

**Universidade Federal de São Carlos  
Centro de Ciências Exatas e de Tecnologia  
Programa de Pós-Graduação em Química  
Departamento de Química**

**Avaliação do Comportamento dos Elementos Ni, Rb e  
Se por Espectrometria de Absorção Atômica Com  
Forno Tubular na Chama e Aerossol Térmico**

Fabiana Rosini\*

Dissertação de mestrado apresentada  
como parte dos requisitos para a  
obtenção do título de MESTRE em  
CIÊNCIAS (Área de concentração:  
QUÍMICA ANALÍTICA)

ORIENTADOR: Prof. Dr. Joaquim de Araújo Nóbrega

\* Bolsista CAPES

**SÃO CARLOS  
2006**

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

R821ac

Rosini, Fabiana.

Avaliação do comportamento dos elementos Ni, Rb e Se por espectrometria de absorção atômica com forno tubular na chama e aerossol térmico / Fabiana Rosini. -- São Carlos : UFSCar, 2006.

115 p.

Dissertação (Mestrado) -- Universidade Federal de São Carlos, 2006.

1. Espectroscopia de absorção atômica. 2. TS-FF-AAS. 3. Selênio. 4. Níquel. 5. Rubídio. 6. Materiais biológicos. I. Título.

CDD: 543.0858 (20<sup>a</sup>)

**A maior recompensa do nosso trabalho não é o que nos  
pagam por ele, mas aquilo em que ele nos transforma.  
(John Ruskin)**

Dedico este trabalho à minha mãe Evanilde, meu irmão Fernando e meu pai Hélio (in memoriam) que sempre me incentivaram no estudo da Química.

## **AGRADECIMENTOS**

À Deus pela minha vida e pela oportunidade.

Ao Prof. Dr. Joaquim de Araújo Nóbrega, pela orientação, compreensão, paciência, atenção e amizade. Pelos valiosos ensinamentos, dicas, conselhos, pelos exemplos de ética e profissionalismo e pela grande contribuição para o meu crescimento profissional e pessoal.

À Prof<sup>a</sup> Dra. Clésia Cristina Nascentes da Universidade Federal de Minas Gerais pela atenção, amizade, paciência, conselhos e dicas principalmente durante o período de iniciação científica.

À Dra. Ana Rita de Araujo Nogueira da EMBRAPA Pecuária Sudeste por todas as sugestões e pelo apoio.

À minha família e meus amigos por todo apoio, carinho e compreensão durante a execução desse trabalho.

À CAPES pela bolsa concedida e à FAPESP pelos recursos fornecidos para a realização do projeto de pesquisa sobre TS-FF-AAS (Processo nº 03/00326-1).

Ao Programa de Pós-Graduação em Química da Universidade Federal de São Carlos, pela grande oportunidade.

À todos os professores do Departamento de Química da Universidade Federal de São Carlos, pela contribuição para a minha formação profissional.

Aos meus queridos amigos e amigas do GAIA: Adriana, Alexandra, Andréa, Ariel, Caio, Carla, Cláudia, Dani, Edivan, Eveline, Fernanda, George, Gian, Kelly, Lilian, Mário, Mirian, Marquinhos, Patrícia, Rodolfo, Silvia, Simone, Telma e Wladiana pelas sugestões dadas ao trabalho e pelos inúmeros momentos de descontração e alegria.

Aos amigos carinhosamente chamados de ex-GAIA: Carla, Clésia, Dani, Edilene, Fernando, Flávia, Geórgia, Marcos, Letícia, Poliana e Sherlan pelas dicas ao trabalho e por estarem sempre presentes.

Aos amigos dos outros laboratórios: Ailton, Andrea, Bruno, Helen, Joana, Mariele, Oldair, Paulo e Thaís pelo companheirismo e pela ótima convivência.

Aos amigos do CCDM: Débora, Fernando, Rose e Telma por toda ajuda prestada.

Aos funcionários do DQ/UFSCar, em especial, às funcionárias da secretária de Pós-Graduação, pela paciência e atenção.

Ao Prof. Dr. Harald Berndt (Instituto de Química Analítica, Dortmund, Alemanha) pelo fornecimento dos capilares cerâmicos que possibilitou a execução do trabalho.

Ao Prof. Dr. Carlos G. Bruhn (Departamento de Análisis Instrumental, Facultad de Farmácia, Concepción, Chile) pelo fornecimento da amostra de molusco usada no trabalho.

À todos que direta ou indiretamente contribuíram para a realização desse trabalho.

**Muito Obrigada!**

## Lista de Abreviaturas

- AAS** – Espectrometria de absorção atômica
- ACDA** - ácido 2-amino-ciclopenteno-1-ditiocarboxílico
- APDC** – Pirrolidinaditiocarbamato de amônio
- BIFF-AAS** – Espectrometria de absorção atômica com injeção de amostra em forno aquecido por chama
- CFA-C** – Aminas terciárias solúveis em água
- CMC** – Concentração micelar crítica
- CS-AAS** – Espectrometria de absorção atômica com fonte contínua
- CPE** – Extração no ponto nuvem
- DDTP** – O,O - dietilditiofosfato (sal de amônio)
- FAAS** – Espectrometria de absorção atômica com chama
- FAES** – Espectrometria de emissão atômica com chama
- GFAAS** – Espectrometria de absorção atômica em forno de grafite
- HGAAS** – Espectrometria de absorção atômica com geração de hidretos
- HPLC** – Cromatografia líquida de alta eficiência
- ICP-MS**- Espectrometria de massas com plasma acoplado indutivamente
- PAN** – Piridilazonaftol
- SAM** – Método das adições de padrão
- TS-FF-AAS** – Espectrometria de absorção atômica com forno tubular na chama e aerossol térmico

## LISTA DE TABELAS

<b>Tabela 4.2.1</b>	Composição da liga de níquel 200 utilizada na confecção do forno tubular .....	31
<b>Tabela 4.2.2</b>	Propriedades físicas da liga de Ni 200 .....	31
<b>Tabela 4.2.3</b>	Propriedades do capilar cerâmico utilizado para a introdução da amostra .....	32
<b>Tabela 5.1.1</b>	Parâmetros de operação utilizados no sistema TS-FF-AAS .....	38
<b>Tabela 5.2.1</b>	Parâmetros estudados no planejamento experimental para a medida de Se por TS-FF-AAS .....	39
<b>Tabela 5.2.2</b>	Matriz com planejamento experimental estudado para o Se .....	40
<b>Tabela 5.2.3</b>	Massa de amostra, volume de peróxido de hidrogênio, concentração e volume de ácido nítrico usados para a otimização da digestão.....	43
<b>Tabela 5.2.4</b>	Programa de aquecimento usado para a digestão da amostra de castanha do Pará.....	43
<b>Tabela 5.2.5</b>	Programa de aquecimento usado para a determinação de Se em água de coco por GFAAS.....	45
<b>Tabela 5.2.6</b>	Programa de aquecimento utilizado para a digestão dos materiais de referência certificados e para a amostra de rim suíno comercial.....	48
<b>Tabela 5.3.1</b>	Parâmetros estudados no planejamento experimental para a medida de Rb por TS-FF-AAS.....	49
<b>Tabela 5.3.2</b>	Matriz com o planejamento experimental estudado para o Rb .....	50
<b>Tabela 5.3.3</b>	Volume de amostra injetado no sistema e volume de solvente usado na diluição da fase rica.....	54
<b>Tabela 5.3.4</b>	Parâmetros de operação usados para a obtenção da curva analítica de calibração por FAAS.....	55
<b>Tabela 5.3.5</b>	Soluções preparadas para a avaliação do fluoreto como agente mascarante dos concomitantes Al(III) e Fe(III).....	56
<b>Tabela 6.1.1</b>	Absorbâncias Integradas obtidas para uma solução contendo 100 µg/L de Se usando tubos atomizadores com diferentes configurações (valor médio ± desvio padrão, n = 3).....	61



<b>Tabela 6.1.2</b>	Comparação dos resultados obtidos (solução de Se 4 mg/L) usando a composição da chama de acordo com o planejamento experimental e uma chama com uma composição ainda mais oxidante (valor médio $\pm$ desvio padrão, n = 3).....	64
<b>Tabela 6.1.3</b>	Comparação entre as figuras de mérito obtidas com TS-FF-AAS e FAAS .....	66
<b>Tabela 6.1.4</b>	Figuras de mérito determinadas para o sistema TS-FF-AAS introduzindo 600 $\mu$ L de amostra.....	68
<b>Tabela 6.1.5</b>	Equações e coeficientes de correlação lineares das curvas analíticas de calibração construídas nos diferentes meios ácidos .....	70
<b>Tabela 6.1.6</b>	Concentração de Se nas amostras de leite com os respectivos desvios padrão relativos (n = 3).....	71
<b>Tabela 6.1.7</b>	Concentrações de Se e respectivos desvios padrão determinados nas águas de coco por GFAAS (n = 3) .....	72
<b>Tabela 6.1.8</b>	Concentrações de Se determinadas em amostras comerciais e materiais de referência certificados por TS-FF-AAS (valor médio $\pm$ intervalo de confiança, n = 3).....	77
<b>Tabela 6.2.1</b>	Comparação entre as figuras de mérito obtidas por TS-FF-AAS e FAAS para o elemento Rb .....	81
<b>Tabela 6.3.1</b>	Absorbâncias integradas obtidas para o estudo realizado com os brancos analíticos (água desionizada ou solução de HNO <sub>3</sub> 0,14 mol/L) nos dois diferentes tubos .....	83
<b>Tabela 6.3.2</b>	Valores de absorbâncias líquidas obtidas com o estudo de diferentes tubos atomizadores em meio ácido e em água (média, n = 2).....	85
<b>Tabela 6.3.3</b>	Valores médios de absorbância integrada (n = 2) obtidos usando diferentes combinações entre as concentrações de APDC e Triton X-114 para a pré-concentração de 100 $\mu$ g/L de Ni (II).....	87
<b>Tabela 6.3.4</b>	Valores médios de absorbância integrada (n = 2) obtidos usando diferentes combinações entre as concentrações de ditizona e Triton X-114 para a pré-concentração de 100 $\mu$ g/L de Ni (II) .....	87
<b>Tabela 6.3.5</b>	Absorbâncias integradas obtidas no estudo do pH de complexação do Ni (II) com o APDC (valores médios, n = 3).....	89

<b>Tabela 6.3.6</b>	Comparação entre as características analíticas obtidas por FAAS e por TS-FF-AAS .....	96
<b>Tabela 6.3.7</b>	Experimentos realizados utilizando fluoreto como mascarante e os respectivos valores de absorvância integrada (pH = 4,5).....	101

## LISTA DE FIGURAS

<b>Figura 2.6.1</b>	Absorção de radiação em função do comprimento de onda .....	16
<b>Figura 2.9.1</b>	Ilustração de um tensoativo: a) Grupo cabeça b) Cadeia carbônica .....	23
<b>Figura 2.9.2</b>	Ilustração da formação das micelas, abaixo e acima da CMC .....	24
<b>Figura 4.3.1</b>	Configuração dos tubos atomizadores usados no trabalho a) Tubo convencional b) Tubo com maior orifício c) Tubo com 12 cm, sem furos na parte inferior.....	32
<b>Figura 4.5.1</b>	Esquema da montagem do sistema TS-FF-AAS.....	34
<b>Figura 4.5.2</b>	Fotografias da montagem do sistema TS-FF-AAS: a) Sistema em funcionamento. b) Tubo de níquel posicionado sobre a chama e capilar cerâmico. ....	35
<b>Figura 5.1.1</b>	Ilustração do deslocamento de equilíbrio com o uso de supressor de ionização. ....	49
<b>Figura 6.1.1</b>	Gráfico de Pareto mostrando as variáveis que tiveram efeito sobre o sinal analítico.....	62
<b>Figura 6.1.2</b>	Gráfico dos efeitos principais mostrando a influência das variáveis sobre o sinal analítico do Se .....	63
<b>Figura 6.1.3</b>	Efeito provocado pela vazão do carregador sobre o sinal da absorbância Integrada. ....	65
<b>Figura 6.1.4</b>	Curvas de calibração obtidas para Se a) TS-FF-AAS b) FAAS convencional.....	66
<b>Figura 6.1.5</b>	Absorbâncias integradas obtidas em função do volume da solução contendo 100 µg/L de Se .....	67
<b>Figura 6.1.6</b>	Curva de calibração obtida introduzindo-se 600 µL de amostra.....	68
<b>Figura 6.1.7</b>	Curvas de calibração obtidas em diferentes meios ácidos: a) 0,14 mol/L b) 0,50 mol/L e c) 0,80 mol/L .....	70
<b>Figura 6.1.8</b>	Efeito dos concomitantes sobre o sinal da absorbância integrada, obtido por TS-FF-AAS: a) Mg <sup>2+</sup> , b) Na <sup>+</sup> , c) Ca <sup>2+</sup> , d) K <sup>+</sup> , e) Mn <sup>2+</sup> As barras representam os valores médios com os respectivos desvios padrão também representados (n=3) .....	74
<b>Figura 6.1.9</b>	Efeito dos concomitantes sobre o sinal da absorbância integrada, obtido	

	por FAAS: a) $Mg^{2+}$ , b) $Na^{2+}$ , c) $Ca^{2+}$ , d) $K^+$ , e) $Mn^{2+}$ . As barras representam os valores médios com os respectivos desvios padrão também representados (n=2) .....	75
<b>Figura 6.2.1</b>	Gráfico de Pareto mostrando os efeitos das variáveis estudadas sobre o sinal analítico.....	78
<b>Figura 6.2.2</b>	Gráfico dos efeitos principais: a) composição da chama e tipo de carregador b) altura de observação e supressor de ionização.....	79
<b>Figura 6.2.3</b>	Absorbâncias integradas obtidas em função da vazão (concentração de rubídio 100 $\mu g/L$ ) .....	80
<b>Figura 6.2.4</b>	Curvas de calibração obtidas para o Rb a) TS-FF-AAS b) FAAS.....	81
<b>Figura 6.3.1</b>	Tubo com maior orifício posicionado sobre o queimador mostrando as bordas da chama saindo pelas extremidades do tubo. Coloração provocada por uma solução de 1,0 g/L de Cu (II).....	84
<b>Figura 6.3.2</b>	Fórmula estrutural do surfactante Triton X-114. ....	86
<b>Figura 6.3.3</b>	Pirrolidinaditiocarbamato de amônio (APDC). (a) Fórmula estrutural (b) Fórmula estrutural genérica dos complexos organometálicos. M = íon metálico .....	88
<b>Figura 6.3.4</b>	Gráfico de Pareto mostrando os efeitos das variáveis e dos seus efeitos sobre o sinal analítico.....	90
<b>Figura 6.3.5</b>	a) Gráfico dos efeitos principais para a composição da chama (reduzora e estequiométrica) e a altura de observação. b) Composição da chama (estequiométrica e oxidante) juntamente com a altura de observação.....	91
<b>Figura 6.3.6</b>	Gráfico de Pareto mostrando os efeitos das variáveis tipo de carregador e vazão. ....	92
<b>Figura 6.3.7</b>	Figura 0-1 Gráfico dos efeitos principais para as variáveis vazão e tipo de carregador. ....	92
<b>Figura 6.3.8</b>	Efeito dos solventes de diluição da fase rica sobre o sinal analítico (valores médios, n = 2, com as respectivas indicações de desvio padrão) .....	94
<b>Figura 6.3.9</b>	Efeito do volume da amostra sobre o sinal analítico do Ni por TS-FF-AAS .....	95
<b>Figura 6.3.10</b>	Curvas de calibração obtidas para o Ni a) TS-FF-AAS b) FAAS.....	96

- Figura 6.3.11** Efeito de alguns concomitantes sobre o sinal analítico do Ni (II) a)  $\text{Al}^{3+}$  b)  $\text{Co}^{2+}$  e c)  $\text{Fe}^{3+}$  medidos por TS-FF-AAS (valores médios e desvios padrão,  $n = 3$ ). .....98
- Figura 6.3.12** Efeito de alguns concomitantes sobre o sinal analítico do Ni (II) a)  $\text{Al}^{3+}$  b)  $\text{Co}^{2+}$  e c)  $\text{Fe}^{3+}$  medidos por FAAS (valores médios e desvios padrão,  $n = 3$ ). .....99

## RESUMO

### **AVALIAÇÃO DO COMPORTAMENTO DOS ELEMENTOS Ni, Rb e Se POR ESPECTROMETRIA DE ABSORÇÃO ATÔMICA USANDO FORNO TUBULAR NA CHAMA E AEROSSOL TÉRMICO**

Neste trabalho, avaliou-se o comportamento dos elementos Ni, Rb e Se por espectrometria de absorção atômica com forno tubular na chama e aerossol térmico (TS-FF-AAS). A montagem do sistema TS-FF-AAS consistiu de um tubo atomizador de Ni posicionado sobre o queimador de ar / acetileno. Com o auxílio de uma bomba peristáltica e um capilar cerâmico aquecido pela chama, a amostra foi convertida em um aerossol e transportada para o interior do tubo atomizador de Ni. A sensibilidade foi aumentada devido à completa introdução da amostra no caminho óptico e ao aumento do tempo de permanência do analito na zona de observação. Para todos os elementos, parâmetros como composição da chama, altura de observação (posição do tubo em relação à chama), tipo e vazão do carregador e volume da amostra foram investigados na atomização do analito. Para o Se, o limite de detecção obtido foi 95 vezes menor que o apresentado por FAAS. A determinação desse elemento é dificultada, pois o Se absorve em uma região ( $\lambda = 196 \text{ nm}$ ) onde ocorre absorção dos próprios gases da chama e o espalhamento de radiação é mais acentuado. Mesmo considerando-se essas dificuldades experimentais, a determinação exata de Se por TS-FF-AAS foi possível para amostras de tecidos animais usando digestão em forno de microondas com cavidade e  $\text{HNO}_3$  diluído. Para o Rb também houve ganho na sensibilidade de 37 vezes comparativamente à FAAS, obtendo-se um limite de detecção por TS-FF-AAS de  $2,65 \mu\text{g/L}$ . Por outro lado, o Ni é um elemento refratário e necessita de condições especiais para facilitar os processos de volatilização e atomização. Dessa forma, optou-se por desenvolver um procedimento de pré-concentração e extração no ponto nuvem. A combinação desses procedimentos com TS-FF-AAS proporcionou uma melhoria no limite de detecção de 18 vezes, mas a determinação de Ni em amostras biológicas foi dificultada devido às interferências causadas por  $\text{Al(III)}$ ,  $\text{Co(II)}$  e  $\text{Fe(III)}$ . Essas interferências podem ser corrigidas adicionando-se fluoreto aos digeridos.

**ABSTRACT**

**EVALUATION OF THE BEHAVIOR OF Ni, Rb AND Se BY  
THERMOSPRAY FLAME FURNACE ATOMIC ABSORPTION  
SPECTROMETRY**

In the present work the behavior of the elements Ni, Rb, and Se was evaluated by thermospray flame furnace atomic absorption spectrometry (TS-FF-AAS). The arrangement of the TS-FF-AAS system consisted of a Ni tube located on the burner head of an air / acetylene flame with a ceramic capillary tube connected to it and heated by the flame. The sample was transported towards the capillary heated tube by action of a peristaltic pump, and then transformed in a thermospray that was introduced into the Ni tube. The sensitivity was increased by the complete introduction of the sample in the absorption volume. For all tested elements, the effect of the main parameters on atomization, such as flame composition, observation height, type of carrier stream, flow rate, and sample volume, was investigated. For selenium, the detection limit obtained was 95-fold better than that obtained by FAAS. Notwithstanding, selenium determination was difficult due to the absorption region of this element ( $\lambda = 196 \text{ nm}$ ), that implied in molecular absorption by flame gases and scattering of radiation. Based on prescribed conditions established by a factorial experiment, selenium was determined with accuracy in samples of animal tissues and in two standard reference materials after microwave-assisted digestion using a diluted solution of acid nitric. For Rb, the sensitivity increased 37-fold compared to FAAS, leading to a detection limit of  $2.65 \mu\text{g/L}$  by TS-FF-AAS. On the other hand, Ni is a refractory element and needed special conditions to facilitate the volatilization and atomization processes. Thus, a cloud point extraction procedure was developed. The combination of both TS-FF-AAS and cloud point extraction led to an improvement of 18-fold in detection limit, however Ni determination in biological samples was limited owing to interferences caused by Al(III), Co(II), and Fe(III). These interferences could be solved by adding fluoride to the digests.

## Sumário

<b>1. Introdução</b> .....	1
<b>2. Revisão Bibliográfica</b> .....	5
2.1 Espectrometria de absorção atômica.....	6
2.2 Espectrometria da absorção atômica com chama (FAAS).....	6
2.3 Espectrometria de Absorção Atômica com Injeção de Amostra em Forno Aquecido por Chama (BIFF-AAS).....	8
2.4 Espectrometria de Absorção Atômica com Forno Tubular na Chama e Aerossol Térmico (TS-FF-AAS).....	9
2.5 A importância do selênio	12
2.5.1 Sobre a Determinação de Se por Espectrometria de Absorção Atômica com Chama (FAAS).....	15
2.6 A importância do rubídio.....	17
2.6.1 A determinação de Rb por FAAS.....	18
2.7 A importância do níquel.....	19
2.7.1 A determinação de Ni por FAAS.....	20
2.8 Formação de complexos voláteis.....	21
2.8.1 Pré-concentração e extração no ponto nuvem.....	21
2.9 Planejamento de Experimentos.....	29
<b>3. Objetivos</b> .....	27
<b>4. Materiais e Métodos</b> .....	27
4.1 Instrumentos e acessórios.....	30
4.2 Acessórios para o sistema TS-FF-AAS.....	30
4.3 Configuração dos diferentes tubos atomizadores usados no trabalho.....	32
4.4 Reagentes e soluções.....	33
4.5 Configuração do sistema TS-FF-AAS.....	34
<b>5. Procedimento Experimental</b> .....	37
5.1.1 Parâmetros de operação do sistema TS-FF-AAS.....	38
5.2 <b>Estudos com o elemento Se</b> .....	39
5.2.1 Otimização da configuração do tubo atomizador.....	39
5.2.2 Otimização dos parâmetros operacionais do sistema TS-FF-AAS.....	39
5.2.3 Efeito da vazão do carregador da amostra.....	40
5.2.4 Figuras de Mérito.....	41
5.2.5 Figuras de Mérito FAAS.....	41
5.2.6 Otimização do volume da amostra.....	41
5.2.7 Novas figuras de mérito.....	42
5.2.8 <b>Avaliação da aplicação da TS-FF-AAS para a determinação de Se em amostras de alimentos e biológicas</b> .....	42
5.2.8.1 Avaliação da determinação de Se em castanha do Pará.....	42
5.2.8.2 Otimização do preparo da amostra.....	42
5.2.8.3 Estudo do efeito da acidez sobre a curva analítica de calibração.....	43



5.2.8.4	Avaliação da determinação de Se em leite e água de coco.....	44
5.2.8.5	Estudo de Concomitantes.....	46
5.2.8.6	Determinação de Se em amostras biológicas por TS-FF-AAS usando o método das adições de padrão.....	46
5.3	<b>Estudos efetuados para o elemento Rb</b> .....	48
5.3.1	Estudos para otimização do sistema TS-FF-AAS.....	48
5.3.2	Otimização da vazão do carregador.....	50
5.3.3	Figuras de mérito.....	51
5.4	<b>Estudos efetuados para o elemento Ni</b> .....	51
5.4.1	Avaliação do branco analítico.....	51
5.4.2	Estudo do tubo atomizador.....	51
5.4.3	Pré-concentração e extração no ponto nuvem.....	52
5.4.4	Estudo de complexantes.....	52
5.4.5	Estudo do pH de complexação.....	53
5.4.6	Otimização dos parâmetros de operação do sistema TS-FF-AAS.....	53
5.4.7	Figuras de Mérito.....	54
5.4.8	Estudo de Concomitantes.....	55
5.4.9	<b>Avaliação da Aplicação da TS-FF-AAS para a Determinação de Ni..</b>	55
5.4.9.1	Avaliação da determinação de níquel em material de referência certificado usando HCl (1 mol/L) como solução extratora e posterior pré-concentração e extração no ponto nuvem.....	55
5.4.9.2	Avaliação da determinação de Ni usando fluoreto como agente complexante dos concomitantes.....	56
6.	<b>Resultados e Discussão</b> .....	59
6.1.1	Avaliação do comportamento do Se.....	60
6.1.2	Otimização da configuração do tubo atomizador.....	60
6.1.3	Composição da chama, altura de observação e tipo de carregador.....	61
6.1.4	Efeito da vazão do carregador.....	64
6.1.5	Figuras de Mérito.....	65
6.1.6	Estudo do volume da amostra.....	66
6.1.7	Novas figuras de mérito.....	67
6.1.8	<b>Avaliação da aplicação da TS-FF-AAS para a determinação de Se em amostras de alimentos e biológicas</b> .....	69
6.1.8.1	Avaliação da determinação de Se em castanha do Pará.....	69
6.1.8.3	Efeito da acidez das soluções.....	69
6.1.8.4	Avaliação da determinação Se em amostras de leite e água de coco.	71
6.1.8.5	Efeito de Concomitantes.....	73
6.1.8.6	Avaliação da determinação Se em tecidos animais por TS-FF-AAS....	76
6.2	<b>Avaliação do comportamento do Rb</b> .....	77
6.1.2	Otimização da composição da chama tipo de carregador e altura de observação.....	77
6.1.3	Efeito da vazão do carregador sobre o sinal analítico.....	80
6.1.4	Figuras de mérito.....	80
6.3	<b>Estudos efetuados para o elemento Ni</b> .....	82
6.3.1	Estudo do branco analítico.....	82
6.3.2	Efeito da configuração do tubo atomizador.....	83

6.3.3 Pré-concentração e extração no ponto nuvem.....	86
6.3.4 Estudo do tipo de complexante.....	87
6.3.5 Efeito do pH de complexação.....	89
6.3.6 Estudo dos parâmetros de operação do sistema TS-FF-AAS.....	89
6.3.7 Efeito do solvente de diluição da fase rica.....	93
6.3.8 Efeito do volume da amostra.....	94
6.3.9 Figuras de mérito.....	95
6.3.10 Efeito causado por concomitantes.....	96
6.3.11 <b>Avaliação da Aplicação da TS-FF-AAS para a Determinação de Ni</b>	100
6.3.11.1 Avaliação da determinação de níquel em material de referência certificado usando HCl (1 mol/L) como solução extratora e posterior pré- concentração e extração no ponto nuvem.....	100
6.3.11.2 Avaliação da determinação de Ni usando fluoreto como mascarante dos complexantes.....	100
<b>7. Conclusões.....</b>	104
<b>8. Referências Bibliográficas.....</b>	108

# Introdução

---

## Capítulo 1

## **1. Introdução**

A Química Analítica moderna vem evoluindo na busca de procedimentos que forneçam mais informações sobre a composição química de diferentes tipos de amostras com menor aporte de recursos materiais. Além do custo analítico, procura-se desenvolver procedimentos que apresentem elevada frequência de amostragem com capacidade para a determinação de elementos presentes em baixas concentrações.

A crescente demanda por análises mais rápidas e por resultados mais precisos e exatos, vem provocando um maior desenvolvimento de novos métodos e técnicas analíticas com o intuito de melhorar a sensibilidade e a seletividade.

A espectrometria de absorção atômica pode ser utilizada para a determinação quantitativa de metais e semi-metais em amostras alimentícias, biológicas, ambientais e outras.

A espectrometria de absorção atômica com chama (FAAS), mesmo na sua conhecida forma monoelementar, é ainda hoje, a técnica mais utilizada para análise elementar, pois é seletiva, rápida, pode ser facilmente automatizada, apresenta baixos custos de aquisição e manutenção, é robusta e pouco susceptível a problemas causados por interferências.<sup>1</sup> Entretanto, a atomização com chama é raramente utilizada para a determinação de elementos em baixas concentrações devido a insuficiente sensibilidade atribuída principalmente a dois fatores: baixa eficiência de nebulização e pequeno tempo de residência dos átomos no caminho óptico.<sup>2</sup>

Muitos esforços vêm sendo realizados para estender as capacidades dessa técnica analítica, por meio de uma maior eficiência na introdução da amostra. Por essa razão, recentemente uma nova técnica denominada espectrometria de absorção atômica com forno tubular na chama e aerossol térmico (TS-FF-AAS) tem sido estudada na tentativa de melhorar a sensibilidade.

Nessa proposta, um tubo de níquel usado como célula de atomização, é posicionado sobre a chama ar-acetileno e a amostra em solução ou suspensão é introduzida dentro do tubo através de um capilar cerâmico aquecido a altas temperaturas com o auxílio de uma bomba peristáltica. Por aquecimento condutivo entre o capilar cerâmico e o tubo atomizador sobre a chama, ocorre a formação de um aerossol térmico.

A técnica de TS-FF-AAS proporciona um aumento no poder de detecção em relação à FAAS convencional devido a completa introdução da amostra no nebulizador e pelo aumento do tempo de permanência dos átomos no caminho óptico.<sup>3,4</sup>

Neste trabalho, foram avaliados os comportamentos dos elementos Ni, Rb e Se por TS-FF-AAS para a posterior tentativa de determinar esses elementos em amostras biológicas e alimentos.

Para os três elementos em estudo, foram analisados os efeitos causados por parâmetros como composição da chama, altura de observação, tipo de carregador, vazão e volume da amostra. Efeitos causados por concomitantes também foram avaliados.

Para a determinação do elemento Ni, que é refratário e necessita de uma maior temperatura de atomização, será avaliado o método de pré-concentração e extração no ponto nuvem previamente à determinação por TS-FF-AAS, de modo a facilitar os processos de volatilização e atomização e aumentar a sensibilidade pela pré-concentração do analito.



# Revisão Bibliográfica

---

## Capítulo 2

## **2. Revisão Bibliográfica**

### **2.1 Espectrometria de Absorção Atômica**

A espectrometria de absorção atômica (AAS) pode ser empregada para a determinação quantitativa de metais e semi-metais em uma ampla variedade de amostras biológicas, alimentícias, ambientais, geológicas, entre outras.<sup>6</sup> A AAS é uma técnica importante devido à sua alta sensibilidade, capacidade de distinguir um elemento do outro em uma amostra complexa e a capacidade para automação. A medição de concentrações de constituintes em partes por milhão é uma rotina e mesmo concentrações de parte por trilhão podem ser alcançadas em algumas análises.<sup>7</sup>

O princípio da AAS é simples e se baseia na medida de absorção da radiação eletromagnética, proveniente de uma fonte de radiação, por átomos gasosos no estado fundamental.<sup>6</sup>

Os primeiros estudos da espectrometria de absorção atômica como uma técnica analítica foram feitos na Austrália, no ano de 1955 por ALAN WALSH,<sup>8</sup> que com base na lei de absorção de KIRCHHOFF e BUNSEN e na lei quântica de absorção e emissão de radiação proposta por PLANCK, propôs o uso analítico do processo de absorção atômica e montou o primeiro protótipo de um espectrômetro de absorção atômica, sendo por isso, considerado o pai da técnica.

