

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

“Desenvolvimento de métodos analíticos empregando a espectrometria de absorção atômica sequencial rápida com atomização em chama”

Kelber dos Anjos de Miranda*

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

Orientador: Prof. Dr. Edenir Rodrigues Pereira Filho

***bolsista FAPESP**

São Carlos - SP

Junho/2012

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

M672dm

Miranda, Kelber dos Anjos de.
Desenvolvimento de métodos analíticos empregando a
espectrometria de absorção atômica sequencial rápida com
atomização em chama / Kelber dos Anjos de Miranda. --
São Carlos : UFSCar, 2012.
69p.

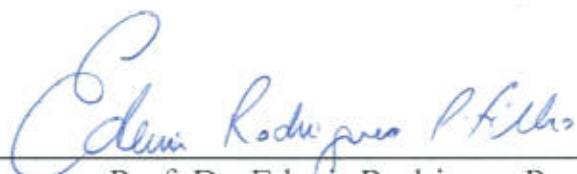
Tese (Doutorado) -- Universidade Federal de São Carlos,
2012.

1. Espectroscopia de absorção atômica. 2. FS-FAAS. 3.
TS-FF-AAS. 4. HGAAS. I. Título.

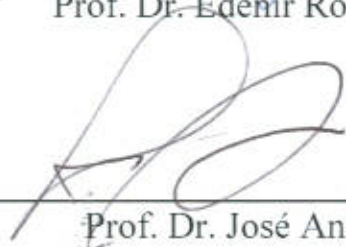
CDD: 543.0858 (20^a)

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

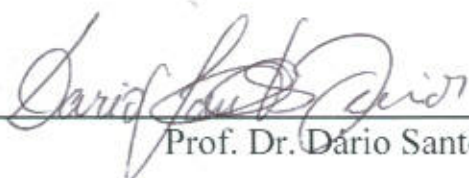
*Assinaturas dos membros da comissão examinadora que avaliou e aprovou a defesa de tese de doutorado do candidato **Kelber dos Anjos de Miranda**, realizada em 01 de junho de 2012:*



Prof. Dr. Edemir Rodrigues Pereira Filho



Prof. Dr. José Anchieta Gomes Neto



Prof. Dr. Dário Santos Júnior



Dra. Ana Rita de Araujo Nogueira



Prof. Dr. Joaquim de Araújo Nóbrega

Dedico esta tese ao meu orientador, Edenir Rodrigues Pereira Filho, pelo contínuo apoio e pelos exemplos de trabalho, dedicação, organização e honestidade.

AGRADECIMENTOS

Agradeço à minha esposa Eduana Moura pelo apoio e amor incondicionais.

Agradeço ao Prof. Edenir Rodrigues Pereira Filho pela seriedade e comprometimento com o desenvolvimento deste trabalho.

Agradeço à Universidade Federal de São Carlos, principalmente ao Departamento de Química pela infra-estrutura disponibilizada e às funcionárias da secretaria de Pós-Graduação.

Agradeço à Fundação de Amparo à Pesquisa do Estado de São Paulo (FAPESP, projeto: 2009/01447-3 e 2007/04515-4) pela concessão do apoio financeiro e aos órgãos de fomento CNPq e CAPES.

Agradeço a todos os amigos do Grupo de Análise Instrumental Aplicada que através das reuniões semanais de grupo sempre promoveram boas discussões científicas.

Agradeço ao Prof. Joaquim de Araújo Nóbrega pela orientação durante a ausência do Prof. Edenir e pelas sugestões durante a execução deste trabalho.

Agradeço à Prof.^a Ana Rita por permitir que parte deste projeto fosse realizado na EMBRAPA Pecuária Sudeste.

Agradeço ao Marcelo, Rodolfo, Amália e Rodrigo pelas discussões sobre química analítica e pelos trabalhos desenvolvidos em conjunto no laboratório.

Agradeço aos funcionários do CCDM pela ajuda nas análises no ICP OES e GFAAS.

Agradeço à Lucimar pelo apoio no desenvolvimento deste trabalho.

Agradeço ao Caio pela ajuda na moagem criogênica das amostras de chá.

LISTA DE TABELAS

| | | |
|------------|---|----|
| TABELA 1.1 | Elementos sugeridos para serem utilizados como padrões internos, comprimentos de onda e concentrações recomendadas | 6 |
| TABELA 1.2 | Comprimento de onda, concentração usada e equações de regressão linear obtidas para a determinação de Cu usando diferentes padrões internos e a técnica de calibração convencional (sem padrão interno) | 10 |
| TABELA 1.3 | Determinação direta de Cu em cinco amostras de aguardente com e sem padronização interna por FS-FAAS e por ICP OES após digestão ácida (n = 3) | 11 |
| TABELA 2.1 | Planejamento composto central 2^2 + estrela | 22 |
| TABELA 2.2 | Características analíticas para determinações de As e Sb por HGAAS multielementar | 26 |
| TABELA 2.3 | Concentrações de As e Sb certificadas e determinadas em dois CRMs | 27 |
| TABELA 2.4 | Valores de concentração de As e Sb determinados em 5 amostras de água mineral engarrafada. | 28 |
| TABELA 3.1 | Limites de detecção de 17 elementos medidos por TS-FF-AAS e por FAAS no mesmo instrumento | 35 |
| TABELA 3.2 | Parâmetros utilizados no espectrômetro de absorção atômica para determinações de Cd, Cu, Pb e Zn por TS-FF-AAS | 42 |
| TABELA 3.3 | Absorbância máxima e tempo necessário para que a linha de base retorne ao zero para Cd, Cu, Pb e Zn em relação a cada tubo de Ni | 52 |
| TABELA 3.4 | Características analíticas para determinações de Cd, Cu, Pb e Zn por TS-FF-AAS multielementar | 54 |
| TABELA 3.5 | Valores determinados e de referência ($\mu\text{g g}^{-1}$) em materiais de referência certificados | 55 |
| TABELA 3.6 | Determinações de Cd, Cu e Pb por TS-FF-AAS sequencial rápida em suspensões de cinco CRMs | 58 |
| TABELA 3.7 | Determinações de Cd, Cu e Pb por TS-FF-AAS sequencial | |

| | | |
|------------|--|----|
| | rápida em suspensões e digeridos de folhas de chá | 59 |
| TABELA 3.8 | Características analíticas para determinações de Cd, Cu e Pb | 60 |

LISTA DE FIGURAS

| | | |
|-------------|--|----|
| FIGURA 1.1 | Curvas de calibração de Cu com os coeficientes angulares (sem padrão interno) contendo 0, 15, 20, 25 e 30% (v/v) de etanol (EtOH) por FS-FAAS | 9 |
| FIGURA 2.1 | Esquema do sistema HGAAS para determinações multielementares | 16 |
| FIGURA 2.2 | Perfil dos sinais analíticos de As e Sb obtidos separadamente utilizando as condições otimizadas | 20 |
| FIGURA 2.3 | Avaliação do tempo de aquisição do sinal analítico | 21 |
| FIGURA 2.4a | Gráficos de contorno e equação para As | 23 |
| FIGURA 2.4b | Gráficos de contorno e equação para Sb | 23 |
| FIGURA 2.4c | Sobreposição dos gráficos de contorno para As e Sb | 24 |
| FIGURA 2.5a | Gráfico de probabilidade para o estudo realizado com interferentes para As | 25 |
| FIGURA 2.5b | Gráficos de probabilidade para o estudo realizado com interferentes para Sb | 25 |
| FIGURA 3.1 | Esquema do sistema TS-FF-AAS para determinações monoelementares | 44 |
| FIGURA 3.2 | Esquema do sistema TS-FF-AAS para determinações multielementares | 45 |
| FIGURA 3.3 | Esquema do sistema TS-FF-AAS para determinações multielementares em suspensões | 49 |
| FIGURA 3.4 | RSD obtido através de 10 medidas da solução multielementar de Cu 250 $\mu\text{g L}^{-1}$, Cd 10 $\mu\text{g L}^{-1}$, Pb 250 $\mu\text{g L}^{-1}$ e Zn 10 $\mu\text{g L}^{-1}$ usando tempos de integração de 1 a 5 s | 50 |
| FIGURA 3.5 | Perfis dos sinais de Cd 40 $\mu\text{g L}^{-1}$, Cu 1000 $\mu\text{g L}^{-1}$, Pb 1000 $\mu\text{g L}^{-1}$, Zn 20 $\mu\text{g L}^{-1}$ e branco (água desionizada) utilizando um tubo de Ni de 8 mm d.i. com 10 orifícios. | 51 |

RESUMO

DESENVOLVIMENTO DE MÉTODOS ANALÍTICOS EMPREGANDO A ESPECTROMETRIA DE ABSORÇÃO ATÔMICA SEQUENCIAL RÁPIDA COM ATOMIZAÇÃO EM CHAMA

Autor: Kelber dos Anjos de Miranda

Orientador: Prof. Dr. Edenír Rodrigues Pereira Filho

Esta tese de doutorado teve como objetivo o desenvolvimento de métodos analíticos empregando a espectrometria de absorção atômica sequencial rápida com atomização em chama (FS-FAAS). Na primeira parte do estudo, avaliou-se o uso da padronização interna em FS-FAAS através da determinação direta de Cu em amostras de aguardente de cana. Neste caso, Ag, Bi, Co e Ni foram avaliados como padrões internos para a correção do efeito de transporte causado pela presença de etanol na matriz. Os resultados demonstraram que Ag na concentração de 2 mg L^{-1} foi eficaz como padrão interno na determinação direta de Cu em amostras de aguardente por FS-FAAS. Na segunda parte do estudo, avaliou-se o potencial do acoplamento entre a geração de hidretos (HG) e a FS-FAAS para a determinação sequencial de As e Sb em amostras de água mineral. Os resultados revelaram que a HG no modo multielementar proporcionou um aumento considerável da frequência analítica, redução do consumo de reagentes e diminuição da geração de resíduos em relação à HG no modo monoelementar. Na última parte do estudo, avaliou-se o potencial da união da espectrometria de absorção atômica com forno tubular na chama e aerossol térmico (TS-FF-AAS) com a FS-FAAS para a determinação sequencial de Cd, Cu, Pb e Zn. Os resultados evidenciaram o aumento da frequência analítica proporcionada pela TS-FF-AAS no modo multielementar em relação ao modo monoelementar. Em seguida, amostras biológicas foram pré-digeridas e introduzidas na forma de suspensões no sistema TS-FF-AAS para a determinação sequencial de Cd, Cu, Pb e Zn.

ABSTRACT**DEVELOPMENT OF ANALYTICAL METHODS EMPLOYING FAST SEQUENTIAL
ATOMIC ABSORPTION SPECTROMETRY WITH FLAME ATOMIZATION**

Author: Kelber dos Anjos de Miranda

Adviser: Prof. Dr. Edenir Rodrigues Pereira Filho

The aim of this PhD thesis was to develop analytical methods employing fast sequential flame atomic absorption spectrometry (FS-FAAS). In the first part of this study, a fast and simple method is proposed for the determination of Cu in sugar cane spirits employing FS-FAAS and the internal standard technique. First, Ag, Bi, Co and Ni were evaluated as internal standards to correct transport interferences caused by the presence of ethanol. The results demonstrated that Ag at a concentration of 2 mg L^{-1} was effective as internal standard. In the second part of this study, a novel analytical method which consists of a combination of hydride generation and FS-FAAS is proposed. The method developed was employed for the sequential determination of As and Sb at sub- $\mu\text{g L}^{-1}$ levels in bottled mineral waters. An enhancement in the analytical throughput was obtained when compared with the traditional monoelement HGAAS with a quartz tube atomizer. In the last part of the study, the combination of thermospray flame furnace atomic absorption spectrometry (TS-FF-AAS) and FS-FAAS for the sequential determination of Cd, Cu, Pb and Zn was proposed and a significant improvement in the analytical throughput of TS-FF-AAS was obtained. Then, an analytical method for the sequential determination of Cd, Cu and Pb in slurries of biological samples by TS-FF-AAS was developed.

APRESENTAÇÃO

Esta tese de doutorado está dividida em 3 capítulos. No capítulo 1 um método simples e rápido é proposto para a determinação de Cu em amostras de aguardente empregando a espectrometria de absorção atômica sequencial rápida com atomização em chama (FS-FAAS). Para atingir esse propósito, Ag, Bi, Co e Ni foram avaliados como padrões internos para a correção do efeito de transporte causado pela presença de etanol na matriz. Em seguida, o método foi aplicado em amostras de aguardente e os resultados foram comparados com os obtidos por espectrometria de emissão óptica com plasma acoplado indutivamente (ICP OES) após digestão ácida por micro-ondas. No capítulo 2 avaliou-se o potencial do acoplamento entre a geração de hidretos (HG) e a FS-FAAS para a determinação sequencial de As e Sb em amostras de água mineral. Neste capítulo, as faixas lineares de calibração, a possibilidade de ocorrência de efeitos de memória, os efeitos da presença de possíveis elementos interferentes (Co, Cu, Fe, Mn, Ni e Zn) e os limites de detecção de As e Sb foram estabelecidos para o modo multielementar. No capítulo 3 desenvolveu-se a espectrometria de absorção atômica com forno tubular na chama e aerossol térmico (TS-FF-AAS) no modo multielementar para a determinação sequencial de Cd, Cu, Pb e Zn. As faixas lineares de calibração, a possibilidade de ocorrência de efeitos de memória, os efeitos da presença de elementos concomitantes (Ca, Fe, K, Mg, Mn e Na) e os limites de detecção de Cd, Cu, Pb e Zn foram estabelecidos para a TS-FF-AAS no modo multielementar. Em seguida, desenvolveu-se um procedimento analítico para homogeneizar suspensões de amostras biológicas e quantificar Cd, Cu, Pb e Zn utilizando o modo sequencial da TS-FF-AAS. Limites de detecção, precisão, faixas lineares e coeficientes de correlação foram determinados para o método proposto. Durante o desenvolvimento desta tese de doutorado foram submetidos manuscritos que culminaram nas publicações listadas a seguir:

- MIRANDA, K. & PEREIRA-FILHO. "Potentialities of thermospray flame furnace atomic absorption spectrometry (TS-FF-AAS) in the fast sequential determination of Cd, Cu, Pb and Zn". *Anal. Methods*, **1**, 215, 2009. doi: 10.1039/B9AY00140A.

- MIRANDA, K.; DIONÍSIO, A.G.G. & PEREIRA-FILHO, E.R. “Copper determination in sugar cane spirits by fast sequential flame atomic absorption spectrometry using internal standardization”. *Microchem. J.*, **96**, 99, 2010. doi: 10.1016/j.microc.2010.02.011.
- BUENO GUERRA, M.B.; CARAPELLI, R.; MIRANDA, K.; ARAUJO, A.R.A. & PEREIRA-FILHO, E.R. “Determination of As and Sb in mineral waters by fast sequential continuous flow hydride generation atomic absorption spectrometry”. *Anal. Methods*, **3**, 599, 2011. doi: 10.1039/C0AY00595A

SUMÁRIO

| | | |
|----------|--|-----------|
| | Capítulo 1 – Determinação de cobre em amostras de aguardente de cana por espectrometria de absorção atômica sequencial rápida com atomização em chama utilizando padronização interna | 1 |
| 1 | Introdução | 2 |
| 2 | Objetivos | 3 |
| 3 | Revisão bibliográfica | 3 |
| 3.1 | Espectrometria de Absorção Atômica (AAS) | 3 |
| 3.2 | Espectrometria de Absorção Atômica com Chama (FAAS) | 4 |
| 3.3 | Espectrometria de Absorção Atômica Sequencial Rápida com Atomização em Chama (FS-FAAS) | 5 |
| 3.4 | O uso da padronização interna em FS-FAAS | 5 |
| 4 | Parte experimental | 7 |
| 4.1 | Instrumentação | 7 |
| 4.2 | Reagentes, soluções e amostras | 7 |
| 4.3 | Determinação de Cu em amostras de aguardente após digestão total | 7 |
| 4.4 | Determinação direta de Cu em amostras de aguardente utilizando a FS-FAAS e padronização interna | 8 |
| 5 | Resultados e discussão | 8 |
| 5.1 | Influência do teor alcoólico sobre o sinal analítico do Cu | 8 |
| 5.2 | Avaliação de Ag, Bi, Co e Ni como padrões internos | 10 |
| 5.3 | Aplicação do método proposto | 11 |
| 5.4 | Características analíticas do método proposto | 12 |
| 6 | Conclusões | 12 |
| | Capítulo 2 – Determinação sequencial de As e Sb em amostras de água mineral por espectrometria de absorção atômica com geração de hidretos | 13 |
| 7 | Introdução | 14 |
| 8 | Objetivos | 15 |
| 9 | Parte experimental | 15 |
| 9.1 | Instrumentação | 15 |
| 9.2 | Sistema HGAAS para determinações multielementares | 16 |

| | | |
|-----------|--|-----------|
| 9.3 | Reagentes, soluções analíticas e amostras | 18 |
| 9.4 | Preparo das amostras e dos materiais de referência certificados | 18 |
| 10 | Resultados e discussão | 19 |
| 10.1 | Avaliação do tempo de atraso para aquisição do sinal analítico | 19 |
| 10.2 | Avaliação do tempo de aquisição do sinal analítico | 20 |
| 10.3 | Otimização das concentrações de HCl e NaBH ₄ utilizando planejamento composto central 2 ² + estrela | 21 |
| 10.4 | Estudo com interferentes | 24 |
| 10.5 | Características analíticas da HGAAS multielementar | 26 |
| 10.6 | Determinação de As e Sb em dois CRMs por HGAAS multielementar | 27 |
| 10.7 | Determinação de As e Sb em amostras de água mineral | 27 |
| 10.8 | Benefícios da HGAAS multielementar | 28 |
| 11 | Conclusões | 29 |
| | Capítulo 3 – Determinação sequencial de Cd, Cu, Pb e Zn em suspensões de amostras biológicas por espectrometria de absorção atômica com forno tubular na chama e aerossol térmico | 30 |
| 12 | Introdução | 31 |
| 13 | Objetivos | 32 |
| 14 | Revisão bibliográfica | 33 |
| 14.1 | Espectrometria de Absorção Atômica com Forno Tubular na Chama e Aerossol Térmico (TS-FF-AAS) | 33 |
| 15 | Parte experimental | 42 |
| 15.1 | Instrumentação | 42 |
| 15.2 | Reagentes, soluções analíticas e amostras | 43 |
| 15.3 | Avaliação do potencial da TS-FF-AAS para a determinação sequencial de Cd, Cu, Pb e Zn | 43 |
| 15.3.1 | Sistema TS-FF-AAS para determinações monoelementares | 43 |
| 15.3.2 | Sistema TS-FF-AAS para determinações multielementares | 44 |
| 15.3.3 | Avaliação dos tubos de Ni e tempo de atraso para aquisição do sinal analítico | 45 |
| 15.3.4 | Tempo de aquisição do sinal e comparação da TS-FF-AAS nos modos monoelementar e multielementar | 46 |

| | | |
|-----------|---|-----------|
| 15.3.5 | Preparo dos materiais de referência certificados | 47 |
| 15.4 | Desenvolvimento de procedimento analítico para homogeneizar suspensões de amostras biológicas seguido pela determinação multielementar de Cd, Cu e Pb por TS-FF-AAS | 47 |
| 15.4.1 | Moagem criogênica | 47 |
| 15.4.2 | Aprimoramento do procedimento de preparo das suspensões | 47 |
| 15.4.3 | Procedimento de digestão por micro-ondas | 48 |
| 15.4.4 | Montagem da TS-FF-AAS multielementar para determinações em suspensões | 48 |
| 16 | Resultados e discussão | 49 |
| 16.1 | Avaliação do potencial da TS-FF-AAS para a determinação sequencial de Cd, Cu, Pb e Zn | 49 |
| 16.1.1 | Avaliação do tempo de aquisição do sinal analítico | 49 |
| 16.1.2 | Avaliação dos tubos de Ni | 51 |
| 16.1.3 | Características analíticas da TS-FF-AAS no modo multielementar | 53 |
| 16.1.4 | Determinação de Cd, Cu, Pb e Zn em dois CRMs por TS-FF-AAS multielementar | 54 |
| 16.1.5 | Vantagens da TS-FF-AAS multielementar | 55 |
| 16.2 | Desenvolvimento de procedimento analítico para homogeneizar suspensões de amostras biológicas seguido pela determinação multielementar de Cd, Cu e Pb por TS-FF-AAS | 55 |
| 16.2.1 | Efeitos da mistura oxidante, temperatura e tempo de aquecimento sobre a homogenização das suspensões | 55 |
| 16.2.2 | Validação e aplicação do método proposto | 56 |
| 16.2.3 | Características analíticas do método proposto | 60 |
| 16.2.4 | Utilização de padronização interna em TS-FF-AAS multielementar | 61 |
| 17 | Conclusões | 61 |
| | Referências bibliográficas | 62 |

