente elétrica aplicada foram estimadas com base em dados apresentados por Salido e colaboradores [80], exceto para o valor de 13 A, cujo valor de temperatura foi estimado baseado em informações fornecidas pelo fabricante da lâmpada de retroprojeto da qual foi extraído o filamento de tungstênio utilizado neste estudo.

**TABELA 5.1- Programa de aquecimento. a: corrente elétrica utilizada na atomização de estrôncio, b: corrente elétrica utilizada na atomização de céσιο.**

<b>Etapa</b>	<b>Corrente elétrica (A)</b>	<b>Temperatura (°C)</b>	<b>Tempo (s)</b>
Secagem		Programa Visual Basic	
Pirólise	5,0 <sup>a</sup> , 4,0 <sup>b</sup>	1597 <sup>a</sup> , 1288 <sup>b</sup>	5,0
Atomização	13,0 <sup>a</sup> , 10,0 <sup>b</sup>	3277 <sup>a</sup> , 3141 <sup>b</sup>	1,5
Limpeza	4,0	1288	5,0

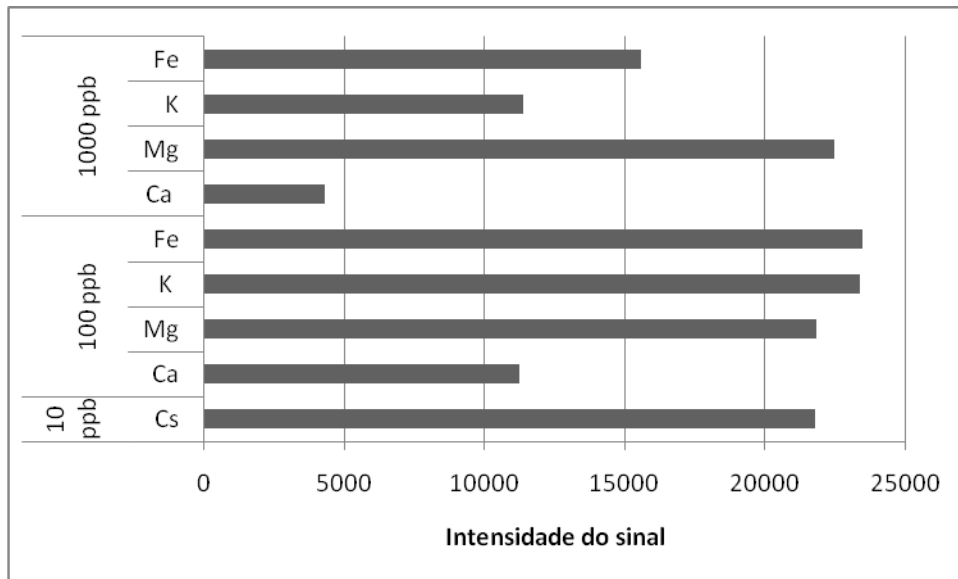
### 5.3.4. Avaliação de interferentes

Avaliou-se o comportamento dos analitos em presença de Ca, Fe, K e Mg. Os estudos foram conduzidos com os interferentes na concentração de 1, 10 e 100 vezes em relação aos analitos. Os resultados (FIGURAS 5.6 E 5.7) possibilitaram inferir que Ca foi o interferente mais severo, provocando uma redução no sinal analítico quando em concentração 10 vezes superior àquela do analito. Quando a solução contém o analito e o interferente na mesma concentração, nenhuma interferência significativa foi observada.



**FIGURA 5.6- Avaliação de interferentes no sinal de emissão de 100 µg/L de Sr ( $\lambda = 460,7$  nm)**

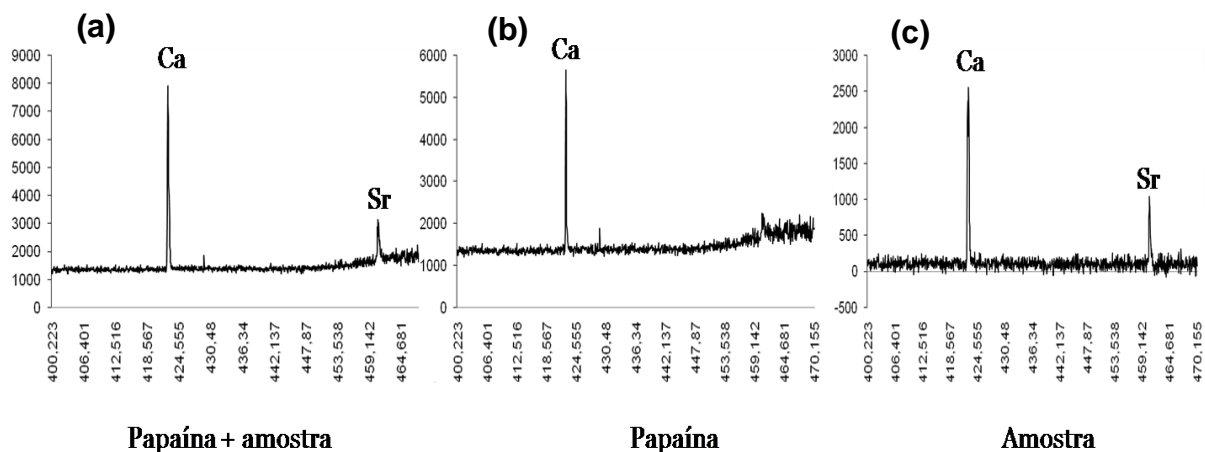




**FIGURA 5.7- Avaliação de interferentes no sinal de emissão de 10 µg/L de Cs ( $\lambda = 852,1$  nm)**

No entanto, no procedimento proposto, cálcio não se mostrou um fator limitante na análise, pois as amostras analisadas não contêm elevadas concentrações desse elemento e o branco analítico já contém uma elevada concentração de cálcio que é resultante da papaína adicionada em todas as soluções analíticas de calibração. Assim, concentração de cálcio na amostra não contribuiu para uma elevação apreciável da concentração total de cálcio. Tal conclusão pode ser observada analisando os espectros de emissão obtidos para o branco analítico composto por papaína e água, para a amostra e, ainda, o espectro líquido obtido a partir da subtração desses espectros (FIGURA 5.8). Analisando os gráficos, pode-se notar que a maior contribuição de cálcio é proveniente da papaína e uma fração menor do sinal de emissão de cálcio ( $\lambda = 422,7$  nm) é proveniente da amostra.

Estudos também foram realizados fazendo a adição de 10 µg/L de Cs em uma amostra. As intensidades obtidas estão dentro da faixa daquelas obtidas no estudo de interferentes, no qual somente foram utilizadas soluções aquosas de Cs e Ca nas concentrações 10 e 100 µg/L, respectivamente. Com isso pode-se enfatizar que a calibração analítica feita na presença de papaína resulta em uma concentração de Ca que compensa qualquer efeito de interferência provocado por esse elemento na análise das amostras.



**FIGURA 5.8- Espectros de emissão – avaliação da interferência provocada por cálcio: (a) suspensão da amostra de peixe (b) branco analítico – solução de papaína (c) espectro líquido. Cada espectro é apresentado em escala diferente para melhor visualização do sinal.**

### 5.3.5. Aplicação analítica

As TABELAS 5.2 e 5.3 contêm os resultados das quantificações em três amostras de peixes (atum, salmão e tilápia). Os resultados obtidos estão concordantes com os obtidos por ICP OES para um nível de confiança de 95%, concluindo assim que a interferência provocada pelo cálcio não comprometeu a exatidão do procedimento proposto.