O processo de formação de átomos no estado fundamental, denominado atomização, pode ser obtido via chama, via eletrotérmica, ou por reação química como a geração de vapor frio de Hg. Atomizadores eletrotérmicos compreendem principalmente os tubos de grafite, filamentos de tungstênio, tubos de quartzo (para a atomização de hidretos) e tubos metálicos e cerâmicos.<sup>9</sup>

### **2.2 Espectrometria de Absorção Atômica com Chama (FAAS)**

A espectrometria de absorção atômica com chama é uma das técnicas espectrométricas mais antigas e permanece sendo extremamente empregada em laboratórios de rotina.<sup>2</sup>



Em um espectrômetro de absorção atômica com chama utiliza-se um queimador de pré-mistura no qual a amostra, o oxidante e o combustível (geralmente ar e acetileno) são misturados antes de serem introduzidos na chama.<sup>7</sup>

A amostra em solução é aspirada por efeito Venturi por um nebulizador pneumático concêntrico para o interior da câmara de nebulização, originando um aerossol com partículas líquidas da solução da amostra dispersas nos gases que originarão a chama. O aerossol formado é então direcionado em alta velocidade contra anteparos que causam a quebra das gotículas em partículas menores (nebulização). O aerossol formado, o oxidante e o combustível geralmente passam por defletores que bloqueiam as gotículas maiores do líquido e o excesso do mesmo é retirado através de um dreno. As gotículas com diâmetros inferiores a 5  $\mu\text{m}$  atingem a chama e uma série de processos físico-químicos geram a nuvem atômica que atenua o feixe de radiação incidente. A atenuação do feixe, i.e. a razão entre a intensidade do feixe incidente e a intensidade do feixe transmitido, é medida pelo detector. O processo de nebulização é ineficiente e apenas cerca de 5 - 10% da amostra aspirada é introduzida na chama, sendo o restante perdido.<sup>7,10</sup>

Além disso, o tempo médio de residência dos átomos gasosos na região de observação é baixo. Esses dois fatores afetam negativamente a sensibilidade da técnica, principalmente para os elementos mais refratários. Assim, trata-se uma técnica ideal para análise elementar em níveis de  $\text{mg L}^{-1}$  quando é necessária a determinação de poucos elementos em um grande número de amostras.<sup>6</sup>

A FAAS vêm sendo também investigada como uma técnica multielementar. Um exemplo disso é o desenvolvimento de equipamentos de absorção atômica com fonte contínua de xenônio (CS-AAS) que, durante os anos 90, se tornou possível graças ao aumento da resolução dos policromadores Echelle e a utilização de detectores de estado sólido. Segundo HARNLY *et al.*<sup>11</sup> essa nova estratégia apresenta vantagens como a utilização de apenas uma fonte de radiação para a determinação simultânea de vários elementos e melhoria do limite de detecção de 1,5 a 2 vezes, quando comparado com a espectrometria de absorção atômica com lâmpada de cátodo oco, além de possibilitar acesso exato a qualquer comprimento de onda e apresentar um efetivo sistema de correção de fundo<sup>12</sup>

Contudo, a FAAS é raramente utilizada para a determinação de baixas concentrações ( $\mu\text{g/L}$ ) devido à sua insuficiente sensibilidade.<sup>13</sup>

Assim sendo, elementos presentes em baixas concentrações, têm sido determinados empregando técnicas mais sensíveis como a espectrometria de absorção atômica em forno de grafite (GFAAS), que apresenta alto custo em acessórios e manutenção.

Com o objetivo de aumentar a sensibilidade da FAAS, muitos métodos foram e ainda são propostos com alternativas diversas para a introdução de amostras, sendo que os métodos mais recentes se baseiam na introdução de amostra em tubos sobre a chama, como a espectrometria de absorção atômica com forno aquecido por chama (BIFF-AAS) e a espectrometria de absorção atômica com forno tubular na chama e aerossol térmico (TS-FF-AAS).<sup>14</sup>

### **2.3 Espectrometria de Absorção Atômica com Injeção de Amostra em Forno Aquecido por Chama (BIFF-AAS)**

Em 1999, GÁSPAR e BERNDT<sup>15</sup> propuseram um novo sistema denominado BIFF-AAS (*Beam Injection Flame Furnace Atomic Absorption Spectrometry*), no qual a amostra era transportada como um jato de líquido em alta velocidade para o interior de um tubo metálico posicionado sobre a chama do queimador de um espectrômetro de absorção atômica através de um nozzle, que com o auxílio de uma bomba de cromatografia líquida de alta eficiência (HPLC), formava um fino jato de solução. Nesse trabalho, foram avaliados 17 elementos em soluções de calibração aquosas, sendo que a sensibilidade aumentou de 1,5 a 69 vezes para os elementos estudados em comparação com a técnica de nebulização pneumática convencional.

Usando esse sistema, foi possível determinar Cd e Pb em níveis de  $\mu\text{g/L}$  em uma solução de NaCl, sendo que os sinais medidos em altura de pico foram 25 vezes maior para o Pb e 29 vezes maior para o Cd quando comparados com aqueles obtidos por FAAS.<sup>16</sup>

Em 2001 GÁSPÁR e BERNDT<sup>17</sup> compararam os limites de detecção obtidos com o sistema BIFF-AAS usando uma bomba peristáltica e um nozzle especial de microcanal com os limites de detecção obtidos por FAAS para 6 elementos (Ag, Cd, Hg, Pb, Se e Zn), sendo que a sensibilidade aumentou de 7 a 17 vezes quando o sistema BIFF-AAS foi usado. Para o elemento Se, por exemplo, houve um ganho no sinal de 9 vezes.

Em 2004, RATKA e BERNDT<sup>18</sup> determinaram os limites de detecção de elementos como Cd, Hg, Pb e Tl comparando diferentes tipos de nozzle (com diferentes pressões e vazões) usando um fluido super-crítico (CO<sub>2</sub>) como carregador.

Também em 2004, ALEIXO *et al.*<sup>19</sup> empregaram o sistema BIFF-AAS para a determinação de Cd e Pb em amostras de alimentos utilizando o método de extração ultra-sônica, sendo que a determinação dos elementos foi efetuada no sobrenadante. As amostras foram moídas em um moinho criogênico, transferidas para tubos de centrífuga com 5 mL de uma solução 2,8 mol/L de HNO<sub>3</sub> e colocadas em um banho ultra-sônico durante 5 e 10 min, dependendo da matriz. Em seguida, os volumes dos tubos da centrífuga foram completados para 10 mL com água desionizada, os tubos foram centrifugados por 5400 rpm durante 5 min. Um volume de 400 µL do sobrenadante foi injetado no sistema BIFF-AAS para a determinação de Cd e Pb. As amostras também foram digeridas em forno de microondas com cavidade e os analitos determinados por GFAAS para a comparação dos resultados. Materiais de referência certificados também foram usados para avaliar a precisão e exatidão do método empregado. Uma bomba peristáltica foi avaliada para o transporte da amostra, mas por apresentar melhores resultados, a bomba de HPLC foi escolhida. Nesse trabalho, os limites de detecção para Cd e Pb foram de 0,65 e 32 µg/L, respectivamente. A melhoria dos limites de detecção foi de 26 a 32 vezes em comparação com a nebulização pneumática convencional.

## **2.4 Espectrometria de Absorção Atômica com Forno Tubular na Chama e Aerossol Térmico (TS-FF-AAS)**

O aerossol térmico convencional foi originalmente desenvolvido por Vestal e Fergusson<sup>20</sup> como uma interface entre a cromatografia líquida e a espectrometria de

massas. O sistema foi construído dentro de uma câmara de nebulização de um plasma acoplado indutivamente.

Recentemente, uma nova técnica foi proposta combinando a formação do aerossol térmico e a espectrometria de absorção atômica com chama (FAAS).<sup>4,21</sup>

Nessa proposta, a espectrometria de absorção atômica com forno tubular na chama e aerossol térmico - TS-FF-AAS (*Thermospray Flame Furnace Atomic Absorption Spectrometry*), um tubo de níquel, usado como célula de atomização, é posicionado sobre a chama ar-acetileno e a amostra em solução ou suspensão, é introduzida diretamente dentro do tubo através de um capilar cerâmico com um diâmetro entre 0,5 e 1 mm, aquecido a altas temperaturas.<sup>5</sup>

A extremidade aquecida do capilar cerâmico, cuja temperatura atinge cerca de 900°C por aquecimento condutivo gerado pelo contato com o tubo de níquel sobre a chama, atua formando um aerossol térmico. Geralmente, utiliza-se uma bomba peristáltica ou de HPLC para o transporte da solução ou suspensão da amostra através do capilar.

A técnica de TS-FF-AAS proporciona um aumento no poder de detecção em relação à FAAS convencional devido à completa introdução da amostra no atomizador, além de proporcionar um tempo maior para a atomização do analito.<sup>4,5</sup>

DAVIES e BERNDT<sup>4</sup> determinaram 17 elementos utilizando o método TS-FF-AAS usando 3 formas diferentes para o transporte das soluções: uma bomba de HPLC, uma bomba peristáltica e uma bomba de diafragma (utilizando uma válvula de injeção de cromatografia líquida). Chumbo foi determinado em amostras de água, injetando-se 200 µL de amostra. O limite de detecção foi próximo ao obtido por GFAAS. Houve um aumento da sensibilidade para todos os elementos estudados, principalmente para os elementos mais voláteis como Cd (LOD = 0,3 µg/L), Pb (LOD = 2,4 µg/L) e TI (LOD = 3,8 µg/L).

PEREIRA-FILHO *et al.*<sup>5</sup> estudaram a determinação de metais traço em tecidos animais e vegetais introduzidos como suspensões. Usando um banho de ultrassom, foram feitas a homogeneização e estabilização das suspensões de amostras de fígado bovino, rim suíno, espinafre, folhas de tomate e outras, na concentração entre 0,1 e 1% (m/v) em 0,3 mol/L de HNO<sub>3</sub> e 1% (v/v) de Triton X-100. Aproximadamente 300 µL de amostra foi introduzido no sistema TS-FF-AAS, usando como carregador,

uma solução de HNO<sub>3</sub> 0,014 mol/L e 0,05% (v/v) de Triton X-100. Os limites de detecção encontrados para Cd, Cu e Pb foram, respectivamente, 0,5; 4,3 e 3,5 µg/g.

NASCENTES *et al.*<sup>22</sup> empregaram o sistema TS-FF-AAS para a determinação de Cu e Zn em leite bovino e suco de frutas sem nenhum pré-tratamento. O volume da amostra injetado foi otimizado em 300 µL e o carregador usado foi HNO<sub>3</sub> 0,014 mol/L com uma vazão de 0,4 mL/min. Os limites de detecção obtidos para Cu e Zn foram 2,2 e 0,91 µg/L, respectivamente, e 3,2 µg/L para Cu em uma solução aquosa contendo aminas terciárias solúveis em água (CFA-C). O preparo da amostra foi feito pela simples diluição da amostra em água ou em CFA-C. Foram realizados testes de adição e recuperação e os valores obtidos variaram de 97,7 a 105,3% para Cu e Zn.

TARLEY e ARRUDA<sup>23</sup> determinaram Cd usando o sistema de pré-concentração em linha com espuma poliuretana juntamente com o sistema TS-FF-AAS. O Cd foi pré-concentrado em meio ácido (pH = 2) pela formação de um complexo com o O,O-dietilditiofosfato de amônio que foi adsorvido em espuma poliuretana. A etapa de eluição foi feita usando etanol 80% (v/v). Foram otimizados parâmetros como o pH de formação do complexo, a concentração de DDTP, o fluxo do eluente e a massa do adsorvente. A exatidão do método foi verificada fazendo-se a determinação por ETAAS e com materiais de referência certificados. O aumento do poder de detecção foi de 5 vezes quando comparado ao sistema TS-FF-AAS usado isoladamente.

VILLAFRANCA<sup>24</sup> determinou Cd, Cu, Pb e Zn em álcool combustível e óleo diesel e LOBO<sup>25</sup> aplicou a TS-FF-AAS na determinação de Sn em amostras alimentícias. Em ambos os trabalhos, além do tubo metálico, também foi avaliado um tubo cerâmico como atomizador. Observou-se maior sensibilidade na determinação desses elementos por TS-FF-AAS quando o tubo cerâmico foi utilizado. Contudo, maiores efeitos de memória e, conseqüentemente, menor freqüência de amostragem também foram observados.

Em 2005, NASCENTES *et al.*<sup>26</sup> propuseram a determinação direta de Cu, Mn, Pb e Zn em amostras de cerveja usando o método das adições de analito. As amostras foram desgaseificadas em um banho ultrasônico e diluídas em HNO<sub>3</sub> 0,14 mol/L. Foram inseridos 300 µL de amostra e o carregador usado foi ar ou HNO<sub>3</sub> (0,14 mol/L) dependendo do elemento. Os limites de detecção obtidos para Cu, Mn, Fe e Zn

foram 2,2; 18; 1,6 e 0,9 µg/L respectivamente. Os resultados foram comparados com os obtidos por GFAAS e concordaram a um nível de 95% de confiança.

No trabalho de dissertação desenvolvido, foi avaliada a viabilidade do emprego da técnica de TS-FF-AAS para a determinação de Ni, Rb e Se em amostras biológicas e alimentícias.

## **2.5 A importância do selênio**

O selênio é um não-metal do grupo dos calcogênios. É um elemento raro na crosta terrestre, ocorrendo na concentração de 0,05 mg/kg e é o 68º elemento da tabela periódica em abundância relativa<sup>27</sup>.

O Se foi descoberto por Jons Jacob Berzelius, no ano de 1817 durante a queima de enxofre em piritas na Suécia. Nesse processo, houve a formação de um precipitado vermelho, que quando aquecido, produzia um forte odor de rabanete.

Inicialmente, pensou-se que era telúrio, mas alguns testes posteriores mostraram que o precipitado era volátil e sofria redução. Berzelius deu ao precipitado, o nome de selênio, que significa lua em grego (Selênê), devido às suas similaridades químicas com o elemento Te, que 35 anos antes, havia recebido o nome de terra<sup>28</sup>.

O selênio é moderadamente reativo e queima ao ar formando dióxidos. Ele se combina diretamente com a maioria dos elementos, tanto metais como não metais, embora com menor facilidade que o oxigênio. Como é esperado no caso dos elementos não metálicos, o Se não é atacado por ácidos, exceto por aqueles que são também oxidantes.<sup>27</sup>

São conhecidas seis variedades alotrópicas do Se. O interesse por essas variedades se deve ao uso do Se em dispositivos eletrônicos, por exemplos dispositivos de captura de imagens em fotocopiadoras e em diodos emissores de luz (LEDs). Há quatro formas vermelhas, contendo anéis de Se<sub>8</sub>, que diferem no modo do empacotamento dos cristais, sendo que uma forma vermelha é amorfa e contém cadeias poliméricas. Há duas formas cinza, sendo que a mais estável é a forma metálica. Comercialmente, se encontra uma forma preta vítrea de Se, constituída por grandes anéis irregulares com até 1000 átomos.<sup>27</sup>

O selênio pode ser encontrado em 4 estados de oxidação: selênio elementar (0), seleneto (-2), selenito (+4) e selenato (+6). As formas inorgânicas como selenito e selenato se encontram predominantemente na água e as espécies orgânicas de Se (seleniometionina e seleniocisteína), se encontram em cereais e vegetais.<sup>29</sup>

Devido à sua alta solubilidade, o Se (IV) é mais perigoso para organismos aquáticos que o Se (VI). A concentração dessas espécies químicas depende do pH, da presença de agentes complexantes ou gases dissolvidos (especialmente o oxigênio).<sup>30</sup>

O selênio foi reconhecido como elemento traço essencial em 1958, mas suas funções bioquímicas em animais e humanos foram reconhecidas apenas em 1973.

Esse elemento é encontrado como seleniocisteína na enzima glutatona peroxidase, que é responsável por proteger o organismo contra processos de degradação oxidativa provocados por lipoperóxidos e peróxido de hidrogênio.<sup>28,30</sup>

O selênio contribui para o crescimento e pode prevenir ou curar doenças como a deficiência de vitamina E.<sup>31</sup>

Em 1935, na região de Keshan (China), devido a baixa concentração de Se presente nos alimentos, houve a incidência de uma doença caracterizada pelo alargamento e enrijecimento do coração com conseqüente insuficiência cardíaca (Doença de Keshan), principalmente em crianças e mulheres grávidas. A doença pode ser curada pela administração de selenito de sódio.<sup>30,32</sup> Entretanto, em altas concentrações, o Se é tóxico podendo provocar sérios riscos à saúde humana.

Em outras regiões do mundo (Venezuela e estado da Dakota no sul dos EUA), onde existem altos níveis de Se no ambiente, o consumo diário alcançava 5 mg por dia e os níveis sanguíneos eram de 3200 µg/mL. A população apresentava sinais claros de intoxicação como perdas de cabelo, aspereza e perdas de unhas, problemas dentários, descoloração da pele, náuseas e fadiga. Em alguns casos, esse sintomas progrediram para paralisias, convulsões e alterações na coordenação motora.<sup>30,33</sup>

O selênio tem efeitos anticarcinogênicos. Uma pesquisa realizada nos EUA em 1981 mostrou que em regiões onde haviam maiores concentrações de Se presente nos alimentos ocorria uma menor incidência de casos de câncer de mama e no trato gastrointestinal.<sup>34,35</sup>

A exposição ao Se ocorre principalmente através dos alimentos seguida da água e do ar. A contaminação do ar se dá pela queima de combustíveis fósseis, borracha e lixo urbano.

Os alimentos são a maior fonte de exposição ao Se. Alimentos como carne suína, frango e ovos constituem 50% da concentração total de selênio consumida na dieta alimentar. Frutos do mar e órgãos de animais (fígado e rim) contêm uma elevada concentração de Se, seguida por carne e ovos. Entretanto, materiais vegetais são as melhores fontes de Se na dieta devido a maior utilização biológica desse tipo de alimento se comparado às fontes animais. Alho e cebola, por exemplo, possuem uma concentração relativamente alta de Se.<sup>29</sup>

O leite possui uma baixa concentração de Se, assim como a água de coco.<sup>36</sup> A castanha do Pará contém elevadas concentrações de Se. LISK et al.<sup>37</sup> analisaram o sangue de alguns voluntários que consumiram castanha do Pará durante várias semanas e observaram que a concentração de Se aumentou de 100 a 350% dependendo do número de castanhas consumidas e também do tempo de consumo, sendo que 53,9% do Se foi excretado através da urina e 12,3% através da fezes.

Em 1967 PARIZEK E OSTALOVA<sup>38</sup> mostraram que a administração de selenito em dietas, diminuiu a toxicidade do HgCl<sub>2</sub>. Experimentos realizados com codornas japonesas e ratos mostraram que o selenito apresenta capacidade para liberar o CH<sub>3</sub>Hg (forma orgânica) de certas proteínas, diminuindo a mortalidade e neurotoxicidade causada pela contaminação. A adição de selenito também foi efetiva na liberação de CH<sub>3</sub>Hg em albumina de soro bovino e soro humano em cisteína e glutadiona. Acredita-se que o Se se combina com o Hg no sangue, pois assim como o Hg tende a se associar com o S de algumas proteínas. Dessa forma, é esperado que o Se e o Hg ocorram juntos no organismo. Os resultados de vários estudos indicaram que o tratamento com Se para a exposição de CH<sub>3</sub>Hg tem um efeito positivo na saúde dos animais pela diminuição do total de metilmercúrio armazenado em órgãos como fígado e rim.<sup>39,40</sup>

Na determinação de Se um problema freqüentemente encontrado é a baixa concentração do elemento, sendo necessário o uso de técnicas com alta sensibilidade e seletividade. Entre as mais empregadas para essa determinação, estão



a espectrometria de absorção atômica com atomização eletrotérmica (ETAAS) ou a geração de hidretos (HGAAS).<sup>36</sup>

### **2.5.1 Sobre a Determinação de Se por Espectrometria de Absorção Atômica com Chama (FAAS)**

A FAAS não é recomendada para a determinação de Se devido a sua baixa sensibilidade. Um outro fator que prejudica ainda mais essa detecção, é o baixo comprimento de onda no qual o Se absorve com maior intensidade.<sup>41</sup>

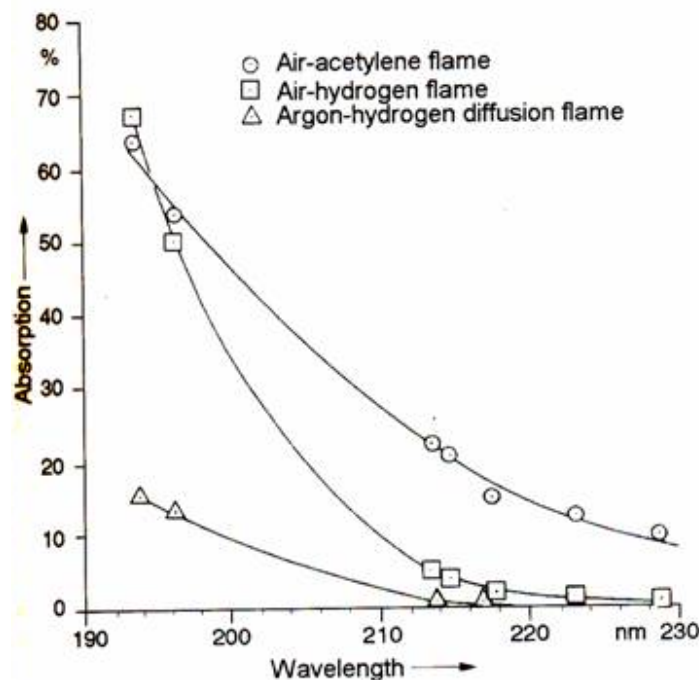
A chama é responsável por vaporizar e converter os analitos presentes na amostra em átomos gasosos. Para que uma chama seja considerada ideal, ela deve preencher alguns requisitos:<sup>2</sup>

- A chama deve apresentar energia térmica suficiente para atomizar rapidamente os analitos da amostra independente da natureza e da quantidade de concomitantes, mas sem causar ionização térmica do analito;
- A chama deve proporcionar um ambiente adequado para a atomização e deve possibilitar a obtenção de condições redutoras e oxidante;
- A chama deve ser transparente e não deve emitir fortemente para evitar a saturação do detector;
- A chama não deve ser turbulenta para que a distribuição dos átomos no volume de absorção seja constante.

Os tipos de chama geralmente utilizados são: ar-acetileno e óxido nitroso-acetileno sendo que a mais conhecida e usada é a chama composta de ar e acetileno, que para vários elementos, apresenta meio e temperatura (cerca de 2250°C) adequados para a atomização.

A chama ar-acetileno tem boa transparência em uma ampla região espectral e apenas começa a absorver radiação em comprimentos de onda menores que 230 nm.

A intensidade de absorção (chama de ar-acetileno) pode atingir 60% no comprimento de onda de 196 nm, que é a principal linha de absorção do selênio (Figura 2.6.1).



**Figura 2.6.1** Absorção de radiação por diferentes chamas em função do comprimento de onda.<sup>2</sup>

Os gases formadores da chama, os gases gerados pelo processo de combustão e os constituintes da matriz da amostra provocam absorção de fundo devido ao baixo comprimento de onda no qual o elemento absorve. Esse fator justifica a baixa sensibilidade da FAAS para a detecção de Se.<sup>41</sup>

Além disso, quando uma amostra introduzida no atomizador, não é completamente vaporizada antes que o volume de absorção seja atingido, o espalhamento de radiação proveniente da fonte de radiação sobre partículas sólidas ou líquidas pode ocorrer. Esse efeito segue a *lei de Rayleigh*, onde o coeficiente de espalhamento de radiação segue a equação:

$$\tau = \frac{24\pi^3 N \cdot \nu^2}{\lambda^4}$$

**Equação 2.6.1** Equação de Rayleigh que relaciona o comprimento de onda com o espalhamento de radiação.<sup>2</sup>

Sendo:

$\tau$  = Espalhamento de radiação

N = Número de partículas por unidade de volume

v = Volume de partículas

$\lambda$  = Comprimento de onda

Portanto, para baixos comprimentos de onda como o do Se o espalhamento de radiação é mais acentuado, já que o mesmo é inversamente proporcional ao comprimento de onda elevado à quarta potência.

Não existem muitos trabalhos na literatura, que demonstraram a determinação de Se total por FAAS sem nenhum pré-tratamento, uma vez que essa técnica proporciona um elevado limite de detecção e o Se se apresenta em baixas concentrações nas amostras em geral.

Em 2004, CONNOLLY *et al.*<sup>42</sup> fizeram a determinação de Se em amostra de levedura enriquecida com Se por FAAS usando digestão em frasco aberto. Os limites de detecção e quantificação obtidos foram de 2,5 e 5,0 mg/L respectivamente. O método foi validado usando material de referência certificado de levedura também enriquecida com Se.

A FAAS pode ser utilizada como um sistema de detecção de espécies de Se previamente separadas por outras técnicas como HPLC por exemplo (HPLC/FAAS). Esse método pode proporcionar limites de detecção acima de 0,1 mg/L de Se.<sup>43</sup>

A baixa eficiência de introdução de amostras e as dificuldades geradas pelo sinal de fundo podem ser sanadas empregando AAS com geração de hidretos.<sup>41</sup>

## 2.6 A importância do rubídio

O rubídio é um metal do Grupo 1 da tabela periódica (Grupo dos metais alcalinos) e como todos os elementos desse grupo, é um excelente condutor e é altamente reativo. É o 23º elemento em abundância relativa e apresenta-se em 78 mg/Kg na crosta terrestre.<sup>27</sup>

É um metal branco-prateado, solúvel em ácidos e álcoois e pode ser obtido através da redução de seus cloretos com cálcio, a 750°C sob pressão reduzida.

O rubídio é um elemento pouco estudado e seu eventual papel biológico ainda não é conhecido, mas sabe-se que esse elemento assemelha-se quimicamente ao potássio.<sup>44</sup> Algumas plantas como a beterraba, acumulam Rb quando cultivadas em um ambiente com carência de potássio.

O teor de Rb em plantas é bastante variável, por exemplo, grãos de soja apresentam 220 mg /kg, maçãs tipicamente contêm 50 mg/kg e cebolas contêm menos de 1 mg/kg.

O rubídio é tóxico em altas concentrações. Alguns experimentos realizados em ratos, mostraram que o excesso de Rb pode causar sintomas como a ulceração na pele, alterações no sistema nervoso, mudanças degenerativas no fígado e nos rins, convulsões e morte.<sup>45,46</sup>

Estudos revelam que o <sup>86</sup>Rb é excretado pelas fezes (32%) e principalmente pela urina (68%), sendo que a administração de substâncias como ferrocianeto de ferro podem aumentar a excreção fecal do Rb.<sup>47</sup>

A concentração de Rb em amostras biológicas é relativamente alta. Geralmente varia de 0,1 a 10 mg/kg e sua determinação não apresenta dificuldades especiais.

### 2.6.1 Determinação de Rb por FAAS

A FAAS e a espectrometria de emissão atômica em chama (FAES) são suficientemente sensíveis para quantificar Rb em amostras biológicas.<sup>41</sup>

O rubídio, como os outros metais alcalinos, é um elemento facilmente ionizável na chama ar-acetileno, mas esse efeito pode ser minimizado utilizando um outro elemento também facilmente ionizável, preferencialmente o cério.<sup>2</sup>

SCANCAR *et al.*<sup>48</sup> determinaram Rb em fluidos biológicos (CAPD) usando FAAS. As amostras foram medidas utilizando chama ar-acetileno e o comprimento de onda de 780 nm. Para eliminar as interferências causadas pela ionização do elemento, foi adicionada uma solução de 2 g/L de Cs. O limite de detecção encontrado foi 20 µg/L.

As amostras foram digeridas em bomba com 1 mL HNO<sub>3</sub> concentrado e rubídio foi determinado diretamente sem nenhum pré tratamento e não houve diferenças significativas nas recuperações. Por motivos de comparação, as mesmas

amostras foram analisadas por GFAAS e o limite de detecção encontrado foi de 1,0 µg/L.

NYHOLM e TYLER<sup>49</sup> determinaram rubídio em tecidos de organismos como plantas vasculares, fungos, insetos, pássaros e roedores usando FAES. As amostras foram coletadas em 30 florestas do sul da Suécia. Todas as amostras foram digeridas com HNO<sub>3</sub> concentrado e o excesso de ácido foi evaporado até 2 mL e a diluição final dos digeridos foi de 25 mL. Uma solução de KCl (0,2% m/v) foi usada como supressor de ionização. Esse estudo foi realizado para controlar o pH dos solos e o nível de saturação de K<sup>+</sup> nos mesmos, uma vez que, como mencionado, os elementos Rb e K são quimicamente semelhantes.

## **2.7 A importância do níquel**

O níquel é um elemento da primeira série de transição, pertencente ao grupo VIII b da tabela periódica. É o vigésimo segundo elemento mais abundante na crosta terrestre e ocorre em concentração de 99 mg/kg. Pode ser encontrado nos estados de oxidação de (-1) a (+4), mas sua química é principalmente relacionada com o estado de oxidação (+2). Nos compostos simples, o níquel é predominantemente iônico e divalente e também é encontrado como íon divalente na maioria dos seus complexos, que são geralmente quadrado planares ou octaédricos.

O níquel é utilizado para o preparo de várias ligas, tanto ferrosas como não-ferrosas e melhora a resistência mecânica e química do aço. Os minérios de níquel de importância comercial são os sulfetos, que geralmente estão misturados com sulfetos de Fe e Cu em depósitos aluviais de silicatos e óxidos/hidróxidos. O minério mais importante é a pentlandita (Fe,Ni)<sub>9</sub>S<sub>8</sub>, que sempre apresenta uma proporção de Fe:Ni de 1:1.<sup>27</sup>

A obtenção de níquel a partir de seus compostos é dificultada pela presença de outros metais. O Ni é um metal branco prateado, com ponto de fusão de 1452°C, é inerte na forma maciça e não reage com a água ou com o ar à temperatura ambiente, mas é dissolvido em ácidos oxidantes diluídos.<sup>27,50</sup>

O níquel é um metal que compõe a enzima urease, sendo considerado essencial para as plantas e alguns animais domésticos.<sup>51,52</sup> Esse elemento atua no metabolismo de lipídios, particularmente na regulação da concentração de lipídios nos

tecidos e na síntese de fosfolípidos. Estudos realizados com ratos mostram que a deficiência de níquel aumenta a mortalidade perinatal devido a alterações no desenvolvimento do fígado.<sup>53</sup>

Em humanos, sua essencialidade ainda não foi comprovada. Sabe-se que a exposição a compostos de níquel pode causar alergias, câncer e desordens não malignas do trato respiratório.<sup>31</sup> Na década de 1980, pacientes com doença renal tratados por hemodíalises, apresentavam *hiperniquemia* (aumento na concentração de níquel no plasma sanguíneo) caracterizada por vômitos, dores de cabeça e palpitações. Esses sintomas eram causados devido a placas níqueladas presentes no equipamento e eram diminuídos logo após o término da sessão de hemodíalise.<sup>54</sup> A contaminação por níquel pode ocorrer pela inalação de carbonil níquel (composto mais tóxico), ingestão de sulfato de níquel e processos industriais. O metal é rapidamente acumulado pelo fígado, pulmões, pele, ovários e testículos, sendo largamente excretado pela urina.<sup>31</sup>

A ingestão de Ni se dá também através dos alimentos. Alguns deles, como margarinas, óleos comestíveis, café instantâneo e condimentos, contêm aproximadamente 1 mg/kg de Ni. Castanhas, cacau e, conseqüentemente, o chocolate (principalmente o escuro), sementes de leguminosas e mariscos, também contêm Ni.<sup>31</sup>

### **2.7.1 A Determinação de Ni por FAAS**

O níquel pode ser determinado com maior sensibilidade por FAAS do que por FAES em uma chama de ar e acetileno. A resolução espectral deve ser necessariamente de 0,2 nm devido às interferências causadas pelas linhas de emissão nos comprimentos de onda de 231,716 e 232,138 nm que podem causar a curvatura da curva de calibração diminuindo fortemente a sensibilidade.<sup>9,55</sup>

Para muitas amostras, sua quantificação requer métodos de pré-concentração acoplados aos métodos espectrométricos.<sup>2,56</sup> Neste trabalho, escolheu-se o método de pré-concentração e extração no ponto nuvem para a posterior tentativa de determinação de Ni em amostras de alimentos por TS-FF-AAS avaliando a viabilidade do uso de um tubo também constituído por níquel para a determinação.