Capítulo 1

**Determinação de cobre em amostras de aguardente
de cana por espectrometria de absorção atômica
sequencial rápida com atomização em chama
utilizando padronização interna**

1 – Introdução

No Brasil cerca de 30.000 unidades industriais são responsáveis pela produção anual de aproximadamente 1,3 bilhões de litros de aguardente de cana.¹ Esta bebida alcoólica é produzida por destilação após a fermentação da cana de açúcar e como a maioria dos destiladores são construídos com chapas de cobre, este metal pode contaminar a aguardente de cana. Durante o processo de destilação um composto conhecido como azinhavre [$\text{CuCO}_3\text{Cu}(\text{OH})_2$] é formado na parede do recipiente podendo ser dissolvido pelos vapores alcoólicos.² Alguns procedimentos como o uso de carvão ativado e resinas de troca iônica foram utilizados para remover íons cuprosos da bebida destilada, mas infelizmente eles também removem outras substâncias que contribuem para o desejável aroma e sabor. A tentativa do uso de aço na fabricação dos alambiques resultou em queixas de baixa qualidade sensorial da aguardente de cana.³ Baixas concentrações de Cu são consideradas essenciais ao metabolismo, no entanto, doses mais elevadas podem causar a doença de Wilson e outros efeitos deletérios à saúde do homem.⁴ Por esta razão, o desenvolvimento de um método simples e rápido para a determinação de Cu em aguardente de cana é um parâmetro importante para sua liberação ao consumo. Por esse motivo, o Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento estabeleceu padrões de qualidade para a aguardente de cana através da fixação de normas técnicas.⁵ No que diz respeito à contaminantes inorgânicos, a concentração máxima permitida de Cu em aguardente brasileira é de 5 mg L^{-1} .

A espectrometria de absorção atômica com chama (FAAS, do inglês *Flame Atomic Absorption Spectrometry*) tem sido empregada para a determinação de Cu em bebidas alcoólicas utilizando a calibração por compatibilização de matriz.^{6,7} No entanto, devido ao fato que o teor alcoólico em aguardentes brasileiras pode variar na prática de 30 a 60% (v/v),⁸ a calibração por compatibilização de matriz se torna uma tarefa desgastante, visto que o grau alcoólico precisa ser determinado para cada amostra e as soluções padrão devem ser preparadas em uma mesma matriz. Alternativamente, a técnica de adição de analito é mais adequada que a calibração por compatibilização de matriz para determinar cobre em aguardente de cana por FAAS.⁹ Todavia, a técnica de adição de analito é trabalhosa e demorada. Neste contexto, foi desenvolvido um método rápido e simples para determinar Cu em aguardente de cana por espectrometria de absorção atômica

sequencial rápida com atomização em chama (FS-FAAS, do inglês *Fast Sequential Flame Atomic Absorption Spectrometry*) utilizando padronização interna.

2 – Objetivos

Este primeiro capítulo da tese de doutorado teve por objetivo realizar a determinação direta de Cu em amostras de aguardente de cana por FS-FAAS utilizando padronização interna.

3 – Revisão bibliográfica

3.1 – Espectrometria de Absorção Atômica (AAS)

A espectrometria de absorção atômica (AAS, do inglês *Atomic Absorption Spectrometry*) foi proposta pelo australiano Alan Walsh em 1955.¹⁰ O método era simples, consideravelmente livre de interferências, sensível, preciso e não exigia muitas habilidades específicas do analista se comparado com os principais procedimentos analíticos utilizados naquela época (gravimetria, volumetria, colorimetria, polarografia e espectrometria de emissão atômica). A determinação em níveis de mg L^{-1} ou mg kg^{-1} era uma tarefa difícil e somente alcançada por alguns procedimentos trabalhosos e com muitas etapas. Grande quantidade de amostra era necessária e os interferentes eram abundantes. Cada procedimento possuía seu próprio conjunto de problemas e o analista deveria estar capacitado para resolvê-los. As determinações através dessas técnicas consumiam muito tempo e a frequência de amostragem era reduzida.

A segunda maior contribuição de Alan Walsh foi o uso da modulação do feixe da lâmpada de catodo oco, eliminando a interferência provocada pela radiação emitida pela amostra no atomizador. Essas linhas de emissão envolviam as mesmas transições que as linhas de absorção e, sem a modulação, causariam grandes interferências provocando perda de sensibilidade para todos os elementos. Ele também utilizou uma chama alongada, diferentemente dos queimadores circulares usados em fotometria de chama. Este queimador aumentou significativamente a sensibilidade. Também merece destaque o seu importante trabalho no desenvolvimento das lâmpadas de catodo oco, as quais são as mais utilizadas até hoje como fonte de radiação em absorção atômica.¹¹ O primeiro equipamento de absorção atômica não contava com o corretor de sinal de fundo.

Em 1961, Boris V. L' Vov publicou, em inglês, o seu primeiro artigo utilizando um forno de grafite aquecido resistivamente como dispositivo atomizador para a AAS. Boris V. L' vov também estabeleceu as bases teóricas do atomizador de forno de grafite. Nesta época, os espectrômetros de absorção atômica com chama começavam a ser comercializados.¹²

A AAS é uma das mais importantes técnicas para a análise da composição elementar de amostras. O método se baseia na absorção de energia radiante por átomos neutros não excitados no estado gasoso. Durante a absorção, o átomo passa de um estado de menor energia para um estado de maior energia.¹³

3.2 – Espectrometria de Absorção Atômica com Chama (FAAS)

Para superar as dificuldades iniciais, a FAAS sofreu diversos avanços instrumentais, tornando os equipamentos mais robustos. A correção da radiação de fundo com fonte contínua e o uso de detectores com resposta rápida para o registro dos sinais transientes possibilitou melhor caracterização e distinção do sinal analítico em relação ao sinal de fundo. A FAAS é uma técnica simples, robusta, seletiva e capaz de distinguir diferentes elementos químicos em amostras complexas. Possui custos de aquisição e manutenção relativamente baixos, sendo uma das principais ferramentas utilizadas em laboratórios de análise de rotina.¹²

Na FAAS, a amostra líquida é introduzida no atomizador por meio de uma câmara de nebulização que converte o líquido em um aerossol. O aerossol é misturado com o gás comburente e oxidante antes de atingir o queimador. O nebulizador pneumático de tubo concêntrico é o tipo mais comum, no qual a amostra é aspirada através de um tubo capilar por um fluxo de alta pressão de um gás em torno do tubo. O gás em alta velocidade divide o líquido em gotas de vários tamanhos. As gotas se dispersam sendo selecionadas com o auxílio de um spoiler em que as maiores são impedidas de atingir o queimador, sendo eliminadas por meio de um dreno. As gotículas que atingem a chama evaporam e, o sólido que resta se vaporiza, liberando átomos no estado gasoso. A concentração desses átomos é determinada por absorção da radiação, diretamente relacionada com a quantidade de átomos presentes, conforme descrito pela lei de Lambert-Beer. Para isso, fontes especiais conjugadas com sistemas eficientes de seleção de comprimentos de onda permitem a determinação específica de elementos.¹⁴

3.3 – Espectrometria de Absorção Atômica Sequencial Rápida com Atomização em Chama (FS-FAAS)

A busca por determinações multielementares simultâneas utilizando a AAS teve início em 1965 com os trabalhos de BUTLER e STRASHEIM e somente após 50 anos vieram a ser realizadas de forma sequencial.¹² Uma atraente alternativa para a AAS é a determinação multielementar sequencial utilizando atomização em chama.¹⁵ O instrumento de FAAS convencional realiza determinações em série, ou seja, a concentração do primeiro elemento é medida em todas as amostras, a lâmpada e os parâmetros do instrumento são mudados e a determinação do próximo elemento é realizada. Para determinações de vários elementos, este processo é repetido muitas vezes até que a sequência analítica esteja completa. Num instrumento de FS-FAAS, a estequiometria da chama é ajustada através do controle automático programável da vazão de gás e as lâmpadas de cátodo são operadas simultaneamente e selecionadas por um espelho motorizado. Enquanto uma amostra é aspirada, o monocromador realiza uma varredura em todos os comprimentos de onda referentes aos analitos de interesse e, ao determiná-los em uma mesma aspiração, o tempo de análise é reduzido. A FS-FAAS é uma técnica multielementar sequencial que conserva as vantagens da FAAS, como por exemplo, a simplicidade de operação, sendo uma ferramenta utilizada para determinações de elementos na ordem de mg L^{-1} .

3.4 – O uso da padronização interna em FS-FAAS

Assim como a FAAS, a FS-FAAS está sujeita às mesmas fontes de erros como efeitos de matriz e problemas de transporte da amostra. Neste caso, a padronização interna pode ser adotada como uma estratégia simples e eficiente para minimizar interferências de transporte e alguns erros que são introduzidos durante o preparo da amostra, aprimorando a exatidão e a precisão analítica.¹⁶ Ao aplicar a padronização interna, uma quantidade conhecida de um elemento selecionado (padrão interno) é adicionado a todos os brancos, soluções de calibração e amostras. O sinal do padrão interno é registrado juntamente com os sinais dos analitos e um fator de correção é calculado através da razão entre os valores obtidos. Este fator de correção é aplicado aos sinais dos analitos. O elemento a ser utilizado como um padrão interno precisa apresentar algumas características: (1) não pode estar presente na amostra em uma concentração

detectável, (2) não deve interferir no sinal dos analitos, (3) deve estar livre de interferências e (4) deve ser relativamente inerte a mudanças na estequiometria da chama. A concentração do padrão interno deve resultar em um nível de sinal tipicamente entre 0,1 e 0,4 de absorvância, pois fora desta faixa o erro espectrofotométrico aumenta exponencialmente.¹⁶

O método da padronização interna já foi utilizado por alguns autores em determinações multielementares por FS-FAAS. Em 2004, PROJAHN *et al.*¹⁶ avaliaram o uso da padronização interna utilizando um espectrômetro de absorção atômica sequencial rápido com atomização em chama. A Tabela 1.1 mostra alguns elementos sugeridos pelos autores para serem utilizados como padrões internos.

TABELA 1.1 – Elementos sugeridos para serem utilizados como padrões internos, comprimentos de onda e concentrações recomendadas.¹⁶

| Padrões internos | λ (nm) | Conc. recomendada (mg L ⁻¹) | Comentário |
|---|----------------|---|-----------------------------|
| Sugestões para chama ar/acetileno | | | |
| Ag | 328,1 | 1-2 | Soluções livres de cloretos |
| Bi | 223,1 | 10 | |
| Cd | 228,8 | 0,5-1 | |
| Ga | 294,4 | 20-50 | |
| In | 303,9 | 10-20 | |
| Te | 214,3 | 10 | |
| Sugestões para chama N ₂ O/acetileno | | | |
| Ca | 422,7 | 1 | Adicionar CsCl |
| Ge | 265,1 | 20-50 | |
| Ga | 294,4 | 20-50 | |
| In | 303,9 | 10-20 | |
| Mn | 279,5 | 2-5 | |
| Se | 196,0 | 20-50 | |
| Sr | 460,7 | 2 | Adicionar CsCl |

Em 2008, FERREIRA *et al.*¹⁷ aplicaram a padronização interna na determinação sequencial de Fe e Mn em amostras de vinho sem tratamento prévio por FS-FAAS onde se testou a eficiência da Ag, Co, In e Ni como padrões internos

na correção de efeitos da matriz. Os resultados demonstraram que Co e In em concentrações de 2 e 10 mg L⁻¹ foram eficientes para a quantificação de Mn e Fe, respectivamente. Nestas condições, os limites de detecção obtidos foram de 27 e 40 µg L⁻¹ para Mn e Fe, respectivamente.

4 – Parte experimental

4.1 – Instrumentação

Os experimentos com FS-FAAS foram realizados em um espectrômetro de absorção atômica sequencial rápido com atomização em chama (AA240FS; Varian, Mulgrave, Austrália) e correção da radiação de fundo feita por lâmpada de deutério. Lâmpadas de cátodo oco de Ag, Bi, Co, Cu e Ni foram utilizadas como fontes de radiação primária e operadas com correntes elétricas de 4, 10, 7, 4 e 4 mA, respectivamente. A chama ar/acetileno (13,5 L min⁻¹/2,0 L min⁻¹) foi utilizada em todos os experimentos. Cobre, Ag, Bi, Co e Ni foram determinados em 324,8, 328,1, 223,1, 240,7 e 232,0 nm, respectivamente.

4.2 – Reagentes, soluções e amostras

Água desionizada por sistema Milli-Q® (Millipore, Bedford, MA, EUA) foi utilizada para preparar todas as soluções. Toda a vidraria e frascos plásticos utilizados foram lavados com água corrente e detergente neutro, enxaguado com água destilada e deixados em banho ácido (HNO₃ 10% v/v) por 24 h. Depois de retirado do banho ácido, o material foi enxaguado com água desionizada e deixado em capela de fluxo laminar para secagem. As soluções de referência foram preparadas diariamente após diluição adequada das soluções estoque de 1000 mg L⁻¹ de Ag, Bi, Co, Cu e Ni (Tec-Lab, Hexis, São Paulo, Brasil). Amostras de aguardente de cana foram adquiridas no mercado local em São Carlos, Estado de São Paulo, Brasil.

4.3 – Determinação de Cu em amostras de aguardente após digestão total

Um forno de micro-ondas equipado com frascos de PFA (do inglês, *Perfluoroalcoxy*) modelo Ethos (Milestone, Sorisole, Itália) foi utilizado para digerir as amostras de aguardente. Uma alíquota de 1 mL de aguardente foi digerida com 1

mL de HNO_3 14 mol L^{-1} e 6 mL de água desionizada em frasco fechado. Após a decomposição, as amostras digeridas foram transferidas para frascos graduados de polipropileno e diluídas para 10,0 mL com água desionizada. O programa de aquecimento do forno de micro-ondas foi realizado em duas etapas: (1) 2 min a 300 W, e (2) 5 min a 600 W. Todas as amostras foram digeridas em triplicata. A determinação de Cu foi realizada nas soluções diluídas por espectrometria de emissão óptica com plasma acoplado indutivamente (ICP OES, do inglês *Inductively Coupled Plasma Optical Emission Spectrometry*).

4.4 – Determinação direta de Cu em amostras de aguardente utilizando a FS-FAAS e padronização interna

No método proposto, 5 mL de aguardente e 400 μL de uma solução padrão contendo 50 mg L^{-1} de Ag, Co, Ni e 250 mg L^{-1} de Bi foram adicionados em um frasco de polipropileno de 15 mL. Em seguida, o volume foi ajustado para 10 mL com uma solução de ácido nítrico 1,0 mol L^{-1} para a determinação de Cu. Após diluição, a concentração final foi de 10 mg L^{-1} para Bi e 2 mg L^{-1} para Ag, Co e Ni. Soluções de referência contendo de 0,10 a 4,0 mg L^{-1} de Cu foram utilizadas para calibração. Os padrões internos (Ag, Bi, Co e Ni) foram adicionados a todos os brancos, soluções de referência e amostras. Cobre foi determinado no comprimento de onda mais sensível (324,8 nm).