**TABELA 5.2- Teores médios ( $\mu\text{g}/\text{kg}$ ) e desvios padrão ( $n = 3$ ) de estrôncio**

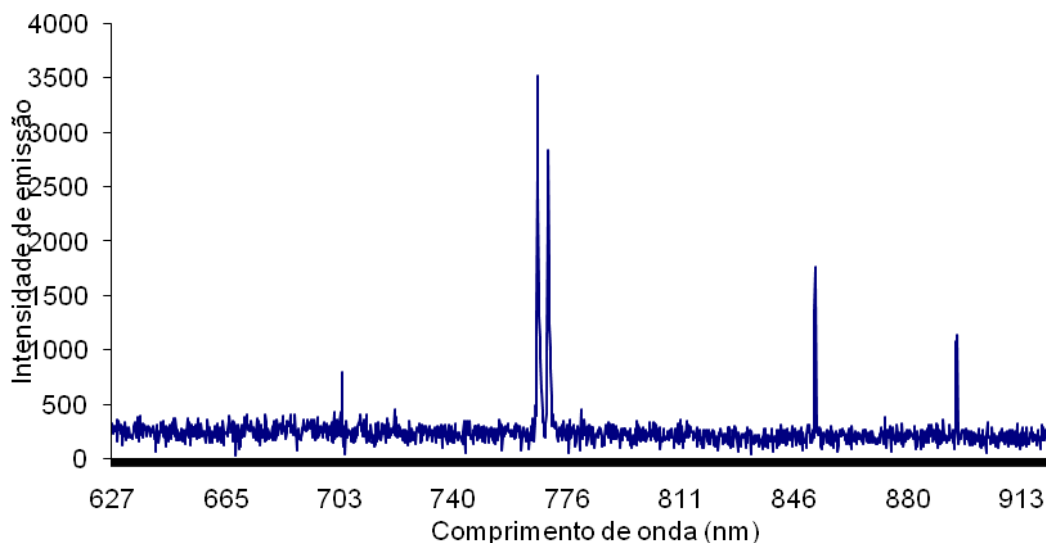
Amostra	WCAES ( $\mu\text{g}/\text{kg}$ )	ICP OES ( $\mu\text{g}/\text{kg}$ )
Atum	$38 \pm 4$	$43 \pm 6$
Tilápia	$95 \pm 6$	$90 \pm 9$
Salmão	$155 \pm 28$	$154 \pm 25$

Césio não foi detectado nem pelo procedimento desenvolvido e nem pelo método de referência (ICP OES). Portanto, um estudo de adição e recuperação fez-se necessário para a avaliação da exatidão do procedimento. O estudo foi realizado para três amostragens distintas. Os resultados são expressos em  $\mu\text{g}/\text{L}$  de

suspensão. A FIGURA 5.9 mostra um espectro de emissão obtido a partir da análise de uma amostra com adição de 2,5 µg/L de césio.

**TABELA 5.3- Teores médios (µg/L) e desvios padrão (n = 3) de césio (µg/L)**

Amostra	WCAES		
	Adicionado	Encontrado	Recuperação (%)
	0	< 0,23	-
Atum 1	2,5	2,73 ± 0,16	109
	0	< 0,23	-
Atum 2	2,5	2,81 ± 0,09	112
	0	< 0,23	-
Atum 3	2,5	2,71 ± 0,12	108
	0	< 0,23	-
Salmão 1	2,5	2,71 ± 0,14	108
	0	< 0,23	-
Salmão 2	2,5	2,67 ± 0,08	107
	0	< 0,23	-
Salmão 3	2,5	2,56 ± 0,07	106
	0	< 0,23	-
Tilápia 1	2,5	2,54 ± 0,08	102
	0	< 0,23	-
Tilápia 2	2,5	2,54 ± 0,09	101
	0	< 0,23	-
Tilápia 3	2,5	2,44 ± 0,11	97



**FIGURA 5.9-** Fragmento de espectro obtido a partir da adição de 2,5 µg/L de césio em uma amostra de salmão

### 5.3.6. Parâmetros de desempenho

Alguns parâmetros de desempenho foram estabelecidos. Os limites de detecção e quantificação foram respectivamente 75 e 255 ng/g para o Sr, e 3,5 e 11,5 ng/g para o Cs. O branco analítico utilizado para os cálculos dos parâmetros foi composto por uma solução 0,075 g/L de papaína. A precisão analítica, calculada como desvio padrão relativo a partir de dez medidas de uma amostra com adição do analito, foi 7,3% e 6,8%, para Sr e Cs respectivamente. Os resultados foram comparados com os obtidos por ICP OES. As determinações por ICP OES foram realizadas seguindo procedimento proposto por Bordajandi e colaboradores [77]. Estudo de adição e recuperação do analito foi realizado para Cs e os teores recuperados variaram de 97 a 112%.

### 5.4. Conclusões

O procedimento desenvolvido é simples, rápido e usa menos reagentes tóxicos do que os procedimentos convencionais. Além disso, o WCAES é potencialmente portátil e pode ser utilizado em aplicações de campo e no controle de alimentos. A sensibilidade obtida é comparável a tradicionais técnicas, tais como GF AAS e ICP-MS. As principais limitações do procedimento são sua relativa baixa precisão, a instabilidade da solução de papaína e o significativo decréscimo do

tempo de vida útil do filamento (de aproximadamente 200 para 100 ciclos de aquecimento).

## **CAPÍTULO 6**

### **Avaliação do efeito de cobalto em medidas de cromo em WCAES**

## 6.1. Introdução

Desde a proposição da espectrometria de emissão atômica em filamento de tungstênio (WCAES) tem-se observado novos arranjos na instrumentação e estabelecimento de procedimentos para determinação de elementos metálicos, especialmente aqueles com baixa energia de excitação. Essa última observação, se deve ao fato do filamento de tungstênio ser um atomizador aberto, apresentando assim elevados gradientes de temperatura. Queiroz e colaboradores [23] evidenciaram diferenças de temperatura de até 1000 °C entre a superfície do atomizador e a fase gasosa. Além de afetar diretamente na sensibilidade, vários processos de interferências podem ocorrer devido às zonas frias que são resultantes do caráter não isotérmico típico de atomizadores abertos. Para contornar esse problema, Donati e colaboradores [28] propuseram a utilização de dois filamentos como sistema de atomização, visando no aumento da temperatura da fase gasosa na etapa de atomização. Usando esse arranjo os autores observaram que os limites de detecção obtidos para elementos refratários melhoraram aproximadamente 40 vezes para V e 5 vezes para Ti. Sinais de emissão para Ag, Cu e Sn foram observados pela primeira vez em um sistema WCAES. Por outro lado, a incorporação de outro filamento no sistema de atomização resultou na adição de uma segunda fonte elétrica para a alimentação do mesmo, afetando assim na portabilidade do instrumento.

Desde o estabelecimento do conceito STPF (*stabilized temperature platform furnace*) [81], modificadores químicos têm sido sistematicamente utilizados em GF AAS. Usualmente, um modificador químico é uma solução concentrada de um ou mais componentes químicos que estabilizam termicamente o analito e, conseqüentemente, a matriz da amostra pode ser removida por volatilização durante a etapa de pirólise sem que ocorram perdas do analito [82]. Esse procedimento pode diminuir ou até mesmo eliminar os processos de interferências causados pelos concomitantes da amostra. Apesar de muito utilizados em GF AAS, modificadores químicos ainda não foram sistematicamente avaliados para uso em atomizadores metálicos. Aproximadamente 30 compostos foram testados em atomizadores de tungstênio e a ação desses modificadores difere se o atomizador é um filamento ou tubo, devido à natureza fechada deste último sistema de atomização, que é

caracterizado pela proximidade ideal do comportamento isotérmico. Os modificadores mais amplamente utilizados em atomização eletrotérmica com filamentos de tungstênio são  $\text{NH}_4\text{H}_2\text{PO}_4$  [83-84], ácido ascórbico [85- 86] e Pd + Mg [87]. Na maioria dos casos, o modificador age na estabilização térmica do analito possibilitando o emprego de temperaturas mais elevadas na etapa de pirólise, diminuindo as interferências e resultando assim em melhor sensibilidade. No entanto, algumas dificuldades associadas a esses compostos usados como modificadores foram descritas. Ácido ascórbico, por exemplo, causou um decréscimo na vida útil do filamento devido ao fato de que esse composto causa uma pronunciada deposição de resíduos de carbono na superfície do filamento [86].

Por outro lado, a presença de compostos de carbono causou um aumento nos sinais analíticos de Se em procedimentos envolvendo ICP OES [88-89] e ICP-MS [90-91]. Uma hipótese que explica ambos os efeitos em ICP OES e ICP-MS foi proposta por Grindlay e colaboradores [92]. Segundo esses autores, Se sofre uma reação de transferência de carga com íons  $\text{C}^+$ , aumentando assim a população de íons  $\text{Se}^+$ . Essa primeira etapa seria então responsável pelo aumento do sinal observado em ICP-MS. Em uma segunda etapa, a recombinação íon/elétron aumenta a população de átomos excitados, aumentando assim o sinal observado em ICP OES. Esse mecanismo ocorre entre átomos de Se e C, devido ao fato de Se possuir energia de ionização próxima à energia de ionização de C. Alguns autores têm utilizado fontes de carbono a fim de aumentar a sensibilidade nas medidas de Se e As usando essas técnicas [93-94].