## 2.8 Formação de complexos voláteis

Baixa sensibilidade e severos efeitos matriciais e de memória podem ser encontrados na determinação direta de elementos com alta temperatura de volatilização.<sup>57</sup> Entretanto, a formação de um complexo metálico volátil, por reação com compostos orgânicos, pode aumentar a eficiência de atomização, possibilitando a determinação dos elementos mais refratários e melhorando a sensibilidade para outros elementos. Esse tipo de estratégia pode preceder a pré-concentração do analito, uma vez que pode separá-lo da matriz antes da sua detecção.

Existem vários reagentes orgânicos que podem ser usados como quelantes e mascarantes na determinação de elementos-traço.

A acetilacetona é um excelente reagente quelante e os acetilacetونات foram largamente utilizados para a separação de íons metálicos por cromatografia gasosa (GC) devido a boa volatilidade e estabilidade térmica.<sup>57,58</sup>

CASTILLO *et al.*<sup>59</sup> avaliaram diferentes complexantes para a formação de espécies voláteis de cobalto e determinação por FAAS. Dentre os complexantes testados, dietilditiocarbamato e trifluoroacetilacetona conduziram ao maior ganho em sensibilidade.

FIGUEIREDO e ARRUDA<sup>60</sup> acoplaram um sistema de geração de hidretos com o sistema TS-FF-AAS para avaliar as potencialidades das duas técnicas na determinação de Sb em medicamentos e materiais certificados. Nesse trabalho, promoveu-se a geração de  $\text{SbH}_3$  pela reação de  $\text{KBH}_4$  e  $\text{Sb}^{3+}$  em meio ácido em um sistema em fluxo. O método apresentou boa linearidade ( $r > 0,998$ ) e limite de detecção de  $0,23 \mu\text{g/L}$ .

### 2.8.1 Pré-Concentração e Extração no Ponto Nuvem

A separação e a pré-concentração são áreas de grande interesse em química analítica e ambiental, principalmente devido às possibilidades de eliminação dos efeitos de matriz e diminuição do limite de detecção da técnica usada para a quantificação do analito.<sup>61</sup> Dessa forma, existem várias técnicas para esta finalidade, dentre as quais podemos citar a co-precipitação, a deposição eletroanalítica, a troca iônica, a extração líquido-líquido e a extração em fase sólida.

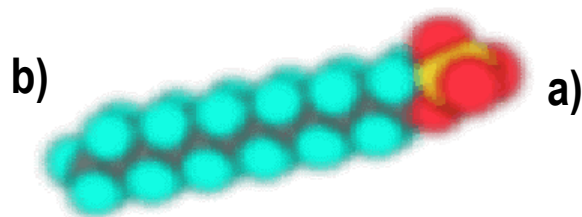
Nos últimos anos, técnicas que empregam sistemas micelares como a extração em ponto nuvem (do inglês *Cloud Point Extraction* - CPE) vêm se mostrando promissoras em Química Analítica principalmente no que diz respeito ao desenvolvimento de novos métodos de separação e pré-concentração compatíveis com a “Química Verde”, que pode ser definida como o desenvolvimento e implementação de produtos e processos químicos para reduzir ou eliminar o uso e a geração de substâncias nocivas à saúde humana e ao ambiente.<sup>62,63</sup>

Em 1976, WATANABE e colaboradores<sup>64</sup> introduziram a CPE como uma técnica promissora de extração e separação, alternativa ao uso de solventes orgânicos. Apesar de ter sido inicialmente introduzida para a pré-concentração de metais na forma de complexos hidrofóbicos, foi extensivamente empregada como etapa de isolamento para purificação de proteínas. Posteriormente esse potencial foi ampliado pelo desenvolvimento de novas aplicações, principalmente esquemas de pré-concentração para a determinação de analitos orgânicos e inorgânicos.<sup>65</sup>

Os tensoativos (surfactantes) são importantes em Química Analítica devido, principalmente, à sua capacidade em modificar algumas propriedades reacionais com conseqüente melhoria em sensibilidade e/ou em seletividade analítica.<sup>66</sup> São freqüentemente empregados para modificar o meio reacional permitindo solubilizar espécies de baixa solubilidade ou promover um novo meio que permita modificar a velocidade reacional, a posição de equilíbrio das reações químicas e em alguns casos, a estereoquímica destas dependendo da natureza da reação, do caráter reativo (e.g. eletrofílico ou nucleofílico) e do tipo e forma (e.g. catiônica ou aniônica) da micela.<sup>67</sup>

Baseado na propriedade de alteração das propriedades físicas e químicas de soluções, os surfactantes podem ser empregados para melhorar a eficiência de nebulização, melhorar a compatibilidade entre fases orgânicas e aquosas e conseguir boa dispersão de partículas em técnicas de suspensões.<sup>67</sup> Um tensoativo típico possui a estrutura R-X, onde R é uma cadeia de hidrocarboneto variando de 8 -18 átomos (normalmente linear) e X é o grupo cabeça, polar (ou iônico). Dependendo de X, os tensoativos podem ser classificados como não-aniônicos, catiônicos, aniônicos ou anfóteros.<sup>68</sup> A Figura 2.1 mostra um esquema de representação de um tensoativo.






**Figura 2.9.1** Ilustração de um tensoativo: **a)** Grupo cabeça **b)** Cadeia carbônica

Um tensoativo catiônico possui em geral a fórmula  $R_nX^+Y^-$  onde R representa uma ou mais cadeias hidrofóbicas, X é um elemento capaz de formar uma estrutura catiônica (pode ser N, P, S, As, Tl, Sb, Bi e os halogênios) e Y é um contra-íon.<sup>69</sup>

Os tensoativos anfóteros são aqueles que possuem os dois grupos, aniônicos e catiônicos no mesmo meio hidrofóbico. Dessa forma, dependendo do pH e estrutura da solução, pode prevalecer a espécie catiônica, aniônica ou neutra.<sup>70</sup> Tensoativos aniônicos são aqueles que possuem sais de ácidos carboxílicos (graxos) monoproticos ou poliproticos com metais alcalinos ou alcalino-terrosos, ácidos sulfônico, sulfúrico e fosfórico contendo um substituinte de hidrocarboneto saturado ou insaturado.<sup>71</sup>

Os tensoativos não-aniônicos são derivados dos polioxietilenos e polioxipropileno (de compostos com alquil fenol e álcool, ésteres de ácidos graxos, amidas e mercaptanas) ou poliálcoois, amidas de ácoois graxos e óxidos de amidas graxas.<sup>72</sup> A Tabela 2.1 mostra alguns dos principais tensoativos empregados em Química Analítica:

**Tabela 2.1** Principais tensoativos usados em Química Analítica

Tensoativo	Fórmula Estrutural	Tipo
Dodecilsulfato de sódio (SDS)	$\text{CH}_3(\text{CH}_2)_{11}\text{SO}_4^-\text{Na}^+$	Aniônico
Polioxietileno (9-10) p-tercotil fenol (Triton X-100)	$(\text{CH}_3)_3\text{C}(\text{CH}_2)\text{C}(\text{CH}_3)_2$ 	Não - Aniônico
Brometo de Cetrimetilamônio (CTAB)	$(\text{OCH}_2\text{CH}_2)_3\text{OH}$ $\text{CH}_3(\text{CH}_2)_{15}\text{N}^+(\text{CH}_3)_3\text{Br}^-$	Catiônico
Butirato de 4-(dodecildimetilamônio)	$\text{CH}_3(\text{CH}_2)_{11}\text{N}^+(\text{CH}_3)_2(\text{CH}_2)_3\text{COO}^-$	Anfótero

As micelas são definidas como agregados moleculares, com regiões estruturais hidrofílica e hidrofóbica, que dinamicamente e espontaneamente se associam, a partir de uma determinada concentração micelar crítica (CMC), formando grandes agregados moleculares de dimensões coloidais.<sup>73,74</sup> Abaixo da CMC, o tensoativo está predominantemente na sua forma monomérica como ilustra a Figura 2.2

**Figura 2.9.2** Ilustração da formação das micelas, abaixo e acima da CMC.

O fenômeno ponto nuvem<sup>75</sup> ocorre quando tensoativos (não iônicos ou anfóteros) em quantidades acima da CMC e aquecidos à uma determinada temperatura, separam-se em duas fases isotrópicas (a solução começa subitamente a ficar turva, devido ao decréscimo de solubilidade do tensoativo em água). Essa separação de fases pode estar associada à existência de micelas compostas por grandes agregados moleculares em solução. Uma outra possibilidade da ocorrência do fenômeno ponto nuvem se relaciona com o emprego de tensoativos aniônicos quando a

concentração ácida do meio é elevada ou quando altera-se a intensidade iônica do meio.<sup>76</sup>

OLIVEROS *et al.*<sup>77</sup> determinaram Ni(II) e Zn(II) em amostras de águas (mar, rio e potável) por FAAS usando pré-concentração e extração no ponto nuvem. O complexante usado no estudo foi o 1-(2-Piridilazo)-2-naftol (PAN) e o Triton X-114 foi o surfactante empregado. Efeitos como o pH, concentração do complexante e viscosidade da fase rica foram otimizados. Os limites de detecção obtidos para Ni e Zn foram de 6 e 8 µg/L respectivamente.

SAFAVI *et al.*<sup>52</sup> determinaram Ni e Co em amostras de água usando pré-concentração e extração no ponto nuvem, usando ácido 2-amino-ciclopenteno-1-ditiocarboxílico (ACDA) como agente complexante e Triton X-114 como surfactante. A detecção foi feita usando um espectrofotômetro ultra-violeta-visível. Os parâmetros que afetavam a detecção e o processo de separação das fases foram otimizados. Os limites de detecção obtidos foram de 10 e 7,5 µg/L para Ni e Co, respectivamente.

## 2.9 Planejamento de Experimentos

A estatística é lembrada sempre que nos vemos diante de grandes quantidades de informação. A estatística é importante não apenas para a análise de dados, mas também para o planejamento de experimentos nos quais esses dados devem ser obtidos. Quando isso não é feito da forma apropriada, nenhum tratamento de dados possibilita obter quaisquer conclusões.

A essência de um bom planejamento consiste em projetar um experimento de forma que o mesmo seja capaz de fornecer exatamente o tipo de informação procurada. Por exemplo, quando se estuda uma determinada reação química, pode-se querer saber como o rendimento dessa reação poderia ser afetado se a temperatura variasse ou se um catalisador fosse utilizado. Na linguagem estatística diz-se que se está interessado em descobrir como a **resposta** (o rendimento da reação) depende dos **fatores** temperatura e catalisador.

No planejamento de qualquer experimento, a primeira coisa que se deve fazer é decidir quais são os fatores e as respostas de interesse. Os fatores, em geral, são as variáveis que o experimentador tem condições de controlar. Podem ser qualitativos como um catalisador, ou quantitativos, como a temperatura.

Por outro lado, as respostas são as variáveis de saída do sistema, nas quais estamos interessados, e que serão ou não, afetadas por modificações provocadas nos fatores.

Por exemplo, para executar um planejamento experimental, deve-se especificar os níveis em que cada fator deve ser estudado, isto é, os valores dos fatores (ou classes, nos casos qualitativos) que se vai usar para fazer os experimentos. Pode-se, por exemplo, estudar o efeito do fator temperatura em quatro níveis, 50, 60, 70 e 80°C, e o efeito do catalisador em três, os catalisadores A, B e C. Para fazer um **planejamento experimental completo**, deve-se realizar experimentos em todas as possíveis combinações dos níveis dos fatores. Cada um desses experimentos, em que o sistema é submetido a um conjunto de níveis definido (por exemplo: temperatura a 60°C e catalisador do tipo A), é um ensaio experimental. Havendo 4 níveis em um fator e 3 no outro, como nesse exemplo, são necessárias  $4 \times 3 = 12$  ensaios diferentes, e o planejamento é chamado de **fatorial 4 x 3**.

Para estudar o efeito de qualquer fator sobre uma dada resposta, é preciso fazê-lo variar de nível e observar o resultado que essa variação produz sobre a resposta. Para isso é preciso ter o fator em pelo menos dois níveis diferentes, pode-se concluir que o planejamento mais simples de todos é aquele em que todos os fatores são estudados em apenas dois níveis.<sup>78</sup>

Assim, o planejamento do experimentos, isto é, a especificação detalhada de todas as operações experimentais que devem ser realizadas, vai depender do objetivo particular que se quer atingir. Objetivos diferentes, requerem planejamentos diferentes.

# Objetivos

---

## Capítulo 3

### **3. Objetivos**

O objetivo deste trabalho foi avaliar o comportamento dos elementos Ni, Rb e Se por espectrometria de absorção atômica com forno tubular na chama e aerossol térmico. Considerando-se o desempenho observado, também foi avaliada a determinação desses analitos em amostras biológicas e alimentos.

# Materiais e Métodos

---

## Capítulo 4

## **4. Materiais e Métodos**

### **4.1 Instrumentos e acessórios**

Os instrumentos utilizados no trabalho foram o espectrômetro de absorção atômica com chama SpectrAA-640 (Varian, Austrália) com lâmpada de deutério para correção de sinal de fundo (*background*), lâmpada de catodo oco (HCL) como fonte de radiação Rb (Anacom), Ni (Cathodeon) e Se (Varian, ultralâmpada); balança analítica OHAUS, modelo AS200 (Ohaus Corporation, Florham Park, NJ, EUA), bomba peristáltica de 8 canais (Ismatec Labortechnik Analytik, Glattbrugg-Zürich, Suíça), forno de microondas com cavidade (ETHOS 1600, Milestone, Itália), moinho criogênico modelo 6750 (Spex Certiprep, EUA), liofilizador, modelo EC micromolyo (EC Apparatus, New York, NY, EUA), centrífuga modelo Hermle Z 200 A (Labnet, Woodbridge, NJ, USA) e agitador horizontal, modelo Maxi-Mix III, 65800 (Barnstead/Thermolyne, Dubuque, Iowa, USA)

Para a determinação de Se em águas de coco, foi utilizado um espectrômetro de absorção atômica com atomização eletrotérmica em forno de grafite (Varian modelo AA-800), com corretor de fundo com base no efeito Zeeman e amostrador automático.

### **4.2. Acessórios para o sistema TS-FF-AAS**

Para a montagem do sistema de fluxo, foram utilizados uma bomba peristáltica de 8 canais (Ismatec Labortechnik Analytik, Glattbrugg-Zürich, Suíça), tubos de propulsão de Tygon<sup>®</sup> e tubos de extensão constituídos por Teflon de 0,8 mm de diâmetro interno.

Para a montagem do sistema TS-FF-AAS foi utilizado um suporte de aço inoxidável, o qual foi posicionado sobre o queimador de ar/acetileno.

Foram usados tubos de Ni com 10 cm de comprimento com 1,0 cm de diâmetro interno e 1,2 cm de diâmetro externo, um deles com 6 furos de 2 mm de diâmetro na parte inferior e outro com uma abertura de 0,3 X 5,2 cm. Ambos continham um furo central para a introdução do capilar cerâmico perpendicular aos orifícios



inferiores. Para os estudos com o Se, um terceiro tubo com 12 cm de comprimento e nenhum furo na parte inferior também foi testado. A composição da liga de Ni 200 utilizada para a confecção do tubo é apresentada na Tabela 4.2.1.

**Tabela 4.2.1** Composição da liga de níquel 200 utilizada na confecção do forno tubular<sup>79</sup>

Elemento	% m/m
C	0,009
Co	< 0,010
Cu	< 0,010
Fe	0,010
Mg	0,065
Mn	0,160
Ni	99,653
S	0,002
Si	0,030
Ti	0,050

**Tabela 4.2.2** Propriedades físicas da liga de Ni 200<sup>79</sup>

Densidade (g/cm <sup>3</sup> )	8,9
Calor específico a 20°C (J /kg/K)	440
Condutividade térmica a 100°C (W /m/K)	70
Ponto de fusão a 1 bar (°C)	1435 - 1445

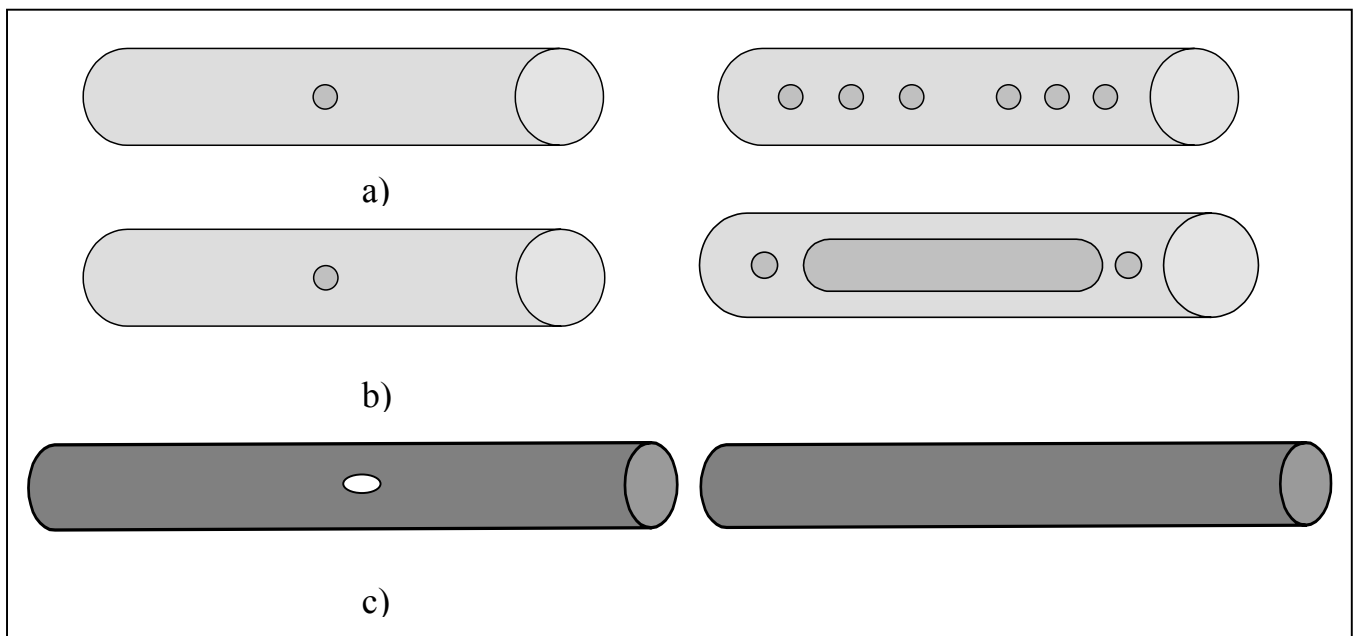
Para a injeção da amostra foi utilizado um injetor comutador, confeccionado em acrílico e um capilar cerâmico da marca Degussit® AL 23 (Cerâmica Al<sub>2</sub>O<sub>3</sub>). A Tabela 4.2.3, apresenta algumas propriedades do capilar cerâmico confeccionado em alumina e gentilmente fornecido pelo Prof. Dr. Harald Berndt (Instituto de Ciências Analíticas, Dortmund, Alemanha).

**Tabela 4.2.3** Propriedades do capilar cerâmico utilizado para a introdução da amostra

Propriedades	Valores
$\phi$ interno (mm)	0,5
$\phi$ externo (mm)	2
Densidade (g/cm <sup>3</sup> )	3,7 a 3,95
Porosidade total (%)	0
Temperatura máxima de trabalho (°C)	1950
Calor específico a 20°C	900
Condutividade térmica a 100°C (W/m/K)	30

### 4.3 Configuração dos diferentes tubos atomizadores usados no trabalho

A Figura 4.3.1 mostra as configurações dos diferentes tubos atomizadores testados no trabalho.



**Figura 4.3.1** Configuração dos tubos atomizadores usados no trabalho **a)** Tubo convencional **b)** Tubo com maior orifício **c)** Tubo com 12 cm, sem furos na parte inferior.

#### **4.4 Reagentes e soluções**

Todos os reagentes e soluções utilizados nos estudos foram de pureza analítica e as soluções foram preparadas com água purificada à 18 MΩ cm em um sistema Milli-Q<sup>®</sup> (Millipore, Bedford, MA, EUA). Todos os frascos e ponteiras utilizados para o preparo das soluções foram lavados com água e sabão, enxaguados com água destilada e desmineralizados em uma solução de HCl 10 % v/v por no mínimo 24 h. Em seguida, foram novamente enxaguados com água desionizada e secos ao ar em uma capela apropriada. O material para uso em GFAAS passou pelo mesmo procedimento, mas foi descontaminado em solução de HNO<sub>3</sub> 10 % v/v também por 24 h. Os principais reagentes e soluções utilizados encontram-se listados abaixo:

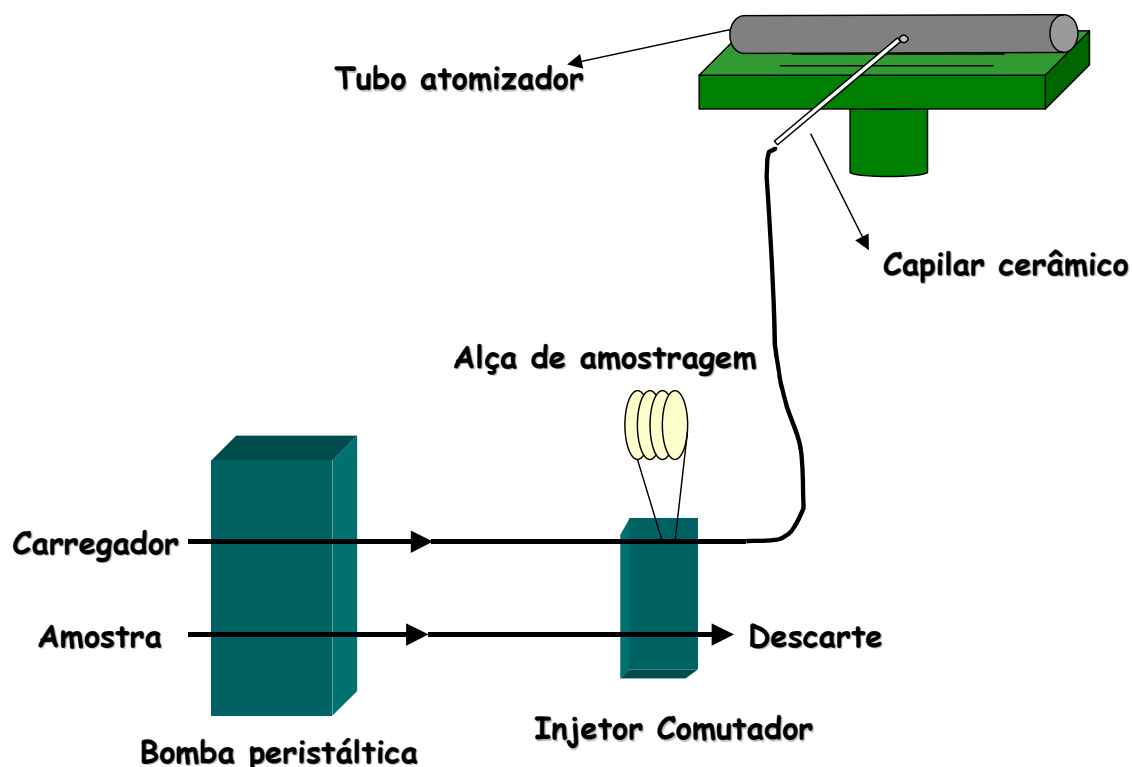
- HNO<sub>3</sub> 65% v/v (Merck, Darmstadt, Alemanha)
- H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> 30% v/v (Mallinckrodt, Xalostoc, México)
- HCl 37% v/v (Merck)
- Soluções estoque de Se, Rb e Ni contendo 1000 mg.L<sup>-1</sup> (Tec-Lab, Hexis, São Paulo, Brasil)
- Metanol (Merck)
- Etanol (Merck)
- Clorofórmio (Synth, Diadema, SP, Brasil)
- Cloreto de cézio (Merck)
- Pirrolidinaditiocarbamato de amônio (APDC – VETEC, Duque de Caxias, Rio de Janeiro, RJ).
- O,O- dietilditiofosfato de amônio – DDTP (Aldrich 95%)
- Difenilditiocarbazona – Ditizona (Merck)
- Octilfenoxipolietoxietanol, Triton X-114 (Sigma)
- Hidróxido de amônio (Mallinckrodt)

As amostras (castanha-do-Pará, leite, água de coco e rim suíno) utilizadas para os estudos foram adquiridas no comércio local. A amostra de molusco foi cedida pelo Prof. Dr. Carlos G. Bruhn (Departamento de Análisis Instrumental, Facultad de Farmácia, Concepción, Chile).

## 4.5 Configuração do sistema TS-FF-AAS

Uma representação esquemática do sistema TS-FF-AAS é apresentada na Figura 4.5.1.

Para a montagem do sistema TS-FF-AAS empregou-se um espectrômetro de absorção atômica SpectrAA-640 (Varian) com lâmpada de deutério para correção do sinal de fundo. Para o elemento Rb essa lâmpada não foi utilizada, pois não é eficiente para a correção do sinal de fundo no comprimento de onda adotado para medida desse analito. O suporte para o tubo atomizador foi confeccionado em aço inoxidável e possui 4 pinos de cerâmica, sobre os quais o tubo de Ni foi posicionado. Esse suporte é encaixado no próprio queimador para a chama ar/acetileno do equipamento. A aquisição dos dados foi efetuada pelo programa original do equipamento e os dados foram tratados usando os programas Microcal Origin e Excel. A Figura 4.5.1 mostra o esquema da montagem do sistema TS-FF-AAS.



**Figura 4.5.1** Esquema da montagem do sistema TS-FF-AAS

Uma bomba peristáltica foi utilizada para promover a propulsão do carregador até o capilar cerâmico introduzindo, assim, o aerossol no tubo atomizador de

níquel. Também foi utilizada para preencher a alça de amostragem com a solução do analito. Um injetor comutador foi utilizado para introduzir um volume constante da amostra no fluxo do carregador. Os tubos de propulsão e de extensão utilizados no sistema eram de Tygon<sup>®</sup> e Teflon<sup>®</sup>, respectivamente.

O tubo de Ni foi posicionado sobre o suporte, de modo que o feixe proveniente da lâmpada de cátodo oco passasse pelo seu interior. Após ajuste e otimização da lâmpada, a chama foi acionada, tomando-se o cuidado de retirar o tubo antes da ignição para evitar que o acetileno ficasse aprisionado no interior do tubo e ocorressem pequenas explosões.<sup>5</sup> O tubo foi, então, cuidadosamente posicionado sobre o suporte com o auxílio de uma garra. Finalmente, a extremidade do capilar cerâmico, conectado ao sistema de fluxo e que produz o aerossol térmico, foi introduzida cerca de 2 mm no interior do tubo atomizador. A Figura 4.5.2 mostra o arranjo experimental empregado.



a)



b)

**Figura 4.5.2** Fotografias da montagem do sistema TS-FF-AAS: **a)** Sistema em funcionamento. **b)** Tubo de níquel posicionado sobre a chama e capilar cerâmico.



# **Procedimento Experimental**

---

## Capítulo 5

## 5. Procedimento Experimental

### 5.1.1 Parâmetros de operação do sistema TS-FF-AAS

Os parâmetros adotados para medidas de Se, Rb e Ni usando o sistema TS-FF-AAS estão apresentados na Tabela 5.1.1.

**Tabela 5.1.1** Parâmetros de operação utilizados no sistema TS-FF-AAS

<b>Parâmetro de Operação</b>	<b>Se</b>	<b>Rb</b>	<b>Ni</b>
Modo de leitura	Área de Pico	Área de Pico	Área de Pico
Comprimento de onda (nm)	196,0	780,0	232,2
Resolução espectral (nm)	1,0	0,2	0,2
Tempo de delay (s)	30	30	30
Tempo de medida (s)	Otimizado	Otimizado	Otimizado
Composição da chama	Otimizado	Otimizado	Otimizado
Vazão da amostra ( $\mu\text{L}$ )	Otimizado	Otimizado	Otimizado
Volume da amostra ( $\mu\text{L}$ )	Otimizado	300	Otimizado
Altura de observação (cm)	Otimizado	Otimizado	Otimizado

O tempo de medida foi otimizado da seguinte maneira: para o Se e o Rb, o sinal de absorbância era integrado por 27 s a cada 150  $\mu\text{L}$  injetados. Quando eram injetados 300  $\mu\text{L}$ , o sinal era integrado por 54 s e para volumes maiores adotava-se a mesma estratégia de aumento proporcional do tempo de integração. Os sinais de absorbância eram obtidos separadamente a cada 27 s e eram somados.

Para o Ni, o sinal foi obtido da mesma forma, apenas utilizou-se 25 s a cada 150  $\mu\text{L}$  de amostra injetada, pois pelo fato da micela estar diluída em um solvente orgânico (etanol), o tempo de residência também era mais curto.

Alguns parâmetros operacionais foram fixos e utilizados para todos os estudos. Outros, foram otimizados, uma vez que poderiam interferir no sinal de absorbância integrada.

O volume de amostra para o elemento Rb não foi otimizado devido aos problemas de estabilidade apresentados pela lâmpada de cátodo oco no sistema TS-



FF-AAS. Portanto, para os demais estudos com esse elemento utilizou-se um volume fixo de 300  $\mu\text{L}$ .

## 5.2 Estudos com o elemento Se

### 5.2.1 Otimização da configuração do tubo atomizador

Foram testados 3 tubos com diferentes configurações buscando obter maior sensibilidade. O primeiro tubo avaliado, foi o tubo convencional, com 6 furos com 2 mm cada um na parte inferior e 10 cm de comprimento. O segundo tubo testado, foi um tubo que ao invés de 6 furos, apresentava uma abertura de  $0,3 \times 5,2$  cm e o mesmo comprimento do tubo convencional. O terceiro tubo testado foi um tubo com um comprimento de 12 cm e nenhum furo na parte inferior, para que a chama não pudesse penetrar no seu interior. Esse tubo foi avaliado para o elemento Se e buscava-se evitar a atenuação do feixe de radiação proveniente da lâmpada de cátodo oco pelos gases da chama. Esse é um aspecto crítico para o elemento Se devido ao baixo comprimento de onda empregado para as medidas.

### 5.2.2 Otimização dos parâmetros operacionais do sistema TS-FF-AAS

Foi realizado um planejamento experimental para verificar de que maneira algumas variáveis experimentais, tais como composição da chama, altura de observação e tipo de carregador poderiam influenciar o sinal da absorvância integrada. Para tal objetivo, foi programado um planejamento fatorial  $2^3$  totalizando 8 experimentos que foram realizados em triplicata. A Tabela 5.2.1 mostra os parâmetros estudados.