5 – Resultados e discussão

5.1 – Influência do teor alcoólico sobre o sinal analítico do Cu

De acordo com LABANCA *et al.*,⁸ as aguardentes brasileiras podem apresentar teores alcoólicos entre 30 e 60% (v/v). No método proposto, a amostra de aguardente sofre diluição de 1/1 (v/v) com ácido nítrico 1,0 mol L^{-1} e, após diluição, o teor alcoólico pode variar de 15 a 30%. Neste contexto, avaliou-se a influência do teor alcoólico sobre o sinal analítico do Cu comparando-se as inclinações (coeficiente angular) das curvas analíticas obtidas a partir de soluções de referência contendo de 0,10 a 4,0 mg L^{-1} de Cu na presença de 0, 15, 20, 25 e 30% (v/v) de etanol. Pode-se observar na Figura 1.1 que a inclinação da curva analítica diminuiu de 0,1459 até 0,1060 com o aumento do teor alcoólico. Durante os experimentos observou-se a existência de efeito de transporte da amostra: a taxa de aspiração do

nebulizador diminuiu com o aumento do teor alcoólico (0 a 30%). Para sistemas de introdução de amostra que utilizam câmaras de nebulização, a eficiência do transporte da amostra é altamente dependente da viscosidade e da tensão superficial. De acordo com ROCHA e NÓBREGA¹⁸ a viscosidade máxima de uma solução água-etanol é alcançada para 50% (v/v), o que explica o efeito observado na Figura 1.1. Deve se salientar que o aumento da viscosidade reduz a taxa de aspiração, e conseqüentemente a absorbância. A tensão superficial diminui com o aumento da concentração de etanol, facilitando o processo de nebulização. Contudo este efeito não pode ser utilizado para explicar os resultados obtidos porque a mudança do sinal analítico devido o aumento da viscosidade foi o efeito mais pronunciado. Estes resultados confirmam que se desejarmos determinar Cu em amostras de aguardente com teores alcoólicos diversos empregando calibração por compatibilização de matriz, teríamos que determinar o teor alcoólico de cada amostra e preparar a curva de calibração com a mesma concentração alcoólica. Tal procedimento seria trabalhoso.

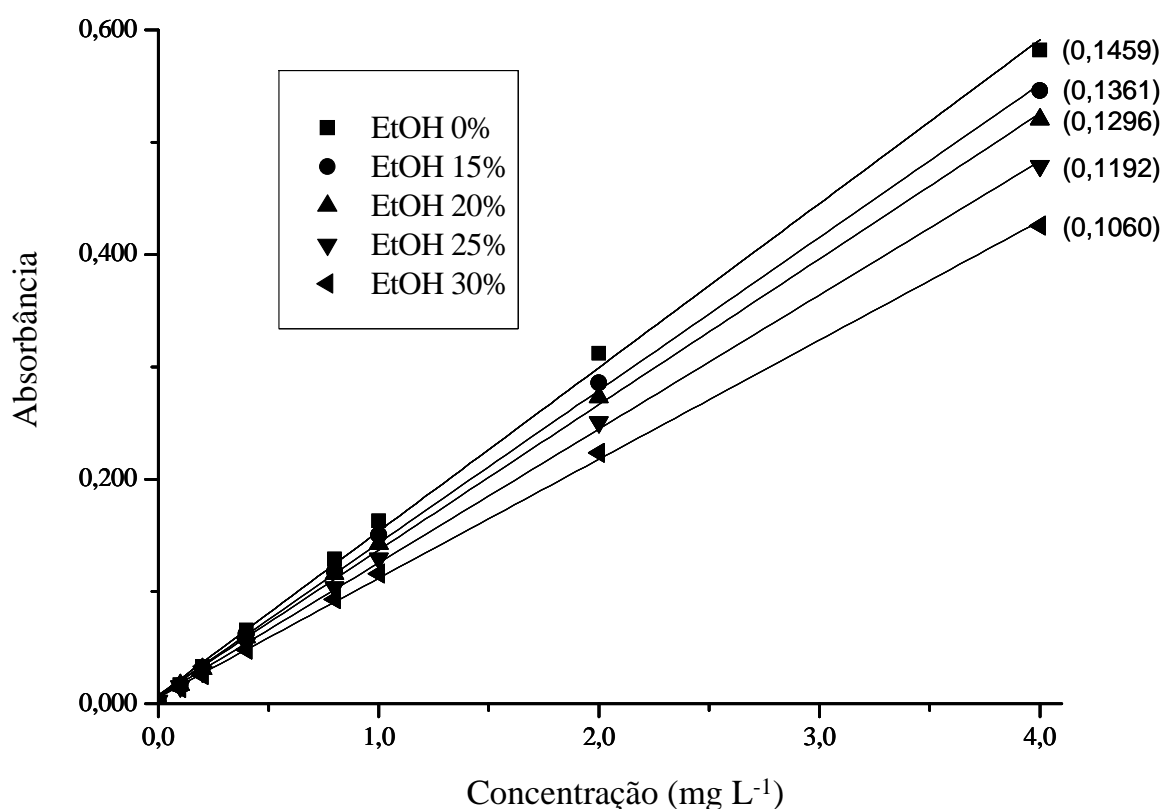


FIGURA 1.1 – Curvas de calibração de Cu com os coeficientes angulares (sem padrão interno) contendo 0, 15, 20, 25 e 30% (v/v) de etanol (EtOH) obtidas por FS-FAAS.

5.2 – Avaliação de Ag, Bi, Co e Ni como padrões internos

Prata, Bi, Co e Ni foram testados como padrões internos. Curvas analíticas foram estabelecidas adicionando-se concentrações crescentes de Cu (0,10 - 4,0 mg L⁻¹) em uma amostra de aguardente. A amostra de aguardente utilizada para tal avaliação não continha Ag, Bi, Co, Cu e Ni em concentrações detectáveis pelo equipamento. Todos os resultados podem ser observados na Tabela 1.2. Os sinais analíticos obtidos foram corrigidos empregando-se os quatro padrões internos (Ag, Bi, Co, e Ni). Informações mais detalhadas sobre a técnica de padronização interna podem ser encontradas em FERREIRA *et al.*¹⁷

TABELA 1.2 – Comprimento de onda, concentração usada e equações de regressão linear obtidas para a determinação de Cu usando diferentes padrões internos e a técnica de calibração convencional (sem padrão interno).

| Padrão interno (PI) | Comprimento de onda (nm) | Concentração final do PI (mg L ⁻¹) | Equação de regressão linear (Cu) |
|---|--------------------------|--|---|
| Ag | 328,1 | 2,0 | $A = 0,1461C_{Cu} + 0,0041$ (R = 0,9997) |
| Bi | 223,1 | 10,0 | $A = 0,1454C_{Cu} + 0,0060$ (R = 0,9996) |
| Co | 240,7 | 2,0 | $A = 0,1439C_{Cu} + 0,0051$ (R = 0,9997) |
| Ni | 232,0 | 2,0 | $A = 0,1449C_{Cu} + 0,0042$ (R = 0,9997) |
| Resultado obtido utilizando calibração convencional com padrões aquosos | | | $A = 0,1460C_{Cu} + 0,0053$ (R = 0,9996) |

R: coeficiente de correlação.

A inclinação da curva analítica obtida (n = 3) com a técnica de calibração convencional (sem usar padrão interno e na ausência de etanol) para cobre (0,1460 ± 0,0011)C_{Cu(mg/L)} foi comparada com as inclinações (± desvio padrão, n = 3) das curvas analíticas obtidas com a técnica de padronização interna utilizando Ag, Bi, Co e Ni (0,1461 ± 0,0012, 0,1454 ± 0,0010, 0,1439 ± 0,0010 e 0,1449 ± 0,0013, respectivamente)C_{Cu(mg/L)} como padrões internos. Um teste *t* pareado (n = 3)

mostrou a inexistência de diferenças entre as inclinações das retas a um nível de confiança de 95%. Os resultados demonstraram que Ag, Bi, Co e Ni foram eficientes para corrigir efeitos de transportes de matriz observados durante a determinação de Cu na amostra de aguardente utilizada por FS-FAAS.

5.3 – Aplicação do método proposto

Cobre foi determinado em cinco amostras de aguardente adquiridas no mercado local utilizando Ag, Bi, Co e Ni como padrões internos. A concentração de Cu variou de 0,66 a 6,64 mg L⁻¹. Tais resultados foram comparados com os obtidos por ICP OES após digestão ácida das amostras em forno de micro-ondas com cavidade. Todos os resultados estão resumidos na Tabela 1.3.

TABELA 1.3 – Determinação direta de Cu em cinco amostras de aguardente com e sem padronização interna (PI) determinadas por FS-FAAS e por ICP OES após digestão ácida (n = 3).

| Amostra | Cu (mg L ⁻¹) por ICP OES | Cu (mg L ⁻¹) por FS-FAAS sem PI | Cu (mg L ⁻¹) por FS-FAAS com PI (Ag) | Cu (mg L ⁻¹) por FS-FAAS com PI (Bi) | Cu (mg L ⁻¹) por FS-FAAS com PI (Co) | Cu (mg L ⁻¹) por FS-FAAS com PI (Ni) |
|--------------|---|---|--|--|--|--|
| Aguardente 1 | 0,67 ± 0,02 | 0,53 ± 0,01 | 0,66 ± 0,01 | 0,65 ± 0,01 | 0,62 ± 0,01 | 0,60 ± 0,01 |
| Aguardente 2 | 4,17 ± 0,08 | 3,61 ± 0,02 | 4,15 ± 0,06 | 4,12 ± 0,05 | 3,99 ± 0,06 | 4,10 ± 0,06 |
| Aguardente 3 | 1,24 ± 0,02 | 1,05 ± 0,02 | 1,25 ± 0,03 | 1,22 ± 0,03 | 1,16 ± 0,03 | 1,17 ± 0,02 |
| Aguardente 4 | 1,88 ± 0,07 | 1,56 ± 0,02 | 1,91 ± 0,01 | 1,95 ± 0,01 | 1,96 ± 0,01 | 1,93 ± 0,01 |
| Aguardente 5 | 6,70 ± 0,06 | 5,57 ± 0,04 | 6,64 ± 0,02 | 6,51 ± 0,04 | 6,36 ± 0,02 | 6,46 ± 0,02 |

PI: padrão interno

Os valores de concentração para Cu usando Ag como padrão interno são os mais próximos daqueles obtidos por ICP OES após digestão. Um teste *t* pareado comprovou esta observação e demonstrou não haver diferenças entre os resultados obtidos usando Ag como padrão interno e aqueles determinados por ICP OES após digestão ácida a um nível de confiança de 95%. Considerando os resultados obtidos por ICP OES (com amostras digeridas) os de referência, os resultados obtidos com o método proposto foram avaliados determinando-se os erros relativos (%) encontrados com e sem a aplicação da técnica de padronização interna. Os erros variaram de -13,4% a - 20,9% usando a técnica de calibração convencional (sem padrão interno), de - 1,9% a + 1,9% usando Ag como padrão

interno, de - 3,0% a +3,7% usando Bi como padrão interno, de - 7,7% a +4,1% usando Co como padrão interno e de - 11,3% a + 2,6% utilizando Ni como padrão interno. É importante salientar que quando se usou a técnica de calibração convencional, todos os resultados exibiram uma tendência negativa. Já com a utilização de padrão interno os desvios ficaram distribuídos aleatoriamente, exibindo valores negativos e positivos, especialmente quando se utilizou Ag como padrão interno.

5.4 – Características analíticas do método proposto

O método proposto foi capaz de determinar Cu em uma faixa linear de 0,10 a 4,0 mg L⁻¹ usando Ag como padrão interno. A curva de calibração obtida foi definida pela equação linear $A = 0,1461C_{Cu} + 0,0041$ (mg L⁻¹), com adequada linearidade ($r = 0,9997$). O limite de detecção e o limite de quantificação, definidos respectivamente como a concentração correspondente a 3 e 10 vezes o desvio padrão do branco do método dividido pela inclinação da curva de calibração, foram determinados através da análise de 10 réplicas do branco do método (solução contendo o padrão interno Ag em HNO₃ 1,0 mol L⁻¹). Os limites de detecção e quantificação para Cu utilizando o método proposto foram 15 e 51 µg L⁻¹, respectivamente. FERREIRA *et al.*¹⁹ obtiveram limite de quantificação de 11 µg L⁻¹ para a determinação de Cu em sucos de fruta utilizando FS-FAAS e In como padrão interno.

6 – Conclusões

A prata foi eficaz como padrão interno na determinação direta de Cu em amostras de cachaça por FS-FAAS, minimizando o efeito de transporte da matriz, aumentando a precisão e exatidão. O método proposto é rápido, simples, permite a obtenção de resultados semelhantes aos produzidos por ICP OES após digestão ácida em forno de micro-ondas e proporciona uma redução substancial do tempo total da análise.

Capítulo 2

**Determinação sequencial de As e Sb em
amostras de água mineral por espectrometria de
absorção atômica com geração de hidretos**

7 – Introdução

As espécies inorgânicas de As podem causar câncer e outros efeitos adversos tais como: danos na pele e desordens no sistema circulatório e sistema nervoso.²⁰ Em países como Bangladesh e Índia, altas concentrações de As são usualmente encontradas em águas potáveis afetando diretamente a saúde de milhões de pessoas. Nesses lugares, os níveis de As podem chegar a mais de 1000 $\mu\text{g L}^{-1}$, que é 100 vezes maior que o valor máximo permitido pela Organização Mundial de Saúde (WHO, do inglês *World Health Organization*) para água potável.²¹

O antimônio é considerado um contaminante emergente em água mineral engarrafada devido à sua utilização como catalisador na produção do tereftalato de polietileno (PET, do inglês *polyethylene terephthalate*).²² Vários estudos demonstraram a lixiviação de Sb a partir de garrafas de PET em água mineral, especialmente quando esses recipientes são expostos a temperaturas acima de 40 °C. Esses resultados são de interesse especial devido aos efeitos tóxicos deste elemento para o corpo humano.²³⁻²⁷ A exposição crônica à baixas concentrações de Sb pode causar atrofia do miocárdio enquanto que doses mais altas podem causar câncer de pulmão, fígado e rins.^{28,29} A WHO, a Agência de Proteção Ambiental dos EUA (USEPA, do inglês *United States Environmental Protection Agency*), a União Europeia, o Japão e o Brasil regulamentaram a concentração máxima permitida de Sb em água potável em 20, 6, 5, 2 e 5 $\mu\text{g L}^{-1}$, respectivamente.^{24,30}

As concentrações de As e Sb em amostras de água potável são usualmente baixas. Por isso, técnicas analíticas sensíveis como a espectrometria de massas com plasma acoplado indutivamente (ICP-MS, do inglês *Inductively Coupled Plasma Mass Spectrometry*), a espectrometria de absorção atômica com forno de grafite (GFAAS, do inglês *Graphite Furnace AAS*) ou a espectrometria de absorção atômica com geração de hidretos (HGAAS, do inglês *Hydride Generation AAS*) devem ser utilizadas para realizar determinações quantitativas confiáveis.

A HGAAS é uma técnica bem estabelecida que possui aplicações relevantes para determinações em sub- $\mu\text{g L}^{-1}$ de vários elementos formadores de hidretos, tais como As, Bi, Ge, Pb, Sb, Se, Sn e Te. As principais vantagens desta técnica são alta sensibilidade, seletividade proveniente da eliminação das interferências da matriz e baixo custo de implementação especialmente quando se utiliza um tubo atomizador de quartzo em chama.³¹ Apesar dessas vantagens, a

HGAAS é aplicada quase que exclusivamente para determinações monoelementares, aumentando consideravelmente o consumo de reagentes e o tempo de análise. Todavia, um atomizador eletrotérmico de grafite já foi utilizado como célula aprisionadora e atomizadora de hidretos para determinações multielementares simultâneas por AAS simultânea (SIMAAS, do inglês *simultaneous AAS*).³²⁻³⁴ A frequência analítica também pode ser aprimorada através de determinações sequenciais ou simultâneas com a introdução de espécies gasosas em uma fonte de excitação como um plasma acoplado indutivamente seguido da medida por espectrometria de emissão óptica³⁵⁻³⁷ ou por espectrometria de massas.³⁸⁻⁴⁰ Infelizmente, tais técnicas (“aprisionamento de hidretos” com SIMAAS, HG-ICP OES e HG-ICP-MS) demandam equipamentos e manutenção de alto custo. Felizmente, a frequência analítica da HGAAS pode ser aprimorada se conseguirmos combiná-la com a FS-FAAS para realizarmos determinações multielementares. Em 2005, NIEDZIELSKI⁴¹ propôs a determinação sequencial de espécies inorgânicas de As (As^{3+} e As^{5+}) e Se (Se^{4+} e Se^{6+}) usando uma hifenação entre a cromatografia líquida e a geração de hidretos com um tubo atomizador de quartzo aquecido eletrotermicamente, sendo este o único estudo publicado que combina a HGAAS com a FS-FAAS. Neste contexto, foi desenvolvido um método utilizando a HGAAS no modo multielementar para realizar determinações sequenciais As e Sb em amostras de água mineral.

8 – Objetivos

Este segundo capítulo da tese de doutorado teve por objetivo avaliar o potencial da HGAAS para a determinação sequencial de As e Sb em amostras de água mineral. No desenvolvimento do estudo, diversos parâmetros foram otimizados como a vazão do gás Ar, as concentrações de HCl e de NaBH_4 , bem como o tempo de atraso de leitura e de integração do sinal analítico.

9 – Parte experimental

9.1 – Instrumentação

Os experimentos com HGAAS foram realizados em um espectrômetro de absorção atômica sequencial rápido com atomização em chama (AA240FS; Varian, Mulgrave, Austrália) e correção de fundo feita por lâmpada de deutério. Lâmpadas de catodo oco de As e Sb foram utilizadas como fontes de radiação

primária e ambas operadas com correntes elétricas de 10 mA. A chama ar/acetileno ($13,5 \text{ L min}^{-1}/2,0 \text{ L min}^{-1}$) foi utilizada em todos os experimentos. Arsênio e Sb foram medidos em 193,7 e 217,6 nm, respectivamente.

9.2 – Sistema HGAAS para determinações multielementares

A representação esquemática do sistema HGAAS para determinações multielementares utilizando o modo de introdução contínua de amostra é apresentada na Figura 2.1.