Como parte deste trabalho de tese, uma nova abordagem para aumentar a sensibilidade de cromo nas determinações por WCAES foi discutida e aplicada. O efeito de cobalto no processo de excitação de átomos de Cr foi avaliado com base nos mesmos mecanismos que ocorrem entre átomos de Se e C. Para isso, uma elevada concentração de Co foi empregada em medidas de Cr por WCAES e ICP-MS. O uso das duas técnicas teve como objetivo verificar a ocorrência dos mecanismos propostos por Grindlay e colaboradores [92] e, assim, estabelecer uma hipótese para a ação de Co no aumento do sinal de emissão de Cr. Finalmente, os resultados desse estudo foram aplicados na determinação de Cr por WCAES em três amostras de água mineral e um material de referência certificado.



## 6.2. Experimental

### 6.2.1. Instrumentação

A FIGURA 3.1 (página 21) ilustra o sistema WCAES utilizado em todas as medidas. Uma descrição do funcionamento do protótipo já foi apresentada no Capítulo 2.

Um espectrômetro de massas com plasma acoplado indutivamente (ICP-QMS, 820-MS, Varian, Mulgrave, Austrália) foi utilizado com objetivo de verificar a influência de Co no aumento da população de íons  $\text{Cr}^+$ . O sistema é equipado com uma interface de colisão-reação (CRI) e foi operado a uma potência de radiofrequência de 1.4 KW, vazão do gás do plasma e gás auxiliar de 18,0 e 1,80 L/min, respectivamente.

Um forno de micro-ondas com cavidade (Ethos 1600, Milestone-MLS, Sorisole, Itália) foi utilizado para o preparo do material de referência certificado.

### 6.2.2. Reagentes, amostras e preparo da amostra

Soluções de Co foram preparadas a partir de  $\text{CoSO}_4$  sólido em água destilada-desionizada. Soluções de Cr, K, Mg, Rb, Ti, foram preparadas a partir da diluição de soluções estoque 1000 mg/L. Toda vidraria foi mantida em  $\text{HNO}_3$  10% v/v por 24 h antes dos procedimentos. Água ultra-pura foi obtida usando o sistema Milli-Q<sup>®</sup> (Millipore, Bedford, MA, EUA).  $\text{HNO}_3$  concentrado (Synth, Diadema, SP, Brasil) e peróxido de hidrogênio 30% v/v (Synth) foram utilizados no preparo da amostra. Três amostras de água mineral foram adquiridas no comércio local.

A fim de verificar a exatidão do procedimento proposto, um material de referência certificado (tecido de musculo de peixe) do National Research Council do Canadá (DORM-2) foi analisado. Alíquotas de aproximadamente 250,0 mg foram pesadas diretamente em um frasco de PTFE e 5,0 mL de  $\text{HNO}_3$  7,0 mol/L mais 3,0 mL de  $\text{H}_2\text{O}_2$  30% m/m foram adicionados em cada frasco. A mistura foi digerida em um forno de micro-ondas com cavidade e frascos fechados e, em seguida, o digerido foi transferido para frascos de 15 mL e o volume final ajustado para 10 mL com água desionizada.

### **6.2.3. Avaliação do efeito de cobalto sobre o sinal de cromo**

O efeito de Co no sinal de emissão do Cr ( $\lambda = 425,2$  nm) foi avaliado pela adição de elevadas concentrações de Co em soluções de Cr. Dessa forma, soluções com 5,0 mg/L Cr foram preparadas em presença de concentrações variadas de Co (50, 100, 250, 500, 700 e 1000 mg/L). Para cada concentração de Co avaliada, uma medida do branco também foi feita. Em um primeiro momento, as medidas foram feitas usando WCAES. Uma alíquota de 20  $\mu$ L de solução foi diretamente injetada no atomizador usando uma micropipeta (Eppendorf 10-100  $\mu$ L, Brinkman, Westbury, NY, EUA). O programa de aquecimento foi aplicado sob uma vazão de 1,0 L/min do gás de purga ( $H_2$  10% + Ar 90%).

Após estabelecer a concentração de Co na qual o maior sinal de emissão de Cr foi obtido, o programa de aquecimento usado nas medidas por WCAES foi otimizado (TABELA 6.1). As voltagens aplicadas nas etapas de pirólise e atomização foram determinadas pelas curvas de pirólise e atomização. Para fins de comparação, o programa foi avaliado para medidas de Cr com e sem a presença de Co.

Finalmente, para avaliar o aumento da população de íons  $Cr^+$  na presença de elevada concentração de Co um ICP-MS também foi utilizado. Medidas de soluções de 5  $\mu$ g/L Cr na presença de 1000  $\mu$ g/L Co foram realizadas e os sinais foram monitorados nas razões massa/carga 52 e 53.

### **6.2.4. Parâmetros de desempenho**

Parâmetros de desempenho foram determinados através de medidas empregando soluções com e sem cobalto por WCAES. Os limites de detecção (LOD) foram calculados como 3 vezes o desvio padrão de 20 medidas consecutivas do branco analítico dividido pelo coeficiente angular da curva analítica de calibração. A exatidão do método foi checada pela determinação de Cr em um material de referência certificado (DORM-2). Estudos de adição e recuperação também foram feitos para três amostras de água mineral. Todas as amostras foram preparadas em presença de Co 1000 mg/L.

### 6.3. Resultados e discussão

#### 6.3.1. Avaliação do efeito de cobalto na atomização de cromo em WCAES

Como hipótese de trabalho, supõe-se que Co e Cr, por possuírem energias de ionização relativamente próximas (760,4 e 652,9 KJ/mol, respectivamente), poderiam participar de processos similares aos descritos anteriormente para C e Se. Assim, foi avaliado o efeito de Co sobre o sinal de Cr em WCAES. Observa-se na FIGURA 6.1 um significativo aumento do sinal de emissão de cromo na presença de 1000 mg/L de cobalto. A solução de cobalto foi preparada a partir de  $\text{CoSO}_4$  sólido e alguns testes foram realizados com soluções preparadas a partir de outros sais de cobalto e obteve-se o mesmo efeito, o que sugere então que o aumento do sinal de emissão de Cr é provocado pela presença de Co.

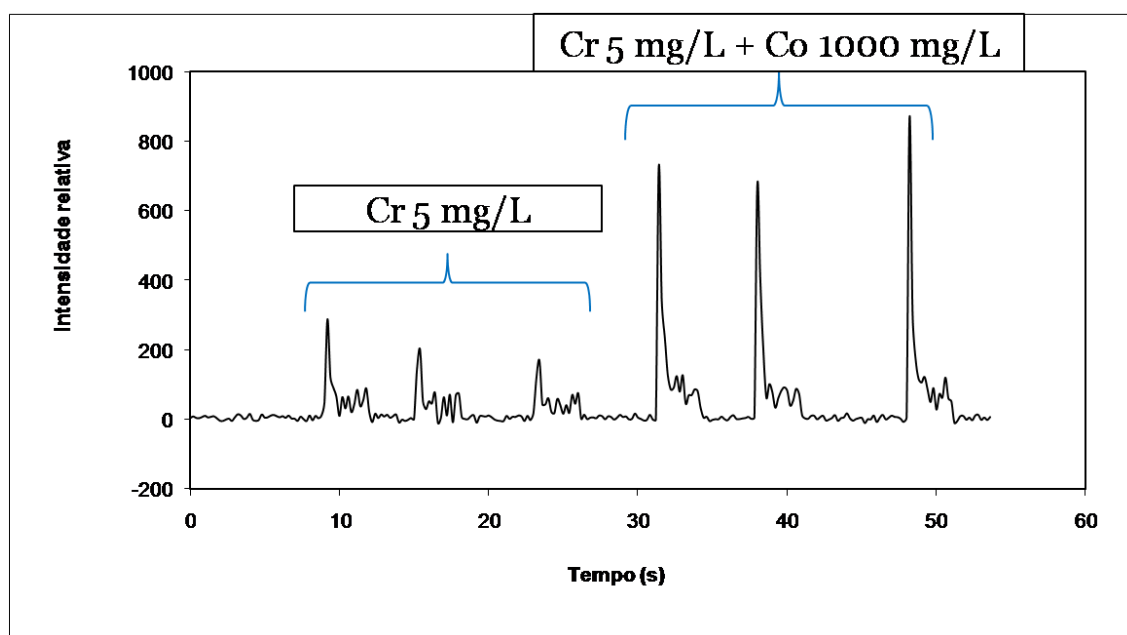


FIGURA 6.1- Efeito de cobalto sobre o sinal de emissão de cromo ( $\lambda = 425,2 \text{ nm}$ )

Confirmada a hipótese de que Co causa o aumento do sinal analítico do Cr, foi avaliada a relação entre intensidade do sinal analítico do Cr e a concentração de Co. Observando-se a FIGURA 6.2 pode-se notar que o aumento do sinal só é significativo a partir de 250 mg/L, atingindo uma região de menor variação de sinal a partir de 500 mg/L.

