

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

**SELEÇÃO DE PADRÕES INTERNOS PARA ANÁLISE
ELEMENTAR EM MÉTODOS INSTRUMENTAIS COM
PLASMA INDUZIDO**

Beatriz Martins Fontoura*

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

Orientador: Prof. Dr. Joaquim de Araújo Nóbrega

*** bolsista CAPES (Finance Code 001)**

São Carlos - SP
2023



UNIVERSIDADE FEDERAL DE SÃO CARLOS

Centro de Ciências Exatas e de Tecnologia
Programa de Pós-Graduação em Química

Folha de Aprovação

Defesa de Tese de Doutorado da candidata Beatriz Martins Fontoura, realizada em 08/03/2023.

Comissão Julgadora:

Prof. Dr. Joaquim de Araújo Nóbrega (UFSCar)

Profa. Dra. Ana Rita de Araujo Nogueira (EMBRAPA)

Profa. Dra. Kelly das Graças Fernandes Dantas (UFPA)

Prof. Dr. Pedro Vitoriano de Oliveira (USP)

Profa. Dra. Clarice Dias Britto do Amaral (UFPR)

O Relatório de Defesa assinado pelos membros da Comissão Julgadora encontra-se arquivado junto ao Programa de Pós-Graduação em Química.

À Deus,

Aos meus pais Antônio e Silvânia,

Ao meu irmão Victor,

Ao meu querido Fernando e

Ao meu avô Francisco (*in memoriam*)

Dedico!

AGRADECIMENTOS

Agradeço à Deus por me proporcionar a realização deste projeto de tese tão sonhado durante 4 anos, afinal se o Senhor não abençoar a colheita, em vão trabalhará o semeador.

Aos meus pais Antônio e Silvânia, ao Fernando, ao meu irmão Victor e ao meu avô Francisco (*in memoriam*) por todo amor e por sempre incentivarem minha formação profissional e pessoal.

Ao meu orientador Prof. Dr. Joaquim A. Nóbrega, por acreditar em meu potencial. Sou grata pelos ensinamentos, orientação e paciência durante esses anos.

Aos professores Dr. George L. Donati e Dr. Bradley T. Jones pela orientação durante minha visita à Wake Forest University (EUA). Agradeço também à Nice e à Vera pelo imenso suporte e apoio para que esse sonho fosse possível.

À Dra. Ariane I. Barros pelos ensinamentos e parceria durante o desenvolvimento do primeiro capítulo da tese.

Ao M.Sc. Jesse R. L. Ingham pela amizade e suporte com a versão em inglês dos manuscritos.

Aos amigos Kelsey, Antony, Farnoush, Alex, Skyler, Lashania e Nick por tornarem minha estadia em Winston tão alegre.

À minha igreja Missão Encorajamento e aos meus pastores Juliano e Viviane por serem minha família na fé e à Reynolda Church por me permitir congregar e conhecer mulheres tão inspiradoras.

Aos membros do GAIA, em especial à professora Dra. Ana Rita A. Nogueira, Dra. Lucimar Fialho e ao professor Dr. Edenir P. Filho pelo apoio com a parte experimental e discussão de dados. Também agradeço aos amigos Raíza, Raquel e Raimundo pelos momentos inesquecíveis.

À Universidade Federal de São Carlos, à Embrapa Pecuária Sudeste e ao Departamento de Química pela oportunidade e formação adquirida.

À Coordenação de Aperfeiçoamento de Pessoal de Nível Superior (CAPES) pela bolsa de doutorado (Código Financiamento 001).

Ao Conselho Nacional de Desenvolvimento Científico e Tecnológico pelo apoio ao Grupo de Análise Instrumental Aplicada (Processo 428558/2018-6).

Agradeço também à *Royal Society of Chemistry* (RSC) e ao Jornal *Analytical Methods* pela licença para reprodução do material “*B.M. Fontoura, A.I. Barros, J.A. Nóbrega. Analysis of urine by MIP-OES: challenges and strategies to correct matrix effects. Anal. Methods, 15 (2023) 154-163, 10.1039/D2AY01613C, Copyright (2023) RSC*”.

Aos membros da Banca Examinadora pelas contribuições.

Minha eterna gratidão!

LISTA DE ABREVIATURAS

AAS	Espectrometria de absorção atômica (<i>Atomic absorption spectrometry</i>)
ANVISA	Agência Nacional de Vigilância Sanitária
CRM	Material de referência certificado (<i>Certified reference material</i>)
D_{3,2}	Diâmetro médio da gota de aerossol (<i>Sauter mean diameter</i>)
DLLME	Micro extração líquido-líquido dispersiva (<i>Dispersive liquid-liquid microextraction</i>)
DSC	Combinador espectral dicróico (<i>Dichroic spectral combiner</i>)
DV	Dupla visão (<i>Dual View</i>)
EC	Calibração externa (<i>External standard calibration</i>)
EGCM	Módulo de controle de gás externo (<i>External gas control module</i>)
E_{exc}	Energia de excitação da linha de emissão (<i>Excitation energy</i>)
EIEs	Elementos facilmente ionizáveis (<i>Easily ionizable elements</i>)
E_{ion}	Energia de ionização da linha de emissão (<i>Ionization energy</i>)
E_{sum}	Energia total da linha de emissão (<i>Total energy</i>)
HMI	Dispositivo para introdução de alta matriz (<i>High Matrix Introduction</i>)
HR-CS FAAS	Espectrometria de absorção atômica com fonte contínua e alta resolução (<i>High Resolution-Continuum Source Flame Atomic Absorption Spectrometry</i>)
ICP-OES	Espectrometria de emissão óptica com plasma indutivamente acoplado (<i>Inductively coupled plasma optical emission spectrometry</i>)
ICP-MS	Espectrometria de massas com plasma indutivamente acoplado (<i>inductively coupled plasma mass spectrometry</i>)
I_{rel}	Intensidade relativa de sinal (<i>Relative signal intensity</i>)
IS	Padronização interna ou padrão interno (<i>Internal standardization</i>)
LMP	Limite máximo permitido
LOD	Limite de detecção (<i>Limit of detection</i>)
LS FAAS	Espectrometria de absorção atômica em chama com fonte de linha (<i>Line source flame atomic absorption spectrometry</i>)
LS GFAAS	Espectrometria de absorção atômica em forno de grafite com fonte de linha (<i>Line source graphite furnace atomic absorption spectrometry</i>)

MEC	Calibração por múltiplas energias (<i>Multi-energy calibration</i>)
MIP-OES	Espectrometria de emissão óptica com plasma induzido por micro-ondas (<i>Microwave induced plasma optical emission spectrometry</i>)
MISC	Calibração por múltiplos padrões internos (<i>Multi-internal standard calibration</i>)
MMC	Calibração por compatibilização de matriz (<i>Matrix-Matched Calibration</i>)
MMTPC	Calibração de dois pontos por compatibilização de matriz (<i>Matrix-matched two-point calibration</i>)
n_e	Densidade eletrônica (<i>electronic density</i>)
NIST	Instituto Nacional de Padrões e Tecnologia (<i>National Institute of Standards and Technology</i>)
NR	Norma Regulamentadora
PCA	Análise de componentes principais (<i>Principal component analysis</i>)
PCMSO	Programa de Controle Médico de Saúde Ocupacional
RDC	Resolução da Diretoria Colegiada
RF	Radio frequência
RSD	Desvio padrão relativo (<i>Relative standard deviation</i>)
SA	Adição de padrão (<i>Standard addition</i>)
SBR	Razão sinal analítico/sinal de fundo (<i>Signal-to-background ratio</i>)
SD	Desvio padrão (<i>standard deviation</i>)
SDA	Análise por diluição de padrão (<i>Standard dilution analysis</i>)
S_{tot}	Taxa de solvente transportado ao plasma (<i>Total mass solvente transport rate</i>)
SV DV	Dupla visão sincronizada verticalmente (<i>Synchronous Vertical Dual View</i>)
TDS	Teor de sólidos dissolvidos (<i>Total dissolved solids</i>)
W_{tot}	Taxa da massa do analito transportado para o plasma (<i>Total mass analyte transport rate</i>)

LISTA DE TABELAS

TABELA 1.1 - Emprego da padronização interna em ICP-OES e critérios de seleção adotados.	13
TABELA 3.1- Limites máximos permitidos de elementos traço na urina e em solução de diálise (modificado de BARROS <i>et al.</i> ⁶⁹).	25
TABELA 3.2 - Condições operacionais para análise de urina por MIP-OES.	28
TABELA 3.3 - Parâmetros instrumentais empregados para cada analito e IS na análise de urina.	29
TABELA 3.4 - Recuperações e desvios padrão relativos (%) para cada analito em urina diluída 2 vezes empregando EC e IS (média e SD, n = 3).	33
TABELA 3.5 - Recuperações e desvios padrão relativos (%) para cada analito em urina diluída 20 vezes empregando EC e IS (média e SD, n = 3).	39
TABELA 3.6 - Recuperações e desvios padrão relativos (%) para cada analito em urina diluída 200 vezes empregando EC e IS (média e SD, n = 3).	43
TABELA 3.7 - Padrões internos selecionados para correção de efeitos matriciais em MIP-OES para urina diluída 2 vezes.	47
TABELA 3.8 - Padrões internos selecionados para correção de efeitos matriciais em MIP-OES para urina diluída 20 vezes.	48
TABELA 3.9 - Padrões internos selecionados para correção de efeitos matriciais em MIP-OES para urina diluída 200 vezes.	49
TABELA 3.10 - Limites de detecção ($\mu\text{g L}^{-1}$) obtidos para cada nível de diluição empregando EC e IS.	50
TABELA 3.11 - Comparação entre ICP-OES e MIP-OES para análise de urina.	53
TABELA 4.1 - Condições operacionais para análise de etanol e ácido oxálico por MIP-OES.	62
TABELA 4.2 - Parâmetros instrumentais empregados para cada analito e IS na análise de etanol e ácido oxálico por MIP-OES.	63
TABELA 4.3 - Razão entre o sinal de fundo obtido na presença de carbono (etanol 10 % m v^{-1} ou ácido oxálico 2,0 % m v^{-1}) e em solução de ácido nítrico 0,14 mol L^{-1}	67

TABELA 4.4 - Efeito de baixas concentrações de etanol nas recuperações (%) por MIP-OES (média ± desvio padrão, n = 3).	68
TABELA 4.5 - Efeito de altas concentrações de etanol nas recuperações (%) por MIP-OES (média ± desvio padrão, n = 3).	71
TABELA 4.6 - Efeito do ácido oxálico nas recuperações (%) de cada analito por MIP-OES (média ± desvio padrão, n = 3).	76
TABELA 4.7 - Padrões internos para análise elementar em soluções contendo até 0,44 mol L ⁻¹ de carbono proveniente da adição de etanol por MIP-OES.	85
TABELA 4.8 - Padrões internos para análise elementar em soluções contendo de 0,44 a 4,4 mol L ⁻¹ de C proveniente da adição de etanol por MIP-OES.....	86
TABELA 4.9 - Padrões internos para análise elementar em soluções contendo ácido oxálico por MIP-OES.	87
TABELA 4.10 - Avaliação do EGCM em soluções contendo etanol empregando EC por MIP-OES (média ± desvio padrão, n = 3).	89
TABELA 5.1 - Condições operacionais empregadas na análise de isotônicos e energéticos por MIP-OES.	102
TABELA 5.2- Parâmetros instrumentais empregados para cada analito e IS na análise de isotônicos e energéticos por MIP-OES.	102
TABELA 5.3 - Condições operacionais empregadas na análise de isotônicos e energéticos por ICP-OES.	104
TABELA 5.4 - Limites de detecção (µg L ⁻¹) calculados empregando EC, IS e MISC para SVDV ICP-OES.	108
TABELA 5.5 - Padrões internos para análise de isotônicos e energéticos por ICP-OES (% recuperação média ± desvio padrão, n=3).	113
TABELA 5.6 - Comparação entre as recuperações obtidas empregando EC, IS, MISC _{IS} e MISC _{Ar} para determinação de Si, Pb e Zn por ICP-OES (% recuperação média ± desvio padrão, n=3).	113
TABELA 5.7 - Limites de detecção (µg L ⁻¹) calculados empregando EC, IS e MISC para MIP-OES em condição padrão.	115

TABELA 5.8 - Valores de energia para cada linha de emissão empregada nas análises de isotônicos e energéticos por MIP-OES.	121
TABELA 5.9 - Padrões internos selecionados para correção dos efeitos matriciais em MIP-OES para Gatorade e Monster diluídos 5 vezes.	123
TABELA 5.10 - Concentração ($\mu\text{g L}^{-1}$) dos elementos nas bebidas isotônicas (média \pm SD, n=3).	127
TABELA 5.11 - Concentração ($\mu\text{g L}^{-1}$) dos elementos nas bebidas energéticas (média \pm SD, n=3).	128

LISTA DE FIGURAS

FIGURA 3.1 - Recuperação obtida para cada elemento adicionado na concentração de $1,0 \text{ mg L}^{-1}$ em urina diluída 2 vezes.	34
FIGURA 3.2 - Influência da urina diluída de 2 vezes sobre a intensidade relativa (I_{rel}) obtida para cada analito.	35
FIGURA 3.3 - Representação PCA obtida para cada analito em urina diluída 2 vezes.	37
FIGURA 3.4 - Relação entre I_{rel} , SD e E_{sum} para cada analito em urina diluída 2 vezes.	38
FIGURA 3.5 - Comparação entre as recuperações obtidas para cada analito adicionado na concentração de $1,0 \text{ mg L}^{-1}$ nas diluições de 2 e 20 vezes.	40
FIGURA 3.6 - Efeito da diluição na recuperação obtida para cada elemento na concentração de $1,0 \text{ mg L}^{-1}$	42
FIGURA 3.7 - Comparação entre o sinal de emissão obtido em MIP-OES para as espécies moleculares (■) N_2^+ e (●) OH em solução aquosa ($0,14 \text{ mol L}^{-1} \text{ HNO}_3$) e urina diluída de 200 vezes.	44
FIGURA 4.1 - Influência de $0,22 \text{ mol L}^{-1}$ de C provenientes do etanol sobre a I_{rel} de cada analito em MIP-OES.	69
FIGURA 4.2 - Efeito de etanol (■ $2,2$ e ■ $4,4 \text{ mol L}^{-1}$ de C) na recuperação de cada analito por MIP-OES em comparação com uma solução de ácido nítrico (■).	72
FIGURA 4.3 - Representação da PCA para cada analito em etanol $10 \% \text{ m v}^{-1}$	73
FIGURA 4.4 - Efeito de ácido oxálico (■ $0,22$ e ■ $0,44 \text{ mol L}^{-1}$ de C) na recuperação de cada analito por MIP-OES em comparação com uma solução de $\text{HNO}_3 0,14 \text{ mol L}^{-1}$ (■).	77
FIGURA 4.5 - Representação PCA para cada analito em $2,0\% \text{ m v}^{-1}$ de ácido oxálico.	79
FIGURA 4.6 - Temperatura de excitação do MIP-OES em (A) etanol e (B) ácido oxálico nas condições ■ otimizadas e ● robustas.	82

FIGURA 4.7 - Avaliação do EGCM como ferramenta para correção dos efeitos matriciais em etanol ($4,4 \text{ mol L}^{-1}$ de C) por MIP-OES.	88
FIGURA 5.1 - Curva de calibração tipicamente empregada em MISC.	100
FIGURA 5.2 - Influência do isotônico Gatorade na recuperação de cada analito por ICP-OES empregando EC.	109
FIGURA 5.3 - Influência do energético Monster na recuperação de cada analito por ICP-OES empregando EC.	110
FIGURA 5.4 - Efeito do isotônico Gatorade na recuperação de cada analito por MIP-OES em comparação com uma solução de HNO_3 1 % v v ⁻¹	117
FIGURA 5.5 - Efeito do energético Monster na recuperação de cada analito por MIP-OES em comparação com uma solução de HNO_3 1 % v v ⁻¹	118
FIGURA 5.6 - Comparação entre o sinal de emissão das espécies N_2^+ e OH em solução aquosa (HNO_3 1,0% v v ⁻¹) e nas bebidas Gatorade e Monster.	119
FIGURA 5.7 - Representação PCA obtida para cada analito em Gatorade e Monster.	120
FIGURA 5.8 - Avaliação das estratégias de calibração EC, MISC_{IS} e MISC_{mol} para análise de Gatorade por MIP-OES.	125
FIGURA 5.9 - Avaliação das estratégias de calibração EC, MISC_{IS} e MISC_{mol} para análise de Monster por MIP-OES.	125

RESUMO

SELEÇÃO DE PADRÕES INTERNOS PARA ANÁLISE ELEMENTAR EM MÉTODOS INSTRUMENTAIS COM PLASMA INDUZIDO

Esta tese aborda os desafios e estratégias para o emprego da calibração por padronização interna em métodos instrumentais com plasma induzido, i.e. espectrometria de emissão óptica com plasma indutivamente acoplado (ICP-OES) e espectrometria de emissão óptica com plasma induzido por micro-ondas (MIP-OES) para análise de matrizes complexas. No primeiro estudo, avaliou-se o desempenho do MIP-OES para a determinação de 14 analitos com energias entre 1,85 e 12,07 eV em urina. Três níveis de diluição (2, 20 e 200 vezes) foram avaliados para a correção dos efeitos matriciais juntamente com os padrões internos (ISs) Ga, Ge, Pd, Rh, Sc e Y e com as espécies moleculares do plasma de nitrogênio (CN, N₂, N₂⁺ e OH). Os limites de detecção variaram entre 0,3 e 329 µg L⁻¹ e foi possível o uso de um único IS para todos os analitos desde que empregada a diluição apropriada, i.e. Ge, Rh ou Sc para a diluição de 20 vezes e N₂⁺ para a diluição de 200 vezes. Na etapa seguinte investigou-se interferências provenientes de duas fontes de carbono, i.e., etanol e ácido oxálico, no sinal analítico de 10 elementos por MIP-OES. O ácido oxálico causou aumento de sinal para Al, Ca, Cd, Cu, Fe, Hg e Mg e supressão de sinal para As e P. Teores de etanol superiores à 1 % m v⁻¹ causaram aumento de sinal para todos os analitos e Bi, Ge e OH se comportaram como ISs universais. O módulo de controle de gás externo (EGCM) também foi avaliado para correção de efeitos matriciais, entretanto, não foi apropriado para Al, As, Hg e P. Por fim, avaliou-se o desempenho dos dois métodos instrumentais para a determinação de 18 analitos em amostras de isotônicos e energéticos e foi observado que o plasma de argônio apresentou uma maior robustez em comparação com o plasma de nitrogênio, pois apenas Si, Pb e Zn apresentaram recuperações inferiores à 90 %. Verificaram-se os critérios adotados para a seleção de padrões internos em Ar-ICP e N₂-MIP e os melhores resultados foram obtidos através de experimentos de adição e

recuperação ao invés de propriedades físico-químicas similares entre o par analito/IS. A calibração por múltiplos padrões internos (MISC), recentemente proposta na literatura, também foi avaliada e demonstrou ser uma estratégia simples e rápida para a correção de efeitos matriciais, pois emprega vários padrões internos e conta com um efeito de padronização interna média, não sendo necessária a seleção do melhor IS. Recuperações entre 90-110 % foram obtidas para a maioria dos analitos em ambos os métodos instrumentais e matrizes. Além disso, os limites de detecção foram comparáveis com os obtidos nas estratégias de calibração tradicionais. O MISC possibilitou o uso de espécies do próprio plasma para a construção das curvas analíticas, e.g. linhas de Ar (ICP) ou espécies moleculares (MIP), e foi uma alternativa viável ao uso da padronização interna.

ABSTRACT

SELECTION OF INTERNAL STANDARDS FOR ELEMENTAL ANALYSIS IN INSTRUMENTAL METHODS WITH INDUCTIVELY COUPLED PLASMA

This thesis approaches the challenges and strategies to use the internal standardization calibration method in two instrumental methods, i.e. inductively coupled plasma optical emission spectrometry (ICP-OES) and microwave induced plasma optical emission spectrometry (MIP-OES), for complex matrix analysis. In the first study, MIP-OES performance was evaluated for determination of 14 analytes with energies between 1.85 and 12.07 eV in urine. Three dilution levels (2, 20- and 200-fold) were evaluated to correct matrix effects, together with the internal standards (ISs) Ga, Ge, Pd, Rh, Sc and Y and with molecular species formed in nitrogen plasma (CN, N₂, N₂⁺ and OH). The limits of detection varied between 0.3 and 329 µg L⁻¹. Using proper dilution, it was possible to use a single IS to correct matrix effects for all analytes, i.e. Ge, Rh or Sc for 20-fold dilution and N₂⁺ for 200-fold dilution. In the next step was investigated interferences from two carbon sources, i.e. ethanol and oxalic acid, on the analytical signals of 10 elements by MIP-OES. Oxalic acid caused a signal increase for Al, Ca, Cd, Cu, Fe, Hg and Mg, and a signal suppression for As and P. High levels of ethanol ($\geq 1\%$ v/v) led to signal increments for all analytes and Bi, Ge and OH behaved as universal ISs. The external gas control module (EGCM) was also tested to correct matrix effects, however, it was not appropriate for Al, As, Hg and P. In the last study, the performance of both instrumental methods was evaluated for determination of 18 analytes in isotonic and energetic drinks. It was observed that argon plasma presented a higher robustness in comparison with nitrogen plasma, since only Si, Pb and Zn presented recoveries below 90%. The criterion adopted to select internal standards in Ar-ICP and N₂-MIP was verified and the best results were obtained through addition and recovery experiments rather than similar physical-chemical properties between analyte/IS.

Multi-internal standard calibration (MISC), a recently proposed method in the literature, was also evaluated. It was demonstrated as a simple strategy for correcting matrix effects. The selection of the best IS is not needed because it uses several internal standards. Recoveries between 90-110 % were obtained for most analytes in both matrices and instrumental methods, and LODs were comparable to those obtained in traditional calibration strategies. MISC allowed the use of species from the plasma for obtaining analytical curves, e.g. Ar lines (ICP) or molecular species (MIP) and presented itself as a feasible alternative to the use of internal standardization.

SUMÁRIO

CAPÍTULO 1 - INTRODUÇÃO E REVISÃO BIBLIOGRÁFICA.....	1
1.1 - Calibração por padronização interna: fundamentos	2
1.2 - Emprego da padronização interna em espectrometria de emissão óptica com plasma indutivamente acoplado (ICP-OES).....	7
1.3 - Emprego da padronização interna em espectrometria de emissão óptica com plasma induzido por micro-ondas (MIP-OES).....	15
CAPÍTULO 2 - OBJETIVOS	21
2.1 - Objetivos Gerais	22
2.2 - Objetivos Específicos	22
CAPÍTULO 3 - ANÁLISE DE URINA POR MIP-OES: DESAFIOS E ESTRATÉGIAS PARA CORREÇÃO DE EFEITOS MATRICIAIS	23
3.1 - Revisão Bibliográfica	24
3.2 - Objetivos.....	27
3.3 - Parte Experimental	28
3.3.1 - Instrumentação	28
3.3.2 - Reagentes, soluções e amostras.....	30
3.3.3 - Preparo de amostra	31
3.4 - Resultados e discussão	32
3.4.1 - Avaliação de efeitos matriciais	32
3.4.2 - Efeito da urina diluída 2 vezes sobre os sinais analíticos	34
3.4.3 - Efeito da urina diluída 20 vezes sobre os sinais analíticos	38
3.4.4 - Efeito da urina diluída 200 vezes sobre os sinais analíticos	42
3.4.5 - Avaliação da calibração por padronização interna	45
3.4.6 - Limites de detecção	50
3.4.7 - Desempenho de ICP-OES e MIP-OES para análise de urina	51
3.5 - Conclusões parciais	54
CAPÍTULO 4 - EFEITOS DO ETANOL E DO ÁCIDO OXÁLICO EM MIP-OES: COMO CORRIGIR PROCESSOS DE INTERFERÊNCIA?	55
4.1 - Revisão bibliográfica.....	56
4.1.1 - Análise de compostos orgânicos: contextualização	56

4.1.2 - Análise de compostos orgânicos por MIP-OES.....	59
4.2 - Objetivos.....	61
4.3 - Parte experimental.....	62
4.3.1 - Instrumentação.....	62
4.3.2 - Reagentes, soluções padrão e amostras.....	64
4.3.3 - Preparo de amostras.....	64
4.3.4 - Medidas da temperatura de excitação do plasma.....	65
4.4 - Resultados e discussão.....	66
4.4.1 - Avaliação de interferências espectrais.....	66
4.4.2 - Avaliação de efeitos matriciais causados por etanol.....	67
4.4.3 - Avaliação de efeitos matriciais causados por ácido oxálico.....	75
4.4.4 - Efeito das matrizes orgânicas na temperatura de excitação do plasma.....	80
4.4.5 - Avaliação do método de calibração por padronização interna.....	83
4.4.6 - Avaliação do EGCM para correção dos efeitos matriciais.....	88
4.5 - Conclusões parciais.....	91
CAPÍTULO 5 - ANÁLISE DE BEBIDAS ISOTÔNICAS E ENERGÉTICAS: AVALIAÇÃO DE ESTRATÉGIAS DE CALIBRAÇÃO PARA CORREÇÃO DE EFEITOS MATRICIAIS.....	93
5.1 - Revisão bibliográfica.....	94
5.2 - Objetivo.....	100
5.3 - Parte Experimental.....	101
5.3.1 - Instrumentação.....	101
5.3.2 - Reagentes e soluções padrão.....	105
5.3.3 - Preparo de amostras.....	105
5.4 - Resultados e discussão.....	107
5.4.1 - Desempenho do ICP-OES.....	107
5.4.1.1 - Limites de detecção por ICP-OES.....	107
5.4.1.2 - Avaliação dos efeitos matriciais.....	109
5.4.1.3 - Avaliação dos métodos de calibração.....	111
5.4.2 - Desempenho do MIP-OES.....	114
5.4.2.1 - Limites de detecção por MIP-OES.....	114
5.4.2.2 - Avaliação dos efeitos matriciais.....	116

5.4.2.3 - Avaliação dos métodos de calibração	122
5.4.3 - Análise de bebidas isotônicas e energéticas.....	126
5.5 - Conclusões parciais	130
CAPITULO 6 – CONSIDERACOES FINAIS	131
CAPÍTULO 7 - REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS.....	135
APÊNDICE -	149

CAPÍTULO 1 -

Introdução e Revisão Bibliográfica

INTRODUÇÃO E REVISÃO BIBLIOGRÁFICA

1.1 - Calibração por padronização interna: fundamentos

Métodos instrumentais com plasma induzido, tais como a espectrometria de massa com plasma indutivamente acoplado (*inductively coupled plasma mass spectrometry, ICP-MS*), a espectrometria de emissão óptica com plasma indutivamente acoplado (*inductively coupled plasma optical emission spectrometry, ICP-OES*), e a espectrometria de emissão óptica com plasma induzido por micro-ondas (*microwave induced plasma optical emission spectrometry, MIP-OES*), são comumente empregados para análise elementar.¹⁻³

Entretanto, esses métodos instrumentais normalmente exigem a introdução de amostras líquidas e requerem sua nebulização, sendo suscetíveis às interferências matriciais e às variações nas condições instrumentais que podem afetar a confiabilidade das análises. Os efeitos matriciais, provenientes da presença de ácidos, elementos facilmente ionizáveis (EIEs) ou compostos orgânicos, por exemplo, podem ocorrer em diferentes etapas da análise como nebulização, transporte ou no próprio plasma e estão relacionados às mudanças na formação do aerossol primário, alterações na massa do analito transportada para o plasma e modificações nos processos de excitação e ionização.⁴

Nesse contexto, mesmo com as recentes melhorias em instrumentação, como aumento de resolução espectral em ICP-OES, emprego de tochas mais robustas e capacidade de processar amostras com maiores teores de sólidos dissolvidos (TDS) em MIP-OES,⁵ a calibração analítica ainda é de suma importância para obtenção de dados fidedignos.

A calibração envolve a determinação de uma função matemática que tem como objetivo correlacionar a concentração do analito presente nas soluções de calibração com a resposta do instrumento.⁶ A resposta instrumental é, então, utilizada para calcular a concentração do analito nas amostras através de uma relação matemática como $y = aX + b$, onde y , a , b e X correspondem à resposta

do instrumento, inclinação, intercepção no eixo das ordenadas e concentração do analito, respectivamente.⁷ As estratégias de calibração tradicionalmente utilizadas são a calibração externa (EC), compatibilização de matriz (MMC), padronização interna (IS) e adição de padrão (SA).

A EC é uma estratégia simples e baseia-se no preparo das soluções de calibração em meio aquoso, com adições do analito. Considera-se a intensidade de sinal observada no instrumento proveniente apenas do analito e proporcional à concentração da solução analítica de referência. Portanto, a EC desconsidera as possíveis interferências não espectrais provenientes de concomitantes na amostra e que estão ausentes nas soluções de referência e brancos analíticos.^{6,8,9}

O preparo de amostras adequado é uma alternativa para contornar efeitos matriciais, entretanto, pode ser constituído de etapas laboriosas e/ou onerosas. Por sua vez, o uso de estratégias de calibração é uma alternativa simples e atrativa para correção de interferências matriciais em métodos instrumentais com plasma induzido e devem ser utilizadas para garantir a exatidão quando as soluções analíticas de referência e as amostras são consideravelmente diferentes. Entre as alternativas destacam-se as calibrações MMC, SA e IS.

Para a compatibilização de matriz, as soluções de referência também são acrescidas com o analito, mas diferentemente da EC, essas são preparadas em um meio semelhante ao da amostra. Entretanto, o preparo dessas soluções é laborioso e eventuais perdas durante o preparo da amostra e flutuações nas condições instrumentais não são compensados. Além disso, a dificuldade de obter um meio matricial semelhante pode ser considerada um obstáculo para aplicação dessa estratégia.^{8,9}

Outra alternativa comumente empregada na análise de matrizes complexas é a adição de padrão. As soluções da curva analítica são preparadas com concentrações crescentes do analito em um meio contendo a matriz e sua concentração é calculada através do valor (em módulo) obtido no eixo das abscissas após a extrapolação da curva.⁸⁻¹⁰ Por outro lado, uma das principais

desvantagens é o longo tempo de preparo de amostra e análise visto que a estratégia deve ser aplicada para cada amostra individualmente.^{8,9}

Uma estratégia de calibração frequentemente utilizada para correção dos efeitos matriciais nas mais diversas amostras, mas com lacunas em sua compreensão é a padronização interna. Nela um elemento ou composto (padrão interno - IS), de concentração conhecida, é adicionado às amostras, brancos analíticos e soluções analíticas de referência.^{8,9,11}

A padronização interna pode ser explicada matematicamente considerando-se as Equações 1.1 e 1.2, que relacionam a resposta do instrumento, normalmente intensidade de sinal (y) com a sensibilidade (m), concentração do analito (x), e com uma variável relacionada a flutuações nas condições instrumentais (a)¹²:

$$y_A = m_A a_A x_A \quad (\text{Eq. 1.1})$$

$$y_{IS} = m_{IS} a_{IS} x_{IS} \quad (\text{Eq. 1.2})$$

Assumindo um comportamento ideal e uma concentração constante para o IS, a_A e a_{IS} são iguais e, conseqüentemente, as Equações 1.1 e 1.2 podem ser escritas como equação 1.3:

$$\frac{y_A}{y_{IS}} = \frac{m_A}{m_{IS}} \frac{x_A}{x_{IS}} = K \frac{x_A}{x_{IS}} = K' x_A \quad (\text{Eq. 1.3})$$

onde K é a razão entre as sensibilidades do analito e do IS, e K' considera a concentração constante do IS em K . Logo, se o IS e o analito apresentam comportamentos similares frente à matriz, as flutuações de sinais serão corrigidas e a razão entre as intensidades de sinais do analito e do IS (I_A/I_{IS}) é empregada para construção da curva analítica.

Os primeiros trabalhos envolvendo a padronização interna datam de 1877 por GOUY, que utilizou a IS para verificar a excitação na espectrometria de

emissão com chama.¹² Posteriormente, GERLACH e SCHWEITEZER (1929) empregaram a padronização interna em espectrometria de emissão com arco ou faísca.¹³ Desde então, essa estratégia tem sido utilizada nas mais diversas aplicações, como abordado por CARTER *et al.*⁶. O IS tem uma concentração conhecida e, idealmente, deve ser afetado pelos mesmos processos que o analito durante a análise instrumental, de forma que a razão entre os sinais possa corrigi-los. Como consequência, a estratégia requer que os sinais tanto do analito quanto do IS sejam monitorados simultaneamente, ou ao menos sequencialmente, durante a análise.¹⁴ Entretanto, a seleção dos padrões internos não é uma tarefa trivial, principalmente quando vários analitos devem ser determinados.

A literatura relata uma série de critérios comumente adotados para facilitar a escolha do melhor IS:^{15,16}

1. O IS deve estar originalmente ausente na amostra ou apresentar uma concentração inferior ao limite de detecção;
2. Se for adicionado à amostra, deve apresentar elevada pureza;
3. O analito e o IS devem apresentar taxa de volatilização o mais semelhante possível;
4. As energias de ionização do par analito/IS devem ser próximas;
5. As massas atômicas dos dois elementos devem ser próximas, principalmente em análises empregando ICP-MS;
6. As linhas de emissão ou absorção adotadas para ambos devem apresentar energias próximas;
7. As linhas não apresentam processos de auto-absorção;
8. O padrão interno não deve interferir no sinal dos analitos;
9. O IS não deve ser um contaminante ambiental.

Uma revisão detalhada sobre o emprego da padronização interna em espectrometria de absorção atômica (AAS) foi reportada por FERNANDES *et al.*¹⁴. Destaca-se ainda o estudo de BECHLIN *et al.*¹⁷ que propuseram Bi como IS geral para determinação de Pb por AAS. Os autores avaliaram a IS na análise de diferentes amostras, i.e., bebida energética, chá, refrigerantes, cerveja, vodca, produtos de limpeza, açúcares coloridos, balas, enxaguantes bucais, sucos de frutas (laranja, limão e uva), aguardente de cana-de-açúcar, água mineral, vinagre, etanol, leite, dentre outras. Esses autores reportaram que o par analito/IS foi escolhido com base na similaridade das propriedades físico-químicas como energia de dissociação e entalpia de vaporização. A eficiência do Bi foi demonstrada para três materiais certificados (CRMs) e as recuperações obtidas empregando padronização interna encontraram-se na faixa de 96-109 % para a espectrometria de absorção atômica com fonte contínua e alta resolução (HR-CS FAAS), 96-110 % para a espectrometria de absorção atômica em forno de grafite com fonte de linha (LS GFAAS) e 97-109 % para a espectrometria de absorção atômica em chama com fonte de linha (LS FAAS).

Embora tenha sido demonstrado seu sucesso em muitas aplicações por AAS, a padronização interna depende da escolha adequada do IS, o que ainda pode ser considerado um desafio em métodos instrumentais com plasma induzido quando vários analitos devem ser determinados. Portanto, esta tese de doutorado aborda o estudo de estratégias analíticas que permitam a seleção eficiente de ISs para análises em ICP-OES e MIP-OES.

1.2 - Emprego da padronização interna em espectrometria de emissão óptica com plasma indutivamente acoplado (ICP-OES)

A espectrometria de emissão óptica com plasma indutivamente acoplado é um dos métodos instrumentais mais populares para a determinação de elementos traço.¹⁸ Em ICP-OES a radiação é emitida por átomos ou íons que foram excitados por uma fonte de plasma. Essa, por sua vez, é formada através do acoplamento induzido, na qual elétrons do gás foram acelerados por um campo magnético oscilante gerado quando a potência de radiofrequência (RF) foi aplicada à uma bobina de Tesla.^{5,19,20}

Uma das principais vantagens responsável pela ampla aceitação do ICP-OES se deve a sua capacidade de determinar simultaneamente mais de 70 elementos, incluindo P e S. Além disso, o plasma apresenta altas temperaturas (5000-10000 K), elevada densidade eletrônica (10^{14} - 10^{16} e⁻ cm⁻³), apreciável grau de ionização para muitos elementos, capacidade de determinar concentrações de partes por bilhão a % m m⁻¹ e apresenta ampla faixa linear (quatro a seis ordens de magnitude).²¹

Diferentes configurações podem ser empregadas para aquisição de sinais em ICP-OES como radial, axial ou dupla visão (DV). Na visualização radial, a zona analítica é observada lateralmente ao plasma e, conseqüentemente, o volume de observação é menor, o que causa uma diminuição na sensibilidade.²¹ Entretanto, a visão radial possibilita uma melhor linearidade e é menos propensa a efeitos matriciais. Por outro lado, na visualização axial os sinais de emissão são observados ao longo do eixo do plasma²¹, o que fornece melhores limites de detecção em relação à visão radial, entretanto, efeitos matriciais mais intensos são esperados.²²

Por sua vez, a dupla visão combina as configurações de visualização axial e radial em um único instrumento, conferindo ao usuário a opção de escolher a configuração apropriada para cada tipo de amostra.²¹ Em instrumentos

convencionais de dupla visão ao menos duas leituras da amostra são necessárias para abranger ambas as visualizações, enquanto na dupla visão sincronizada verticalmente (SVDV), o componente espectral dicróico (DSC) possibilita que ambas as visões sejam capturadas em uma mesma leitura.^{21,23}

Uma extensa quantidade de trabalhos envolvendo o emprego da padronização interna para correção das interferências matriciais e das variações nas condições instrumentais em ICP-OES é descrita na literatura. BECHLIN⁹ (2017) apresentou uma ampla revisão bibliográfica sobre o uso da padronização interna e, assim, serão aqui abordados somente trabalhos mais recentes ou historicamente mais relevantes.

Um dos trabalhos mais antigos foi desenvolvido por BARNETT *et al.*¹⁵ que enumeraram nove critérios tradicionalmente aceitos para seleção de padrões internos em espectrometria de emissão atômica e muitos deles baseiam-se nas propriedades físico-químicas similares entre os analitos e ISs como energias de ionização e linhas de emissão próximas. Nos anos seguintes, essas recomendações foram avaliadas experimentalmente e os autores observaram que a escolha apropriada do IS é mais complexa do que originalmente proposto.¹⁶

O primeiro ICP-OES comercialmente disponível data de 1974 e em 1983 MYERS e TRACY²⁴ avaliaram a influência da vazão do gás de nebulização, altura de visualização e potência de RF sobre o sinal analítico de 20 elementos e sobre o desempenho da IS. O elemento Mn, medido em uma linha de emissão iônica (257,61 nm), foi avaliado como padrão interno e os autores observaram que seu desempenho estava diretamente relacionado às condições instrumentais, sendo a vazão do gás de nebulização e a altura de observação os parâmetros que apresentaram maior influência.

RAMSEY e THOMPSON²⁵ propuseram um método conhecido como “método de padrão interno relacionado a parâmetros” (PRISM) para facilitar o emprego da padronização interna em análises multi-elementar, quando

elementos de propriedades amplamente diferentes devem ser determinados. No PRISM a sensibilidade para cada analito é corrigida usando as respostas obtidas para dois padrões internos, eliminando a necessidade de selecionar ISs com propriedades próximas para cada analito. Os autores aplicaram a metodologia empregando Cd e Rb como ISs para análise de rochas de silicato devido ao elevado potencial de excitação de suas linhas de emissão e baixa concentração nas amostras de interesse e concluíram que possíveis efeitos matriciais e flutuações instrumentais foram corrigidos para todos os elementos, exceto Si.

WALSH²⁶ investigou o uso de múltiplos padrões internos, i.e., B, Cd, Co, Ga, Ge, Li e Sc como abordagem para melhorar a precisão e corrigir alterações nos sinais analíticos de Al, Ca, Fe, Mg, Na e Si em amostras geológicas. As intensidades de sinais para analitos e padrões internos foram monitoradas em várias condições operacionais e percebeu-se a formação de três grupos distintos: (i) Al, B, Ga, Ge, Mg, Sc e Si; (ii) Ca, Cd, Co e Fe e (iii) Li e Na. Correlacionando o comportamento do par analito/IS, os melhores resultados foram obtidos empregando Ga como IS para Al, Mg e Si; Cd como IS para Ca e Fe; e Li como IS para Na. Valores de desvio padrão relativo (RSD) em torno de 0,5 % foram obtidos para análise de rochas, demonstrando uma melhoria significativa na precisão.

DUBUISSON *et al.*²⁷ verificaram a eficiência da padronização interna em função do modo de observação (axial e radial) para correção dos efeitos matriciais devido à presença de Na sobre as linhas iônicas de Ba, Cd, Co, Cr, Mg, Mn, Pb, Sc, Ti e Zn. Além disso, os autores avaliaram o emprego de duas condições experimentais, i.e. robusta e não robusta, para os dois modos de visualização. A condição robusta foi obtida empregando uma vazão do gás de nebulização de 0,6 L min⁻¹ e uma potência de 1400 W, enquanto na condição não robusta os valores empregados para esses parâmetros foram 1,0 L min⁻¹ e 1200 W, respectivamente. Melhores resultados foram obtidos empregando a condição

robusta, modo de visualização radial e Ni como padrão interno, responsável pela diminuição do RSD da faixa de 2-4 % para 0,2-0,3 %.

GARAVAGLIA *et al.*²⁸ investigaram os efeitos matriciais na análise de matrizes biológicas por ICP-OES na visão axial para a determinação de B e Ti. As amostras de soro e sangue humano foram diluídas em Triton X-100 0,1% m v⁻¹ e Y, Pd e Pt foram avaliados como padrões internos. O Y II (371,029 nm ou 324,227 nm) foi eficiente para a correção do sinal analítico de B I (249,677 nm ou 208,889 nm) e Ti II (334,941 nm) em ambas amostras desde que a concentração de albumina fosse mantida abaixo de 0,2% m v⁻¹.