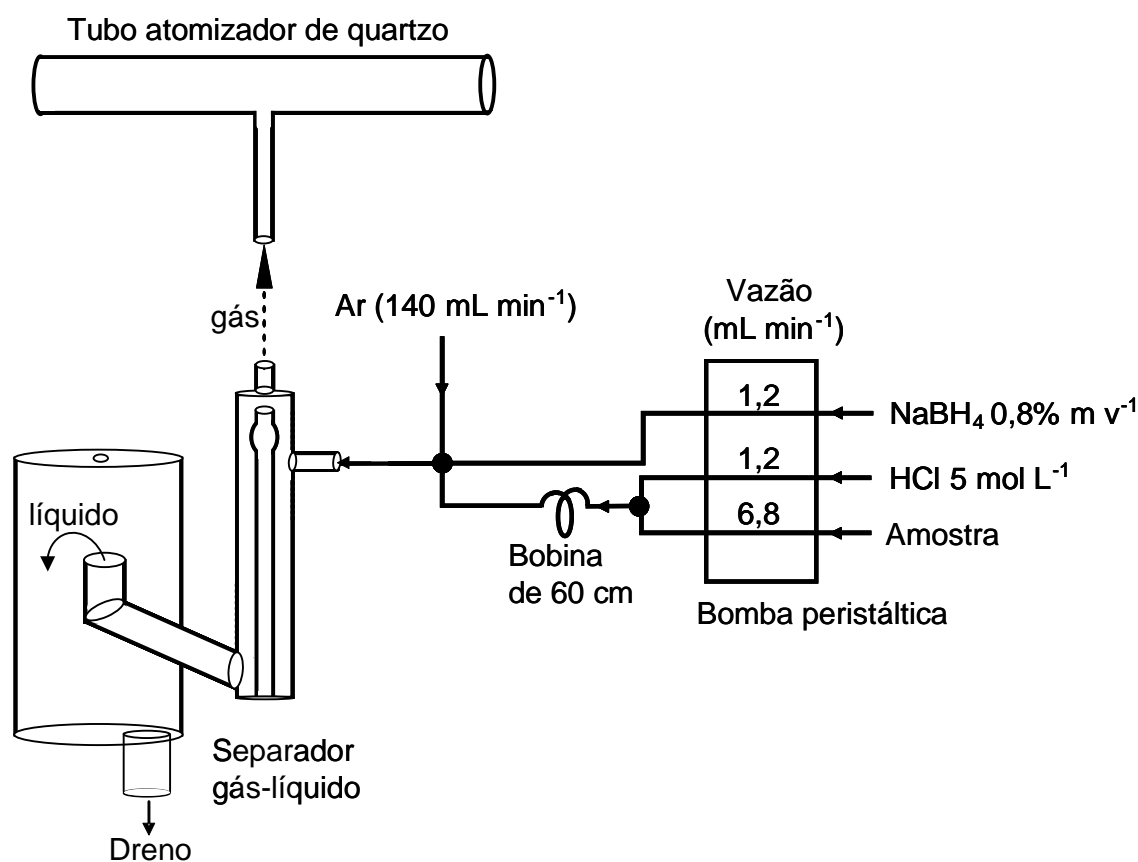
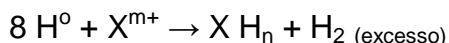
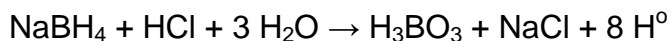


FIGURA 2.1 - Esquema do sistema HGAAS para determinações multielementares.

O processo de determinação multielementar de As e Sb por geração de hidretos pode ser dividido em três etapas: a geração dos hidretos através de reação química, o transporte dos mesmos para a célula de atomização e a atomização. Uma solução de NaBH_4 recém preparada em meio alcalino é utilizada para reduzir As^{3+} e Sb^{3+} a seus hidretos, sendo a redução efetivada de acordo com as seguintes reações:



onde m pode ser ou não igual a n e X é o analito de interesse (As ou Sb).

De acordo com o manual do acessório de geração de vapor (VGA-77, Varian, Austrália), as vazões que podem ser utilizadas são de 6 a 8 mL min⁻¹ para a amostra e de 0,8 a 1,2 mL min⁻¹ para ambos HCl e NaBH₄. Um reator tubular helicoidal de 75 cm de comprimento é utilizado no VGA-77. Durante o desenvolvimento deste estudo, observou-se que o ruído do sinal analítico e o volume morto poderiam ser minimizados utilizando-se tubos de Tygon[®] com menores diâmetros internos, maior velocidade da bomba peristáltica e bobina de reação mais curta (60 cm ao invés de 75 cm). No início do estudo, utilizou-se o acessório de geração de hidretos (VGA-77) que está disponível comercialmente. No entanto, este sistema não oferece controles da velocidade de rotação da bomba peristáltica e da vazão do gás Ar. A vantagem da própria construção de um sistema de geração de hidretos sobre o sistema comercial é que através do controle destes parâmetros é possível aprimorar os limites de detecção e a frequência analítica. Na montagem do sistema foram utilizados: uma bomba peristáltica com 8 canais (Ismatec, modelo MCP, Suíça) contendo 3 tubos de Tygon[®] de diâmetros internos (d.i.) de 0,48 mm (HCl, 1,2 mL min⁻¹), 0,48 mm (NaBH₄, 1,2 mL min⁻¹) e 1,25 mm (amostra, 6,8 mL min⁻¹) e uma bobina de reação de 60 cm de Teflon[®] (d.i. = 0,8 mm). Um separador gás/líquido e uma célula atomizadora de quartzo em forma de T também foram utilizados. A vazão do gás carreador (Ar, 140 mL min⁻¹) foi escolhida respeitando a condição de compromisso entre o ruído mínimo e a sensibilidade máxima. Um controlador de vazão (ASA, Sesto San Giovanni, Itália) foi utilizado para regular com precisão a vazão do gás Ar durante os experimentos. As determinações utilizando a HGAAS multielementar foram realizadas com o espectrômetro operando no modo sequencial rápido e a aquisição de dados foi realizada no modo “*integration*”. É importante ressaltar que o modo *integration* não corresponde à integração do sinal analítico (obtenção da área). Nesse modo de medida o sinal analítico é monitorado por um determinado período de tempo e a cada segundo são coletados 60 sinais de absorvância. O resultado mostrado para o operador é a média destes valores de absorvância.

9.3 – Reagentes, soluções analíticas e amostras

Reagentes de pureza analítica e água desionizada por sistema Milli-Q® (Millipore, Bedford, MA, EUA) foram utilizados para preparar as soluções. Toda a vidraria e frascos plásticos utilizados foram lavados com detergente neutro e água corrente, enxaguados com água destilada e deixados em banho ácido (HNO_3 10% v/v) por 24 h. Depois de retirado do banho ácido, o material foi enxaguado com água desionizada e deixado em capela de fluxo laminar (Veco, Campinas, SP, Brasil) para secagem. As soluções de referência de As e Sb (0,375 a 15 $\mu\text{g L}^{-1}$) foram preparadas por sucessivas diluições das soluções estoque de concentração 1000 mg L^{-1} (Teclab, Hexis, São Paulo, Brasil). Uma solução contendo KI 12% m v⁻¹ em água desionizada foi preparada antes de cada utilização. Tetrahidroborato de sódio foi preparado dissolvendo uma quantidade apropriada do mesmo em uma solução de NaOH 0,5% (m/v). Ácido clorídrico foi previamente purificado utilizando um sistema de sub-destilação (Marconi, Piracicaba, Brasil). Para estudar a influência de possíveis interferentes (Cu, Co, Ni, Fe, Mn e Zn), soluções estoque de 1000 mg L^{-1} foram utilizadas para preparar as soluções de trabalho. Amostras de água mineral em garrafas PET foram adquiridas em três estados do Brasil (Minas Gerais, Rio de Janeiro e São Paulo).

9.4 – Preparo das amostras e dos materiais de referência certificados

Dois materiais de referência certificados (CRM, do inglês *Certified Reference Material*) foram utilizados para estimar a exatidão do método proposto: trace elements in water (NIST 1643e) e trace metals in drinking water (HPS TMDW). No método proposto, 10 mL de amostra comercial, 1 mL de HCl 12 mol L^{-1} e 1 mL de KI 12% m v⁻¹ são pipetados em um frasco de polipropileno de 15 mL. Neste caso, a concentração final de HCl é de 1 mol L^{-1} e a de KI é de 1% m v⁻¹. Essas concentrações finais são as recomendadas pelo manual do usuário do VGA-77. A etapa de pré-redução foi realizada através do aquecimento dos frascos em um banho de água a 80 °C por 10 min. Nesta etapa é esperado que as espécies As e Sb que se encontram no estado de oxidação +5 sejam reduzidas para As^{3+} e Sb^{3+} . As amostras certificadas e as soluções de calibração foram preparadas utilizando o mesmo procedimento. As determinações de As e Sb nos CRMs foram realizadas após diluições adequadas à faixa linear de calibração (0,375 a 15 $\mu\text{g L}^{-1}$).

10 – Resultados e discussão

10.1 – Avaliação do tempo de atraso para aquisição do sinal analítico

Quando se usa o modo de introdução contínua de amostra, uma vez que o volume interno do tubo atomizador de quartzo é preenchido com os hidretos e alcança a condição estacionária, o valor de absorvância obtida é um sinal constante. Neste momento, As e Sb podem ser determinados pelo espectrômetro no modo sequencial rápido. Também é crucial que a linha de base para cada analito retorne a zero para evitar os efeitos de memória. Logo, o tempo de atraso para aquisição do sinal analítico deve ser otimizado. Para avaliar o desempenho da HGAAS para a determinação sequencial de As e Sb, preparou-se uma solução multielementar contendo $15 \mu\text{g L}^{-1}$ de As e $15 \mu\text{g L}^{-1}$ de Sb (solução de maior concentração da curva de calibração) e o perfil do sinal de cada analito foi obtido separadamente.

Para verificar a máxima absorvância alcançada pelo As, a solução foi introduzida continuamente e a absorvância obtida em 193,7 nm foi registrada durante 30 s. Para verificar a ocorrência de efeitos de memória, água desionizada foi introduzida imediatamente após e o perfil do sinal foi registrado novamente por mais 30 s. O mesmo procedimento foi repetido para o Sb (217,6 nm). A Figura 2.2 mostra o perfil dos sinais obtidos para As e Sb utilizando as condições otimizadas ($\text{HCl } 5 \text{ mol L}^{-1}$ e $\text{NaBH}_4 0,8\% \text{ m v}^{-1}$). Como pode ser visto na Figura 2.2, o tempo necessário para a estabilização do sinal para os elementos é cerca de 20 s e o tempo mínimo para evitar efeitos de memória é 15 s. Portanto, o tempo de atraso de leitura escolhido foi de 20 s.

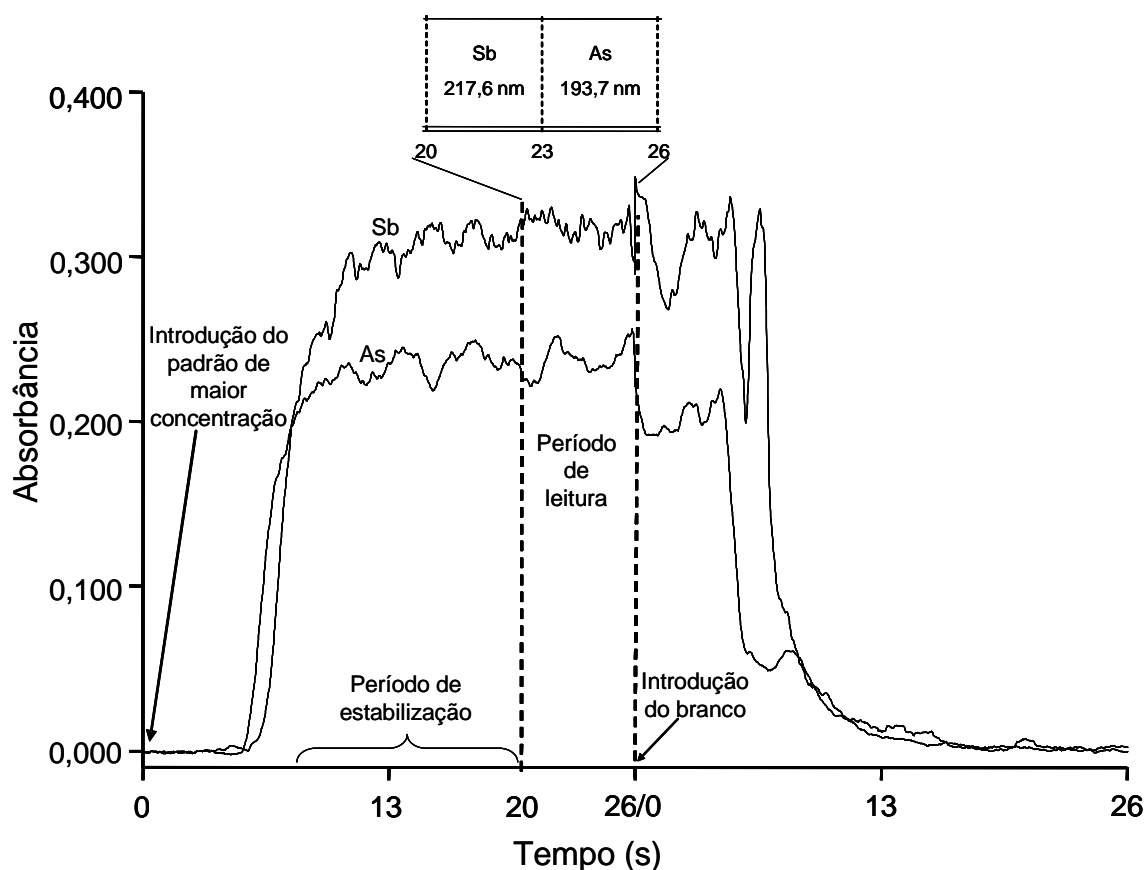


FIGURA 2.2 – Perfil dos sinais analíticos de As e Sb obtidos separadamente utilizando as condições otimizadas.

10.2 – Avaliação do tempo de aquisição do sinal analítico

Depois de selecionar o tempo de atraso de leitura, diferentes tempos de aquisição do sinal, de 0,5 a 4 s, foram avaliados através da determinação do desvio padrão relativo (RSD, do inglês *Relative Standard Deviation*) obtido para 10 medidas de um ponto intermediário da curva de calibração multielementar (As $5 \mu\text{g L}^{-1}$ e Sb $5 \mu\text{g L}^{-1}$).

Como pode ser visto na Figura 2.3, a precisão melhora com o aumento do tempo de aquisição. Adotando-se um tempo de aquisição de 3 s para cada elemento, o RSD obtido é normalmente tolerado em trabalhos práticos: 1,4% para As e 1,3% para Sb. Portanto, após 20 s de atraso para aquisição do sinal, As e Sb podem ser determinados em 6 s (3 s para cada elemento). É importante ressaltar que o valor da absorbância fornecida pelo programa do equipamento após cada segundo é na verdade uma média de 60 sinais (modo “*integration*”). Além disso, os valores de RSD obtidos por HGAAS com o método proposto são compatíveis com os

alcançados por FRESCHI *et al.*³³ (de 1,0 a 3,5% para As e Sb) quando o “aprisionamento de hidretos em atomizador” com SIMAAS foi utilizado.

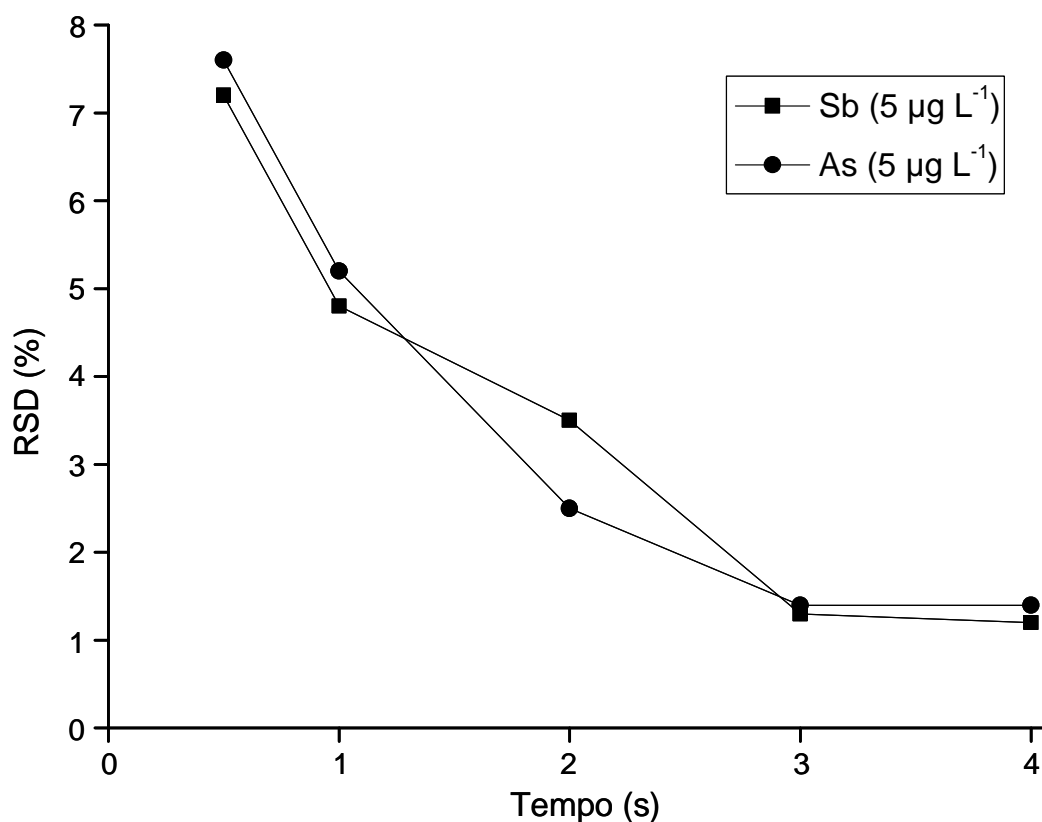


FIGURA 2.3 – Avaliação do tempo de aquisição do sinal analítico.

10.3 – Otimização das concentrações de HCl e NaBH₄ utilizando planejamento composto central 2² + estrela

Duas variáveis que poderiam afetar consideravelmente o sinal analítico foram identificadas: a concentração de NaBH₄ e a concentração de HCl. Estas variáveis foram avaliadas utilizando um planejamento composto central 2² + estrela. O planejamento completo pode ser visto na Tabela 2.1. Este tipo de planejamento^{42,43} permite o estudo das duas variáveis em cinco níveis normalizados diferentes (de $-\sqrt{2}$ a $\sqrt{2}$) utilizando somente 11 experimentos com 3 réplicas no ponto central (variáveis normalizadas em zero). Todos os ensaios foram efetuados em ordem aleatória para evitar erros sistemáticos. A concentração das variáveis variaram de 2 a 8 mol L⁻¹ para o HCl e de 0,4 a 0,8% (m/v) para o NaBH₄.