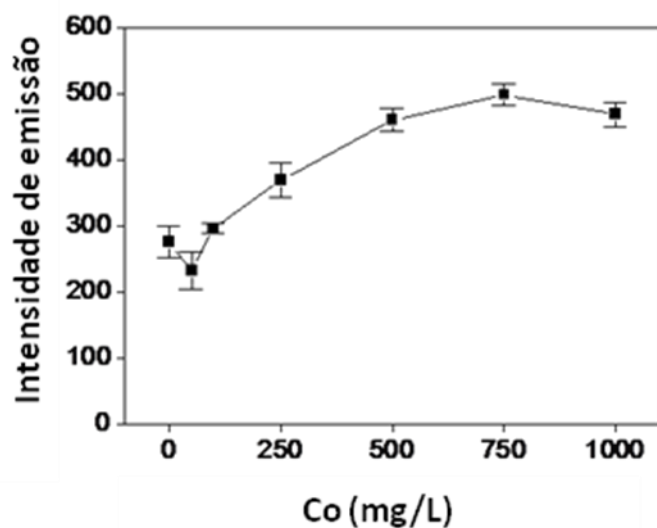


FIGURA 6.2- Avaliação do efeito da concentração de cobalto sobre o sinal de emissão do cromo ( $\lambda = 425,2$  nm): teores médios e desvios padrão (n = 3)

O efeito de outros íons sobre o sinal de emissão do cromo também foi avaliado. Observa-se na FIGURA 6.3 que íons metálicos como K e Mg também causaram um aumento considerável nos sinais de emissão do Cr. Todavia, a influência de potássio se deve a outros mecanismos que não serão abordados nesta tese.

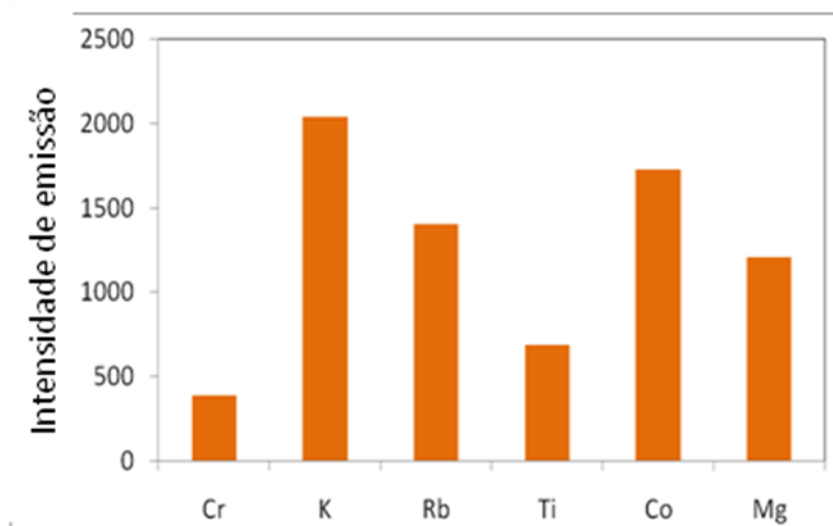


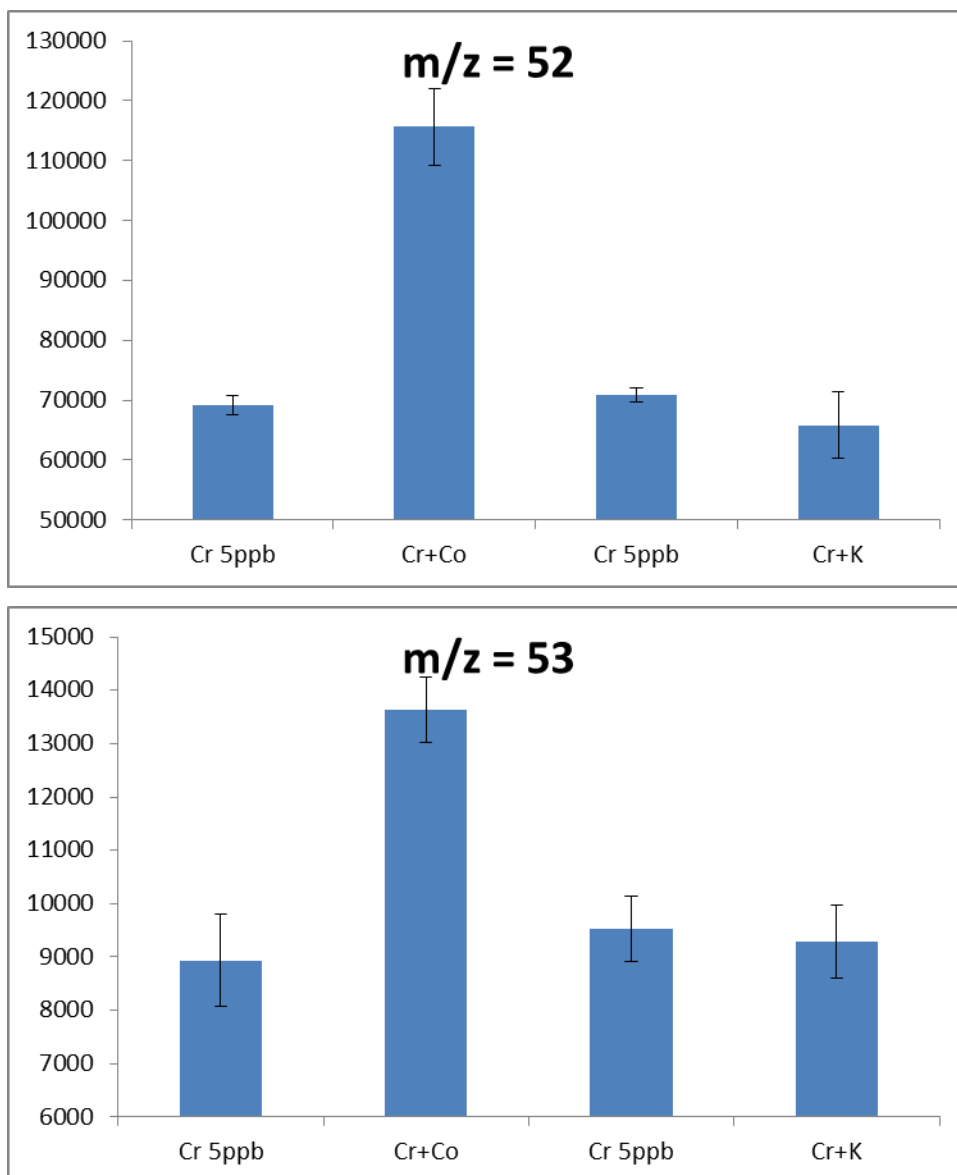
FIGURA 6.3- Efeito de íons metálicos sobre o sinal de emissão de cromo ( $\lambda = 425,2$  nm). Em todos os casos a concentração de Cr foi de 5,0 mg/L e as concentrações de K, Rb, Ti, Co e Mg de 1000 mg/L

Para os estudos posteriores, optou-se pela adição de 1000 mg/L de Co, pois isso minimiza qualquer interferência negativa ou positiva que outros concomitantes poderiam causar sobre os sinais de emissão de Cr, como por exemplo K e Mg, que em muitas amostras estão presentes em elevadas concentrações.

### **6.3.2. Mecanismos**

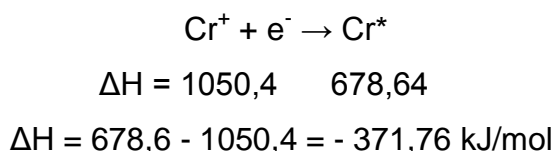
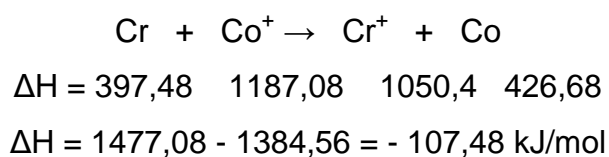
A fim de verificar se Co e Cr passam por processos similares aos discutidos para C e Se, alguns experimentos foram realizados. Para avaliar o aumento da população de íons  $\text{Cr}^+$  em presença de Co, foi realizado um experimento utilizando espectrometria de massas com plasma acoplado indutivamente (ICP-MS). Para isso, uma solução contendo Cr e uma elevada concentração de Co foi preparada e uma avaliação qualitativa dos sinais de cromo nas razões massa/carga 52 e 53 foi feita.