GROTTI e FRACHE²⁹ utilizaram ferramentas quimiométricas, i.e., análise de componentes principais (PCA) para classificação e separação de padrões internos e analitos de acordo com seu comportamento na presença de ácidos inorgânicos e suas misturas. Quatorze elementos (As, Cd, Cr, Cu, Mn, Mo, Ni, P, Pb, Sb, Se, Sr, V e Zn) e nove potenciais ISs (Be, Co, Dy, Gd, La, Lu, Sc, Sm e Y) com energia das linhas de emissão variando de 2,69 a 15,96 eV foram investigados na presença de HCl, HNO₃ e H₂SO₄ com concentração máxima de 40% m m⁻¹. Escândio (424,682 nm) e Co (238,892 nm) reduziram de 10-40 % para menos de 5 % os erros analíticos para a maioria dos elementos quando empregados como ISs. Entretanto, a padronização interna não foi eficiente para corrigir os efeitos matriciais que afetaram as determinações de As, P, Sb e Se.

BEZERRA *et al.*³⁰ aplicaram a padronização interna como estratégia de calibração para a determinação elementar de Cd, Co, Cr e Mn em água salina derivada da indústria de petróleo após extração em ponto nuvem. O ítrio foi eficiente para corrigir os efeitos de transporte causados pelos EIEs presentes na fase rica em surfactante Triton X-114 e recuperações entre 88 e 109 % foram obtidas.

DOS SANTOS *et al.*³¹ empregaram Y como IS para determinação de Ca, K, Mg, Na e P em biodiesel. O IS foi escolhido devido aos seguintes critérios:

(i) apresentar concentração abaixo do limite de detecção na amostra, (ii) apresentar alta pureza, e (iii) não ser responsável por interferência espectral nas linhas analíticas. As recuperações obtidas utilizando Y como IS foram adequadas, de 90 a 106 % e demonstraram a eficiência da padronização interna para correção de efeitos matriciais em amostras com elevados teores de carbono.

MUTIC *et al.*³² determinaram As em seis amostras de vinho injetadas no plasma sem preparo prévio. Os autores avaliaram diferentes linhas de emissão para As juntamente com variadas condições operacionais e o melhor resultado foi obtido empregando a linha de emissão atômica 189,042 nm, 1150 W como potência de RF e 0,5 L min⁻¹ como vazão do gás de nebulização. Visando corrigir efeitos de transporte, Bi II (190,241 nm), Co II (228,616 nm), V II (290,882 nm) e Y II (371,030 nm) foram avaliados como potenciais padrões internos por suas concentrações insignificantes nas amostras e por não causarem interferências espectrais. Apesar de apresentar propriedades físico-químicas diferentes às do analito, i.e., comprimento de onda e energia da linha de emissão (E_{sum}), V gerou os melhores resultados quando aplicado na análise de um material certificado e recuperações entre 95-104 % foram obtidas em experimentos de adição e recuperação.

BECHLIN *et al.*³³ avaliaram Bi I (223,061 nm) como padrão interno para Pb I (217,000 nm) em 34 amostras por ICP-OES. As recuperações passaram da faixa de 56,2-91,1 % usando EC para 95,5-110,3 % com a IS. Vale ressaltar que esses elementos apresentam propriedades próximas, tais como a entalpia de vaporização (Bi 151 kJ mol⁻¹ e Pb 179,5 kJ mol⁻¹) e energia da linha de emissão (Bi 5,55 eV e Pb 5,71 eV).

Uma abordagem mais moderna reportada na literatura propõe o uso de constituintes do plasma, Ar por exemplo, como padrão interno. CARTER *et al.*³⁴ avaliaram os efeitos matriciais de Ca e Na sobre os sinais analíticos de Cd II (214,439 nm), Co II (238,892 nm), Cr II (267,716 nm) e Pb II (220,353 nm). Ítrio

II (371,029 nm) e Ar I (737,212 nm) foram avaliados como padrões internos. Embora Y tenha apresentado melhores resultados na determinação de Cd, ambos foram eficientes para Co, Cr e Pb.

Recentemente, BARROS *et al.*³⁵ investigaram os potenciais ISs Ga, Ge, Pd, Sc e Y para a determinação de 18 elementos (Al, As, Ba, Be, Bi, Ca, Cd, Co, Cr, Cu, Hg, K, Li, Mg, Na, Pb, Sb e Zn) em urina. Os autores demonstraram a complexidade para seleção de padrões internos em ICP-OES e aplicando testes de adição e recuperação observaram que a escolha do IS não estava diretamente relacionada a propriedades físico-químicas similares entre o par analito/IS, mas foi realizada com base nas recuperações. Ao contrário do esperado, Ge e Pd apresentaram melhores resultados que Y, frequentemente usado como IS.

CHIWESHE *et al.*³⁶ também avaliaram os critérios adotados na literatura para a seleção de padrões internos e concluíram que essa é melhor executada quando baseada nas recuperações obtidas que apenas em propriedades físico-químicas similares.

Trabalhos recentes (2018-2022) envolvendo a padronização interna em ICP-OES, bem como os critérios de seleção adotados, estão descritos na Tabela 1.1. Pode-se observar que embora o Y seja amplamente empregado nas análises por ICP, ele não é eficiente para todos os tipos de analitos e amostras, demonstrando a necessidade de estudos prévios de seleção. Além disso, observam-se critérios divergentes adotados para escolha do IS, tais como similaridade nas propriedades físico-químicas, ferramentas quimiométricas, dados de literatura, constituintes do plasma ou experimentos de adição e recuperação. Portanto, embora adotado em muitas aplicações, um estudo mais detalhado sobre seleção e aplicação de padrões internos é essencial para sua viabilização em análises de rotina.

TABELA 1.1- Emprego da padronização interna em ICP-OES e critérios de seleção adotados.

Amostra	Analito	IS	Critério de seleção	Observação	Visão do ICP	Referência
HNO ₃ 1% v v ⁻¹ , HNO ₃ 20% v v ⁻¹ , Na 0,1% m v ⁻¹ e Ca 0,1% m v ⁻¹	Cd, Co, Cr, Cu, Fe, Mn, Ni, Pb e Zn	Y	Estudos prévios e literatura	Os autores compararam a calibração de dois pontos (MMTPC) com EC, SA e IS	SVDV	37
Óleo cru	Fe, Ni e V	Y	Literatura	Y foi usado como padrão interno visando obter uma melhor exatidão	Axial	38
Óleos de motores	Cu, Fe, Zn, P, Mg, B, Si, V, S, Ca, Sn, Mo, Na, Al, K, Mn, Cr, Pb e Ni	Y	-	Os autores avaliaram a aplicabilidade do uso de um IS e/ou digestão da amostra	Radial	39
Plantas	As, Cd, Co, Cu, Fe, La, Li, Mn, Ni, P, Pb, Sc, Sn, Sr, V, Y e Zn	Bi e Pt	São elementos raramente encontrados nas amostras e apresentam linhas de emissão atômica e iônica em ICP	Pt apresentou um melhor desempenho para a maioria dos elementos	Axial	40
Tecidos de Rato	Fe	Y	Literatura	IS foi aplicada com sucesso para análise de diferentes tecidos de rato	Axial	41
Fertilizantes	As, Cd e Pb	Bi, Ir, Sc e Y	Percentuais de recuperação	Y e Sc foram os melhores ISs para As; Ir e Bi para Cd e Ir para Pb	SVDV	42
Ligas de ferro	Al, Si, P, Cu, Sn, Mo, Zr, V, Ti, Mn, Si, Cr, Ni, Fe, Co e As	Cd e Y	Menor desvio padrão relativo	Os IS foram empregados para melhorar a reprodutibilidade dos sinais analíticos	-	43

Amostra	Analito	IS	Critério de seleção	Observação	Visão do ICP	Referência
Lodo	Ti, Cr, Fe, Co, Ni e W	Sc	-	Sc foi usado para melhorar a exatidão do analito W	-	44
Soluções de Ca ou Na	Cd, Co, Cr e Pb	Ar e Y	Ar e Y foram avaliados como possíveis ISs	Y foi o melhor IS para Cd e ambos apresentaram desempenhos similares para Co, Cr e Pb	Axial	34
Águas de campos petrolíferos	P	Ho	-	Ho foi empregado para correção dos efeitos matriciais provenientes dos EIEs	Axial	45
Óleo cru	Ni e V	Bi e Y	-	Y apresentou melhor resultado na correção dos efeitos matriciais	Axial	46
Amostras farmacêuticas líquidas	Ag, As, Au, Ba, Cd, Co, Cr, Cu, Hg, Ir, Li, Mo, Ni, Pb, Pd, Pt, Rh, Ru, Sb, Se, Sn, Tl e V	Bi, Ge e Y	Percentuais de recuperação	Bi foi o melhor IS para Hg, Mo e Rh; Ge foi o melhor para Pd, Se, Sn e Tl e Y foi o melhor IS para Ag, As, Au, Ba, Cd, Co, Cr, Cu, Ir, Li, Ni, Pb, Pt, Ru, Sb e V	Axial	47
Urina	As, Ba, Be, Bi, Ca, Cd, Co, Cr, Cu, Hg, K, Li, Mg, Na, Pb, Sb e Zn	Ga, Ge, Pd, Sc e Y	Percentuais de recuperação	Ge ou Pd foram os melhores ISs para a maioria dos elementos	Axial	35
Chocolate	Ca, Cu, Fe, K, Mg, Mn, P e Zn	Ge, Pd e Y	Recuperações para um CRM de chocolate	Ge foi o melhor IS para Ca, Cu, Fe, Mg, Mn e Zn e Y para K e P	Axial	48

1.3 - Emprego da padronização interna em espectrometria de emissão óptica com plasma induzido por micro-ondas (MIP-OES)

O uso da radiação micro-ondas para a geração de plasma foi descrito em 1951 por COBINE e WILBUR⁴⁹, entretanto, a espectrometria de emissão óptica com plasma induzido por micro-ondas (MIP-OES) somente se consolidou a partir de 2012, quando foi lançado o primeiro equipamento comercial (4100 MP-AES, Agilent Technologies). Em MIP-OES, radiação micro-ondas é gerada por um magnetron e focalizada em uma cavidade contendo o gás por meio de um guia de ondas. O campo eletromagnético é então induzido pela radiação micro-ondas iniciando a ionização desse gás e, conseqüentemente, a geração do plasma.⁵⁰

O instrumento comercial produzido pela Agilent apresenta uma potência fixa de 1,0 kW, baseia-se na cavidade de Hammer, que emprega uma íris ressonante e um plasma elíptico, e é sustentado com gás N₂ que apresenta elevada condutividade térmica e pode ser produzido usando um gerador de nitrogênio, reduzindo custos com a aquisição de gás.⁵¹ Diferentemente do ICP-OES, que emprega um policromador tipo Echelle, o sistema do MIP utiliza um monocromador Czerny-Turner que detecta os sinais sequencialmente, o que indica que o tempo de análise é definido pelo número de analitos a serem determinados. Além disso, a visualização do plasma é axial e a posição de observação pode ser otimizada pelo analista e varia de -120 a +120, sendo zero a região central.⁵²

Algumas características, tais como simplicidade operacional, capacidade multi-elementar, baixo custo, baixo consumo de gás, adequada exatidão para várias aplicações e ampla faixa de determinação (comprimentos de onda entre 160-940 nm), têm tornado o MIP-OES uma ferramenta analítica alternativa ao uso do ICP-OES e um potencial substituto para a espectrometria de absorção atômica.^{5,52} Entretanto, o N₂-MIP apresenta menor temperatura de excitação do plasma (4220-5360 K) e menor densidade eletrônica (0,47-3,72 x

$10^{13} \text{ e}^- \text{ cm}^{-3}$) comparativamente ao Ar-ICP, o que faz com que a maioria dos analitos seja determinado usando linhas atômicas e eleva a possibilidade de ocorrerem efeitos matriciais.⁵ Portanto, a menor energia do plasma pode prejudicar a eficiência de ionização para analitos com maior energia i.e., As, Bi, Hg e P cujas energia de ionização (E_{ion}) são 9,79, 7,28, 10,43 e 10,49 eV, respectivamente.

Embora o MIP-OES forneça resultados adequados, como já salientado, severos efeitos matriciais são esperados e estratégias especiais de calibração são necessárias para garantir precisão e exatidão na análise de matrizes complexas. Nos primeiros anos de seu lançamento, observou-se na literatura algum ceticismo relacionado ao uso da padronização interna, pois os analitos e os padrões internos são medidos com pelo menos 30 s de diferença.⁵³ No entanto, a estratégia foi posteriormente aplicada e percentuais de recuperação adequados foram obtidos conforme será demonstrado nos trabalhos abordados adiante.

Em 2015, NELSON *et al.*⁵⁴ determinaram Ca, Fe, K, Na, Ni e V em óleo cru. O óleo bruto foi diluído em o-xileno e posteriormente agitado magneticamente por 30 min e as estratégias MMC e IS foram empregadas simultaneamente para corrigir os efeitos matriciais. Valores de RSD menores que 1,5% e recuperações entre 97 % e 108 % foram obtidos usando Sc II (335,372 nm) como IS.

POIRIER *et al.*⁵⁵ também empregaram Sc II (335,372 nm) como IS para determinação de Ca II (396,847 nm), Fe II (259,940 nm), K I (769,897 nm), Mo I (313,259 nm), Na I (588,995 nm), Ni I (341,476 nm) e V II (311,070 nm) em frações de petróleo diluídas em o-xileno nas proporções de 1:20 até 1:200 v v⁻¹ e as recuperações variaram de 99,2 a 115% para os experimentos de adição e recuperação.

KARLSSON *et al.*⁵⁶ avaliaram o uso de três padrões internos, i.e., La II (394,910 nm), Lu II (261,542 nm) e Y II (371,029 nm) e um supressor de

ionização (CsNO_3) para determinação de 18 analitos em amostras vegetais (*Helianthus annuus*). As amostras foram digeridas em forno de micro-ondas com HNO_3 concentrado. O método não foi eficiente para a quantificação de As, Co e Mo devido às concentrações abaixo dos respectivos limites de detecção. A calibração externa juntamente com o supressor de ionização foi suficiente para a determinação dos EIEs (Ca, K, Mg e Na). Para os elementos traço, Y foi empregado como IS para V e Ba, Lu para Cu, Zn e Pb e La como IS para Co.

GONCALVES *et al.*⁵⁷ propuseram a análise por diluição padrão (SDA) para a determinação de sete analitos (Al, Co, Cr, Cu, Mn, Ni e Zn) em bebidas variadas i.e., chá, uísque, cerveja, café, energético e cachaça e a estratégia foi comparada aos métodos tradicionais, i.e. EC, IS e SA. Ítrio foi avaliado como padrão interno e as recuperações obtidas variaram entre 95-123 % para EC, 94-127 % para IS, 101-122 % para SA e 90-99 % para SDA.

ALTHOFF *et al.*⁵⁸ também reportaram o uso de diferentes estratégias de calibração para a determinação de Al, Cr, Co, Cu, Fe, Mn, Ni e Zn em antisséptico oral, colírio e xarope. Ítrio foi novamente empregado como padrão interno. As amostras de colírio e antisséptico oral foram diluídas quatro vezes em HNO_3 1% v v⁻¹ enquanto o xarope foi digerido empregando HNO_3 e H_2O_2 . As recuperações para antisséptico oral variaram de 93,70–212,00% para EC, 85,60–163,90% para IS, 55,00–117,40% para SA e 86,40–113,00% para SDA. Para o colírio, as recuperações encontraram-se na faixa de 66,70–96,30% para EC, 106,50–154,40% para IS, 65,80–112,20% para SA e 94,30–101,90% para SDA. Para o xarope infantil, as recuperações foram de 93,60–114,10%, 90,60–122,50%, 91,70–108,50% e 92,20–99,60% para EC, IS, SA e SDA, respectivamente.

ESPERANZA *et al.*⁵⁹, baseados nas propriedades físico-químicas semelhantes, empregaram Te I (214,281 nm e E_{sum} 5,78 eV) como IS para a determinação de As I (228,812 nm e E_{sum} 5,42 eV) por geração de hidreto em

tortilhas mexicanas de milho e uma recuperação média de 101% foi obtida em experimentos de adição e recuperação.

MATUSIEWICZ e ŚLACHCIŃSKI⁶⁰ reportaram o uso de Ge I (303,907 nm) como IS para a determinação de As I (228,811 nm), Bi I (223,061 nm), Sb I (217,582 nm), Se I (196,085 nm) e Sn I (242,949 nm) devido à sua concentração abaixo do limite de detecção nas amostras de material certificado (NIST 2710, NRCC DOLT-2 e NIST 1643e) e por sua capacidade de gerar hidretos. Valores de concentração próximos ao certificado e RSD na faixa de 2 a 3% demonstraram a aplicabilidade do IS.

PIRES *et al.*⁶¹ avaliaram diferentes elementos, i.e. Be, Ga, In, Sc e Y, como ISs para a determinação de 18 analitos em cervejas. O preparo de amostras consistiu na diluição com HNO₃ 1,0 mol L⁻¹ na proporção de 1:4 v v⁻¹. O comportamento de cada IS foi estabelecido considerando o limite de detecção, limite de quantificação e exatidão e os melhores resultados foram obtidos empregando Be II (313,107 nm) como IS para Al I (396,152 nm) e Sr II (407,771 nm); Be I (265,062 nm) para Cr I (425,433 nm); Be I (234,861 nm) para Fe I (371,993 nm), Mn I (403,076 nm) e Zn I (213,857 nm); Ga I (417,204 nm) para Ni I (352,454 nm), Ca II (317,933 nm) e Mg I (518,360 nm); Ga I (294,364 nm) para Na I (330,237 nm); In II (230,606 nm) para Ba II (455,403 nm) e Cu I (324,754 nm); e In I (325,608 nm) para K I (769,897 nm).

CARNEIRO *et al.*⁶² determinaram Al, Ba, Cu, Cr, P, Ni, Ti, e Zn em óleos comestíveis empregando extração induzida por quebra de emulsão. Os autores usaram um planejamento experimental de mistura para obtenção da melhor condição experimental e o melhor resultado foi obtido com 1,0 mL de HNO₃ 30 % v v⁻¹, 1,0 mL de Triton-X 100 30 % m v⁻¹ e 3,0 mL da amostra. Berílio, Ga e Y foram avaliados como padrões internos e Be foi selecionado como IS para Al, Ba e Cr que foram afetados por efeitos matriciais. Recuperações entre 90 % e 106 % foram observadas para todos os analitos.

SLOOP *et al.*³⁷ propuseram uma estratégia de calibração de dois pontos com base na análise de diluição padrão e os resultados foram comparados com calibração externa, padronização interna e adição de padrão para determinação de Cd, Co, Cr, Cu, Fe, Mn, Ni, Pb e Zn nas matrizes: 1% v v⁻¹ HNO₃, 20% v v⁻¹ HNO₃, 0,1% m v⁻¹ Na e 0,1% m v⁻¹ Ca. Ítrio foi empregado como IS e recuperações satisfatórias foram obtidas para as amostras contendo HNO₃ 1% v v⁻¹ (94,8-103 %) e HNO₃ 20% v v⁻¹ (93,5-104 %). Entretanto, para as amostras contendo Na e Ca, Y não foi eficiente para corrigir os efeitos matriciais para todos os analitos e as recuperações variaram entre 47,7-187 % e 55,6 -118 %, respectivamente.

Uma abordagem recentemente proposta baseia-se no uso de espécies moleculares naturalmente presentes no plasma de nitrogênio (M) i.e, CN, OH, N₂, N₂⁺, para correção de efeitos matriciais. As relações matemáticas analito/M e analito x M são utilizadas quando ambos se comportam similarmente ou de forma oposta, respectivamente. LOWERY *et al.*⁶³ empregaram as espécies moleculares do plasma de nitrogênio N₂⁺ (391,470 nm) e OH (308,958 nm) como ISs ao determinar Ca, K, Mg e Na em biodiesel e os melhores resultados foram alcançados usando a razão de sinais Mg/OH e Na/OH e o produto de sinais Ca x N₂⁺ e K x OH.

SILVA *et al.*⁶⁴ avaliaram os elementos Co I (340,51 nm) e Te I (214,28 nm) e as espécies moleculares N₂⁺ (391,470 nm) e OH (308,958 nm) como padrões internos para a determinação de P I (213,62 nm) na fração lipídica da carne. Recuperações de 126 e 94 % foram obtidas empregando a multiplicação de sinais para as espécies N₂⁺ e OH, respectivamente, enquanto a razão de sinal não foi eficiente quando empregada para as espécies moleculares. Baseado nas propriedades físico-químicas similares, o elemento Te também apresentou resultados satisfatórios com recuperação de 95 %. Dessa forma, a espécie

molecular OH e Te foram aplicados como ISs para determinação de P em carnes de frango, peixe, cordeiro e bovina.

Como demonstrado a padronização interna tem sido utilizada para correção dos efeitos matriciais em MIP-OES em aplicações variadas. Todavia, a seleção de padrões internos é um desafio quando critérios diferenciados podem ser adotados para seleção e principalmente quando vários analitos serão determinados.

CAPÍTULO 2 -

Objetivos

OBJETIVOS

2.1 - Objetivos Gerais

Desenvolver estratégias analíticas que permitam a seleção eficiente de padrões internos para análise elementar em métodos instrumentais com plasma induzido (ICP-OES e MIP-OES) para a determinação quantitativa de macro e microelementos em matrizes complexas, por exemplo com elevados teores de elementos facilmente ionizáveis e/ou carbono.

2.2 - Objetivos Específicos

- Avaliar interferências matriciais oriundas da matriz biológica urina no sinal analítico de quatorze elementos (Al, As, Ba, Be, Bi, Ca, Cd, Co, Cr, Cu, Li, Mg, Pb e Sb) por MIP-OES e verificar a aplicabilidade da padronização interna juntamente com três níveis de diluição para correção dos efeitos.
- Investigar interferências não espectrais provenientes de duas fontes de carbono, ou seja, etanol e ácido oxálico sob o sinal analítico de Al, As, Ca, Cd, Cu, Fe, Hg, Mg, P e Pb por MIP-OES e avaliar a padronização interna e o módulo de controle de gás externo (EGCM) como estratégias de correção.
- Verificar diferentes estratégias de calibração para correção dos efeitos matriciais provenientes de bebidas isotônicas e energéticas nos sinais analíticos de 18 elementos (Al, As, B, Ca, Cd, Co, Cr, Cu, Fe, K, Mg, Mn, Na, P, Pb, Si, Sr e Zn) por ICP-OES e MIP-OES.

CAPÍTULO 3 -

Análise de urina por MIP-OES: desafios e estratégias para correção de efeitos matriciais

ANÁLISE DE URINA POR MIP-OES: DESAFIOS E ESTRATEGIAS PARA CORREÇÃO DE EFEITOS MATRICIAIS

3.1 – Revisão Bibliográfica

O controle de elementos traço em fluidos e tecidos biológicos é importante pois permite a identificação de doenças e possíveis contaminações com elementos considerados perigosos, e.g. arsênio, cádmio, mercúrio e chumbo.⁶⁵ Urina tem sido empregada como biomarcador em estudos de monitoramento humano por ser um método não invasivo e que permite acesso à uma ampla variedade de informações, dentre eles, o perfil nutricional e exposição recente.⁶⁶

O Ministério da Saúde do Brasil, com o intuito de controlar a exposição por alguns elementos, estipulou em 13 de março de 2014 por meio da Resolução da Diretoria Colegiada (RDC) n° 11 - Portaria n° 422, o limite máximo permitido (LMP) de elementos traço em água para diálise.⁶⁷ O Programa de Controle Médico de Saúde Ocupacional (PCMSO), por sua vez, impôs em sua Norma Regulamentadora – NR7 n° 1.892, de 09 de dezembro de 2013, limites para elementos considerados tóxicos na urina como estratégia para controle da exposição excessiva,⁶⁸ conforme apresentado na Tabela 3.1.

A urina apresenta uma matriz complexa, com elevado teor de sólidos dissolvidos, TSD, elementos facilmente ionizáveis (Ca, K, Mg e Na), ureia, ácido úrico, bicarbonato e creatinina, o que torna sua análise suscetível às interferências matriciais.⁶⁹ Os efeitos matriciais causados pela matriz urinária são bem conhecidos na literatura para ICP-OES e ICP-MS e alguns trabalhos serão abordados.

TABELA 3.1- Limites máximos permitidos de elementos traço na urina e em solução de diálise (BARROS *et al.*⁶⁹).

Elemento	LMP ($\mu\text{g L}^{-1}$)
Ag	5*
Al	10*
As	5* and 0,0317**
Be	0,4*
Cd	1* and 0,012**
Cr	14*
Hg	0,2* and 0,030**
Pb	5* and 27*
Sb	6*
Se	90*
Tl	2*

* Resolução da Diretoria Colegiada (RDC) n° 11 - Portaria n° 422.

** Limites máximos permitidos pela Resolução NR7 n° 1.892 calculado assumindo a menor concentração permitida de creatinina na urina (6 mg L^{-1}).

BURDEN *et al.*⁷⁰ propuseram um procedimento baseado na diluição de amostras de urina em $0,22 \text{ mol L}^{-1} \text{ HNO}_3$ e posterior aquecimento a $40 \text{ }^\circ\text{C}$ para determinação de Al por ICP-OES. Os autores avaliaram a estratégia de calibração externa e recuperações acima de 120 % foram observadas, enquanto recuperações entre 95 e 108 % foram obtidas empregando adição de padrão.

BARROS *et al.*³⁵ determinaram 18 elementos em urina por ICP-OES e experimentos de adição e recuperação foram realizados visando avaliar os efeitos matriciais. A análise direta foi usada para a maioria dos elementos, enquanto um fator de diluição de 10 vezes foi empregado para Na e K e de 20 vezes em meio de HNO_3 1,0% v v⁻¹ para Ca e Mg. Os autores observaram um aumento dos sinais analíticos para todos os elementos, exceto Ca e K. A padronização interna (Ga, Ge, Pd, Sc e Y) e a calibração por múltiplas energias (MEC) foram comparadas. Germânio e Pd apresentaram os melhores resultados,

porém, não houve um único IS capaz de corrigir os efeitos matriciais para todos os analitos.

BATISTA *et al.*⁷¹ avaliaram a diluição da matriz urinária em HNO₃ 0,5 % v v⁻¹ e Triton X-100 0,005% v v⁻¹ para a determinação de 16 analitos por ICP-MS. Os elementos Rh, Ir e Y foram adicionados a um material certificado de urina e avaliados como ISs e os melhores resultados foram obtidos quando Rh foi usado como IS para Al, Ba, Be, Cd, Co, Cu, Mn, Ni, Pb, Pt, Sb, Se, Sn e U; Ir para Tl e Y para Cs. Posteriormente, as amostras foram analisadas empregando compatibilização de matriz juntamente do melhor IS para cada analito.

BARROS *et al.*⁶⁹ determinaram ⁷⁵As, ¹¹²Cd, ²⁰²Hg e ²⁰⁸Pb em urina diluída 2 vezes com 0,14 mol L⁻¹ HNO₃ e avaliaram o desempenho do dispositivo denominado como introdução de alta matriz (HMI) para melhorar a tolerância do ICP-MS à matriz juntamente com os possíveis padrões internos ⁷Li, ⁴⁵Sc, ⁷⁴Ge, ²⁰⁹Bi, ¹⁹³Ir, ¹⁰³Rh, ¹⁹⁵Pt e ²⁰⁵Tl. Os melhores resultados para As foram obtidos sem IS e para Cd, Hg e Pb as melhores recuperações foram obtidas com Bi, Tl e Pt como IS, respectivamente. Considerando que Tl e Bi podem ser encontrados em amostras de urina, os autores decidiram empregar Pt como IS nas análises subsequentes e recuperações entre 82 e 108 % foram observadas para diferentes níveis de adição.

Recentemente, ROONEY *et al.*⁷² efetuaram um estudo de biomonitoramento de ²⁷Al, ⁷⁵As, ¹¹²Cd, ⁵²Cr, ⁶⁵Cu, ²⁰²Hg, ⁵⁵Mn, ²⁰⁸Pb e ⁷⁷Se na população irlandesa usando ICP-MS. As amostras de urina foram inicialmente centrifugadas por 15 min e posteriormente diluídas na proporção de 1:5 v v⁻¹ com HNO₃ 0,5 % v v⁻¹. ¹⁰³Ródio foi adicionado a cada amostra em uma concentração final de 1 µg L⁻¹ e empregado como IS e os LODs (ng L⁻¹) obtidos para cada analito na urina não diluída foram: Al 3, As 8, Cd 1,5, Cr 1,5, Cu 1,5, Hg 1,5, Mn 1,5, Pb 1,5 e Se 16.

Embora existam diversos trabalhos envolvendo a análise de urina por ICP-OES e ICP-MS, esse estudo ainda não foi efetuado em MIP-OES e os efeitos matriciais em um plasma de nitrogênio ainda são desconhecidos. Considerando-se a menor temperatura e densidade eletrônica do plasma comparado com um típico Ar-ICP, efeitos matriciais pronunciados são esperados. Segundo SERRANO *et al.*⁷³, o MIP-OES é suscetível a interferências não espectrais causadas por EIEs e os autores observaram um aumento ou supressão de sinal para linhas atômicas e iônicas de diferentes analitos quando Ca foi adicionado em solução.

O estudo mencionado confirma a necessidade de maiores investigações sobre os efeitos da matriz urina em MIP-OES juntamente com estratégias de correção apropriadas para a obtenção de exatidão. Considerando que o desempenho da estratégia depende da seleção eficiente do IS, uma melhor compreensão do comportamento dos analitos e padrões nas amostras é essencial para a obtenção de resultados exatos.

3.2 - Objetivos

Investigar interferências não espectrais provenientes da matriz urina sobre o sinal de quatorze analitos (Al, As, Ba, Be, Bi, Ca, Cd, Co, Cr, Cu, Li, Mg, Pb e Sb) e duas estratégias de correção, i.e., a padronização interna e a diluição da amostra. Esses elementos foram escolhidos com base em seus efeitos sobre a saúde humana, ou seja, elementos essenciais (Ca, Co, Cr e Mg), terapêuticos (Li e Bi), não essenciais (Be e Sb) e potencialmente tóxicos (As, Al, Cd e Pb). Alguns elementos, como Hg, não foram determinados devido à insuficiente sensibilidade do MIP-OES.

3.3 - Parte Experimental

3.3.1 - Instrumentação

Um MIP-OES modelo 4200 (Agilent Technologies, Melbourne, Austrália) juntamente com um gerador de gás nitrogênio foi utilizado durante a realização dos experimentos. Como sistema de introdução de amostra empregou-se um nebulizador do tipo Mira Mist e uma câmara de nebulização ciclônica de dupla passagem. Nas Tabelas 3.2 e 3.3 são apresentadas as condições operacionais utilizadas e os parâmetros instrumentais para cada analito, respectivamente. A visão de observação e vazão do gás de nebulização foram otimizadas pelo instrumento para cada analito e padrão interno usando uma solução de urina diluída 2 vezes contendo os elementos adicionados na concentração de 1,0 mg L⁻¹, visando estabelecer a melhor razão sinal/ruído para cada um deles.

TABELA 3.2- Condições operacionais para análise de urina por MIP-OES.

Parâmetro instrumental	Condição operacional
Frequência do micro-ondas (MHz)	2450
Potência do micro-ondas (kW)	1,0
Tempo de integração (s)	3
Tempo de estabilização (s)	15
Número de réplicas	3
Correção do sinal de fundo	Automática para espécies inorgânicas e desligada para espécies moleculares
Nebulizador	Mira mist
Câmara de nebulização	Ciclônica

Os elementos Ga, Ge, Pd, Rh, Sc e Y foram avaliados como potenciais padrões internos e, conforme sugerido por WILLIAMS *et al*⁷⁴., espécies moleculares do plasma de nitrogênio CN, OH, N₂⁺ e N₂ também foram avaliadas usando as linhas de emissão de Fe I 387,137 nm, Tb II 308,958 nm, Nb I 391,470 nm e Ti I 337,043 nm, respectivamente.

TABELA 3.3- Parâmetros instrumentais empregados para cada analito e IS na análise de urina.

Elemento	Comprimento de onda, nm	Posição de visualização	Vazão do gás de nebulização L min ⁻¹
Al I	396,152	10	0,95
As I	228,812	0	0,75
Ba II	455,403	10	1,0
Be I	234,861	0	0,75
Bi I	472,255	0	0,75
Ca II	396,847	10	1,0
Cd I	228,802	0	1,0
CN (Fe I)	387,137	-10	0,30
Co I	240,725	0	0,75
Cr I	357,820	0	0,90
Cu I	324,754	0	1,0
Ga I	417,204	10	0,75
Ge I	303,907	20	0,75
Li I	670,784	40	0,75
Mg I	383,829	10	0,90
Mg II	280,271	0	0,90
N ₂ (Ti I)	337,043	120	0,30
N ₂ ⁺ (Nb I)	391,470	-10	0,30
OH (Tb II)	308,970	110	0,80
Pb I	363,957	0	0,75
Pd I	340,458	-20	0,80
Rh I	343,489	0	0,75
Rh I	365,799	0	0,75
Sb I	217,581	-10	1,0

Sc I	391,182	10	0,75
Sc II	424,682	-10	0,75
Y II	371,029	-10	0,75
I- Linha atômica, II- Linha iônica.			

3.3.2 - Reagentes, soluções e amostras

Empregou-se água desionizada com resistividade superior a 18,2 MΩ cm, purificada em um sistema Milli Q® (Millipore, Bedford, MA, EUA), no preparo de todas as soluções. O ácido nítrico (HNO₃, Synth, Diadema, SP, Brasil) foi empregado após destilação abaixo da temperatura de ebulição com um Distillacid™ BSB-939-IR (Berghof, Eningen, Alemanha). Todos os frascos e vidrarias foram previamente descontaminados em HNO₃ 10 % v v⁻¹ por 24 h.

Soluções estoque monoelementares de Al, As, Ba, Be, Bi, Ca, Cd, Co, Cr, Cu, Li, Mg, Pb e Sb na concentração de 1000 mg L⁻¹ (SpecSol, Quimlab, Jacareí, SP, Brasil) foram apropriadamente diluídas em 0,14 mol L⁻¹ HNO₃ para preparo das soluções analíticas de referência e para os experimentos de adição e recuperação. Soluções de referência nas concentrações de 0,20, 0,40, 0,60, 1,0, 2,0 e 3,0 mg L⁻¹ foram preparadas em meio aquoso (0,14 mol L⁻¹ HNO₃) e em meio urinário considerando as diluições de 2, 20 ou 200 vezes. Os macroelementos Ca e Mg foram determinados nas amostras de urina diluídas de 20 e 200 vezes e os demais analitos nos três níveis de diluição (2, 20 e 200 vezes). Os resultados foram comparados com aqueles obtidos em meio aquoso.

Soluções monoelementares de Ga, Ge, Pd, Rh, Sc e Y (SpecSol, Quimlab) foram diluídas e uma concentração final de 1,0 mg L⁻¹ de cada potencial IS foi adicionada a todas as soluções analíticas de referência, brancos e amostras e as recuperações foram avaliadas por experimentos de adição e recuperação em seis níveis de concentração (0,20, 0,40, 0,60, 1,0, 2,0 e 3,0 mg L⁻¹). Valores de recuperação aceitáveis foram considerados entre 80 e 120%.⁷⁵

3.3.3 - Preparo de amostra

A urina de um indivíduo saudável foi coletada pela manhã em um frasco de polipropileno descontaminado e, posteriormente, acidificada com $0,28 \text{ mol L}^{-1} \text{ HNO}_3$ e estocada sob refrigeração até a execução dos experimentos. No preparo das soluções para os três níveis de diluição foi empregada água ultrapura e a concentração de HNO_3 foi mantida em $0,14 \text{ mol L}^{-1}$ para evitar a formação de precipitados.

3.4 - Resultados e discussão

Tipicamente, urina apresenta elevado teor de sólidos dissolvidos, aproximadamente 3 % m v⁻¹,⁶⁹ o que pode causar obstrução ou acúmulo de sais na tocha, prejudicando a análise. Portanto, para manter a integridade do instrumento, a menor diluição empregada foi de 2 vezes e os efeitos matriciais foram avaliados.

3.4.1 - Avaliação de efeitos matriciais

A comparação entre as inclinações das curvas analíticas em meio aquoso e em meio contendo a matriz é uma estratégia comumente empregada na literatura para a verificação de efeitos matriciais.³⁵ Dessa forma, inclinações das curvas analíticas foram estabelecidas em ambos os meios e avaliou-se a existência de diferenças significativas através do teste t Student ao nível de confiança de 95%.

As inclinações obtidas em meio aquoso (0,14 mol L⁻¹ HNO₃) e em urina diluída 2 vezes são apresentadas na Tabela A1 do Apêndice e considerando os valores para Cu, por exemplo, uma diferença de 1,1 vezes foi observada entre o meio aquoso (81413 ± 868) e urinário (73912 ± 299), o que indicaria a ocorrência de efeitos matriciais. Entretanto, quando se verificaram os resultados de adição e recuperação em diferentes concentrações, os valores de recuperação variaram entre 91 e 96 %, não sendo necessário o emprego da padronização interna como estratégia de correção, conforme demonstrado na Tabela 3.4.

Um comportamento semelhante foi observado para Al e As na diluição de 20 vezes (Tabela A2) e para Ca na diluição de 200 vezes (Tabela A3). Apesar das inclinações serem estatisticamente diferentes entre os meios e indicarem efeitos matriciais, percentuais de recuperação adequados (80-120 %) foram observados.

TABELA 3.4 - Recuperações e desvios padrão relativos (%) para cada analito em urina diluída 2 vezes empregando EC e IS (média e SD, n = 3).

Nível (mg L ⁻¹)	Al 396,152 nm		As 228,812 nm		Ba 455,403 nm		Be 234,861 nm		Bi 472,255 nm	
	EC	IS Ga	EC	IS OH	EC	IS OH	EC	IS OH	EC	IS Rh
0,2	149 (8)	120 (7)	77,5 (0,6)	105 (2)	57,4 (0,4)	83,3 (0,7)	69 (1)	99 (1)	< LOQ*	< LOQ*
0,4	144 (1)	105 (2)	77 (1)	100 (2)	60,9 (0,3)	84,1 (0,6)	72,0 (0,6)	97 (1)	118 (5)	< LOQ*
0,6	156 (3)	108 (1)	78 (1)	101 (1)	65,8 (0,4)	88,4 (0,7)	74,2 (0,5)	98,1 (0,5)	132 (11)	< LOQ*
1,0	156 (3)	105 (2)	75,8 (0,7)	98 (1)	67,3 (0,8)	89 (1)	72,7 (0,7)	95,1 (0,8)	137 (2)	105 (2)
2,0	155 (4)	100 (2)	75,0 (0,5)	97,8 (0,9)	68,0 (0,1)	89,4 (0,3)	71,2 (0,5)	93,3 (0,2)	132 (5)	101 (4)
3,0	150 (6)	100 (2)	75,4 (0,6)	100 (1)	68,4 (0,5)	91,6 (0,9)	70,7 (0,5)	94 (1)	128 (3)	101 (2)
Nível (mg L ⁻¹)	Cd 228,802 nm		Co 240,725 nm		Cr 357,820 nm		Cu 324,754 nm		Li 670,784 nm	
	EC	IS OH	EC	IS	EC	IS Rh	EC	IS	EC	IS Rh
0,2	50,8 (0,6)	75,9 (0,4)	95 (3)	-	140 (2)	106 (6)	96 (1)	-	139 (8)	106,0 (0,3)
0,4	54,7 (0,1)	75,0 (0,3)	106,0 (0,9)	-	145 (3)	99 (3)	91,5 (0,2)	-	140 (3)	96 (3)
0,6	57,8 (0,5)	77 (1)	109,6 (0,5)	-	160 (4)	108 (5)	93,6 (0,9)	-	151,2 (0,9)	102 (2)
1,0	57 (2)	75 (2)	110 (1)	-	158 (3)	102 (2)	93 (1)	-	151 (4)	98 (3)
2,0	57,9 (0,8)	76,0 (0,8)	105,3 (0,3)	-	158 (5)	100 (2)	91,0 (0,8)	-	152 (7)	96 (3)
3,0	59 (1)	78 (2)	100 (1)	-	154 (5)	99,3 (0,8)	90,9 (0,7)	-	147 (6)	95 (2)
Nível (mg L ⁻¹)	Pb 363,957 nm				Sb 217,851 nm					
	EC		IS Ga		EC		IS			
0,2	123 (9)		94 (10)		23 (10)		-			
0,4	146 (3)		103 (3)		25 (4)		-			
0,6	146 (6)		99 (4)		37 (7)		-			
1,0	149 (3)		99,0 (0,3)		49 (2)		-			
2,0	149 (2)		96 (2)		58 (1)		-			
3,0	147 (4)		97 (1)		61,6 (0,3)		-			

*Os valores LOD foram mostrados na Tabela 3.10.

3.4.2 - Efeito da urina diluída 2 vezes sobre os sinais analíticos

A diluição da urina em 2 vezes foi avaliada e os resultados obtidos para os seis níveis de concentração foram apresentados anteriormente na Tabela 3.4. Considerando a concentração de $1,0 \text{ mg L}^{-1}$ para cada elemento, as recuperações obtidas e a influência do meio urinário sobre as intensidades relativas (I_{rel}) são apresentadas nas Figuras 3.1 e 3.2, respectivamente. A I_{rel} compreende a razão entre os sinais analíticos obtidos no meio contendo a matriz e no meio aquoso.