TABELA 2.1 – Planejamento composto central 2^2 + estrela.

| Experimento | HCl | | NaBH ₄ | | Absorbância | |
|-------------|--------------------------------|-------|--------------------------------|-------|-------------|-------|
| | Real (mol L ⁻¹) | Norm. | Real (% m v ⁻¹) | Norm. | As | Sb |
| 1 | 3 | -1 | 0,5 | -1 | 0,128 | 0,203 |
| 2 | 7 | 1 | 0,5 | -1 | 0,144 | 0,199 |
| 3 | 3 | -1 | 0,7 | 1 | 0,143 | 0,205 |
| 4 | 7 | 1 | 0,7 | 1 | 0,151 | 0,208 |
| 5 | 2 | -√2 | 0,6 | 0 | 0,132 | 0,197 |
| 6 | 8 | √2 | 0,6 | 0 | 0,146 | 0,197 |
| 7 | 5 | 0 | 0,4 | -√2 | 0,128 | 0,208 |
| 8 | 5 | 0 | 0,8 | √2 | 0,153 | 0,209 |
| 9 | 5 | 0 | 0,6 | 0 | 0,145 | 0,205 |
| 10 | 5 | 0 | 0,6 | 0 | 0,141 | 0,204 |
| 11 | 5 | 0 | 0,6 | 0 | 0,141 | 0,205 |

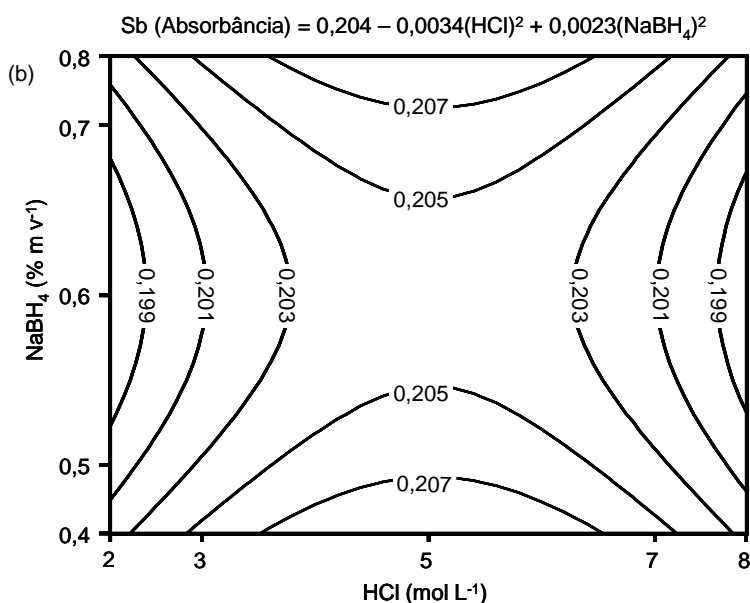
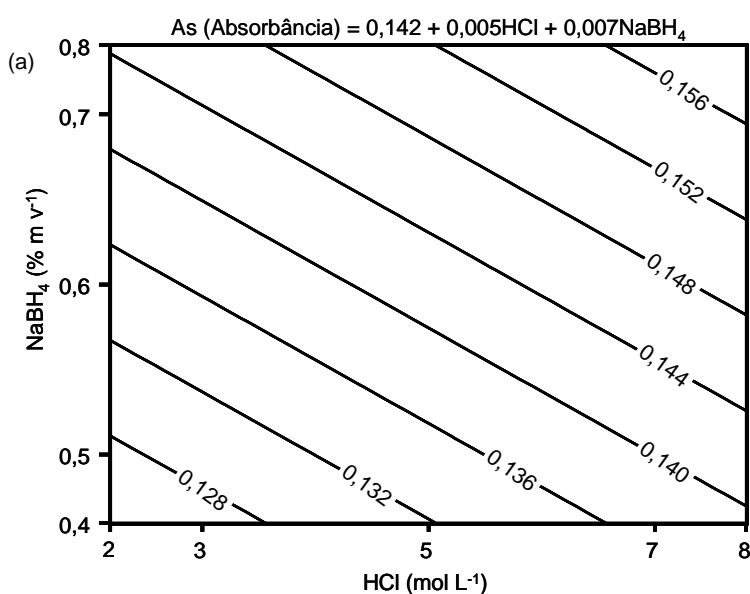
Uma solução multielementar contendo As e Sb ambos na concentração de 10 µg L⁻¹ foi utilizada em todos os experimentos. Para verificar a absorvância máxima alcançada por As e Sb, a solução padrão, o HCl e o NaBH₄ foram introduzidos conforme o sistema HGAAS mostrado na Figura 2.1 com o espectrômetro funcionando no modo sequencial rápido utilizando tempo de atraso de leitura de 20 s e tempo de aquisição de sinal de 3 s por elemento. A absorvância obtida para As e Sb em cada experimento pode ser vista na Tabela 2.1. Dois modelos empíricos (As e Sb) foram propostos e a análise da variância (ANOVA) foi calculada. Nenhum modelo apresentou falta de ajuste visto que as razões entre a média quadrática para a falta de ajuste (MSLoF, do inglês *Mean Square for Lack of Fit*) e a média quadrática para o erro puro (MSPE, do inglês *Mean Square for Pure Error*)^{42,43} são inferiores ao valor tabelado de F (19,16 com 95% de confiança). Estes dois parâmetros revelam informações sobre a qualidade dos modelos propostos. A MSLoF evidencia se o modelo proposto está bem ajustado aos valores experimentais. A MSPE indica o erro proveniente das réplicas realizadas no ponto central. Os dois parâmetros podem ser combinados e a média quadrática dos resíduos (MSr, do inglês *Mean Square for Residue*) pode ser usada para calcular os erros dos coeficientes dos modelos. Além disso, os coeficientes de correlação foram

maiores que 0,9 em ambos os casos. Os modelos empíricos (com os coeficientes válidos) obtidos para As e Sb foram:

$$\text{As (Absorbância)} = 0,142 + 0,005\text{HCl} + 0,007\text{NaBH}_4$$

$$\text{Sb (Absorbância)} = 0,204 - 0,0034(\text{HCl})^2 + 0,0023(\text{NaBH}_4)^2$$

A Figura 2.4 mostra o gráfico de contorno e as equações para o As (Figura 2.4a) e Sb (Figura 2.4b). Os maiores sinais analíticos para o As foram obtidos quando ambos HCl e NaBH₄ estavam nos maiores níveis. No caso do Sb, os maiores sinais analíticos foram obtidos quando a concentração de HCl era 5 mol L⁻¹ e de NaBH₄ era 0,4 ou 0,8% m v⁻¹.



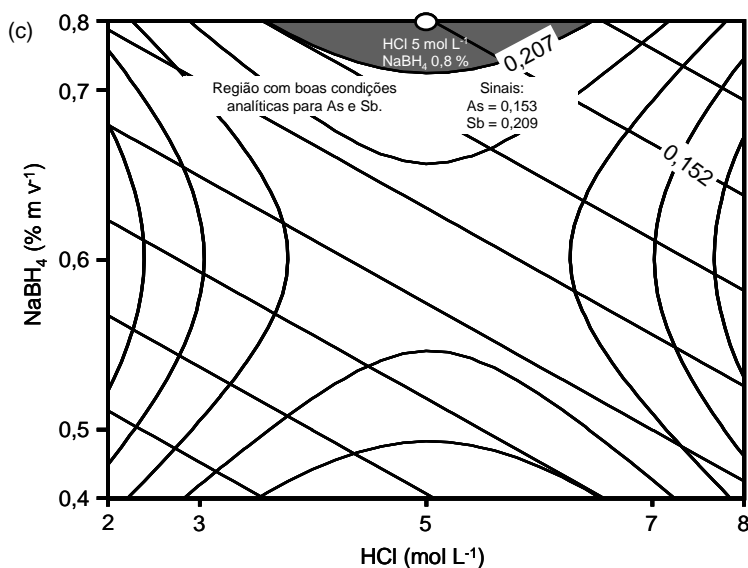


FIGURA 2.4 – Gráficos de contorno e equações para As (a) e Sb (b) e a sobreposição dos gráficos de contorno para As e Sb (c).

A Figura 2.4c mostra a sobreposição dos gráficos de As e Sb, sendo que a região em preto corresponde às melhores condições analíticas para ambos. Nesta região, as concentrações de HCl e NaBH₄ são 5 mol L⁻¹ e 0,8% m v⁻¹, respectivamente. Estas condições foram utilizadas nos experimentos que se seguem.

10.4 – Estudo com potenciais interferentes

Um planejamento fatorial fracionário 2⁶⁻² foi utilizado⁴² para investigar a influência dos metais de transição usualmente encontrados em águas minerais incluindo Co(II), Cu(II), Fe(III), Mn(II), Ni(II) e Zn(II) na determinação sequencial de As e Sb. Os níveis das concentrações dos potenciais interferentes foram baseados em vários artigos publicados²⁵⁻³⁰ que reportam as concentrações destes metais em águas minerais de 16 países. As concentrações de As e Sb foram fixadas em 10 µg L⁻¹ para todos os experimentos. As concentrações do maior nível (+1) para Co, Cu, Fe, Mn, Ni e Zn (interferentes) foram 15, 400, 150, 500, 450 e 300 µg L⁻¹, respectivamente, e as concentrações do menor nível (normalizadas em -1) para os interferentes foram zero. A Figura 2.5 mostra os gráficos de distribuição normal dos contrastes calculados para As (Figura 2.5a) e Sb (Figura 2.5b). Como foi efetuado um planejamento fracionário, os contrastes calculados correspondem à confusão entre efeitos primários e efeitos de terceira ordem. Nenhum problema considerável de interferência foi observado para As e Sb considerando que os contrastes

permaneceram em uma faixa que variou entre - 2,3 e 6,8% para As e entre -2,2 e 2,0% para Sb.

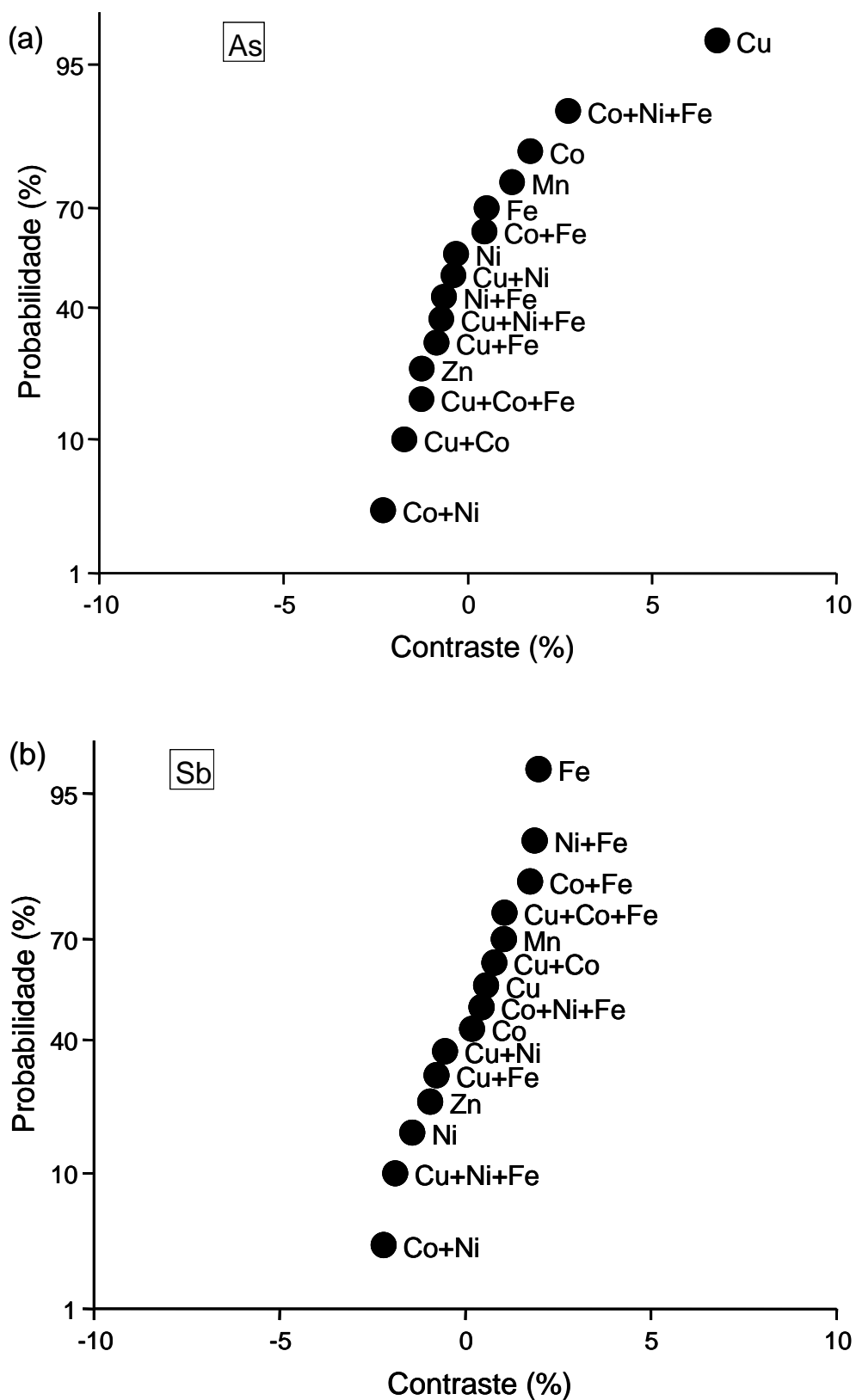


FIGURA 2.5 – Gráficos de distribuição normal dos contrastes calculados para As (a) e Sb (b).

10.5 – Características analíticas da HGAAS multielementar

Soluções multielementares contendo As e Sb ($0,375 - 15 \mu\text{g L}^{-1}$) foram preparadas e analisadas por HGAAS no modo multielementar sequencial utilizando as condições otimizadas: HCl 5 mol L^{-1} , NaBH_4 $0,8\% \text{ m v}^{-1}$, tempo de atraso de leitura de 20 s e tempo de aquisição do sinal de 3 s para cada elemento. Limites de detecção, repetibilidade, faixas lineares de calibração, equações de regressão, coeficientes de correlação e frequência analítica podem ser vistos na Tabela 2.2.

TABELA 2.2 – Características analíticas para determinações de As e Sb por HGAAS multielementar.

| Parâmetro | As | Sb |
|---|----------------------------|-------------------------|
| Equação de regressão | $y = 0,0164 x + 0,0056$ | $y = 0,0227 x + 0,0058$ |
| Coef. de correlação (r) | 0,993 | 0,996 |
| Faixa linear ($\mu\text{g L}^{-1}$) | 0,375 - 15 | 0,375 - 15 |
| ^a LOD ($\mu\text{g L}^{-1}$) | 0,15 | 0,14 |
| ^b Repetibilidade | 1,4% | 1,3% |
| Frequência analítica teórica máxima | 275 determinações por hora | |

^a LOD: 3σ branco/inclinação, $n = 10$.

^b RSD (%): As e Sb ambos com $5 \mu\text{g L}^{-1}$, $n = 10$.

O limite de detecção (LOD, do inglês *limit of detection*) é definido como a concentração correspondente a três vezes o desvio padrão de 10 medidas do branco dividido pela inclinação da curva analítica. A repetibilidade foi expressa pelo RSD obtido através de 10 determinações de um ponto intermediário da curva de calibração (As e Sb $5 \mu\text{g L}^{-1}$). Os limites de detecção obtidos para As e Sb foram $0,15$ e $0,14 \mu\text{g L}^{-1}$, respectivamente. Estes valores de LOD são melhores que os obtidos por MURPHY et al.³² utilizando um atomizador eletrotérmico de grafite como célula aprisionadora e atomizadora de hidretos para determinações multielementares por SIMAAS ($0,82$ e $0,26 \mu\text{g L}^{-1}$ para As e Sb, respectivamente). A “frequência analítica teórica máxima” foi calculada em 275 determinações por hora ignorando-se o tempo para trocar a amostra. Utilizando-se um amostrador automático resultaria

em uma frequência analítica de aproximadamente 100 determinações por hora, que ainda é um valor excelente para a HGAAS.

10.6 – Determinação de As e Sb em dois CRMs por HGAAS multielementar

A precisão da HGAAS multielementar foi avaliada através da determinação de As e Sb em dois CRMs após diluição adequada (mencionada na Parte experimental). As concentrações obtidas com o método proposto estão de acordo com as certificadas para ambos os CRMs. As recuperações se situaram entre 106 e 108% para As e entre 91 e 96 para Sb. Os resultados obtidos podem ser vistos na Tabela 2.3.

TABELA 2.3 – Concentrações de As e Sb certificadas e determinadas em dois CRMs.

| CRM | Elemento | Certificado ($\mu\text{g L}^{-1}$) | *HGAAS multielementar ($\mu\text{g L}^{-1}$) | Recuperação (%) |
|------------|----------|---|--|--------------------|
| Nist 1643e | As | 60,45 \pm 0,72 | 64 \pm 2 | 106 |
| TMDW-HPS | As | 80 | 86 \pm 4 | 108 |
| Nist 1643e | Sb | 58,30 \pm 0,61 | 53,2 \pm 0,8 | 91 |
| TMDW-HPS | Sb | 10 | 9,6 \pm 0,2 | 96 |

* média \pm desvio padrão, n=3.

10.7 – Determinação de As e Sb em amostras de água mineral

Arsênio e Sb foram determinados em 5 amostras de água mineral engarrada adquiridas em 3 estados do Brasil conforme o “Preparo das amostras e dos materiais de referência certificados” na Parte experimental. Soluções de referência contendo As e Sb ($0,375 - 15 \mu\text{g L}^{-1}$) foram utilizadas para a calibração. As concentrações nas 5 amostras de água mineral variaram de menos que 0,15 (LOD) a $3,96 \mu\text{g L}^{-1}$ para As e de menos que 0,14 (LOD) a $0,61 \mu\text{g L}^{-1}$ para Sb. Estes resultados, que podem ser vistos na Tabela 2.4, estão abaixo da concentração máxima permitida para As ($10 \mu\text{g L}^{-1}$) e Sb ($20 \mu\text{g L}^{-1}$) pelo WHO para água potável. GÜLER e ALPASLAN⁴⁴ analisaram 70 marcas de água mineral engarrafada da

Turquia e encontraram concentrações de As e Sb de 0,12 a 30,63 $\mu\text{g L}^{-1}$ e de 0,29 a 1,23 $\mu\text{g L}^{-1}$, respectivamente. Em outro estudo, FRENGSTAD *et al.*⁴⁵ determinaram As e Sb em 22 amostras de água mineral engarrafada da Noruega, Suécia, Finlândia e Islândia, sendo que as concentrações de As e Sb variaram de 0,02 a 1,72 $\mu\text{g L}^{-1}$ e de 0,008 a 0,739 $\mu\text{g L}^{-1}$, respectivamente.