Observa-se na FIGURA 6.4 que em ICP-MS também ocorreu um aumento no sinal de Cr em presença de Co, o que confirma a hipótese que nessas condições ocorre um aumento da população de íons  $\text{Cr}^+$ . O mesmo experimento também foi realizado com Cr em presença de elevada concentração de K e nenhum efeito de aumento de sinal foi observado, podendo ser inferido que, nesse caso, o aumento de sinal observado em emissão atômica obedece a outros mecanismos.

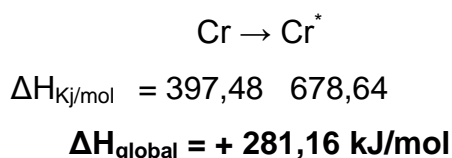


**FIGURA 6.4- Avaliação do efeito de cobalto e potássio sobre o aumento da população de íons Cr<sup>+</sup> em ICP-MS**

Supõe-se que uma recombinação íon/elétron seria então responsável pelo aumento do sinal observado em emissão atômica. Essa reação é termodinamicamente mais favorável do que a excitação do analito a partir de átomos no estado fundamental. As equações a seguir mostram as energias envolvidas nos dois processos com base nos valores de entalpias de formação encontrados na base de dado do NIST (*National Institute of Standards and Technology*).

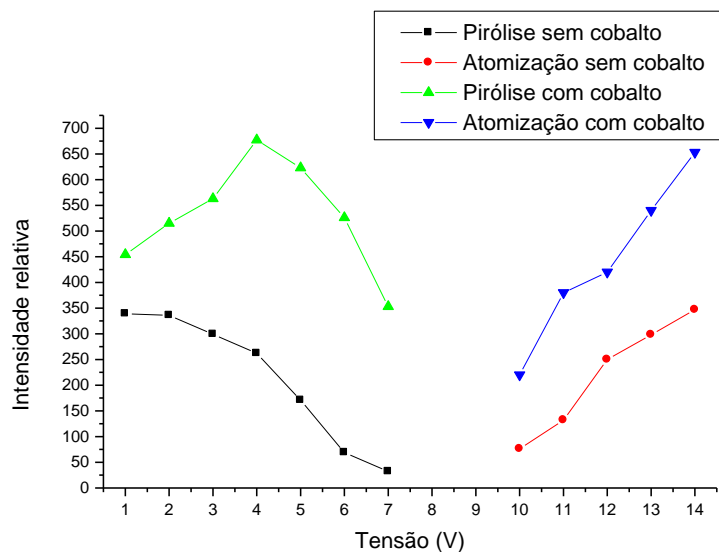


$$\Delta H_{\text{global}} = - 371,76 - 107,48 = - 479,24 \text{ kJ/mol}$$



### 6.3.3. Programa de aquecimento

O programa de aquecimento foi otimizado usando curvas de pirólise e atomização tanto para Cr, como para Cr em presença de Co 1000 mg/L. Observa-se que, além de proporcionar um aumento no sinal analítico, Co também age como uma espécie de modificador químico, estabilizando termicamente o analito. Analisando-se as curvas de temperatura de pirólise e atomização (FIGURA 6.5) observa-se que é possível aplicar até 5,0 V (2061 °C) na etapa de pirólise sem perdas do analito quando esse se encontra em meio contendo Co 1000 mg/L. Por outro lado, quando somente Cr está presente, a partir de 2,0 V (1345 °C) já se observa uma acentuada queda do sinal analítico. Esse efeito de modificação química provocado pelo Co propicia a aplicação de maiores temperaturas na etapa de pirólise, promovendo assim maior extensão na decomposição térmica de possíveis interferentes, podendo melhorar os parâmetros analíticos como sensibilidade e exatidão.



**FIGURA 6.5** Curvas de pirólise e atomização obtidas a partir de medidas de Cr 5 mg/L ( $\lambda = 425,2$  nm) com e sem adição de cobalto

A secagem da amostra foi feita por um programa com temperatura de secagem constante. O programa final de aquecimento é apresentado na TABELA 6.1

**TABELA 6.1-** Programa de aquecimento

Etapa	Tempo (s)	Tensão aplicada (V)	Temperatura (°C)
Secagem	20	0,70	660
Secagem	10	0,65	ND*
Secagem	10	0,60	572
Secagem	10	0,50	484
Secagem	10	0,40	313
Secagem	10	0,30	261
Pirólise	5	5,0	2061
Atomização	3	14,0	2886

\*valor não determinado experimentalmente



### 6.3.4. Parâmetros de desempenho

Alguns parâmetros de desempenho foram estabelecidos tanto para medidas de soluções contendo somente o analito, como para soluções de Cr em meio 1000 mg/L Co. Os resultados são apresentados na TABELA 6.2. Pode-se observar que a sensibilidade analítica aumenta aproximadamente três vezes na presença de Co.

TABELA 6.2- Parâmetros de desempenho

	Equação da reta	R	SD(%)	LOD (mg/L)	LOQ (mg/L)	Faixa linear (mg/L)
Com Co	$y = 90,09S + 36,38$	0,994	3,8	0,07	0,25	0,25 – 10
Sem Co	$y = 33,5S + 67,7$	0,991	4,3	0,72	2,4	2,5 – 15

### 6.3.5. Aplicação analítica

A determinação de Cr em amostras de água mineral e material de referência certificado foi efetuada. Devido à baixa concentração de cromo em amostras de água mineral, adições de 0,5 e 1,0 mg/L foram feitas nas mesmas. Em todas as soluções das amostras bem como nas soluções analíticas de calibração foram adicionados 1000 mg/L de Co. As quantificações foram feitas transferindo 20 µL das soluções diretamente no atomizador e aplicando-se o programa de aquecimento apresentado na TABELA 6.1. Os resultados das determinações de Cr em amostras de água mineral são apresentados na TABELA 6.3. A concentração de cromo encontrada no material certificado foi de  $32,6 \pm 2,5$  µg/g (média ± desvio padrão, n = 4) e o teor informado é de 34,7 µg/g.

**TABELA 6.3- Determinação de cromo em amostras de água mineral (teores médios e desvios padrão, n = 4)**

	<b>Adicionado (mg/L)</b>	<b>Determinado (mg/L)</b>	<b>Recuperação (mg/L)</b>
Amostra 1	0,5	0,49 ± 0,14	97
	1,0	1,04 ± 0,09	104
Amostra 2	0,5	0,56 ± 0,04	112
	1,0	1,07 ± 0,08	107
Amostra 3	0,5	0,53 ± 0,02	105
	1,0	0,93 ± 0,09	93

#### **6.4. Conclusões**

A adição de uma elevada concentração de cobalto em soluções de cromo provoca mudança nos mecanismos de atomização do analito aumentando consideravelmente a sensibilidade nas determinações do mesmo utilizando WCAES. Processos de interferências podem também ser minimizados uma vez que a elevada concentração do modificador pode compensar efeito de interferência provocado por outros íons metálicos. A associação desse procedimento com detectores mais sensíveis pode possibilitar menores limites de detecção, tornando assim WCAES aplicável na determinação de cromo apesar da baixa temperatura da fase gasosa.

**CAPÍTULO 7**  
**Conclusões gerais**

O uso de um filamento de tungstênio como atomizador em espectrometria de emissão atômica possibilita medidas de elementos metálicos, especialmente aqueles com baixa energia de excitação. Neste trabalho, foi demonstrada a capacidade analítica de WCAES para determinações de Ca, Al, Cs, Sr e Cr em amostras de alimentos.

Os problemas de interferências causados pelos concomitantes orgânicos das amostras de sucos, água de coco e chás foram contornados utilizando uma mistura oxidante composta por ácido nítrico e peróxido de hidrogênio. Essa mesma estratégia também foi utilizada na determinação de Cs e Sr em amostras de peixes. A combinação mistura oxidante e atomização eletrotérmica possibilitou então a análise de amostras complexas com mínimo tratamento prévio.