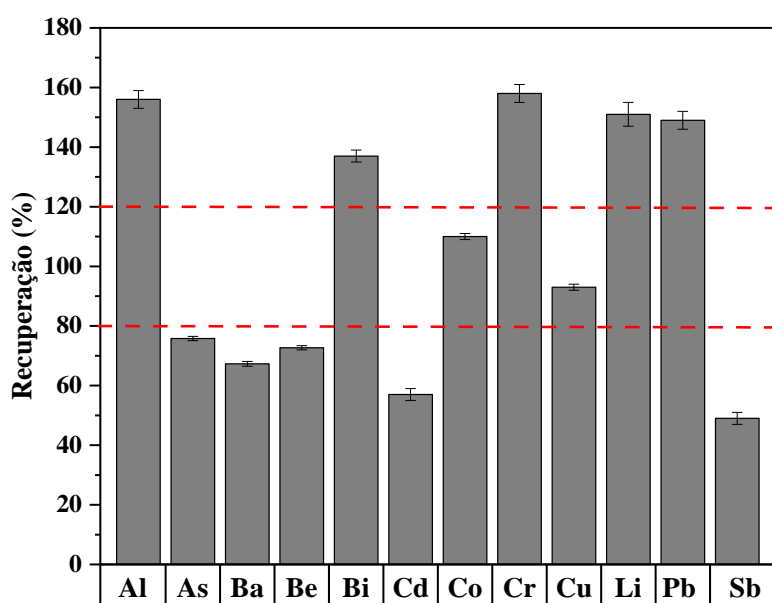


FIGURA 3.1- Recuperação obtida para cada elemento adicionado na concentração de $1,0 \text{ mg L}^{-1}$ em urina diluída 2 vezes.

Um aumento dos sinais analíticos, ($I_{\text{rel}} > 1,2$ e recuperações superiores a 120 %) foi observado para as linhas atômicas de Al (396,152 nm), Bi (472,255 nm), Cr (357,820 nm), Li (670,784 nm) e Pb (363,957 nm). Por outro lado, supressões de sinais (i.e. $I_{\text{rel}} < 0,8$ e recuperações menores que 80%) foram observadas para As I (228,812 nm), Ba II (455,403 nm), Be I (234,861 nm), Cd I (228,802 nm) e Sb I (217,581 nm). Apenas Co I (240,725 nm) e Cu I (324,754

nm) apresentaram valores adequados de recuperação na faixa de 80-120 %. Dessa forma, constata-se que o efeito da matriz urinária varia de elemento para elemento, uma vez que alguns deles apresentaram aumento de sinal (Al, Bi, Cr, Li e Pb) e, outros, supressão de sinal (As, Ba, Be, Cd e Sb) quando comparado ao meio aquoso.

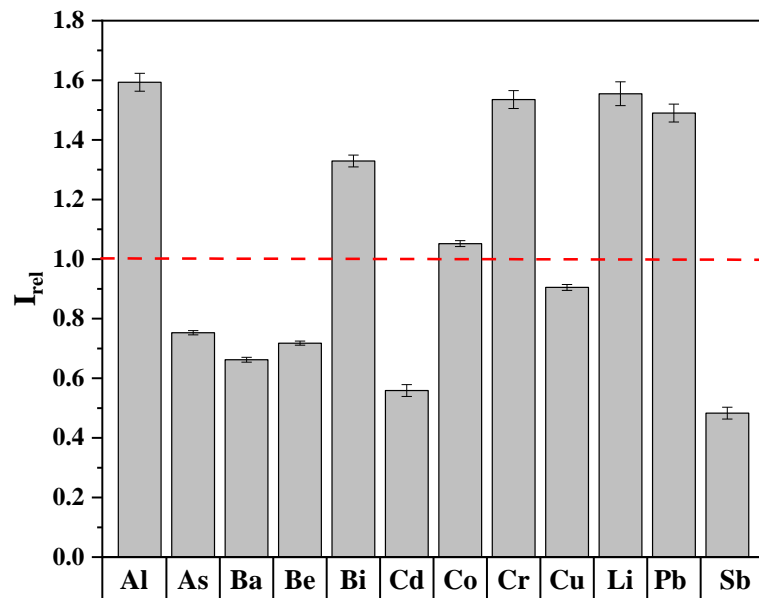
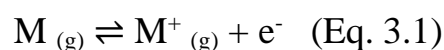


FIGURA 3.2 - Influência da urina diluída de 2 vezes sobre a intensidade relativa (I_{rel}) obtida para cada analito.

A supressão de sinal para Ba (E_{sum} 7,93 eV) medido em uma linha de emissão iônica e os aumentos de sinais para Al, Bi, Cr, Li e Pb medidos em linhas de emissão atômicas ($E_{sum} < 4$ eV) podem ser explicados pela presença dos EIEs Na e K na urina, que são conhecidos por causar modificações no plasma, principalmente um aumento na densidade eletrônica (n_e) e, conseqüentemente, mudanças no equilíbrio de ionização favorecendo a formação de espécies neutras, representado por linhas atômicas, conforme a Equação 3.1:⁷⁶



onde, M representa o átomo do analito no estado gasoso, M^+ , o íon formado e e^- , o elétron.

SERRANO *et al.*⁷³ ao avaliarem os efeitos matriciais causados pela adição de Ca sobre os sinais analíticos de As, Co, Cu, Mg, Mn, Mo, Sc, Se, Sr e Zn, observaram que os efeitos estavam diretamente relacionados à energia da linha de emissão, ou seja, elementos medidos em linhas atômicas com E_{sum} menores que 3,26 eV apresentaram aumento de sinal, enquanto as demais linhas atômicas e iônicas foram suprimidas. Portanto, para verificar a relação entre a energia das linhas de emissão e os efeitos matriciais causados pela urina, empregou-se a análise de componentes principais (PCA) considerando a I_{rel} , o desvio padrão (SD) e a E_{sum} , conforme mostrado pela Figura 3.3.

A PCA é comumente empregada para identificar similaridades entre amostras ou analitos e os dados são projetados em matrizes menores a partir da matriz original usando *scores* (amostras) e *loadings* (variáveis) e esses informam a distribuição das amostras e a importância das variáveis, respectivamente.⁷⁷ Os dois primeiros componentes principais (PC1 e PC2) explicaram 91,3 e 8,7 % da variância dos dados e valores de *scores* negativos na PC1 foram observados para os elementos que apresentaram aumento de sinal na presença da matriz, Li (-1,93), Al (-1,45), Bi (-1,23), Cr (-1,22) e Pb (-1,17). Por sua vez, valores positivos foram obtidos para Ba (2,11), Sb (1,47), Cd (1,23), Be (0,90) e As (0,90), elementos que apresentaram supressão de sinal. Os elementos Co (0,04) e Cu (-0,02), que apresentaram recuperações aceitáveis na presença de urina, mostraram valores de *scores* próximos a zero.

Considerando que a primeira componente principal explica a maioria dos dados (91,3 %), esses podem ser racionalizados por um gráfico 3D projetando a I_{rel} , SD e E_{sum} para cada elemento, conforme demonstrado pela Figura 3.4. Relacionando a energia total das linhas de emissão apresentadas na Tabela A4 e os dados da PCA, os elementos podem ser classificados em cinco grupos. O primeiro grupo é composto por Li e Bi, apresentam I_{rel} entre 1,3 e 1,5 e baixos valores de E_{sum} (1-2 eV). O segundo grupo é constituído por Al, Cr e Pb,

elementos que apresentam I_{rel} entre 1,5 e 1,6 e E_{sum} de aproximadamente 3 eV. Os elementos Co e Cu constituem o terceiro grupo e apresentam I_{rel} entre 0,9 e 1,1 e energias de 4 a 5 eV. O quarto grupo é composto pelos elementos que apresentaram supressão de sinal, As, Be, Cd e Sb com energias entre 5 e 6 eV e I_{rel} 0,4-0,8. O último grupo é constituído por Ba medido em uma linha de emissão iônica, apresenta I_{rel} em torno de 0,66 e E_{sum} de 7,93 eV.

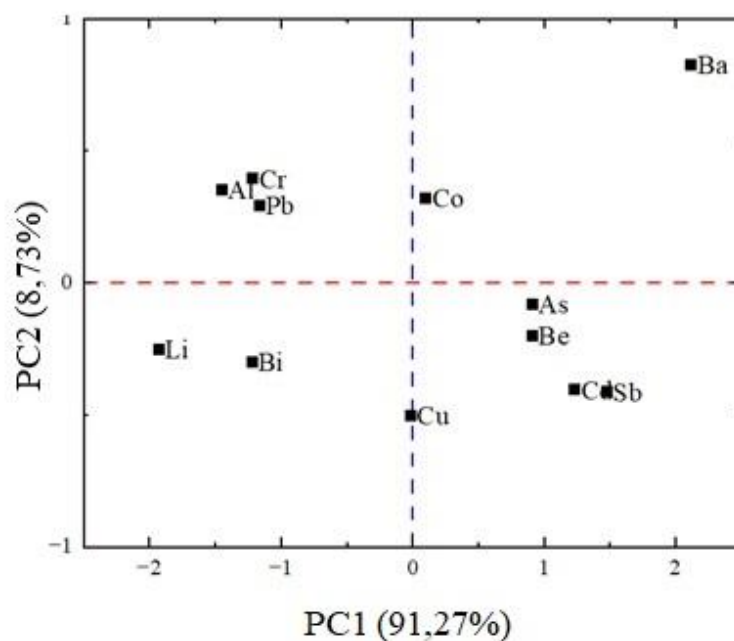


FIGURA 3.3- Representação PCA obtida para cada analito em urina diluída 2 vezes.

Assim como reportado por SERRANO *et al.*⁷³, também foi observado neste estudo um aumento do sinal analítico para os elementos com E_{sum} menores que 3,26 eV (Al, Bi, Li e Pb) na presença de urina. Entretanto, os autores relataram uma supressão de sinal para as demais linhas de emissão testadas enquanto, no presente estudo, a supressão de sinal foi observada apenas para analitos com energia entre 5 e 8 eV (As, Be, Cd, Sb e Ba).

Os resultados confirmam a dificuldade de analisar uma matriz complexa como a urina e reforçam que os efeitos matriciais causados

principalmente pelos EIEs não são iguais entre os analitos em MIP-OES e não podem ser explicados por um único processo.⁷⁸⁻⁸⁰

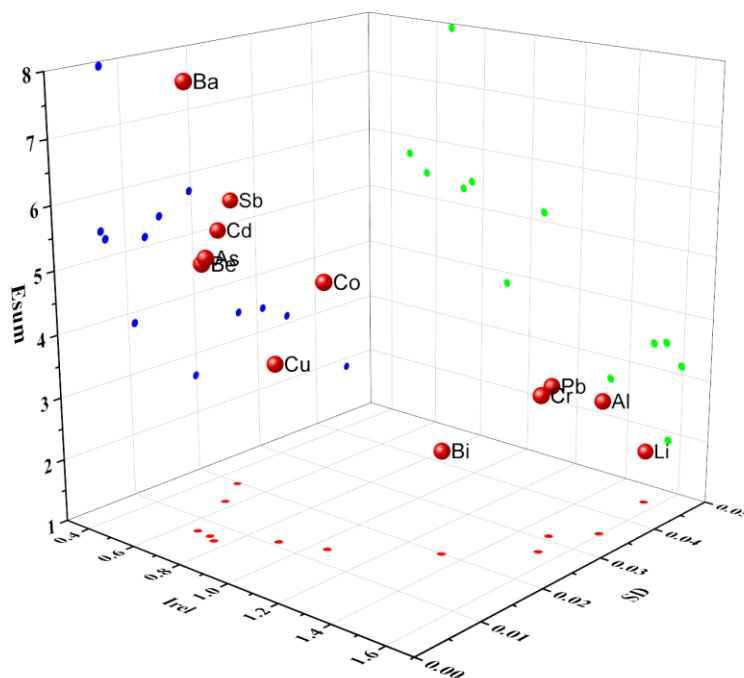


FIGURA 3.4- Relação entre I_{rel} , SD e E_{sum} para cada analito em urina diluída 2 vezes.

3.4.3 - Efeito da urina diluída 20 vezes sobre os sinais analíticos

A fim de verificar o efeito da diluição sobre o comportamento da padronização interna e como estratégia para correção dos efeitos matriciais, avaliou-se a diluição de 20 vezes e os dados para as diferentes concentrações adicionadas são apresentados na Tabela 3.5. As recuperações obtidas para as diluições de 2 e 20 vezes a partir da adição de $1,0 \text{ mg L}^{-1}$ estão representadas na Figura 3.5.

TABELA 3.5 - Recuperações e desvios padrão relativos (%) para cada analito em urina diluída 20 vezes empregando EC e IS (média e SD, n = 3).

Nível (mg L ⁻¹)	Al 396,152 nm		As 228,812 nm		Ba 455,403 nm		Be 234,861 nm		Bi 472,255 nm	
	EC	IS	EC	IS	EC	IS Rh	EC	IS Rh	EC	IS Sc
0,2	82 (1)	-	90,8 (0,3)	-	73,3 (0,8)	82 (1)	89 (2)	100 (2)	<LOQ*	<LOQ*
0,4	100 (1)	-	106 (2)	-	93 (1)	89 (2)	109 (6)	101 (6)	<LOQ*	117 (10)
0,6	107 (1)	-	112 (2)	-	101 (4)	94 (3)	111 (3)	97 (5)	117 (3)	101 (5)
1,0	112 (1)	-	115 (1)	-	108 (1)	93 (1)	120 (2)	96 (1)	132 (5)	104 (1)
2,0	112 (6)	-	112,4 (0,4)	-	110 (4)	92 (1)	121 (5)	93 (2)	142 (10)	108 (2)
3,0	118 (2)	-	115,2 (0,9)	-	113,7 (0,6)	94 (2)	126 (2)	96 (2)	144 (2)	108 (2)
Nível (mg L ⁻¹)	Ca 396,847 nm		Cd 228,802 nm		Co 240,725 nm		Cr 357,820 nm		Cu 324,750 nm	
	EC	IS N ₂ ⁺	EC	IS	EC	IS Sc	EC	IS Sc	EC	IS Rh
0,2	<LOQ*	<LOQ*	91 (1)	-	72 (5)	91 (5)	79 (3)	94 (2)	81 (3)	88 (3)
0,4	<LOQ*	<LOQ*	108 (1)	-	105 (8)	95 (3)	103 (3)	94 (3)	102 (2)	97 (3)
0,6	<LOQ*	<LOQ*	112 (1)	-	110 (4)	95 (1)	109,7 (0,8)	95 (2)	107,1 (0,5)	99 (2)
1,0	121(2)	94 (1)	117 (2)	-	122 (2)	96 (1)	119 (1)	95 (3)	114 (2)	98 (1)
2,0	113 (4)	93(2)	114 (5)	-	131 (7)	100,3 (0,4)	121 (7)	92,5 (0,7)	116 (6)	97 (3)
3,0	117 (2)	94 (3)	117,9 (0,6)	-	136,3 (0,6)	102 (2)	124,5 (0,9)	94 (2)	121 (1)	100 (2)
Nível (mg L ⁻¹)	Li 670,784 nm		Mg 383,829		Mg 280,271 nm		Pb 363,957 nm		Sb 217,851 nm	
	EC	IS N ₂ ⁺	EC	IS Sc	EC	IS Y	EC	IS Sc	EC	IS
0,2	108 (2)	90 (2)	<LOQ*	<LOQ*	<LOQ*	<LOQ*	108 (2)	114 (5)	<LOQ*	-
0,4	115 (4)	97 (6)	<LOQ*	116 (4)	<LOQ*	117 (7)	106 (6)	96 (7)	95 (7)	-
0,6	118 (3)	95 (3)	<LOQ*	103 (8)	<LOQ*	120 (3)	111 (8)	96 (4)	114 (5)	-
1,0	121,3 (0,9)	95 (1)	127 (7)	101 (5)	133 (5)	108 (3)	130 (4)	102,5 (0,7)	117 (1)	-
2,0	121 (4)	100 (4)	123 (8)	94 (9)	123 (1)	98 (7)	136 (7)	104,3 (0,3)	109 (4)	-
3,0	124 (1)	100 (2)	131 (1)	99 (3)	128 (2)	101 (2)	141(4)	106 (1)	111(1)	-

*Os valores LOD foram mostrados na Tabela 3.10.

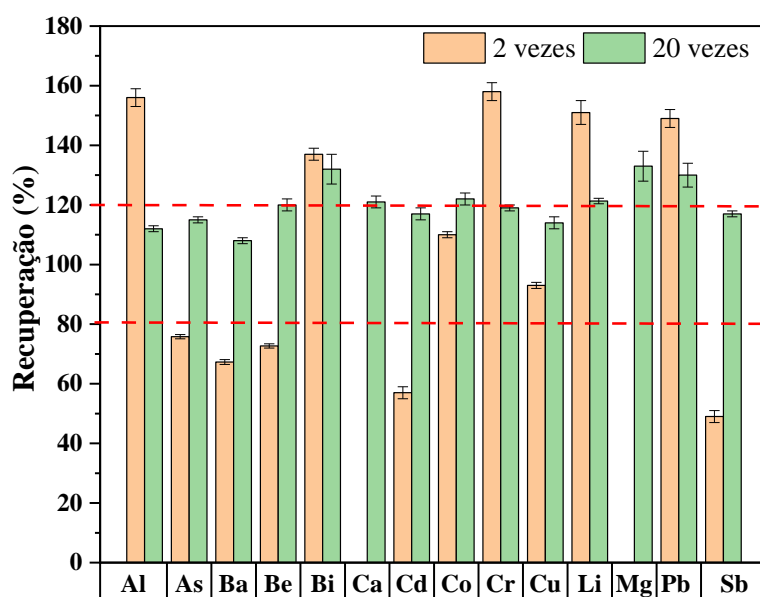


FIGURA 3.5 - Comparação entre as recuperações obtidas para cada analito adicionado na concentração de $1,0 \text{ mg L}^{-1}$ nas diluições de 2 e 20 vezes.

Conforme demonstrado pela Figura 3.5, o aumento da diluição melhorou a recuperação para os analitos As, Ba, Cd e Sb, que apresentavam recuperações abaixo de 80 % na diluição de 2 vezes e passaram a apresentar valores na faixa de 80-120 % na diluição de 20 vezes. Essa melhoria pode ser explicada pela diminuição dos efeitos energéticos no plasma e dos efeitos de transporte quando a diluição foi aumentada em dez vezes, uma vez que a urina apresenta elevados teores de EIEs e ureia, conhecidos por diminuir a massa do analito transportado para o plasma (W_{tot}) e por causar um detrimento da energia de excitação do plasma,⁸¹ respectivamente, efeito esse observado na diluição de 2 vezes.

Também foi observada uma melhoria para os resultados do Al, que antes apresentava recuperações acima de 120 %, mas valores aceitáveis foram obtidos com o aumento da diluição, corroborando a ideia de que a diluição é uma estratégia simples e viável para minimizar efeitos matriciais para alguns analitos em matrizes complexas como a urina.

Entretanto, o aumento da diluição não foi eficiente para corrigir as interferências não espectrais para Bi, Cr, Li e Pb, que novamente apresentaram um aumento do sinal analítico. Além disso, pode-se observar na Tabela 3.5 que o Ba apresentou uma recuperação de 73,3 % para o primeiro nível de adição (0,2 mg L⁻¹) enquanto Be, Bi, Ca, Co, Cr, Cu, Li, Mg e Pb apresentaram recuperações acima de 120 % para algumas das concentrações avaliadas.

Embora recuperações adequadas foram obtidas para Co e Cu na diluição de 2 vezes, valores acima de 120 % foram observados para a diluição de 20 vezes para algumas das concentrações. Esse resultado pode ser explicado pela ocorrência de dois efeitos matriciais contrários na urina diluída 2 vezes, i.e., efeitos de transporte causando supressão de sinal e efeitos energéticos no plasma responsáveis pelo aumento de sinal. Assim, a soma de ambos resultou em recuperações aceitáveis ao analisar a urina diluída 2 vezes, enquanto os efeitos energéticos prevaleceram para a diluição de 20 vezes, causando um aumento do sinal analítico.

Os resultados apresentados possibilitam demonstrar que o aumento da diluição foi adequado para alguns analitos (Al, As, Ba, Cd e Sb), mas não eficiente para todos, reforçando a necessidade de outras estratégias de correção, como a padronização interna ao se analisar matrizes tão complexas como a urina, pois as origens dos efeitos dos EIEs não podem ser atribuídas a um único processo⁷⁸ e podem se tornar ainda mais intensos para combinações binárias entre elementos como Na, K, Ca e Mg presentes na mesma matriz, conforme reportado por MAESSEN *et al.*⁸²

3.4.4 - Efeito da urina diluída 200 vezes sobre os sinais analíticos

Devido à persistência dos efeitos matriciais, avaliou-se a diluição de 200 vezes e os resultados obtidos para as diferentes concentrações são apresentados na Tabela 3.6 e as três diluições avaliadas foram comparadas na Figura 3.6 para uma mesma concentração adicionada de cada analito ($1,0 \text{ mg L}^{-1}$).

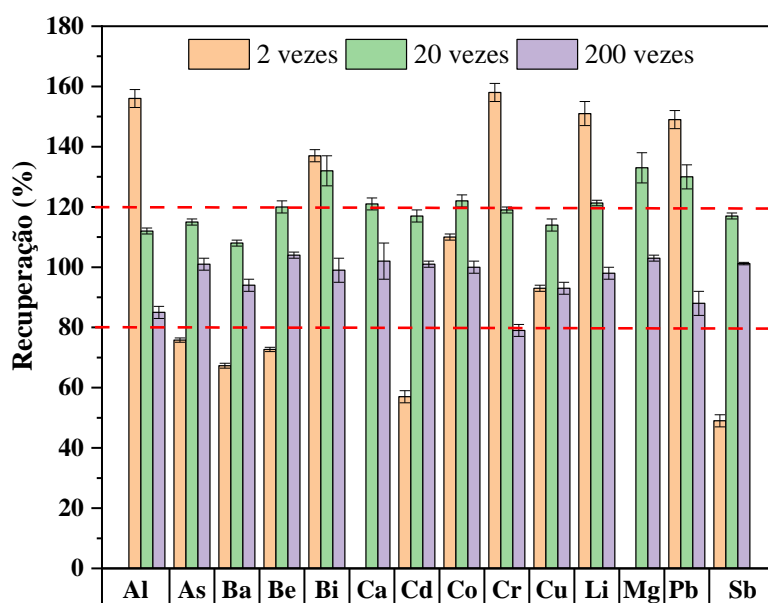


FIGURA 3.6- Efeito da diluição na recuperação obtida para cada elemento na concentração de $1,0 \text{ mg L}^{-1}$.

Para a diluição de 200 vezes, recuperações aceitáveis entre 80-120 % foram obtidas para a maioria dos elementos como As, Ba, Be, Bi, Ca, Cd, Co, Li, Mg II e Sb. No entanto, valores abaixo de 80 % foram obtidos para Al ($\leq 0,6 \text{ mg L}^{-1}$), Cr ($\leq 1,0 \text{ mg L}^{-1}$) e para as menores concentrações adicionadas de Cu, Mg I e Pb. A supressão de sinal ocorreu para elementos com E_{sum} entre 3,0 e 4,0 eV (Al 3,13 eV, Cr 3,46 eV, Cu 3,82 eV, Mg 3,23 eV e Pb 3,40 eV) e pode ser explicada considerando-se o comportamento das espécies moleculares do plasma que apresentam energias na mesma faixa: OH (E_{sum} 4,01) e N_2^+ (E_{sum} 3,17 eV).

TABELA 3.6 - Recuperações e desvios padrão relativos (%) para cada analito em urina diluída 200 vezes empregando EC e IS (média e SD, n = 3).

Nível (mg L ⁻¹)	Al 396,152 nm		As 228,812 nm		Ba 455,403 nm		Be 234,861 nm		Bi 472,255 nm	
	EC	IS N ₂ ⁺	EC	IS	EC	IS	EC	IS	EC	IS
0,2	57 (2)	101 (1)	111 (2)	-	81 (1)	-	108 (1)	-	<LOQ*	-
0,4	76 (5)	90 (4)	103 (2)	-	90 (3)	-	107 (4)	-	<LOQ*	-
0,6	78 (3)	84 (2)	101 (2)	-	89 (1)	-	103 (3)	-	99 (4)	-
1,0	85 (2)	85,1 (0,5)	101 (2)	-	94 (2)	-	104 (1)	-	99 (4)	-
2,0	86 (2)	83 (3)	98 (3)	-	92 (1)	-	99 (3)	-	92 (1)	-
3,0	87 (2)	84 (1)	99 (2)	-	93,9 (0,7)	-	99 (2)	-	92 (2)	-
Nível (mg L ⁻¹)	Ca 396,847 nm		Cd 228,802 nm		Co 240,725 nm		Cr 357,820 nm		Cu 324,750 nm	
	EC	IS	EC	IS	EC	IS	EC	IS N ₂ ⁺	EC	IS N ₂ ⁺
0,2	<LOQ*	-	94,8 (0,6)	-	92 (3)	-	55 (2)	75 (2)	73 (1)	93,4 (0,5)
0,4	105 (3)	-	96 (2)	-	97,8 (0,3)	-	71 (3)	85 (6)	85 (5)	97 (6)
0,6	95 (3)	-	95,3 (0,5)	-	95 (2)	-	74 (3)	85 (2)	86 (2)	97 (1)
1,0	102 (6)	-	101 (1)	-	100 (2)	-	79 (2)	92 (3)	93 (2)	106 (1)
2,0	95 (3)	-	97 (2)	-	96 (1)	-	80,3 (0,4)	94 (2)	90 (2)	105 (5)
3,0	94 (1)	-	97,5 (0,8)	-	96,7 (0,9)	-	81,8 (0,5)	97,9 (0,8)	92 (2)	110 (1)
Nível (mg L ⁻¹)	Li 670,784 nm		Mg 383,829		Mg 280,271 nm		Pb 363,957 nm		Sb 217,851 nm	
	EC	IS	EC	IS N ₂ ⁺	EC	IS	EC	IS N ₂ ⁺	EC	IS
0,2	106 (1)	-	76 (2)	95 (2)	120 (2)	-	68 (7)	88 (8)	99 (2)	-
0,4	101 (3)	-	85 (6)	97 (8)	108 (2)	-	94 (8)	106 (9)	99 (7)	-
0,6	97 (4)	-	83 (3)	94 (2)	102 (3)	-	86 (7)	97 (7)	102 (2)	-
1,0	98 (2)	-	87 (2)	100 (1)	103 (1)	-	88 (4)	101 (5)	101,2 (0,4)	-
2,0	94 (1)	-	86 (2)	100 (4)	101 (1)	-	87,3 (0,3)	102 (3)	96 (4)	-
3,0	94 (2)	-	88 (2)	104 (2)	102 (1)	-	91 (2)	108 (2)	96 (2)	-

A Figura 3.7 mostra o efeito da urina diluída 200 vezes sobre o comportamento das espécies moleculares do plasma de nitrogênio N_2^+ e OH em comparação com o meio aquoso ($0,14 \text{ mol L}^{-1} \text{ HNO}_3$) e pode-se observar que a matriz causou aumento de sinal para a espécie molecular OH e supressão de sinal para N_2^+ . Segundo WILLIAMS *et al.*⁷⁴, os sinais de N_2^+ e OH podem ser usados como indicativos da condição energética do plasma e de sua capacidade de atomização, respectivamente. Dessa forma, a supressão de sinal observada para Al, Cr, Cu, Mg e Pb resultaram do detrimento nas condições de excitação do plasma (diminuição de sinal para N_2^+) e de efeitos de transporte, pois o sinal de OH aumenta com a diminuição da eficiência de atomização do plasma.⁷³

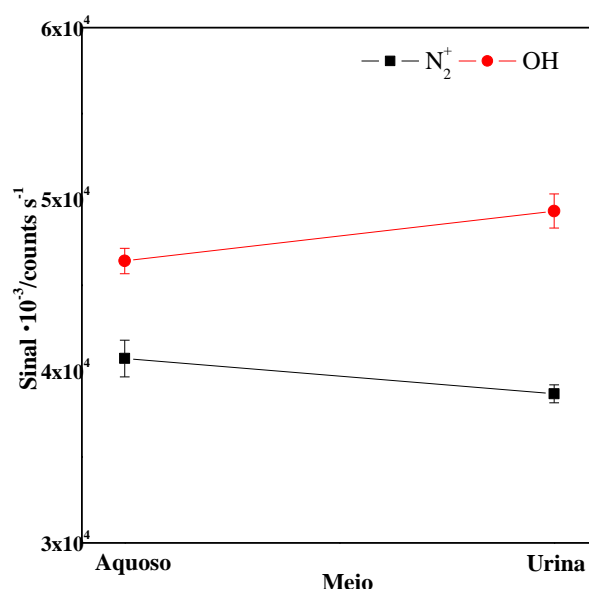


FIGURA 3.7- Comparação entre o sinal de emissão obtido em MIP-OES para as espécies moleculares (■) N_2^+ e (●) OH em solução aquosa ($0,14 \text{ mol L}^{-1} \text{ HNO}_3$) e urina diluída de 200 vezes.

Em geral, a diluição de 200 vezes foi adequada para a maioria dos analitos e reduziu os efeitos matriciais, com valores de recuperação abaixo de 80 % apenas para baixas concentrações de cinco elementos. No entanto, considerando a sensibilidade em MIP-OES, esse fator de diluição pode ser inadequado para a maioria dos elementos em amostras reais, como As, Cd, Cu e Pb, que, normalmente, são encontrados em baixas concentrações em amostras biológicas.⁶⁸

3.4.5 - Avaliação da calibração por padronização interna

Os elementos Ga, Ge, Pd, Rh, Sc e Y e quatro espécies moleculares formadas no plasma de nitrogênio (CN, N₂, N₂⁺ e OH) foram avaliados como padrões internos. Normalmente a escolha baseia-se nas propriedades físico-químicas similares, tais como tipo de linha de emissão (atômica x iônica), energia de ionização, entalpia de vaporização ou energia da linha de emissão próximos para o par analito/IS.⁸³ Entretanto, esses critérios nem sempre são válidos quando vários analitos serão determinados em uma mesma análise.^{35,42}

O tratamento matemático convencional baseado na razão dos sinais entre analito e padrão interno foi avaliado tanto para os elementos quanto para as espécies moleculares. Outra estratégia empregada apenas para as espécies moleculares foi a multiplicação de sinais do IS e do analito (A x M), normalmente usada quando ambos se comportam de forma oposta. Os resultados obtidos com a padronização interna para as diluições de 2, 20 e 200 vezes são apresentados nas Tabelas 3.7, 3.8 e 3.9.

Conforme discutido anteriormente e reportado na Tabela 3.4, a diluição de 2 vezes causou efeitos matriciais para a maioria dos elementos, com aumento dos sinais analíticos de Al, Bi, Cr, Li e Pb e supressão de sinais de As, Ba, Be, Cd e Sb. A padronização interna foi avaliada e os ISs Ga e Rh foram eficientes para a correção dos efeitos matriciais para todos os analitos que apresentaram recuperações acima de 120 %, enquanto a espécie molecular OH corrigiu a supressão de sinal para As, Ba, Be e Cd. Nenhum IS foi capaz de corrigir os severos efeitos para Sb. Além disso, as melhores recuperações foram obtidas empregando Ga I como IS para Al I e Pb I, OH como IS para As I, Ba II, Be I e Cd I e Rh I como IS para Bi I, Cr I e Li I. Também se pode observar que ao aplicar o tratamento A x M, CN foi um IS adequado para As e Be, N₂⁺ para As e, ainda, OH para Bi, Li e Pb.

Considerando as propriedades físico-químicas, observa-se na Tabela 3.7, que Ga I (417,204 nm), Rh I (365,799 nm) e Sc I (391,182 nm) foram ISs

eficientes para Al I (396,152 nm), o que estaria de acordo com as propriedades similares, pois os comprimentos de onda e E_{sum} de Al (3,13 eV), Ga (2,97 eV), Rh (3,39 eV) e Sc (3,17 eV) são próximos. No entanto, baseado nas propriedades similares, Sc II (424,682 nm e E_{sum} 9,48 eV) deveria ser o melhor IS para Ba II (455,403 nm e E_{sum} 7,93 eV), o que não ocorreu, pois a espécie molecular OH (4,01 eV) gerou os melhores resultados.

Em relação à entalpia de vaporização, o analito Al (294 kJ mol⁻¹) e o melhor IS Ga (254 kJ mol⁻¹), apresentam valores próximos, entretanto essa mesma relação não foi observada entre Bi (151 kJ mol⁻¹) e o IS Rh (495 kJ mol⁻¹), demonstrando que nem sempre há uma relação clara entre as propriedades do par analito/IS em MIP-OES. Esse aspecto também foi anteriormente observado para avaliação de ISs em ICP-OES.^{35,36}

Para a diluição de 20 vezes, Ge, Rh e Sc se comportaram como ISs gerais e foram capazes de corrigir os efeitos matriciais para todos os analitos, conforme mostrado na Tabela 3.8. Um resultado parecido foi obtido para a diluição de 200 vezes (Tabela 3.9), sendo a espécie molecular N₂⁺ adequada, quando aplicado o tratamento matemático A x M, para corrigir a supressão de sinal observada para Al, Cr, Cu, Mg e Pb.

Os resultados demonstraram a influência da matriz de urina na recuperação dos analitos e no comportamento dos potenciais ISs. Na presença de uma matriz concentrada, i.e., diluição de 2 vezes, efeitos matriciais variados foram observados, ou seja, aumento, supressão ou nenhum efeito e, conseqüentemente, nenhum IS foi efetivo para corrigir as interferências para todos os analitos. Entretanto, o emprego de um IS único é possível para análise de urina em MIP-OES desde que empregada a diluição apropriada (Ge, Rh ou Sc para diluição de 20 vezes e N₂⁺ para a diluição de 200 vezes).

TABELA 3.7- Padrões internos selecionados para correção de efeitos matriciais em MIP-OES para urina diluída 2 vezes.

Analito - λ (nm)	E_{sum}^{\ddagger} (eV)	Padrões internos	IS selecionado	IS E_{sum}^{\ddagger} (eV)
Al 396,152 (I)	3,13	Ga, Rh e Sc I	Ga 417,204 (I)	2,97
As 228,812 (I)	5,42	CN ^ª , N ₂ ⁺ , OH, Sc II e Y	OH	4,01
Ba 455,403 (II)	7,93	OH	OH	4,01
Be 234,861 (I)	5,28	CN ^ª , OH, Sc II e Y	OH	4,01
Bi 472,255 (I)	2,63	CN, Ga, OH ^ª , Pd e Rh	Rh 343,489 (I)	3,61
Cd 228,802 (I)	5,42	OH	OH	4,01
Co 240,725 (I)	5,15	-	-	-
Cr 357,820 (I)	3,46	Ga, Rh e Sc I	Rh 365,799 (I)	3,39
Cu 324,75 (I)	3,82	-	-	-
Li 670,784 (I)	1,85	Ga, OH ^ª , Pd, Rh e Sc I	Rh 365,799 (I)	3,39
Pb 363,957 (I)	3,40	Ga, OH ^ª , Pd e Rh	Ga 417,204 (I)	2,97
Sb 217,581 (I)	5,70	Nenhum corrige	-	-

I – Linha atômica; II – Linha iônica

[‡] E_{sum} = E ionização + excitação

^ª Tratamento matemático A x M

TABELA 3.8- Padrões internos selecionados para correção de efeitos matriciais em MIP-OES para urina diluída 20 vezes.

Analito - λ (nm)	E_{sum}^{\ddagger} (eV)	Padrões internos	IS selecionado	IS E_{sum}^{\ddagger} (eV)
Al 396,152 (I)	3,13	-	-	-
As 228,812 (I)	5,42	-	-	-
Ba 455,403 (II)	7,93	Ge, N ₂ , Rh e Sc I	Rh 343,489 (I)	3,61
Be 234,861 (I)	5,28	CN, Ga, Ge, Pd, Rh, Sc e Y	Rh 365,799 (I)	3,39
Bi 472,255 (I)	2,63	Ga, Ge, N ₂ ⁺ , Rh, Sc I e Y	Sc 391,182 (I)	3,17
Ca 396,847 (II)	9,23	CN, Ga, Ge, N ₂ ⁺ , OH [¤] , Pd, Rh, Sc e Y	N ₂ ⁺	3,17
Cd 228,802 (I)	5,42	-	-	-
Co 240,725 (I)	5,15	Ge, Rh, e Sc I	Sc 391,182 (I)	3,17
Cr 357,820 (I)	3,46	Ga, Ge, Rh e Sc I	Sc 391,182 (I)	3,17
Cu 324,750 (I)	3,82	Ga, Ge, Rh e Sc	Rh 343,489 (I)	3,61
Li 670,784 (I)	1,85	CN, Ga, Ge, N ₂ [¤] , N ₂ ⁺ , OH [¤] , Pd, Rh, Sc e Y	N ₂ ⁺	3,17
Mg 383,829 (I)	3,23	Ga, Ge, N ₂ ⁺ , OH [¤] , Rh, Sc e Y	Sc 391,182 (I)	3,17
Mg 280,271 (II)	12,07	Ga, Ge, N ₂ ⁺ , OH [¤] , Rh, Sc e Y	Y 371,029 (II)	9,56
Pb 363,957 (I)	3,40	Ga, Ge, N ₂ ⁺ , Rh, Sc e Y	Sc 391,182 (I)	3,17
Sb 217,581 (I)	5,70	-	-	-

I – Linha atômica; II – Linha iônica

[‡] E_{sum} = E ionização + excitação

[¤] Tratamento matemático $A \times M$

TABELA 3.9- Padrões internos selecionados para correção de efeitos matriciais em MIP-OES para urina diluída 200 vezes.

Analito - λ (nm)	$E_{\text{sum}}^{\ddagger}$ (eV)	Padrões internos	IS selecionado	IS $E_{\text{sum}}^{\ddagger}$ (eV)
Al 396,152 (I)	3,13	$N_2^{+\ddagger}$ e Pd	N_2^+	3,17
As 228,812 (I)	5,42	-	-	-
Ba 455,403 (II)	7,93	-	-	-
Be 234,861 (I)	5,28	-	-	-
Bi 472,255 (I)	2,63	-	-	-
Ca 396,847 (II)	9,23	-	-	-
Cd 228,802 (I)	5,42	-	-	-
Co 240,725 (I)	5,15	-	-	-
Cr 357,820 (I)	3,46	$N_2^{+\ddagger}$ e Pd	N_2^+	-
Cu 324,750 (I)	3,82	$N_2^{+\ddagger}$	N_2^+	3,17
Li 670,784 (I)	1,85	-	-	-
Mg 383,829 (I)	3,23	$N_2^{+\ddagger}$, Pd, Rh e Sc	N_2^+	3,17
Mg 280,271 (II)	12,07	-	-	-
Pb 363,957 (I)	3,40	$N_2^{+\ddagger}$	N_2^+	3,17
Sb 217,581 (I)	5,70	-	-	-

I – linha atômica; II – linha iônica

$^{\ddagger}E_{\text{sum}}$ = E ionização + excitação

‡ Tratamento matemático $A \times M$

3.4.6 - Limites de detecção

Os limites de detecção foram obtidos para calibração externa e padronização interna empregando o IS selecionado para cada nível de diluição e foram calculados através de 10 medidas do branco analítico como sendo 3 vezes a razão entre o desvio padrão e a inclinação da curva de calibração, conforme recomendado pela IUPAC. Para padronização interna, o respectivo tratamento foi aplicado e os resultados são mostrados na Tabela 3.10.

TABELA 3.10- Limites de detecção ($\mu\text{g L}^{-1}$) obtidos para cada nível de diluição empregando EC e IS.

Analito λ (nm)	2 vezes ($\mu\text{g L}^{-1}$)		20 vezes ($\mu\text{g L}^{-1}$)		200 vezes ($\mu\text{g L}^{-1}$)	
	EC	IS	EC	IS	EC	IS
Al 396,152	14	13	4,8	-	2,8	2,9
As 228,812	8,2	11	6,2	-	6,0	-
Ba 455,403	2,6	3,5	1,9	1,4	3,2	-
Be 234,861	0,83	1,1	2,1	1,4	0,54	-
Bi 472,255	101	186	129	101	124	-
Ca 396,847	Não determinado		268	329	75	-
Cd 228,802	3,6	4,8	6,1	-	2,7	-
Co 240,725	17	-	37	23	18	-
Cr 357,820	6,9	12	4,8	2,6	1,6	1,8
Cu 324,750	3,3	-	2,5	1,8	1,5	2,2
Li 670,784	4,6	2,3	1,2	1,0	0,33	-
Mg 280,271	Não determinado		217	67	22	-
Mg 383,829	Não determinado		255	106	28	32
Pb 363,957	54	39	61	53	48	56
Sb 217,581	30	-	76	-	42	-

- A EC foi eficiente e, portanto, a IS não foi aplicada.

De forma geral, melhores ou comparáveis limites de detecção foram obtidos para a diluição de 200 vezes devido aos menores efeitos matriciais. Para o analito Al, por exemplo, houve uma diminuição de 5 vezes ao aumentar a diluição de 2 vezes ($14 \mu\text{g L}^{-1}$) para 200 vezes ($2,8 \mu\text{g L}^{-1}$) e para Li o LOD passou de 4,6 para $0,33 \mu\text{g L}^{-1}$ para as mesmas diluições empregando a EC. No entanto, conforme discutido anteriormente, uma diluição de 200 vezes pode ser inapropriada para determinar elementos traço em amostras de urina.

Além disso, os valores obtidos para a padronização interna foram próximos ou menores que os obtidos para calibração externa conforme demonstrado para Be, Cr, Cu, Li, Mg e Pb na urina diluída 20 vezes, corroborando a eficiência da padronização interna na correção dos efeitos matriciais. Dessa forma, a padronização interna juntamente com as diluições de 2 e 20 vezes são as estratégias mais adequadas para a determinação de micro e macro elementos, respectivamente.

3.4.7 - Desempenho de ICP-OES e MIP-OES para análise de urina

O MIP-OES apresenta uma menor temperatura de excitação do plasma (aproximadamente 5000 K) comparativamente ao ICP-OES (em torno de 8000 K) e efeitos matriciais pronunciados são esperados devido a presença de EIEs em matrizes complexas como a urina.⁵ Com o objetivo de avaliar o desempenho de ambos os métodos instrumentais, os resultados obtidos foram comparados com os reportados por BARROS *et al.*³⁵ para análise de urina por ICP-OES, conforme Tabela 3.11.

O nebulizador com ranhura em V foi empregado em ICP-OES enquanto o nebulizador Mira Mist foi escolhido para as análises por MIP-OES devido aos resultados apresentados por SILVA *et al.*⁸⁴, que observaram uma relação entre o desempenho analítico e o tipo de nebulizador empregado em MIP-OES e reportaram resultados satisfatórios para matrizes contendo EIEs quando Mira Mist foi usado.