Tabela 2.4 – Valores de concentração de As e Sb determinados em 5 amostras de água mineral engarrafada.

| Amostra | As ($\mu\text{g L}^{-1}$) | Sb ($\mu\text{g L}^{-1}$) |
|---------|-----------------------------|-----------------------------|
| A | 3,96 \pm 0,02 | 0,61 \pm 0,06 |
| B | < 0,15 (LOD) | 0,48 \pm 0,06 |
| C | < 0,15 (LOD) | <0,14 (LOD) |
| D | < 0,15 (LOD) | < 0,14 (LOD) |
| E | < 0,15 (LOD) | 0,39 \pm 0,04 |

10.8 – Benefícios da HGAAS multielementar

O método analítico proposto neste capítulo possui benefícios consideráveis em relação ao modo monoelementar como a capacidade de realizar determinações multielementares rápidas mantendo a mesma sensibilidade que a HGAAS monoelementar e de consumir menor volume de amostra. A introdução de amostra no modo contínuo, mais simples de manusear em trabalhos de rotina, deve ser utilizada para se obter a estabilização do sinal, permitindo determinações sequenciais. Infelizmente, existem algumas limitações relacionadas à geração simultânea de hidretos de possíveis analitos de interesse (tais como As, Bi, Ge, Pb, Sb, Se, Sn e Te) para determinações multielementares quantitativas porque os elementos a serem sequencialmente determinados devem se encontrar no estado de oxidação apropriado após a etapa de pré-redução. Lamentavelmente, isto é difícil de ser implementado simultaneamente para todos os elementos formadores de hidretos utilizando o mesmo pré-redutor devido ao comportamento intrínseco de cada elemento. Outro parâmetro que deve ser cuidadosamente avaliado na determinação multielementar por HGAAS é a influência de possíveis interferentes principalmente ao lidar com matrizes mais complexas. Portanto, ao usar o arranjo instrumental proposto com tempo de atraso de leitura de 20 s e 3 s de medida para

cada elemento, a análise de As e Sb pode ser realizada em menos de 30 s e apenas 3 mL de amostra são consumidos.

11 – Conclusões

A HGAAS multielementar permite uma redução substancial no tempo de análise em comparação com o modo monoelementar. Outra vantagem é a redução do consumo de amostra e reagentes e a diminuição da geração de resíduos. Enfim, este é o primeiro estudo a propor determinações multielementares por HGAAS com introdução de amostra em fluxo contínuo e atomização em tubo de quartzo na chama.

Capítulo 3

**Determinação sequencial de Cd, Cu, Pb e Zn em
suspensões de amostras biológicas por
espectrometria de absorção atômica com forno
tubular na chama e aerossol térmico**

12 – Introdução

A FAAS é uma ferramenta utilizada para a determinação de elementos na ordem de concentração de mg L^{-1} sendo a técnica de espectrometria atômica mais utilizada em laboratórios de rotina para a determinação de elementos traço devido à sua robustez, seletividade e baixo custo de execução quando comparado à ICP OES. No entanto, devido à baixa eficiência na geração do aerossol e do transporte da amostra, a FAAS experimenta uma desvantagem: poder de detecção relativamente baixo.⁴⁶

O desenvolvimento da espectrometria de absorção atômica com forno tubular na chama e aerossol térmico (TS-FF-AAS, do inglês *Thermospray Flame Furnace Atomic Absorption Spectrometry*) em 2000 foi uma tentativa bem sucedida para melhorar a sensibilidade da FAAS para 17 elementos (Ag, As, Au, Bi, Cd, Cu, Hg, In, K, Pb, Pd, Rb, Sb, Se, Te, Tl e Zn), aumentando a eficiência da geração do aerossol e prolongando o tempo de residência dos analitos no volume de observação.^{46,47} Os limites de detecção obtidos para Cd, Cu, Pb e Zn foram 0,3, 4,2, 2,4 e 0,2 $\mu\text{g L}^{-1}$, respectivamente. No sistema TS-FF-AAS, simples e de baixo custo, um tubo de Ni é mantido acima de uma chama ar-acetileno e funciona como célula de atomização. A amostra pode ser introduzida na forma de solução ou suspensão diretamente no tubo atomizador através de um capilar cerâmico que é aquecido apenas pela chama do equipamento. Em estudos anteriores, a TS-FF-AAS foi empregada principalmente para determinações de Cd, Cu, Pb e Zn em amostras biológicas,⁴⁸⁻⁵¹ ambientais,^{52,53} de alimentos,⁵⁴⁻⁵⁹ e estudos com sinal de fundo.⁶⁰ Apesar destas vantagens, a TS-FF-AAS é um técnica monoelementar com baixa frequência de amostragem quando comparado à FAAS: ao utilizar 200 μL de amostra, leva-se cerca de 80 s para determinar cada elemento. No entanto, a frequência analítica da TS-FF-AAS pode ser melhorada se conseguirmos combiná-la com a FS-FAAS.

A determinação de metais, tais como Cd, Cu e Pb em materiais biológicos apresenta algumas dificuldades devido à complexidade da matriz e à baixa concentração dos analitos. Neste caso, métodos analíticos que requerem extensa manipulação da amostra para a destruição da matéria orgânica ou extração dos analitos devem ser evitados.⁶¹ A utilização da técnica de amostragem de suspensões provou ser uma alternativa útil para preparar amostras biológicas, reduzindo o consumo de produtos químicos destrutivos. O risco de contaminação da

amostra, as perdas de analitos voláteis em sistema aberto e o tempo total da análise também são minimizados em comparação com a digestão ácida.⁶²

A introdução de suspensões é normalmente utilizada em GFAAS devido ao melhor poder de detecção desta técnica em relação à FAAS. No entanto, alguns inconvenientes como alto sinal de fundo e atomização incompleta podem comprometer a precisão das análises. Além disso, a acumulação de resíduos de carbono no interior do tubo atomizador pirolítico pode diminuir a sua vida útil.⁶³ Uma alternativa interessante para a determinação de Cd, Cu, Pb e Zn em suspensões de materiais biológicos é o emprego da TS-FF-AAS pois esta técnica possui limites de detecção para esses elementos próximos à GFAAS. Esta proposta foi desenvolvida por PEREIRA-FILHO *et al.* em 2002 na qual Cd, Cu e Pb foram determinados em suspensões de materiais biológicos por TS-FF-AAS no modo monoelementar.⁴⁸ De acordo com os autores, a temperatura acima de 1000 °C no interior do forno tubular de Ni promoveu a decomposição da amostra e a atomização dos analitos. Um banho de ultrassom foi utilizado para preparar as suspensões (com HNO₃ e Triton X-100) e um tempo de cavitação de 15 min foi necessário para a homogeneização de 5 amostras. O método analítico desenvolvido pelos autores é muito elegante. No entanto, suas limitações principais são o tempo necessário para o preparo das suspensões (15 min para cada grupo de 5 amostras) e o tempo gasto para se realizar as medidas (96 s por determinação). Neste caso, uma melhora significativa da frequência analítica pode ser obtida se conseguirmos desenvolver um procedimento para homogeneizar suspensões de várias amostras simultaneamente seguido pela determinação sequencial de Cd, Cu e Pb utilizando a TS-FF-AAS no modo multielementar.

Em TS-FF-AAS, é crucial manter a homogeneidade da suspensão durante sua introdução no forno tubular para evitar a falta de repetibilidade e problemas de entupimento do capilar cerâmico. O detergente Triton X-100 pode ser adicionado para evitar que as partículas formem grandes agregados e um agitador magnético pode ser usado para impedir a sedimentação das partículas.

13 – Objetivos

Esta etapa da tese de doutorado teve como objetivos:

- Avaliar o potencial da TS-FF-AAS para a determinação sequencial de Cd, Cu, Pb e Zn em amostras biológicas;

- Desenvolver e avaliar um procedimento analítico para homogeneizar suspensões de amostras biológicas e quantificar com precisão Cd, Cu, Pb e Zn utilizando o modo sequencial da TS-FF-AAS. As suspensões devem possuir partículas inferiores a 100 μm para evitar problemas de repetibilidade ou entupimento do capilar cerâmico. Com o propósito de se obter um ganho expressivo na frequência analítica, o procedimento de homogeneização de suspensões deve permitir o processamento de várias amostras simultaneamente.

14 – Revisão bibliográfica

14.1 – Espectrometria de Absorção Atômica com Forno Tubular na Chama e Aerossol Térmico (TS-FF-AAS)

No sistema de introdução de amostras utilizado na FAAS (*via* nebulizador pneumático) apenas cerca de 5 a 10% da amostra alcança o queimador.⁶⁴ Em um nebulizador com aerossol térmico, o aerossol é produzido pela passagem de uma solução através de um capilar aquecido, favorecendo o transporte do analito. Observa-se o aumento da sensibilidade em comparação ao sistema pneumático de introdução de amostras da maioria dos espectrômetros de absorção atômica.⁶⁵ O aerossol térmico (TS) foi originalmente desenvolvido por VESTAL e FERGUSSON⁶⁶ em 1985 como uma interface entre a cromatografia líquida e a espectrometria de massa. Em espectrometria atômica, o aquecimento do capilar era feito eletricamente para manter a temperatura constante, e, desta forma, limitava o uso da técnica a poucos elementos.

O uso de aerossol térmico para introdução de amostras em tubo atomizador foi primeiramente proposto por GÁSPÁR e BERNDT⁴⁶ em 2000, dando origem à técnica TS-FF-AAS. Na TS-FF-AAS, um tubo de Ni é posicionado sobre a chama ar/acetileno do queimador de um espectrômetro de absorção atômica e este funciona como um atomizador. A amostra é introduzida no tubo através de um capilar cerâmico aquecido pela própria chama do equipamento. A ponta do capilar em contato com o tubo alcança uma temperatura de aproximadamente 900 °C. O transporte da amostra é efetuado por uma bomba peristáltica. Ao atingir a extremidade do capilar, a amostra é imediatamente vaporizada, sendo totalmente introduzida no volume de absorção. A técnica é efetiva para elementos relativamente

voláteis.^{46,47} No primeiro trabalho publicado foram avaliados o diâmetro do capilar cerâmico, volume da amostra, vazão da solução carreadora e composição do tubo atomizador. A completa introdução da amostra no tubo atomizador e o aumento do tempo de permanência da nuvem atômica no caminho óptico propiciaram limites de detecção bem inferiores quando comparados com a FAAS, sendo $0,19 \mu\text{g L}^{-1}$ para Cd, $1,3 \mu\text{g L}^{-1}$ para Cu, $21 \mu\text{g L}^{-1}$ para Hg, $13 \mu\text{g L}^{-1}$ para Pb e $5,2 \mu\text{g L}^{-1}$ para Tl (57, 14, 67, 31 e 17 vezes menores para Cd, Cu, Hg, Pb e Tl, respectivamente). Os autores previram que o aumento da sensibilidade poderia ser obtido para mais 12 elementos (Ag, As, Au, Bi, In, K, Pd, Rb, Sb, Se, Te e Zn).⁴⁶

Em 2002, PEREIRA-FILHO *et al.*⁴⁸ determinaram Cd, Cu e Pb em suspensões de amostras biológicas através da TS-FF-AAS aproveitando o ambiente oxidante acima de $1000 \text{ }^\circ\text{C}$ no interior do tubo atomizador quando se usa HNO_3 para promover simultaneamente a digestão das amostras e a atomização dos analitos. As amostras foram preparadas em HNO_3 e Triton X-100, homogeneizadas em banho de ultrassom e introduzidas na forma de suspensões. O volume de injeção foi de $300 \mu\text{L}$. Para a avaliação da exatidão através da aplicação do teste *t* não pareado, os autores efetuaram determinações em suspensões preparadas a partir de amostras de materiais certificados de referência (espinafre, fígado bovino, folhas de cítricos e folhas de tomateiro). Observou-se que os resultados obtidos não apresentaram diferenças significativas em relação aos valores certificados em um nível de confiança de 95%.

Em 2002, GÁSPÁR *et al.*⁶⁷ utilizaram um capilar de sílica fundida para a geração do aerossol térmico e um cilindro de gás com pressão de 1 MPa (10 bar) para transportar as amostras. O método se mostrou vantajoso para volumes de amostra inferiores a $10 \mu\text{L}$. Amostras com volume de $0,3 \mu\text{L}$ contendo $5 \mu\text{g mL}^{-1}$ de Pb foram analisadas e o limite de detecção encontrado neste caso foi de $69 \mu\text{g L}^{-1}$ (6,5 vezes menor que em FAAS). Resultados similares também foram obtidos para Cd, Hg, Tl e Zn.

Em 2003, outros parâmetros relacionados à TS-FF-AAS como composição, diâmetro e espessura do tubo atomizador, natureza do capilar cerâmico e vazão do carreador foram otimizados por DAVIES e BERNDT.⁴⁷ Melhor sensibilidade foi obtida utilizando-se tubo de Ni de 100 mm de comprimento, com d.i. de 10 mm, diâmetro externo (d.e.) de 12 mm e com 6 orifícios de 2 mm de diâmetro na parte inferior que permitiu a entrada parcial da chama de ar/acetileno. O capilar

de alumina não porosa de 100 mm de comprimento, com 0,5 mm d.i. e 2,0 mm d.e. apresentou melhor desempenho, assim como a vazão de 0,4 mL min⁻¹. Observou-se um aumento no poder de detecção de 3 a 100 vezes para 17 elementos (Ag, As, Au, Bi, Cd, Cu, Hg, In, K, Pb, Pd, Rb, Sb, Se, Te, Tl e Zn) comparado à FAAS (Tabela 3.1), sendo que os limites de detecção ficaram na faixa de 0,2 µg L⁻¹ (Zn) a 310 µg L⁻¹ (Se).

TABELA 3.1 - Limites de detecção de 17 elementos medidos por TS-FF-AAS e por FAAS convencional no mesmo instrumento.⁴⁷

| Elemento | Limite de detecção para TS-FF-AAS (µg L ⁻¹) | Limite de detecção para FAAS (µg L ⁻¹) | Ganho de sensibilidade em relação a FAAS |
|----------|---|--|--|
| Ag | 0,6 | 9 | 15 |
| As | 260 | 940 | 4 |
| Au | 14 | 74 | 5 |
| Bi | 16 | 250 | 16 |
| Cd | 0,3 | 34 | 113 |
| Cu | 4,2 | 14 | 3 |
| Hg | 68 | 1500 | 22 |
| In | 53 | 144 | 3 |
| K | 2,8 | 7 | 3 |
| Pb | 2,4 | 220 | 92 |
| Pd | 62 | 230 | 4 |
| Rb | 9 | 300 | 33 |
| Sb | 40 | 1600 | 40 |
| Se | 310 | 930 | 3 |
| Te | 18 | 290 | 16 |
| Tl | 3,8 | 120 | 32 |
| Zn | 0,2 | 9 | 45 |

Em 2004, TARLEY e ARRUDA⁶⁸ conseguiram aumentar a sensibilidade nas determinações de Cd em TS-FF-AAS utilizando a pré-concentração em linha. Inicialmente, Cd foi complexado com O,O-dietilditiofosfato de amônio (DDTP). O complexo formado foi adsorvido em uma espuma de poliuretano (PUF, do inglês *polyurethane foam*) e posteriormente eluído com etanol 80% (v/v).

Neste trabalho foram avaliados a massa de adsorvente, concentração do agente complexante, pH de formação do complexo, taxas de pré-concentração e eluição. Radiação micro-ondas foi utilizada para digerir as amostras e o limite de detecção atingido foi de $0,12 \mu\text{g L}^{-1}$ (216 vezes mais sensível em relação a FAAS). A faixa linear de trabalho foi de 0,4 a $15,0 \mu\text{g L}^{-1}$.

Com o objetivo de proporcionar maior sensibilidade nas determinações de Cd e Pb, IVANOVA *et al.*⁶⁹ desenvolveram um sistema de pré-concentração baseado em uma coluna de cromatografia líquida de C18 utilizando o agente quelante pirrolidinaditiocarbamato de amônio (APDC) e metanol 60% (v/v) como eluente. Foram utilizados 20 mL de amostra. Os limites de detecção obtidos foram $0,007 \mu\text{g L}^{-1}$ para Cd e $0,17 \mu\text{g L}^{-1}$ para Pb.

GONZÁLEZ *et al.*⁵² determinaram Cd, Pb e Zn em águas e sedimentos marinhos. Salmoura sintética foi utilizada como matriz para preparar as curvas de calibração. Os limites de detecção obtidos foram de 0,32, 2,6 e $0,21 \mu\text{g L}^{-1}$ para Cd, Pb e Zn, respectivamente.

Cobre e Zn foram determinados em amostras de suco de frutas e leite bovino sem qualquer pré-tratamento por NASCENTES *et al.*⁵⁷ em 2004. As amostras foram diluídas em água ou em solução de aminas terciárias solúveis em água (CFA-C, 20% v/v). Uma solução de H_2O_2 1% v/v foi injetada após cada medida para evitar o acúmulo de resíduos de açúcar e carbono na extremidade do capilar cerâmico. Os limites de detecção em soluções aquosas foram $2,2 \mu\text{g L}^{-1}$ para Cu e $0,9 \mu\text{g L}^{-1}$ para Zn.

PEREIRA *et al.*⁵⁶ determinaram Cd e Pb em amostras de água pré-concentrando os analitos por formação de um complexo com APDC com posterior adsorção do mesmo em 40 mg de uma mistura de fulerenos C_{60} e C_{70} . Os limites de detecção calculados para Cd e Pb foram, respectivamente 0,1 e $2,4 \mu\text{g L}^{-1}$ com desvios padrão relativos menores que 4,5% ($n = 10$). Resultados obtidos a partir da aplicação da GFAAS foram usados para confirmar a exatidão do método.