No caso de elementos com energia de excitação relativamente elevada, tal como cromo, a adição de um segundo elemento com energia de ionização próxima à do analito resultou em um considerável aumento do sinal de emissão. Os processos físico-químicos foram avaliados e pode-se concluir que a combinação de outros analitos refratários e elementos com características semelhantes aos mesmos podem também resultar em efeitos similares de aumento de sensibilidade em WCAES.

Os limites de detecção também podem ser melhorados utilizando detectores com sistemas de resfriamento, no entanto esses dispositivos possuem maiores dimensões, o que pode comprometer a potencial portabilidade do WCAES.

Além da portabilidade, a WCAES também apresenta como vantagens a simplicidade e o baixo custo. No entanto, alguns problemas relacionados com os elevados gradientes de temperatura da fase gasosa ainda limitam uma maior aplicabilidade desse instrumento para amostras complexas. Neste trabalho, evidenciou-se que a avaliação da região de observação é um fator crítico para que severos processos de interferências não comprometam a exatidão das medidas. Portanto, faz-se necessário a continuidade de investigações envolvendo o desenvolvimento de aplicações analíticas usando o atomizador com filamento de tungstênio para medidas de emissão. Além disso, a disponibilidade de um equipamento comercial possibilitaria um maior envolvimento de pesquisadores.

A WCAES possui potencial para se tornar uma alternativa frente aos métodos tradicionais em aplicações analíticas especialmente dedicadas.

**CAPÍTULO 8**  
**Referências**

- 
- [1] NÓBREGA, J. A.; SILVA, M. M.; OLIVEIRA, P. V. "Espectrometria atômica com atomização eletrotérmica em superfícies metálicas" *Quím. Nova* **18**: 555, 1995.
- [2] SUZUKI, M.; OHTA, K. "Electrothermal atomic absorption spectrometry with metal atomizers" *Prog. Analyt. Atom. Spectrosc.* **6**: 49, 1983.
- [3] HOU, X.; JONES, B. T. "Tungsten devices in analytical atomic spectrometry" *Spectrochim. Acta Part B* **57**: 659, 2002.
- [4] DONEGA, H. M.; BURGESS, T. E. "Atomic absorption analysis by flameless atomization in a controlled atmosphere" *Anal. Chem.* **42**: 1521, 1970.
- [5] WILLIAMS, M.; PIEPMEIER, E.P. "Commercial tungsten filament atomizer for analytical spectrometry" *Anal. Chem.* **44**: 1342, 1972.
- [6] REID, R. D.; PIEPMEIER, E. P. "Horizontal tungsten coil atomizer and integrated absorbance readout for atomic absorption spectrometry" *Anal. Chem.* **48**: 338, 1976.
- [7] BRATZEL, M. P.; DAGNALL, R. M.; WINEFORDNER, J. D. "A hot wire loop for atomic fluorescence spectrometry" *Appl. Spectrosc.* **24**: 518, 1970.
- [8] BARTH, P.; HAUPTKORN, S.; KRIVAN, V. "Analysis of silicon dioxide and silicon nitride powders by electrothermal vaporization inductively coupled plasma atomic emission spectrometry using a tungsten coil and slurring sampling" *J. Anal. At. Spectrom.* **12**: 1359, 1997.
- [9] BARTH, P.; KRIVAN, V. "Electrothermal vaporization inductively coupled plasma atomic emission spectrometry technique using a tungsten coil furnace and slurring sampling" *J. Anal. At. Spectrom.* **9**: 773, 1994.
- [10] SYCHRA, V.; KOLIHOVÁ, D.; VYSKOCILOVÁ, O.; HLAVAC, R.; PUSCHEL, P. "Electrothermal atomization from metallic surfaces. Part 1: Design and performance of a tungsten tube atomizer" *Anal. Chim. Acta* **105**: 263, 1979.
- [11] SYCHRA, V.; DOLEZAL, J.; HLAVAC, R.; PETROS, L.; VYSKOCILOVA, O.; KOLIHOVA, D.; PUSCHEL, P. "Tungsten-tube electrothermal atomizer, WETA-90. Part 1: Design and performance of the atomizer" *J. Anal. At. Spectrom.* **6**: 521, 1991.
- [12] VYSKOCILOVÁ, O.; SYCHRA, V.; KOLIHOVÁ, D.; PUSCHEL, P. "Electrothermal atomization from metallic surfaces. Part 2: Atom formation processes in the tungsten-tube atomizer" *Anal. Chim. Acta* **105**: 271, 1979.
- [13] SUZUKI, M.; OHTA, K.; YAMAKITA, T.; KATSUMO, T. "Electrothermal atomization with a metal micro-tube in atomic absorption spectrometry" *Spectrochim. Acta Part B* **36**: 679, 1981.

- 
- [14] KRAKOVSKA, E. "Tungsten atomizer—the theory of atomization reactions" *Spectrochim. Acta Part B* **52**: 1327, 1997.
- [15] WILLIAMS, M.; PIEPMEIER, E. P. "Commercial tungsten filament atomizer for analytical spectrometry" *Anal. Chem.* **44**: 1342, 1972.
- [16] REID, R. D.; PIEPMEIER, E. P. "Horizontal tungsten coil atomizer and integrated absorbance readout for atomic absorption spectrometry" *Anal. Chem.* **48**: 338, 1976.
- [17] SANFORD, C. L.; THOMAS, S. E.; JONES, B. T. "Portable, battery-powered, tungsten coil atomic absorption spectrometer for lead determination" *Appl. Spectrosc.* **50**: 174, 1996.
- [18] BATCHELOR, J. D.; THOMAS, S. E.; JONES, B. T. "Determination of cadmium with a portable, battery-powered, tungsten coil atomic absorption spectrometer" *Appl. Spectrosc.* **52**: 086, 1998.
- [19] HOU, X. D.; JONES, B. T. "Field instrumentation in atomic spectroscopy" *Microchem. J.* **66**: 115, 2000.
- [20] RUST, J. A.; NÓBREGA, J. A.; CALLOWAY JR., C. P.; JONES, B. T. "Advances with tungsten coil atomizers: continuum source atomic absorption and emission spectrometry" *Spectrochim. Acta Part B* **60**: 589, 2005.
- [21] OHTA, K. "Atomic emission-spectrometry of sodium with electrothermal metal microtube" *Fresenius' J. Anal. Chem.* **326**: 132, 1987.
- [22] SUZUKI, M.; OHTA, K. "Atomic emission spectrometry with metal microtube atomization" *Anal. Chem.* **57**: 26, 1985.
- [23] QUEIROZ, Z. F.; OLIVEIRA, P. V.; NÓBREGA, J. A.; SILVA, C. S.; RUFINI, I. A.; SOUSA, S. S.; KRUG, F. J. "Surface and gas phase temperatures of a tungsten coil atomizer" *Spectrochim. Acta Part B* **57** : 1789, 2002.
- [24] RUST, J. A.; NÓBREGA, J. A.; CALLOWAY JR, C. P.; JONES, B. T. "Tungsten coil atomic emission spectrometry" *Spectrochim. Acta Part B* **61**: 225, 2006.
- [25] DONATI, G. L.; GU, J.; NOBREGA, J. A.; CALLOWAY JR, C. P.; JONES, B. T. "Simultaneous determination of the lanthanides by tungsten coil atomic emission spectrometry" *J. Anal. At. Spectrom.* **23**: 361, 2008.
- [26] SCHIAVO, D.; TREZIVAN, L. C.; PEREIRA-FILHO, E. R.; NÓBREGA, J. A. "Evaluation of the use of multiple lines for determination of metals in water by inductively coupled plasma optical emission spectrometry with axial viewing" *Spectrochim. Acta Part B* **64**: 6 544, 2009.
- [27] DONATI, G. L.; KRON, B. E.; JONES, B. T. "Simultaneous determination of Cr, Ga, In and V in soil and water samples by tungsten coil atomic emission spectrometry" *Spectrochim. Acta Part B* **64**: 559, 2009.