**Tabela 5.2.1** Parâmetros estudados no planejamento experimental para a medida de Se por TS-FF-AAS

Parâmetros	-	+
Composição da chama	estequiométrica	oxidante
Carregador	ar	água*
Altura de observação (cm)	0,3	1,5

\* água desionizada

A chama considerada estequiométrica (já que não seguia a estequiometria correta da reação) possuía razão ar/acetileno recomendada pelo fabricante, ou seja, 13,5 / 2,0 L/min. A chama oxidante empregada possuía a composição de 18,0 / 2,0 L/min de ar/acetileno, respectivamente.

Também foi testada uma chama mais redutora, cuja razão utilizada foi 13,5 / 3,0 L/min, a qual não fez parte do planejamento experimental, uma vez que não se mostrou adequada em um estudo prévio.

A matriz com o planejamento experimental se encontra na Tabela 5.2.2

**Tabela 5.2.2** Matriz com planejamento experimental estudado para o Se\*.

<b>Experimentos</b>	<b>Composição da Chama</b>	<b>Tipo de carregador</b>	<b>Altura de observação</b>
1	estequiométrica	água	1,5
2	estequiométrica	água	0,3
3	estequiométrica	ar	1,5
4	estequiométrica	ar	0,3
5	oxidante	água	1,5
6	oxidante	água	0,3
7	oxidante	ar	1,5
8	oxidante	ar	0,3

\*Os experimentos foram realizados em triplicata

Para a otimização do sistema, foi utilizada uma solução contendo 4 mg.L<sup>-1</sup> Se(IV) (preparada a partir de uma solução padrão contendo 1000 mg.L<sup>-1</sup>) em meio de ácido clorídrico 0,14 mol.L<sup>-1</sup>.

Os estudos foram iniciados em meio de HCl, já que os cloretos formados são mais voláteis. Os demais estudos, foram realizados em meio de HNO<sub>3</sub> pois as amostras seriam digeridas com esse reagente.

### **5.2.3 Efeito da vazão do carregador da amostra**

Um estudo foi realizado para verificar a influência da vazão do carregador da amostra sobre o sinal da absorbância integrada.

Foram estudadas vazões de 0,30 ; 0,35 ; 0,40 ; 0,45 e 0,50 mL/min. Para esse estudo, foi utilizada uma solução contendo 100 µg/L de Se, preparada em HNO<sub>3</sub> 0,14 mol/L.

#### **5.2.4 Figuras de Mérito**

Após verificadas as condições ótimas de operação do sistema TS-FF-AAS, determinaram-se as características analíticas da curva de calibração para tais condições.

Foram preparadas soluções de referência contendo de 20 a 2000 µg/L em meio de HNO<sub>3</sub> 0,14 mol/L (já que as amostras utilizadas seriam digeridas nesse meio) com o intuito de verificar a faixa linear, o coeficiente de correlação linear e os limites de detecção e quantificação.

#### **5.2.5 Figuras de Mérito FAAS**

Com o objetivo de verificar a melhoria de sensibilidade obtida com o sistema em estudo, determinaram-se também as características analíticas usando a espectrometria de absorção atômica com chama convencional.

Com tal propósito, preparou-se uma curva de calibração com faixa linear entre 5 e 80 mg.L<sup>-1</sup> em meio de HNO<sub>3</sub> 0,14 mol.L<sup>-1</sup> nas condições de operação sugeridas pelo manual do equipamento, i.e. chama de N<sub>2</sub>O / C<sub>2</sub>H<sub>2</sub> em vazões de 11 / 6,6 L.min<sup>-1</sup>.

#### **5.2.6 Otimização do volume da amostra**

O volume de amostra injetado no sistema TS-FF-AAS foi de 300 µL nos estudos anteriores. Mesmo sabendo que um volume elevado de amostra injetado no sistema poderia prejudicar a repetibilidade dos sinais e a frequência de amostragem, optou-se por realizar o estudo, uma vez que o ganho de sensibilidade poderia ser elevado. Para avaliar o efeito do volume de amostra efetuou-se um estudo inserindo 150, 300, 450, 600 e 900 µL da solução de Se 100 µg/L.

### **5.2.7 Novas figuras de mérito**

Após avaliar o efeito do volume de amostra injetado, determinaram-se novamente as figuras de mérito. Para a construção da curva de calibração, utilizaram-se soluções estoque de Se (IV), nas concentrações de 10, 50, 100, 500, 1000, e 2000 µg/L. As soluções analíticas de calibração foram preparadas em HNO<sub>3</sub> 0,14 mol/L.

## **5.2.8 Avaliação da aplicação da TS-FF-AAS para a determinação de Se em amostras de alimentos e biológicas**

### **5.2.8.1 Avaliação da determinação de Se em castanha do Pará**

As amostras de castanha do Pará foram cortadas e moídas em moinho criogênico utilizando-se um programa de moagem de 3 min de pré-congelamento, 3 ciclos de moagem de 2 min cada uma e 1 min de resfriamento entre as moagens.

Segundo Caruso *et al.*<sup>80</sup> o selênio se encontra na castanha ligado somente às proteínas, i.e. não sendo encontrado na fase lipídica, que pode portanto, ser descartada. Para tal procedimento, utilizou-se uma mistura de metanol / clorofórmio 2:1 v/v (100 ml) para cada 20 g de amostra utilizada. Após agitação vigorosa, efetuou-se a filtração por gravidade. Esse procedimento foi repetido por duas vezes.

A fase lipídica foi descartada juntamente com a mistura de solventes e o sólido residual da amostra, foi seco ao ar. Após a secagem, o sólido resultante foi pesado e digerido com ácido nítrico e peróxido de hidrogênio em um forno de microondas com cavidade. Para o processo de digestão foi feita uma otimização utilizando-se diferentes concentrações de ácido nítrico.

O fato de retirar a fase lipídica da castanha-do-Pará proporciona algumas vantagens, tais como maior facilidade no processo de digestão da amostra com a possibilidade de digerir uma maior massa de amostra.

### **5.2.8.2 Otimização do preparo da amostra**

Visando efetuar uma pequena diluição do digerido obtido e obter uma baixa acidez, estudou-se a eficiência do processo de digestão utilizando diferentes concentrações de ácido nítrico. O volume final para todos os casos foi de 10 mL.

A Tabela 5.2.3 contém as massas de amostras usadas e o volume de ácido nas diferentes concentrações.

**Tabela 5.2.3** Massa de amostra, volume de peróxido de hidrogênio, concentração e volume de ácido nítrico usados para a otimização da digestão.

Massa da amostra (mg)	Volume do ácido (mL)	Concentração do ácido (mol.L <sup>-1</sup> )	Volume de H <sub>2</sub> O <sub>2</sub> conc. (mL)
400	4,0	7,0	1,0
400	4,0	5,0	1,0
350	4,0	2,0	1,0

O programa de aquecimento usado para a digestão da castanha do Pará se encontra na Tabela 5.2.4. Quatro frascos contendo amostras pré-tratadas de castanha do Pará foram dispostos simetricamente no rotor e simultaneamente digeridos.

**Tabela 5.2.4** Programa de aquecimento usado para a digestão da amostra de castanha do Pará

Etapas	Potência (W)	Tempo (min)	Temperatura (°C)
1	300	2	150
2	0	2	165
3	300	5	180
4	450	4	240
5	550	4	240
6	ventilação	5	-

### 5.2.8.3 Estudo do efeito da acidez sobre a curva analítica de calibração

A acidez final dos digeridos permaneceu em torno de 0,80 mol.L<sup>-1</sup> e, nessas condições, verificou-se que a curva de calibração não possuía linearidade adequada.

Realizou-se então um estudo, construindo-se a curva de calibração, com soluções contendo entre 0,1 e 1 mg.L<sup>-1</sup> Se em diferentes concentrações ácidas: 0,14 ;

0,50 e 0,80 mol.L<sup>-1</sup> de HNO<sub>3</sub> para verificar o efeito da acidez sobre a linearidade da curva analítica de calibração.

#### **5.2.8.4 Avaliação da determinação de Se em leite e água de coco**

Inicialmente, avaliou-se a determinação de Se em amostras de leite, diluídas em uma solução de CFA-C (aminas terciárias solúveis em água) 10% v/v. Em seguida iniciaram-se os estudos para as amostras de água de coco.

Para poder comparar os resultados obtidos, os teores de Se nessas mesmas amostras também foram determinados por espectrometria de absorção atômica em forno de grafite (GFAAS).

A água de coco é uma matriz orgânica complexa que contém gorduras e açúcares, por esse motivo a determinação de Se sem nenhum pré-tratamento por espectrometria de absorção atômica com atomização eletrotérmica em forno de grafite em forno é dificultada já que esse tipo de amostra pode causar o entupimento do capilar do amostrador automático, alterando o volume da amostra coletada e prejudicando a repetibilidade dos sinais. Por isso as amostras foram diluídas em CFA-C e analisadas segundo o procedimento descrito por Aleixo.<sup>81</sup>

As amostras foram diluídas 1 + 4 v/v em 10% de CFA-C (pH = 8). A quantificação de Se foi feita pelo método das adições de analito para eliminar as interferências matriciais. Foram injetados 10 µL de amostra seguidos de 5 µL de modificador químico (Pd, 400 mg/L).

O programa de aquecimento utilizado para a determinação de Se, encontra-se na Tabela 5.2.5

**Tabela 5.2.5** Programa de aquecimento usado para a determinação de Se em água de coco por GFAAS.

<b>Etapas</b>	<b>Temperatura (°C)</b>	<b>Tempo de rampa (s)</b>	<b>Tempo de patamar (s)</b>	<b>Vazão de gás (L/min)</b>	<b>Leitura</b>
<b>Secagem</b>	120	25	30	3,0	Não
<b>Pirólise</b>	1200	2,0	3,0	3,0	Não
<b>Atomização</b>	2400	2,0	3,0	0	Sim
<b>Limpeza</b>	2600	1,0	3,0	3,0	Não

Silva *et al.*<sup>82</sup> determinaram Se em amostras de águas naturais por espectrometria de massa com plasma acoplado indutivamente (ICP-MS) após a extração no ponto nuvem usando Triton X-114 e dietilditiofosfato de amônio (DDTP). Esse procedimento foi aplicado na tentativa de determinar Se nas amostras de água de coco empregando TS-FF-AAS conforme descrito a seguir.

- *Purificação do complexante*

Dietilditiocarbamato de amônio (Merck) foi purificado por duas vezes em uma micro-coluna C<sub>18</sub> imobilizada em sílica gel. A coluna foi lavada com metanol durante as purificações.<sup>82</sup>

- *Extração no ponto nuvem*

Para um estudo preliminar, foram adicionados em um frasco de 15 mL, 8 mL de Se (100 µg/L). Ajustou-se o pH para 0,5 utilizando HCl concentrado. Em seguida foi adicionado 1 mL de DDTP (10% v/v) e deixou-se reagir por 20 min. Logo após, adicionou-se 1 mL de Triton X-114 (0,5% v/v).

Aqueceu-se por 20 min a 40°C em banho-maria com auxílio de uma chapa de aquecimento. A solução tornou-se turva (formação do ponto nuvem). Centrifugou-se por 12 min a 4.000 rpm para a completa separação das fases. A solução foi deixada no congelador por 20 min para que a fase rica (contendo o elemento) se tornasse mais viscosa e não fosse retirada juntamente com a fase aquosa.

Logo após, a fase pobre foi separada com o auxílio de uma micropipeta. À fase rica, adicionaram-se 300 µL de uma solução contendo HNO<sub>3</sub> 0,14 mol/L (40%v/v) e CH<sub>3</sub>OH (60% v/v). Essa solução foi introduzida no sistema TS-FF-AAS.

Da mesma maneira, foi preparado o branco analítico contendo todos os reagentes, exceto o elemento a ser determinado.

#### **5.2.8.5 Estudo de Concomitantes**

Foram realizados estudos utilizando-se alguns elementos como supostos concomitantes para verificar de que maneira eles poderiam interferir no sinal analítico do Se. Os elementos estudados como supostos concomitantes foram: Ca, K, Mg, Mn e Na.

Fixou-se a concentração de Se em 100 µg/L (em 0,14 mol/L de HNO<sub>3</sub>) e aumentou-se a concentração dos supostos concomitantes até uma concentração 100 vezes maior que a de Se. Todas as soluções foram medidas no sistema TS-FF-AAS e comparadas com o sinal analítico da solução 100 µg/L de Se puro.

O mesmo estudo foi repetido utilizando-se a técnica de FAAS para a posterior comparação dos resultados, mas nesse estudo, fixou-se a concentração de Se em 10 mg/L devido à baixa sensibilidade do elemento nessa técnica.

#### **5.2.8.6 Determinação de Se em amostras biológicas por TS-FF-AAS usando o método das adições de padrão**

Considerando-se que todos os elementos estudados como supostos concomitantes do método afetaram o sinal analítico para Se, foi adotado o método das adições de padrão (SAM) para a tentativa de determinar Se em amostras biológicas. O emprego do SAM é especialmente apropriado quando a composição da amostra é desconhecida ou complexa e afeta o sinal analítico.<sup>7</sup>

Para determinar a exatidão do procedimento foram usados dois materiais de referência certificados: rim suíno (BCR 186) e mexilhão (GBW 08571).

A amostra de rim suíno adquirida comercialmente foi liofilizada e moída em um moinho criogênico usando um programa com 3 min de pré-congelamento, 3 ciclos de moagem com 2 min cada, com 1 min de resfriamento entre cada etapa de moagem.



A amostra de molusco analisada é um produto comercial de origem chilena previamente liofilizada e moída.

Com o intuito de obter uma concentração de Se maior que o limite de quantificação do procedimento mesmo após as diluições dos digeridos, pesaram-se massas relativamente grandes (cerca de 500 mg) das amostras que eventualmente continham menores concentrações de Se. Visando evitar eventuais explosões nos frascos de digestão, algumas amostras tiveram sua massa total dividida e digerida em frascos distintos. Logo após, os digeridos foram misturados, diluídos e o SAM foi utilizado para a quantificação de Se.

Todas as amostras foram digeridas em HNO<sub>3</sub> diluído (2 mol/L) para eliminar eventuais problemas causados pela elevada acidez dos digeridos. Além disso, segundo ARAÚJO *et al.*<sup>82</sup> um digerido obtido com ácido diluído é menos complexo e menos tóxico que outro obtido usando ácido concentrado.

Para o material de referência certificado de rim suíno (BCR 186) foi utilizada uma massa de 250 mg, uma vez que a concentração de Se era relativamente elevada. Para o material de referência certificado (mexilhão GBW 08571), a massa digerida foi de 400 mg dividida em dois frascos. Para as demais amostras, foi utilizada uma massa de 500 mg também digeridas em frascos distintos e posteriormente misturadas.

Para a digestão de todas as amostras, utilizaram-se 3 mL de HNO<sub>3</sub> (2 mol/L) e 1 mL de H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> (30% m/m). Os digeridos foram diluídos para 10 ou 12 mL devido à lavagem dos frascos para transferência quantitativa. Pegaram-se alíquotas de 1,5 mL de cada digerido e adicionaram-se concentrações crescentes de uma solução de referência de Se. A diluição final foi de 3 mL.

Todas as amostras, exceto a de molusco chilena, foram digeridas em um forno de microondas com cavidade (ETHOS 1600, Milestone), usando o programa descrito na Tabela 5.2.6

**Tabela 5.2.6** Programa de aquecimento utilizado para a digestão dos materiais de referência certificados e para a amostra de rim suíno comercial.

<b>Etapa</b>	<b>Potência (W)</b>	<b>Tempo (min.)</b>	<b>Temperatura (°C)</b>
1	200	2,0	150
2	0	2,0	165
3	300	3,0	180
4	450	3,0	240
5	520	3,0	240
Ventilação	0	5,0	-

Devido a problemas ocorridos com o forno de microondas ETHOS 1600, a amostra de molusco trazida do Chile foi digerida em um forno de microondas com cavidade, Multiwave - Anton Paar (Perkin Elmer). O programa utilizado está apresentado na Tabela 5.2.7

**Tabela 5.2.7** Programa de aquecimento usado no forno Anton Paar (Perkin Elmer) para a digestão da amostra de molusco.

<b>Etapa</b>	<b>Potência (W)</b>	<b>Tempo (min.)</b>
1	291	2,0
2	0	3,0
3	640	4,0
4	872	5,0
5	1000	5,0
Resfriamento	0	15,0

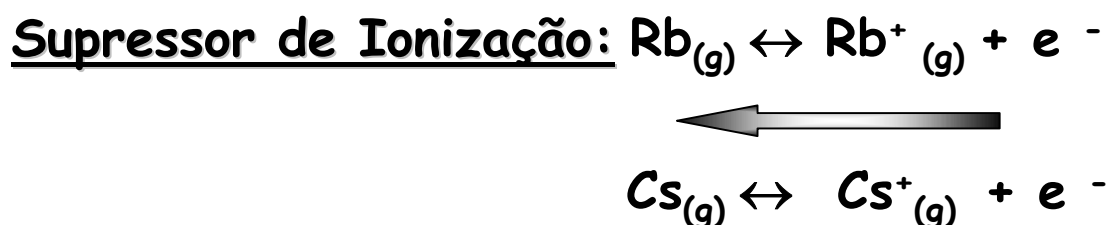
## **5.3 Estudos efetuados para o elemento Rb**

### **5.3.1 Estudos para otimização do sistema TS-FF-AAS**

Da mesma forma que para o Se, realizou-se um planejamento experimental utilizando o Rb para verificar a influência de alguns fatores, sobre o sinal da absorbância integrada. Os seguintes parâmetros foram avaliados: altura de observação, composição

da chama, tipo de carregador e ausência ou presença de tampão de ionização, já que o Rb é um elemento facilmente ionizável.<sup>2</sup> As chamas estequiométrica e oxidante tiveram as mesmas proporções de ar e acetileno, anteriormente usadas para a otimização do elemento Se.

Para tal estudo, foram preparadas duas soluções com a concentração de 1 mg.L<sup>-1</sup> de Rb com uma acidez de 0,14 mol.L<sup>-1</sup>. Em uma delas foi acrescentado CsCl com uma concentração de Cs de 1000 mg.L<sup>-1</sup> para que atuasse como supressor de ionização, já que o Cs também é um elemento facilmente ionizável. Assim, o equilíbrio seria deslocado no sentido da formação de Rb atômico como representado nas equações. Para cada uma



das soluções, foi preparado um respectivo branco analítico.

**Figura 5.1.1** Ilustração do deslocamento de equilíbrio com o uso de supressor de ionização.

Os parâmetros estudados encontram-se na Tabela 5.3.1

**Tabela 5.3.1** Parâmetros estudados no planejamento experimental para a medida de Rb por TS-FF-AAS

Parâmetro	-	+
Composição da chama	estequiométrica	oxidante
Altura de observação (cm)	0,3	1,5
Tipo de carregador	ar	água
Supressor de ionização	ausência	presença

A matriz contendo o planejamento fatorial ( $2^4$ ) realizado está apresentada na Tabela 5.3.2.

**Tabela 5.3.2** Matriz com o planejamento experimental estudado para o Rb\*

<b>Experimento</b>	<b>Composição da chama</b>	<b>Altura de observação</b>	<b>Tipo de Carregador</b>	<b>Supressor de Ionização</b>
1	oxidante	0,3	água	presença
2	esteq.	1,5	ar	ausência
3	oxidante	0,3	ar	presença
4	esteq.	0,3	água	presença
5	oxidante	1,5	ar	ausência
6	oxidante	0,3	ar	ausência
7	esteq.	0,3	água	ausência
8	esteq.	1,5	água	ausência
9	esteq.	1,5	ar	presença
10	oxidante	1,5	água	presença
11	oxidante	1,5	ar	presença
12	oxidante	0,3	água	ausência
13	oxidante	1,5	água	ausência
14	esteq.	0,3	ar	ausência
15	esteq.	0,3	ar	presença
16	esteq.	1,5	água	presença

\* Os experimentos foram realizados em duplicata

### 5.3.2 Otimização da vazão do carregador

Da mesma forma que para o Se, foi delineado um estudo para se determinar a melhor condição de formação do aerossol térmico. Foram estudadas vazões de 0,31; 0,35; 0,40 e 0,67 L/min. Para esse estudo, foi utilizada uma solução padrão de Rb (100  $\mu\text{g/L}$ ) preparada em  $\text{HNO}_3$  0,14 mol/L.

### **5.3.3 Figuras de mérito**

Depois de verificadas as condições ótimas de operação, determinaram-se as características analíticas para tais condições. Foram preparadas soluções de referência com concentrações que variaram de 20 a 1000 µg/L em meio de HNO<sub>3</sub> 0,14 mol/L com o intuito de verificar a faixa linear e os limites de detecção e quantificação. A concentração característica também foi calculada.

Os estudos para o elemento Rb foram interrompidos devido a problemas apresentados pela estabilidade da lâmpada de catodo oco. A lâmpada usada para os estudos não era da mesma marca que equipamento utilizado. Para FAAS convencional, não ocorreram variações significativas, mas quando o sistema TS-FF-AAS era utilizado havia um elevado desvio nas medidas de absorvância, principalmente para o branco analítico. Em todos os estudos realizados para o Rb, foram injetados 300 µL de amostra.

## **5.4 Estudos efetuados para o elemento Ni**

### **5.4.1 Avaliação do branco analítico**

Como o tubo atomizador era constituído por níquel sabia-se que seriam obtidos elevados sinais de branco analítico devido ao desprendimento de óxidos de níquel formados nas paredes do tubo. Para verificar o comportamento desses sinais, foi realizado um estudo no qual água destilada e HNO<sub>3</sub> 0,14 mol/L foram consecutivamente inseridos como branco analítico em dois tubos de Ni com configurações distintas: o tubo convencional, com 6 furos de 2 mm na parte inferior e o tubo com maior orifício, que possuía uma fenda (0,3 cm × 5,2 cm) no lugar dos furos.

### **5.4.2 Estudo do tubo atomizador**

Uma solução de Ni 100 µg/L preparada em HNO<sub>3</sub> 0,14 mol/L foi introduzida no sistema usando 3 tubos diferentes para verificar o comportamento do sinal de absorvância Integrada:

- Tubo de Ni convencional (com 6 furos)
- Tubo de Ni com maior orifício (0,3 × 5,2 cm)
- Tubo de Fe com 6 furos

O tubo com maior orifício foi testado com o objetivo de obter um maior sinal analítico para o Ni, pois esse elemento é menos volátil e requer uma maior temperatura para ser atomizado. A liga constituída principalmente por ferro, foi testada com o intuito de avaliar o sinal analítico e, eventualmente, substituir o tubo de níquel.

### **5.4.3 Pré-concentração e extração no ponto nuvem**

Como o Ni é um elemento relativamente refratário e se encontra em baixas concentrações em amostras orgânicas, necessita-se de condições especiais para sua determinação. Neste trabalho foi utilizada a pré-concentração empregando extração no ponto nuvem como estratégia para essa análise.

Os estudos de otimização desse procedimento foram conduzidos usando uma solução de Ni 100 µg/L, na qual foi adicionada um complexante e uma solução tampão (cujo pH depende do complexante utilizado). A solução foi deixada em repouso durante 20 min para a completa reação de complexação. Em seguida, adicionou-se a solução de surfactante (Triton X-114). A solução foi aquecida em banho-maria a 45°C durante 20 min para a formação do ponto nuvem e a separação das fases (rica e pobre).

Para a completa separação das duas fases, a solução foi centrifugada a uma rotação de 4000 rpm durante 10 min. Em seguida, foi colocada em banho de gelo para aumentar a viscosidade da fase rica (que continha o metal complexado) e impedir que a mesma fosse retirada juntamente com a fase pobre (aquosa). Essa última foi retirada com auxílio de uma micropipeta.

Para diminuir a viscosidade da fase rica e introduzi-la no sistema TS-FF-AAS foi adicionado um volume de um determinado solvente, que também foi estudado.

### **5.4.4 Estudo de complexantes**

Dois complexantes foram usados para verificar o comportamento do sinal de absorvância integrada com o intuito de obter um maior sinal analítico: pirrolidinaditiocarbamato de amônio (APDC) e difenilditiocarbazona (Ditizona).

### **5.4.5 Estudo do pH de complexação**

Como o APDC se mostrou mais adequado ao procedimento, realizou-se um estudo para verificar o melhor pH de complexação. Foram estudados dois diferentes pH, um ácido (4,5) e outro básico (8,0) dentro da faixa de pH de complexação do Ni com o APDC, indicados por um estudo apresentado por GIOKAS *et al.*<sup>84</sup>

#### **5.4.6 Otimização dos parâmetros de operação do sistema TS-FF-AAS**

Como alguns parâmetros de operação do sistema poderiam influenciar o sinal analítico, foram realizados estudos para se obter uma condição ótima de operação.

##### *- Estudo da chama e altura de observação*

Um planejamento experimental foi delineado para estudar o efeito sobre o sinal analítico de 3 diferentes composições de chama e 2 alturas de observação.

As chamas estudadas foram: estequiométrica (13,5 L/min de ar e 2,0 L/min de C<sub>2</sub>H<sub>2</sub>), oxidante (18 L/min de ar e 2,0 L/min de C<sub>2</sub>H<sub>2</sub>) e redutora (13,5 L/min de ar e 3,0 L/min de C<sub>2</sub>H<sub>2</sub>).

As alturas de observação adotadas no estudo foram de 0,3 e 1,5 cm acima da base do queimador.

##### *- Estudo da vazão e do tipo de carregador*

Um segundo planejamento experimental fatorial (com replicata no ponto central) foi projetado para verificar a maneira como o tipo de carregador e sua vazão poderiam influenciar o sinal analítico.

Os carregadores estudados foram ar, água e HNO<sub>3</sub> diluído (0,14 mol/L) e as vazões usadas no estudo foram: 0,30; 0,40 e 0,50 mL/min.

##### *- Estudo do solvente de diluição da fase rica*

Como a fase rica (contendo o metal complexado) era viscosa e dificultava a introdução no sistema, vários solventes e misturas foram testados visando obter um maior sinal de absorvância integrada.

Foram estudados: etanol puro, etanol e HNO<sub>3</sub> (5 mol/L) 9:1 v/v, metanol puro e metanol e HNO<sub>3</sub> (5 mol/L) 9:1 v/v.

- *Estudo do volume da amostra*

Para verificar a influência do volume da amostra sobre o sinal da absorbância integrada, foi realizado um estudo injetando-se diferentes volumes de amostra.

Para tal estudo, utilizaram-se diferentes volumes do solvente de diluição da fase rica, de forma a tornar possível a injeção da amostra, isso porque o volume da fase rica obtido era pequeno, portanto um volume adequado do solvente foi utilizado para cada volume avaliado.

Os volumes de amostra injetados e os volumes de solvente utilizados estão apresentados na Tabela 5.3.3

**Tabela 5.3.3** Volume de amostra injetado no sistema e volume de solvente usado na diluição da fase rica

<b>Volume de amostra injetado (<math>\mu\text{L}</math>)</b>	<b>Volume de solvente (<math>\mu\text{L}</math>)</b>
150	200
300	300
450	450
600	600

### **5.4.7 Figuras de Mérito**

Para a construção da curva de calibração e determinação da faixa linear para Ni no sistema TS-FF-AAS, foram pré-concentradas soluções com uma faixa de 5 a 500  $\mu\text{g/L}$  usando uma solução estoque de Ni(II). Para FAAS, a curva de calibração foi construída em um intervalo de 100 a 10.000  $\mu\text{g/L}$ .

Compararam-se as figuras de mérito obtidas empregando o sistema proposto (TS-FF-AAS) com aquelas obtidas pela técnica de FAAS convencional. Os parâmetros instrumentais empregados para obter a curva analítica por FAAS foram os indicados pelo manual do fabricante e se encontram na Tabela 5.3.4:



**Tabela 5.3.4** Parâmetros de operação usados para a obtenção da curva analítica de calibração por FAAS.

<b>Parâmetros</b>	<b>Modo utilizado por FAAS</b>
Modo de calibração	calibração
Modo de leitura	integração
Resolução espectral (nm)	0,2
Comprimento de onda (nm)	232
Composição da chama (L/min)	Ar: 13,5 e C <sub>2</sub> H <sub>2</sub> : 2,0

Os modos de calibração e leitura foram os mesmos utilizados para o Rb e Se na determinação por FAAS.

#### **5.4.8 Estudo de Concomitantes**

Com o objetivo de verificar a ação de alguns elementos como supostos concomitantes do analito Ni, efetuou-se um estudo fixando-se a concentração do Ni em 500 µg/L e aumentou-se a concentração dos concomitantes estudados até uma concentração 200 vezes maior que a de Ni. As soluções foram preparadas em HNO<sub>3</sub> diluído (0,14 mol/L). Os elementos avaliados no estudo foram: Al(III), Co(II) e Fe(III). Foi realizado também, um estudo usando os 3 concomitantes simultaneamente.

O mesmo estudo foi realizado usando a FAAS convencional para comparação dos resultados.

#### **5.4.9 Avaliação da Aplicação da TS-FF-AAS para a Determinação de Ni**

##### **5.4.9.1 Avaliação da determinação de níquel em material de referência certificado usando HCl (1 mol/L) como solução extratora e posterior pré-concentração e extração no ponto nuvem**

Com o objetivo de determinar Ni usando o procedimento desenvolvido, testou-se o método de extração ácida proposto por NOGUEIRA *et al.*,<sup>85</sup> no qual apenas os

íons monovalentes e divalentes são quantitativamente extraídos. Para tal procedimento empregou-se o material de referência certificado folhas de espinafre (NIST, 1570a). Esse procedimento de extração foi adotado para evitar interferências causadas por íons trivalentes, principalmente Al(III) e Fe(III).

Pesaram-se 250 mg da amostra e foram adicionados 10 mL da solução extratora (HCl 1,0 mol/L). Aqueceu-se em banho-maria a 65°C durante 15 min. A amostra foi colocada em um agitador horizontal por 30 min. Segundo os autores, a extração com aquecimento e agitação foi mais eficiente que aquela realizada apenas com aquecimento. Posteriormente, a amostra foi centrifugada a 4000 rpm durante 10 min e em seguida foi filtrada por gravidade. Como o pH ótimo de complexação do Ni com o APDC foi de 4,5; ajustou-se o pH pra esse valor usando NH<sub>4</sub>OH concentrado. O volume da solução extraída foi ajustado para 10 mL e, em seguida, o procedimento para a extração no ponto nuvem foi aplicado seguindo as condições otimizadas já anteriormente descritas.

#### **5.4.9.2 Avaliação da determinação de Ni usando fluoreto como agente complexante dos concomitantes**

Com o objetivo de avaliar o efeito do fluoreto como agente mascarante dos concomitantes Al(III) e Fe(III), alguns testes foram realizados. As soluções preparadas encontram-se na Tabela 5.3.5

**Tabela 5.3.5** Soluções preparadas para a avaliação do fluoreto como agente mascarante dos concomitantes Al(III) e Fe(III)

<b>Solução</b>	<b>Conteúdo das soluções</b>
1	Ni(II) 100 µg/L
2	Ni(II) 100 µg/L, Al 10 mg/L e F <sup>-</sup> 100 mg/L
3	Ni(II) 100 µg/L e F <sup>-</sup> 100 mg/L
4	Ni(II) 100 µg/L e Al(III) 10 mg/L; Fe(III) 10 mg/L e F <sup>-</sup> 200 mg/L

A solução de  $F^-$  foi preparada a partir de NaF e todas as soluções foram submetidas ao procedimento de pré-concentração e extração no ponto nuvem e Ni foi determinado por TS-FF-AAS.