BARROS *et al.*³⁵ avaliaram a análise direta de urina em ICP-OES para a determinação de Al, As, Ba, Be, Bi, Cd, Co, Cr, Cu, Hg, Li, Pb, Sb e Zn e as diluições de 10 vezes para Na e K e 20 vezes para Ca e Mg. Esses autores observaram um aumento do sinal para todos os analitos exceto Ca e K. Por sua vez, para MIP-OES as diluições de 2, 20 e 200 vezes foram avaliadas para evitar possíveis danos na tocha. Aumento de sinal, supressão ou até mesmo nenhum efeito foram observados.

Como estratégias de calibração, EC, IS ou MEC foram empregados em ICP-OES e os melhores resultados para padronização interna foram obtidos empregando os elementos Ge ou Pd, entretanto, os autores não observaram um único IS capaz de corrigir os efeitos matriciais para todos os analitos. Em MIP-OES, foram avaliados a EC e IS. Germânio, Rh e Sc foram eficientes para corrigir os efeitos para todos os analitos na diluição de 20 vezes. Além disso, a espécie molecular N_2^+ se comportou como IS geral na diluição de 200 vezes. Em ambos os métodos não foi observado uma relação entre a seleção do melhor IS e as propriedades físico-químicas similares e a escolha foi realizada com base nas recuperações.

Em relação aos limites de detecção, de forma geral, valores maiores foram obtidos por calibração externa para MIP-OES do que para ICP-OES, o que já era esperado devido a menor temperatura de excitação do plasma, conforme observado para Al, Ba, Bi, Co e Li. Entretanto, os valores foram próximos para As, Cr e Cu, demonstrando que apesar de proporcionar LODs superiores para alguns analitos, o plasma de nitrogênio apresentou resultados aceitáveis para a análise de urina.

TABELA 3.11- Comparação entre ICP-OES e MIP-OES para análise de urina.

	ICP-OES ³⁵	MIP-OES
Nebulizador	V-groove	Mira Mist
Diluição da matriz	Sem diluição; 10 vezes (Na e K); 20-fold (Ca e Mg)	2, 20 e 200 vezes
Efeitos matriciais	Aumento de sinal para todos analitos exceto Ca e K	Aumento de sinal, supressão de sinal ou até mesmo nenhum efeito matricial.
Estratégias de calibração	EC, IS e MEC	EC e IS
Padrões internos	Ge ou Pd	Variados (2 vezes) Ge, Rh ou Sc (20 vezes) N ₂ ⁺ (200 vezes)
LOD [‡]	Al 167,079 nm = 0,15 As 188,979 nm = 9,2 Ba 455,403 nm = 0,35 Be 313,042 nm = 0,16 Bi 223,061 nm = 15 Ca 317,933 nm = 1,8 Cd 228,802 nm = 0,40 Co 228,615 nm = 0,42 Cr 357,870 nm = 3,5 Cu 324,754 nm = 2,9 Li 670,784 nm = 0,22 Mg 280,270 nm = 2,7 Pb 220,353 nm = 17 Sb 217,581 nm = 9,2	Al 396,152 nm = 14 As 228,812 nm = 8,2 Ba 455,403 nm = 2,6 Be 234,861 nm = 0,83 Bi 472,255 nm = 101 Ca 396,847 nm = 268 Cd 228,802 nm = 3,6 Co 240,725 nm = 17 Cr 357,820 nm = 6,9 Cu 324,750 nm = 3,3 Li 670,784 nm = 4,6 Mg 280,271 nm = 217 Pb 363,957 nm = 54 Sb 217,581 nm = 30

[‡]Os valores de LOD ($\mu\text{g L}^{-1}$) para MIP-OES foram baseados na mínima diluição para cada analito.

3.5 - Conclusões parciais

Neste capítulo a diluição da amostra em três níveis (i.e. 2, 20 e 200 vezes) juntamente com o emprego da calibração por padronização interna (Ga, Ge, Pd, Rh, Sc e Y e espécies moleculares CN, N₂, N₂⁺ e OH) foram satisfatoriamente empregados para análise de urina sem preparo adicional em MIP-OES. Efeitos energéticos no plasma e de transporte foram observados para a maioria dos elementos na urina diluída 2 vezes aplicando experimentos de adição e recuperação, com aumento dos sinais analíticos para Al, Bi, Cr, Li e Pb e supressão para As, Ba, Be, Cd e Sb. Para esse fator de diluição, Ga e Rh foram eficientes para corrigir erros positivos e, com exceção do Sb, a espécie molecular OH foi eficientemente usada como IS para analitos que apresentaram recuperações abaixo de 80 %, entretanto, nenhum IS foi capaz de corrigir os efeitos matriciais para todos os analitos. O aumento do fator de diluição não foi suficiente para a correção de interferências não espectrais, mas o uso dos padrões internos Ge, Rh e Sc para a amostra diluída 20 vezes e da espécie molecular N₂⁺ na diluição de 200 vezes, possibilitaram a correção dos efeitos para todos os analitos.

CAPÍTULO 4 -

*Efeitos do etanol e do ácido oxálico em
MIP-OES: como corrigir processos de
interferência?*

EFEITOS DO ETANOL E DO ÁCIDO OXÁLICO EM MIP-OES: COMO CORRIGIR PROCESSOS DE INTERFERÊNCIA?

4.1 - Revisão bibliográfica

4.1.1 - Análise de compostos orgânicos: contextualização

A análise de matrizes orgânicas é considerada um desafio em métodos instrumentais com plasma induzido uma vez que pode impactar diretamente a geração e o transporte do aerossol, bem como os processos de excitação e ionização.⁸⁵ Além disso, os compostos orgânicos podem causar obstruções no tubo central da tocha de quartzo, componentes e interfaces e são conhecidos na literatura por causar um aumento na sensibilidade de analitos com energias de ionização entre 9 e 12 eV, tais como As (9,79 eV), Au (9,23 eV), Hg (10,44 eV), Se (9,75 eV) e Te (9,01 eV).⁸⁶

Vários trabalhos reportaram os efeitos devido à introdução de matrizes orgânicas em plasma de argônio e uma revisão detalhada foi apresentada por LECLERCQ *et al.*⁸⁵ Dessa forma, apenas alguns estudos serão abordados para ICP-OES e ICP-MS como forma de contextualização.

Em 1991, ALLAIN *et al.*⁸⁶ avaliaram o efeito de glicerol e glicose nos sinais analíticos de diferentes elementos por ICP-MS. Um aumento de sinal entre 190 e 600 % foi observado para analitos com altas energias de ionização (Hg, Au, Se, As e Te) enquanto recuperações entre 90 e 110 % foram observadas para Bi, Co, Eu, Ho, I, In, La, Mo, Ni, Pb, Pt, Sn, Sr, Tl e U.

GAMMELGAARD E JØNS⁸⁷ estudaram os efeitos matriciais provenientes de ácido acético, acetonitrila, glicerol, butanol, propanol, etanol e metanol na sensibilidade de Se por ICP-MS e observaram que os efeitos estavam diretamente relacionados à vazão do gás de nebulização e à potência aplicada de RF. Os autores empregaram análise multivariada e a máxima intensidade de sinal foi obtida para vazão de 0,95 L min⁻¹ e potência de 1300 W. Um aumento de

sensibilidade entre 5-6 foi observado para as diferentes fontes de carbono, sendo a maior sensibilidade obtida na presença de ácido acético.

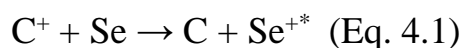
Em ICP-OES, MACHAT *et al.*⁸⁸ investigaram interferências espectrais e não espectrais sobre o sinal analítico de Se I (196,09 nm) e uma pequena banda molecular de CO foi observada em 206,76 nm. Glicerol foi empregado como fonte de carbono e um aumento de sinal de aproximadamente 30 % foi reportado na presença de 10.000 mg L⁻¹ de C usando um ICP-OES com visão radial (Jobin-Yvon modelo 170). Os autores também avaliaram outros instrumentos e concluíram que o aumento de sinal depende do ICP utilizado. Além disso, os efeitos matriciais também foram investigados para os elementos As, Au, Bi, Cd, Te e Zn e um pequeno aumento foi observado para As (I_{rel} 1,14) e Te (I_{rel} 1,12).

GRINDLAY *et al.*⁸⁹ analisaram os efeitos matriciais de três fontes de carbono (ácido cítrico, glicerol e hidrogenoftalato de potássio) em diferentes concentrações sob o sinal de 15 analitos e observaram que, de forma geral, os efeitos foram mais pronunciados com o aumento da concentração de carbono. Os resultados também demonstraram que a magnitude dos efeitos matriciais depende do tipo da linha de emissão considerada, isto é, supressão de até 15 % para linhas atômicas com $E_{sum} < 6$ eV e aumento de até 30 % para linhas com $E_{sum} > 6$ eV em soluções contendo glicerol e ácido cítrico. As linhas iônicas, por sua vez, apresentaram supressão de sinal quando E_{sum} foi superior a 14 eV. Os autores concluíram que os efeitos são atribuídos às mudanças no mecanismo de excitação, uma vez que alterações significativas não foram observadas no tamanho da gota de aerossol e na eficiência de transporte.

WILTSCHE *et al.*⁹⁰ compararam os efeitos de metanol, fenilalanina e CO₂ no comportamento de 36 elementos em ICP-OES. Na presença de fenilalanina, não houve uma modificação superior a 5 % nos sinais analíticos para a maioria dos elementos, com exceção de As, Be II e Se que apresentaram

aumentos entre 10 e 20 %. Em metanol na concentração de 10% m m⁻¹, os efeitos foram variados e relacionados com a energia da linha de emissão, e.g. supressão entre 10-20 % para analitos com E_{exc} 2-3 eV e aumento de sinal superior a 50 % para linhas atômicas com E_{exc} > 6 eV e linhas iônicas com E_{sum} em torno de 15,5 eV. Aumentos de sinais comparáveis aos do metanol foram obtidos para alguns elementos quando CO₂ foi injetado no plasma de argônio. Os autores também relataram a diminuição no tamanho do plasma na presença de metanol, efeito conhecido como “pinça térmica”.

Quanto aos mecanismos responsáveis pelos efeitos matriciais, ABOU-SHAKRA *et al.*⁹¹ propuseram uma reação de transferência de carga entre C⁺ e ⁸²Se para explicar o aumento de sinal de 3 vezes observado para o analito em amostras de soro sanguíneo por ICP-MS, conforme pode-se observar pela equação 4.1. De acordo com os autores, uma energia de 1098 kJ mol⁻¹ é necessária para formação do íon excitado de Se, valor próximo à energia de ionização do C, 1086 kJ mol⁻¹.



Posteriormente, GRINDLAY *et al.*⁹² demonstraram que a ocorrência dessas reações de transferência de carga necessita tanto da energia mínima quanto da conservação do spin entre reagentes e produtos e, embora a espécie predominante no plasma de ICP seja C⁺, as reações também podem envolver espécies como CO⁺, CO₂⁺, C₂⁺ e ArC⁺.

KAHEN *et al.*⁹³ reportaram a geração de aerossóis primários mais finos na presença de solventes orgânicos como hexano e acetona. Um diâmetro médio da gota de aerossol (D_{3,2}) de 4,6 μm foi obtido na presença de hexano em contraste com 7,2 μm para soluções aquosas. Outra hipótese propõe que o aumento de sinal na presença de solventes orgânicos ocorre devido à evaporação

do solvente na câmara de nebulização e consequentes aumentos nas taxas de solvente (S_{tot}) e massa de analito transportados (W_{tot}) para o plasma.⁸⁵

GRINDLAY *et al.*⁹⁴ avaliaram a influência de carbono no sinal analítico de 34 elementos usando ICP-OES com visão axial e supressão de sinal foi observada para analitos com E_{sum} menores que 4-5 eV, e.g. linhas atômicas de Na (588,995 nm) e Li (610,365 nm) foram reduzidas em até 23 % na presença de glicerol. Esses autores concluíram que o efeito observado pode estar relacionado à fenômenos como diminuição na população de átomos excitados devido às colisões com carbono ou com a formação de compostos de carvão estáveis. Também foi observado um aumento dos sinais analíticos para as linhas atômicas de As, Se, Te, I, P e Hg e os resultados foram explicados por reações de transferência de carga entre o analito e C^+ .

4.1.2 - Análise de compostos orgânicos por MIP-OES

Apesar de muitos estudos envolvendo efeitos de matrizes orgânicas em plasma induzido, poucos se dedicaram ao MIP-OES e, embora o plasma de nitrogênio apresente menor temperatura e densidade eletrônica e seja mais propenso à efeitos matriciais comparado ao plasma de argônio, há estudos mostrando que o MIP apresenta maior tolerância à introdução de carbono.^{5,52}

DONATI *et al.*⁹⁵ determinaram Cr, Ni, Pb e V em combustíveis por MIP-OES e o preparo de amostra consistiu na diluição do etanol em 10 vezes com solução aquosa de HNO_3 1,0% v v⁻¹ e no preparo de microemulsões empregando propanol para gasolina. A introdução de elevadas concentrações de etanol e propanol foi possível sem a extinção do plasma e recuperações entre 84-123 % foram obtidas empregando compatibilização de matriz.

AMAIIS *et al.*⁹⁶ propuseram um simples procedimento, baseado na diluição de amostras em etanol na proporção de 1:10 v v⁻¹ para determinação de Si em diesel e biodiesel por MIP-OES. Com exceção de uma amostra, recuperações entre 91-102 % foram obtidas e não foram observados depósitos de

carbono na tocha ou perdas na performance do instrumento quando soluções contendo 90 % v v⁻¹ de etanol foram analisadas.

OZBEK *et al.*⁹⁷ determinaram Al, B, Co, Cr, Cu, Fe, Mg, Mn, Pb e Zn em 35 amostras de vinagre (uva, maçã, romã, figo, balsâmico e caseiro). O preparo de amostra consistiu na diluição em ácido acético 2% v v⁻¹ e as recuperações variaram entre 93-104 %.

Resultados satisfatórios também foram obtidos na análise de óleo cru quando as amostras foram diluídas em o-xileno e as estratégias de calibração compatibilização de matriz e padronização interna (empregando Sc) foram utilizadas para determinação de Ca, Fe, Na, Ni e V por NELSON *et al.*⁵⁴ e Ca, Fe, K, Mo, Na, Ni e V por POIRIER *et al.*⁵⁵

Embora o MIP apresente resultados adequados para análise de amostras com elevados teores de carbono, as estratégias de calibração SA, MMC e IS são comumente necessárias conforme demonstrado nos estudos abordados. Outra alternativa relatada na literatura para minimizar os efeitos matriciais e reduzir o sinal de fundo durante a análise de orgânicos é o módulo de controle de gás externo (EGCM), que realiza a introdução de O₂ no plasma e, conseqüentemente, a oxidação do carbono presente na amostra, levando à formação de monóxido e dióxido de carbono.⁵ O EGCM já foi reportado na análise de matrizes variadas, e.g. determinação de B em vinho⁵³, Mo em carne de cordeiro⁹⁸ e 18 analitos em óleo lubrificante⁹⁹.

Recentemente, SERRANO *et al.*⁷³ investigaram a influência de glicerol 5% m m⁻¹ no sinal de 10 analitos e os dados foram comparados com os obtidos em HNO₃ 1,0 % m m⁻¹. Os autores reportaram a ausência de efeitos matriciais i.e. I_{rel} entre 0,96 e 1,04, o que foi explicado pelos valores próximos obtidos para os diâmetros da gota de aerossol primário (3,90 ± 0,04 µm e 3,92 ± 0,07 µm), as taxas de analito transportadas ao plasma (6,5 ± 0,1 µg min⁻¹ em

ambos os meios) e as temperaturas de excitação (4400 ± 300 K e 4500 ± 200 K) nas soluções contendo glicerol e ácido, respectivamente.

No entanto, resultados divergentes foram observados em outro estudo desses autores. SERRANO *et al.*¹⁰⁰ ao estudarem as interferências não espectrais causadas por dois extratores empregados em micro extração líquido-líquido dispersiva (DLLME), i.e., clorofórmio e solvente supramolecular preparado com 1-decanol e tetraidrofurano, reportaram o aumento do sinal analítico de 1,9 e 1,6 vezes para Cd I (228,802 nm) nos respectivos meios. Também foram relatadas mudanças nos sinais de fundo em presença dos compostos orgânicos, com reduções de 17 e 57 % para clorofórmio nas vazões do gás de nebulização de 0,3 e 0,8 L min⁻¹, respectivamente.

Os estudos mencionados demonstram a complexidade dos efeitos matriciais causados por compostos orgânicos em MIP-OES, com efeitos variados entre analitos e fontes de carbono, e reforçam a necessidade de avaliações sistemáticas sobre o tema.

4.2 - Objetivos

Investigar interferências não espectrais originárias de duas fontes de carbono comumente empregadas para compatibilização de matriz (etanol e ácido oxálico) sobre os sinais analíticos de 10 elementos (Al, As, Ca, Cd, Cu, Fe, Hg, Mg, P e Pb) e identificar estratégias de correção apropriadas (padronização interna ou uso de EGCM) por espectrometria de emissão óptica com plasma induzido por micro-ondas (MIP-OES). Neste contexto, oito elementos (Bi, Ga, Ge, Li, Pd, Rh, Sc e Y) e duas espécies moleculares (N₂⁺ e OH) foram avaliadas como padrões internos.

4.3 - Parte Experimental

4.3.1 - Instrumentação

O MIP-OES modelo 4200 empregado nos experimentos é o mesmo descrito no capítulo anterior e foi equipado com o nebulizador OneNeb série 1 e câmara de nebulização ciclônica. Nas Tabelas 4.1 e 4.2 são apresentadas as condições instrumentais e as linhas de emissão selecionadas, respectivamente. Vale ressaltar que a vazão do gás de nebulização e a posição de visualização foram otimizadas pelo instrumento empregando uma solução de HNO₃ 1,0 % v v⁻¹ contendo todos os elementos de forma a obter a melhor razão sinal analítico / sinal de fundo (SBR).

As linhas de Nb 391,470 nm e Tb 308,958 nm foram utilizadas para medir as espécies N₂⁺ e OH, respectivamente.⁷⁴ Também foi avaliada a viabilidade do uso do acessório EGCM em modo alto para contornar os efeitos matriciais causados por carbono.

TABELA 4.1 - Condições operacionais para análise de etanol e ácido oxálico por MIP-OES.

Parâmetro instrumental	Condição operacional
Frequência do micro-ondas (MHz)	2450
Potência do micro-ondas (kW)	1,0
Tempo de integração (s)	3
Tempo de estabilização (s)	15
Velocidade da bomba peristáltica (rpm)	15
Número de réplicas	3
Correção do sinal de fundo	Auto para espécies inorgânicas e desligada para espécies moleculares
Nebulizador	OneNeb série 1
Câmara de nebulização	Ciclônica
EGCM	Alto (1,0 L min ⁻¹)

TABELA 4.2 - Parâmetros instrumentais empregados para cada analito e IS na análise de etanol e ácido oxálico por MIP-OES.

Elemento	Comprimento de onda, nm	Posição de visualização	Vazão do gás de nebulização L min ⁻¹
Al I	396,152	120	0,95
As I	234,984	0	0,75
Bi I	223,061	60	0,75
Ca I	422,673	20	0,75
Ca II	396,847	10	0,50
Cd I	228,802	10	0,55
Cu I	324,754	-10	0,70
Fe II	259,940	0	0,55
Ga I	417,204	10	0,75
Ge I	265,117	-10	0,75
Hg I	253,652	-40	0,75
Li I	670,784	0	0,75
Mg I	285,213	10	0,70
Mg II	279,553	0	0,90
N ₂ ⁺ (Nb I)	391,470	0	0,75
OH (Tb II)	308,958	0	0,75
P I	213,618	-10	0,65
Pb I	217,000	-10	0,75
Pd I	340,458	0	0,70
Rh I	343,489	0	0,75
Sc I	391,182	0	0,75
Sc II	361,383	0	0,75

Y II	371,029	10	0,75
------	---------	----	------

I - Linha atômica, II - Linha iônica.

4.3.2 - Reagentes, soluções padrão e amostras

Soluções padrão e amostras foram preparadas usando água ultrapura com resistividade superior a 18,2 M Ω cm desionizada em um sistema Milli-Q[®] (Millipore, Bedford, MA, SA) e ácido nítrico (Synth, Diadema, SP, Brasil) previamente destilado no sistema sub-ebulição Distillacid[™] BSB -939-IR (Berghof, Eningen, Alemanha).

Amostras contendo carbono foram preparadas com o sal de ácido oxálico desidratado (Mallinckrodt Chemicals, St. Louis, MO, EUA) ou etanol (Synth 99,5%). Soluções elementares de 1000 mg L⁻¹ de Al, As, Ca, Cd, Cu, Fe, Hg, Mg, P e Pb (SpecSol, Quimlab, Jacareí, SP, Brasil) foram adequadamente diluídas em HNO₃ 0,14 mol L⁻¹, bem como os potenciais ISs Bi, Ga, Ge, Li, Pd, Rh, Sc e Y (SpecSol, Quimlab, SP) para os experimentos de adição e recuperação.

As soluções para EC e IS foram preparadas nas faixas de concentração entre 0,05-1,00 mg L⁻¹ para Al, Cd, Cu e Fe e 0,50-10,0 mg L⁻¹ para As, Ca, Hg, Mg, P e Pb, elementos que apresentam menor sensibilidade em MIP-OES ou são considerados macro elementos na maioria das amostras.

4.3.3 - Preparo de amostras

O preparo das amostras consistiu na diluição das fontes de carbono em HNO₃ 1,0% v v⁻¹ de forma a obter concentrações de etanol entre 0 e 10 % m v⁻¹ e ácido oxálico de 0 a 2,0 % m v⁻¹. Para facilitar a comparação entre ambas as fontes de carbono e facilitar o entendimento, as concentrações serão reportadas em mol L⁻¹ de carbono. Logo, as soluções preparadas continham: (i) 0,04; 0,09; 0,13; 0,18; 0,22; 0,26; 0,31; 0,35; 0,40; 0,44; 0,88; 1,3; 1,8; 2,2; 2,6; 3,1; 3,5; 4,0;

e 4,4 mol L⁻¹ de C provenientes da adição de etanol e (ii) 0,04; 0,09; 0,13; 0,18; 0,22; 0,26; 0,31; 0,35; 0,40; e 0,44 mol L⁻¹ de C a partir do ácido oxálico.

Nessas soluções também foram adicionados Al, Cd, Cu e Fe nas concentrações finais de 0,50 mg L⁻¹; 5,00 mg L⁻¹ de As, Ca, Hg, Mg, P e Pb e 1,00 mg L⁻¹ dos potenciais ISs Bi, Ga, Ge, Li, Pd, Rh, Sc e Y. Uma solução contendo todos os elementos em HNO₃ 0,14 mol L⁻¹ foi usada como referência e os sinais analíticos obtidos na presença de carbono foram normalizados a partir dela.

4.3.4 - Medidas da temperatura de excitação do plasma

Uma solução contendo 5,00 mg L⁻¹ de Fe em HNO₃ 0,14 mol L⁻¹ foi utilizada para determinar a temperatura de excitação do plasma na ausência de carbono. Por outro lado, soluções contendo 5,00 mg L⁻¹ de Fe + 0,44 a 4,4 mol L⁻¹ de C provenientes do etanol ou 0,04 a 0,44 mol L⁻¹ de C a partir do ácido oxálico, foram utilizadas para avaliar os efeitos do carbono na temperatura do plasma.

O método de Boltzmann, baseado no gráfico $\ln (I_{ki} \lambda_{ki} / g_k A_{ki})$ em função de E_k empregando 13 linhas de emissão de Fe na faixa de 248,327 a 438,354 nm, foi usado para estabelecer a temperatura de excitação do plasma. A temperatura foi, então, determinada a partir da inclinação da curva ($-1/K_B T$), onde: I_{ki} é a intensidade obtida na transição eletrônica do nível k para i , λ_{ki} é o comprimento de onda, g_k , E_k , A_{ki} , K_B e T representam a degenerescência do nível k , a energia do nível k , a probabilidade de transição, a constante de Boltzmann ($8,62 \times 10^{-5}$ eV K⁻¹) e a temperatura em Kelvin, respectivamente.⁵¹

Duas condições foram avaliadas para cálculo da temperatura: (i) vazão do gás de nebulização e posição de visualização otimizadas automaticamente para cada comprimento de onda de Fe empregando uma solução do elemento em ácido nítrico e (ii) mantendo constante a posição de observação do plasma em -30 e a vazão do gás de nebulização como 0,50 L min⁻¹ para todas as linhas de emissão, condição reportada como robusta por GONCALVES *et al.*⁵¹

4.4 - Resultados e discussão

Visando investigar interferências causadas por carbono em MIP-OES, etanol e ácido oxálico foram avaliados. Ambas as fontes apresentam ao menos um grupo hidroxila (OH) em sua estrutura e são normalmente utilizadas para compatibilização de matriz.

O ácido oxálico não foi estudado em concentrações superiores a 2,0 % m v⁻¹ devido à restrição relacionada ao teor máximo de sólidos dissolvidos permitido no instrumento (3,0% m m⁻¹).⁵ Como mencionado anteriormente, a solução de HNO₃ 0,14 mol L⁻¹ foi adotada como referência e os sinais obtidos em soluções contendo carbono foram normalizados a partir dela.

4.4.1 - Avaliação de interferências espectrais

Considerando à possível ocorrência de bandas de emissão molecular contendo carbono¹⁰⁰, i.e. C₂ em 473,700 nm, CN em 388,340 nm e CH em 431,420 nm, interferências espectrais foram avaliadas para cada analito e as razões entre o sinal de fundo obtido na presença de carbono em relação à solução de HNO₃ 0,14 mol L⁻¹ são apresentadas na Tabela 4.3.

Como se pode observar, razões nas faixas de 0,92-1,10 e 0,95-1,06 foram medidas na presença de etanol 10 % m v⁻¹ e ácido oxálico 2,0 % m v⁻¹, respectivamente, indicando que as linhas de emissão dos analitos estão livres de interferências espectrais. Nenhuma mudança foi visualmente observada nos sinais de fundo na presença das fontes orgânicas.

TABELA 4.3 - Razão entre o sinal de fundo obtido na presença de carbono (etanol 10 % m v⁻¹ ou ácido oxálico 2,0 % m v⁻¹) e em solução de ácido nítrico 0,14 mol L⁻¹.

Elemento	Comprimento de onda nm	Razão do sinal de fundo	
		Etanol	Ácido oxálico
Al	396,152	0,95	1,01
As	234,984	0,92	0,98
Ca I	422,673	1,07	0,95
Ca II	396,847	0,92	1,00
Cd	228,802	1,03	0,98
Cu	324,754	1,10	0,99
Fe	259,940	1,03	0,99
Hg	253,652	0,95	0,95
Mg I	285,213	1,06	1,00
Mg II	279,553	0,97	1,06
P	213,618	1,03	0,97
Pb	217,000	1,01	0,99

I - Linha atômica, II - Linha iônica

4.4.2 - Avaliação de efeitos matriciais causados por etanol

As recuperações observadas para cada analito empregando EC na presença de etanol em baixas concentrações (0,04-0,44 mol L⁻¹ de C) são apresentadas na Tabela 4.4. A Figura 4.1 mostra a influência de 0,22 mol L⁻¹ de carbono nas intensidades relativas dos analitos adicionados na concentração de 0,5 mg L⁻¹ (Al, Cd, Cu e Fe) ou 5,0 mg L⁻¹ (As, Ca, Hg, Mg, P e Pb). A I_{rel} foi definida como a razão entre as intensidades de sinais nos meios etanoico e aquoso.

TABELA 4.4 - Efeito de baixas concentrações de etanol nas recuperações (%) por MIP-OES (média \pm desvio padrão, n = 3).

Carbono (mol L ⁻¹)	Al I 396,152	As I 234,984	Ca I 422,673	Ca II 396,847	Cd I 228,802	Cu I 324,754	Fe II 259,940	Hg I 253,652	Mg I 285,213	Mg II 279,553	P I 213,618	Pb I 217,000
0,00	100 \pm 4	100 \pm 7	100 \pm 1	100 \pm 2	100 \pm 4	100 \pm 1	100 \pm 1	100 \pm 6	100 \pm 7	100 \pm 5	100 \pm 6	100 \pm 3
0,04	105 \pm 8	104 \pm 9	104 \pm 2	102 \pm 4	105 \pm 4	102 \pm 5	101 \pm 3	96 \pm 11	100 \pm 3	103 \pm 1	89 \pm 3	92 \pm 12
0,09	119 \pm 9	107 \pm 3	116 \pm 7	104 \pm 8	108 \pm 1	107 \pm 6	100 \pm 2	89,8 \pm 0,3	97 \pm 1	101 \pm 4	90 \pm 8	83 \pm 6
0,13	120 \pm 3	112 \pm 9	106 \pm 7	109 \pm 8	114,9 \pm 0,1	114 \pm 12	114 \pm 4	115 \pm 4	112,5 \pm 0,1	100 \pm 3	86 \pm 4	97 \pm 6
0,18	133,8 \pm 0,2	101 \pm 4	123 \pm 5	102 \pm 4	106,0 \pm 0,5	111 \pm 8	106 \pm 9	99 \pm 1	101 \pm 8	99,7 \pm 0,4	87 \pm 8	84 \pm 7
0,22	140 \pm 2	108 \pm 2	139,4 \pm 0,1	111 \pm 4	117 \pm 4	123 \pm 8	111 \pm 4	114 \pm 12	121 \pm 9	101 \pm 6	90 \pm 9	88 \pm 7
0,26	143 \pm 2	97 \pm 10	102,9 \pm 0,4	105 \pm 6	109 \pm 1	109 \pm 10	109 \pm 4	99 \pm 4	100 \pm 4	88 \pm 6	83 \pm 2	
0,31	133 \pm 9	94 \pm 9	120 \pm 18	110 \pm 6	116 \pm 6	120 \pm 18	111 \pm 5	109 \pm 6	123 \pm 4	98 \pm 5	92 \pm 4	95 \pm 18
0,35	134 \pm 6	91 \pm 2	101,0 \pm 0,2	137 \pm 1	108,6 \pm 0,3	124 \pm 13	105 \pm 6	106 \pm 11	121 \pm 3	103 \pm 1	92 \pm 5	92 \pm 6
0,40	124 \pm 7	92 \pm 3	130 \pm 4	107 \pm 9	109 \pm 4	103 \pm 3	105 \pm 9	102 \pm 3	97,5 \pm 0,5	101 \pm 6	92 \pm 6	83 \pm 4
0,44	118 \pm 4	95 \pm 1	110 \pm 5	107 \pm 6	110 \pm 7	124 \pm 2	103 \pm 6	112 \pm 2	117 \pm 7	95 \pm 1	89 \pm 7	95 \pm 2

I - Linha atômica, II - Linha iônica.

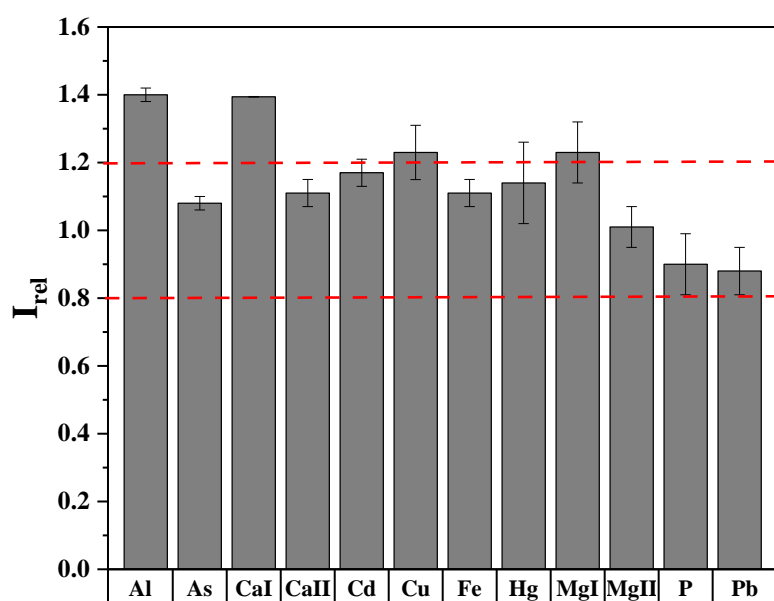


FIGURA 4.1- Influência de 0,22 mol L⁻¹ de C provenientes do etanol sobre a I_{rel} de cada analito em MIP-OES.

A análise dos resultados evidenciou que baixas concentrações de carbono não resultaram em efeitos significativos para a maioria dos elementos, sendo recuperações aceitáveis àquelas na faixa de 80-120 %.⁷⁵ Apenas Al I (396,152 nm), Ca I (422,673 nm), Cu I (324,754 nm) e Mg I (285,213 nm) apresentaram aumentos dos sinais analíticos quando comparados à solução de referência.

Esperava-se que a presença de carbono, mesmo em baixas concentrações, causasse efeitos matriciais para elementos com altas energias de ionização, como As (9,8 eV) e Hg (10,4 eV). No entanto, analitos medidos em linhas de emissão atômicas cuja E_{sum} encontram-se entre 2-4 eV foram os que apresentaram aumento de sinal, com I_{rel} entre 1,2 e 1,4 e.g. Al (3,13 eV), Ca (2,93 eV), Cu (3,82 eV) e Mg (4,34 eV). Essa tendência demonstra que os efeitos matriciais causados pelo etanol em MIP-OES não estão diretamente relacionados

às reações de transferência de carga, mecanismo normalmente utilizado para explicar erros positivos em ICP-OES.⁸⁸

LECLERCQ *et al.*⁸⁵ indicaram que solventes orgânicos causam principalmente mudanças na geração e transporte de aerossóis, visto que o diâmetro da gota de aerossol e o transporte desse aerossol são afetados pelas propriedades físico-químicas como tensão superficial, volatilidade e densidade.^{4,85} Essas propriedades são mostradas na Tabela A5 e confirmam que as soluções de etanol têm valores de tensão superficial mais baixos (21,97 mN m⁻¹) que àquelas em meio aquoso (71,99 mN m⁻¹) e, conseqüentemente, uma menor quantidade energética é necessária para romper as gotas do líquido, o que resulta em aerossóis primários com menor diâmetro.⁸⁵

EBDON *et al.*¹⁰¹ também reforçaram que a alta volatilidade é responsável pela evaporação desse solvente no sistema de introdução de amostra, o que leva ao aumento da quantidade de solvente (S_{tot}) e da massa de analito (W_{tot}) transportados para o plasma em comparação com soluções aquosas e explica os incrementos observados para Al, Ca, Cu e Mg.

A fim de compreender o comportamento dos analitos em maiores teores de etanol, a concentração foi aumentada para valores entre 0,44 e 4,4 mol L⁻¹ de C conforme Tabela 4.5. A Figura 4.2 mostra a influência de 2,2 mol L⁻¹ e 4,4 mol L⁻¹ de carbono na recuperação obtida para cada elemento empregando EC.

TABELA 4.5 - Efeito de altas concentrações de etanol nas recuperações (%) por MIP-OES (média ± desvio padrão, n = 3).

Carbono (mol L ⁻¹)	Al I	As I	Ca I	Ca II	Cd I	Cu I	Fe II	Hg I	Mg I	Mg II	P I	Pb I
0,00	396,152	234,984	422,673	396,847	228,802	324,754	259,940	253,652	285,213	279,553	213,618	217,000
			100,0 ±			100,0 ±						100,0 ±
	100 ± 4	100 ± 2	0,9	100 ± 2	100 ± 2	0,7	100 ± 3	100 ± 1	100 ± 2	100 ± 3	100 ± 3	0,8
0,44					104,7 ±	104,7 ±	102,8 ±	111,9 ±				
	100 ± 1	103 ± 2	104 ± 3	105 ± 1	0,4	0,4	0,6	0,6	103 ± 1	104 ± 3	106 ± 4	108 ± 2
0,88			109,2 ±		109,1 ±		107,2 ±					
	105 ± 3	107 ± 4	0,5	108 ± 2	0,5	108 ± 3	0,6	114 ± 2	106 ± 2	110 ± 3	111 ± 6	112 ± 3
1,3	108 ± 2	115 ± 2	110 ± 2	110 ± 2	113 ± 1	110 ± 2	110 ± 2	114 ± 3	109 ± 3	109 ± 1	112 ± 2	114 ± 2
1,8							112,9 ±					
	106 ± 4	120 ± 3	113 ± 1	110 ± 2	116 ± 1	117 ± 2	0,9	114 ± 2	112 ± 2	111 ± 2	113 ± 3	117 ± 2
2,2	110 ± 5	122 ± 1	120 ± 4	114 ± 4	119 ± 2	122 ± 2	116 ± 3	122 ± 2	116 ± 4	111 ± 3	114 ± 3	124 ± 4
2,6				118,9 ±								
	115 ± 5	131 ± 2	121 ± 2	0,8	125 ± 3	125 ± 3	120 ± 2	122 ± 2	118 ± 2	112 ± 2	114 ± 4	129 ± 2
3,1			124,3 ±			126,0 ±		125,6 ±		114,8 ±		
	114 ± 3	139 ± 2	0,8	124 ± 2	127 ± 2	0,9	122 ± 1	0,6	120 ± 2	0,4	123 ± 3	131 ± 2
3,5								125,2 ±			126,9 ±	
	117 ± 2	144 ± 2	122 ± 2	122 ± 3	127 ± 3	125 ± 2	123 ± 3	0,4	118 ± 2	116 ± 2	0,9	132 ± 2
4,0	118,0 ±				125,9 ±		121,9 ±		120,2 ±			135,4 ±
	0,6	152 ± 2	122 ± 1	120 ± 1	0,1	128 ± 1	0,6	129 ± 1	0,7	117 ± 1	134 ± 2	0,8
4,4							124,9 ±				133,4 ±	
	127 ± 3	154 ± 3	127 ± 1	124 ± 2	130 ± 2	129 ± 3	0,7	134 ± 3	122 ± 2	120 ± 2	0,3	138 ± 1

I - Linha atômica, II - Linha iônica.

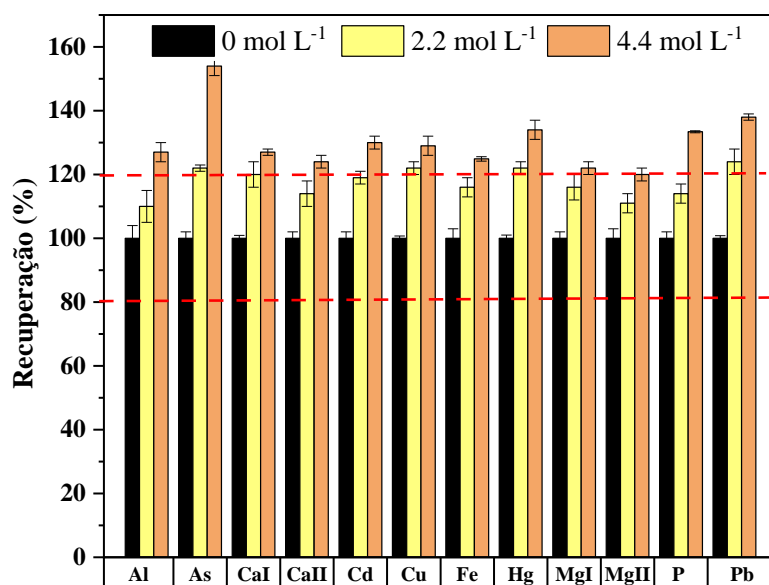


FIGURA 4.2- Efeito de etanol (■ 2,2 e ■ 4,4 mol L⁻¹ de C) na recuperação de cada analito por MIP-OES em comparação com uma solução de ácido nítrico (■).

O acréscimo de 10 vezes na concentração de etanol causou um aumento nas recuperações para todos os analitos. Esse viés positivo foi observado tanto para linhas de emissão iônicas quanto atômicas, representadas por Ca II (396,847 nm) e Ca I (422,673 nm), corroborando a ideia anterior de que os efeitos matriciais não estão estritamente relacionados às transferências de carga, mas aos processos de formação do aerossol.

Esses resultados estão de acordo com os observados por SERRANO *et al.*¹⁰⁰ que reportaram maiores sinais de emissão para Cd I (228,802 nm) na presença de clorofórmio e solvente supramolecular por MIP-OES. O efeito também foi explicado considerando a influência das propriedades físico-químicas dos solventes na geração e transporte do aerossol.

A fim de avaliar a relação entre a E_{sum} e os efeitos matriciais (I_{rel}) na presença de etanol 10% m v⁻¹ (4,4 mol L⁻¹ de C) aplicou-se a Análise de

Componentes Principais. De acordo com esses dados, os dois primeiros componentes principais mostrados na Figura 4.3 (PC1 e PC2) foram responsáveis por 95,3 e 3,8 % da variância total, respectivamente. Além disso, valores de *scores* positivos na PC1 indicam aumento das recuperações enquanto os maiores valores de E_{sum} são observados em valores negativos da PC2.

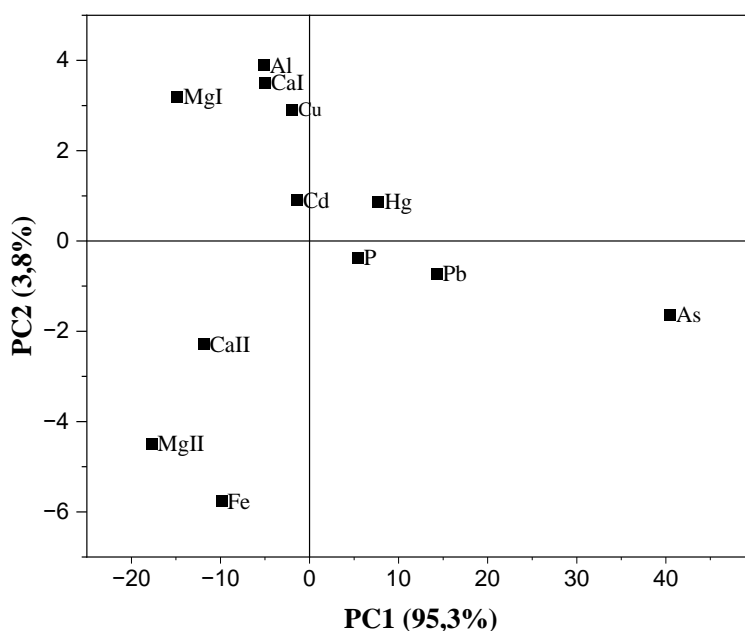


FIGURA 4.3- Representação da PCA para cada analito em etanol 10 % m v⁻¹.