- 
- [28] DONATI, G. L.; CALLOWAY JR., C. P.; JONES, B. T. "Double tungsten coil atomic emission spectrometry: signal enhancement and a new gas phase temperature probe" *J. Anal. At. Spectrom.* **24**: 1105, 2009.
- [29] STURGEON, R. E.; CHAKRABARTI, C. L. "The temperature of atomic vapor in graphite furnace atomic absorption spectrometry" *Spectrochim. Acta, Part B* **32**: 231, 1977.
- [30] DONATI, G. L.; NÓBREGA, J. A.; NASCENTES, C. C.; JONES, B. T. "Indirect determination of iodide by tungsten coil atomic emission spectrometry" *Microchem. J.* **93**: 242, 2009.
- [31] DONATI, G. L.; GONZALEZ, M. H.; NÓBREGA, J. A.; JONES, B. T. "Multi-wavelength determination of cobalt by tungsten coil atomic emission spectrometry" *Anal. Lett.* **43**: 1723, 2010.
- [32] DONATI, G. L.; WILDMAN, R. B.; JONES, B. T. "A new atomization cell for trace metal determinations by tungsten coil atomic spectrometry" *Anal. Chim. Acta* **688**: 36, 2011.
- [33] GU, J.; HANNA, S.; JONES, B. T. "A portable tungsten Coil Atomic Emission Spectrometer for the simultaneous determination of metals in water and soil Samples" *Anal. Sci.* **27**: 523, 2011.
- [34] GU, J.; OLIVEIRA, S. R.; DONATI, G. L.; GOMES NETO, J. A.; JONES, B. T. "Rugged, portable tungsten coil atomic emission spectrometer" *Anal. Chem.* **83**: 2526, 2011.
- [35] SALIDO, A.; JONES, B. "The use of aluminum and potassium as modifiers to improve the determination of strontium by tungsten coil atomic emission spectrometry" *Anal. Lett.* **44**: 2760, 2011.
- [36] SALIDO, A.; JONES, B. "Determination of Sr in soil by tungsten coil atomic emission spectrometry" *Microchem. J.* **101**: 1, 2012.
- [37] [http://whqlibdoc.who.int/publications/2004/9241546123\\_chap4.pdf](http://whqlibdoc.who.int/publications/2004/9241546123_chap4.pdf). (consultado em 20/07/2012)
- [38] KILIC, Z.; ACARB, O.; ULAS, M.; ILIMB, M. "Determination of lead, copper, zinc, magnesium, calcium and iron in fresh eggs by atomic absorption spectrometry" *Food Chem.* **76**: 107, 2002.
- [39] PEREIRA JUNIOR, J. B.; FERNANDES, K. G.; MULLER, R. C. S.; NÓBREGA, J. A.; PALHETA, D. C. "Determinação direta de Ca, Mg, Mn e Zn em amostras de leite de búfala da Ilha de Marajó por espectrometria de absorção atômica com chama (FAAS)" *Quím. Nova* **32**: 2333, 2009.



- 
- [40] GONZÁLVIZ, A.; GHANJAOU, M. E.; EL RHAZI, M.; DE LA GUARDIA, M. "Inductively coupled plasma optical emission spectroscopy determination of trace element composition of argan oil" *Food Sci. Tech. Int.* **16**: 65, 2010.
- [41] LEŚNIEWICZ, A.; KRETOWICZ, M.; WIERZBICKA, K.; ZYRNICKI, W. "Inorganic micronutrients in food products of plant origin used for breakfast in Poland" *Int. J. Environ. Anal. Chem.* **89**: 621, 2009.
- [42] CASTRO, J. T.; SANTOS, E. C.; SANTOS, W. P. C.; COSTA, L. M.; KORN, M.; NÓBREGA, J. A.; KORN, M. G. A. "A critical evaluation of digestion procedures for coffee samples using diluted nitric acid in closed vessels for inductively coupled plasma optical emission spectrometry" *Talanta* **78**: 1378, 2009.
- [43] CORREIA, P. R. M.; OLIVEIRA, E.; OLIVEIRA, P. V. "Simultaneous determination of manganese and selenium in serum by electrothermal atomic absorption spectrometry" *Talanta* **57**: 527, 2002.
- [44] VIÑAS, P.; CAMPILLO, N.; LÓPEZ-GARCÍA, I.; HERNÁNDEZ-CÓRDOBA, M. "Electrothermal atomic absorption spectrometric determination of molybdenum, aluminium, chromium and manganese in milk" *Anal. Chim. Acta* **356**: 267, 1997.
- [45] VIÑAS, P.; CAMPILLO, N.; LÓPEZ-GARCÍA, I.; HERNÁNDEZ-CÓRDOBA, M. "Rapid determination of lead and cadmium in biological fluids by electrothermal atomic absorption spectrometry using Zeeman correction" *Anal. Chim. Acta* **390**: 207, 1999.
- [46] OLIVEIRA, P.V.; NÓBREGA, J. A.; CATANHO, M.; LUCCAS, P. O. "Avaliação de programas de aquecimento para espectrometria de absorção atômica com atomização eletrotérmica em filamento de tungstênio" *Quim. Nova* **23**: 706, 2000.
- [47] GODOI, Q. Avaliação da espectrometria de absorção atômica com atomização eletrotérmica em filamento de tungstênio para determinação de alumínio. São carlos, Programa de Pós-Graduação em Química – USP, 2006. Dissertação de mestrado, 74 p.
- [48] QUEIROZ, Z. F.; KRUG, F. J.; OLIVEIRA, P. V.; SILVA, M. M.; NÓBREGA, J. A. "Electrothermal behavior of sodium, potassium, calcium and magnesium in a tungsten coil atomizer and review of interfering effects" *Spectrochim. Acta Part B* **57**: 49, 2002.
- [49] NAOZUKA, J.; OLIVEIRA, P. V. "Minimization of sample pretreatment for Al, Cu and Fe determination in coconut water by electrothermal atomic absorption spectrometry" *J. Braz. Chem. Soc.* **17**: 521, 2006.
- [50] HAVESOV, I.; IVANOVA, E.; BERNDT, H.; SCHALDACH, G. "Improved ET-AAS determination of alkaline and earth alkaline elements with a simple "low-cost" tungsten coil atomizer" *Fresenius' J. Anal. Chem.* **336**: 484, 1990.

---

[51] [http://www.who.int/entity/water\\_sanitation\\_health/dwq/chemicals/en/aluminium.pdf](http://www.who.int/entity/water_sanitation_health/dwq/chemicals/en/aluminium.pdf). (consultado em 05/08/2012)

[52] McLACHLAN, D. R. C. "Aluminium and the risk for Alzheimer's disease" *Environmetrics* **6**: 233, 1995.

[53] [http://whqlibdoc.who.int/trs/WHO\\_TRS\\_776.pdf](http://whqlibdoc.who.int/trs/WHO_TRS_776.pdf) (acessado em 25/07/2012)

[54] SEPE, A.; COSTANTINI, S.; CIARALLI, L.; CIPROTTI, M.; GIORDANO, R. "Evaluation of aluminum concentrations in samples of chocolate and beverages by electrothermal atomic absorption spectrometry" *Food Addit. Contam. Part B: Surveillance*, **18**: 788, 2001.

[55] CORIAT, A. M.; GILLARD, R. D. "Beware the cups that cheer" *Nature* **321**: 570, 1986.

[56] SEENIVASAN, S.; MANIKANDAN, N.; MURALEEDHARAN, N. N.; SELVASUNDARAM, R. "Heavy metal content of black teas from south India" *Food Control* **19**: 746, 2007.

[57] FERNANDEZ, P. L.; PABLOS, F.; MARTIN, M. J.; GONZALEZ, A. G. "Multi-element analysis of tea beverages by inductively coupled plasma atomic emission spectrometry" *Food Chem.* **76**: 483, 2002.

[58] MATSUURA, H.; HOKURA, A.; KATSUKI, F.; ITOH, A.; HARAGUCHI, H. "Multi-element determination and speciation of major-to-trace elements in black tea leaves by ICP-AES and ICP-MS with the aid of size exclusion chromatography" *Anal. Sci.* **17**: 391, 2001.

[59] FENG, H.; WANG, T.; YAU, S. F. "Sensitive determination of trace-metal elements in tea with capillary electrophoresis by using chelating agent 4-(2-pyridylazo) resorcinol (PAR)" *Food Chem.* **81**: 607, 2003.

[60] DONATI, G. L.; JONES, B. T. "Development of a novel spectrometric-based temperature probe and the investigation of atomic cloud generation in a tungsten coil atomizer" *J. Anal. At. Spectrom.* **26**: 838, 2011.

[61] LUCCAS, P. O.; NÓBREGA, J. A.; OLIVEIRA, P. V.; KRUG, F. J. "Atomization of Al in a tungsten coil electrothermal atomic absorption spectrophotometer" *Talanta* **48**: 695, 1999.

[62] WEAST, R.C. *Handbook of Chemistry and Physics*, 66th ed., CRC Press, Boca Raton, 1985.

[63] KOMAREK, J. GAMOCZY, M. "Determination of europium by AAS with electrothermal atomization" *Collect. Czech. Chem. Commun.* **56**: 764, 1991.