# Resultados e Discussão

---

## Capítulo 6

## **6. Resultados e Discussão**

### **6.1.1 Avaliação do comportamento do selênio**

Segundo DAVIES e BERNDT<sup>4</sup> a espectrometria de absorção atômica com forno tubular na chama e aerossol térmico (TS-FF-AAS) é efetiva para elementos relativamente voláteis. Para Cd, Pb e Zn os limites de detecção obtidos foram respectivamente, de 0,3; 2,4 e 0,2 µg/L medidos em altura de pico. O Se apesar de ser um elemento volátil, apresentou um limite de detecção de 310 µg/L. Esse elemento, é de difícil quantificação em espectrometria de absorção atômica com chama, uma vez que absorve no comprimento de onda de 196 nm, região onde ocorre intensa absorção dos próprios gases da chama e o espalhamento de radiação é mais acentuado devido ao baixo comprimento de onda.<sup>2,9</sup> Na tentativa de diminuir o limite de detecção e quantificar o elemento em amostras biológicas e alimentícias, vários estudos de otimização foram realizados.

### **6.1.2 Otimização da configuração do tubo atomizador**

A configuração do tubo atomizador é um parâmetro importante e pode afetar significativamente o sinal analítico, uma vez que esse fator pode interferir na temperatura no interior do mesmo. Elementos como Hg e Pb, por serem voláteis, podem ser determinados em tubos que possuem apenas o orifício de entrada do capilar cerâmico, outros elementos requerem uma temperatura de atomização mais elevada. Para esses analitos, GÁSPÁR e BERNDT<sup>21</sup> propuseram um tubo atomizador contendo 6 furos de 2,0 mm de diâmetro cada um, para que os gases da chama possam penetrar e aumentar a temperatura no interior do tubo, facilitando assim, a atomização de analitos menos voláteis.

Para o Se, foram testados 3 tipos de tubos atomizadores (Figura 4.3.1): um tubo com 6 orifícios na parte inferior, um tubo com maior orifício e outro, mais longo e sem orifícios. Os resultados estão apresentados na Tabela 6.1.1

Tabela 6.1.1 Absorbâncias Integradas obtidas para uma solução contendo 100 µg/L de Se usando tubos atomizadores com diferentes configurações (valor médio ± desvio padrão, n = 3).

<b>Configuração do tubo atomizador</b>	<b>Absorbância integrada (s)</b>
Tubo com 6 orifícios	0,199 ± 0,016
Tubo com maior orifício	0
Tubo sem orifícios	0,030 ± 0,050

Como o Se é um elemento bastante volátil e apresenta dificuldades para medidas em técnicas por chama, devido ao seu baixo comprimento de onda, um tubo maior e sem orifícios foi testado. Supunha-se que essa configuração do tubo pudesse gerar maior sinal analítico, uma vez que era mais longo e fechado, não permitindo que ocorresse a entrada da chama e, conseqüentemente, interferências causadas pela absorção dos próprios gases dessa chama, contudo, resultados insatisfatórios foram obtidos. Isso pode ter ocorrido, pois em atomizadores sob baixa temperatura, o Se pode formar compostos refratários,<sup>2,9</sup> prejudicando os processos de volatilização e atomização. O tubo com maior orifício não apresentou sinal analítico, mas esse resultado já era esperado, pois nesse caso há uma maior penetração dos gases da chama o que provavelmente possibilita uma difusão mais rápida das espécies de Se formadas e também favorece os processos de absorção molecular e espalhamento de radiação.

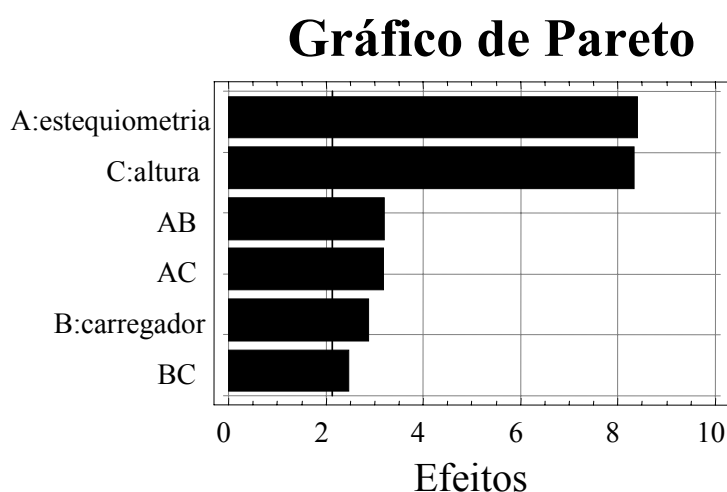
O tubo com 6 orifícios, se mostrou como o mais adequado e foi utilizado para os demais experimentos.

### **6.1.3 Composição da chama, altura de observação e tipo de carregador**

Devido à influência da temperatura e das condições químicas que ocorrem dentro do tubo atomizador, foram avaliados 3 parâmetros que poderiam influenciar significativamente o sinal analítico: a composição da chama, o tipo de carregador e a altura de observação (posição do tubo na chama). A partir de um planejamento fatorial 2<sup>3</sup> foram avaliados dois tipos de chamas: a considerada estequiométrica (que não

segue a estequiometria correta da reação, é composta por 13,5 L/min de ar e 2,0 L/min de  $C_2H_2$ , sendo essa a composição de chama recomendada pelo manual do equipamento) e uma chama oxidante em relação à primeira (ar: 18 L/min e  $C_2H_2$ : 2,0 L/min). Em um estudo prévio, um terceiro tipo de chama com uma composição mais redutora (ar: 13,5 L/min e  $C_2H_2$ : 3,0 L/min) foi testada, mas por ser mais turbulenta, não se mostrou adequada e por isso foi descartada do planejamento experimental. O segundo parâmetro estudado, foi a altura de observação: 1,5 e 0,3 cm acima da base do queimador e o terceiro fator estudado foi o tipo de carregador: ar e água.

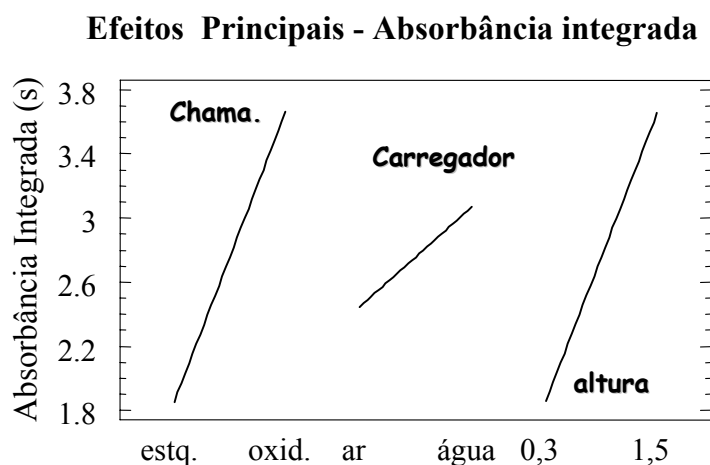
Para esse estudo foram introduzidos 300  $\mu$ L de amostra com uma concentração de 4 mg/L de Se (IV). O gráfico de Pareto mostrando o efeito das variáveis sobre o sinal analítico está representado na Figura 6.1.1



**Figura 6.1.1** Gráfico de Pareto mostrando as variáveis que tiveram efeito sobre o sinal analítico.

Analisando-se a Figura 6.1.1 pode-se observar que todas as variáveis, inclusive as interações entre as mesmas tiveram influência sobre o sinal da absorbância integrada em um nível de confiança de 95%, sendo que a estequiometria (A) e a altura de observação (C) foram as mais relevantes. A Figura 6.1.2 mostra a maneira como essas variáveis influenciaram o sinal analítico.





**Figura 6.1.2** Gráfico dos efeitos principais mostrando a influência das variáveis sobre o sinal analítico do Se

Observa-se pelo gráfico dos efeitos principais (Fig. 6.1.2), que uma chama mais oxidante, que apresenta temperatura ligeiramente menor, e o carregador água, que também auxilia o resfriamento do meio, causaram um maior sinal analítico, já que o Se é um elemento volátil e não necessita de uma temperatura elevada para ser atomizado. A altura de observação considerada ótima foi a de 1,5 cm acima da base do queimador. Nessa condição, o tubo atomizador fica posicionado em uma região mais quente da chama, que combinado com as outras condições de carregador e estequiometria da chama, causou um aumento do sinal da absorbância integrada. Contudo, a chama oxidante provocava rápida degradação no tubo de Ni, mas foi a escolhida para dar continuidade aos estudos, uma vez que apresentou um sinal analítico 2,6 vezes maior que aquele obtido usando a chama estequiométrica.

Como a chama oxidante se mostrou como sendo a mais adequada, um segundo estudo foi realizado aumentando-se ainda mais a vazão de ar e mantendo-se fixas as demais condições otimizadas. A Tabela 6.1.2 contém os resultados.

**Tabela 6.1.2** Comparação dos resultados obtidos (solução de Se 4 mg/L) usando a composição da chama de acordo com o planejamento experimental e uma chama com uma composição ainda mais oxidante (valor médio  $\pm$  desvio padrão, n = 3)

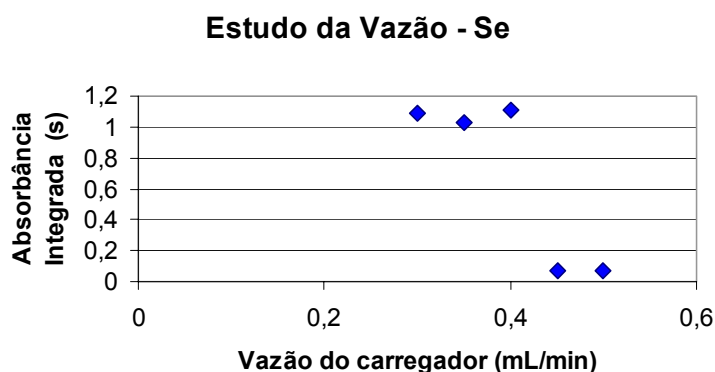
Composição da Chama	Absorbância Integrada (s)
ar: 18,0 L/min e C <sub>2</sub> H <sub>2</sub> : 2,0 L/min	12,1 $\pm$ 0,24
ar: 19,5 L/min e C <sub>2</sub> H <sub>2</sub> : 2,0 L/min	5,92 $\pm$ 0,10

Comparando-se os sinais obtidos, verificou-se que a chama estabelecida no planejamento experimental apresentou o melhor sinal analítico e, portanto, foi adotada para os demais experimentos.

#### 6.1.4 Estudo da vazão do carregador

Segundo GÁSPÁR e BERNDT<sup>21</sup> uma vazão elevada (> 1,5 mL/min) do carregador pode provocar uma diminuição da temperatura no interior do tubo atomizador, prejudicando o sinal analítico. Isso ocorre, pois quando altas vazões são utilizadas, o tempo necessário para que ocorra a formação do aerossol térmico, não é suficiente e um fluxo de líquido, ao invés de vapor, atinge o tubo atomizador. Dessa forma, as gotas maiores permanecem mais tempo na forma líquida devido ao isolamento promovido pela camada de vapor entre a gota e a parede do tubo (fenômeno LEIDENFROST). Algumas dessas gotas podem escapar pelas bordas do tubo sem que sejam vaporizadas, diminuindo assim a intensidade do sinal analítico.<sup>21,22,26,85</sup> Quando a vazão é pequena (< 0,005 mL/min), o sinal também fica prejudicado devido a irregularidade do processo de vaporização da amostra.

Com o intuito de obter o maior sinal analítico possível, foram estudadas vazões de 0,30; 0,35; 0,40; 0,45 e 0,50 mL/min. A Figura 6.1.3 contém os resultados obtidos para a introdução de uma solução contendo 100  $\mu$ g/L de Se (IV).



**Figura 6.1.3** Efeito provocado pela vazão do carregador sobre o sinal da absorbância Integrada.

Observa-se na Figura 6.1.3 que as vazões de 0,30; 0,35 e 0,40 mL/min proporcionaram sinais analíticos aproximadamente iguais, mas como a vazão de 0,4 mL/min apresentou um sinal ligeiramente maior, foi adotada para os estudos seguintes. As vazões maiores, como as de 0,45 e 0,50 mL/min, apresentaram os menores sinais analíticos.

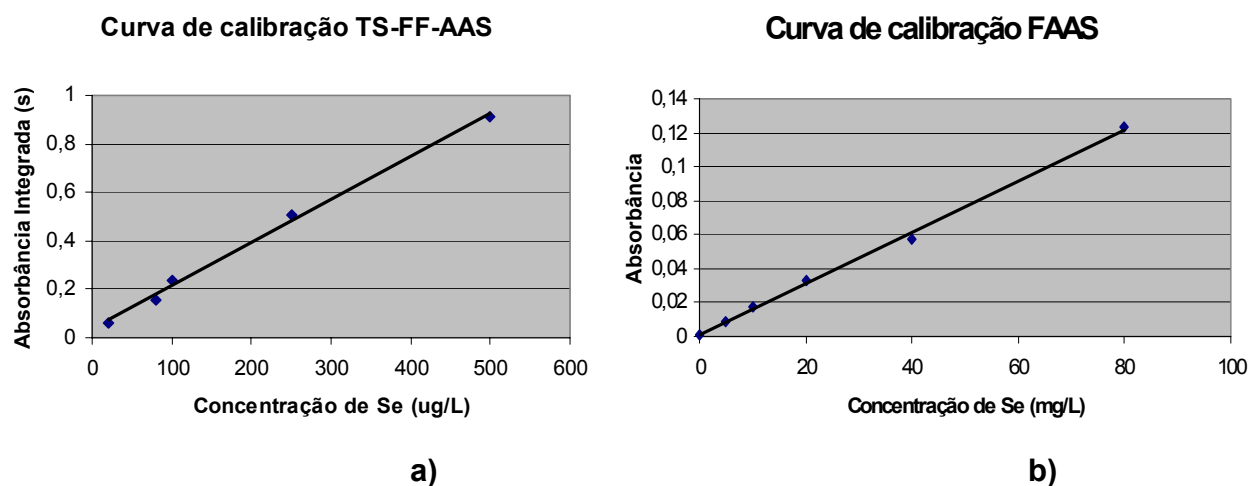
### 6.1.5 Figuras de mérito

A partir da otimização dos parâmetros instrumentais do sistema TS-FF-AAS, as figuras de mérito foram determinadas pelo estabelecimento de algumas características analíticas tais como limites de detecção e quantificação, faixa linear e coeficiente de correlação linear da curva de calibração. Os limites de detecção (3 vezes o desvio padrão do branco analítico dividido pelo coeficiente angular da equação linear da curva de calibração) e quantificação (10 vezes o valor do desvio padrão do branco analítico dividido pelo coeficiente angular da equação linear da curva de calibração) foram calculados a partir de 10 medidas consecutivas da solução do branco (solução de  $\text{HNO}_3$  0,14 mol/L). Buscando uma comparação, as figuras de mérito também foram determinadas para a técnica de FAAS. Para esse estudo, foram utilizadas as condições recomendadas pelo manual do equipamento, isto é, chama composta por  $\text{N}_2\text{O}$  e  $\text{C}_2\text{H}_2$  nas vazões de 11,0 / 6,6 L/min. A Tabela 6.1.3 contém os resultados e a Figura 6.1.4 apresenta as curvas de calibração obtidas.

**Tabela 6.1.3** Comparação entre as figuras de mérito obtidas com TS-FF-AAS e FAAS.

Figura de mérito	TS-FF-AAS	FAAS
Faixa Linear ( $\mu\text{g/L}$ )	20-500	5.000 – 80.000
Equação da reta	$A = 1,8 \cdot 10^{-3} C_{\text{Se}} + 0,0359$	$A = 2 \cdot 10^{-6} C_{\text{Se}} + 0,0013$
LOD ( $\mu\text{g/L}$ )	18,8	830
LOQ ( $\mu\text{g/L}$ )	62,8	2700
$R^2$	0,998	0,998

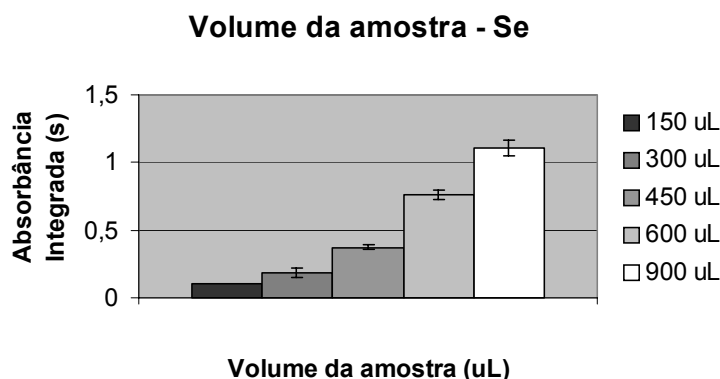
Observa-se que o limite de detecção obtido por TS-FF-AAS foi aproximadamente 44 vezes melhor que o obtido por FAAS convencional.



**Figura 6.1.4** Curvas de calibração obtidas para Se a) TS-FF-AAS b) FAAS convencional

### 6.1.6 Estudo do volume da amostra

Mesmo considerando-se que a injeção de grandes volumes poderia prejudicar a repetibilidade e a frequência de amostragem do método, foi avaliada a inserção de 150, 300, 450, 600 e 900  $\mu\text{L}$ , buscando aumentar a sensibilidade. A Figura 6.1.5 apresenta o gráfico com os resultados obtidos.



**Figura 6.1.5** Absorbâncias integradas obtidas em função do volume da solução contendo 100  $\mu\text{g/L}$  de Se utilizando as condições otimizadas

Observa-se que quanto maior o volume de amostra injetado, maior o sinal analítico. Esse comportamento já era esperado, uma vez que uma maior população de átomos na zona de observação em um maior período de tempo, causa aumento do sinal.<sup>25,26</sup> Contudo, maiores desvios e diminuição na frequência de amostragem foram observados. A introdução de elevados volumes de amostra reduz a frequência de amostragem, principalmente devido à necessidade de um maior tempo de limpeza para eliminar possíveis efeitos de memória.

Portanto, adotou-se como ideal, a introdução de 600  $\mu\text{L}$  de amostra, uma vez que a inserção de 900  $\mu\text{L}$  prejudicava a frequência de amostragem.

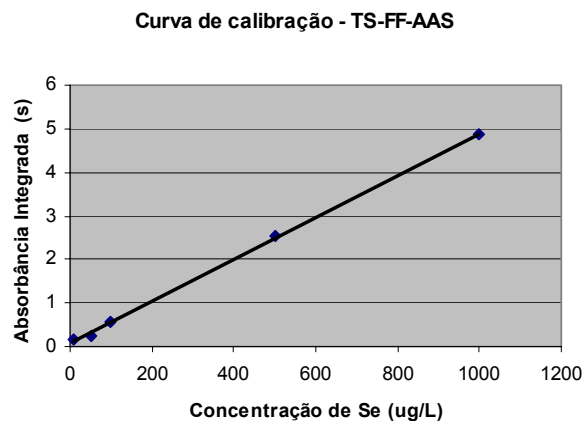
### 6.1.7 Novas figuras de mérito

Tendo avaliado o efeito do volume de amostra, as características analíticas para o sistema TS-FF-AAS foram novamente determinadas introduzindo-se 600  $\mu\text{L}$  da amostra. A Tabela 6.1.4 mostra os resultados e a Figura 6.1.7 apresenta a curva de calibração obtida:

**Tabela 6.1.4** Figuras de mérito determinadas para o sistema TS-FF-AAS introduzindo 600  $\mu\text{L}$  de amostra

Figura de mérito	Novos valores para TS-FF-AAS
Faixa Linear ( $\mu\text{g/L}$ )	10 -1.000
Equação da Reta	$A = 4,8 \cdot 10^{-3} C_{\text{Se}} + 7,7 \cdot 10^{-2}$
LOD ( $\mu\text{g/L}$ )	8,70
LOQ ( $\mu\text{g/L}$ )	28,9
$R^2$	0,999

É possível observar que usando 600  $\mu\text{L}$  de amostra, obteve-se um limite de detecção 2 vezes menor que o obtido inserindo-se 300  $\mu\text{L}$  de amostra (18,8  $\mu\text{g/L}$ ). Comparando-se o novo limite de detecção com o obtido por FAAS (832  $\mu\text{g/L}$ ), observa-se uma melhora de sensibilidade de aproximadamente 95 vezes. A maior alça de amostragem foi utilizada apenas nas medidas para os digeridos de tecidos animais.



**Figura 6.1.6** Curva de calibração obtida introduzindo-se 600  $\mu\text{L}$  de amostra

## **6.1.8 Avaliação da aplicação da técnica de TS-FF-AAS na determinação de Se em amostras de alimentos e biológicas**

### **6.1.8.1 Avaliação da determinação de Se na castanha do Pará**

Após a otimização das condições de operação, iniciaram-se os experimentos de avaliação da aplicação da TS-FF-AAS para a determinação de Se nas amostras alimentícias e biológicas. A primeira amostra testada foi a castanha do Pará.

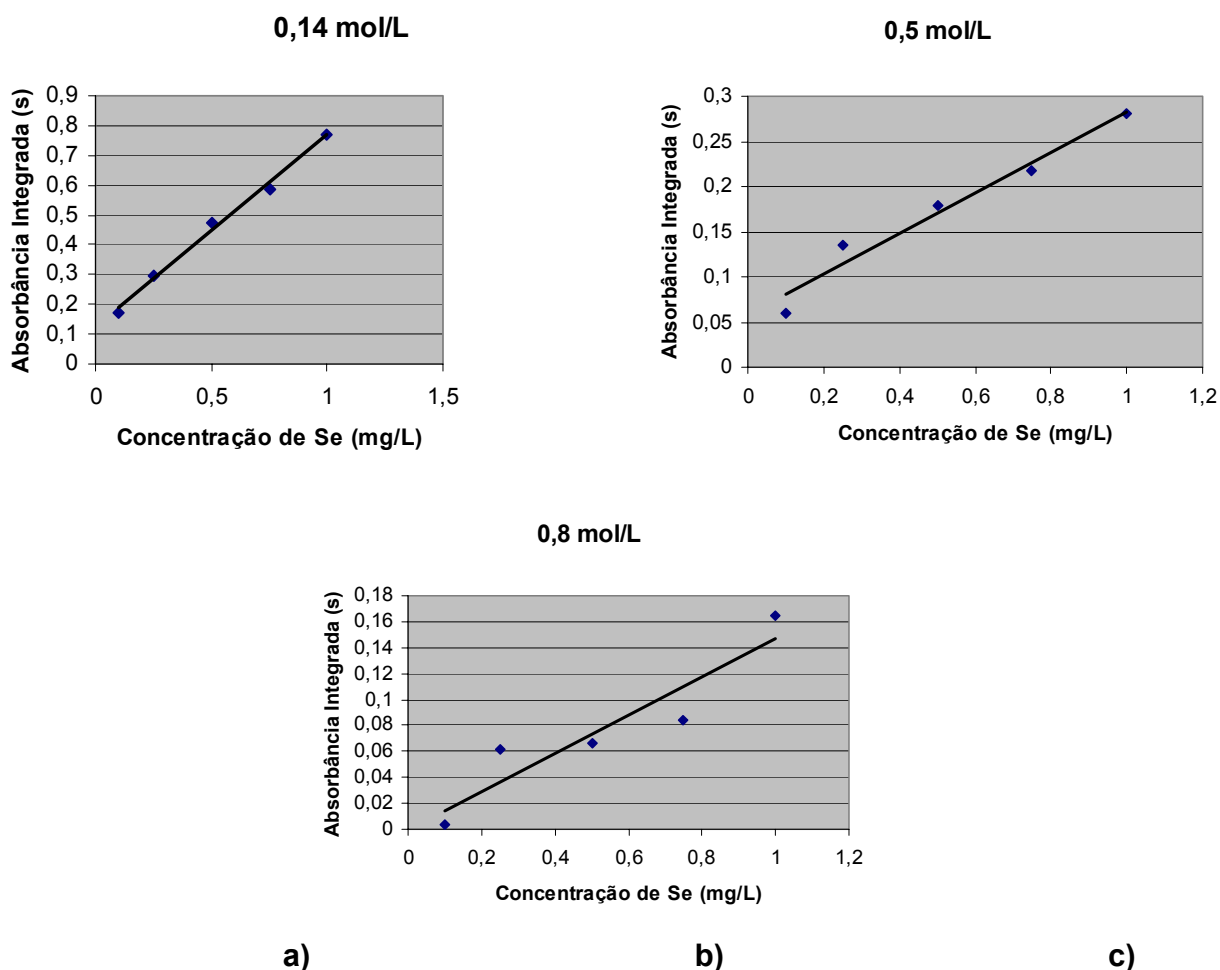
Considerando o estudo citado na Seção 5.2.9, a massa de castanha do Pará sem fase lipídica otimizada foi de 350 mg com 1 mL de H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> (30% m/m) e 2 mL de HNO<sub>3</sub> (2 mol/L), a diluição final foi de 10 mL. A escolha da massa de amostra decorreu da concentração esperada de Se na castanha não ser tão elevada e, considerando a diluição, se uma massa pequena fosse digerida, a concentração de Se no digerido diluído poderia ficar abaixo do limite de quantificação da técnica. Além disso, ao mesmo tempo que não se poderia promover uma diluição elevada para não perder poder de detecção, também não se poderia fazer uma diluição mínima do digerido que implicasse em uma solução com elevada concentração ácida.

A diluição de 28,5 vezes não foi suficiente para a determinação de Se na castanha, uma vez que o sinal de fundo obtido foi extremamente elevado e a curva de calibração teve sua linearidade prejudicada. Isso pode ter ocorrido devido a uma elevada acidez do meio, que pode ter provocado um ataque ao tubo metálico, prejudicando a atomização do analito. Assim, decidiu-se avaliar o efeito da concentração de ácido nítrico sobre a sensibilidade.

### **6.1.8.2 Efeito da acidez das soluções**

Com o objetivo de verificar de que forma a acidez final poderia influenciar o sinal analítico e a linearidade da curva de calibração, prepararam-se 3 curvas analíticas em concentrações ácidas diferentes: 0,14; 0,50 e 0,80 mol/L.

As curvas de calibração obtidas são apresentadas na Figura 6.1.8



**Figura 6.1.7** Curvas de calibração obtidas em diferentes meios ácidos: **a)** 0,14 mol/L **b)** 0,50 mol/L e **c)** 0,80 mol/L

A Tabela 6.1.5 mostra os parâmetros dessas curvas analíticas

**Tabela 6.1.5** Equações e coeficientes de correlação lineares das curvas analíticas de calibração construídas nos diferentes meios ácidos.

Parâmetros	0,14 mol/L	0,50 mol/L	0,80 mol/L
Curva de calibração	$A = 0,639C_{Se} + 0,128$	$A = 0,225C_{Se} + 0,057$	$A = 0,148C_{Se} + 0,001$
$R^2$	0,9920	0,9640	0,8640

Analisando-se a Figura 6.1.8 e a Tabela 6.1.9 pode-se concluir que com o aumento da concentração ácida do meio, houve perda da linearidade da curva de



calibração. Além disso, a sensibilidade também diminuiu com o aumento da concentração ácida. Isso implica que necessariamente os digeridos tenham que ser diluídos para que a medida de Se por TS-FF-AAS não seja prejudicada.

### 6.1.8.3 Avaliação da determinação Se em amostras de leite e água de coco

A segunda amostra avaliada foi o leite. Os testes iniciais foram feitos com leite integral, uma vez que o desnatado, como verificado por Aleixo<sup>81</sup> apresenta uma menor concentração de Se. O método adotado para esta avaliação foi o mesmo proposto por Nascentes *et al.*<sup>22</sup>, no qual a amostra era diluída 1:1 v/v em meio de CFA-C em pH = 8. Essa estratégia foi adotada para impedir a rápida acumulação de carbono na extremidade do capilar cerâmico sem que houvesse necessidade de uma grande diluição da amostra. Além disso, amostras de leite devem ser diluídas em meio alcalino ou neutro para evitar a precipitação das proteínas. Os resultados estão apresentados na Tabela 6.1.6 e pode-se observar que a maior limitação observada foi a baixa repetibilidade das medidas.

**Tabela 6.1.6** Concentração de Se nas amostras de leite com os respectivos desvios padrão relativos (n = 3)

Amostra	Concentração de Se ( $\mu\text{g/L}$ )	RSD %
Leite Integral 1	166,4	9,22
Leite Integral 2	62,4	35,6

É possível observar que o desvio padrão relativo foi elevado, isso pode ter ocorrido, pois com a diluição, a concentração de selênio se encontrava entre os limites de detecção e quantificação da técnica. Além disso, o leite integral apresenta uma matriz complexa, pois contém uma alta concentração de gorduras. Uma alternativa para essa determinação seria a introdução de maiores volumes de amostras, entretanto devido à repetibilidade insatisfatória optou-se por testar a determinação de Se em água de coco.

A terceira amostra a ser avaliada foi de água de coco, que apresentava um teor menor de lipídeos que o leite.

Sabia-se que a concentração de Se nesse tipo de amostra era baixa e talvez não pudesse ser detectada pela técnica, uma vez que a amostra não poderia ser injetada sem nenhuma diluição, por também apresentar gorduras.

Com o objetivo de conhecer a concentração de Se nas amostras de água de coco, as mesmas foram analisadas por GFAAS segundo o método proposto por Aleixo<sup>80</sup> antes de serem introduzidas no sistema TS-FF-AAS.

A determinação de Se nas amostras de água de coco foi feita por GFAAS usando o método das adições de padrão. Os resultados obtidos estão apresentados na Tabela 6.1.7.