Em 2005, NASCENTES *et al.*⁵⁴ determinaram Cu, Mn, Pb e Zn em amostras de cerveja sem digestão prévia usando a TS-FF-AAS. As amostras foram degaseificadas em banho de ultra-som e diluídas com HNO_3 $0,14 \text{ mol L}^{-1}$. Utilizou-se o método da adição de padrão, pois a calibração em meio aquoso provocou erros negativos para todos os analitos. Para evitar efeitos de dispersão na interface entre

amostra e transportador, utilizou-se ar como transportador. Os limites de detecção obtidos foram 2,2, 18, 1,5 e 0,9 $\mu\text{g L}^{-1}$ para Cu, Mn, Pb e Zn, respectivamente.

LOBO *et al.*⁷⁰ utilizaram a TS-FF-AAS para determinar Sn em soluções analíticas como alternativa ao uso da chama de óxido nitroso-acetileno em FAAS. Esta proposta visava diminuir os efeitos de desgaste no espectrômetro causados pela alta temperatura da chama óxido nitroso-acetileno. O limite de detecção atingido foi de 1,7 mg L^{-1} .

TARLEY *et al.*⁷¹ utilizaram a TS-FF-AAS na determinação de Cu em amostras de águas. Cobre foi complexado com DDTP e posteriormente eluído com etanol 80% (v/v). Empregou-se planejamento fatorial para otimização do pH, vazão e concentração de DDTP. O limite de detecção calculado foi 0,22 $\mu\text{g L}^{-1}$.

BRANCALION e ARRUDA⁷² determinaram Cd em amostras de plantas medicinais por TS-FF-AAS após digestão assistida por radiação micro-ondas em minifrascos de polipropileno. Foram utilizados 5 mg de amostra e 400 μL de reagentes (HNO_3 concentrado e H_2O_2 30% (m/m)). O limite de detecção calculado foi de 0,9 $\mu\text{g L}^{-1}$. A exatidão do método foi confirmada com a determinação de Cd em amostras de referência certificadas de centeio e fígado bovino.

Ainda no ano de 2005, utilizando um fluxo de ar comprimido de baixa pressão (< 20 kPa) para o transporte da amostra, BERNDT e PULVERMACHER⁷³ determinaram Cd e Pb em amostras de pimenta. Os limites de detecção calculados foram 0,005 e 0,1 $\mu\text{g g}^{-1}$ para Cd e Pb, respectivamente. Também foram obtidos baixos limites de detecção para Hg e Tl.

Em 2006, DONATI *et al.*⁷⁴ aplicaram extração ácida e pré-concentração por extração em ponto nuvem para determinação de Co em materiais biológicos por TS-FF-AAS. Através da formação de compostos voláteis de Co contornou-se o problema relativo à baixa sensibilidade devido à alta temperatura de atomização deste elemento. Os autores estudaram os efeitos de interferência no sinal de Co pelos concomitantes Al, Cu, Fe, Mn e Zn, sendo que apenas para Al e Fe foi observada uma diminuição do sinal da ordem de 60 vezes. Esse problema foi solucionado usando-se HCl 1,0 mol L^{-1} na extração. A melhor sensibilidade foi obtida empregando-se APDC como complexante e Triton X-114 como surfactante, sendo obtido um limite de detecção de 2,1 $\mu\text{g L}^{-1}$. Esse procedimento permitiu um aumento de sensibilidade de aproximadamente 200 vezes na determinação de Co em relação à determinação deste metal por TS-FF-AAS sem a pré-concentração. A verificação

da exatidão do método foi realizada pela quantificação de Co em amostras de referência de fígado bovino e de folhas de tomateiro.

WU *et al.*⁵⁰ aplicaram a pré-concentração por extração em ponto nuvem utilizando Triton X-114 e APDC para determinação de Cd em amostras de água e urina. Os autores investigaram os efeitos da altura do queimador, velocidade da bomba peristáltica e vazão dos gases para obter melhor intensidade e estabilidade do sinal analítico. O limite de detecção alcançado foi de $0,04 \mu\text{g L}^{-1}$ para um volume de amostra de 10 mL. Os resultados encontrados para Cd em amostras de água e urina concordaram com os obtidos por ICP-MS.

PETRUCELLI *et al.*⁷⁵ caracterizaram vários tipos de tubos metálicos atomizadores utilizados em TS-FF-AAS antes e depois de serem usados nas determinações de Cd, Cu, Mn, Pb e Zn em soluções aquosas, amostras ambientais (lodo de esgoto) e alimentícias. Tubos de Ni (99%) e de Ti (99%) tiveram os melhores desempenhos, porém a formação de óxido de titânio (TiO_2) na superfície externa dos tubos de Ti acarretou em um curto tempo de vida dos mesmos (aproximadamente 5 h). Fluorescência de raios-X (XRF) e microscopia eletrônica de varredura (SEM) juntamente com as ferramentas quimiométricas análise de componentes principais (PCA) e PCA de imagens foram usadas na obtenção de informações sobre a morfologia da superfície. Tubos de Ni apresentaram resultados reprodutíveis mesmo após 88 h de uso e tubos de Ti propiciaram um aumento de sensibilidade para o elemento Cu de 2,5 vezes quando comparado ao tubo de Ni, com limite de detecção de $6,5 \mu\text{g L}^{-1}$.

TARLEY *et al.*⁷⁶ conseguiram aumentar a sensibilidade (640 vezes em relação à FAAS) para as determinações de Cd através do acoplamento de um sistema de pré-concentração em fluxo utilizando nanotubos de carbono e TS-FF-AAS. A pré-concentração de Cd foi feita em pH igual a 4,9 durante 2 min a uma vazão de 5 mL min^{-1} . Os limites de detecção e quantificação obtidos foram $11,4$ e $38,1 \text{ ng L}^{-1}$, respectivamente.

Utilizando uma mini-coluna contendo bagaço de uvas, MATOS e ARRUDA⁷⁷ empregaram a pré-concentração online para determinar Cd em materiais de referência certificados. A eluição dos íons metálicos foi feita com $\text{HCl } 1 \text{ mol L}^{-1}$. O limite de detecção alcançado foi $0,03 \mu\text{g L}^{-1}$. Os resultados obtidos concordaram com as concentrações certificadas a um nível de 95% de confiança.

Em 2007, AMORIM e BEZERRA⁴⁹ quantificaram Cd em níveis ultratraço em amostras de vegetais por TS-FF-AAS utilizando a complexação em fluxo em uma coluna de Amberlite XAD-2 impregnada com 2-(2-tiazolilazo)-5-dimetilaminofenol (TAM) e posterior eluição com HCl 1,0 mol L⁻¹. O limite de detecção obtido foi de 8,0 ng L⁻¹. O metal pôde ser determinado com adequada concordância em materiais certificados de referência de farinha de arroz, folhas de macieira e folhas de pomar.

PETRUCELLI *et al.*⁵³ determinaram Cd e Pb em amostras de lodo de esgoto associando modelos de calibração multivariada com TS-FF-AAS. As suspensões foram estabilizadas com Triton X-100 e homogeneizadas em banho de ultrassom. Limites de detecção de 0,2 e 0,7 µg kg⁻¹ foram obtidos para Cd e Pb, respectivamente, aplicando-se o método dos mínimos quadrados parciais (PLS) ao perfil total do pico obtido em 57 s de análise. Quatro estratégias de calibração foram avaliadas e as concentrações dos metais nas amostras de lodo de esgoto variaram de 1,87 a 6,26 mg kg⁻¹ para Cd e de 101 a 327 mg kg⁻¹ para Pb. A frequência analítica foi de 60 determinações h⁻¹. Esse procedimento pode ser expandido principalmente em casos onde possam existir pronunciados efeitos de interferência causados por concomitantes.

ROSINI *et al.*⁷⁸ avaliaram o comportamento do Se em TS-FF-AAS. Amostras biológicas foram digeridas com o emprego da radiação micro-ondas, e utilizou-se planejamento fatorial para otimização de algumas variáveis que poderiam interferir nos valores das absorvâncias. Na otimização foram selecionados os seguintes parâmetros: chama oxidante, água como transportador (vazão de 0,4 mL min⁻¹), altura do queimador de 1,5 cm acima da chama e volume de amostra introduzido no atomizador (tubo de Ni) de 600 µL. Após a confirmação de possíveis efeitos de interferência de concomitantes presentes em materiais biológicos, como Ca, K, Mg e Na, utilizou-se o método de adição de analito, obtendo-se um limite de detecção de 8,7 µg L⁻¹. Materiais de referência de rim suíno e de mexilhão foram utilizados para a avaliação da exatidão do método, sendo que os valores obtidos foram concordantes com aqueles certificados em um nível de confiança de 95%.

BRANCALION *et al.*⁷⁹ confirmaram que o efeito Lendeinfrost governa o processo de geração do aerossol, descrito por Gáspar e Berndt⁴⁷ em 2000, ao utilizar uma câmara de alta velocidade para obter imagens do aerossol térmico que

se forma dentro do tubo atomizador. Uma camada de vapor se forma entre o líquido e a parede quente do capilar e a gota evapora lentamente dentro do atomizador.

Em 2008, WU *et al.*⁸⁰ determinaram ultratraços de Ag em matrizes complexas utilizando procedimentos de extração em ponto nuvem e TS-FF-AAS. Inicialmente, o complexo Cu-DDTC foi formado a partir da reação de íons Cu^{2+} com DDTC (dietilditiocarbamato). Após a remoção da fase aquosa, uma solução contendo íons Ag^+ foi adicionada e o procedimento de extração em ponto nuvem foi realizado novamente. Como a estabilidade do complexo Ag-DDTC é maior que a do Cu-DDTC, íons Ag^+ substituíram os íons Cu^{2+} do complexo Cu-DDTC. A fase surfactante contendo Ag foi diluída para diminuição da viscosidade e injetada no tubo atomizador para a determinação de Ag por TS-FF-AAS. O limite de detecção obtido foi de $0,2 \mu\text{g L}^{-1}$.

Para gerar compostos de Co mais voláteis que pudessem ser determinados por TS-FF-AAS, MATOS e ARRUDA⁸¹ complexaram Co com DDTC. A reação do metal com o complexante NaDDTC gerou o composto volátil, que foi determinado por TS-FF-AAS. Após a otimização de parâmetros como pH, concentração e volume do complexante, volume de amostra, composição da chama e configuração do tubo atomizador, foi observado um limite de detecção de $7 \mu\text{g L}^{-1}$. O aumento de sensibilidade foi de 17 vezes em relação à determinação por FAAS. Materiais de referência de sedimento de lago e sedimento marinho foram usados para a avaliação da exatidão do método, sendo que os valores obtidos concordaram com os certificados em um nível de confiança de 95%.

COELHO *et al.*⁸² realizaram a determinação multielementar sequencial de Cd, Cu e Pb em amostras de água mineral utilizando a técnica de pré-concentração por ponto nuvem com 1-(2-piridilazo)-2-naftol (PAN) como complexante e Triton X-114 como surfactante. Os autores otimizaram o volume de solução de NaCl 1% (m/v), pH e concentração do tampão borato. Os limites de detecção obtidos foram de $0,025$, $0,38$ e $0,43 \mu\text{g L}^{-1}$ para Cd, Cu e Pb, respectivamente. Para avaliar a exatidão do método, os analitos foram determinados em material de referência de elementos traço em água, com valores concordantes em nível de confiança de 95%.

SCHIAVO *et al.*⁵⁵ avaliaram a TS-FF-AAS na determinação direta de Cd, Cu e Pb em amostras de vinho e de suco de uva. O procedimento desenvolvido não requereu digestão ácida preliminar. Um volume de $150 \mu\text{L}$ foi introduzido em um

tubo de Ni utilizando um fluxo de $0,54 \text{ mL min}^{-1}$ e uma solução de HNO_3 $0,14 \text{ mol L}^{-1}$ foi usada como carreador. Avaliou-se o efeito do etanol em diversas concentrações sobre os sinais analíticos de Cd, Cu e Pb. O método de adição de analito foi utilizado durante as determinações. Os limites de detecção obtidos foram de 1,8, 13 e $5,3 \text{ } \mu\text{g L}^{-1}$ para Cd, Cu e Pb, respectivamente.

LOBO *et al.*⁸³ desenvolveram um procedimento analítico para determinação de Sn em alimentos enlatados por TS-FF-AAS utilizando um tubo cerâmico como célula de atomização. Vazão do carreador (ar), volume da amostra, e concentração ácida (HCl) foram avaliados para a otimização do sistema TS-FF-AAS. O limite de detecção obtido foi de $0,8 \text{ mg L}^{-1}$.

SCHIAVO e NÓBREGA⁸⁴ avaliaram os efeitos causados pelos concomitantes Na(I), K(I), Ca(II), e Mg(II) na atomização de Co e Mn utilizando a TS-FF-AAS. Severos efeitos de interferência foram observados para todos os concomitantes, os quais variaram de $-101,0\%$ a $+360,0\%$ para Co e de $-117,5\%$ a $+175,5\%$ para Mn.

Em 2009, um método simples e sensível foi desenvolvido por WEN *et al.*⁸⁵ para a determinação de Cd em arroz e água utilizando injeção em fluxo em linha e um reator de precipitação-dissolução como um sistema de pré-concentração para análise por TS-FF-AAS. A pré-concentração foi obtida através da precipitação de hidróxido de cádmio no reator e subsequente eluição do precipitado com HNO_3 1 mol L^{-1} . Em seguida, o eluente foi introduzido no sistema TS-FF-AAS para a determinação de Cd. O Limite de detecção atingido foi de $0,04 \text{ } \mu\text{g L}^{-1}$.

MIRANDA *et al.*⁶⁰ utilizaram os sinais de fundo obtidos por TS-FF-AAS e calibração multivariada para acessarem a concentração total de concomitantes. Uma amostra farmacêutica contendo 3 g L^{-1} de concentração total de Ca, K, Mg e Na foi analisada com o método proposto e o erro relativo foi de 3%.

DA-COL *et al.*⁸⁶ determinaram Fe e Zn por FAAS e Cd e Pb por TS-FF-AAS em amostras de alimentos. Um procedimento de extração utilizando 100 mg de amostra e HCl $0,1 \text{ mol L}^{-1}$ foi proposto. Fígado bovino (SRM 1577b) foi utilizado como material de referência certificado para avaliar as recuperações nas determinações dos quatro elementos. Cádmio e Zn apresentaram resultados adequados e o teor de Fe apresentou alta correlação com o tamanho de partícula da amostra. Cádmio e chumbo não foram encontrados nas amostras de alimentos estudadas.

GOMES e PEREIRA-FILHO⁸⁷ avaliaram a determinação de Cu por TS-FF-AAS usando tubos atomizadores de Ni e Ti. A utilização de tubos de Ti inseridos em tubos de Ni sobre uma chama de ar/acetileno gerou um aumento de sensibilidade de quatro vezes para a determinação de Cu em comparação com o tubo de Ni. O aumento de sensibilidade é devido a formação de TiO₂ no interior do tubo de Ti que causa uma melhora na atomização do Cu. Testes realizados com concomitantes (Na, K, Ca e Mg) mostraram que os tubos de Ni e Ni/Ti possuem o mesmo comportamento. A precisão do método foi verificada utilizando-se amostras certificadas de materiais biológicos que foram digeridas com HNO₃ em forno de micro-ondas com cavidade. O limite de detecção atingido foi de 2 µg L⁻¹ para Cu.

SOUZA *et al.*⁸⁸ determinaram os teores totais e biodisponíveis de Cd e Pb em amostras de sedimentos dos rios Jundiá e Piraí e em amostras de lodo de esgoto por TS-FF-AAS. Os valores da concentração total de Cd e Pb atingiram 2,47 e 24,7 µg g⁻¹ respectivamente. O lodo de esgoto apresentou concentrações máximas de Cd e Pb de 4,01 e 171 µg g⁻¹, respectivamente.

15 – Parte experimental

15.1 – Instrumentação

Os experimentos com TS-FF-AAS foram realizados em um espectrômetro de absorção atômica sequencial rápido com chama (Spectra AA240FS; Varian, Mulgrave, Austrália) com correção de fundo feita por lâmpada de deutério. Lâmpadas de catodo oco de Cd, Cu, Pb e Zn (Varian) foram utilizadas como fontes de radiação e os valores dos parâmetros utilizados no equipamento podem ser visualizados na Tabela 3.2.

TABELA 3.2 – Parâmetros utilizados no espectrômetro de absorção atômica para determinações de Cd, Cu, Pb e Zn por TS-FF-AAS.

| Parâmetro | Cd | Cu | Pb | Zn |
|--|-------|-------|-------|-------|
| Comprimento de onda (nm) | 228,8 | 324,8 | 283,3 | 213,9 |
| Corrente da lâmpada de catodo oco (mA) | 4,0 | 4,0 | 10 | 5,0 |
| Resolução do monocromador (nm) | 0,5 | 0,5 | 0,5 | 1,0 |

A chama ar/acetileno ($13,5 \text{ L min}^{-1}/2,0 \text{ L min}^{-1}$) foi utilizada em todos os experimentos. Amostras de chá foram moídas utilizando um moinho criogênico modelo MA 775 (Marconi, Piracicaba, Brasil). Um forno de micro-ondas com cavidade equipado com frascos de PFA modelo Ethos (Milestone, Sorisole, Itália) foi utilizado para digerir as amostras. O procedimento de homogeneização das suspensões foi realizado em tubos de vidro de centrífuga de 24 mL posicionados em um mini bloco digestor com 32 cavidades (17 mm d.i.) modelo MA-4005 (Marconi, Piracicaba, Brasil).

15.2 – Reagentes, soluções analíticas e amostras

Reagentes de pureza analítica e água desionizada por sistema Milli-Q® (Millipore, Bedford, MA, EUA) foram utilizados para preparar as soluções. Toda a vidraria e frascos plásticos utilizados foram lavados com água corrente e detergente neutro, enxaguado com água destilada e deixados em banho ácido (HNO_3 10% v/v) por 24 h. Depois de retirado do banho ácido, o material foi enxaguado com água desionizada e deixado em capela de fluxo laminar (Veco, Campinas, SP, Brasil) para secagem. As soluções padrão de referência de Cd ($1,0 - 40 \mu\text{g L}^{-1}$), Cu ($50 - 1000 \mu\text{g L}^{-1}$), Pb ($20 - 1000 \mu\text{g L}^{-1}$) e Zn ($0,5 - 20 \mu\text{g L}^{-1}$) foram preparadas por sucessivas diluições das soluções estoque de concentração 1000 mg L^{-1} (Teclab, Hexis, São Paulo, Brasil). Ácido nítrico 14 mol L^{-1} , peróxido de hidrogênio 30% (m/m) (Merck, Darmstadt, Alemanha) e Triton X-100 (Roth, Karlsruhe, Alemanha) foram utilizados para preparar as suspensões. Os CRMs Folhas de Faia, (BCR 100), Cabelo Humano em Pó (GBW 07601), Repolho branco (BCR 679), Folhas de Tomate (1573a), Elementos Traço em Folhas de Espinafre (1570a) e Rim de Porco (BCR 186) foram utilizados para estimar a exatidão do método proposto. Amostras de folhas de chá foram adquiridas no mercado local da cidade de São Carlos, São Paulo, Brasil.