- 
- [64] SANTOS, D. M.; LUCCAS, P. O.; NÓBREGA, J. A.; CAVALHEIRO, E. T. G. "Thermogravimetric investigations on the mechanism of decomposition of Pb compounds on a tungsten surface" *Thermochim. Acta* **362**: 161, 2000.
- [65] MORGANO, M. A.; RABONATO, L. C.; MILANI, R. F.; MIYAGUSKU, L.; BALIAN, S. C. "Assessment of trace elements in fishes of Japanese foods marketed in São Paulo (Brazil)" *Food Control* **22**: 778, 2011.
- [66] PETERSON, C. L.; KLAWE, W. L.; SHARP, G. D. "Mercury in tunas: a review" *Fish. B-Noaa* **71** (3): 603, 1973.
- [67] KRUG, F. J., Ed., *Métodos de Preparo de Amostras: Fundamentos sobre Preparo de Amostras Orgânicas e Inorgânicas para Análise Elementar*, Copiadora Luiz de Queiroz, Piracicaba, 2008.
- [68] BARRETT, A. J.; RAWLINGS, N. D.; WOESSNER, J. F. *The Handbook of Proteolytic Enzymes*, 2nd ed., Academic Press, San Diego, 2003.
- [69] SHUREN, J. *Topical Drug Products Containing Papain: Enforcement Action Dates*, United States Food and Drug Administration, Federal Register, **73**: 54831-54834, 2008.
- [70] HOLLER, U.; WACHTER, F.; WEHRLI, C.; FIZET, C. "Quantification of biotin in feed, food, tablets, and premixes using HPLC-MS/MS" *J. Chromatogr. B*, **831**: 8, 2006.
- [71] AMAN, R.; BAYHA, S.; CARLE, R.; SCHIEBER, A. "Determination of carotenoid in commercial dietary supplements by high-performance liquid chromatography" *J. Agric. Food Chem.* **52**: 6086, 2004.
- [72] SILVA, F. V.; LOPES, G. S.; NÓBREGA, J. A.; SOUZA, G. B.; NOGUEIRA, A. R. A. "Study of the protein-bound fraction of calcium, iron, magnesium and zinc in bovine milk" *Spectrochim. Acta Part B* **56**: 1909, 2001.
- [73] B'HYMER, C.; CARUSO, J. A. "Efficiency study and evaluation of enzyme hydrolysis procedures for selenium enriched yeast using inductively coupled plasma - mass spectrometric detection" *Can. J. Anal. Sci. Spect.* **46**: 136, 2001.
- [74] BERMEJO, P.; CAPELO, J. L.; MOTA, A.; MADRID, Y.; CÁMARA, C. "Enzymatic digestion and ultrasonication: A powerful combination in analytical chemistry" *Trends Anal. Chem.* **23**: 654, 2004.
- [75] <http://www.atsdr.cdc.gov/ToxProfiles/tp157.pdf>. (acessado em 03/03/2012)
- [76] [http://e360.yale.edu/feature/radioactivity\\_in\\_the\\_ocean\\_diluted\\_but\\_far\\_from\\_harmless/2391](http://e360.yale.edu/feature/radioactivity_in_the_ocean_diluted_but_far_from_harmless/2391). (acessado em 03/03/2012)
- [77] BORDAJANDI, L. R.; GÓMEZ, G.; ABAD, E.; RIVERA, J.; FERNÁNDEZ-BASTÓN, M.M.; BLASCO, J. "Survey of persistent organochlorine contaminants

---

(PCBs, PCDD/Fs, and PAHs), heavy metals (Cu, Cd, Zn, Pb and Hg), and arsenic in food samples from Huelva (Spain): levels and health implications" *J. Agric. Food Chem.* **52**: 992, 2004.

[78] OHTA, K.; YOKOYAMA, M.; ITOH, S.; MIZUNO, T. "Determination of aluminium in biological materials by electrothermal atomic absorption spectrometry with a tungsten tube atomizer" *Anal. Chim. Acta* **291**: 115, 1994.

[79] HANNA, S.; KEENE, J.; CALLOWAY JR., C. P.; JONES, B. T. "Design of a portable electrothermal vaporization flame atomic emission spectrometry device for field analysis" *Instrum. Sci. Technol.* **39**: 345, 2011.

[80] SALIDO, A.; JONES, B. T. "Simultaneous determination of Cu, Cd and Pb in drinking-water using W-Coil AAS" *Talanta* **50**: 649, 1999.

[81] SLAVIN, W.; MANNING, D. C.; GARNRICK, G.R. "The stabilized temperature platform furnace" *At. Spectr.* **2**: 137, 1981.

[82] NÓBREGA, J. A.; RUST, J.; CALLOWAY JR., C. P.; JONES, B. T. "Use of modifiers with metal atomizers in electrothermal atomic absorption spectrometry: A short review" *Spectrochim. Acta Part B* **59**: 1337, 2004.

[83] PARSONS, P. J.; QIAO, H.; ALDOUS, K. M.; MILLS, E.; SLAVIN, W. "A low-cost tungsten filament atomizer for measuring lead in blood by atomic absorption spectrometry" *Spectrochim. Acta Part B* **50**: 1475, 1995.

[84] BRUHN, C. G.; NEIRA, J. Y.; VALENZUELA, G. D. NÓBREGA, J. A. "Chemical modifiers in a tungsten coil electrothermal atomizer. Part 1. Determination of lead in hair and blood" *J. Anal. At. Spectrom.* **13**: 29, 1998.

[85] BRUHN, C. G.; SAN FRANCISCO, N. A.; NEIRA, J. Y.; NÓBREGA, J. A. "Determination of cadmium and lead in mussels by tungsten coil electrothermal atomic absorption spectrometry" *Talanta* **50**: 967, 1999.

[86] ZHOU, Y.; PARSONS, P. J.; ALDOUS, K. M.; BROCKMAN, P.; SLAVIN, W. "Atomization of lead from whole blood using novel tungsten filaments in electrothermal atomic absorption spectrometry" *J. Anal. At. Spectrom.* **16**: 82, 2001.

[87] BRUHN, C. G.; NEIRA, J. Y.; GUZMAN, M. I.; DARDER, M. M.; NÓBREGA, J. A. "Study of chemical modifiers for the determination of chromium in biological materials by tungsten coil electrothermal atomic absorption spectrometry" *Fresenius' J. Anal. Chem.* **364**: 273, 1999.

[88] MACHAT, J. KANICKY, V. OTRUBA, V. "Determination of selenium in blood serum by inductively coupled plasma atomic emission spectrometry with pneumatic nebulization" *Anal. Bional. Chem.* **372** : 576, 2002.

---

[89] MACHAT, J.; KANICKY, V.; OTRUBA, V. "Determination of selenium in blood serum by inductively coupled plasma atomic emission spectrometry with pneumatic nebulization" *Anal. Bioanal. Chem.* **372**: 576, 2002.

[90] HU, Z.; GAI, S. H. S.; LIU, Y.; LIN, S. "Volatile organic solvent-induced signal enhancements in inductively coupled plasma-mass spectrometry: a case study of methanol and acetone" *Spectrochim. Acta Part B* **59**: 1463, 2004.

[91] ALLAIN, P.; JAUNAUULT, L.; MAURAS, Y.; MERMET, J. M.; DELAPORTE, T. "Signal enhancement of elements due to presence of carbon-containing compounds in inductively coupled plasma mass spectrometry" *Anal. Chem.* **63**: 1497, 1991.

[92] GRINDLAY, G.; GRAS, L.; MORA, J.; DE LOOS-VOLLEBREGT, M. T. C. "Carbon-related matrix effects in inductively coupled plasma atomic emission spectrometry" *Spectrochim. Acta Part B* **63**: 234, 2008.

[93] PEREIRA, C. D.; GARCIA, E. E.; SILVA, F. V.; NOGUEIRA, A. R. A.; NÓBREGA, J. A. "Behaviour of arsenic and selenium in an ICP-QMS with collision and reaction interface" *J. Anal. At. Spectrom.* **25**: 1763, 2010.

[94] TORMEN, L.; GIL, R. A.; FRESCURA, V. L. A.; MARTINEZ, L. D.; CURTIUS, A. J. "The use of electrothermal vaporizer coupled to the inductively coupled plasma mass spectrometry for the determination of arsenic, selenium and transition metals in biological samples treated with formic acid" *Anal. Chim. Acta* **717**: 21, 2012.