Dessa forma, valores de *scores* positivos na PC1 foram obtidos para elementos que apresentaram maiores efeitos matriciais e, conseqüentemente, $I_{rel} > 1,3$ como As (40,5), Hg (7,7), P (5,4) e Pb (14,3), seguidos de valores de *scores* negativos para elementos menos afetados pela adição de etanol, i.e. Al (-5,1), Ca I (-5,0), Ca II (-11,9), Cd (-1,9), Fe (-9,9), Mg I (-14,9) e Mg II (-17,7), cuja I_{rel} varia de 1,2 a 1,3. Os elementos estudados podem ser classificados em quatro grupos considerando as energias totais das linhas de emissão informadas na Tabela A6 e os dados da PCA.

O primeiro grupo apresentou I_{rel} entre 1,22 e 1,29 e inclui linhas atômicas de Al, Ca, Cd, Cu e Mg, que apresentam menores valores de energias,

E_{sum} 3-5 eV. O segundo grupo é composto por Hg, que apresentou um comportamento diferenciado, I_{rel} em torno de 1,35 e E_{sum} de 4,89 eV. O terceiro grupo é constituído por As, P e Pb que apresentaram as maiores I_{rel} , entre 1,33 e 1,54 e possuem E_{sum} entre 5 e 6 eV. O quarto grupo apresenta maiores valores de E_{sum} (> 9 eV) e menores I_{rel} (1,20-1,25) e compreende as linhas de emissão iônicas de Ca, Mg e Fe.

Recentemente GRINDLAY *et al.*¹⁰² avaliaram a introdução de metanol e 1-propanol em ICP-OES e observaram um fenômeno, conhecido como “efeito de pinça térmica”, relacionado ao aumento da condutividade térmica do plasma pela atomização de moléculas do solvente e ao resfriamento de suas regiões periféricas, dando origem a um plasma menor e mais quente. Esta hipótese foi avaliada em MIP-OES, no entanto, nenhuma mudança aparente no comprimento do plasma foi visualmente observada quando etanol 10 % m v⁻¹ foi injetado. Além disso, a temperatura de excitação não aumentou como observado em ICP-OES, ao contrário, diminuiu na presença de etanol, como será mostrado nas seções a seguir.

Considerando que o etanol afetou predominantemente a geração e o transporte de aerossóis e que valores de recuperações superiores a 120 % foram observados, a IS foi avaliada e será discutida posteriormente.

4.4.3 - Avaliação de efeitos matriciais causados por ácido oxálico

O etanol é um solvente volátil introduzido no plasma tanto como líquido quanto como vapor e foi responsável pelo aumento dos sinais analíticos para todos os elementos quando altos teores (concentração de C superior a $0,44 \text{ mol L}^{-1}$) foram adicionados. Portanto, para uma melhor compreensão dos efeitos matriciais causados por carbono em MIP-OES fez-se necessário avaliar o efeito de compostos não voláteis e selecionou-se ácido oxálico para essa avaliação.

Os resultados obtidos são apresentados na Tabela 4.6 e é importante ressaltar que as concentrações de carbono são as mesmas avaliadas para etanol em baixos teores (Tabela 4.4). A Figura 4.4 mostra o efeito de $0,22 \text{ mol L}^{-1}$ e $0,44 \text{ mol L}^{-1}$ de C a partir do ácido oxálico na recuperação de cada analito empregando calibração externa.

Ao contrário dos resultados anteriores, apenas Mg I ($285,213 \text{ nm}$) e Pb I ($217,000 \text{ nm}$) apresentaram recuperações dentro da faixa aceitável de 80-120 %. Também é interessante notar que Ca II ($396,847 \text{ nm}$), Cd I ($228,802 \text{ nm}$), Fe II ($259,940 \text{ nm}$), Hg I ($253,652 \text{ nm}$) e Mg II ($279,553 \text{ nm}$), que não foram significativamente afetados por baixas concentrações de etanol (Figura 4.1), mostraram aumento dos sinais analíticos na presença de ácido oxálico.

Diferentemente desses elementos, As I ($234,984 \text{ nm}$) e P I ($213,618 \text{ nm}$) cujas E_{sum} são $5,27$ e $5,80 \text{ eV}$, respectivamente, apresentaram decréscimo nas recuperações com o aumento da concentração de carbono em solução. Essa supressão está relacionada a processos energéticos no plasma e confirma a influência da fonte de carbono no comportamento dos analitos, pois mesmo em concentrações de carbono similares ($0,04 - 0,44 \text{ mol L}^{-1}$) efeitos distintos foram observados entre etanol e ácido oxálico.

TABELA 4.6 - Efeito do ácido oxálico nas recuperações (%) de cada analito por MIP-OES (média \pm desvio padrão, n = 3).

Carbono (mol L ⁻¹)	Al I	As I	Ca I	Ca II	Cd I	Cu I	Fe II	Hg I	Mg I	Mg II	P I	Pb I
0,00	396,152	234,984	422,673	396,847	228,802	324,754	259,940	253,652	285,213	279,553	213,618	217,000
0,04	100 \pm 2	100 \pm 4	100 \pm 4	100 \pm 6	100 \pm 1	100 \pm 7	100 \pm 2	100 \pm 7	100 \pm 3	100 \pm 6	100 \pm 6	100 \pm 1
0,09	92 \pm 5	96 \pm 2	86 \pm 1	93 \pm 3	91 \pm 2	88,9 \pm 0,3	91 \pm 2	91 \pm 1	85 \pm 2	100,1 \pm 0,4	86 \pm 4	88 \pm 1
0,13	120 \pm 5	99 \pm 5	93 \pm 3	92 \pm 3	93 \pm 3	92 \pm 6	90 \pm 4	101 \pm 5	88 \pm 5	106 \pm 6	0,6	98 \pm 2
0,18	126 \pm 8	92 \pm 8	107 \pm 4	104 \pm 6	104 \pm 7	101 \pm 5	101 \pm 6	117 \pm 3	98 \pm 5	117 \pm 8	69 \pm 3	100 \pm 2
0,22	126 \pm 4	77 \pm 3	91 \pm 2	88 \pm 2	94 \pm 4	95 \pm 3	92 \pm 2	122 \pm 4	89 \pm 5	114 \pm 5	51 \pm 6	94 \pm 1
0,26	130 \pm 2	72 \pm 8	101 \pm 5	97 \pm 10	101 \pm 6	97 \pm 4	101 \pm 5	134 \pm 12	92 \pm 3	133 \pm 10	40 \pm 3	97 \pm 2
0,31	130 \pm 9	74 \pm 4	108 \pm 6	94 \pm 2	108 \pm 4	102 \pm 5	108 \pm 4	141 \pm 3	96 \pm 2	133 \pm 4	36 \pm 4	97 \pm 1
0,35	136 \pm 6	75 \pm 4	115 \pm 3	103 \pm 9	120 \pm 6	109 \pm 5	115 \pm 2	140 \pm 6	111 \pm 6	133 \pm 10	35 \pm 5	105 \pm 2
0,40	168 \pm 6	78 \pm 8	126 \pm 1	128 \pm 7	130 \pm 5	114 \pm 6	123 \pm 7	152 \pm 8	119 \pm 6	164 \pm 6	34 \pm 5	111 \pm 1
0,44	138 \pm 8	77,8 \pm 0,6	123 \pm 2	134 \pm 5	123 \pm 2	118 \pm 3	124 \pm 5	145 \pm 9	119 \pm 5	153 \pm 7	35 \pm 9	117 \pm 2
	141 \pm 2	72 \pm 4	124 \pm 4	122 \pm 6	125,7 \pm 0,5	122 \pm 7	121 \pm 6	143 \pm 7	111 \pm 3	152 \pm 7	27 \pm 2	113 \pm 3

I - Linha atômica, II - Linha iônica.

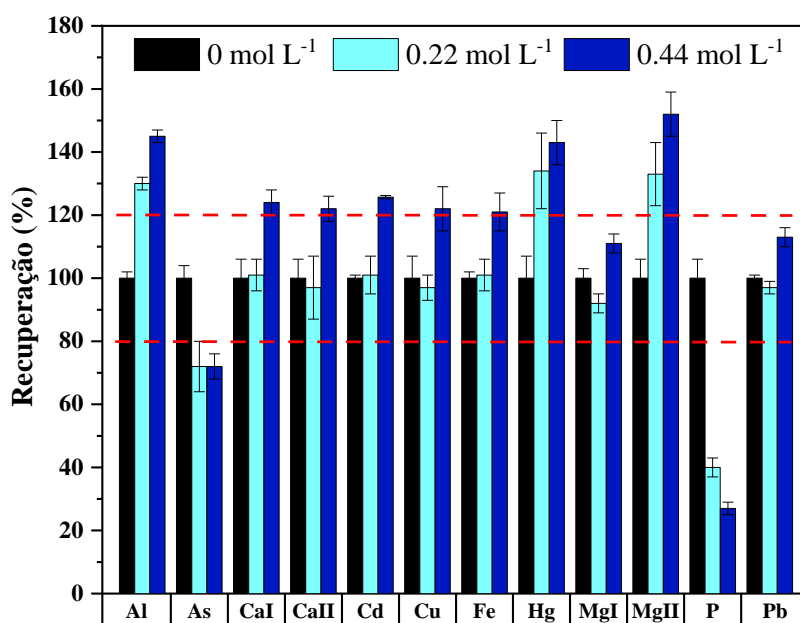
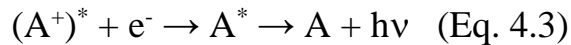
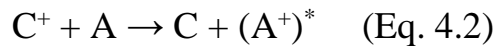


FIGURA 4.4- Efeito de ácido oxálico (■ 0,22 e ■ 0,44 mol L⁻¹ de C) na recuperação de cada analito por MIP-OES em comparação com uma solução de HNO₃ 0,14 mol L⁻¹ (■).

Enquanto o etanol promoveu preferencialmente alterações na nebulização e no transporte da amostra, o ácido oxálico foi responsável por alterações energéticas no plasma, visto que os valores de tensão superficial para água (71,99 mN m⁻¹)⁸⁵ e soluções de ácido oxálico entre 1,0 e 5,0 % m m⁻¹ (71,00 mN m⁻¹)¹⁰³ são próximos. Consequentemente, os diâmetros das gotas dos aerossóis provavelmente não são tão diferentes e, assim, pode-se supor a predominância de efeitos sobre os processos de excitação-ionização.

Portanto, os aumentos de sinais observados para Al, Ca, Cd, Cu, Fe, Hg e Mg II, podem ser explicados por reações de transferência de carga entre o analito (A) e C⁺, seguidas por processos de recombinação íon-elétron e consequente aumento na população de átomos excitados (A^{*}), conforme representado pelas Equações 4.2 e 4.3 propostas por GRINDLAY *et al.*⁹⁴:



Quanto aos elementos As e P, as recuperações abaixo de 80 % podem ser explicadas pelo mesmo mecanismo proposto por LONG e BOLTON¹⁰⁴ ao observarem uma diminuição nos sinais analíticos para Ca, Cu, Fe e Mg na presença de propano por ICP-OES. Segundo os autores, a supressão dos sinais foi causada pela diminuição na população de átomos excitados devido à desativação por colisões com o carbono.

A relação entre E_{sum} e I_{rel} também foi avaliada para o ácido oxálico aplicando-se PCA conforme mostrado na Figura 4.5. Os componentes principais PC1 e PC2 explicaram 98,8 e 0,95 % da variância total dos dados, respectivamente. Valores negativos em PC1 foram observados para elementos que apresentaram aumento de sinal com $I_{\text{rel}} > 1,2$ como Al (-30,1), Ca I (-9,1), Ca II (-7,2), Cd (-10,8), Cu (-7,2), Fe (-6,3), Hg (-28,2) e Mg II (-37,3), seguidos de valores positivos para aqueles que apresentaram supressão de sinal ou não foram significativamente afetados como As (42,8), Mg I (3,9), P (87,8) e Pb (1,8).

Os analitos foram classificados em quatro grupos considerando a energia da linha de emissão e os dados da PCA. O primeiro grupo compreende as linhas atômicas de Al, Ca, Cd, Cu e Hg que apresentaram I_{rel} na faixa de 1,22-1,43 e E_{sum} de 2,9-5,4 eV. O segundo grupo é composto por As, Mg I e Pb, cuja I_{rel} encontram-se entre 0,72 e 1,13 e E_{sum} entre 4,3 e 5,7 eV. O terceiro grupo é composto por P, elemento que apresentou pronunciada supressão de sinal (I_{rel} 0,27 e E_{sum} 5,8 eV). O quarto grupo compreende as linhas iônicas de Ca, Mg e Fe, I_{rel} entre 1,21 e 1,52 e $E_{\text{sum}} > 9$ eV.

Considerando-se que a presença de ácido oxálico afetou todos os elementos, com exceção de Mg I e Pb I e promoveu aumento dos sinais analíticos

para Al, Ca, Cd, Cu, Fe, Hg e Mg II e supressão para As e P, a padronização interna foi avaliada para correção dos efeitos e será posteriormente abordada.

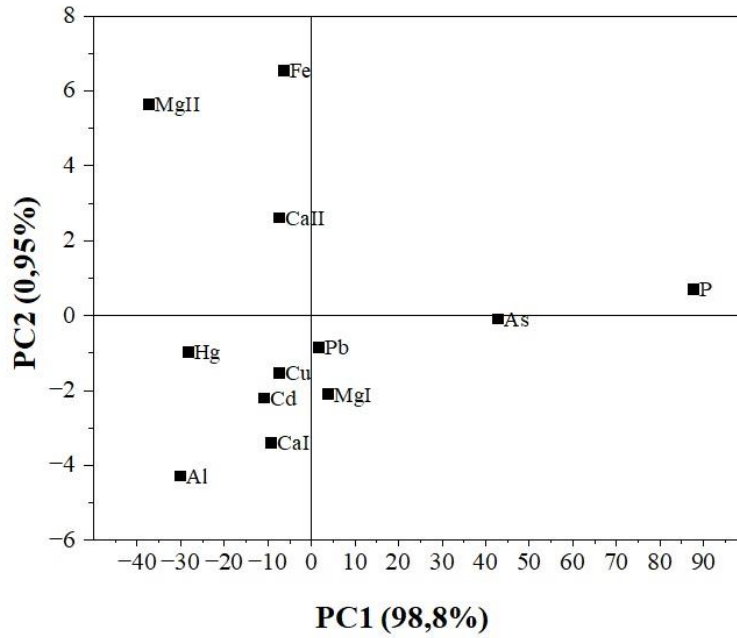


FIGURA 4.5- Representação PCA para cada analito em 2,0% m v⁻¹ de ácido oxálico.

4.4.4 - Efeito das matrizes orgânicas na temperatura de excitação do plasma

A composição da solução introduzida no plasma afeta suas características térmicas.⁸⁵ Visando um melhor entendimento sobre os efeitos causados por carbono em MIP-OES, a temperatura de excitação do plasma foi avaliada em duas situações experimentais conforme relatado na seção 4.3.4, nas presenças de ácido oxálico (0,04 a 0,44 mol L⁻¹ de C) e etanol (0,44 a 4,4 mol L⁻¹ de C).

Primeiro a vazão do gás de nebulização e a posição de visualização foram otimizadas para cada linha de emissão de Fe pelo programa de controle do instrumento de forma a obter as melhores relações sinal - ruído (condição otimizada). Posteriormente, avaliou-se uma condição fixa para todas as linhas de emissão, mantendo a vazão do gás de nebulização em 0,50 L min⁻¹ e a posição de visualização em -30. Essa última condição foi escolhida com base no estudo de GONCALVES *et al.*⁵¹ que a adotaram como condição robusta. Assim, os efeitos causados pelo etanol e ácido oxálico na temperatura de excitação do MIP em ambas as condições experimentais são mostrados na Figura 4.6.

Quando o etanol está ausente, ou seja, apenas uma solução de ácido nítrico 0,14 mol L⁻¹ foi introduzida, as temperaturas de excitação do plasma nas condições otimizada e robusta foram de 4716 e 5309 K, respectivamente, provando que a mudança na vazão do gás de nebulização e na posição de observação do plasma afetam a temperatura e como esperado, a condição robusta gera maiores temperaturas.⁵¹ Da mesma forma, quando o ácido oxálico estava ausente, as temperaturas de excitação foram 5103 e 5320 K, nas condições otimizada e robusta, respectivamente. Os diferentes valores observados na ausência dos compostos orgânicos para a condição otimizada, i.e., 4716 e 5103 K são atribuídas aos diferentes dias em que as medições foram realizadas e às pequenas mudanças na posição da tocha retirada para limpeza. Vale ressaltar que o alinhamento da tocha foi realizado antes de cada sessão de medidas.

O aumento na concentração de carbono levou à diminuição na temperatura para ambas as fontes de carbono. Supressões em torno de 4,7 % (4716 vs 4496 K) e 6,7 % (5103 vs 4761 K) foram observadas na condição otimizada para as máximas adições de etanol e ácido oxálico em relação à solução de HNO₃ 0,14 mol L⁻¹. Na condição robusta as supressões foram de 11,9 % (5309 vs 4679 K) e 3,9 % (5320 vs 5113 K) para etanol e ácido oxálico, respectivamente. Isso demonstra que a realização das medições analíticas em condição robusta não seria suficiente para correção dos efeitos matriciais para essas fontes de carbono.

Devido ao carbono no plasma, um maior aporte energético é consumido para a dissociação das moléculas em comparação com as soluções aquosas. De acordo com LECLERCQ *et al.*⁸⁵, a diminuição na temperatura de excitação está relacionada ao aumento da energia de dissociação necessária quando as principais espécies formadas no plasma são comparadas, ou seja, 4,3 eV para OH em soluções aquosas e 6,5 eV para C₂ em matriz orgânica. Além disso, para compostos voláteis como o etanol, uma maior massa de solvente é introduzida no plasma em relação à água e, conseqüentemente, ocorre resfriamento.

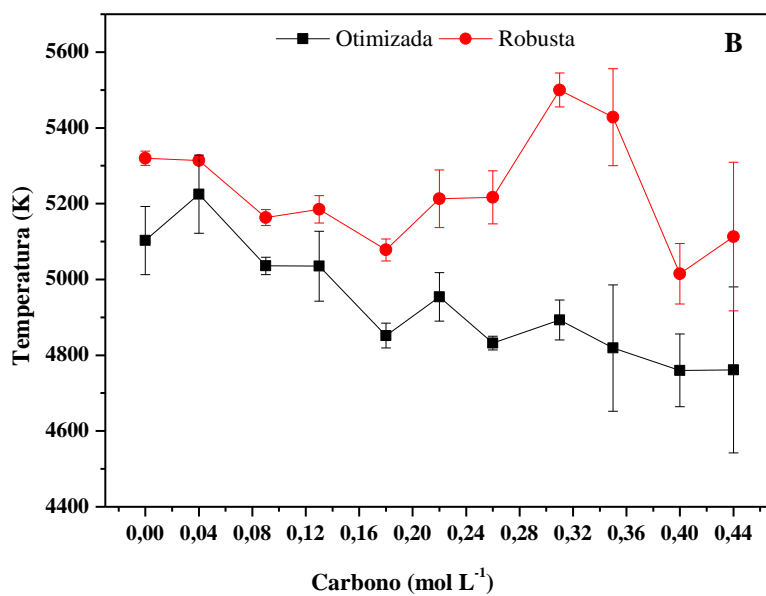
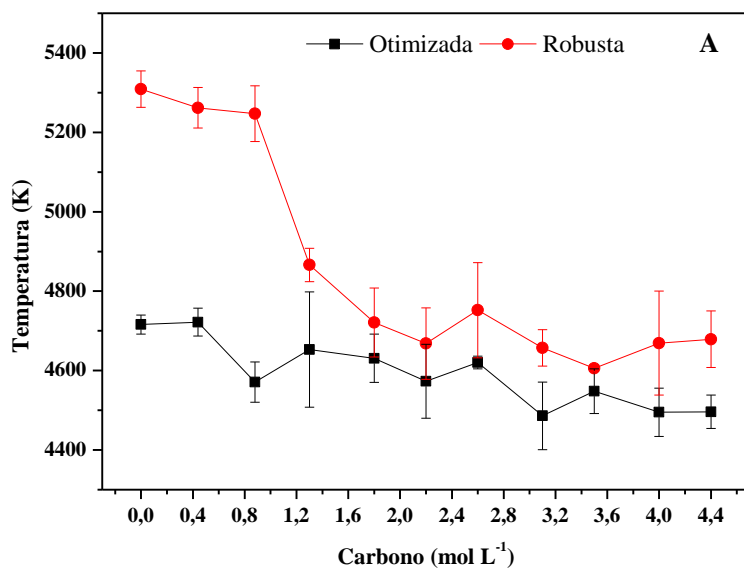


FIGURA 4.6 - Temperatura de excitação do MIP-OES em (A) etanol e (B) ácido oxálico nas condições ■ otimizadas e ● robustas.

4.4.5 - Avaliação do método de calibração por padronização interna

Devido aos efeitos matriciais observados para alguns analitos nas amostras contendo etanol e ácido oxálico, o método de calibração por padronização interna foi avaliado através de oito potenciais ISs (Bi, Ga, Ge, Li, Pd, Rh, Sc e Y) e duas espécies moleculares naturalmente presentes no plasma de nitrogênio (N_2^+ e OH).

Em baixas concentrações de etanol (até $0,44 \text{ mol L}^{-1}$ de C) apenas Al I (396,152 nm), Ca I (422,673 nm), Cu I (324,754 nm) e Mg I (285,213 nm), apresentaram recuperações acima de 120 % e os ISs foram avaliados para correção dos efeitos, conforme Tabela 4.7. As melhores recuperações foram alcançadas usando Li I como IS para Al I; Li I ou Sc I como IS para Ca I; e Pd I como IS para Cu I e Mg I.

Considerando as propriedades físico-químicas para o par analito/IS, Cu I (324,754 nm) e Pd I (340,458 nm) apresentaram comprimentos de onda e E_{sum} (3,82 e 3,64 eV, respectivamente) próximos, o que estaria de acordo com as estratégias tradicionais de seleção de ISs relatadas na literatura.⁶ No entanto, com base nessa estratégia, Sc I (391,182 nm e E_{sum} 3,17 eV) deveria ser o melhor IS para Al I (396,152 nm e E_{sum} 3,13 eV). Entretanto, as melhores recuperações foram obtidas empregando Li como IS (670,784 nm e E_{sum} 1,85), elemento com linha de emissão e energia distantes às do analito.

Avaliando outras propriedades como, por exemplo, a entalpia de vaporização, valores próximos foram observados entre o analito Ca (155 kJ mol^{-1}) e o IS Li (147 kJ mol^{-1}). Entretanto, essa mesma relação não foi válida entre os pares Al (294 kJ mol^{-1}) / Li (147 kJ mol^{-1}) e Mg (128 kJ mol^{-1}) / Pd (362 kJ mol^{-1}), cujos valores foram distintos.

Como discutido anteriormente, o aumento de 10 vezes na concentração de etanol resultou em recuperações acima de 120 % para todos

analitos e os resultados obtidos empregando padronização interna são mostrados na Tabela 4.8. Vários ISs foram eficientes para correção dos efeitos matriciais, destacam-se Ge I (265,117 nm), Bi I (223,061 nm) e a espécie molecular OH, que se comportaram como padrões internos gerais e foram capazes de corrigir os efeitos para todos os analitos. Esse resultado é interessante para futuras aplicações em MIP-OES, pois demonstra ser possível o uso de um único IS e o emprego de uma espécie molecular naturalmente presente no plasma para corrigir efeitos causados por amostras com concentração de etanol acima de 1,0 % $m v^{-1}$. Segundo WILLIAMS *et al.*⁷⁴ a espécie OH está relacionada com a eficiência do sistema de introdução de amostra em MIP-OES, o que explica sua boa aplicação como IS para soluções contendo etanol, uma vez que o solvente foi responsável por alterações nas etapas de nebulização e transporte.

Na presença do ácido oxálico, a padronização interna foi necessária para a maioria dos analitos e os resultados são apresentados na Tabela 4.9. Germânio comportou-se como melhor IS para Al I e Hg I; OH como IS para As I; Ga como IS para Ca II; Rh como IS para Cd I; Li como IS para Ca I, Cu I e Fe II; e Y como IS para Mg II. Nenhum IS foi capaz de corrigir a severa supressão de sinal para P. Também foi demonstrado que a escolha da linha de emissão do analito afeta a seleção do IS, i.e., Li se comportou como IS para a linha atômica de Ca enquanto Ga proporcionou os melhores resultados para a linha iônica.

Novamente observou-se que não há uma relação clara entre as propriedades físico-químicas dos analitos e padrões internos. Com base em sua similaridade, Sc II (361,383 nm) ou Y II (371,029 nm) deveriam ser ISs adequados para Fe II (259,940 nm e E_{sum} 12,67 eV), no entanto, melhores valores de recuperação foram obtidos empregando Li (670,784 nm e E_{sum} 1,85 eV). Nenhum IS foi capaz de corrigir os efeitos matriciais para todos os analitos e a seleção foi melhor realizada com base nos valores de recuperações do que em propriedades similares.

TABELA 4.7 - Padrões internos para análise elementar em soluções contendo até 0,44 mol L⁻¹ de carbono providente da adição de etanol por MIP-OES.

Analito - λ (nm)	E_{sum}^{\dagger} (eV) analito	Padrões internos	Melhores ISs	E_{sum}^{\dagger} (eV) IS
Al 396,152 (I)	3,13	Li	Li 670,784 (I)	1,85
As 234,984 (I)	5,27	Não é necessário	-	-
Ca 422,673 (I)	2,93	Ga, Sc, Rh, Li e OH	Li 670,784 (I) Sc 391,182 (I)	1,85 3,17
Ca 396,847 (II)	9,23	Não é necessário	-	-
Cd 228,802 (I)	5,41	Não é necessário	-	-
Cu 324,754 (I)	3,82	Pd	Pd 340,458 (I)	3,64
Fe 259,940 (II)	12,67	Não é necessário	-	-
Hg 253,652 (I)	4,89	Não é necessário	-	-
Mg 285,213 (I)	4,34	Pd	Pd 340,458 (I)	3,64
Mg 279,553 (II)	12,08	Não é necessário	-	-
P 213,618 (I)	5,80	Não é necessário	-	-
Pb 217,000 (I)	5,71	Não é necessário	-	-

I – Linha atômica; II – Linha iônica.

$$\dagger E_{\text{sum}} = E_{\text{exc}} + E_{\text{ion}}$$

TABELA 4.8 - Padrões internos para análise elementar em soluções contendo de 0,44 a 4,4 mol L⁻¹ de C providente da adição de etanol por MIP-OES.

Analito - λ (nm)	E_{sum}^{\dagger} (eV) analito	Padrões internos	Melhores ISs	E_{sum}^{\dagger} (eV) IS
		Rh, Sc II, Li, Bi, Ge e		
Al 396,152 (I)	3,13	OH	Rh 343,489 (I)	3,61
			Ge 265,117 (I)	4,68
As 234,984 (I)	5,27	Ge, Bi, OH, Li e Rh	Bi 223,061 (I)	5,56
			Li 670,784 (I)	1,85
Ca 422,673 (I)	2,93	Ge, Bi, Rh, Sc II, OH e Li	OH	4,01
Ca 396,847 (II)	9,23	Ge, Bi, Rh, Sc II, Li e OH	Rh 343,489 (I)	3,61
Cd 228,802 (I)	5,41	Bi, Ge, OH, Sc II, Sc I, Rh e Li	Ge 265,117 (I)	4,68
			Bi 223,061 (I)	5,56
Cu 324,754 (I)	3,82	Bi, Ge, Sc II, OH, Rh e Li	Ge 265,117 (I)	4,68
			Bi 223,061 (I)	5,56
Fe 259,940 (II)	12,67	Rh, Ge, Bi, Li e OH	Rh 343,489 (I)	3,61
Hg 253,652 (I)	4,89	Bi, Ge, OH, Sc II, Sc I, Rh e Li	Ge 265,117 (I)	4,68
Mg 285,213 (I)	4,34	Sc II, Rh, Bi, Ge e OH	Rh 343,489 (I)	3,61
Mg 279,553 (II)	12,08	Sc II, Rh, Bi Ge e OH	Sc 361,383 (II)	9,99
P 213,618 (I)	5,80	Ge, Bi, Rh, Li e OH	Ge 265,117 (I)	4,68
			Bi 223,061 (I)	5,56
Pb 217,000 (I)	5,71	Bi, OH, Ge e Li	Ge 265,117 (I)	4,68

I – Linha atômica; II – Linha iônica $\dagger E_{\text{sum}} = E_{\text{exc}} + E_{\text{ion}}$

TABELA 4.9 - Padrões internos para análise elementar em soluções contendo ácido oxálico por MIP-OES.

Analito - λ (nm)	E_{sum}^{\dagger} (eV) analito	Padrões internos	Melhores ISs	E_{sum}^{\dagger} (eV) IS
Al 396,152 (I)	3,13	Sc II, Ge, Li e Rh	Ge 265,117 (I)	4,68
As 234,984 (I)	5,27	OH	OH	4,01
Ca 422,673 (I)	2,93	Ge, Li, Rh, Sc I, Sc II e Y	Li 670,784 (I)	1,85
Ca 396,847 (II)	9,23	Li, Ga, Sc I, Rh e Pd	Ga 417,204 (I)	2,97
Cd 228,802 (I)	5,41	Ga, Pd, Ge, Li, Rh, Sc II e Sc I	Rh 343,489 (I)	3,61
Cu 324,754 (I)	3,82	Ga, Rh, Li, Sc I e Pd	Li 670,784 (I)	1,85
Fe 259,940 (II)	12,67	Sc II, Sc I, Rh, Li e Ge	Li 670,784 (I)	1,85
Hg 253,652 (I)	4,89	Ge e Y	Ge 265,117 (I)	4,68
Mg 285,213 (I)	4,34	Não é necessário	-	-
Mg 279,553 (II)	12,08	Y, Ge e Sc II	Y 371,029 (II)	9,56
P 213,618 (I)	5,80	Nenhum corrige	-	-
Pb 217,000 (I)	5,71	Não é necessário	-	-

I – Linha atômica; II – Linha iônica

$$\dagger E_{\text{sum}} = E_{\text{exc}} + E_{\text{ion}}$$

4.4.6. Avaliação do EGCM para correção dos efeitos matriciais

O EGCM foi avaliado como estratégia para correção dos efeitos matriciais em modo alto ($1,0 \text{ L min}^{-1}$) e empregado em soluções contendo altos teores de etanol ($0,44$ a $4,4 \text{ mol L}^{-1}$ de C). Os resultados são apresentados na Tabela 4.10.

Comparando os resultados obtidos na ausência de EGCM (Tabela 4.5) com aqueles obtidos com o acessório (Tabela 4.10) para uma mesma concentração de carbono ($4,4 \text{ mol L}^{-1}$), conforme mostrado na Figura 4.7, pode-se observar que o EGCM promoveu uma melhoria nas recuperações de Ca II ($396,847 \text{ nm}$), Cd I ($228,802 \text{ nm}$), Cu I ($324,754 \text{ nm}$), Fe II ($259,940 \text{ nm}$), Mg I ($285,213 \text{ nm}$) e Pb I ($217,000 \text{ nm}$) e pode ser uma estratégia atrativa para correção de efeitos matriciais para alguns analitos em matrizes orgânicas.

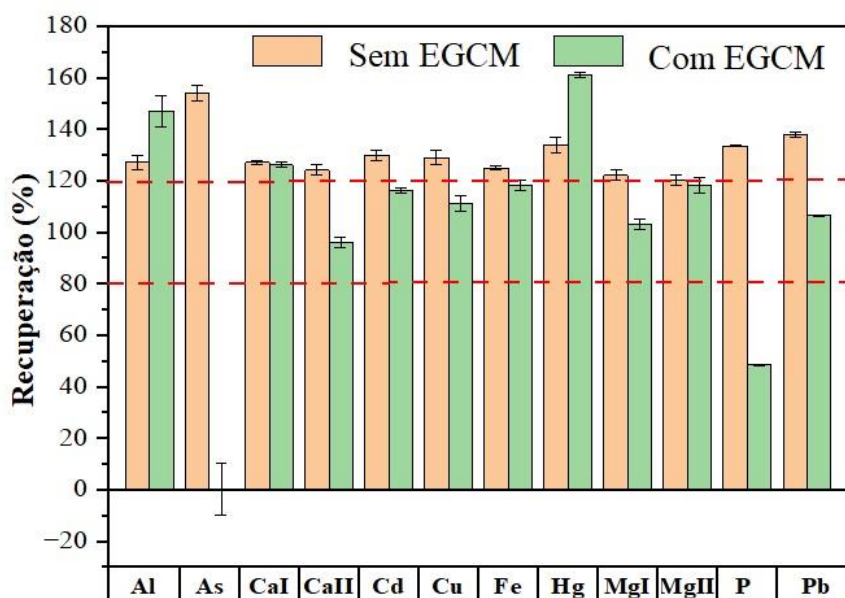


FIGURA 4.7 - Avaliação do EGCM como ferramenta para correção dos efeitos matriciais em etanol ($4,4 \text{ mol L}^{-1}$ de C) por MIP-OES.

TABELA 4.10 - Avaliação do EGCM em soluções contendo etanol empregando EC por MIP-OES (média \pm desvio padrão, n = 3).

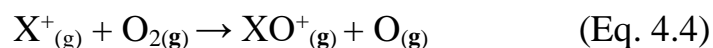
Carbono mol L ⁻¹	Al I	As I	Ca I	Ca II	Cd I	Cu I	Fe II	Hg I	Mg I	Mg II	P I	Pb I
	396,152	234,984	422,673	396,847	228,802	324,754	259,940	253,652	285,213	279,553	213,618	217,000
0,00	100 \pm 2	100 \pm 7	100 \pm 1	100 \pm 3	100 \pm 2	100 \pm 2	100 \pm 2	100 \pm 6	100 \pm 2	100 \pm 1	100 \pm 2	100 \pm 4
0,44	154 \pm 9	107 \pm 3	104 \pm 4	99 \pm 2	103 \pm 4	101 \pm 6	104 \pm 3	110 \pm 4	101 \pm 2	100 \pm 4	98 \pm 2	102 \pm 4
0,88	218,5 \pm 0,3	79 \pm 4	108,5 \pm 0,5	97 \pm 2	106 \pm 3	102 \pm 6	106 \pm 5	125 \pm 5	98 \pm 1	104 \pm 4	87 \pm 1	98 \pm 2
1,3												98,6 \pm 0,6
	246 \pm 3	69 \pm 5	110 \pm 2	96 \pm 2	106 \pm 2	100 \pm 2	108 \pm 2	139 \pm 5	99 \pm 2	105 \pm 1	80 \pm 5	
1,8									99,8 \pm	109,5 \pm		
	128 \pm 9	51 \pm 3	112 \pm 1	95 \pm 2	109 \pm 2	103 \pm 2	112 \pm 4	148 \pm 3	0,9	0,2	74 \pm 5	102 \pm 3
2,2				94,4 \pm	109,3 \pm							
	133 \pm 2	41 \pm 3	118 \pm 5	0,8	0,3	105 \pm 1	111 \pm 2	153 \pm 3	101 \pm 1	108 \pm 1	70 \pm 6	103 \pm 1
2,6	159 \pm 10	30 \pm 2	119 \pm 2	93,2 \pm 0,6	111 \pm 2	0,3	114 \pm 5	156 \pm 1	0,9	108 \pm 3	65 \pm 4	102 \pm 2
3,1			122,9 \pm	94,8 \pm				156,6 \pm				103,8 \pm
	166 \pm 5	21 \pm 4	0,9	0,8	113 \pm 2	107 \pm 3	116 \pm 5	0,4	100 \pm 1	109 \pm 1	61 \pm 1	0,6
3,5	116 \pm 1	4 \pm 4	121 \pm 2	92 \pm 2	113 \pm 2	109 \pm 2	115 \pm 3	157 \pm 3	102 \pm 3	108 \pm 2	57 \pm 6	98 \pm 4
4,0					114,4 \pm							
	124 \pm 4	-26 \pm 4	121 \pm 1	94 \pm 1	0,6	109 \pm 2	119 \pm 2	157 \pm 2	102 \pm 3	114 \pm 2	54 \pm 2	100 \pm 2
4,4											48,5 \pm	106,4 \pm
	147 \pm 6	-41 \pm 10	126 \pm 1	96 \pm 2	116 \pm 1	111 \pm 3	118 \pm 2	161 \pm 1	103 \pm 2	118 \pm 3	0,3	0,2

I – Linha atômica; II – Linha iônica

Entretanto, piores recuperações foram observadas para Al, As, Hg e P, com acentuado aumento nos sinais analíticos para Al e Hg e supressão para As e P, demonstrando que o uso de EGCM não foi eficiente para todos os elementos estudados e seu desempenho deve ser explicado com base na reatividade entre cada analito e oxigênio.

VIRGÍLIO *et al.*¹⁰⁵, em um estudo com foco em ICP-MS, relataram diferentes afinidades com o oxigênio e classificaram os elementos em três grupos gerais. Os elementos do primeiro grupo apresentam elevada reatividade e são representados por Ce, La, P, Sc, Ti e Y. O segundo grupo é composto por elementos de reatividade intermediária como As, Ba, Mo, Si, Sr e V. Por outro lado, o terceiro grupo compreende os elementos menos reativos, como Al, Bi, Cu, Mg e Pd.

Assim, P e As apresentam reatividades elevada e intermediária, respectivamente. Portanto, reagiram com o O₂ introduzido no plasma pelo EGCM, formando óxidos (XO⁺), conforme representado pela Equação 4.4.¹⁰⁵ Esses, por sua vez, levam à diminuição na população de átomos excitados, o que explica a supressão de sinal observada.



Portanto, embora o EGCM tenha sido eficientemente aplicado para correção dos efeitos causados por etanol para alguns elementos (Ca II, Cd I, Cu I, Fe II, Mg I e Pb I), não foi uma estratégia viável para todos os analitos estudados (Al I, As I, Hg I e P I). Dessa forma, o uso da padronização interna apresentou maior viabilidade para análise multi-elementar por MIP-OES.

4.5 - Conclusões parciais

Esse capítulo demonstrou que os efeitos matriciais causados por carbono em MIP-OES estão relacionados a uma combinação de diferentes fatores, tais como mudanças na geração e transporte do aerossol (etanol) ou efeitos energéticos no plasma (ácido oxálico) e dependem tanto da fonte quanto da concentração de carbono.

Os concomitantes diminuíram a temperatura de excitação do plasma para ambas as condições avaliadas (otimizada e robusta) demonstrando que, ao contrário do esperado, apenas o emprego da condição robusta não possibilitaria a obtenção de resultados adequados. O acessório EGCM, por sua vez, foi uma estratégia viável para a correção de efeitos matriciais para alguns analitos, contudo, não foi eficiente para todos.

Com base em experimentos de adição e recuperação, verificou-se que a escolha do IS não estava diretamente relacionada às propriedades físico-químicas similares com o analito (comprimento de onda, energia da linha de emissão ou entalpia de vaporização) e a seleção do IS foi melhor realizada considerando-se os valores de exatidão obtidos. Os ISs Ge, Bi e a espécie molecular OH foram eficientes para garantir exatidão e precisão para todos os elementos estudados quando a concentração de etanol foi superior a 1,0 % m v⁻¹, o que pode ser aplicado em futuras análises por MIP-OES.

CAPÍTULO 5 -

*Análise de bebidas isotônicas e energéticas:
avaliação de estratégias de calibração para
correção de efeitos matriciais*

ANÁLISE DE BEBIDAS ISOTÔNICAS E ENERGÉTICAS: AVALIAÇÃO DE ESTRATÉGIAS DE CALIBRAÇÃO PARA CORREÇÃO DE EFEITOS MATRICIAIS

5.1 – Revisão bibliográfica

As bebidas esportivas têm se tornado popular, principalmente no meio adulto/juvenil, para reposição e/ou suplementação de nutrientes como carboidratos, vitaminas e minerais. Normalmente, essas bebidas são utilizadas durante ou após longos períodos de atividade física ou intelectual.¹⁰⁶ O uso dessas bebidas deve-se à sua composição, cujo componente majoritário é a água, mas também inclui minerais (Na, K, Ca, Mg etc.), açúcares, adoçantes artificiais, aditivos e estimulantes como guaraná, cafeína e taurina, sendo, portanto, responsáveis pela hidratação, melhora da fadiga, aumento da energia e desempenho.^{107,108}

De forma geral, as bebidas isotônicas são àquelas que apresentam teores de água e íons dissolvidos similares ao sangue e possuem concentração de carboidratos na faixa de 6-8 % m v⁻¹, enquanto os energéticos compreendem uma mistura de compostos impulsionadores de energia como a cafeína (capaz de alterar a frequência cardíaca) e apresentam teores de açúcar entre 10 e 13 % m v⁻¹.¹⁰⁹

De acordo com a Associação Brasileira de Indústrias de Refrigerantes e Bebidas Não-alcoólicas (ABIR) estima-se que o consumo de bebidas isotônicas e energéticas no país seja em torno de 35 L/habitante/ano.¹¹⁰ Com o objetivo de regulamentar a composição e rotulagem de alimentos para atletas, a Agência Nacional de Vigilância Sanitária (ANVISA) aprovou a Resolução – RDC nº 18 em 27 de abril de 2010.¹¹¹

De acordo com a ANVISA,¹¹¹ os suplementos hidroeletrólíticos devem apresentar concentração de sódio entre 460 e 1150 mg L⁻¹, concentração de potássio até 700 mg L⁻¹, osmolaridade entre 270 e 330 mOsm

kg⁻¹ de água e teor de carboidratos até 8 % m v⁻¹, sendo possível a adição de frutose em valores inferiores a 3 % m v⁻¹ e sendo proibida a adição de amidos e polióis. Quanto às bebidas energéticas, 75 % do valor calórico deve ser proveniente de carboidratos, com quantidade mínima de 15 g no conteúdo total e devem apresentar no máximo 420 mg de cafeína por porção.