**Tabela 6.1.7** Concentrações de Se e respectivos desvios padrão determinados nas águas de coco por GFAAS (n = 3)

Amostra	Concentração (µg/L)
Ducoco	33,3 ± 0,12
Sococo	19,4 ± 0,53
Natural	13,0 ± 0,21

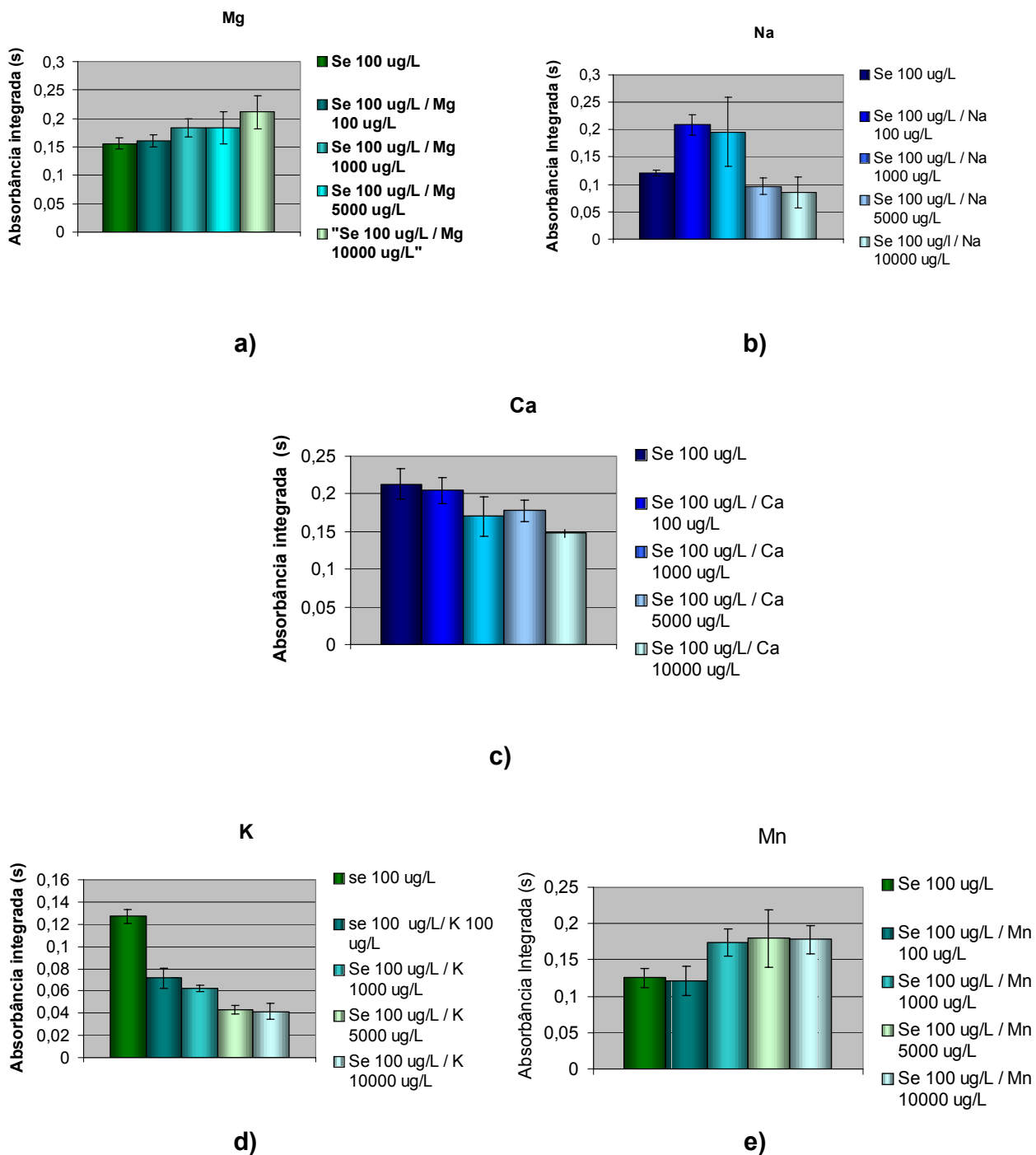
Como pode ser observado na Tabela 6.1.7, as concentrações de selênio nas amostras de água de coco eram baixas e não poderiam ser detectadas por TS-FF-AAS, uma vez que precisavam ser diluídas. Como já foi discutido na seção 5.2.9.1, Silva *et al.*<sup>82</sup> determinaram Se em águas naturais por espectrometria de massa com plasma acoplado indutivamente (ICP-MS) usando pré-concentração e extração no ponto nuvem. O dietilditiofosfato de amônio (DDTP) foi usado como complexante e esse método foi aplicado na tentativa de se determinar Se nas amostras de água de coco por TS-FF-AAS.

A determinação não foi possível devido ao elevado sinal de fundo obtido quando a solução pré-concentrada foi introduzida no sistema. Isso pode ter ocorrido por causa dos reagentes utilizados na pré-concentração (principalmente pela alta absorção molecular causada pelo Triton-X114 nessa região), que podem ter proporcionado elevada absorção molecular e espalhamento da radiação, uma vez que o Se absorve em uma região onde esses efeitos são agravados. O sinal de fundo obtido usando a

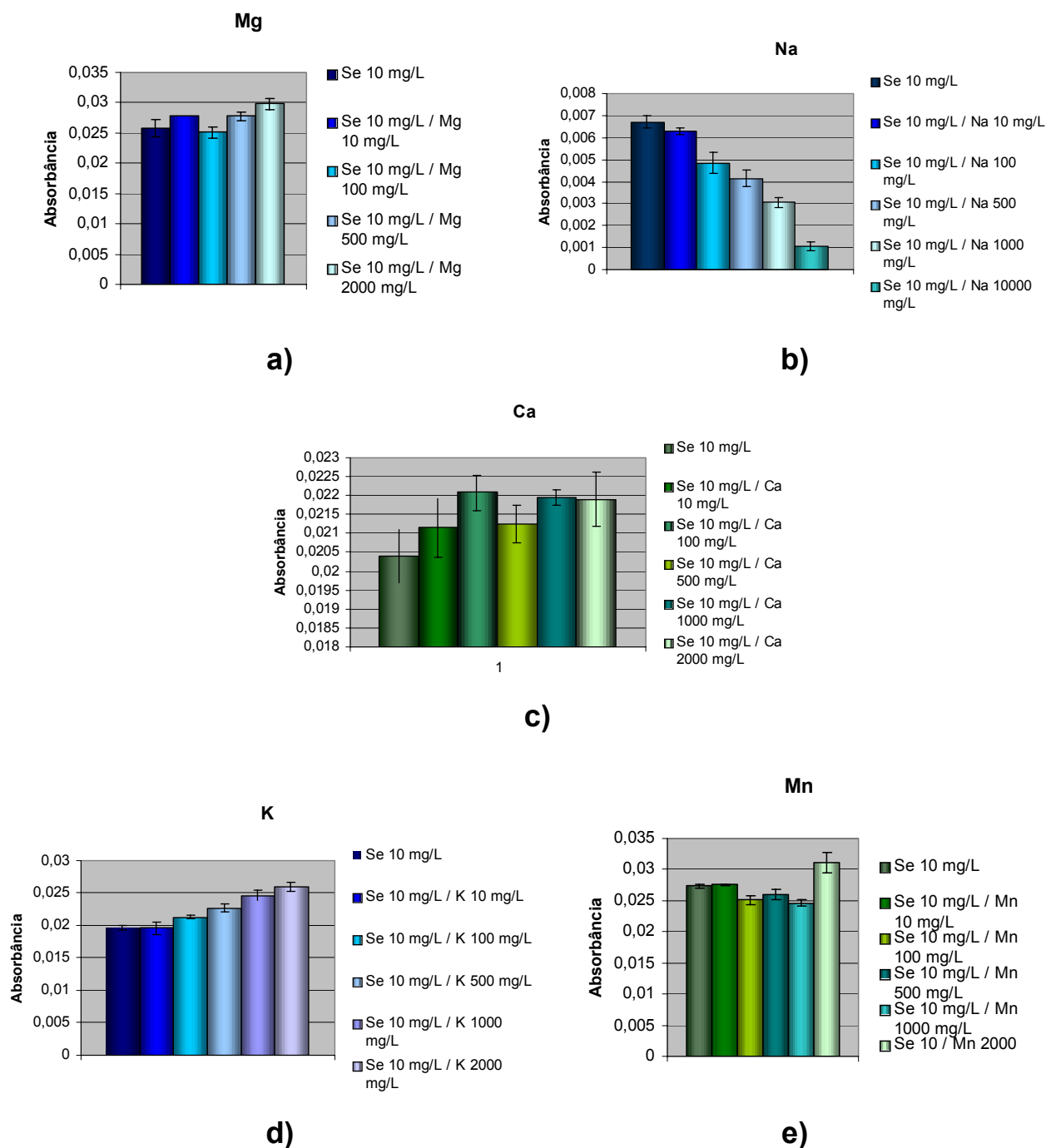
pré-concentração e extração no ponto nuvem foi aproximadamente 228 vezes maior que o obtido com uma solução levemente ácida ( $\text{HNO}_3$  0,14 mol/L).

#### **6.1.8.4 Efeito de concomitantes**

Com o objetivo de avaliar o efeito de alguns concomitantes presentes em vários tipos de amostras, elementos como Ca, K, Mg, Mn e Na foram estudados separadamente. Assim, fixou-se a concentração de Se em 100  $\mu\text{g/L}$  e aumentou-se a concentração de concomitante até um fator de 100. Selênio foi determinado por TS-FF-AAS. Esse mesmo estudo foi efetuado por FAAS, mas nesse caso, a concentração de Se foi fixa em 10 mg/L (devido à baixa sensibilidade da técnica) e a concentração dos concomitantes foi elevada até uma concentração 200 vezes maior que a de Se. As Figuras 6.1.8 e 6.1.9 apresentam os resultados obtidos por TS-FF-AAS e FAAS, respectivamente.



**Figura 6.1.8** Efeito dos concomitantes sobre o sinal da absorbância integrada, obtido por TS-FF-AAS: **a)** Mg<sup>2+</sup>, **b)** Na<sup>+</sup>, **c)** Ca<sup>2+</sup>, **d)** K<sup>+</sup>, **e)** Mn<sup>2+</sup> As barras representam os valores médios com os respectivos desvios padrão também representados (n=3)



**Figura 6.1.9** Efeito dos concomitantes sobre o sinal da absorbância integrada, obtido por FAAS: **a)** Mg<sup>2+</sup>, **b)** Na<sup>2+</sup>, **c)** Ca<sup>2+</sup>, **d)** K<sup>+</sup>, **e)** Mn<sup>2+</sup>. As barras representam os valores médios com os respectivos desvios padrão também representados (n=2)

É possível observar que todos os elementos estudados exerceram algum tipo de influência sobre os processos de dissociação, volatização e atomização do selênio. Nota-se também, que os elementos K e Ca quando avaliados no sistema TS-FF-AAS apresentaram comportamento oposto ao observado em FAAS.

Considerando-se a complexidade desses efeitos, optou-se por utilizar o, método das adições de padrão para a calibração e determinação de Se. Esse método geralmente corrige possíveis interferências causadas pela matriz da amostra.<sup>7</sup>

#### **6.1.8.5 Avaliação da determinação Se em tecidos animais por TS-FF-AAS**

As últimas amostras avaliadas foram compostas por tecidos animais, i.e. frutos do mar e rim suíno.

Como já foi discutido na Seção 5.2.9.5, as amostras foram digeridas com 3 mL de ácido nítrico (2 mol/L) e 1mL de H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> (30% m/m) e determinadas através do método das adições de padrão. As massas pesadas foram aproximadamente de 400 e 500 mg e foram digeridas em frascos separados de Teflon<sup>®</sup> PFA, para evitar eventuais explosões, ou seja, em cada frasco, foi adicionada uma massa de aproximadamente 200 ou 250 mg da amostra (dependendo da amostra). Em seguida, os digeridos dos dois frascos foram misturados em um só para serem diluídos. Esse procedimento foi adotado para evitar a periculosidade decorrente da digestão de uma elevada massa de amostra em um único frasco fechado. Uma massa relativamente grande da amostra foi utilizada com o intuito de se obter uma concentração de Se nos digeridos relativamente maior que o limite de quantificação do método.

Os digeridos combinados foram diluídos para 10 ou 12 mL. As soluções de calibração foram obtidas adicionando-se volumes conhecidos de solução estoque de Se a alíquotas de 1,5 mL de cada amostra. Conforme procedimento inerente ao método das adições de padrão, não se adicionou Se à primeira solução analítica de calibração. O volume final de cada ponto da curva foi de 3 mL. Foi obtida uma curva analítica para cada amostra e todos coeficientes de correlação linear obtidos foram maiores que 0,995. Os resultados estão apresentados na Tabela 6.1.8

**Tabela 6.1.8** Concentrações de Se determinadas em amostras comerciais e materiais de referência certificados por TS-FF-AAS (valor médio  $\pm$  intervalo de confiança, n = 3).

Amostra	Valor determinado ( $\mu\text{g/g}$ )	Valor certificado ( $\mu\text{g/g}$ )
Rim suíno BCR 186	9,80 $\pm$ 0,90	10,30 $\pm$ 0,50*
Mexilhão GBW 08571	3,82 $\pm$ 0,21	3,65 $\pm$ 0,18
Rim suíno comercial	9,94 $\pm$ 1,20	-
Molusco comercial	2,32 $\pm$ 0,59	-

\*Intervalo de confiança:  $x \pm t s / n^{1/2}$

Pode-se observar que houve boa correlação entre os valores certificados e determinados. Estatisticamente, aplicando-se o teste t, não existe diferença entre esses valores com 95 % de confiança. Usando o método das adições de padrão, também seria possível determinar a concentração de Se nas amostras de castanha do Pará sem a fase lipídica, uma vez que dessa forma as amostras poderiam ser digeridas com ácido nítrico 2 mol/L e o digerido final poderia ser dopado com concentrações crescentes de Se.

## 6.2 Avaliação do comportamento do rubídio

A determinação de Rb empregando técnicas espectroanalíticas não apresenta grandes dificuldades. Amostras biológicas e de alimentos, por exemplo, apresentam concentrações relativamente elevadas do elemento.<sup>41</sup> Técnicas como FAAS e FAES são suficientemente sensíveis para essa determinação. Entretanto o desenvolvimento de novos procedimentos para a determinação de rubídio, pode impulsionar trabalhos em outras áreas que busquem uma maior compreensão dos efeitos fisiológicos desse elemento que ainda são pouco conhecidos.

Com o intuito de avaliar o comportamento do Rb por TS-FF-AAS e buscando melhorar ainda mais a sensibilidade da FAAS sem prejudicar a simplicidade da técnica, vários estudos de otimização foram realizados.

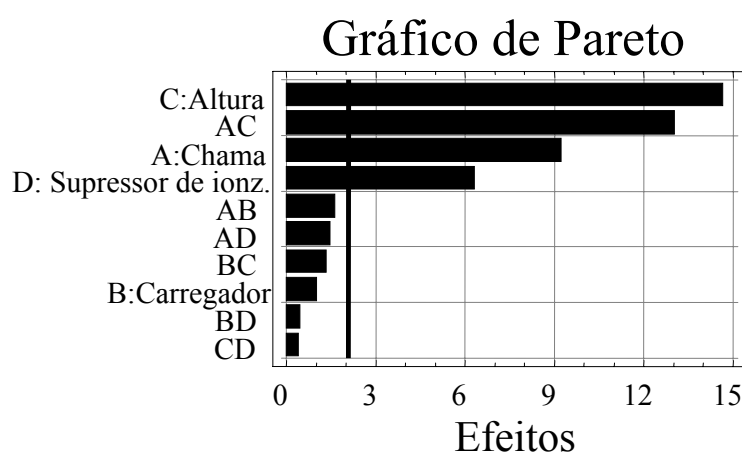
### 6.2.1 Otimização da composição da chama, tipo de carregador e altura de observação

Da mesma forma que para o Se, um planejamento experimental foi delineado para verificar o efeito da composição da chama, do carregador (ar e água) e da altura de observação 0,3 e 1,5 cm acima da base do queimador sobre os sinais analíticos para o Rb. Como o rubídio é um elemento facilmente ionizável e esse fator poderia interferir no processo de atomização do elemento, uma quarta variável (ausência ou presença de supressor de ionização) também foi avaliada. A interferência de ionização pode ser um problema na determinação de metais alcalinos em chamas com temperaturas relativamente baixas. Para qualquer elemento, é possível escrever uma reação de ionização em fase gasosa:



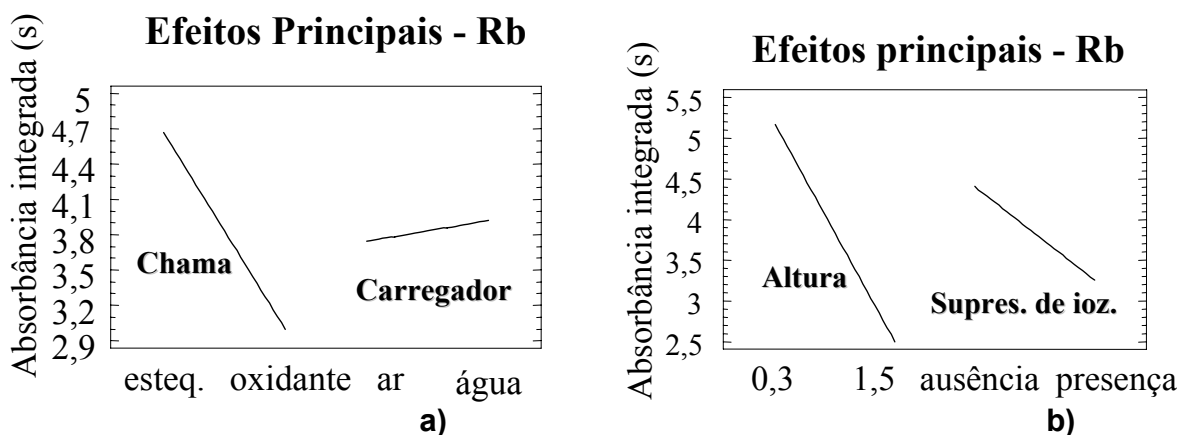
Como os metais alcalinos possuem os menores potenciais de ionização, são mais facilmente ionizados em uma chama. Assim, como os átomos ionizados possuem níveis de energia diferentes dos átomos neutros, o sinal analítico é diminuído.<sup>7</sup>

Para este estudo, uma solução padrão de  $Rb^+$  (1,0 mg/L) foi preparada em  $HNO_3$  (0,14 mol/L). O supressor de ionização usado foi de 0,1% m/v de  $Cs^+$ , preparado a partir de  $CsCl$ . As Figuras 6.2.1 e 6.2.2 apresentam os resultados.



**Figura 6.2.1** Gráfico de Pareto mostrando os efeitos das variáveis estudadas sobre o sinal analítico





**Figura 6.2.2** Gráfico dos efeitos principais: **a)** composição da chama e tipo de carregador **b)** altura de observação e supressor de ionização

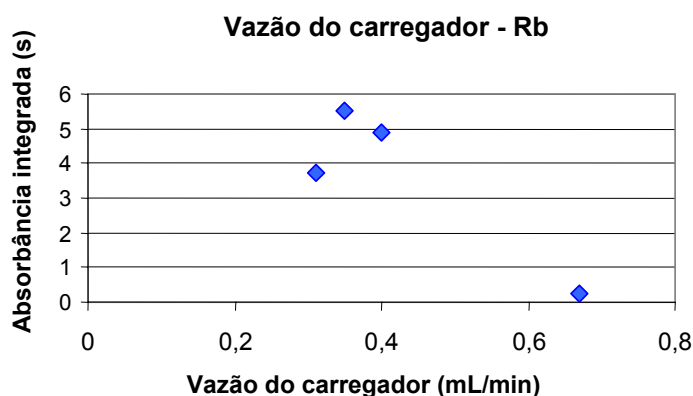
Pelo gráfico de Pareto (Fig. 6.2.1) observa-se que as variáveis que mais influenciaram o sinal analítico foram: altura de observação (C), a interação entre a composição da chama e altura de observação (AC), composição da chama (A) e o efeito do supressor de ionização (D) com 95% de confiança. As outras variáveis e interações não apresentaram influência significativa.

Através do gráfico dos efeitos principais (6.2.2), observa-se que a chama estequiométrica (recomendada pelo manual do equipamento) foi a mais adequada para o Rb. O tipo de carregador não influenciou significativamente o sinal da absorbância integrada, contudo, observa-se pelo gráfico dos efeitos principais que a água apresentou um sinal analítico ligeiramente maior e portanto foi adotada para os estudos posteriores.

A altura de observação de 0,3 cm apresentou os melhores resultados. Essa é uma região onde a chama é comparativamente mais fria, uma vez que o Rb é um elemento relativamente volátil e não precisa de uma temperatura de atomização elevada. A ausência de supressor de ionização também se mostrou mais adequada, pois é possível que os íons  $Cs^+$  possam interferir negativamente no sinal analítico.

### 6.2.2 Efeito da vazão do carregador sobre o sinal analítico

Assim como discutido anteriormente para o Se, a vazão do carregador pode interferir na formação do aerossol térmico afetando a formação da nuvem atômica e a medida do sinal de absorção atômica. Para o Rb foram estudadas vazões de 0,31; 0,35; 0,40 e 0,67 L/min. A Figura 6.2.3 mostra os resultados de absorbância integrada obtidos em função da vazão.



**Figura 6.2.3** Absorbâncias integradas obtidas em função da vazão (concentração de rubídio 100  $\mu\text{g/L}$ )

Observa-se que, diferentemente do Se, a vazão que proporcionou o maior sinal analítico foi a de 0,35 mL/min. Observa-se também que a vazão de 0,67 mL/min praticamente anulou o sinal de absorbância, provavelmente devido à formação da gota na parede do tubo aquecido (Efeito LEIDENFROST) discutido anteriormente para o Se.

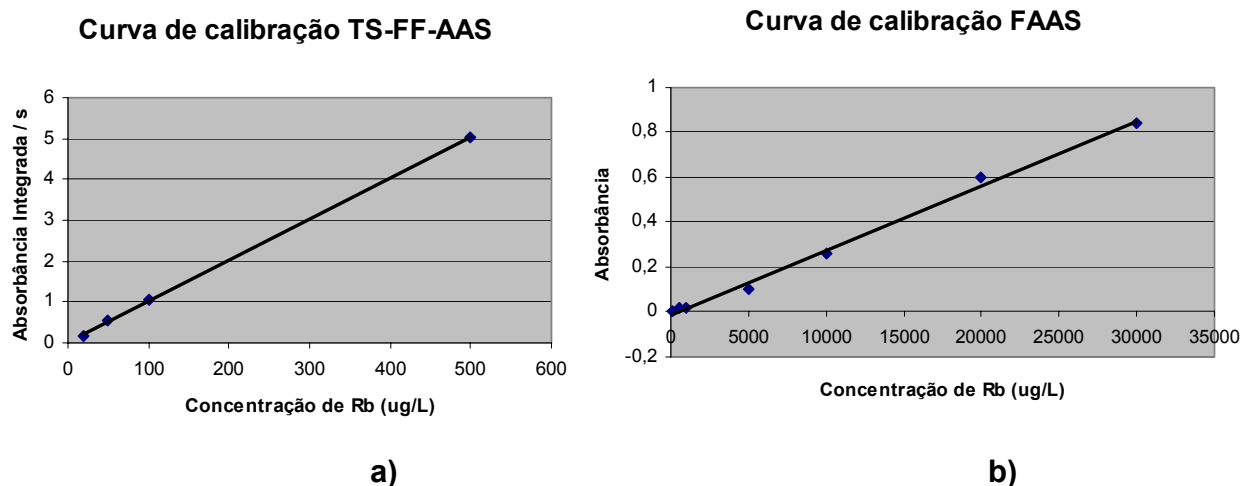
### 6.2.3 Figuras de mérito

Da mesma maneira que para o Se, após a otimização dos parâmetros experimentais, algumas características analíticas, tais como limites de detecção e quantificação e faixa linear da curva de calibração foram determinadas.

As mesmas características analíticas também foram obtidas empregando-se FAAS para comparação de desempenho. A Tabela 6.2.1 apresenta os resultados e a Figura 6.2.4 mostra as curvas analíticas de calibração.

**Tabela 6.2.1** Comparação entre as figuras de mérito obtidas por TS-FF-AAS e FAAS para o elemento Rb

Figura de Mérito	TS-FF-AAS	FAAS
Faixa Linear ( $\mu\text{g/L}$ )	20 - 500	100 - 30.000
Equação da Reta	$A = 1.10^{-2} C_{\text{Rb}} + 0,0273$	$A = 3.10^{-5} C_{\text{Rb}} + 0,0109$
Limite de Detecção ( $\mu\text{g/L}$ )	2,65	97,5
Limite de Quantificação ( $\mu\text{g/L}$ )	8,82	325
$R^2$	0,9990	0,9950

**Figura 6.2.4** Curvas de calibração obtidas para o Rb a) TS-FF-AAS b) FAAS

É importante observar que o limite de detecção obtido por TS-FF-AAS foi aproximadamente 37 vezes menor que o apresentado por FAAS. Para todos os estudos, o volume de solução introduzido foi de 300  $\mu\text{L}$ . Não foi possível efetuar o estudo do volume da amostra devido a problemas apresentados pela instabilidade da lâmpada de cátodo oco.

Durante alguns experimentos com o Rb, observou-se havia um aumento gradativo do sinal de absorvância para os brancos analíticos e também para as soluções de  $\text{Rb}^+$ , ou seja, a lâmpada não apresentava estabilidade.

A lâmpada de catodo oco havia sido recentemente adquirida e não havia sido produzida pelo mesmo fabricante do equipamento usado nas medidas. A lâmpada foi trocada, mas a nova lâmpada apresentou os mesmos problemas, ou seja, instabilidade do sinal de radiação incidente. Essa instabilidade foi mais acentuada em TS-FF-AAS comparativamente à FAAS.

Assim, devido aos problemas apresentados pela lâmpada os estudos com o Rb foram interrompidos e passou-se a avaliar o comportamento do Ni através da técnica proposta.<sup>2,9</sup>

## **6.3 Avaliação do comportamento do Ni**

### **6.3.1 Estudo do branco analítico**

Como o tubo atomizador usado nos estudos é constituído por Ni, esperava-se que para a determinação desse elemento o sinal do branco analítico fosse elevado devido ao desprendimento de óxidos de Ni das paredes internas do tubo. Esse estudo foi realizado para verificar o comportamento desses sinais em dois tubos com configurações diferentes. A Tabela 6.3.1 mostra 10 medidas simultâneas de branco analítico para 2 tubos de Ni com configurações diferentes: o convencional com 6 furos e o tubo com maior orifício. O desvio padrão relativo foi calculado e utilizado como parâmetro na avaliação da repetibilidade do método.

**Tabela 6.3.1** Absorbâncias integradas obtidas para o estudo realizado com os brancos analíticos (água desionizada ou solução de HNO<sub>3</sub> 0,14 mol/L) nos dois diferentes tubos.

Absorbâncias Integradas (s)							
<i>Tubo convencional</i>				<i>Tubo com maior orifício</i>			
H <sub>2</sub> O		HNO <sub>3</sub>		H <sub>2</sub> O		HNO <sub>3</sub>	
0,778		1,04		2,58		2,55	
0,799		1,04		2,49		2,70	
0,79		1,07		2,55		2,67	
0,775		1,06		2,61		2,66	
0,735		1,03		2,57		2,65	
0,698		0,991		2,54		2,62	
0,700		0,986		2,51		2,64	
0,703		1,02		2,52		2,56	
0,708		0,959		2,51		2,53	
0,673		0,978		2,55		2,51	
0,614		0,900		2,40		2,57	
0,622		0,914		2,42		2,50	
0,603		0,832		2,44		2,45	
0,573		0,857		2,39		2,51	
0,561		0,857		2,39		2,40	
<b>Média</b>	<b>RSD %</b>	<b>Média</b>	<b>RSD %</b>	<b>Média</b>	<b>RSD %</b>	<b>Média</b>	<b>RSD %</b>
<b>0,689</b>	<b>11,4</b>	<b>0,970</b>	<b>8,25</b>	<b>2,50</b>	<b>2,92</b>	<b>2,57</b>	<b>3,42</b>

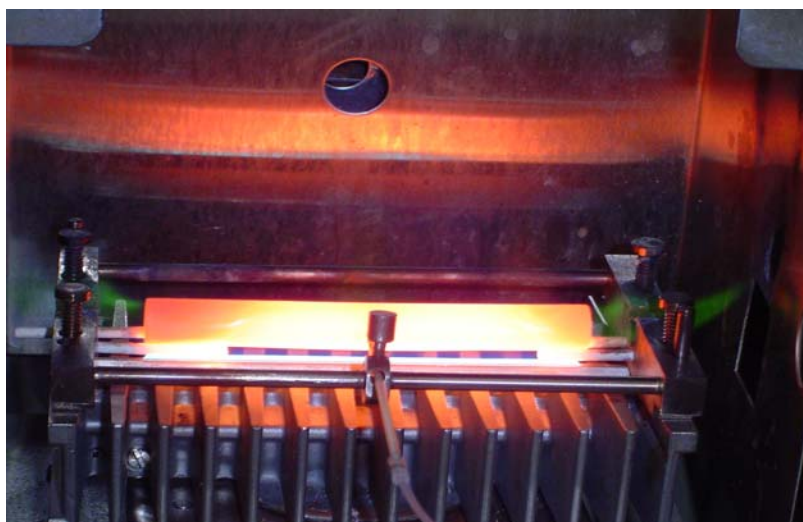
É possível observar que apesar dos valores obtidos para o branco analítico serem elevados, os desvios resultantes são aceitáveis. Observa-se ainda que os sinais medidos usando o tubo com maior orifício foram maiores, porém, o desvio padrão relativo foi menor.

### 6.3.2 Efeito da configuração do tubo atomizador

Como já discutido anteriormente, a determinação de elementos voláteis como Cd e Hg pode ser feita com um tubo contendo apenas a abertura para a

introdução do capilar cerâmico. Entretanto, a determinação de elementos mais refratários por TS-FF-AAS é dificultada principalmente pela baixa temperatura no interior do tubo atomizador. Uma alternativa para solucionar esse problema foi a abertura de 6 pequenos furos de 2 mm de diâmetro cada um, na parte inferior do tubo que melhorou o sinal analítico para o Cu.<sup>21</sup>

Visando aumentar ainda mais a temperatura no interior do tubo, testou-se um outro tubo com um maior orifício (5,2 × 0,3 cm) para a entrada da chama (Fig. 4.3.1). Um experimento foi realizado para verificar a penetração da chama no tubo com maior orifício. Para isso, observaram-se a mudança de coloração provocada pela introdução de uma solução de Cu (II) 1,0 g/L no sistema TS-FF-AAS (Fig 6.3.1). A coloração verde característica do Cu se deve à emissão atômica no comprimento de onda de 510,6 nm.



**Figura 6.3.1** Tubo com maior orifício posicionado sobre o queimador mostrando as bordas da chama saindo pelas extremidades do tubo. Coloração provocada por uma solução de 1,0 g/L de Cu (II).

Verifica-se que a chama penetra no interior do tubo e sai pelas extremidades; o mesmo efeito ocorre para o tubo com 6 furos, porém com menor intensidade. Isso pode provocar o aumento da temperatura no interior do tubo. Em um

teste indireto, a temperatura na parede externa dos dois tubos foi medida com o auxílio de um termopar. Na altura de 0,3 cm acima da base do queimador, com uma chama composta por vazões de 13,5 L/min de ar e 2,0 L/min de C<sub>2</sub>H<sub>2</sub> verificou-se uma temperatura de 1163°C para o tubo com maior orifício. O tubo convencional, apresentou uma temperatura de 1045°C. Presume-se então que a temperatura no interior do tubo com maior orifício também seja maior.

Para verificar o sinal analítico e se possível solucionar a dificuldade de utilizar um tubo de Ni para determinar o mesmo elemento, foi testado um tubo feito com uma liga de ferro, também contendo 6 furos na parte inferior. Os resultados obtidos para os diferentes tubos, introduzido-se 100 µg/L de Ni em solução ácida e em água estão apresentados na Tabela 6.3.2

**Tabela 6.3.2** Valores de absorbâncias integradas líquidas obtidas com o estudo de diferentes tubos atomizadores em meio ácido e em água (média, n = 2).

Tubo com maior orifício (Ni)				Tubo convencional (Ni)				Tubo de ferro			
H <sub>2</sub> O	RSD %	HNO <sub>3</sub>	RSD %	H <sub>2</sub> O	RSD %	HNO <sub>3</sub>	RSD %	H <sub>2</sub> O	RSD %	HNO <sub>3</sub>	RSD %
0,066	8,6	0,076	1,8	0,15	1,8	0	0	0,012	11,4	0,005	18,7

Pode-se notar que para o tubo de ferro, obtiveram-se sinais analíticos baixos e desvios elevados, isso pode ser explicado pela provável formação de óxidos de ferro, sendo esse um importante interferente na determinação de Ni por espectrometria de absorção atômica.<sup>2,9</sup> Além disso, é provável que a temperatura atingida no interior do tubo de ferro seja menor que a atingida no tubo de Ni, uma vez que a calor específico do ferro a 100 K é 0,216 J/g.K enquanto que o Ni é de 0,232 J/g.K na mesma temperatura.<sup>87</sup> Além disso, a condutividade térmica do Fe (80,2 W/m.K) também é menor que a do Ni (90,7 W/m.K).