Diversos estudos reportam a análise de bebidas isotônicas e energéticas e determinaram cafeína^{112,113}, taurina^{114,115}, vitaminas^{116,117} e corantes¹¹⁸. Entretanto, a análise elementar foi pouco explorada para esse tipo de amostra, visto que se trata de uma matriz complexa devido ao elevado teor de carbono e EIEs, conhecidos por causarem efeitos matriciais em métodos instrumentais com plasma induzido.^{4,85}

SZYMCZYCHA-MADEJA *et al.*¹¹⁹ avaliaram diferentes procedimentos de preparo de amostras para análise de energéticos empregando calibração externa por ICP-OES, i.e. (P1) decomposição em placa de aquecimento empregando HNO₃ concentrado e H₂O₂ 30 % v v⁻¹, (P2) solubilização em água régia e (P3) diluição em HNO₃ 2,0 % v v⁻¹ na proporção de 1:1 v v⁻¹. Verificou-se a exatidão aplicando experimentos de adição e recuperação para uma amostra do energético Monster enriquecido nas concentrações de 0,5 e 1,0 mg L⁻¹. As recuperações para Ba, Ca, Cd, Cr, Cu, Fe, Mg, Mn, Ni, P, Pb, Sr e Zn encontram-se na faixa de 98-106 % para o P1, 91-118 % para o P2 e 99-103 % para o P3 e valores mais altos de RSD foram observados para o procedimento 2 (solubilização em água régia). Diferenças significativas não foram observadas entre P1 e P3 quando um teste t ao nível de confiança de 95% foi aplicado.

LEŚNIEWICZ *et al.*¹⁰⁶ determinaram 21 elementos por ICP-OES em diferentes marcas de isotônicos e energéticos comercializados na Polônia. As amostras foram decompostas com HNO₃ concentrado até a redução para um pequeno volume empregando banho de areia. Em seguida, adicionou-se mais ácido nítrico e a mistura foi novamente aquecida. Esse procedimento foi repetido

de duas a três vezes até a obtenção de uma solução incolor. Vale ressaltar que as bebidas energéticas foram previamente desgaseificadas em banho ultrassônico e os valores de RSD encontraram-se na faixa de 1-10 % em ambas as bebidas, cujos elementos majoritários foram Ca, Mg, Na e P.

PAREDES *et al.*¹²⁰ analisaram uma amostra de isotônico não identificada e o preparo da amostra consistiu na diluição de 4 e 50 vezes em água desionizada para a determinação de Al, Ba, Cu, Fe, Mn e Zn por ICP-OES e ICP-MS, respectivamente. A calibração por adição de padrão foi aplicada devido aos efeitos matriciais e as concentrações dos analitos foram similares comparando-se os dois métodos instrumentais avaliados.

VIRGÍLIO *et al.*¹²¹ compararam diferentes estratégias de calibração i.e. calibração externa, padronização interna (usando Y), adição de padrão e análise de diluição padrão para análise de isotônico e energético por SVDV ICP-OES. As amostras foram diluídas usando um fator de 10 vezes em HNO₃ 1 % v v⁻¹ e não foram observados efeitos matriciais pronunciados, mas recuperações entre 89-93 % e 112-121 % foram observadas para Pb e Se empregando EC, respectivamente. Valores comparáveis ou melhores foram obtidos para SDA em relação à SA e IS.

GONCALVES *et al.*⁵⁷ avaliaram diferentes estratégias de calibração para análise de bebidas, dentre elas energético, por MIP-OES. As amostras foram previamente filtradas em papel de filtro com tamanho de poro de 0,45 µm e posteriormente diluídas usando um fator de 4 vezes com HNO₃ 1 % v v⁻¹. As recuperações variaram entre 95-123 % para EC, 94-127 % para IS (empregando Y), 101-122 % para SA e 90-99 % para SDA.

Como se pode observar, estudos prévios reportaram procedimentos laboriosos e uso de ácido concentrado no preparo das amostras de isotônicos e energéticos enquanto outros empregaram estratégias especiais de calibração para gerar resultados adequados. Além disso, os efeitos matriciais provenientes de

bebidas isotônicas e energéticas não foram intensivamente estudados para o plasma de nitrogênio, o que pode ser considerado um desafio.

Segundo SERRANO *et al.*⁷³ interferências matriciais provenientes da adição de cálcio foram mais pronunciadas para MIP-OES do que para ICP-OES, com valores médios de I_{rel} de 0,45 e 0,80, respectivamente. O resultado foi explicado devido à menor temperatura de excitação do plasma de N₂ (aproximadamente 1,8 vezes menor) em relação ao plasma de Ar e os autores concluíram que matrizes com elevados teores de EIEs, como bebidas isotônicas e energéticas, carecem de maior atenção.

SANTOS *et al.*¹²² também relataram a ocorrência de efeitos matriciais e possível mudança na temperatura de excitação e densidade eletrônica do MIP-OES quando elevadas concentrações de Na foram introduzidas no plasma devido à digestão alcalina empregada para determinação de Si em plantas e fertilizantes.

O capítulo anterior e o estudo de SERRANO *et al.*¹⁰⁰, por sua vez, sustentam a ideia de que severas interferências não espectrais provenientes da introdução de carbono também são esperadas na análise de bebidas isotônicas e energéticas por MIP-OES e demonstram a necessidade do emprego de estratégias de calibração adequadas, pois essas amostras normalmente apresentam uma concentração de açúcar superior a 6 % m v⁻¹.

Uma das alternativas para correção dos efeitos matriciais é o uso de padronização interna. Entretanto, apesar dos avanços reportados para facilitar a seleção de padrões internos como estratégias tradicionais baseadas nas propriedades físico-químicas⁶, uso de espécies do plasma para monitorar flutuações de sinais⁷⁴ e emprego de análise multivariada¹²³, a escolha do melhor IS é uma tarefa difícil e ainda depende tanto do analito quanto da amostra a ser analisada.

Recentemente SLOOP *et al.*¹²⁴ propuseram uma nova estratégia de calibração conhecida como calibração por múltiplos padrões internos (MISC) que se baseia no emprego de vários padrões internos e uma única solução de calibração. Como diferentes ISs são usados, as variações nos sinais analíticos são corrigidas por um efeito de padronização interna média, não sendo mais necessário identificar o IS ideal.

Os autores avaliaram a calibração por múltiplos padrões internos na determinação de nove analitos (As, Cd, Cr, Cu, Fe, Mg, Mn, Pb e Zn) por SVDV ICP-OES empregando duas possibilidades, i.e., oito elementos como ISs (Bi, Ge, In, Rh, Sc, Te, Tl e Y) ou 18 linhas de Ar (região espectral: 415,859-743,533 nm). A solução de calibração foi preparada em HNO₃ 1 % v v⁻¹ com concentração dos analitos e ISs inorgânicos iguais a 0,5 mg L⁻¹ e três matrizes foram avaliadas nos experimentos de adição e recuperação (solução de Na 0,1 % m v⁻¹, enxaguante bucal e vodca diluídos 10 vezes). Os autores não observaram diferenças significativas entre os limites de detecção obtidos para MISC e as demais estratégias empregadas (calibração externa e padronização interna usando Y e Sc). A exatidão observada para MISC foi estatisticamente similar ou superior à EC para as amostras e os materiais certificados avaliados.¹²⁴

Segundo os autores, o MISC pode ser matematicamente explicado pelas Equações 5.1 e 5.2:¹²⁴,

$$\frac{I_{A,am}}{I_{IS(n)}} = \frac{m_A}{m_{IS(n)}} \times \frac{C_{am}}{C_{IS}} \quad (\text{Eq. 5.1})$$

$$\frac{I_{A,pdc}}{I_{IS(n)}} = \frac{m_A}{m_{IS(n)}} \times \frac{C_{pdc}}{C_{IS}} \quad (\text{Eq. 5.2})$$

onde m_A e $m_{IS(n)}$ são as sensibilidades do analito e de um único IS, e C_{am} , C_{pdc} e C_{IS} são as concentrações do analito na amostra e no padrão de calibração, e a concentração do IS, respectivamente.

Considerando que a razão $\frac{m_A}{m_{IS(n)}}$ é igual entre a amostra e o padrão de calibração, as Eq. 5.1 e 5.2 podem ser reescritas como equação 5.3:

$$\frac{I_{A,am}}{I_{IS(n)}} = \frac{I_{A,pdc}}{I_{IS(n)}} \times \frac{C_{am}}{C_{pdc}} \quad (\text{Eq. 5.3})$$

Plotando a relação $I_{A,am}/I_{IS}$ no eixo y e $I_{A,pdc}/I_{IS}$ no eixo x e considerando vários padrões internos conforme Figura 5.1, a inclinação da curva analítica (m) será igual a razão entre a concentração do analito na amostra e no padrão de calibração, conforme Equação 5.4:

$$m = \frac{C_{am}}{C_{pdc}} \quad (\text{Eq. 5.4})$$

Logo, a concentração do analito na amostra pode ser calculada pela Equação 5.5:

$$C_{am} = m \times C_{pdc} \quad (\text{Eq.5.5})$$

Algumas das vantagens da estratégia são: (i) estudos prévios de seleção do IS não são necessários, (ii) espécies de ISs fora da curva analítica podem ser removidos do modelo desde que uma regressão linear adequada seja mantida, (iii) simplicidade, pois uma única solução de calibração é utilizada e (iv) a análise pode ser simplificada pelo uso de espécies do plasma, reduzindo o tempo de preparo de amostra e a geração de resíduos. Entretanto, o MISC pode ser afetado por erros sistemáticos já que uma única solução é empregada e quaisquer erros podem prejudicar a qualidade dos resultados.¹²⁴

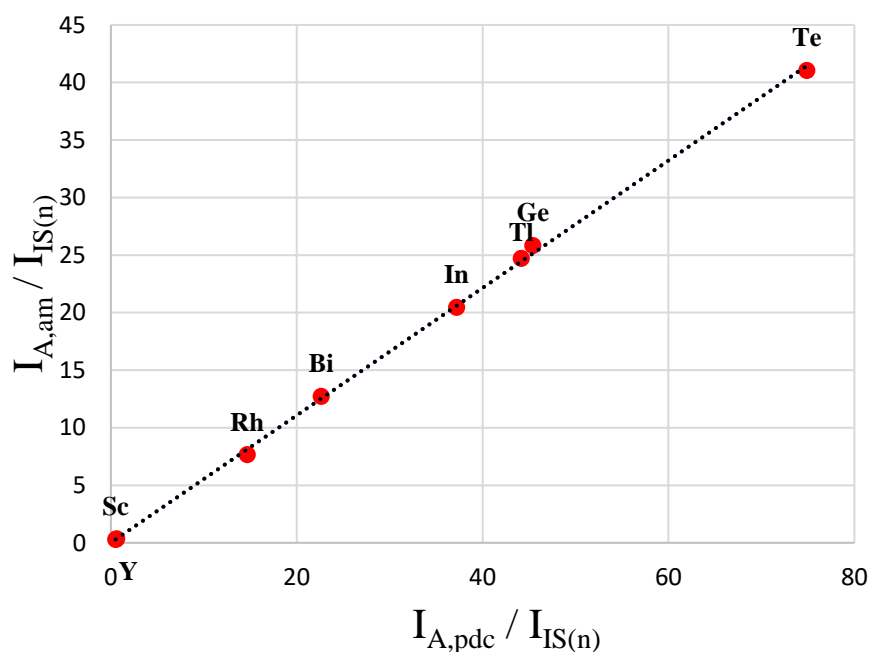


FIGURA 5.1 - Curva de calibração tipicamente empregada em MISC.

O estudo de SLOOP *et al.*¹²⁴ demonstrou o potencial do MISC para análise de três diferentes amostras e dois CRMs por ICP-OES. No entanto, torna-se necessário expandir sua aplicação para outros analitos e tipos de amostras. Além disso, a estratégia ainda não foi avaliada em outro método instrumental como o MIP-OES, o que pode ser interessante para análises futuras visto que efeitos matriciais mais pronunciados são esperados no plasma de nitrogênio.

5.2 - Objetivo

Avaliar diferentes estratégias de calibração, i.e. EC, IS e MISC (usando espécies inorgânicas e do plasma), para correção dos possíveis efeitos matriciais provenientes de bebidas isotônicas e energéticas nos sinais analíticos de 18 elementos (Al, As, B, Ca, Cd, Co, Cr, Cu, Fe, K, Mg, Mn, Na, P, Pb, Si, Sr e Zn) empregando ICP-OES e MIP-OES.

5.3 - Parte Experimental

5.3.1 - Instrumentação

Um MIP-OES modelo 4200 (Agilent Technologies, Santa Clara, CA, EUA) com câmara de nebulização ciclônica e nebulizador OneNeb série 1 foi usado para a realização de todas as análises. O gás nitrogênio foi fornecido pelo nitrogênio líquido (pureza 99,998 %, Air Products and Chemicals Inc, Allentown, PA, EUA) e as condições operacionais empregadas são apresentadas na Tabela 5.1.

As posições de observação do plasma e vazão do gás de nebulização para cada analito e IS estão reportados na Tabela 5.2. As oito espécies moleculares do plasma de nitrogênio foram monitoradas através das linhas de emissão: OH - Tb 308,970 nm; N₂ - Ti 337,145 nm; N₂⁺ - Nb 391,470 nm; N₂ - Ta 337,154 nm; CH - Ru 431,431 nm; C₂ - U II 516,038 nm; N₂ - Ta 356,672 nm e N₂ - Nb 379,812 nm.⁷⁴

Um ICP-OES 5110 (Agilent Technologies, Mulgrave, Austrália) também foi utilizado e o instrumento é constituído por um amostrador automático SPS4, um nebulizador concêntrico e uma câmara de nebulização ciclônica. Argônio de alta pureza (99.999 %, Air Products and Chemical Inc., Allentown, PA, EUA) foi usado para geração do plasma e as melhores condições operacionais e as linhas de emissão empregadas para analitos, possíveis ISs e Ar são apresentadas na Tabela 5.3.

TABELA 5.1 - Condições operacionais empregadas na análise de isotônicos e energéticos por MIP-OES.

Parâmetro instrumental	Condição operacional
Frequência do micro-ondas (MHz)	2450
Potência do micro-ondas (kW)	1,0
Tempo de integração (s)	3
Tempo de estabilização (s)	15
Velocidade da bomba peristáltica (rpm)	10
Número de réplicas	3
Correção do sinal de fundo	Auto para analitos e ISs e desligada para espécies moleculares
Nebulizador	OneNeb série 1
Câmara de nebulização	Ciclônica

TABELA 5.2- Parâmetros instrumentais empregados para cada analito e IS na análise de isotônicos e energéticos por MIP-OES.

Elemento	Comprimento de onda, nm	Posição de visualização	Vazão do gás de nebulização L min ⁻¹
Analitos			
Al I	396,152	0	0,95
As I	193,695	0	0,75
B I	249,772	0	0,75
Ca II	393,366	0	0,60
Cd I	228,802	0	0,50
Co I	340,512	0	0,75
Cr I	425,433	0	0,90
Cu I	324,754	0	0,70
Fe II	259,940	0	0,45
K I	766,491	0	0,75

Mg I	285,213	0	0,90
Mn I	403,076	0	0,90
Na I	588,995	0	0,95
P I	213,618	0	0,35
Pb I	405,781	0	0,75
Si I	251,611	0	0,50
Sr II	407,771	0	0,55
Zn I	213,857	0	0,45
ISs inorgânicos			
Bi I	306,772	0	0,75
Ge I	265,117	0	0,75
In I	451,131	0	0,75
Rh I	343,489	0	0,75
Sc II	361,383	0	0,75
Te I	214,281	0	0,75
Tl I	535,046	0	0,75
Y II	371,029	0	0,75
Espécies moleculares			
N ₂ ⁺ (Nb I)	391,470	0	0,75
OH (Tb II)	308,958	0	0,75
N ₂ (Ti I)	337,145	0	0,75
N ₂ (Ta I)	337,154	0	0,75
CH (Ru I)	431,431	0	0,75
C ₂ (U I)	516,038	0	0,75
N ₂ (Ta I)	356,672	0	0,75
N ₂ (Nb I)	379,812	0	0,75

I- Linha atômica, II- Linha iônica

TABELA 5.3 - Condições operacionais empregadas na análise de isotônicos e energéticos por ICP-OES.

Parâmetro instrumental	Condição operacioanal
Potência de radiofrequência aplicada, kW	1,2
Velocidade de rotação da bomba peristáltica, rpm	12
Tempo de estabilização (s)	20
Vazão do gás do plasma, L min ⁻¹	12
Vazão do gás auxiliar, L min ⁻¹	1
Vazão do gás de nebulização, L min ⁻¹	0,70
Número de réplicas	3
Nebulizador	Concêntrico
Câmara de nebulização	Ciclônica
Visão de observação	SVDV
Linha de emissão, nm	<i>Analitos:</i> Al I 396,152; As I 188,980; B I 249,772; Ca II 396,847; Cd II 226,502; Co II 228,615; Cr II 267,716; Cu I 324,754; Fe II 259,940; K I 766,491; Mg I 285,213; Mn II 257,610; Na I 589,592; P I 213,618; Pb II 220,353; Si I 251,611; Sr II 407,771 e Zn I 213,857. <i>ISs inorgânicos:</i> Bi I 223,061; Ge I 265,117; In II 230,606; Rh I 343,488; Sc II 361,383; Te I 214,282; Tl II 190.794 e Y II 371,029 <i>Linhas de Ar:</i> Ar I (415,859), Ar I (419,832), Ar I (420,067), Ar I (430,010), Ar I (433,356), Ar I (549,587), Ar I (560,673), Ar I (565,070), Ar I (614,544), Ar I (641,631), Ar I (645,918), Ar I (675,283), Ar I (700,323), Ar I (702,108), Ar I (703,025), Ar I (735,328), Ar I (737,212) e Ar I (743,533).

I-Linha atômica, II- Linha iônica

5.3.2 - Reagentes e soluções padrão

Água destilada-desionizada (Milli-Q[®], Millipore, Bedford, MA, EUA) e ácido nítrico grau analítico (Fisher, Pittsburgh, PA, EUA) foram usados no preparo de todas as soluções. Padrões elementares de 1000 mg L⁻¹, (SPEX CertPrep, Metuchen, NJ, EUA) dos analitos Al, As, B, Ca, Cd, Co, Cr, Cu, Fe, K, Mg, Mn, Na, P, Pb, Si, Sr e Zn e dos padrões internos Bi, Ge, In, Rh, Sc, Te, Tl e Y foram adequadamente diluídos para a o preparo das soluções de calibração e para os experimentos de adição e recuperação.

Os padrões de calibração para EC e IS foram preparados em HNO₃ 1 % v v⁻¹ nas concentrações de 2,0; 5,0; 10 e 20 mg L⁻¹ para os macroelementos (Ca, K, Mg, Na e P) e 0,2; 0,5; 1,0 e 2,0 mg L⁻¹ para os microelementos (Al, As, B, Cd, Co, Cr, Cu, Fe, Mn, Pb, Si, Sr e Zn). Os padrões internos Bi, Ge, In e Tl na concentração final de 4,0 mg L⁻¹, Rh, Sc e Y na concentração de 1,0 mg L⁻¹ e Te 2,0 mg L⁻¹ foram usados nas calibrações por IS e MISC.

As concentrações dos analitos na solução de calibração para MISC foi de 20 mg L⁻¹ para os macroelementos e 2,0 mg L⁻¹ para os microelementos, sendo essa preparada em HNO₃ 1 % v v⁻¹.

5.3.3 - Preparo de amostras

Seis amostras de isotônicos (Gatorade, Powerade, BioSteel e Body Armor) e 10 amostras de energéticos (Monster, Red Bull, Rockstar, Reign, Rowdy, Sunshine e 5-h) com ou sem adição de açúcares foram adquiridas no mercado local de Winston-Salem, Carolina do Norte, EUA e a composição informada pelos fabricantes está apresentada na Tabela A7.

Inicialmente, as bebidas energéticas foram desgaseificadas por 3 h empregando um banho ultrassom (Branson 2510 Marshall Scientific, Hampton, NH, EUA) e posteriormente diluídas 5 vezes com HNO₃ 1 v v⁻¹. Uma amostra de isotônico (Gatorade) e outra de energético (Monster) foram selecionadas para os

estudos de adição e recuperação. Os analitos foram adicionados em solução na concentração de $1,0 \text{ mg L}^{-1}$ (microelementos) ou $10,0 \text{ mg L}^{-1}$ (macroelementos) juntamente com os ISs inorgânicos. Ácido nítrico 1 \% v v^{-1} foi empregado como referência.

5.4 - Resultados e discussão

5.4.1 - Desempenho do ICP-OES

5.4.1.1 - Limites de detecção por ICP-OES

Os limites de detecção empregando calibração externa, padronização interna e calibração por múltiplos padrões internos usando 8 ISs inorgânicos (MISC_{IS}) ou 18 linhas de Ar (MISC_{Ar}) na presença de HNO₃ 1 % v v⁻¹, Gatorade e Monster são apresentados na Tabela 5.4. Os elementos Y e Sc foram empregados no cálculo do LOD para padronização interna por serem amplamente reportados em análises por ICP-OES⁶ e para facilitar a comparação com os dados obtidos por SLOOP *et al.*¹²⁴

O LOD foi calculado de acordo com o recomendado pela IUPAC para EC e IS, como sendo 3 vezes o desvio padrão de 15 medições da solução do branco analítico (S_{br}) dividido pela inclinação da curva de calibração (m) i.e., $LOD = 3S_{br}/m$. Para MISC, o LOD foi calculado conforme proposto por SLOOP *et al.*¹²⁴, como três vezes o desvio padrão da concentração do analito calculado a partir de 15 medições do branco (S_{Cbr}) ou seja, $LOD = 3S_{Cbr}$.

De forma geral, menores LODs foram obtidos em HNO₃ 1 % v v⁻¹ e os valores foram da mesma ordem de magnitude que os reportados por SLOOP *et al.*¹²⁴ para As, Cd, Cr, Cu, Fe, Mg, Mn, Pb e Zn nas diferentes estratégias de calibração. Observou-se um aumento no LOD para os analitos na presença de Gatorade e Monster quando comparados com a solução de ácido nítrico, o que já era esperado devido à complexidade matricial dessas bebidas, e.g. o LOD de Ca passou de 0,06 $\mu\text{g L}^{-1}$ em solução aquosa para 22 $\mu\text{g L}^{-1}$ e 58 $\mu\text{g L}^{-1}$ no isotônico e energético, respectivamente, empregando EC. Em relação ao método de calibração adotado, não foram observadas diferenças significativas entre as estratégias para a maioria dos analitos. Um comportamento similar foi observado por SLOOP *et al.*¹²⁴ em ICP-OES.

TABELA 5.4 - Limites de detecção ($\mu\text{g L}^{-1}$) calculados empregando EC, IS e MISC para SVDV ICP-OES.

HNO₃ 1 % v v⁻¹																		
Método	Al	As	B	Ca	Cd	Co	Cr	Cu	Fe	K	Mg	Mn	Na	P	Pb	Si	Sr	Zn
EC	3	25	2	0,06	1	4	1	2	2	138	0,6	0,3	4	23	8	8	0,04	1
IS (Sc)	3	24	2	0,05	0,9	3	1	2	2	132	0,6	0,2	4	22	8	8	0,03	1
IS (Y)	3	24	2	0,06	0,9	3	1	2	2	130	0,6	0,2	4	22	8	8	0,03	1
MISC _{Ar}	3	24	2	0,06	1	3	1	2	2	115	0,6	0,2	4	22	8	8	0,03	1
MISC _{IS}	3	24	2	0,06	0,9	3	1	2	2	114	0,6	0,2	4	22	8	8	0,03	1

Isotônico Gatorade diluído 5 vezes																		
Método	Al	As	B	Ca	Cd	Co	Cr	Cu	Fe	K	Mg	Mn	Na	P	Pb	Si	Sr	Zn
EC	19	32	1	22	0,7	4	1	2	2	293	4	0,2	465	440	9	18	0,09	1
IS (Sc)	20	33	1	33	0,7	4	1	2	2	436	5	0,2	421	509	9	15	0,1	2
IS (Y)	20	33	1	32	0,7	4	1	2	2	379	5	0,2	427	505	9	16	0,1	2
MISC _{Ar}	19	32	1	22	0,7	4	1	2	2	254	4	0,2	469	445	9	18	0,1	2
MISC _{IS}	20	33	1	23	0,7	4	1	2	2	261	4	0,2	481	457	9	19	0,1	2

Energético Monster diluído 5 vezes																		
Método	Al	As	B	Ca	Cd	Co	Cr	Cu	Fe	K	Mg	Mn	Na	P	Pb	Si	Sr	Zn
EC	5	16	1	58	0,6	4	2	2	3	119	10	0,3	1567	22	18	8	0,2	0,5
IS (Sc)	5	17	1	51	0,6	4	2	2	3	94	6	0,4	1407	21	18	8	0,2	0,5
IS (Y)	5	17	1	59	0,6	4	2	2	3	82	8	0,4	1469	21	18	9	0,2	0,5
MISC _{Ar}	5	17	1	60	0,6	4	2	2	3	105	10	0,3	1619	23	18	9	0,2	0,5
MISC _{IS}	5	17	1	59	0,6	4	2	2	3	105	10	0,3	1612	23	18	9	0,2	0,5

EC= calibração externa; IS = padronização interna usando um elemento individual (Y ou Sc); MISC_{IS} = MISC usando diferentes elementos como ISs e MISC_{Ar} = MISC usando múltiplas linhas de Ar.

5.4.1.2 - Avaliação dos efeitos matriciais

A influência do isotônico Gatorade e do energético Monster na recuperação dos analitos por SVDV ICP-OES é apresentada nas Figuras 5.2 e 5.3, respectivamente. Os resultados demonstraram que ambas as matrizes não geraram efeitos matriciais para a maioria dos elementos, sendo adotadas como recuperações aceitáveis nesse estudo valores na faixa de 90-110 %, ⁷⁵ o que parece razoável para um método instrumental bem estabelecido como o ICP-OES.

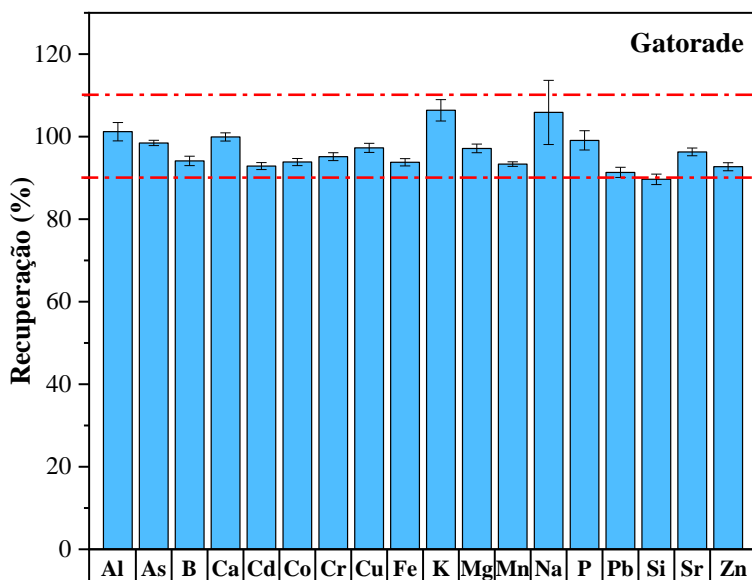


FIGURA 5.2- Influência do isotônico Gatorade na recuperação de cada analito por ICP-OES empregando EC.

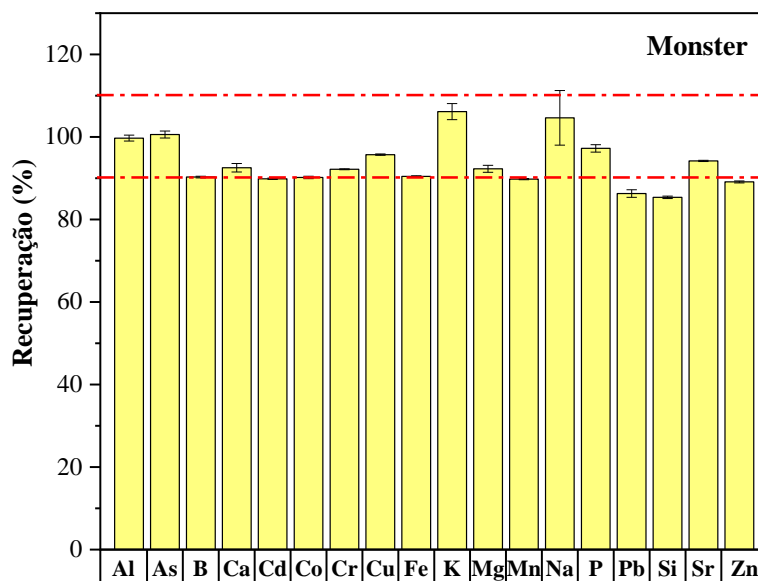


FIGURA 5.3- Influência do energético Monster na recuperação de cada analito por ICP-OES empregando EC.

Recuperações abaixo de 90 foram observadas apenas para Si I (251,611 nm e E_{sum} 4,93 eV) em Gatorade e Pb II (220,353 nm e E_{sum} 13,04 eV), Si I (251,611 nm e E_{sum} 4,93 eV) e Zn I (213,857 nm e E_{sum} 5,80 eV) em Monster e podem ser explicadas pelas elevadas concentrações de EIEs e carbono nas amostras, conhecidos por causar aumento ou supressão dos sinais analíticos em ICP-OES.^{89,125} Considerando que tanto linhas atômicas quanto iônicas com energias diferentes foram suprimidas, acredita-se que os efeitos estejam relacionados à alterações na eficiência do transporte ou à colisões dos analitos com outros átomos e íons concomitantes.

O'HANLON *et al.*¹²⁶ reportaram uma diminuição na massa do analito Mn transportada para o plasma de argônio na presença de EIEs. Segundo os autores, a eficiência da massa transportada diminuiu para 83 e 60 % quando Na e K, respectivamente, foram adicionados em solução na concentração de 0,05 mol L⁻¹.

BUDIC¹²⁷ avaliou o efeito de Ca, K, Na e P sobre os sinais de diferentes analitos e observou uma diminuição de até 10 % na massa transportada ao plasma. Com exceção de Ba I (553,55 nm), a presença de EIEs resultou na supressão de sinal tanto para analitos medidos em linhas atômicas quando iônicas, com reduções de até 45 % na presença de Ca.

TAYLOR *et al.*¹²⁸ observaram recentemente uma supressão do sinal analítico para diferentes elementos na presença dos metais alcalinos terrosos Ca, Mg e Sr por ICP-OES e concluíram que uma fração da energia do plasma é perdida pelos elétrons em colisões inelásticas com átomos e íons da matriz, promovendo a supressão do sinal.

Considerando-se que os isotônicos e energéticos também apresentam altos teores de carbono, com concentrações superiores a 6 % m v⁻¹, a supressão de sinal observada para Pb, Si e Zn também pode ser explicada pela diminuição na população de átomos e íons excitados devido às colisões com o átomo de carbono, conforme proposto por GRINDLAY *et al.*^{89,94}

5.4.1.3 - Avaliação dos métodos de calibração

Em virtude dos efeitos matriciais observados para Si, Pb e Zn nas amostras de isotônicos e energéticos, o método de calibração por padronização interna foi avaliado usando oito potenciais ISs (Bi, Ge, In, Rh, Sc, Te, Tl e Y) e os resultados são apresentados na Tabela 5.5.

Como se pode observar as melhores recuperações foram obtidas empregando Ge I como IS para Si I em ambas as amostras. Para amostras de energéticos, Bi I e Tl II se comportaram como padrões internos adequados para Pb II e Zn I, respectivamente. Considerando as propriedades para o par analito/IS, Si I (251,611 nm, 359 kJ mol⁻¹ e E_{sum} 4,93 eV) e Ge I (265,117 nm, 334 kJ mol⁻¹ e E_{sum} 4,68 eV) apresentam comprimentos de onda, entalpia de vaporização e energias da linha de emissão próximos, o que está em concordância com as

estratégias convencionais de seleção.¹⁵ Entretanto, com base nessa mesma estratégia, Bi I (223,061 nm, 151 kJ mol⁻¹ e E_{sum} 5,56 eV) deveria se comportar como o melhor IS para Zn I (213,857 nm, 124 kJ mol⁻¹ e E_{sum} 5,80 eV), porém a melhor recuperação foi obtida empregando a linha iônica de Tl (190,794 nm, 165 kJ mol⁻¹ e E_{sum} 12,60 eV).

É interessante observar que Bi foi responsável pela correção dos efeitos matriciais para Pb na amostra de energético e o resultado reafirma os estudos de BECHLIN *et al.*^{17,33} que propuseram Bi como IS geral para Pb por AAS e ICP-OES em diferentes matrizes.

Assim como reportado por BARROS *et al.*³⁵ e CHIWESHE *et al.*³⁶, não houve uma relação estrita entre as propriedades físico-químicas do par analito/IS em ICP-OES e as escolhas foram realizadas com base nos valores de recuperação obtidos. Além disso, os ISs não foram os mesmos entre os analitos, demonstrando que a seleção ainda é uma etapa crucial e difícil para o emprego dessa estratégia.

Assim, visando contornar a necessidade de seleção dos melhores ISs para cada analito, avaliou-se a calibração por múltiplos padrões internos nas duas versões e os resultados são apresentados na Tabela 5.6. A estratégia foi inicialmente aplicada a uma solução do branco analítico e o valor de concentração obtido foi subtraído para as amostras de Gatorade e Monster.

Recuperações entre 90 e 100 % e valores de RSD ≤ 2 % foram observados para Si, Pb e Zn em as ambas as versões do MISC e possibilitaram concluir que a estratégia foi eficiente para corrigir as supressões de sinais em ICP-OES. Embora melhores resultados tenham sido observados para padronização interna, i.e., 99-100 %, o MISC garantiu recuperações satisfatórias cuja faixa variou de 93-95 % para MISC_{IS} e 92-96 % para MISC_{Ar}. Portanto, o MISC se apresentou como uma alternativa ao uso da padronização interna em ICP-OES, dispensando longos estudos para seleção de IS.

TABELA 5.5 - Padrões internos para análise de isotônicos e energéticos por ICP-OES (% recuperação média \pm desvio padrão, n=3).

Analito, λ (nm)	Analito E_{sum} (eV)	Recuperação EC (%)	Melhor IS	IS E_{sum} (eV)	Recuperação IS (%)
Si I (251,611) Gatorade	4,93	89,6 \pm 0,9	Ge – 265,117 (I)	4,68	99,1 \pm 0,9
Si I (251,611) Monster	4,93	85,4 \pm 0,3	Ge – 265,117 (I)	4,68	99 \pm 2
Pb II (220,353) Monster	13,04	86,3 \pm 0,9	Bi – 223,061 (I)	5,56	99,1 \pm 0,6
Zn I (213,857) Monster	5,80	89,1 \pm 0,2	Tl – 190,794 (II)	12,60	100 \pm 1

I – Linha atômica; II – Linha iônica

$$E_{\text{sum}} = E_{\text{ionização}} + E_{\text{excitação}}$$

TABELA 5.6 - Comparação entre as recuperações obtidas empregando EC, IS, MISC_{IS} e MISC_{Ar} para determinação de Si, Pb e Zn por ICP-OES (% recuperação média \pm desvio padrão, n=3).

Analito, λ (nm)	EC	IS	MISC _{IS}	MISC _{Ar}
Si I (251,611) Gatorade	89,6 \pm 0,9	99,1 \pm 0,9	93 \pm 1	95 \pm 2
Si I (251,611) Monster	85,4 \pm 0,3	99 \pm 2	94,7 \pm 0,9	92,4 \pm 0,6
Pb II (220,353) Monster	86,3 \pm 0,9	99,1 \pm 0,6	93,5 \pm 0,8	93 \pm 1
Zn I (213,857) Monster	89,1 \pm 0,2	100 \pm 1	95 \pm 1	96,4 \pm 0,4

I – Linha atômica; II – Linha iônica

5.4.2 - Desempenho do MIP-OES

5.4.2.1 - Limites de detecção por MIP-OES

Os limites de detecção obtidos empregando diferentes estratégias de calibração em MIP-OES são apresentados na Tabela 5.7, i.e. EC, IS (usando Y ou Sc) e MISC calculado através de oito ISs inorgânicos ($MISC_{IS}$) ou oito espécies moleculares presentes no plasma de nitrogênio ($MISC_{mol}$).

De forma geral, assim como observado em ICP-OES (Tabela 5.4), melhores valores de LOD foram obtidos em HNO_3 1 % v v⁻¹ comparado com as amostras de isotônicos e energéticos, como se pode observar para os macroelementos Ca, K, Mg e Na.

Além disso, quando se comparam os dois métodos instrumentais, menores limites de detecção foram obtidos em solução aquosa para os analitos Ca, Cd, Co, Fe, Mn, Na, P, Sr e Zn por ICP-OES, o que já era esperado devido à maior temperatura de excitação do plasma de Ar.⁵ No entanto, os valores observados foram próximos para B, Cr e Pb, demonstrando que apesar de LODs elevados para alguns analitos, o plasma de nitrogênio pode ser eficientemente empregado para análise de isotônicos e energéticos.

Comparando-se as estratégias de calibração não foram observadas grandes diferenças de desempenho, assim como reportado anteriormente para ICP-OES. O MISC em ambas as versões resultou, de maneira geral, em valores na mesma ordem de grandeza que os obtidos por EC e IS.

TABELA 5.7 - Limites de detecção ($\mu\text{g L}^{-1}$) calculados empregando EC, IS e MISC para MIP-OES em condição padrão.

HNO₃ 1 % v v⁻¹																		
Método	Al	As	B	Ca	Cd	Co	Cr	Cu	Fe	K	Mg	Mn	Na	P	Pb	Si	Sr	Zn
EC	0,6	39	3	0,3	3	7	0,9	0,7	4	0,4	0,2	0,5	0,1	51	7	3	0,1	5
IS (Sc)	0,7	45	3	0,4	3	8	1	0,9	5	0,5	0,3	0,6	0,3	58	8	4	0,1	6
IS (Y)	0,8	51	3	0,4	3	8	1	0,8	5	0,5	0,3	0,6	0,3	60	9	4	0,1	6
MISC _{mol}	0,6	53	3	0,3	3	7	0,9	0,7	4	0,4	0,2	0,5	0,1	51	7	3	0,1	5
MISC _{IS}	0,7	56	3	0,4	3	7	1	1	6	0,6	0,3	0,7	0,2	68	8	4	0,1	8

Isotônico Gatorade diluído 5 vezes																		
Método	Al	As	B	Ca	Cd	Co	Cr	Cu	Fe	K	Mg	Mn	Na	P	Pb	Si	Sr	Zn
EC	2	34	1	38	2	6	0,6	0,6	4	495	12	0,7	859	44	6	16	0,3	5
IS (Sc)	1	23	1	47	2	5	0,5	0,5	4	576	15	0,7	682	36	5	16	0,3	4
IS (Y)	1	31	1	36	2	5	0,5	0,5	4	510	11	0,6	694	36	5	16	0,3	4
MISC _{mol}	1	48	1	34	2	7	0,7	0,7	5	439	12	0,7	760	39	5	13	0,3	5
MISC _{IS}	2	51	1	51	3	7	1	1	7	518	18	1	828	50	7	18	0,3	7

Energético Monster diluído 5 vezes																		
Método	Al	As	B	Ca	Cd	Co	Cr	Cu	Fe	K	Mg	Mn	Na	P	Pb	Si	Sr	Zn
EC	3	42	2	108	2	5	0,6	1	5	108	22	0,6	844	59	5	8	0,9	5
IS (Sc)	2	46	2	111	1	4	0,5	1	4	105	22	0,5	684	50	6	8	0,9	4
IS (Y)	2	42	2	99	1	4	0,4	1	4	90	22	0,5	884	48	7	8	1	4
MISC _{mol}	2	58	2	91	2	5	0,6	1	5	91	22	0,6	708	50	4	6	0,9	5
MISC _{IS}	3	64	3	105	2	5	0,9	2	8	142	34	0,9	741	66	6	9	1	7

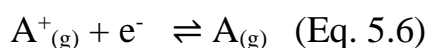
EC= calibração externa; IS = padronização interna usando um elemento individual (Y ou Sc); MISC_{IS} = MISC usando diferentes elementos como ISs e MISC_{mol} = MISC usando espécies moleculares do plasma de nitrogênio como padrões internos.

5.4.2.2 - Avaliação dos efeitos matriciais

A influência das bebidas Gatorade e Monster sobre os sinais analíticos em MIP-OES são apresentadas nas Figuras 5.4 e 5.5, respectivamente. Ao contrário do ICP-OES, a maioria dos analitos apresentou efeitos matriciais nas matrizes dessas bebidas esportivas.

Para Gatorade, recuperações superiores a 110 % foram observadas para Al, Ca, Cr, Mg, Mn e Pb enquanto supressões dos sinais analíticos ocorreram para As, B e P. Na presença do energético Monster, Cr, K, Mg, Mn, Na e Pb apresentaram aumento dos sinais analíticos e os analitos As, B, Fe, P, Si e Zn apresentaram recuperações inferiores a 90 %. O elemento Sr apresentou um comportamento diferenciado, com severo efeito matricial e recuperações acima de 200 % e por questão de escala não foi reportado nas figuras. Apenas Cd, Co e Cu apresentaram recuperações dentro da faixa aceitável de 90-110 % em ambos os meios.⁷⁵

O viés positivo observado para as linhas atômicas de Al, Cr, K, Mg, Mn, Na e Pb pode ser explicado pelo aumento da densidade eletrônica do plasma de nitrogênio (n_e) devido à presença dos EIEs Na e K nas bebidas isotônicas e energéticas, responsável pelo deslocamento do equilíbrio de ionização no sentido da formação de espécies neutras, ou seja, linhas atômicas, conforme demonstrado pela Equação 5.6:⁷⁶



onde, A, A^+ e e^- representam o átomo do analito no estado gasoso, o íon formado e e^- o elétron, respectivamente.

Outro mecanismo para explicar o aumento de sinal tanto para esses analitos quanto para Ca e Sr, medidos em linhas iônicas, deriva-se da elevada concentração de carbono nas amostras como previamente discutido. Segundo

GRINDLAY *et al.*⁹⁴, reações de transferências de carga entre o analito e C⁺ podem ocorrer aumentando a população de íons excitados, o que explicaria as elevadas recuperações observadas para Ca II e Sr II. Essas reações também são seguidas de processos de recombinação íon-elétron e resultam no aumento da população de átomos excitados.

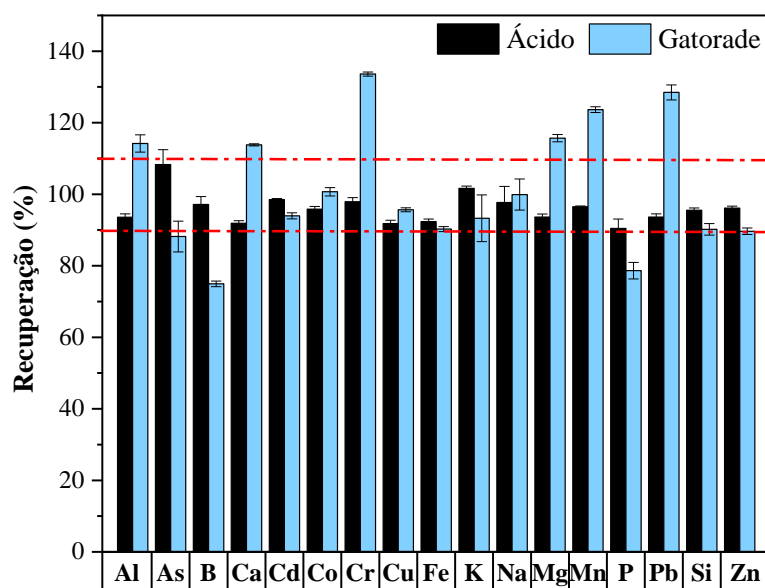


FIGURA 5.4 - Efeito do isotônico Gatorade na recuperação de cada analito por MIP-OES em comparação com uma solução de HNO₃ 1 % v v⁻¹.

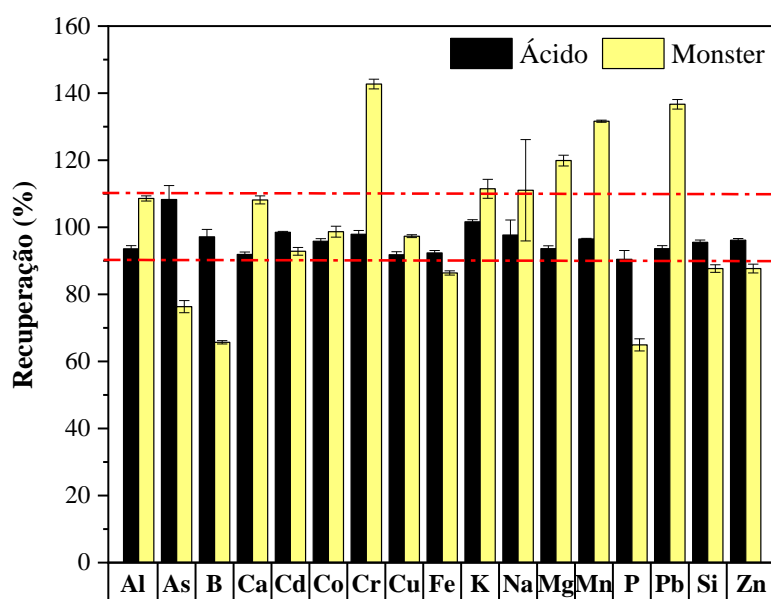


FIGURA 5.5 - Efeito do energético Monster na recuperação de cada analito por MIP-OES em comparação com uma solução de HNO₃ 1 % v v⁻¹.

As recuperações abaixo de 90 % para As I, B I, Fe II, P I, Si I e Zn I podem ser explicadas pelos mesmos mecanismos mencionados anteriormente para ICP-OES, como diminuição na população de átomos excitados por colisões com o carbono¹⁰⁴, diminuição na massa do analito transportada para o plasma devido à presença de EIEs¹²⁷ ou pelo detrimento nas condições de excitação do plasma causada pelos concomitantes na amostra⁷³. Os dois últimos mecanismos foram avaliados com base no comportamento das espécies moleculares N₂⁺ e OH em Gatorade e Monster em comparação com o meio aquoso (HNO₃ 1% v v⁻¹) conforme demonstrado na Figura 5.6.

Observa-se que as bebidas esportivas causaram um aumento de aproximadamente 5 % no sinal de emissão da espécie molecular OH e uma supressão em torno de 20 % para a espécie N₂⁺ em comparação com o meio aquoso. Segundo SERRANO *et al.*⁷³ e WILLIAMS *et al.*⁷⁴ os sinais de N₂⁺ e OH estão relacionados com a condição energética do plasma e com a capacidade de

atomização, respectivamente. Dessa forma, as bebidas Gatorade e Monster deterioraram as condições de excitação do plasma e causaram diminuição na eficiência de atomização, visualizados pela diminuição do sinal de N_2^+ e pelo aumento do sinal de OH, respectivamente.

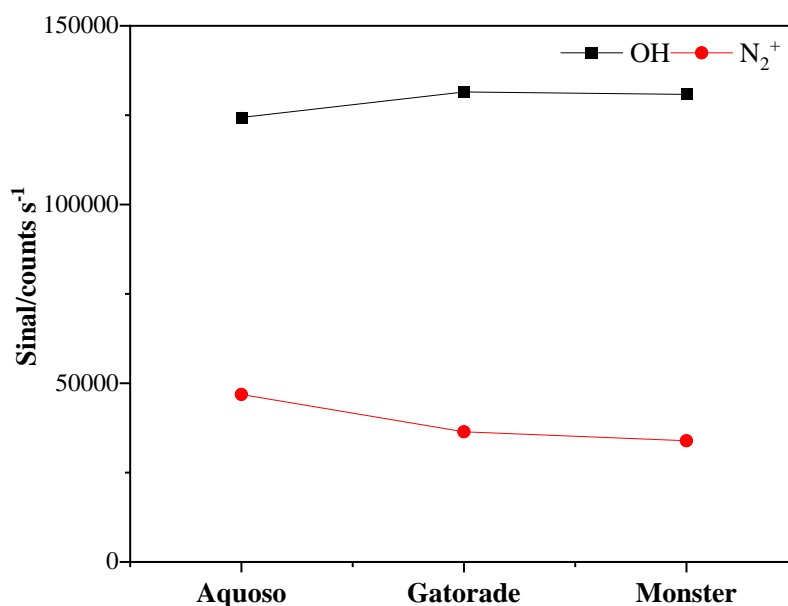


FIGURA 5.6- Comparação entre o sinal de emissão das espécies N_2^+ e OH em solução aquosa (HNO_3 1,0% v v⁻¹) e nas bebidas Gatorade e Monster.

A fim de verificar a relação entre o efeito matricial observado pelos analitos e a energia da linha de emissão, empregou-se a análise de componentes principais. A PCA foi aplicada considerando as recuperações em Gatorade e Monster e a E_{sum} , conforme mostrado na Figura 5.7. Os componentes principais PC1 e PC2 explicaram, respectivamente, 66,1 e 33,4 % dos dados. Valores de *scores* negativos na PC1 foram observados para elementos que apresentaram aumento do sinal analítico, i.e. recuperações médias superiores a 111 % (Al, Ca, Cr, Mg, Mn, Pb e Sr) enquanto valores positivos foram observados para os analitos que não foram tão afetados por ambas as matrizes (Cd, Co, Cu, Na e K) ou que apresentaram supressões de sinal (As, B, Fe, P, Si e Zn). Para a PC2,

valores de *scores* positivos foram obtidos para analitos com $E_{\text{sum}} \geq 4,9$ eV (As I, B I, Ca II, Cd I, Fe II, P I, Si I, Sr II e Zn I) e valores negativos para os demais analitos cujas energias encontram-se na faixa de 1,6-4,3 eV.

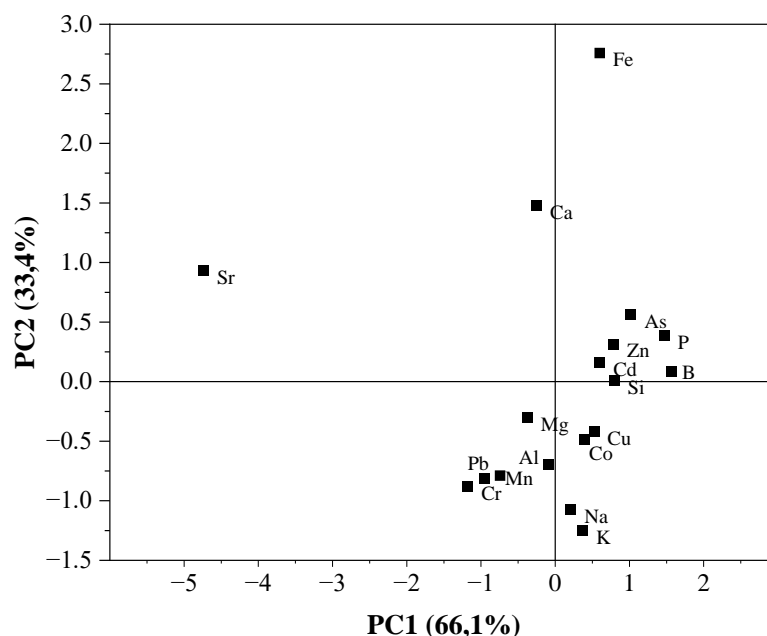


FIGURA 5.7- Representação PCA obtida para cada analito em Gatorade e Monster.

Relacionando a energia da linha de emissão (Tabela 5.8) com os dados da PCA, os analitos podem ser classificados em 4 grupos. O primeiro grupo é constituído pelas linhas iônicas de Ca e Sr, que apresentaram recuperações superiores a 110 % e E_{sum} entre 8,7 e 9,3 eV. O segundo grupo compreende as linhas atômicas de As, B, Cd, P, Si e Zn (E_{sum} 4,9-6,4 eV) e a linha iônica de Fe (E_{sum} de 12,67 eV), elementos que apresentaram recuperação média na faixa de 70-93 % em ambas as bebidas. O terceiro grupo é composto por Co, Cu, K e Na que apresentaram recuperações médias entre 97-105 % e E_{sum} 1,6-3,8 eV. O último grupo compreende os analitos Al, Cr, Mg, Mn e Pb que apresentaram aumento do sinal analítico e cujas recuperações e E_{sum} variaram entre 111-138 % e 2,9-4,3 eV, respectivamente.

TABELA 5.8 - Valores de energia para cada linha de emissão empregada nas análises de isotônicos e energéticos por MIP-OES.

	Elemento	Linha de emissão (nm)	E_{exc} (eV)	E_{ion} (eV)	E_{sum}^{\dagger} (eV)
Linhas iônicas	Ca	393,366	3,15	6,11	9,26
	Fe	259,940	4,77	7,90	12,67
	Sr	407,771	3,04	5,69	8,73
Linhas atômicas	Al	396,152	3,13	-	3,13
	As	193,695	6,40	-	6,40
	B	249,772	4,96	-	4,96
	Cd	228,802	5,42	-	5,42
	Co	340,512	3,64	-	3,64
	Cr	425,433	2,91	-	2,91
	Cu	324,754	3,82	-	3,82
	K	766,491	1,62	-	1,62
	Na	588,995	2,10	-	2,10
	Mg	285,213	4,34	-	4,34
	Mn	403,076	3,08	-	3,08
	P	213,618	5,80	-	5,80
	Pb	405,781	3,05	-	3,05
Si	251,611	4,93	-	4,93	
Zn	213,857	5,80	-	5,80	

$$\dagger E_{sum} = E_{excitação} + E_{ionização}$$

Assim como observado no Capítulo 3 para análise de urina diluída 2 vezes, analitos cujas linhas atômicas têm E_{sum} na faixa de 5-6 eV, e.g. As (E_{sum} 6,40 eV), B (E_{sum} 4,96 eV), P (E_{sum} 5,80 eV), Si (E_{sum} 4,93 eV) e Zn (E_{sum} 5,80 eV), apresentaram supressão de sinal, i.e. recuperações abaixo de 90 % na presença das bebidas isotônicas e energéticas.

Os resultados possibilitaram evidenciar a menor robustez do plasma de nitrogênio comparado com o Ar-ICP e confirmaram a dificuldade de analisar

matrizes complexas como bebidas esportivas. As calibrações por padronização interna e MISC foram avaliadas e serão discutidas a seguir.

5.4.2.3 - Avaliação dos métodos de calibração

Os elementos Bi, Ge, In, Rh, Sc, Te, Tl e Y também foram avaliados como potenciais ISs para a análise de isotônicos e energéticos por MIP-OES e os resultados obtidos para a padronização interna são apresentados na Tabela 5.9.

Conforme discutido anteriormente, a maioria dos analitos apresentou efeitos matriciais, com aumento dos sinais analíticos para Al, Ca, Cr, K, Mg, Mn, Na, Sr e Pb e supressão para As, B, Fe, P, Si e Zn na presença de Gatorade e/ou Monster e, de forma geral, os ISs Ge I (265,117 nm) ou Te I (214,281 nm) foram eficientes para correção dos analitos cujas recuperações eram inferiores a 90 %. Os ISs Bi I (306,772 nm), In I (451,131 nm), Sc II (361,383 nm), Tl I (535,046 nm) ou Y II (371,029 nm), por sua vez, corrigiram analitos que apresentaram aumento de sinais. Nenhum padrão interno foi eficiente para corrigir os efeitos para Sr e Na.

Além disso, não houve um único padrão interno capaz de corrigir os efeitos matriciais para todos os analitos, mas as melhores recuperações foram observadas empregando Bi I como IS para Al I e Mn I; Te I como IS para As I, B I e P I; Tl I como IS para Ca II e Pb I; Y II como IS para Cr I; Ge I como IS para Fe II, Si I e Zn I; In I como IS para K I e Sc II como IS para Mg I.

O analito P (213,618 nm, 12,4 kJ mol⁻¹ e E_{sum} 5,80 eV) e o IS Te (214,281 nm, 50,6 kJ mol⁻¹ e E_{sum} 5,78 eV) apresentam propriedades físico-químicas similares, como comprimentos de onda, entalpia de vaporização e energias da linha de emissão. Entretanto, essa relação não foi observada para alguns pares de analito/IS como Ca II/Tl I, Cr I/Y II, Fe II/Ge I e Mg I/Sc II, que apresentam comprimentos de onda e energias distintos. Esse aspecto também foi observado nas medidas por ICP-OES, conforme discutido anteriormente.

Comparando-se os resultados para padronização interna entre ICP-OES e MIP-OES, observou-se que Ge foi o melhor IS para Si em ambos os métodos instrumentais. No entanto, apesar de Bi ser comumente empregado como IS geral para Pb por AAS e ICP-OES,^{17,33} esse elemento não apresentou desempenho satisfatório em MIP-OES e as melhores recuperações foram obtidas empregando Tl. Esse resultado é interessante e ressalta as particularidades dos métodos instrumentais para o emprego da padronização interna e justifica a necessidade de estudos prévios de seleção.

TABELA 5.9 - Padrões internos selecionados para correção dos efeitos matriciais em MIP-OES para Gatorade e Monster diluídos 5 vezes.

Analito - λ (nm)	$E_{\text{sum}}^{\ddagger}$ (eV)	Padrão interno	IS selecionado	IS $E_{\text{sum}}^{\ddagger}$ (eV)
Al 396,152 (I)	3,13	Bi, Rh, Sc e Y	Bi 306,772 (I)	4,04
As 193,695 (I)	6,40	Te	Te 214,281 (I)	5,78
B 249,772 (I)	4,96	Te	Te 214,281 (I)	5,78
Ca 393,366 (II)	9,26	Bi, In, Tl e Y	Tl 535,046 (I)	2,32
Cd 228,802 (I)	5,42	Não é necessário	-	-
Co 340,512 (I)	3,64	Não é necessário	-	-
Cr 425,433 (I)	2,91	Bi e Y	Y 371,029 (II)	9,56
Cu 324,754 (I)	3,82	Não é necessário	-	-
Fe 259,940 (II)	12,67	Ge	Ge 265,117(I)	4,68
K 766,491 (I)	1,62	Bi, In e Tl	In 451,131 (I)	2,75
Na 588,995 (I)	2,10	Não corrige	-	-
Mg 285,213 (I)	4,34	Rh e Sc	Sc 361,383(II)	9,99
Mn 403,076 (I)	3,08	Bi, Sc e Y	Bi 306,772 (I)	4,04
P 213,618 (I)	5,80	Te	Te 214,281(I)	5,78
Pb 405,781 (I)	3,05	In e Tl	Tl 535,046 (I)	2,32
Si 251,611(I)	4,93	Ge	Ge 265,117(I)	4,68
Sr 407,771 (II)	8,73	Nenhum corrige	-	-
Zn 213,857 (I)	5,80	Ge	Ge 265,117(I)	4,68

I-Linha atômica e II- Linha iônica.

$^{\ddagger}E_{\text{sum}} = E_{\text{excitação}} + E_{\text{ionização}}$

Dessa forma, visando contornar a necessidade de seleção dos ISs, avaliou-se a calibração por múltiplos padrões internos em ambas as versões (MISC_{IS} e MISC_{mol}). Os resultados obtidos foram comparados com a EC para análise de Gatorade e Monster conforme Figuras 5.8 e 5.9, respectivamente.

Vale ressaltar que tanto a padronização interna quando o MISC não possibilitaram corrigir os aumentos de sinais observados para Sr (recuperações acima de 200 %) e Na (recuperação de 111 %) e por isso esses analitos não foram representados. Acredita-se que o efeito matricial para Na esteja relacionado à elevada concentração do analito nas amostras, o que faz com a concentração de 10 mg L⁻¹ adicionada seja irrelevante frente ao total.

Considerando a amostra de Gatorade (Fig. 5.8), observa-se que o MISC em ambas as versões levou a uma melhora na recuperação para a maioria dos analitos quando comparado com a calibração externa e, de forma geral, MISC_{mol} proporcionou os melhores resultados, ou seja, com exceção do P, as recuperações encontraram-se na faixa de 90-110 % quando a estratégia foi avaliada.

Um resultado similar foi observado para a análise do energético Monster (Fig. 5.9). Com exceção dos analitos B e Cr, MISC_{IS} corrigiu os efeitos matriciais para todos os analitos quando a EC foi ineficiente e, novamente, MISC_{mol} apresentou as melhores recuperações e mostrou-se adequada para análise de matrizes complexas.

Pode-se concluir que o MISC demonstrou ser uma alternativa para a correção de efeitos matriciais mesmo em um método instrumental sequencial como o MIP-OES. O emprego do MISC_{IS} não foi adequado para alguns analitos devido ao comportamento variado de cada IS individual e o uso das espécies moleculares do plasma de nitrogênio é interessante, pois reduz o uso de padrões e o tempo de preparo de amostra.

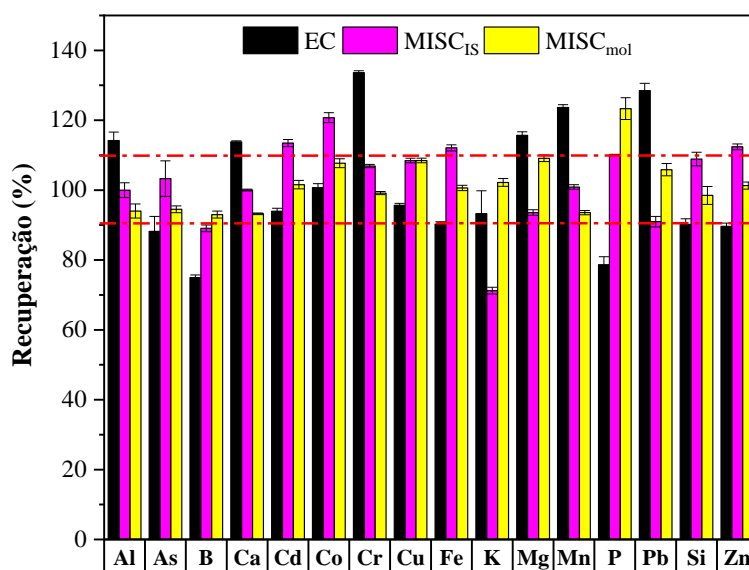


FIGURA 5.8- Avaliação das estratégias de calibração EC, MISC_{IS} e MISC_{mol} para análise de Gatorade por MIP-OES.

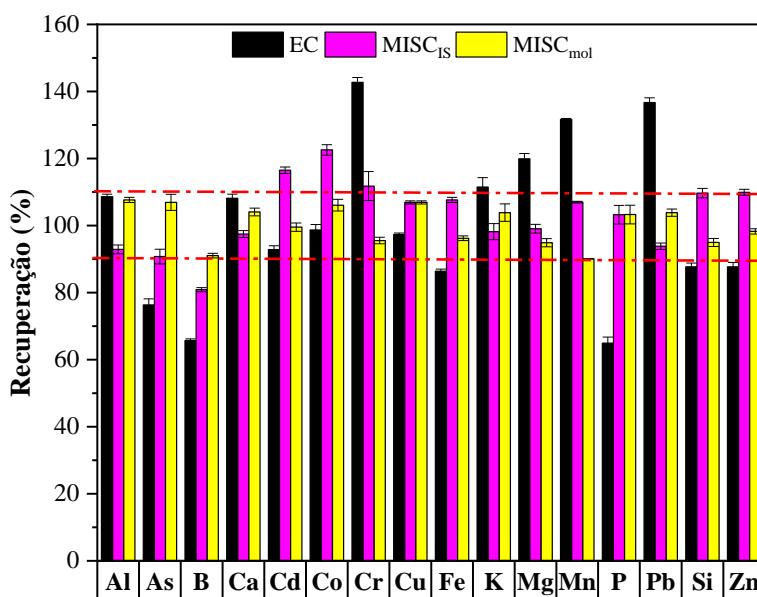


FIGURA 5.9 - Avaliação das estratégias de calibração EC, MISC_{IS} e MISC_{mol} para análise de Monster por MIP-OES.

5.4.3 - Análise de bebidas isotônicas e energéticas

A análise elementar de diferentes marcas de isotônicos e energéticos foi realizada por SVDV ICP-OES empregando a estratégia de calibração $MISC_{Ar}$ e os resultados são apresentados nas Tabelas 5.10 e 5.11, respectivamente.

Observa-se que as concentrações dos analitos são diferentes entre as marcas de isotônicos e, em geral, as maiores concentrações dos microelementos foram encontradas no Body Armor (Al, B, Fe, Mn e Zn), enquanto os menores valores foram observados no Gatorade sem adição de açúcares. Os teores de Na e K obtidos foram próximos aos valores rotulados pelos fabricantes (Tabela A7), com exceção do Body Armor. Não foram observadas grandes diferenças entre as versões com e sem açúcares para as marcas Gatorade e Powerade.

A concentração de Cr reportada em Body Armor está abaixo do nível máximo permitido em água pela Agência de Proteção Ambiental dos EUA ($100 \mu\text{g L}^{-1}$)¹²⁹. Além disso, esse isotônico apresentou altos teores de K e Zn comparativamente aos demais.

Quanto aos energéticos, também se observou uma composição variada entre as marcas e as maiores concentrações de Na e K foram obtidas em Monster e Rowdy, respectivamente. As concentrações de Al variaram entre 26-347 $\mu\text{g L}^{-1}$ e supõe-se que esses teores estejam relacionados com a embalagem em latas. Destaca-se que a única amostra cuja concentração de Co foi acima do limite de detecção foi a 5-hours e se deve à presença da vitamina B12 (cianocobalamina) em sua composição.

De modo geral, os elementos majoritariamente presentes nas bebidas esportivas foram Ca, K, Mg, Na, P e Si e, apesar de uma concentração de Na aproximadamente 3 vezes maior para Rockstar sem adição de açúcares, não foram observados valores tão discrepantes entre as opções com e sem adição de açúcares para as marcas Monster e Red Bull.

TABELA 5.10 - Concentração ($\mu\text{g L}^{-1}$) dos elementos nas bebidas isotônicas (média \pm SD, n=3).

Elemento	Gatorade	Gatorade s/açúcar	Powerade	Powerade s/açúcar	BioSteel	Body Armor
Al	108 (25)	<LOD	<LOD	<LOD	185 (10)	189 (9)
As	<LOD	<LOD	<LOD	<LOD	<LOD	<LOD
B	<LOD	<LOD	<LOD	<LOD	<LOD	231 (2)
Ca [‡]	13,2 (0,1)	5,3 (0,1)	38,3 (0,3)	56,5 (0,7)	179 (2)	32,3 (0,4)
Cd	<LOD	<LOD	<LOD	<LOD	<LOD	<LOD
Co	<LOD	<LOD	<LOD	<LOD	<LOD	<LOD
Cr	<LOD	<LOD	<LOD	<LOD	<LOD	10 (1)
Cu	<LOD	<LOD	<LOD	<LOD	<LOD	<LOD
Fe	14 (3)	<LOD	<LOD	<LOD	70 (5)	237 (6)
K [‡]	113 (4)	118 (4)	91 (3)	92 (3)	408 (1)	1317 (1)
Mg [‡]	1,8 (0,1)	0,54 (0,02)	7,94 (0,04)	13,5 (0,1)	56,3 (0,6)	146 (2)
Mn	1,1 (0,2)	<LOD	3,8 (0,8)	1,3 (0,5)	7,1 (0,7)	402 (3)
Na [‡]	411 (3)	407 (6)	387 (4)	401 (5)	411 (5)	58 (2)
P [‡]	95 (1)	96 (1)	74,5 (0,5)	75,3 (0,9)	<LOD	468 (6)
Pb	<LOD	<LOD	<LOD	<LOD	<LOD	<LOD
Si [‡]	3,12 (0,04)	1,18 (0,02)	2,05 (0,03)	2,32 (0,05)	2,93 (0,04)	4,75 (0,05)
Sr	37,1 (0,4)	27,4 (0,3)	38,5 (0,3)	59,5 (0,8)	87,7 (0,5)	46,6 (0,5)
Zn	<LOD	<LOD	41 (3)	<LOD	<LOD	14665 (156)

[‡] Expresso em mg L^{-1} .

LODs foram reportados na Tabela 5.4.

TABELA 5.11 - Concentração ($\mu\text{g L}^{-1}$) dos elementos nas bebidas energéticas (média \pm SD, n=3).

Elemento	Monster	Monster s/açúcar	Red Bull	Red Bull s/açúcar	Rockstar	Rockstar s/açúcar	Rowdy	Reign	Sunshine	5-hours
Al	71 (5)	26 (8)	204 (9)	119 (20)	178 (16)	347 (29)	312 (19)	< LOD	293 (9)	79 (22)
As	< LOD	< LOD	< LOD	< LOD	< LOD	< LOD	< LOD	< LOD	< LOD	< LOD
B	77 (3)	< LOD	41 (2)	439 (6)	< LOD	< LOD	< LOD	< LOD	16 (2)	7 (2)
Ca [‡]	24,3 (0,1)	5,4 (0,1)	85 (1)	3,7 (0,1)	7,4 (0,1)	5,0 (0,1)	11,0 (0,4)	0,59 (0,01)	326 (5)	2,5 (0,1)
Cd	< LOD	< LOD	< LOD	< LOD	< LOD	< LOD	< LOD	< LOD	< LOD	< LOD
Co	< LOD	< LOD	< LOD	< LOD	< LOD	< LOD	< LOD	< LOD	< LOD	407 (8)
Cr	< LOD	< LOD	< LOD	< LOD	< LOD	< LOD	< LOD	< LOD	< LOD	< LOD
Cu	< LOD	< LOD	< LOD	< LOD	< LOD	< LOD	< LOD	< LOD	< LOD	< LOD
Fe	78 (5)	< LOD	17 (2)	17 (3)	24 (3)	< LOD	73 (7)	< LOD	43 (2)	< LOD
K [‡]	24,8 (0,5)	11,5 (0,3)	4,3 (0,1)	30 (1)	44 (2)	75 (3)	1435 (14)	135 (5)	309 (4)	207 (5)
Mg [‡]	3,6 (0,1)	0,20 (0,01)	196 (2)	217 (3)	0,40 (0,04)	0,45 (0,01)	75,1 (0,6)	4,14 (0,04)	115 (1)	< LOD
Mn	16,1 (0,5)	3,9 (0,3)	7,5 (0,5)	4,0 (0,4)	< LOD	5,6 (0,8)	2,8 (0,6)	< LOD	13,8 (0,5)	38 (1)
Na [‡]	757 (8)	693 (4)	390 (5)	407 (6)	155 (2)	487 (4)	106 (1)	405 (4)	76 (1)	284 (7)
P [‡]	1,24 (0,03)	< LOD	0,22 (0,03)	0,51 (0,03)	0,39 (0,03)	0,19 (0,03)	0,36 (0,04)	0,36 (0,05)	100 (2)	22,3 (0,5)

Pb	< LOD	< LOD	< LOD	< LOD	< LOD	< LOD	< LOD	< LOD	< LOD	< LOD
Si [‡]	1,27 (0,03)	0,07 (0,02)	1,91 (0,02)	0,44 (0,01)	0,88 (0,04)	0,37 (0,01)	0,49 (0,04)	0,23 (0,04)	1,02 (0,02)	9,8 (0,2)
Sr	94 (1)	9,3 (0,1)	599 (7)	12,6 (0,4)	18,3 (0,3)	< LOD	72.5 (0,4)	< LOD	87 (1)	< LOD
Zn	< LOD	< LOD	< LOD	< LOD	< LOD	< LOD	53 (4)	< LOD	< LOD	< LOD

[‡] Expresso em mg L⁻¹.

LODs foram reportados na Tabela 5.4.

5.5 - Conclusões parciais

De modo geral, o plasma de argônio apresentou uma maior robustez para a análise de bebidas esportivas, enquanto supressão ou aumento de sinal foram observados para a maioria dos analitos em MIP-OES quando a calibração externa foi empregada, o que já era esperado devido à menor temperatura de excitação do plasma.

Diferentes estratégias de calibração foram avaliadas e demonstrou-se que a calibração por múltiplos padrões internos (MISC) é uma estratégia simples e atrativa para a correção de efeitos matriciais em métodos instrumentais com plasma induzido, permitindo a determinação de macro e microelementos para a análise de isotônicos e energéticos com valores adequados de limites de detecção e exatidão. A estratégia também se apresentou como uma alternativa ao uso da padronização interna, pois dispensa a necessidade de seleção do melhor IS e permite o uso de diferentes espécies presentes no próprio plasma, tais como linhas de Ar em ICP-OES e espécies moleculares em MIP-OES.

CAPÍTULO 6 -

Considerações finais

CONSIDERAÇÕES FINAIS

Neste trabalho demonstraram-se os desafios e as estratégias para o emprego da calibração por padronização interna para análise de matrizes complexas, sejam aquelas com elevados teores de elementos facilmente ionizáveis e/ou carbono em métodos instrumentais com plasma induzido. Critérios reportados na literatura para a escolha do IS foram avaliados, como por exemplo a similaridade entre as propriedades físico-químicas do par analito/IS, o uso de constituintes do plasma e os experimentos de adição e recuperação.

A MIP-OES apresenta algumas vantagens como simplicidade operacional, baixo custo e capacidade multielementar. Apesar da menor temperatura de excitação do plasma e da natureza sequencial, o método apresentou precisão e exatidão adequadas para a análise de urina quando a padronização interna juntamente com a diluição da amostra foi empregada. Os efeitos matriciais observados estavam relacionados a diferentes fatores como alterações nas etapas de nebulização, transporte e processos energéticos no plasma e foram causados pelas altas concentrações de EIEs e ureia. Para o menor nível de diluição, observaram-se efeitos antagônicos que causaram aumento e supressão de sinal e nenhum IS testado foi capaz de corrigir os efeitos matriciais para todos os analitos. Entretanto, foi possível o uso de um único padrão interno desde que considerado o fator de diluição, i.e, Ge, Rh ou Sc para a diluição de 20 vezes e a espécie molecular N_2^+ para a urina diluída 200 vezes. Contudo, elevados fatores de diluição causarão dificuldades para a determinação de elementos presentes em baixas concentrações.

Os efeitos da introdução de compostos orgânicos também foram avaliados em MIP-OES e dependem da concentração e da fonte de carbono utilizada. O etanol, por exemplo, foi responsável principalmente por mudanças na geração e transporte dos aerossóis devido à menor tensão superficial e volatilidade em relação à solução aquosa, enquanto o ácido oxálico promoveu alterações

energéticas no plasma, como reações de transferência de carga entre o analito e o C^+ . Apesar de alguns analitos e ISs apresentarem propriedades físico-químicas similares, destaca-se a eficiência de Bi como IS para Pb em etanol, essa relação nem sempre foi válida. Os elementos Ge I (265,117 nm), Bi I (223,061 nm) e a espécie molecular OH foram eficientes para a correção de efeitos sobre todos os analitos quando a concentração de etanol foi superior a 1 % m v⁻¹. Esse resultado é interessante e novamente demonstra a aplicação efetiva de espécies moleculares.

A análise de isotônicos e energéticos foi avaliada em ICP-OES e MIP-OES e observou-se que o ICP-OES foi o método instrumental mais sensível e robusto, pois apenas Si, Pb e Zn apresentaram supressão dos sinais analíticos. Por sua vez, o MIP-OES apresentou maior propensão aos efeitos matriciais, o que foi contornado pelo uso de estratégias de calibração apropriadas. A padronização interna foi eficientemente empregada, no entanto, seu sucesso dependeu da escolha adequada do IS para cada analito e respectivo método instrumental. Essa escolha foi realizada com base nos dados de recuperação.

A calibração por múltiplos padrões internos (MISC), recentemente proposta para ICP-OES¹²⁴, demonstrou ser uma estratégia simples para correção dos efeitos matriciais em plasma de nitrogênio. O MISC emprega vários padrões internos e apenas uma solução de calibração e, portanto, dispensa a necessidade de identificar qual o melhor IS. Resultados satisfatórios também foram obtidos quando espécies presentes no plasma foram usadas para a construção da curva analítica de calibração e a estratégia se mostrou como uma alternativa eficiente para o uso da padronização interna em métodos instrumentais com plasma induzido.

CAPÍTULO 7 -

Referências bibliográficas

REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

1. MERMET, J. M. Is it still possible, necessary and beneficial to perform research in ICP-Atomic Emission Spectrometry? *J. Anal. At. Spectrom.*, **20**:11, 2005.
2. OLESIK, J. W. ICP OES and ICP-MS: An evaluation and assessment of remaining problems. *Anal. Chem.*, **63**:12A, 1991.
3. BALARAM, V. Microwave plasma atomic emission spectrometry (MP-AES) and its applications – A critical review. *Microchem. J.*, **159**: 105483, 2020.
4. TODOLÍ, J. L.; GRAS, L.; HERNANDIS, V.; MORA, J. Elemental matrix effects in ICP-AES. *J. Anal. At. Spectrom.*, **17**: 142, 2002.
5. FONTOURA, B. M.; JOFRÉ, F. C.; WILLIAMS, T.; SAVIO, M.; DONATI, G. L.; NÓBREGA, J. A. Is MIP-OES a suitable alternative to ICP-OES for trace element analysis? *J. Anal. At. Spectrom.*, **37**: 966, 2022.
6. CARTER, J. A.; BARROS, A. I.; NÓBREGA, J. A.; DONATI, G. L. Traditional calibration methods in atomic spectrometry and new calibration strategies for Inductively Coupled Plasma Mass Spectrometry. *Front. Chem.*, **6**: 1, 2018.
7. CUADROS-RODRÍGUEZ, L.; GÁMIZ-GRACIA, L.; ALMANSA-LÓPEZ, E. M.; BOSQUE-SENDRA, J. M. Calibration in chemical measurement processes. II. A methodological approach. *TrAC- Trends Anal. Chem.*, **20**: 620, 2001.
8. FORTUNATO, F. M. Avaliação Do Método de Adição de Padrão Interno Em Técnicas Espectroscópicas. Araraquara, Programa de pós-graduação em Química-UNESP, 2017. Tese de doutorado, 164p.
9. BECHLIN, M. A. Avaliação de Bismuto Como Padrão Interno Universal Para Determinação de Chumbo Por Técnicas Espectrométricas. Araraquara, Programa de pós-graduação em Química - UNESP, 2017. Tese de doutorado, 119p.
10. GONCALVES, D. A.; JONES, B. T.; DONATI, G. L. The reversed-axis method to estimate precision in standard additions analysis. *Microchem. J.*, **124**: 155, 2016.
11. FORTUNATO, F. M.; BECHLIN, M. A.; NETO, J. A. G.; DONATI, G. L.; JONES, B. T. Internal standard addition calibration: determination of Calcium and Magnesium by Atomic Absorption Spectrometry. *Microchem. J.*, **122**: 63, 2015.
12. DONATI, G. L.; AMAIS, R. S. Fundamentals and new approaches to calibration in atomic spectrometry. *J. Anal. At. Spectrom.*, **34**: 2353, 2019.

13. GERLACH, W.; SCHWEITZER, E. Foundations and Methods of Chemical Analysis by Emission Spectrometry, Adam Hilger, London.; 1929; Vol.1 (first ed.).
14. FERNANDES, K. G.; DE MOARES, M.; GOMES NETO, J. A.; NÓBREGA, J. A.; OLIVEIRA, P. V. Internal standardization in Atomic Absorption Spectrometry. *Quim. Nova*, **26**: 249, 2003.
15. BARNETT, W. B.; FASSEL, V. A.; KNISELEY, R. N. Theoretical principles of internal standardization in analytical emission spectroscopy. *Spectrochim. Acta Part B*, **23**: 643, 1968.
16. BARNETT, W. B.; FASSEL, V. A.; KNISELEY, R. N. An experimental study of internal standardization in analytical emission spectroscopy. *Spectrochim. Acta Part B*, **25**: 139, 1970.
17. BECHLIN, M. A.; FORTUNATO, F. M.; FERREIRA, E. C.; NETO, J. A. G.; NÓBREGA, J. A.; DONATI, G. L.; JONES, B. T. Bismuth as a general internal standard for Lead in Atomic Absorption Spectrometry. *Anal. Chim. Acta*, **831**: 24 2014.
18. DONATI, G. L.; AMAIS, R. S.; WILLIAMS, C. B. Recent advances in inductively coupled plasma optical emission Spectrometry. *J. Anal. At. Spectrom.*, **32**: 1283, 2017.
19. SKOOG, D. A.; HOLLER, F. J.; CROUCH, S. R. Principles of Instrumental Analysis. Rio de Janeiro: Pioneira Thomson Learning, 2006.
20. FASSEL, V. A. Analytical inductively coupled plasma spectroscopies-past, present, and future. *Fresenius Z. Anal. Chem.*, **324**: 511, 1986.
21. HOU, X.; AMAIS, R. S.; JONES, B. T.; DONATI, G. L. Inductively coupled plasma optical emission spectrometry. *Encyclopedia of Analytical Chemistry* 2016, ed. R. A., 1–25.
22. TREVIZAN, L. C.; NÓBREGA, J. A. Inductively coupled plasma optical emission spectrometry with axially viewed configuration: an overview of applications. *J. Braz. Chem. Soc.*, **18**: 678, 2007.
23. AGILENT TECHNOLOGIES® Inc. Publication number: 5991-4853EN, Synchronous Vertical Dual View (SVDV) for Superior Speed and Performance. Disponível em: <https://www.agilent.com/cs/library/technicaloverviews/public/5991-4853EN%20_TechOview_5100_SVDV.pdf>. Acesso em 20 de dez. 2022.
24. MYERS, S. A.; TRACY, D. H. Improved performance using internal standardization in inductively-coupled plasma emission spectroscopy. *Spectrochim. Acta Part B*, **38**: 1227, 1983.

25. RAMSEY, M. H.; THOMPSON, M. High-accuracy analysis by inductively coupled plasma atomic emission spectrometry using the parameter-related internal standard method. *J. Anal. At. Spectrom.*, **2**: 497, 1987.
26. WALSH, J. N. Use of multiple internal standards for high-precision, routine analysis of geological samples by inductively coupled plasma-atomic emission spectrometry. *Chem. Geol.*, **95**: 113, 1992.
27. DUBUISSON, C.; POUSSEL, E.; MERMET, J. M. Comparison of ionic line-based internal standardization with axially and radially viewed inductively coupled plasma atomic emission spectrometry to compensate for sodium effects on accuracy. *J. Anal. At. Spectrom.*, **13**: 1265, 1998.
28. GARAVAGLIA, R. N.; REBAGLIATI, R. J.; ROBERTI, M. J.; BATISTONI, D. A. Matrix effects in the analysis of biological matrices by axial view inductively coupled plasma optical emission spectrometry. *Spectrochim. Acta Part B*, **57**: 1925, 2002.
29. GROTTI, M.; FRACHE, R. Reduction of acid effects in inductively coupled plasma optical spectrometry using internal standards selected by principal component analysis. *J. Anal. At. Spectrom.*, **18**: 1192, 2003.
30. BEZERRA, M. A.; MAÊDA, S. M. do N.; OLIVEIRA, E. P.; DE CARVALHO, M. de F. B.; SANTELLI, R. E. Internal standardization for the determination of cadmium, cobalt, chromium and manganese in saline produced water from petroleum industry by inductively coupled plasma optical emission spectrometry after cloud point extraction. *Spectrochim. Acta Part B*, **62**: 985, 2007.
31. DOS SANTOS, E. J.; HERRMANN, A. B.; CHAVES, E. S.; VECHIATTO, W. W. D.; SCHOEMBERGER, A. C.; FRESCURA, V. L. A.; CURTIUS, A. J. Simultaneous determination of Ca, P, Mg, K and Na in biodiesel by axial view inductively coupled plasma optical emission spectrometry with internal standardization after multivariate optimization. *J. Anal. At. Spectrom.*, **22**: 1300, 2007.
32. MUTIC, J.; MANOJLOVIC, D.; KOVACEVIC, R.; TRIFUNOVIC, J.; AMAIZAH, N. R.; IGNJATOVIC, L. Feasibility of the internal standardization in direct determination of arsenic in wine samples by inductively coupled plasma atomic emission spectrometry. *Microchem. J.*, **98**: 11, 2011.
33. BECHLIN, M. A.; FERREIRA, E. C.; NETO, J. A. G.; RAMOS, J. C.; BORGES, D. L. G. Contributions on the use of bismuth as internal standard for lead determinations using ICP-based techniques. *J. Braz. Chem. Soc.*, **26**: 1879, 2015.