Em relação aos tubos de Ni, observa-se que os menores desvios e o melhor sinal analítico em meio aquoso foram obtidos com o tubo convencional, porém, o baixo desempenho em meio ácido favoreceu a escolha pelo tubo com maior abertura. Esse comportamento pode ser explicado pela configuração de cada tubo. No tubo convencional, os menores desvios e melhor sinal analítico em meio aquoso pode ser uma consequência do menor espalhamento da nuvem atômica. Já em meio ácido, o





### 6.3.4 Estudo do tipo de complexante

Os agentes quelantes escolhidos para a tentativa de melhor complexação do Ni foram a difenilditiocarbazona (ditizona) e o pirrolidinaditiocarbamato de amônio (APDC). As Tabelas 6.3.3 e 6.3.4 contêm os sinais analíticos obtidos para as diferentes combinações das concentrações de complexante e surfactante para o APDC e a ditizona, respectivamente. As concentrações utilizadas foram as mesmas estudadas por DONATI<sup>86</sup> para o elemento cobalto.

**Tabela 6.3.3** Valores médios de absorvância integrada (n = 2) obtidos usando diferentes combinações entre as concentrações de APDC e Triton X-114 para a pré concentração de 100 µg/L (ou 1,70 µmol/L) de Ni (II)

Concentração de APDC (mol/L)	Concentração de Triton X-114 (mol/L)	Absorvância integrada (s)	Desvio Padrão
<b>1,6.10<sup>-6</sup></b>	<b>3,95.10<sup>-3</sup></b>	<b>1,24</b>	<b>± 0,086</b>
1,6.10 <sup>-6</sup>	7,58.10 <sup>-3</sup>	1,13	± 0,117
3,0.10 <sup>-3</sup>	3,79.10 <sup>-3</sup>	0,992	± 0,001
3,0.10 <sup>-3</sup>	7,30.10 <sup>-3</sup>	0,940	± 0,017

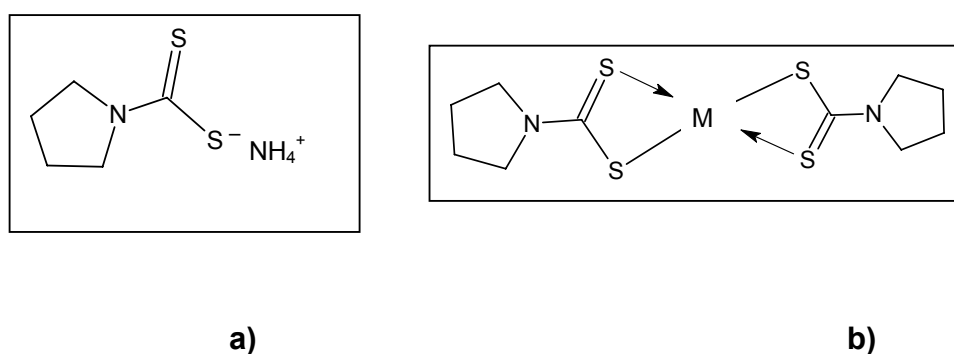
**Tabela 6.3.4** Valores médios de absorvância integrada (n = 2) obtidos usando diferentes combinações entre as concentrações de ditizona e Triton X-114 para a pré concentração de 100 µg/L de Ni (II)

Concentração de ditizona (mol/L)	Concentração de Triton X-114 (mol/L)	Absorvância integrada (s)	Desvio Padrão
<b>4,2.10<sup>-4</sup></b>	<b>5,26.10<sup>-3</sup></b>	<b>1,27</b>	<b>± 0,159</b>
4,06.10 <sup>-4</sup>	6,56.10 <sup>-2</sup>	1,05	± 0,177
8,06.10 <sup>-4</sup>	4,06.10 <sup>-2</sup>	1,19	± 0,068
7,81.10 <sup>-4</sup>	5,27.10 <sup>-2</sup>	1,11	± 0,001

Pode-se observar que os melhores resultados foram obtidos quando se utilizaram as menores concentrações tanto de complexante quanto de surfactante. Isso porque quando elevadas concentrações de complexantes são utilizadas pode ocorrer uma competição entre as moléculas do complexante e as do complexo metálico pelo sítio da micela, diminuindo assim, a eficiência de extração e, conseqüentemente, o sinal analítico. Elevadas concentrações de surfactante também afetam negativamente o sinal analítico devido ao aumento do volume final da fase rica (o qual depende diretamente do volume de surfactante utilizado), diminuindo o fator de pré-concentração.

O complexante ditizona gerou sinais analíticos ligeiramente maiores, porém também resultou em maiores desvios. Isso pode ser explicado pela baixa solubilidade do complexante em água, que mesmo na presença de um surfactante (o sólido foi dissolvido em uma solução de 1% v/v de Triton X-114) apresentou uma solução contendo corpo de fundo. Dessa forma, devido aos sinais obtidos em meio contendo APDC, que foi aproximadamente igual ao apresentado pela ditizona, aos baixos desvios e a boa solubilidade em água, esse complexante foi escolhido para os estudos subseqüentes.

A Figura 6.3.3 mostra a fórmula estrutural do APDC e um complexo organometálico genérico formado.



**Figura 6.3.3** Pirrolidinaditiocarbamato de amônio (APDC). **(a)** Fórmula estrutural. **(b)** Fórmula estrutural genérica dos complexos organometálicos. M = íon metálico

### 6.3.5 Efeito do pH de complexação

Segundo UENO *et al.*<sup>88</sup> o APDC complexa o íon Ni(II) em pH's de 3 a 7. GIOKAS *et al.*<sup>84</sup> obtiveram melhores resultados nos pH's 4,5 e 8. Esses dois pHs foram testados com o objetivo de obter o maior sinal analítico possível. Os resultados estão apresentados na Tabela 6.3.5.

**Tabela 6.3.5** Absorbâncias integradas obtidas no estudo do pH de complexação do Ni (II) com o APDC (valores médios, n = 3)

Complexante	Surfactante	pH = 4,5		pH = 8	
		Absorbância	Desvio	Absorbância	Desvio
APDC (mol/L)	Triton X-114 (mol/L)				
<b>1,6.10<sup>-6</sup></b>	<b>3,95.10<sup>-3</sup></b>	<b>1,10</b>	<b>± 0,006</b>	0,215	± 0,177
3,0.10 <sup>-3</sup>	3,79.10 <sup>-3</sup>	0,63	± 0,035	0,222	± 0,191
1,6.10 <sup>-6</sup>	3,79.10 <sup>-3</sup>	0,52	± 0,212	0,119	± 0,068
3,0.10 <sup>-3</sup>	7,3.10 <sup>-3</sup>	0,36	± 0,028	0,0	0,0

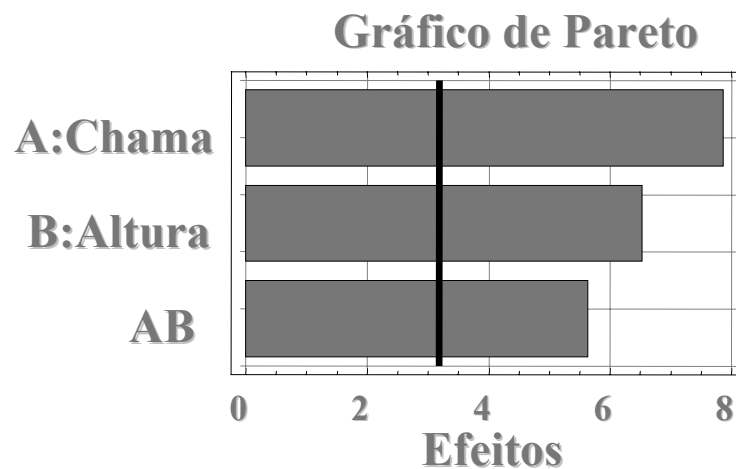
Pode-se observar que os melhores resultados foram obtidos quando menores concentrações de complexante e surfactante foram combinadas em pH = 4,5. Dessa forma, as condições otimizadas para a formação do ponto nuvem foram: 10 mL de uma solução 100 µg/L de Ni (II); 1,0 mL da solução tampão (acetato de sódio e ácido acético, pH = 4,5); 0,5 mL de APDC-0,6 % m/v (1,6.10<sup>-6</sup> mol/L) e 0,5 mL de Triton X-114-5% v/v (3,95.10<sup>-3</sup> mol/L).

### 6.3.6 Estudo dos parâmetros de operação do sistema TS-FF-AAS

Como alguns parâmetros instrumentais poderiam influenciar drasticamente o sinal analítico do Ni, otimizaram-se essas condições buscando obter o maior sinal analítico possível:

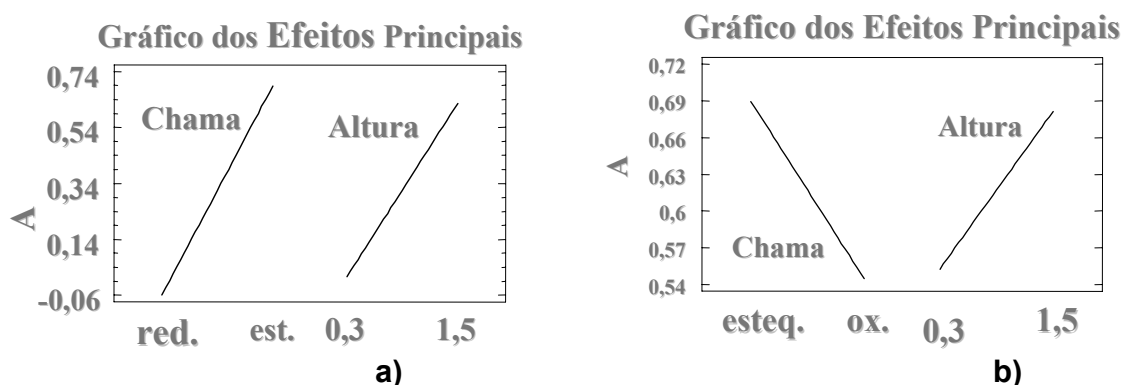
- *Estudo da composição da chama e altura de observação*

A temperatura no interior do tubo atomizador é um parâmetro importante principalmente para os elementos mais refratários como o Ni. Por esse motivo, foi realizado um procedimento experimental para que fossem avaliados os efeitos da composição da chama e da posição do tubo atomizador sobre o sinal analítico. A Figura 6.3.4 mostra o gráfico de Pareto para essas duas variáveis. Observa-se que ambas exerceram efeito significativo (com 95% de confiança) sobre o sinal da absorvância integrada.



**Figura 6.3.4** Gráfico de Pareto mostrando os efeitos das variáveis e dos seus efeitos sobre o sinal analítico.

A Figura 6.3.5 mostra a maneira como essas duas variáveis interferiram no processo de atomização do Ni.



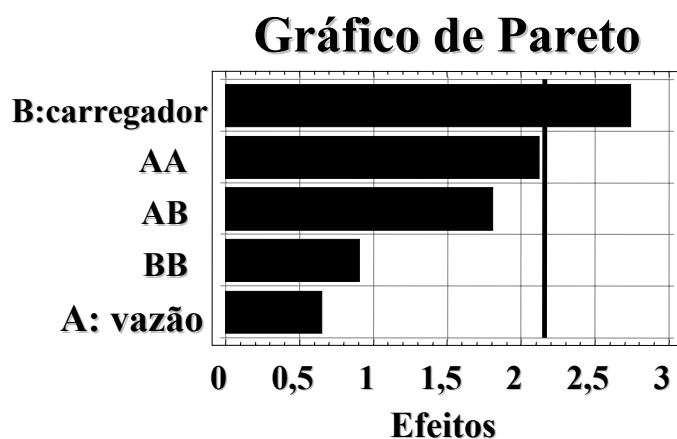
**Figura 6.3.5 a)** Gráfico dos efeitos principais para a composição da chama (reduzora e estequiométrica) e a altura de observação. **b)** Composição da chama (estequiométrica e oxidante) juntamente com a altura de observação.

É possível observar que a chama estequiométrica (recomendada pelo manual do equipamento) junto com a altura de observação de 1,5 cm provocaram um aumento do sinal analítico, isso porque nessa composição e altura de observação, a temperatura da chama é maior, tornando-se então, mais adequada para promoção dos processos de atomização do Ni. Nessas condições, a temperatura medida foi de 1089 °C, sendo que para a chama oxidante, a temperatura foi de 1046 °C, quando o ar foi usado como carregador. Portanto, a chama estequiométrica e a altura de 1,5 cm acima da base do queimador foram adotadas para os estudos posteriores.

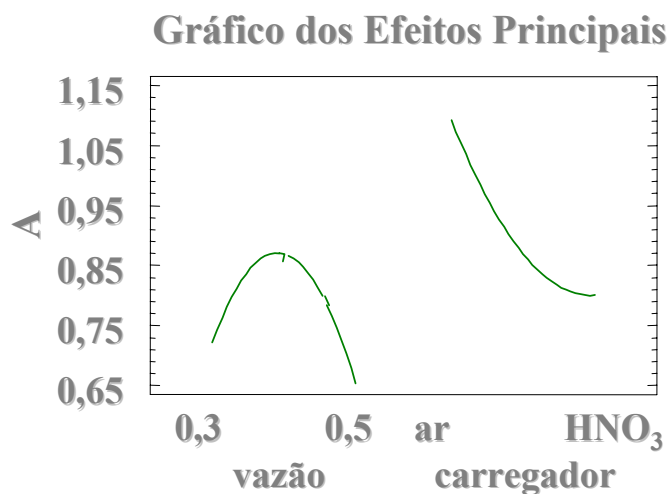
#### *- Efeito da vazão e do tipo de carregador*

A vazão e o tipo de carregador estão intimamente relacionados a vários fatores como eficiência de nebulização, efeitos de memória, tempo de residência, frequência de amostragem, etc, sendo que os efeitos de uma vazão maior ou menor, já foram discutidos na Seção 6.1.3. Por isso torna-se necessário avaliar os efeitos causados por esses parâmetros na determinação de níquel. Para esse elemento foram verificados 3 tipos de carregador: água, ar e HNO<sub>3</sub> diluído (0,14 mol/L) e 3 vazões diferentes: 0,30; 0,40 e 0,50 mL/min. Soluções de 100 µg/L de Ni (II) foram submetidas

à pré-concentração e o Ni foi determinado por TS-FF-AAS. As Figuras 6.3.6 e 6.3.7 ilustram os resultados.



**Figura 6.3.6** Gráfico de Pareto mostrando os efeitos das variáveis tipo de carregador e vazão.



**Figura 6.3.7** Gráfico dos efeitos principais para as variáveis vazão e tipo de carregador.

Pode-se observar que apenas o carregador (B) apresentou influência significativa (95% de confiança) no sinal analítico do Ni. A vazão (A) e a interação entre vazão e carregador (AB), não influenciaram significativamente na faixa estudada. As interações AA e BB não possuem significado experimental.

Avaliando-se o gráfico dos efeitos principais (Fig. 6.3.7), nota-se que o maior sinal analítico foi obtido com o carregador ar. Esse fator pode ser facilmente compreendido, uma vez que o ar não causa resfriamento da chama, como acontece quando carregador líquido é empregado. Dessa maneira, os processos de volatilização, dissociação e atomização do Ni são facilitados.

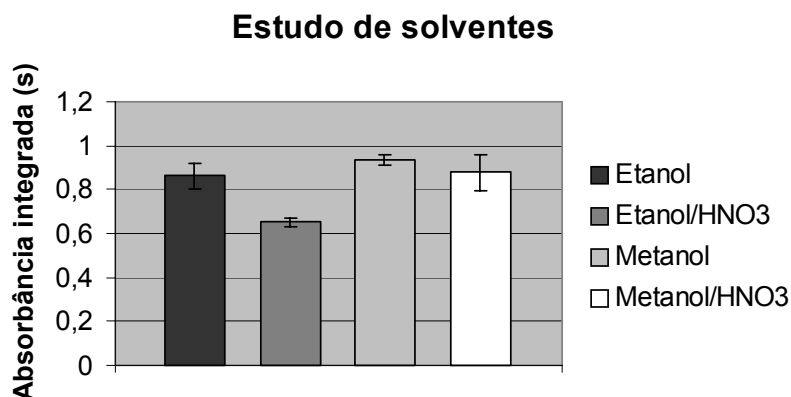
Apesar do gráfico de Pareto ter indicado que a vazão não influenciou significativamente o sinal analítico, observa-se no segundo gráfico que a vazão de 0,4 ml/min (ponto central) apresentou um maior sinal de absorvância integrada, portanto, essa condição foi adotada nos demais estudos.

### **6.3.7 Efeito do solvente de diluição da fase rica**

A fase rica (contendo o complexo metálico) apresenta alta viscosidade e por isso não pode ser diretamente introduzida em um nebulizador pneumático. Dessa forma, deve ser diluída com solventes orgânicos ou água para reduzir a viscosidade, o que pode prejudicar antecipadamente o fator de pré-concentração.<sup>65</sup>

Solventes orgânicos, apresentam moléculas de baixa polaridade e, conseqüentemente, baixa tensão superficial, o que pode originar aerossóis com gotas menores, implicando em partículas menores do analito e maior facilidade de dissociação e atomização.<sup>89</sup>

Visando encontrar um diluente que proporcionasse maior sinal de absorvância integrada, foram avaliados dois solventes orgânicos (etanol e metanol) e a mistura desses com ácido nítrico (5 mol/L). A Figura 6.3.8 mostra os resultados obtidos.



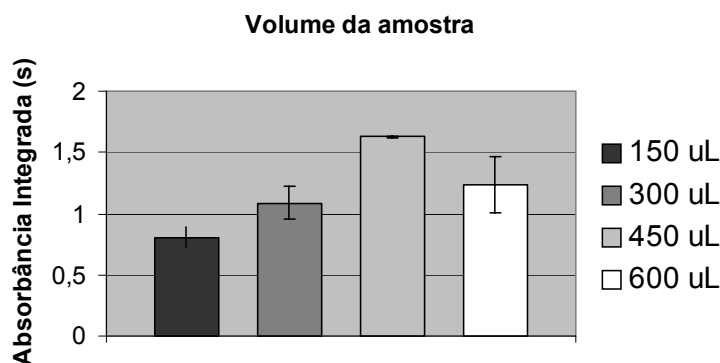
**Figura 6.3.8** Efeito dos solventes de diluição da fase rica sobre o sinal analítico (valores médios,  $n = 2$ , com as respectivas indicações de desvio padrão)

Observa-se que o metanol proporcionou um sinal analítico ligeiramente maior e a mistura de etanol e ácido nítrico, o pior. O fato do metanol ter sido o melhor solvente, pode ser explicado devido a sua maior volatilidade, o que facilitou a atomização do elemento. O metanol apresenta calor de vaporização de 9,1 kcal/mol e ponto de ebulição de 64°C e o etanol apresenta calor de vaporização de 10,2 kcal/mol e um ponto de ebulição de 78°C. Entretanto, o metanol não foi escolhido para dar continuidade aos estudos devido à sua alta toxicidade.<sup>90</sup> Como o etanol apresentou um sinal estatisticamente igual ao obtido pelo metanol e é um solvente menos tóxico, foi adotado para os estudos posteriores. A mistura de ácido com os solventes orgânicos não proporcionou bons resultados, isso pode ser explicado, pois muitas vezes, a elevada acidez pode causar a destruição do complexo metálico, diminuindo o sinal analítico.

### 6.3.8 Efeito do volume da amostra

Para avaliar os efeitos do volume da amostra sobre o sinal analítico do Ni, alças de amostragens com volumes de 150, 300, 450 e 600  $\mu\text{L}$  foram empregadas. A alça de 900  $\mu\text{L}$  não foi utilizada devido a baixa frequência de amostragem e já havia sido descartada no estudo do selênio. A solução usada nesse estudo foi de 100  $\mu\text{L}$  de Ni (II), pré-concentrada conforme as otimizações descritas. Os resultados estão apresentados na Figura 6.3.9.





**Figura 6.3.9** Efeito do volume da amostra sobre o sinal analítico do Ni por TS-FF-AAS

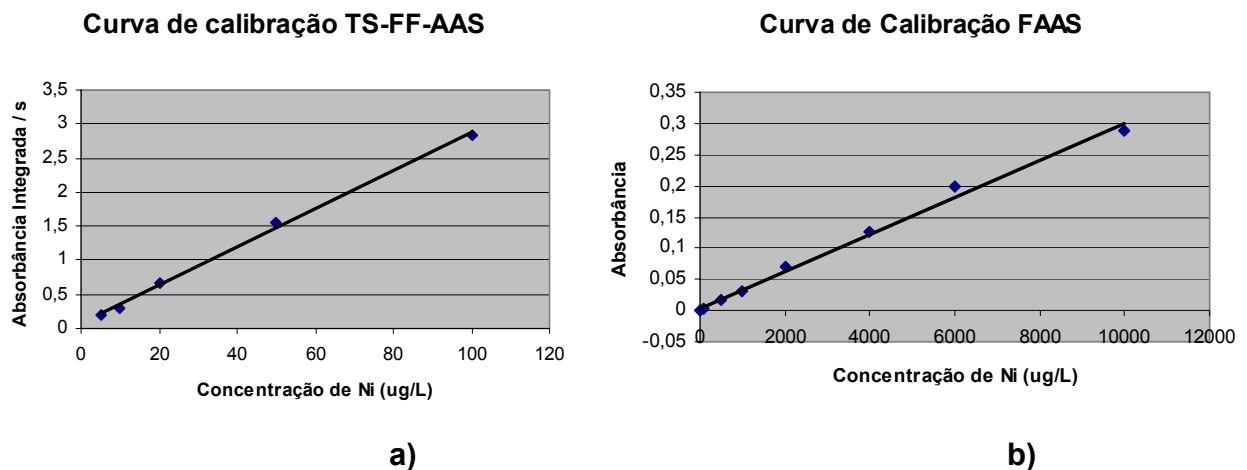
É possível observar que a injeção de 450  $\mu\text{L}$  proporcionou o melhor sinal de absorbância integrada. Nesse caso, não houve um aumento contínuo no sinal conforme volumes maiores foram sendo inseridos, como ocorreu para o Se. Isso pode ser explicado pelo fato de que quanto maior o volume a ser introduzido, maior também, é o volume de solvente que deve ser utilizado na diluição da fase rica, o que proporciona uma diminuição do fator de pré-concentração, e conseqüentemente, do sinal analítico. Além disso, a redução da temperatura no interior do tubo atomizador devido ao calor absorvido nos processos de vaporização, dissociação e atomização é intensificada quando um maior volume de amostra é introduzido, o que provoca menor eficiência de atomização.

### 6.3.9 Figuras de Mérito

Da mesma forma que para os demais elementos, foram determinadas as figuras de mérito para o Ni, utilizando as condições otimizadas. Visando comparação de desempenho, determinaram-se as mesmas características analíticas para FAAS convencional (em meio de  $\text{HNO}_3$  0,14 mol/L). A Tabela 6.3.6 contém os resultados e a Figura 6.3.10 apresenta as respectivas curvas de calibração.

**Tabela 6.3.6** Comparação entre as características analíticas obtidas por FAAS e por TS-FF-AAS

Figura de Mérito	TS-FF-AAS	FAAS
Faixa Linear ( $\mu\text{g/L}$ )	5 - 100	100-10.000
Equação da Reta	$A = 2,81 \cdot 10^{-2} C_{\text{Ni}} + 7,2 \cdot 10^{-2}$	$A = 3 \cdot 10^{-5} C_{\text{Ni}} + 4,3 \cdot 10^{-3}$
LOD ( $\mu\text{g/L}$ )	4,87	88,2
LOQ ( $\mu\text{g/L}$ )	16,2	294
$R^2$	0,998	0,996

**Figura 6.3.10** Curvas de calibração obtidas para o Ni a) TS-FF-AAS b) FAAS

Observa-se que a curva de calibração analítica obtida por TS-FF-AAS apresentou boa linearidade e o limite de detecção obtido foi 18 vezes melhor que o apresentado por FAAS convencional.

O critério adotado para designar a faixa linear de todas as curvas analíticas de calibração por TS-FF-AAS foi o coeficiente de correlação linear maior ou igual a 0,998.

### 6.3.10 Efeito causado por concomitantes

Para avaliar o efeito de alguns elementos como supostos concomitantes no sinal analítico do Ni(II), preparou-se uma solução simulando a matriz de um material

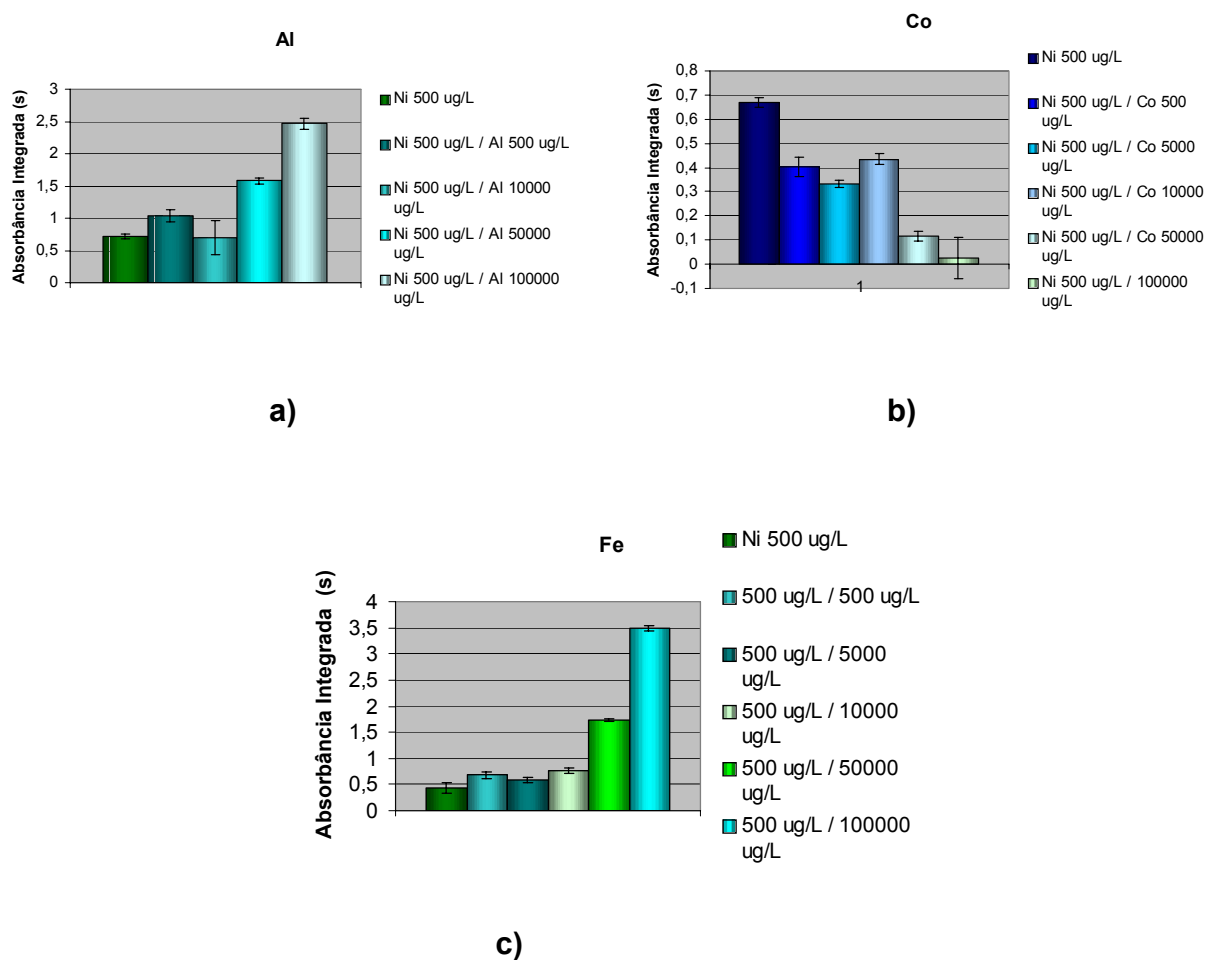
de referência certificado de espinafre. Os elementos escolhidos para o estudo foram Al(III), Fe (III) e Co(II) presentes na amostra de espinafre e em outros alimentos.

Esses elementos foram escolhidos para o estudo por reagirem com o APDC, podendo interferir na etapa de pré-concentração e na determinação do analito pela técnica proposta. Elementos geralmente encontrados em altas concentrações como Ca, K, Mg e Na não foram estudados devido à pequena reatividade com o APDC e, portanto permanecem na fase pobre durante a etapa de pré-concentração e extração no ponto nuvem, e portanto, não interferem no sinal analítico.<sup>91,92</sup>

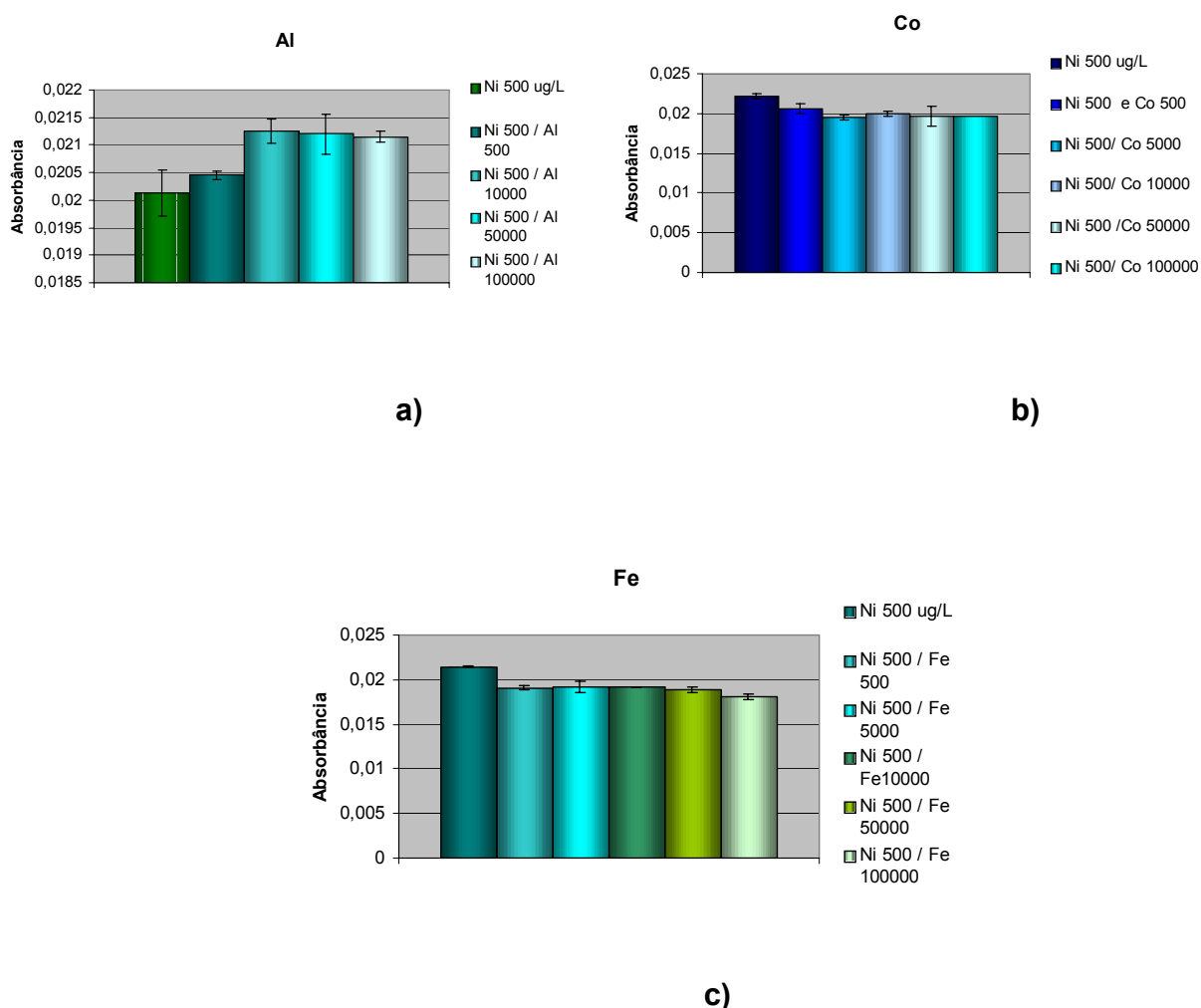
Durante a tentativa de pré-concentração do Ni(II) com os supostos concomitantes, houve a formação de um precipitado escuro formado pela reação ocorrida entre o Fe(III) e o APDC. Essa solução não foi introduzida no sistema TS-FF-AAS pois poderia causar o entupimento da tubulação e do capilar cerâmico.

Visando evitar maiores problemas, os supostos concomitantes foram avaliados separadamente em meio de HNO<sub>3</sub> 0,14 mol/L. Para esse estudo, fixou-se a concentração de Ni(II) em 500 µg/L e aumentou-se a concentração dos concomitantes em um fator de 200 vezes.

As soluções também foram medidas por FAAS e TS-FF-AAS. Os resultados estão apresentados nas figuras 6.3.11 e 6.3.12.



**Figura 6.3.11** Efeito de alguns concomitantes sobre o sinal analítico do Ni (II) **a)** Al<sup>3+</sup> **b)** Co<sup>2+</sup> e **c)** Fe<sup>3+</sup> medidos por TS-FF-AAS (valores médios e desvios padrão, n = 3).



**Figura 6.3.12** Efeito de alguns concomitantes sobre o sinal analítico do Ni (II) **a)** Al<sup>3+</sup> **b)** Co<sup>2+</sup> e **c)** Fe<sup>3+</sup> medidos por FAAS (valores médios e desvios padrão, n = 3).

É possível notar uma diferença na influência dos concomitantes quando os dois métodos são comparados. Apenas o Al(III) se comportou da mesma maneira nas duas técnicas, causando uma interferência positiva. O Fe(III) e o Co(II), se comportaram de maneiras diferentes. Para a técnica de TS-FF-AAS, o Fe(III) causou interferência positiva conforme sua concentração foi sendo aumentada e o Co se mostrou como uma interferência negativa. Já por FAAS, esses dois elementos causaram uma pequena influência negativa.

### **6.3.11 Avaliação da aplicação da técnica de TS-FF-AAS para a determinação de Ni**

#### **6.3.11.1 Avaliação da determinação de níquel em material de referência certificado usando HCl (1 mol/L) como solução extratora e posterior pré-concentração e extração no ponto nuvem**

O trabalho com amostras digeridas seria dificultado pela presença dos concomitantes em altas concentrações. O procedimento de extração com ácido clorídrico (1,0 mol/L) foi testado, uma vez que esse procedimento não extrai os íons trivalentes. Dessa maneira, não haveria problemas de interferências causadas por Al(III) e Fe(III). O Co(II) seria extraído mas não afetaria o sinal analítico pois se apresenta em pequenas concentrações nas amostras de alimentos e plantas.

Não foi possível a determinação de Ni usando a extração ácida seguida de pré-concentração e extração no ponto nuvem, uma vez que houve uma alta variabilidade nas medidas. Isso pode ter ocorrido devido ao elevado volume de NH<sub>4</sub>OH adicionado à amostra e à curva de calibração, visando elevar o pH para 4,5 (pH ótimo de complexação).

#### **6.3.13 Avaliação da determinação de Ni usando fluoreto como agente mascarante dos concomitantes**

Baseado nas constantes de formação (Fig. 6.3.13) dos complexos formados pelo fluoreto com Al(III) e Fe(III),  $4,67 \cdot 10^{20}$  e  $1,25 \cdot 10^{16}$  para os complexos formados com seis íons fluoreto, respectivamente, que são os concomitantes mais problemáticos do Ni, foram realizados vários testes adicionando fluoreto em soluções contendo 100 µg/L de Ni(II). Em seguida, aplicavam-se os procedimentos de pré-concentração e extração no ponto nuvem. A Tabela 6.3.7 apresenta os resultados obtidos.

**Tabela 6.3.7** Experimentos realizados utilizando fluoreto como mascarante e os respectivos valores de absorvância integrada (pH = 4,5)

<b>Experimentos</b>	<b>Absorbância integrada (s)</b>
Ni(II)100 µg/L	0,39 ± 0,012
Ni(II)100 µg/L; Al(III) 10 mg/L e F <sup>-</sup> 100 mg/L	0,35 ± 0,012
Ni(II)100 µg/L e F <sup>-</sup> 100 mg/L	0,36 ± 0,095
Ni(II)100 µg/L; Al(III) 10 mg/L; Fe(III)10mg/L e F <sup>-</sup> 200 mg/L	0,42 ± 0,085

É possível observar que usando-se fluoreto como complexante, não houve diferenças significativas entre os sinais analíticos, na presença dos concomitantes, para uma solução contendo apenas Ni(II), mostrando que poderia ser possível aplicar o procedimento desenvolvido para digeridos que contêm esses concomitantes presentes em elevadas concentrações.





# Conclusão

---

## **Capítulo 7**

## 7. Conclusões

O sistema TS-FF-AAS apresentado neste trabalho, oferece vantagens importantes em relação à FAAS (aumento da sensibilidade) e ETAAS (baixo custo). É um método eficiente, que mantém a simplicidade da FAAS, mas aumenta seu poder de detecção através de dispositivos simples.

O selênio pode ser detectado empregando-se o sistema proposto, apesar dos problemas existentes para sua determinação por FAAS, causados principalmente pelo baixo comprimento de onda no qual esse elemento absorve com maior sensibilidade (196 nm) e também pela baixa concentração de Se geralmente presente nas amostras.

As etapas de otimização dos parâmetros de operação dos sistema foram cruciais na melhoria da sensibilidade analítica. A combinação entre a chama oxidante, a altura de observação de 1,5 cm e a água como carregador, proporcionaram um ambiente adequado aos processos de volatilização e atomização do analito. Foi observado que quanto maior o volume da amostra utilizado, maior o sinal analítico obtido, entretanto, optou-se por inserir um volume de 600  $\mu$ L de amostra para que a frequência de amostragem não fosse extremamente prejudicada e que desvios elevados não ocorressem.

O sistema TS-FF-AAS nas condições otimizadas, proporcionou um limite de detecção 95 vezes mais sensível que o apresentado por FAAS, o que possibilitou a determinação do elemento nas amostras biológicas com boa exatidão. O uso do método das adições de padrão foi necessário, uma vez que a matriz das amostras afeta a seletividade do procedimento.

Como foi verificado que a acidez elevada prejudicaria os processos de volatilização e atomização do Se, as amostras foram digeridas com ácido nítrico diluído. Esse preparo da amostra possibilita um menor consumo de reagentes e, conseqüentemente, um custo reduzido, além de proporcionar menores riscos ao ambiente e ao analista.

A TS-FF-AAS se mostrou como uma técnica alternativa à determinação de Se, uma vez que esse elemento é geralmente detectado por técnicas mais sensíveis como ETAAS e HGAAS, que apresentam custos mais elevados.

Para o Rb, o sistema TS-FF-AAS também apresentou melhoria de sensibilidade, embora esse elemento não apresente grandes dificuldades para ser determinado por FAAS. O limite de detecção obtido pelo sistema proposto, considerando as condições otimizadas, foi de 2,65 µg/L, enquanto que o apresentado por FAAS foi de 97,5 µg/L. Os estudos para esse elemento não tiveram continuidade devido aos problemas apresentados pela lâmpada de cátodo oco.

Para o níquel, inicialmente, vários estudos foram efetuados, uma vez que o tubo atomizador também era constituído do mesmo elemento, o que não impediu a continuidade do trabalho, já que os sinais de branco analítico eram elevados, mas apresentavam boa repetibilidade e reprodutibilidade.

Por ser um elemento refratário, o níquel necessitou de condições especiais para ser atomizado, uma vez que a temperatura no interior do tubo atomizador era menor que a da chama. O método escolhido foi a pré-concentração e a extração no ponto nuvem, sendo que o APDC se mostrou como o complexante mais adequado para tal procedimento.

A chama recomendada pelo manual do equipamento, o ar como carregador e a altura de observação de 1,5 cm proporcionaram um ambiente com uma temperatura mais elevada, o que favoreceu os processos de dissociação e atomização do analito. As eficiências de transporte, nebulização e atomização também foram aumentadas com o uso de um solvente orgânico, pois a menor tensão superficial, maior volatilidade e a formação de espécies redutoras após a combustão colaboraram para o aumento do sinal analítico do Ni. O etanol foi escolhido devido à sua menor toxicidade.

O volume de amostra inserido foi de 450 µL, uma vez que um volume maior causou a perda de sensibilidade, devido ao menor fator de pré-concentração e ao maior resfriamento do tubo atomizador.

As combinações entre o pré-tratamento da amostra e a detecção por TS-FF-AAS utilizando um tubo de Ni com maior orifício e as condições ótimas de operação, proporcionaram um limite de detecção de 4,87 µg/L, enquanto que para a FAAS, o limite de detecção obtido sem pré-concentração foi de 88,2 µg/L.

A determinação de Ni nas amostras de interesse poderia ser impedida devido à presença de elevadas concentrações de concomitantes. No caso do Ni(II) e de outros íons divalentes, esse problema poderia ser superado pela aplicação de uma

extração ácida usando ácido clorídrico 1,0 mol/L, uma vez que os concomitantes trivalentes como Al(III) e Fe(III) não seriam extraídos. Esse método não foi efetivo devido à baixa repetibilidade de sinais observada.

Uma segunda tentativa foi de complexar os íons Al(III) e Fe(III) com uma solução de fluoreto, o que eliminou a interferência dos concomitantes. Os resultados preliminares indicaram que essa estratégia poderia ser aplicada em estudos futuros para a determinação de Ni por TS-FF-AAS.

# Referências Bibliográficas

---

## **Capítulo 8**

## 8. Referências Bibliográficas

1. KUBAN, P.; GUCHARDI, R. & HAUSER, P. C. "Trace-metal analysis with separation methods". *Tends Anal. Chem.* **24** (3):192, 2005.
2. WELZ, B. SPERLING, M., *Atomic Absorption Spectrometry*, 3<sup>a</sup> edição, VHC, Weinheim, 1999, p.149; 531; 544 e 547.
3. PEREIRA, M.G.; ARRUDA, M.A.Z. "Trends in preconcentration for metal determination using atomic spectrometry techniques". *Microchim. Acta*, **141**(3-4): 115, 2003.
4. BERNDT, H.; DAVIES, J. "Improvements in thermospray atomic absorption spectrometry". *Anal. Chim. Acta*, **479** (2): 215, 2003.
5. PEREIRA-FILHO, E. R.; BERNDT, H.; ARRUDA, M. A. Z. "Simultaneous sample digestion and determination of Cd, Cu and Pb in biological samples using thermospray flame furnace atomic absorption spectrometry (TS-FF-AAS) with slurry sample introduction". *J. Anal. At. Spectrom.*, **17** (10): 1308, 2002.
6. VANDERCASTEELE, C., BLOCK, C.B., *Modern Methods for Trace Element Determination*, John Wiley & Sons, Chichester, 1993, p.93.
7. HARRIS, D.C. *Análise Química Quantitativa*, Tradução de Carlos Alberto da Silva Riehl e Alcides Wagner Serpa Guarino, 5a ed.,1999, p. 529.
8. WALSH, A. "The applications of atomic absorption spectra to chemical analysis". *Spectrochim. Acta*, **7**: 108, 1955.
9. E WELZ, B., *Atomic Absorption Spectrometry*, 2<sup>o</sup> edição, VHC, Alemanha, 1985, p.306.
10. MATUSIEWICZ, H. "Atom trapping and in situ preconcentration techniques for flame atomic absorption spectrometry". *Spectrochim. Acta*, 52B (12): 1711, 1997.
11. HARNLY, J.M. "The future of absorption spectrometry: a continuum source with a charge coupled array detector, *J. Anal. At. Spectrom.*". **14** (2): 137, 1999.
12. HUANG, D.H., BECKER-ROSS H., FLOREK, S., HEITMANN, U., OKRUSS, M. "Direct determination of total sulfur in wine using a continuum source atomic-absorption spectrometry and an air-acetylene flame". *Anal. Bioanal. Chem.*, **382**:1877, 2005.

13. MARTÍN-ESTEBAN, A., GARCUNUNO, R.M., ANGELINO, S., FERNÁNDEZ, P., CÁMARA, C. "Determination of trace metals in waters and compost by on-line precipitation coupled to flame atomic absorption spectrophotometry or ion chromatography". *Talanta*, **48** (4): 959, 1999.
14. ALEIXO, P.C. *Determinação de Cádmio, Chumbo, Tálho e Zinco em Águas e Alimentos por Espectrometria de Absorção Atômica com Injeção de Amostra em Forno Aquecido por Chama (BIFF-AAS)*, São Carlos, Programa de Pós-Graduação em Química – UFSCar, Tese de Doutorado, 2005, 149p.
15. GÁSPÁR, A.; BERNDT, H. "Beam injection flame furnace atomic absorption spectrometry: A new flame method". *Anal. Chem.*, **72**: 240, 2000.
16. NEIRA, J.; BERNDT, H. "Determination of Cd and Pb at (g/L levels by HHPN- beam injection flame furnace AAS". *Fresenius J. Anal. Chem.*, **368** (7): 649, 2000.
17. GÁSPÁR, A.; BERNDT, H. "Beam-injection flame furnace atomic-absorption spectrometry (BIFF-AAS) with low-pressure sample-jet generation". *Anal. Bioanal. Chem.*, **372**: 695, 2002.
18. RATKA, A.; BERNDT, H. "Beam-injection flame furnace AAS: comparison of different nozzle types for beam generation and application of sub-critical liquid carbon dioxide as carrier and gas pressure pump". *Anal. Bioanal. Chem.*, **378**: 416, 2004.
19. ALEIXO, P.C.; SANTOS Jr.; D., TOMAZELLI, A.C.; RUFINI, I.A.; BERNDT, H.; KRUG, F.J. "Cadmium and lead determination in foods by beam injection flame furnace atomic absorption spectrometry after ultrasound-assisted sample preparation". *Anal. Chim. Acta*, **512** (2): 329, 2004.
20. VESTAL, M. L.; FERGUSON, G. "Thermospray liquid chromatography / mass spectrometer interface with direct electrical heating of the capillary". *Anal. Chem.* **57** (12): 2373, 1985.
21. GÁSPÁR, A.; BERNDT, H. "Thermospray flame furnace atomic absorption spectrometry (TS-FF-AAS), a simple method for trace element determination with microsamples in the ( $\mu\text{g/l}$ ) concentration range". *Spectrochim. Acta*, **55B** (6): 587, 2000.
22. NASCENTES C.C.; ARRUDA, M.A.Z.; NOGUEIRA, A.R.A.; NÓBREGA, J.A. "Direct determination of Cu e Zn in fruit juices and bovine milk by thermospray flame furnace atomic absorption spectrometry". *Talanta*, **64** (4): 912, 2004.

23. TARLEY, C.R.T.; ARRUDA, M.A.Z. "A sensitive method for cadmium determination using an on-line polyurethane foam preconcentration system and thermospray flame furnace atomic absorption spectrometry". *Anal. Sciences*, **20**: 961, 2004.
24. VILLAFRANCA, A.C., *Avaliação da espectrometria de absorção atômica com nebulização térmica em tubo aquecido em chama (TS-FF-AAS) para a determinação de Cf, Cu, Pb e Zn em álcool combustível e óleo diesel*. Araraquara, Instituto de Química, Universidade Estadual Paulista (UNESP), Tese de Doutorado, 2004, 141p.
25. LOBO, F. A. *Desenvolvimento de Sistemas de Injeção em Fluxo para a Determinação de Estanho por Espectrometria de Absorção Atômica com Forno Aquecido na Chama, em Amostras Alimentícias Enlatadas*. Araraquara, Instituto de Química, Dissertação de mestrado, Universidade Estadual Paulista (UNESP), 2005, 110 p.
26. NASCENTES, C.C.; KAMOGAWA, M.Y., FERNANDES, K.G., ARRUDA, M.A.Z., NOGUEIRA, A.R.A., NÓBREGA, J.A. "Direct determination of Cu, Mn, Pb e Zn in beer by thermospray flame furnace atomic absorption spectrometry". *Spectrochim. Acta*, **60B** (5): 749, 2005.
27. LEE, J.D., *Química Inorgânica não tão Concisa*, 5<sup>o</sup> edição, Inglaterra, 1996, p.139; 267 e 406.
28. ZINGARO, R.A. & COOPER, W. C., *Selenium*, New York, Van Nostrand Reinhold Company, 1974, cap. 1.
29. BARCELOUX, D.G. "Selenium". *J. Toxicol: Clin. Toxicol.*, v37: i2, 1999.
30. BRAVO, Y.M.; NAVARRO, R.F.R.; LÓPEZ, F.J. "Multielemental determination of arsenic, selenium and chromium (VI) species in water by high-performance liquid chromatography-inductively coupled plasma mass spectrometry". *Journal of Chromatography A*, 926, 2001.
31. SEILER, H.G., SIGEL, H., Sigel, A., *Handbook on Toxicities of Inorganic Compounds*, Marcel Dekker, New York, 1988, p.453 e 567.
32. ALEIXO, P.C.; NÓBREGA, J.A. "Direct determination of iron and selenium in bovine milk by graphite furnace atomic absorption spectrometry". *Food. Chem.*, **83** (3): 457, 2003.
33. WITNEY, E.N.; ROLFES, S.R., *Understanding Nutrition*, West Pub, Saint Paul, 1996. p. 80.



34. FOSTER, L.H. & SUMAR, S. "Selenium concentrations in soya based milks and infant formulae available in United Kingdom". *Food Chem.*, **56** (1): 93, 1996.
35. WHANGER, P.D., Selenium and relationship with cancer: an update, *Brit. Jour. of Nutrit.*, **91**, 2004, 36.
36. ALEIXO, P.C.; SANTOS, D.J.; MÜLLER, R.C.S.; NÓBREGA, J. A. "Determinação direta de selênio em água de coco e em leite de coco utilizando espectrometria de absorção atômica com atomização eletrotérmica em forno de grafite". *Quim. Nova*, **23** (3): 310, 2000.
37. LISK, D.J.; BACHE, C. A.; ESSICK, L.A.; REID, C. M.; RUTZKE, M.; CROWN, K., "Absorption and excretion of selenium and barium in humans from consumption of brazil nuts". *Nutrit. Rep. Internat.*, **38** (1): 183, 1988.
38. PARIZEK, J.; OSTALOVA, I. "The protective effect of small amounts of selenite in sublimate intoxication". *Experientia*, **23** (2): 142, 1967.
39. SUMIKO, K.; YAMAMOTO, R.; KITAMURA, S. "A role of selenium against methylmercury toxicity". *Nature*, **268**: 73, 1977.
40. GLYNN, A. W.; ILBACK, N. G.; BRABENCOVA, D.; CARLSSON, L.; ENQVIST, E. C.; NETZEL, E.; OSKARSSON, A. "Influence of sodium selenite on Hg-203 absorption, distribution and elimination in male-mouse exposed to methyl Hg-203". *Bio. Trace Elem. Res.*, **39**: 91, 1993.
41. TSALEV, D.L. *Atomic Absorption Spectrometry in Occupational and Environmental Health Practice*, volume II, CRC, 1995, p.163.
42. CONNOLLY, C.D.; POWER, R.F.; HYNES, M.J., Validation of method for total selenium determination in yeast by flame atomic absorption spectrometry, *Biol. Trace Element. Res.*, **100** (1): 87, 2004.
43. KOLBL, G. "Concepts for identification and determination of selenium compounds in the aquatic environment". *Mar. Chem.*, **48** (3-4): 185, 1995.
44. EMSLEY, J. *Nature's Building Blocks – An A-Z Guide to the Elements*, Oxford University Press, Oxford, 2001. p. 90.
45. GLENDENING, B.L.; SCHRENK, W.G.; PARRISH, D.B., *J. Nutr.*, **60**: 563, 1956. APUD REF. 31.

46. CHATTERJEE, G.C.; CATTERJEE, K.; CHATTERJEE, A.; BHATTACHARYYA, D., CHAKRABORTY, D., DAS, P.K., *Tox. Appl. Pharmacol.*, **51**: 47, 1979. APUD REF. 31.
47. SCHAEFER, S.G., FORTH, W., *Biol. Trace Elem. Res.*, **5** (3): 205, 1983. APUD REF. 31.
48. SCANCAR, J.; MILACIC, R.; BENEDIK, M.; BUKOVEC, P. "Optimization of parameters for determination of rubidium in spent CAPD fluids by flame and electrothermal absorption spectrometry". *J. Pharm. Biomed. Anal.*, **21**: 423, 1999.
49. KYHOLM, N.E.I.; TYLER, G. "Rubidium content of plants, fungi and animals closely reflects potassium and acidity condition of forest soil". *Forest Ecol. Manag.*, **134**: 89, 2000.
50. BARCELOUX, D.G. "Nickel". *J. Toxicol. : Clin. Toxicol.*, v37: i2, 1999, 239.
51. UTHUS, E.O.; SEABORN, C.D. "Deliberations and evaluations of the approaches, endpoints and paradigms for dietary recommendations of the other trace elements". *J Nutr.*, **126**: 2452S, 1996.
52. SAFAVI, A; ABDOLLAHI, H.; HORMOZI, M. R. N.; KAMALI, R. "Cloud point extraction, preconcentration and simultaneous spectrophotometric determination of nickel and cobalt in waters samples", *Spectrochim. Acta*, **60A**: 2897, 2004.
53. NIELSEN, F.H; MYRON, D.R; GIVAND, S.H,M; ZIMMERMAN, T.J; OLLERICH, D.A. "Nickel deficiency in rats"., *J. Nutr* , **105**: 1620, 1975.
54. HOPFER, S.M.; LINDEN, J.V.; CRISOSTOMO, M.C.; CATALANATO, F. A.; GALEN, M.; SUNDERMAN, F.W., Jr. *Trace Elem. Med.*, **2**: 1985, 68. APUD REF. 50.
55. CRESSER, M.S.; *Flame spectrometry in enviromental chemical analysis: A practical guide*, RSC Analytical Spectroscopy Monographs, Austrália, 1994, p.87.
56. CHEN, J.; TEO, K.C. "Determination of cobalt and nickel in water samples by flame atomic absorption spectrometry". *Anal. Chim. Acta*, **434** (2): 325, 2001.
57. WU, Y.; HU, B.; PENG, T.; Jiang, Z. "Low-temperature volatilization of Be acetylacetonato for sample introduction in ETV-ICP-AES", *Anal. Chim. Acta*, **439** (1): 153, 2001.
58. KAWAGUCHI, H.; SAKAMOTO, T.; MIZUIKE, A. "Emission spectrometry detection of metal chelates separated by gas chromatography". *Talanta*, **20** (3): 321, 1973.

59. CASTILLO, J.R.; DELFA, J.; MIR, J.M; BENDICHO, M.; LA GUARDIA, M.; MAURI, A.R.; MONGAY, C.; MARTINEZ, E." Volatilization of cobalt chelates for their direct introduction in the vapor-phase in flame atomic absorption spectrometry". *J. Anal. Atom. Spectrom.*, **5** (4): 325, 1990.
60. FIGUEIREDO, E.C.; ARRUDA, M. A.Z. "Acoplamento de atomizador Baseado em tubo de Ni à geração de hidretos (HG-FF-AAS)". Anais do 13º Encontro Nacional de Química Analítica, Niterói-RJ, H038, Setembro de 2005.
61. BEZERRA, M.A.; ARRUDA, M.A.Z.; FERREIRA, S.L.C. "Cloud point extraction as a procedure of separation and pre-concentration for metal determination using spectroanalytical techniques: A review". *Appl. Spectrosc. Reviews*, **40**: 269, 2005.
62. LENARDÃO, E. J.; FREITAG, R. A.; DABDOUB, M. J.; BATISTA, A. C. F.; SILVEIRA, C. C. "Green chemistry – os doze princípios da química verde e sua inserção nas atividades de ensino e pesquisa". *Quím. Nova*, **26** (1): 123, 2003.
63. ANASTAS, P. T. "Green chemistry and the role of analytical methodology developed". *Crit. Rev. Anal. Chem.*, **29**: 167, 1999.
64. MIURA, J.; ISHIT, H.; WATANABE, H., *BUNSEKI KAGALU*, **25**, 1976, 808.
65. PALEOLOGOS, E.K.; GIOKAS, D.L.; KARAYANNIS, M.I. "Micelle-mediated separation and cloud point extraction" *Trends Anal. Chem.*, **24** (5): 426, 2005.
66. MANIASSO, N. "Ambientes Micelares em Química Analítica". *Quím. Nova*, **24** (1): 87 2001.
67. PELIZZETTI, E.; PRAMAURO, E. "Analytical applications of organized molecular assemblies". *Anal. Chim. Acta*, **169**: 1. 1985.
68. SANZ-MEDEL, A.; CAMPA, M.R.F.; GONZALES, E.B.; FERNANDEZ-SANCHES, M.L. "Organised surfactant assemblies in analytical atomic spectrometry". *Spectrochim. Acta*, **54B** (2): 251, 1999.
69. ATTWOOD, D.; ELWORTHY, P.H.; KAYNE, S.B.; *J. Phys. Chem.*, **74**: 3529, 1970. APUD REF. 66.
70. KURZ, J.L. "Effects of micellization on the kinetics of the hydrolysis of monoalkyl sulfates". *J. Phys. Chem.*, **66** (10): 2239, 1962.
71. ANACKER, E.W, GEER, R.D.; EYLAR, E.H. "Dependence of micelle aggregation number on polar head structure I. light scattering by aqueous solutions of decylammonium salts and related surfactants". *J. Phys. Chem.*, **75**(3): 369, 1971.

72. FENDLER, E.J.; DAY, C.L.; FENDLER, J.H., *J. Phys. Chem.*, **76**: 4529, 1972. APUD REF. 66.
73. HINZE, W.L. *Solution Chemistry of Surfactantes*. Mittal, K.L., ed., Plenum Press, New York, 1979.
74. NASCENTES, C.C.; ARRUDA, M.A.Z. "Experimentos didáticos em química analítica envolvendo separação de fases e pré-concentração". *Quím. Nova*, **25** (3): 483, 2002.
75. PINTO, C.G.; PAVÓN, J.L.P.; CORDERO, B.M. "Cloud point preconcentration and high-performance liquid chromatography analysis with electrochemical detection" *Anal. Chem.*, **64** (20): 2334, 1992.
76. CASERO, I.; SICÍLIA, D; RUBIO, S.; PEREZ-BENDITO, D. "An acid-induced phase cloud point separation approach using anionic surfactants for the extraction and preconcentration of organic compounds". *Anal. Chem.*, **71** (20): 4519, 1999.
77. OLIVEROS, C.C.; BLAS, O.J.; PAVÓN, CORDERO, B.M. "Cloud Point preconcentration and flame atomic absorption spectrometry: application to the determination of nickel and zinc". *J. Anal. Atom. Spectrom.*, **13** (6): 547, 1998.
78. NETO, B.B.; SCARMÍNIO, I.S.; BRUNS, R.E.; "COMO FAZER EXPERIMENTOS, Pesquisa e Desenvolvimento na Ciência e na Indústria", Campinas, p. 5;85.
79. CAMACAM Industrial LTDA, Certificado de Qualidade.
80. CARUSO, J.A.; KANAMKUMARATH, S. S.; WROBEL, K.; VONDERHEIDE, A. "HPLC-ICP-MS determination of selenium and speciation in different types of nuts" *Anal. and Bioanal. Chem.*, **373** (6): 454, 2002.
81. ALEIXO, P. C. Determinação Direta de Fe e Se em Leite por Espectrometria de Absorção Atômica com Atomização Eletrotérmica em Forno de Grafite, São Carlos, Programa de Pós-Graduação em Química – UFSCar, Dissertação de Mestrado, Universidade Federal de São Carlos, 2000, 105 p.
82. SILVA, A.M.; FRESCURA, V. L. A.; CURTIUS, A.J. "Determination of trace elements in water samples by ultrasonic nebulization inductively coupled plasma mass spectrometry after cloud point extraction". *Spectrochim. Acta*, **55B** (7): 803, 2000.
83. ARAÚJO, G.C.L.; GONZALES, M.H.; NOGUEIRA, A.R.A.; NÓBREGA, J. A. "Effect of acid concentration on closed-vessel microwave-assisted digestion of plant materials". *Spectrochim. Acta*, **57B** (7): 2121, 2002.

84. GIOKAS, D.L.; PALEOLOGOS, E.K.; TZOUWARA-KARAYANNI, S.M.; KARAYANNIS, M.I. "Single-sample cloud point determination of iron, cobalt and nickel by flow injection analysis flame atomic absorption spectrometry-application to real samples and certified materials". *J. Anal. At. Spectrom.*, **16** (5): 521, 2001.
85. NOGUEIRA, A.R.A.; SOUZA, G.B.; BATISTA, L.A.R.; ARRUDA, M.A.Z.; MIYAZAWA, M. "Catalytic determination of cobalt by flow injection spectrophotometry: application in animal faeces analysis using hydrochloric acid as extracting solution", *Animal Feed Science and Technology*, **74**: 79, 1998.
86. DONATI, G. L., *Avaliação da Viabilidade da Determinação de Cobalto e Cromo em Alimentos por Espectrometria de Absorção Atômica com Forno Tubular na Chama e Aerossol Térmico (TS-FF-AAS)*, São Carlos, Programa de Pós-Graduação em Química, Dissertação de mestrado, 2006, 99 p.
87. KOTZ, J.C., TREICHEL, P. *Química e Reações Químicas*, 3ª edição, volume 2, Tradução de Horácio Macedo, Rio de Janeiro, 1996, A-3.
88. UENO, K.; IANAMURA, T.; CHENG, K.L. *Handbook of Organic Analytical Reagents*, 2ª edição, CRC Press, Boca Raton, 1992, 85.
89. STURGEON, R. E. & CHAKRABARTI, C. L. "Atomization of molybdenum in air-acetylene and nitrous oxide-acetylene flames". *Anal. Chem.*, **48** (4): 677, 1976.
90. LURIE, J. *Handbook of Analytical Chemistry*, 1ª edição, Moscou, Mir. Publisher, 1975, 293.
91. SKRZYDLEWSKA, E. "Toxicological and metabolic consequences of methanol poisoning". *Toxicol. Mechan. Methods*, **13** (4): 277, 2003.
92. NARIN, I. & SOYLAK, M. "Enrichment and determinations of nickel (II), cadmium (II), copper (II), cobalt (II) and lead (II) ions in natural waters, table salts, tea and urine samples as pyrrolidine dithiocarbamate chelates by membrane filtration-flame atomic absorption spectrometry combination", *Anal. Chim. Acta*, **493** (2): 205, 2003.