34. CARTER, J. A.; SLOOP, J. T.; HARVILLE, T.; JONES, B. T.; DONATI, G. L. Non-analyte signals and supervised learning to evaluate matrix effects and predict analyte recoveries in inductively coupled plasma optical emission spectrometry. *J. Anal. At. Spectrom.*, **35**: 679, 2020.
35. BARROS, A. I.; PINHEIRO, F. C.; NÓBREGA, J. A. Calibration strategies to correct for matrix effects in direct analysis of urine by ICP OES: internal standardization and multi-energy calibration. *Anal. Methods*, **11**: 3401, 2019.
36. CHIWESHE, T.; PURCELL, W.; VENTER, J. A. Evaluation of different internal standards for precious metals quantification. *Bull. Chem. Soc. Ethiop.*, **30**: 55, 2016.
37. SLOOP, J. T.; ALLEN, S. C.; CARTER, J. A.; DONATI, G. L.; JONES, B. T. Matrix-matched two-point calibration based on the standard dilution analysis method. *Microchem. J.*, **160**: 105740, 2021.
38. GAB-ALLAH, M. A.; SHEHATA, A. B. Determination of iron, nickel, and vanadium in crude oil by inductively coupled plasma optical emission spectrometry following microwave-assisted wet digestion. *Chem. Pap.*, **75**: 4239, 2021.
39. GRIMMIG, R.; LINDNER, S.; GILLEMOT, P.; WINKLER, M.; WITZLEBEN, S. Analyses of used engine oils via atomic spectroscopy – influence of sample pre-treatment and machine learning for engine type classification and lifetime assessment. *Talanta*, **232**: 122431, 2021.
40. DRAVA, G.; MINGANTI, V. Influence of an internal standard in axial ICP OES analysis of trace elements in plant materials. *J. Anal. At. Spectrom.*, **35**: 301, 2020.
41. DING, W.; JIN, X.; MA, B.; WANG, X.; LOU, C.; ZHENG, J.; HU, Z.; JING, L.; WANG, Y. Determination of prussian blue nanoparticles in rat tissue in the presence of endogenous iron interferences by inductively coupled plasma–optical emission spectrometry (ICP-OES). *Anal. Lett.*, **53**: 2935, 2020.
42. MACHADO, R. C.; SILVA, A. B. S.; AMARAL, C. D. B.; VIRGILIO, A.; NOGUEIRA, A. R. A. Internal standardization as a strategy to overcome non-spectral interferences in the determination of As, Cd and Pb in mineral fertilizers by synchronous vertical dual view (SVDV) ICP OES. *Anal. Methods*, **12**: 39, 2019.
43. CHERNIKOVA, I. I.; TUMNEVA, K. V.; BAKALDINA, T. V.; ERMOLAEVA, T. N. Improvement of sample preparation in ICP-AES analysis of ferroalloys. *Inorg. Mater.*, **56**: 1384, 2020.

44. VYACHESLAVOV, A. V.; TSERKVA, V. V.; TITOVA, A. D.; ROBIN, D. S.; ERMOLAEVA, T. N. Development of a technique for analysis of tungsten-containing sludge using inductively coupled plasma atomic emission spectrometry (ICP-AES). *Inorg. Mater.*, **56**: 1369, 2020.
45. HUSSEIN, A.; SABRY, H. Factors affecting phosphonate measurement by inductively coupled plasma optical emission spectroscopy (ICP-OES) in oilfield produced waters. *Int. J. Environ. Anal. Chem.*, **100**: 882, 2020.
46. DOS ANJOS, S. L.; ALVES, J. C.; SOARES, S. A. R.; ARAUJO, R. G. O.; DE OLIVEIRA, O. M. C.; QUEIROZ, A. F. S.; FERREIRA, S. L. C. Multivariate optimization of a procedure employing microwave-assisted digestion for the determination of nickel and vanadium in crude oil by ICP OES. *Talanta*, **178**: 842, 2018.
47. PINHEIRO, F. C.; BARROS, A. I.; NÓBREGA, J. A. Evaluation of dilute-and-shoot procedure for determination of inorganic impurities in liquid pharmaceutical samples by ICP OES. *Microchem. J.*, **146**: 948, 2019.
48. COSTA, V. C.; PINHEIRO, F. C.; AMORIM, F. A. C.; PARANHOS DA SILVA, E. G.; PEREIRA-FILHO, E. R. Multivariate optimization for the development of a sample preparation procedure and evaluation of calibration strategies for nutrient elements determination in handmade chocolate. *Microchem. J.*, **150**: 104166, 2019.
49. COBINE, J. D.; WILBUR, D. A. The electronic torch and related high frequency phenomena. *J. Appl. Phys.*, **22**: 835, 1951.
50. JANKOWSKI, K. J.; RESZKE, E. Microwave induced plasma analytical spectrometry. In RSC Publishing, Cambridge, 2011, ch. 1-3.; 2011; pp 23–36.
51. GONCALVES, D. A.; MCSWEENEY, T.; DONATI, G. L. Characteristics of a resonant iris microwave-induced nitrogen plasma. *J. Anal. At. Spectrom.*, **31**: 1097, 2016.
52. WILLIAMS, C. B.; AMAIS, R. S.; FONTOURA, B. M.; JONES, B. T.; NÓBREGA, J. A.; DONATI, G. L. Recent developments in microwave-induced plasma optical emission spectrometry and applications of a commercial hammer-cavity instrument. *TrAC- Trends Anal. Chem.*, **116**: 151, 2019.
53. OZBEK, N.; AKMAN, S. Determination of boron in turkish wines by microwave plasma atomic emission spectrometry. *LWT - Food Sci. Technol.*, **61**: 532, 2015.
54. NELSON, J.; GILLELAND, G.; POIRIER, L.; LEONG, D.; HAJDU, P.; LOPEZ-LINARES, F. Elemental analysis of crude oils using microwave plasma atomic emission spectroscopy. *Energy and Fuels*, **29**: 5587, 2015.

55. POIRIER, L.; NELSON, J.; GILLELAND, G.; WALL, S.; BERHANE, L.; LOPEZ-LINARES, F. Comparison of preparation methods for the determination of metals in petroleum fractions (1000°F+) by microwave plasma atomic emission spectroscopy. *Energy and Fuels*, **31**: 7809, 2017.
56. KARLSSON, S.; SJÖBERG, V.; OGAR, A. Comparison of MP AES and ICP-MS for analysis of principal and selected trace elements in nitric acid digests of sunflower (*helianthus annuus*). *Talanta*, **135**: 124, 2015.
57. GONCALVES, D. A.; MCSWEENEY, T.; SANTOS, M. C.; JONES, B. T.; DONATI, G. L. Standard dilution analysis of beverages by microwave-induced plasma optical emission spectrometry. *Anal. Chim. Acta*, **909**: 24, 2016.
58. ALTHOFF, A. G.; WILLIAMS, C. B.; MCSWEENEY, T.; GONCALVES, D. A.; DONATI, G. L. Microwave-induced plasma optical emission spectrometry (MIP OES) and standard dilution analysis to determine trace elements in pharmaceutical samples. *Appl. Spectrosc.*, **71**: 2692, 2017.
59. ESPERANZA, M. G.; BARRIENTOS, E. Y.; WROBEL, K.; AGUILAR, F. J. A.; ESCOBOSA, A. R. C.; WROBEL, K. Determination of total arsenic and speciation analysis in mexican maize tortillas by hydride generation - microwave plasma atomic emission spectrometry and high performance liquid chromatography - inductively coupled plasma - mass spectrometry. *Anal. Methods*, **9**: 2059, 2017.
60. MATUSIEWICZ, H.; ŚLACHCIŃSKI, M. Simultaneous determination of As, Bi, Sb, Se and Sn by microwave induced plasma spectrometry using a quadruple-mode microflow ultrasonic nebulizer for in situ hydride generation with internal standardization. *Microchem. J.*, **131**: 70, 2017.
61. PIRES, L. N.; DIAS, F. S.; TEIXEIRA, L. S. G. Assessing the internal standardization of the direct multi-element determination in beer samples through microwave-induced plasma optical emission spectrometry. *Anal. Chim. Acta*, **1090**: 31, 2019.
62. CARNEIRO, A. F.; CARNEIRO, C. N.; PIRES, L. de N.; TEIXEIRA, L. S. G.; AZCARATE, S. M.; DIAS, F. de S. D-optimal mixture design for the optimization of extraction induced by emulsion breaking for multielemental determination in edible vegetable oils by microwave-induced plasma optical emission spectrometry. *Talanta*, **219**: 121218, 2020.
63. LOWERY, K. L.; MCSWEENEY, T.; ADHIKARI, S. P.; LACHGAR, A.; DONATI, G. L. Signal correction using molecular species to improve biodiesel analysis by microwave-induced plasma optical emission spectrometry. *Microchem. J.*, **129**: 58, 2016.

64. SILVA, A. B. S.; HIGUERA, J. M.; NOGUEIRA, A. R. A. Internal standardization and plasma molecular species: signal correction approaches for determination of phosphorus from phospholipids in meat by MIP OES. *J. Anal. At. Spectrom.* **34**: 782, 2019.
65. BRODZKA, R.; TRZCINKA-OCHOCKA, M.; JANASIK, B. Multi-element analysis of urine using dynamic reaction cell inductively coupled plasma mass spectrometry (ICP-DRC-MS) - a practical application. *Int. J. Occup. Med. Environ. Health*, **26**: 302, 2013.
66. STEUERWALD, A. J.; PARSONS, P. J.; ARNASON, J. G.; CHEN, Z.; PETERSON, C. M.; LOUIS, G. M. B. Trace element analysis of human urine collected after administration of Gd-based MRI contrast agents: characterizing spectral interferences using inorganic mass spectrometry. *J. Anal. At. Spectrom.*, **28**: 821, 2013.
67. BRASIL. Ministério da Saúde. *Resolução -RDC N° 11, de 13 de março de 2014*. Brasília, DF, 2014. Disponível em: <https://bvsms.saude.gov.br/bvs/saudelegis/anvisa/2014/rdc0011_13_03_2014.pdf> Acesso em: 23 dez. 2022.
68. BRASIL. Programa de Controle Médico de Saúde Ocupacional. *Norma Regulamentadora – NR7 N° 1.892, de 09 de dezembro de 2013*, Brasília, DF, 2013. Disponível em: <https://www.Gov.Br/Trabalho-e-Previdencia/Pt-Br/Composicao/Orgaos-Especificos/Secretaria-de-Trabalho/Inspecao/Seguranca-e-Saude-No-Trabalho/Normas-Regulamentadoras/Nr-07_atualizada_2020.Pdf>. Acesso em: 23 dez. 2022.
69. BARROS, A. I.; PINHEIRO, F. C.; AMARAL, C. D. B.; LORENÇATTO, R.; NÓBREGA, J. A. Aerosol dilution as a simple strategy for analysis of complex samples by ICP-MS. *Talanta*, **178**: 805, 2018.
70. BURDEN, T. J.; WHITEHEAD, M. W.; THOMPSON, R. P. H.; POWELL, J. J. Preparation of urine samples for trace metal determination: a study with aluminium analysis by inductively coupled plasma optical emission spectrometry. *Ann. Clin. Biochem.*, **35**: 245, 1998.
71. BATISTA, B. L.; RODRIGUES, J. L.; TORMEN, L.; CURTIUS, A. J.; BARBOSA, F. Reference concentrations for trace elements in urine for the brazilian population based on Q-ICP-MS with a simple dilute-and-shoot procedure. *J. Braz. Chem. Soc.*, **20**: 1406, 2009.
72. ROONEY, J. P. K.; MICHALKE, B.; GEOGHEGAN, G.; HEVERIN, M.; BOSE-O'REILLY, S.; HARDIMAN, O.; RAKETE, S. Urine concentrations of selected trace metals in a cohort of irish adults. *Environ. Sci. Pollut. Res.*, **29**: 75356, 2022.

73. SERRANO, R.; GRINDLAY, G.; GRAS, L.; MORA, J. Evaluation of calcium-, carbon- and sulfur-based non-spectral interferences in high-power MIP-OES: comparison with ICP-OES. *J. Anal. At. Spectrom.*, **34**: 1611, 2019.
74. WILLIAMS, C. B.; JONES, B. T.; DONATI, G. L. Naturally occurring molecular species used for plasma diagnostics and signal correction in microwave-induced plasma optical emission spectrometry. *J. Anal. At. Spectrom.*, **33**: 1224, 2018.
75. TAVERNIERS, I.; LOOSE, M. D; BOCKSTAELE, E. V. Trends in quality in the analytical laboratory. II. A. method validation and quality assurance. *TrAC- Trends Anal. Chem.*, **23**: 535, 2004.
76. BLADES, M. W.; HORLICK, G. Interference from easily ionizable element matrices in inductively coupled plasma emission spectrometry-a spatial study. *Spectrochim. Acta Part B*, **36**: 881, 1981.
77. COSTA, V. C.; BABOS, D. V.; GAMELA, R. R.; AMORIM, F. A. C.; PEREIRA-FILHO, E. R. Proposition of sample preparation procedure of cassava flour with diluted acid using mixture design and evaluation of nutrient profiles by multivariate data analysis. *Food Anal. Methods*, **13**: 3, 2020.
78. ROMERO, X.; POUSSEL, E.; MERMET, J. M. The effect of sodium on analyte ionic line intensities in inductively coupled plasma atomic emission spectrometry: influence of the operating conditions. *Spectrochim. Acta Part B*, **52**: 495, 1997.
79. ZHANG, Z.; WAGATSUMA, K. Matrix effects of easily ionizable elements and nitric acid in high-power microwave-induced nitrogen plasma atomic emission spectrometry. *Spectrochim. Acta Part B*, **57**: 1247, 2002.
80. PELIPASOV, O. V.; POLYAKOVA, E. V. Matrix effects in atmospheric pressure nitrogen microwave induced plasma optical emission spectrometry. *J. Anal. At. Spectrom.*, **35**: 1389, 2020.
81. DUBUISSON, C.; POUSSEL, E.; TODOLI, J. L.; MERMET, J. M. Effect of sodium during the aerosol transport and filtering in inductively coupled plasma atomic emission spectrometry. *Spectrochim. Acta Part B*, **53**: 593, 1998.
82. MAESSEN, F. J. M. J.; BALKE, J.; DE BOER, J. L. M. Preservation of accuracy and precision in the analytical practice of low power ICP-AES. *Spectrochim. Acta Part B*, **37**: 517, 1982.
83. KAŇA, A.; KLIMŠOVÁ, Z.; MESTEK, O. Internal standardization for arsenic and its species determination using inductively coupled plasma mass spectrometry. *Talanta*, **192**: 86, 2019.

84. SILVA, A. B. S.; HIGUERA, J. M.; BRAZ, C. E. M.; MACHADO, R. C.; NOGUEIRA, A. R. A. Evaluation of different nebulizers performance on microwave-induced plasma optical emission spectrometry. *Spectrochim. Acta Part B*, **168**: 105867, 2020.
85. LECLERCQ, A.; NONELL, A.; TODOLÍ TORRÓ, J. L.; BRESSON, C.; VIO, L.; VERCOUTER, T.; CHARTIER, F. Introduction of organic/hydro-organic matrices in inductively coupled plasma optical emission spectrometry and mass spectrometry: a tutorial review. Part I. Theoretical considerations. *Anal. Chim. Acta*, **885**: 33, 2015.
86. ALLAIN, P.; JAUNAUT, L.; MAURAS, Y.; MERMET, J. M.; DELAPORTE, T. Signal enhancement of elements due to the presence of carbon-containing compounds in inductively coupled plasma mass spectrometry. *Anal. Chem.*, **63**: 1497, 1991.
87. GAMMELGAARD, B.; JØNS, O. Determination of selenium in urine by inductively coupled plasma mass spectrometry: interferences and optimization. *J. Anal. At. Spectrom.*, **14**: 867, 1999.
88. MACHAT, J.; OTRUBA, V.; KANICKY, V. Spectral and non-Spectral interferences in the determination of selenium by inductively coupled plasma atomic emission spectrometry. *J. Anal. At. Spectrom.*, **17**: 1096, 2002.
89. GRINDLAY, G.; GRAS, L.; MORA, J.; DE LOOS-VOLLEBREGT, M. T. C. Carbon-related matrix effects in inductively coupled plasma atomic emission spectrometry. *Spectrochim. Acta Part B*, **63**: 234, 2008.
90. WILTSCHKE, H.; WINKLER, M.; TIRK, P. Matrix effects of carbon and bromine in inductively coupled plasma optical emission spectrometry. *J. Anal. At. Spectrom.*, **30**: 2223, 2015.
91. ABOU-SHAKRA, F. R.; RAYMAN, M. P.; WARD, N. I.; HOTTON, V.; BASTIAN, G. Enzymatic digestion for the determination of trace elements in blood serum by inductively coupled plasma mass spectrometry. *J. Anal. At. Spectrom.*, **12**: 429, 1997.
92. GRINDLAY, G.; MORA, J.; DE LOOS-VOLLEBREGT, M.; VANHAECKE, F. A. Systematic study on the influence of carbon on the behavior of hard-to-ionize elements in inductively coupled plasma-mass spectrometry. *Spectrochim. Acta Part B*, **86**: 42, 2013.
93. KAHEN, K.; ACON, B. W.; MONSTASER, A. Modified nukiyama-tanasawa and rizk-lefebvre models to predict droplet size for microconcentric nebulizers with aqueous and organic solvents. *J. Anal. At. Spectrom.*, **20**: 631, 2005.

94. GRINDLAY, G.; GRAS, L.; MORA, J.; DE LOOS-VOLLEBREGT, M. T. C. Carbon-, sulfur-, and phosphorus-based charge transfer reactions in inductively coupled plasma-atomic emission spectrometry. *Spectrochim. Acta Part B*, **115**: 8, 2016.
95. DONATI, G. L.; AMAIS, R. S.; SCHIAVO, D.; NÓBREGA, J. A. Determination of Cr, Ni, Pb and V in gasoline and ethanol fuel by microwave plasma optical emission spectrometry. *J. Anal. At. Spectrom.* **28**: 755, 2013.
96. AMAIS, R. S.; DONATI, G. L.; SCHIAVO, D.; NÓBREGA, J. A. A simple dilute-and-shoot procedure for Si determination in diesel and biodiesel by microwave-induced plasma optical emission spectrometry. *Microchem. J.*, **106**: 318, 2013.
97. OZBEK, N.; KOCA, M.; AKMAN, S. A practical method for the determination of Al, B, Co, Cr, Cu, Fe, Mg, Mn, Pb, and Zn in different types of vinegars by microwave induced plasma optical emission spectrometry. *Food Anal. Methods*, **9**: 2246, 2016.
98. SILVA, A. B. S.; SÁ, Í. P.; HIGUERA, J. M.; NOGUEIRA, A. R. A. Feasibility of dispersive liquid-liquid microextraction for molybdenum determination in lamb meat by MIP OES. *Food Anal. Methods*, **14**: 496, 2021.
99. AZCARATE, S. M.; LANGHOFF, L. P.; CAMIÑA, J. M.; SAVIO, M. A green single-tube sample preparation method for wear metal determination in lubricating oil by microwave induced plasma with optical emission spectrometry. *Talanta*, **195**: 573, 2019.
100. SERRANO, R.; GRINDLAY, G.; NIEDZIELSKI, P.; GRAS, L.; MORA, J. Evaluation of MIP-OES as a detector in DLLME procedures: application to Cd determination in water samples. *J. Anal. At. Spectrom.*, **35**:1351, 2020.
101. EBDON, L.; EVANS, E. H.; BARNETT, N. W. Simplex optimization of experimental conditions in inductively coupled plasma atomic emission spectrometry with organic solvent introduction. *J. Anal. At. Spectrom.*, **4**: 505, 1989.
102. GRINDLAY, G.; ALAVI, S.; MOSTAGHIMI, J. Analytical performance of the conical torch in inductively coupled plasma optical emission spectroscopy operating methanol and 1-propanol solutions. *J. Anal. At. Spectrom.*, **35**: 2956, 2020.
103. VARGA, Z.; KISS, G.; HANSSON, H. C. Modelling the cloud condensation nucleus activity of organic acids on the basis of surface tension and osmolality measurements. *Atmos. Chem. Phys.*, **7**: 4601, 2007.
104. LONG, G. L.; BOLTON, J. S. The effect of propane on atomic spectrometric signals in the inductively coupled argon plasma. *Spectrochim. Acta Part B*, **42**: 581, 1987.

105. VIRGILIO, A.; AMAIS, R. S.; AMARAL, C. D. B.; FIALHO, L. L.; SCHIAVO, D.; NÓBREGA, J. A. Reactivity and analytical performance of oxygen as cell gas in inductively coupled plasma tandem mass spectrometry. *Spectrochim. Acta Part B*, **126**: 31, 2016.
106. LEŚNIEWICZ, A.; GRZESIAK, M.; ŻYRNICKI, W.; BORKOWSKA-BURNECKA, J. Mineral composition and nutritive value of isotonic and energy drinks. *Biol. Trace Elem. Res.*, **170**: 485, 2016.
107. ARANDA, M.; MORLOCK, G. Simultaneous determination of riboflavin, pyridoxine, nicotinamide, caffeine and taurine in energy drinks by planar chromatography-multiple detection with confirmation by electrospray ionization mass spectrometry. *J. Chromatogr. A*, **1131**: 253, 2006.
108. PEACOCK, A.; MARTIN, F. H.; CARR, A. Energy drink ingredients. contribution of caffeine and taurine to performance outcomes. *Appetite*, **64**: 1, 2013.
109. CHATTERJEE, A.; ABRAHAM, J. A comprehensive study on sports and energy drinks. *Sports and Energy Drinks*. **10**: 515, 2019.
110. BRASIL. Associação brasileira de indústrias de refrigerantes e bebidas não alcoólicas (ABIR). Brasília, DF, 2022 Disponível em: <<https://abir.org.br/sector/bebidas/isotonicos>>. Acesso em: 27 dez.2022.
111. BRASIL. Agência Nacional de Vigilância Sanitária. *Alimentos para atletas. Resolução – RDC nº 18 em 27 de abril de 2010*. Brasília, DF, 2010. Disponível em: <https://bvsms.saude.gov.br/bvs/saudelegis/anvisa/2010/res0018_27_04_2010.html>. Acesso em: 26 dez.2022.
112. LIOTTA, E.; GOTTARDO, R.; SERI, C.; RIMONDO, C.; MIKSIK, I.; SERPELLONI, G.; TAGLIARO, F. Rapid analysis of caffeine in “smart drugs” and “energy drinks” by microemulsion electrokinetic chromatography (MEEKC). *Forensic Sci. Int.*, **220**: 279, 2012.
113. KHALID, A.; AHMAD, S. Determination of caffeine in soft and energy drinks available in market by using UV/Visible spectrophotometer. *Fam. Med. Med Sci. Res.* **05**: 1, 2016.
114. GONZÁLEZ-VÁZQUEZ, M.; MEZA-MÁRQUEZ, O. G.; GALLARDO-VELÁZQUEZ, T.; OSORIO-REVILLA, G.; VELÁZQUEZ HERNÁNDEZ, J. L.; HERNÁNDEZ-MARTÍNEZ, M. Simultaneous determination of caffeine and taurine in energy drinks by FT-MIR spectroscopy coupled with multivariate analysis. *J. Spectrosc.* **2020**: 8835846, 2020.
115. HOHMANN, M.; FELBINGER, C.; CHRISTOPH, N.; WACHTER, H.; WIEST, J.; HOLZGRABE, U. Quantification of taurine in energy drinks using ¹H NMR. *J. Pharm. Biomed. Anal.*, **93**: 156, 2014.

116. SELVAKUMAR, L. S.; THAKUR, M. S. Dipstick based immune chemiluminescence biosensor for the analysis of vitamin B12 in energy drinks: a novel approach. *Anal. Chim. Acta*, **722**: 107, 2012.
117. SASAKI, K.; HATATE, H.; TANAKA, R. Determination of 13 vitamin B and the related compounds using HPLC with UV detection and application to food supplements. *Chromatographia*, **83**: 839, 2020.
118. OLGUN, F. A. O.; OZTURK, B. D.; APAK, R. Determination of synthetic food colorants in water-soluble beverages individually by HPLC and totally by Ce(IV)-oxidative spectrophotometry. *Food Anal. Methods*, **5**: 1335, 2012.
119. SZYMCZYCHA-MADEJA, A.; WELNA, M.; POHL, P. Determination of elements in energy drinks by ICP OES with minimal sample preparation. *J. Braz. Chem. Soc.*, **24**: 1606, 2013.
120. PAREDES, E.; MAESTRE, S. E.; PRATS, S.; TODOLÍ, J. L. Simultaneous determination of carbohydrates, carboxylic acids, alcohols, and metals in foods by high-performance liquid chromatography inductively coupled plasma atomic emission spectrometry. *Anal. Chem.*, **78**: 6774, 2006.
121. VIRGILIO, A.; SCHIAVO, D.; NÓBREGA, J. A.; DONATI, G. L. Evaluation of standard dilution analysis (SDA) of beverages and foodstuffs by ICP OES. *J. Anal. At. Spectrom.*, **31**: 1216, 2016.
122. SANTOS, M. A.; SILVA, A. B. S.; MACHADO, R. C.; DIAS, E. A.; BARROS, J. A. V. A.; NOGUEIRA, A. R. A. Silicon determination by microwave-induced plasma optical emission spectrometry: considerations and strategies for the use of tetrafluoroboric acid and sodium hydroxide in sample preparation procedures. *Spectrochim. Acta Part B*, **167**: 105842, 2020.
123. FROES-SILVA, R. E. S.; NETO, W. B.; NASCENTES, C. C.; SILVA, J. B. B. Multivariate optimization and exploratory analysis applied to the internal standardization of complex matrices by inductively coupled plasma optical emission spectrometry. *At. Spectrosc.*, **36**: 7, 2015.
124. SLOOP, J. T.; DONATI, G. L.; JONES, B. T. Multi-internal standard calibration applied to inductively coupled plasma optical emission spectrometry. *Anal. Chim. Acta*, **1190**: 339258, 2022.
125. STEPAN, M.; MUSIL, P.; POUSEL, E.; MERMET, J. M. Matrix-induced shift effects in axially viewed inductively coupled plasma atomic emission spectrometry. *Spectrochim. Acta Part B*, **56**: 443, 2001.
126. O'HANLON, K.; EBDON, L.; FOULKES, M. Effect of easily ionizable elements on the mass transport efficiency of solutions and slurries used in plasma emission spectrometry. *J. Anal. At. Spectrom.*, **12**: 329, 1997.

127. BUDIČ, B. Matrix effects in inductively coupled plasma atomic emission spectrometry using an ultrasonic nebulizer. *J. Anal. At. Spectrom.*, **13**: 869, 1998.
128. TAYLOR, N.; MCKAY-BISHOP, K. N.; SPENCER, R. L.; FARNSWORTH, P. B. A novel approach to understanding the effect of matrix composition on analyte emission in an inductively coupled plasma. *J. Anal. At. Spectrom.*, **29**: 644, 2014.
129. ESTADOS UNIDOS, Agência de Proteção Ambiental. *National Primary Drinking Water Regulations*. Disponível em: <<https://www.epa.gov/ground-water-and-drinking-water/national-primary-drinking-water-regulations#Inorganic>>. Acesso em: 29 dez. 2022.

APÊNDICE

TABELA A1 - Comparação entre as inclinações obtidas em meio aquoso (0,14 mol L⁻¹ HNO₃) e em urina diluída 2 vezes sem e com IS.

Analito λ (nm)	Matriz	Sem IS		IS	IS selecionado	
		Inclinação \pm SD	r		Inclinação \pm SD	r
Al 396,152 (I)	Aquoso	18307 \pm 145	0,9997	Ga	2,23 \pm 0,03	0,9988
	Urina	27668 \pm 307	0,9994		2,21 \pm 0,01	0,9998
As 228,812 (I)	Aquoso	9153 \pm 72	0,9997	OH	0,280 \pm 0,004	0,9988
	Urina	6859 \pm 22	0,9999		0,278 \pm 0,003	0,9995
Ba 455,403 (II)	Aquoso	232443 \pm 2307	0,9995	OH	7,1 \pm 0,1	0,9991
	Urina	161222 \pm 443	0,9999		6,53 \pm 0,05	0,9997
Be 234,861 (I)	Aquoso	155800 \pm 1217	0,9997	OH	4,77 \pm 0,02	0,9999
	Urina	110298 \pm 741	0,9998		4,47 \pm 0,02	0,9999
Bi 472,255 (I)	Aquoso	92 \pm 1	0,9994	Rh	0,0087 \pm 1x10 ⁻⁴	0,9986
	Urina	120 \pm 2	0,9989		0,00883 \pm 9x10 ⁻⁵	0,9995
Cd 228,802 (I)	Aquoso	10197 \pm 66	0,9998	OH	0,312 \pm 0,003	0,9995
	Urina	6001 \pm 23	0,9999		0,243 \pm 0,003	0,9994
Co 240,725 (I)	Aquoso	3518 \pm 56	0,9987	-	-	-
	Urina	3569 \pm 69	0,9981		-	-
Cr 357,820 (I)	Aquoso	23635 \pm 203	0,9996	Rh	6,21 \pm 0,05	0,9997
	Urina	36746 \pm 365	0,9995		6,13 \pm 0,04	0,9998
Cu 324,754 (I)	Aquoso	81413 \pm 868	0,9994	-	-	-
	Urina	73912 \pm 299	0,9999		-	-
Li 670,784 (I)	Aquoso	343393 \pm 2105	0,9998	Rh	90,2 \pm 0,7	0,9997
	Urina	509191 \pm 5430	0,9994		84,9 \pm 0,5	0,9998
Pb 363,957 (I)	Aquoso	491 \pm 3	0,9998	Ga	0,0598 \pm 7x10 ⁻⁴	0,9993
	Urina	727 \pm 5	0,9997		0,0581 \pm 7x10 ⁻⁴	0,9997
Sb 217,581 (I)	Aquoso	933 \pm 22	0,9973	-	-	-
	Urina	614 \pm 15	0,9971		-	-

I- Linha atômica, II- Linha iônica.

TABELA A2 - Comparação entre as inclinações obtidas em meio aquoso (0,14 mol L⁻¹ HNO₃) e em urina diluída 20 vezes sem e com IS.

Analito $\lambda(\text{nm})$	Matriz	Sem IS		IS	IS selecionado	
		Inclinação \pm SD	r		Inclinação \pm SD	r
Al 396,152 (I)	Aquoso	7011 \pm 200	0,9959	-	-	-
	Urina	8362 \pm 89	0,9994		-	-
As 228,812 (I)	Aquoso	6422 \pm 100	0,9988	-	-	-
	Urina	7449 \pm 52	0,9998		-	-
Ba 455,403 (II)	Aquoso	127890 \pm 4081	0,9949	Rh	21,9 \pm 0,3	0,9993
	Urina	148186 \pm 974	0,9998		20,7 \pm 0,2	0,9997
Be 234,861 (I)	Aquoso	104766 \pm 2197	0,9978	Rh	53 \pm 2	0,9908
	Urina	133538 \pm 955	0,9997		55,0 \pm 0,4	0,9997
Bi 472,255 (I)	Aquoso	48 \pm 2	0,9970	Sc	0,0084 \pm 0,0001	0,9984
	Urina	70 \pm 2	0,9974		0,0089 \pm 0,0002	0,9978
Ca 396,847 (II)	Aquoso	89349 \pm 1956	0,9976	N ₂ ⁺	2,71 \pm 0,09	0,9948
	Urina	103552 \pm 1757	0,9986		3,13 \pm 0,07	0,9978
Cd 228,802 (I)	Aquoso	6894 \pm 169	0,9970	-	-	-
	Urina	8200 \pm 62	0,9997		-	-
Co 240,725 (I)	Aquoso	1740 \pm 48	0,9961	Sc	0,30 \pm 0,01	0,9914
	Urina	2428 \pm 30	0,9993		0,311 \pm 0,004	0,9993
Cr 357,820 (I)	Aquoso	9024 \pm 392	0,9907	Sc	1,58 \pm 0,04	0,9970
	Urina	11464 \pm 66	0,9998		1,47 \pm 0,01	0,9999
Cu 324,754 (I)	Aquoso	37701 \pm 1365	0,9935	Rh	6,5 \pm 0,1	0,9987
	Urina	46277 \pm 410	0,9996		6,47 \pm 0,06	0,9995
Li 670,784 (I)	Aquoso	155220 \pm 4327	0,9961	N ₂ ⁺	4,7 \pm 0,2	0,9934
	Urina	193700 \pm 1292	0,9998		4,79 \pm 0,04	0,9997
Mg 383,829 (I)	Aquoso	1283 \pm 59	0,9894	Sc	0,22 \pm 0,01	0,9970
	Urina	1661 \pm 37	0,9975		0,213 \pm 0,005	0,9978
Mg 280,271 (II)	Aquoso	26754 \pm 568	0,9978	Y	1,51 \pm 0,03	0,9986
	Urina	33663 \pm 733	0,9976		1,49 \pm 0,03	0,9973
Pb 363,957 (I)	Aquoso	214 \pm 13	0,9814	Sc	0,0372 \pm 0,0004	0,9995
	Urina	309 \pm 4	0,9991		0,0396 \pm 0,0005	0,9993
Sb 217,581 (I)	Aquoso	380 \pm 11	0,9955	-	-	-
	Urina	431 \pm 9	0,9980		-	-

I- Linha atômica, II- Linha iônica.

TABELA A3 - Comparação entre as inclinações obtidas em meio aquoso (0,14 mol L⁻¹ HNO₃) e em urina diluída 200 vezes sem e com IS.

Analito λ (nm)	Matriz	Sem IS		IS	IS selecionado	
		Inclinação \pm SD	r		Inclinação \pm SD	r
Al 396,152 (I)	Aquoso	15958 \pm 511	0,9959	N ₂ ⁺	6x10 ⁸ \pm 4x10 ⁷	0,9961
	Urina	14204 \pm 83	0,9998		5x10 ⁸ \pm 5x10 ⁶	0,9997
As 228,812 (I)	Aquoso	10315 \pm 119	0,9993	-	-	-
	Urina	10058 \pm 42	0,9999		-	-
Ba 455,403 (II)	Aquoso	222363 \pm 2682	0,9993	-	-	-
	Urina	210915 \pm 886	0,9999		-	-
Be 234,861 (I)	Aquoso	174695 \pm 2546	0,9989	-	-	-
	Urina	172114 \pm 1358	0,9997		-	-
Bi 472,255 (I)	Aquoso	116 \pm 3	0,9968	-	-	-
	Urina	105 \pm 1	0,9992		-	-
Ca 396,847 (II)	Aquoso	141751 \pm 2034	0,9990	-	-	-
	Urina	130571 \pm 1605	0,9992		-	-
Cd 228,802 (I)	Aquoso	10428 \pm 193	0,9983	-	-	-
	Urina	10180 \pm 71	0,9998		-	-
Co 240,725 (I)	Aquoso	3669 \pm 95	0,9967	-	-	-
	Urina	3533 \pm 25	0,9998		-	-
Cr 357,820 (I)	Aquoso	26676 \pm 1751	0,9789	N ₂ ⁺	9x10 ⁸ \pm 5x10 ⁷	0,9826
	Urina	22317 \pm 121	0,9999		9x10 ⁸ \pm 9x10 ⁶	0,9994
Cu 324,754 (I)	Aquoso	80269 \pm 1521	0,9982	N ₂ ⁺	3x10 ⁹ \pm 4x10 ⁷	0,9991
	Urina	74700 \pm 580	0,9997		3x10 ⁹ \pm 3x10 ⁷	0,9993
Li 670,784 (I)	Aquoso	265088 \pm 6520	0,9970	-	-	-
	Urina	245305 \pm 1036	0,9999		-	-
Mg 383,829 (I)	Aquoso	2765 \pm 103	0,9931	N ₂ ⁺	9x10 ⁷ \pm 3x10 ⁶	0,9949
	Urina	2435 \pm 17	0,9997		9x10 ⁷ \pm 1x10 ⁶	0,9991
Mg 280,271 (II)	Aquoso	39698 \pm 573	0,9990	-	-	-
	Urina	39945 \pm 287	0,9997		-	-
Pb 363,957 (I)	Aquoso	586 \pm 22	0,9930	N ₂ ⁺	2x10 ⁷ \pm 6x10 ⁵	0,9944
	Urina	534 \pm 7	0,9992		2x10 ⁷ \pm 4x10 ⁵	0,9984
Sb 217,581 (I)	Aquoso	657 \pm 10	0,9989	-	-	-
	Urina	629 \pm 7	0,9994		-	-

I- Linha atômica, II- Linha iônica

TABELA A4 - Valores de energia total para cada linha de emissão empregada na análise de urina.

	Elemento	Linha de emissão (nm)	E_{exc} (eV)	E_{ion} (eV)	E_{sum}^{\dagger} (eV)
Linhas iônicas	Ba	455,403	2,72	5,21	7,93
	Ca	396,847	3,12	6,11	9,23
	Mg	280,271	4,42	7,65	12,07
Linhas atômicas	Al	396,152	3,13	-	3,13
	As	228,812	5,42	-	5,42
	Be	234,861	5,28	-	5,28
	Bi	472,255	2,63	-	2,63
	Cd	228,802	5,42	-	5,42
	Co	240,725	5,15	-	5,15
	Cr	357,820	3,46	-	3,46
	Cu	324,754	3,82	-	3,82
	Li	670,784	1,85	-	1,85
	Mg	383,829	3,23	-	3,23
Pb	363,957	3,40	-	3,40	
Sb	217,581	5,70	-	5,70	

$$\dagger E_{sum} = E_{excitação} + E_{ionização}$$

TABELA A5 - Propriedades físico-químicas de etanol e água (modificado de LECLERCQ *et al.*⁸⁵).

Solvente	Tensão superficial em 25 °C (mN m ⁻¹)	Viscosidade em 25 °C (mPas)	Densidade em 20 °C (g mL ⁻¹)	Volatilidade		Energia de dissociação em 25 °C (kJ mol ⁻¹)
				Temperatura de ebulição (°C)	Taxa de evaporação (µm ³ s ⁻¹)	
Etanol	21,97	1,074	0,7893	78,3	45,6	3472
Água	71,99	0,890	0,9982	100,0	13,1	860

TABELA A6- Elementos e valores de energia para as linhas de emissão selecionadas para análise de compostos orgânicos por MIP-OES.

	Elemento	λ (nm)	E _{exc} (eV)	E _{ion} (eV)	E _{sum} [†] (eV)
Linhas iônicas	Ca	396,847	3,12	6,11	9,23
	Fe	259,940	4,77	7,90	12,67
	Mg	279,553	4,43	7,65	12,08
Linhas atômicas	Al	396,152	3,13	-	3,13
	As	234,984	5,27	-	5,27
	Ca	422,673	2,93	-	2,93
	Cd	228,802	5,41	-	5,41
	Cu	324,754	3,82	-	3,82
	Hg	253,652	4,89	-	4,89
	Mg	285,213	4,34	-	4,34
	P	213,618	5,80	-	5,80
Pb	217,000	5,71	-	5,71	

$$^{\dagger}E_{\text{sum}} = E_{\text{exc}} + E_{\text{ion}}$$

TABELA A7 - Composição dos isotônicos e energéticos segundo os fabricantes.

Energético	Volume (mL)	Embalagem	Açúcares (g)	Açúcares (% m v ⁻¹)	Na (mg)	Conc. Na (mg L ⁻¹)	Cafeína (mg)	Conc. Cafeína (mg L ⁻¹)
Monster	473	Lata	58	12	370	782	160	338
Monster s/açúcar	473	Lata	6,0	1,3	370	782	140	296
Red Bull	355	Lata	41	12	150	423	114	321
Red Bull s/açúcar	355	Lata	3,0	0,85	150	423	114	321
Rockstar	473	Lata	63	13	70	148	160	338
Rockstar s/açúcar	473	Lata	1,0	0,21	240	507	160	338
Rowdy s/açúcar	473	Lata	2,0	0,42	50	106	160	338
Reign s/açúcar	473	Lata	3,0	0,63	220	465	300	634
Sunshine	355	Lata	15	4,2	45	127	70	197
5-hours s/açúcar	57	Plástico	1,8	3,2	15	263	200	3509

Isotônico	Volume (mL)	Embalagem	Açúcares (g)	Açúcares (% m v ⁻¹)	Na (mg)	Conc. Na (mg L ⁻¹)	K (mg)	Conc. K (mg L ⁻¹)
Gatorade	946	Plástico	58	6,1	440	465	120	127
Gatorade s/açúcar	828	Plástico	2,0	0,24	370	447	110	133
Powerade	828	Plástico	21	5,8	150	417	35	97

Powerade s/açúcar	828	Plástico	1,0	0,28	150	417	35	97
Body Armor	473	Plástico	28	5,9	40	85	700	1480
BioSteel s/açúcar	500	Tetra Pak®	1,0	0,20	230	460	231	462