15.3 – Avaliação do potencial da TS-FF-AAS para a determinação sequencial de Cd, Cu, Pb e Zn

15.3.1 – Sistema TS-FF-AAS para determinações monoelementares

O sistema TS-FF-AAS consiste na união de um sistema em fluxo a um tubo metálico atomizador posicionado sobre a chama de um espectrômetro de absorção atômica. Na montagem do sistema em fluxo, foram utilizados:

- bomba peristáltica de 8 canais (Ismatec, modelo MCP, Suíça);
- tubos de Tygon[®] de diferentes diâmetros internos;
- tubos de polietileno para a configuração da alça de amostragem e percurso do sistema em fluxo (0,8 mm d.i.).
- injetor comutador confeccionado em acrílico.

Um suporte de aço inoxidável foi posicionado no queimador ar/acetileno para adaptação do tubo metálico. Como célula de atomização, utilizou-se um tubo de Ni 99% (10 cm de comprimento, 1,0 cm d.i., 1,2 cm d.e.) contendo um orifício central de 2,0 mm de diâmetro para introdução da amostra. Este tubo foi posicionado de forma a permitir que o feixe proveniente da lâmpada de catodo oco passasse por seu interior. Na injeção da amostra foram utilizados um injetor comutador construído em acrílico e um capilar cerâmico de 10 cm de comprimento, 0,5 mm d.i. e 2,0 mm d.e. (Friatec, Mannheim, Alemanha). A extremidade do capilar, responsável pela produção do aerossol térmico, foi introduzida aproximadamente 1,0 mm no interior do tubo atomizador. A representação esquemática do sistema TS-FF-AAS para determinações monoelementares é mostrada na Figura 3.1. A aquisição dos dados foi conduzida em área do perfil total do pico com aquisição de 80 s.

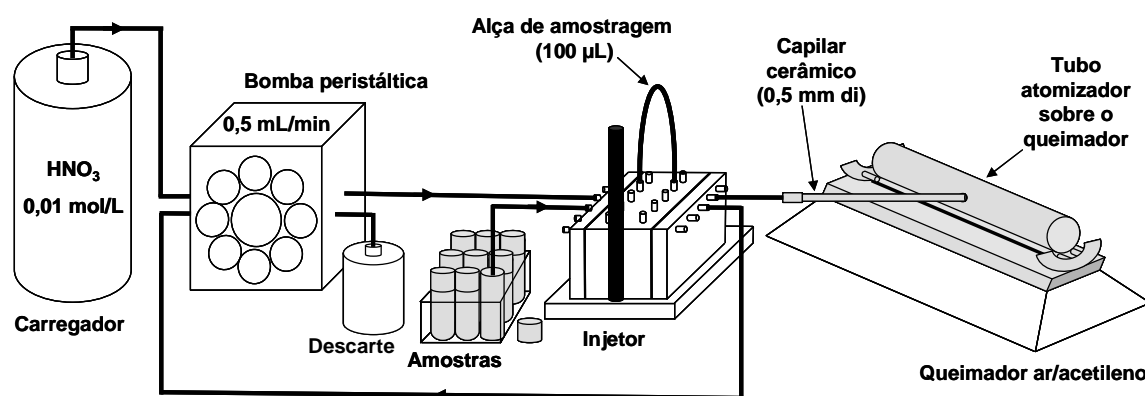


FIGURA 3.1 – Esquema do sistema TS-FF-AAS para determinações monoelementares.

15.3.2 – Sistema TS-FF-AAS para determinações multielementares

A representação esquemática do sistema TS-FF-AAS para determinações multielementares é mostrada na Figura 3.2. O sistema é composto pelos mesmos dispositivos descritos anteriormente, com exceção do injetor comutador. O tubo de Ni foi posicionado em um suporte feito de aço inoxidável com

quatro pinos de cerâmica de cerca de 4 mm acima da fenda do queimador. Para evitar explosão, o tubo de atomização foi inserido sobre o queimador após a ignição da chama. Um injetor comutador com alça de amostragem não foi utilizado para a introdução da amostra. Em vez disso, o modo de introdução contínuo de amostra foi utilizado. Os experimentos da TS-FF-AAS multielementar foram realizados com o espectrômetro operando no modo sequencial rápido e a aquisição de dados foi realizada no modo “*integration*”.

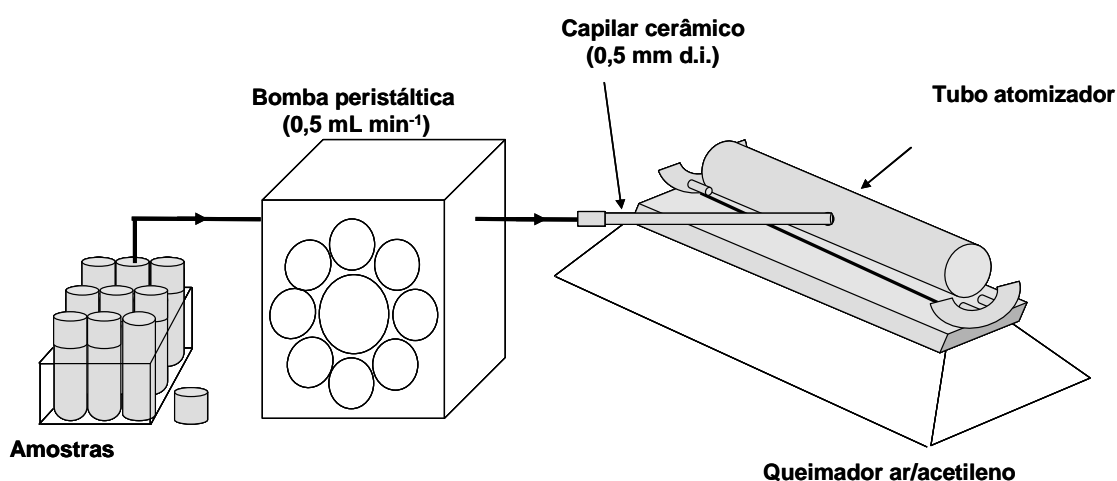


FIGURA 3.2 – Esquema do sistema TS-FF-AAS para determinações multielementares.

15.3.3 - Avaliação dos tubos de Ni e tempo de atraso para aquisição do sinal analítico

Quando se usa o modo de introdução contínuo de amostra, uma vez que o volume interno do tubo atomizador é preenchido com vapor da amostra, a atomização dos analitos é constante e a absorbância obtida é um sinal contínuo. Neste momento, Cd, Cu, Pb e Zn podem ser determinados pelo espectrômetro no modo sequencial rápido. Também é desejável que a linha de base para cada analito deva retornar a zero antes de realizar outras medidas, caso contrário, os efeitos de memória ficarão evidentes. Então, o tempo de atraso para aquisição do sinal deve ser otimizado. Por isso, três tubos de Ni com diâmetros internos de 10 mm com 6, 10 e 16 orifícios na parte inferior e dois tubos de Ni de 8 mm de d.i. com 6 e 10 orifícios na parte inferior foram avaliados para a determinação sequencial de Cd, Cu, Pb e Zn. Os orifícios de 2 mm de diâmetro na parte inferior de cada tubo permitem a

entrada parcial da chama, aumentando substancialmente a temperatura no volume de observação. Outro orifício de 2 mm de diâmetro a 90° em relação à parte inferior do tubo de Ni permite a inserção da ponta (cerca de 1 mm) de um capilar cerâmico para a introdução da amostra.

Todas as determinações foram realizadas utilizando vazão da bomba peristáltica de 0,5 mL min⁻¹ e um capilar cerâmico de 0,5/2,0 d.i./d.e. Tentou-se minimizar o tempo de introdução da amostra e o período de estabilização do sinal utilizando-se vazões da bomba peristáltica maiores que 0,5 mL min⁻¹. Contudo, na faixa de 0,5 a 1,0 mL min⁻¹, os sinais analíticos diminuíram com o aumento da vazão da bomba. Segundo GASPAR e BERNDT,⁴⁶ uma possível explicação para este fato é que a temperatura no interior do tubo de Ni diminui quando vazões mais altas são utilizadas, provocando um efeito de resfriamento. Para vazões maiores que 1,5 mL min⁻¹, o tempo de permanência do líquido na parte aquecida do capilar é demasiadamente curto para uma evaporação e a amostra atinge o tubo atomizador como um fluxo contínuo de líquido. Vazões inferiores a 0,5 mL min⁻¹ provocam um aumento considerável no tempo de introdução da amostra e período de estabilização do sinal. Portanto, uma vazão de 0,5 mL min⁻¹ foi selecionada para se obter o melhor desempenho para os sinais analíticos.

Um tubo de Ni de 8 mm d.i. com 10 orifícios na parte inferior combinado com um tempo de atraso para aquisição de 60 s proporcionou melhores resultados (compromisso entre altos valores de absorção e nenhum efeito de memória). Este tubo foi usado em todas as investigações posteriores e os resultados serão devidamente discutidos nas próximas seções.

15.3.4 – Tempo de aquisição do sinal e comparação da TS-FF-AAS nos modos monoelementar e multielementar

Soluções multielementares contendo Cd, Cu, Pb e Zn, cujas concentrações foram informadas na seção “15.2 Reagentes, soluções analíticas e amostras”, foram analisadas por TS-FF-AAS nos modos monoelementar e multielementar. Em seguida, realizou-se uma comparação entre os LODs obtidos para ambos os modos.

15.3.5 – Preparo dos materiais de referência certificados

Dois CRMs foram utilizados para estimar a exatidão do método proposto: Folhas de Faia (BCR 100) e Cabelo Humano em Pó (GBW 07601). Um forno de micro-ondas com cavidade equipado com frascos de PFA modelo Ethos (Milestone, Sorisole, Itália) foi utilizado para digerir os CRMs. Uma massa de 200 mg do CRM foram digeridos com 1 mL de HNO_3 14 mol L^{-1} , 1 mL de H_2O_2 30% (m/m) e 6 mL de água desionizada. Após decomposição, as soluções digeridas foram transferidas para frascos volumétricos de polipropileno e diluídas para 10,0 mL com água desionizada. O programa de aquecimento do forno de micro-ondas foi realizado em cinco etapas: (1) 2 min a 250 W; (2) 2 min a 0 W; (3) 4 min a 650W; (4) 5 min a 850 W, e (5) 5 min a 1000 W.

15.4 – Desenvolvimento de procedimento analítico para homogeneizar suspensões de amostras biológicas seguido pela determinação multielementar de Cd, Cu, Pb e Zn por TS-FF-AAS

15.4.1 – Moagem criogênica

Um moinho de impacto criogênico operado à temperatura de nitrogênio líquido foi utilizado para pulverizar as amostras de folhas de chá. O tempo de pré-resfriamento de 5 min foi usado seguido por três ciclos de 2 min de moagem com intervalos de resfriamento de 2 min.

15.4.2 – Aprimoramento do procedimento de preparo das suspensões

Experimentos preliminares foram realizados utilizando as amostras de folhas de chá. Suspensões foram preparadas pesando-se 100 mg de material pulverizado em tubos de vidro de centrifuga de 24 mL, seguido da adição de 1,0 mL da mistura de $\text{HNO}_3/\text{H}_2\text{O}_2$ (ambos concentrados) e aquecidos em um mini bloco digestor. Esta mistura oxidante provou ser adequada em GFAAS para suspensões de amostras que contenham uma quantidade elevada de matéria orgânica, tais como alimentos ou fluidos biológicos.^{89,90} Após o resfriamento, as suspensões foram diluídas com água desionizada e uma gota de Triton X-100 foi adicionada. Finalmente, os tubos foram fechados com tampa de Teflon[®] rosqueada e agitados manualmente. Proporções variadas da mistura $\text{HNO}_3/\text{H}_2\text{O}_2$, diferentes temperaturas

e tempo de aquecimento foram empregados para avaliar a eficiência de homogeneização. Após a otimização, estimou-se a concentração máxima de amostra sólida tolerada nas suspensões que permitisse realizar as determinações sem problemas de entupimento do capilar cerâmico. Um agitador magnético foi empregado durante a introdução das suspensões para evitar problemas relacionados à sedimentação de partículas. O aquecimento condutivo foi utilizado para acelerar a homogeneização das suspensões a serem analisadas, no entanto, uma inevitável extração dos elementos de interesse também ocorrerá. Isto pode ser considerado como um efeito positivo sobre a libertação parcial dos elementos para a solução. O ambiente extremamente oxidante no interior do tubo atomizador de Ni se encarrega de completar a digestão do material biológico durante a introdução da suspensão.

15.4.3 – Procedimento de digestão por micro-ondas

A fim de comparar os resultados obtidos com o procedimento proposto, amostras de folhas de chá não certificadas foram digeridas em triplicata de acordo com o seguinte procedimento: 100 mg de amostra moída foram transferidos para frascos de micro-ondas de PFA e, em seguida, foram adicionados 2,0 mL de HNO_3 7,0 mol L^{-1} , 2,0 mL de peróxido de hidrogênio 30% (m/v) e 4 mL de água desionizada. Após a decomposição, os frascos de PFA foram resfriados até a temperatura ambiente e as amostras digeridas foram transferidas para frascos volumétricos e diluídas para 10,0 mL com água desionizada. O programa de aquecimento do forno de micro-ondas foi realizado em cinco etapas: (1) 2 min a 250 W; (2) 2 min a 0 W; (3) 4 min a 650 W; (4) 5 min a 850 W, e (5) 5 min a 1000 W.

15.4.4 – Montagem da TS-FF-AAS multielementar para determinações em suspensões

A montagem da TS-FF-AAS para determinações multielementares de Cd, Cu, Pb e Zn em suspensões de amostras biológicas pode ser vista na Figura 3.3.

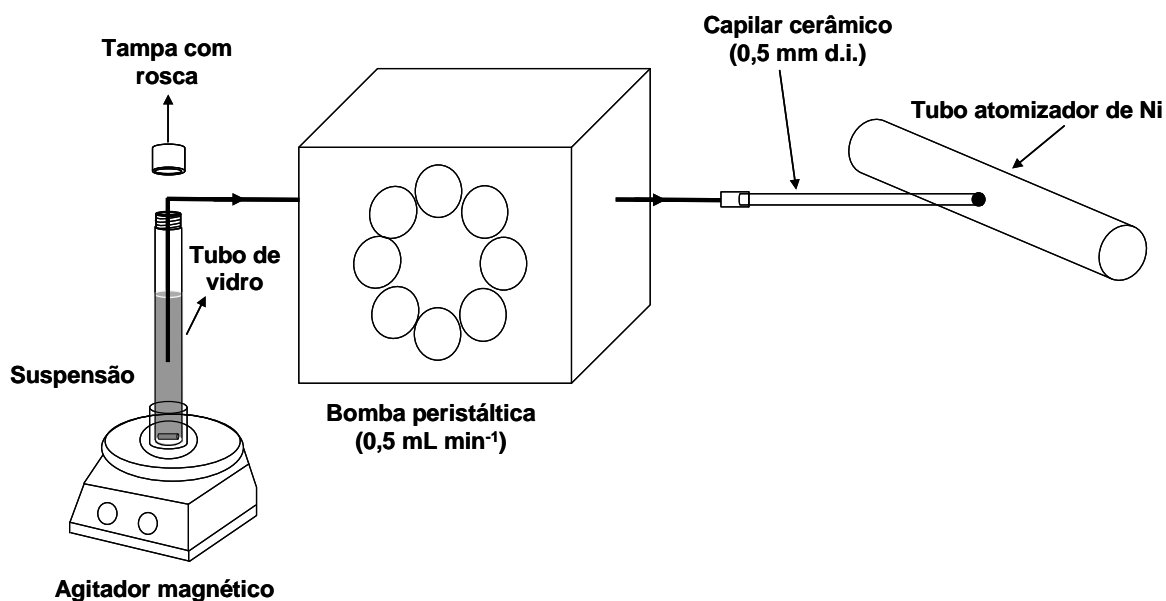


FIGURA 3.3 – Esquema do sistema TS-FF-AAS para determinações multi-elementares em suspensões.

Todas as determinações foram realizadas utilizando-se a vazão da bomba peristáltica de 0,5 mL min⁻¹ e um agitador magnético foi usado durante a introdução das suspensões para evitar a sedimentação das partículas. Os tubos de vidro borossilicato utilizados no preparo das suspensões possuíam rosca externa, 16 mm d.i., 17 mm d.e. e 150 mm de comprimento. Na TS-FF-AAS multielementar, o modo de introdução contínuo de amostra é usado e assim que o tubo atomizador de Ni é totalmente preenchido com vapor da amostra, a absorvância obtida é um sinal contínuo. Neste momento, Cd, Cu, Pb e Zn podem ser determinados pelo espectrômetro no modo sequencial. Neste caso, após 60 s de atraso de leitura, Cd, Cu, Pb e Zn podem ser determinados em 12 s (3 s para cada elemento).

16 - Resultados e discussão

16.1. Avaliação do potencial da TS-FF-AAS para a determinação sequencial de Cd, Cu, Pb e Zn

16.1.1. Avaliação do tempo de aquisição do sinal analítico

Diferentes tempos de aquisição do sinal, de 1 a 5 s, foram avaliados através da determinação do RSD obtido para 10 medidas de um ponto intermediário da curva de calibração multielementar: Cu 250 µg L⁻¹, Cd 10 µg L⁻¹, Pb 250 µg L⁻¹ e

Zn $5 \mu\text{g L}^{-1}$. Como pode ser visto na Figura 3.4, a precisão melhora com o aumento do tempo de aquisição. Adotando-se um tempo de aquisição de 3 s para cada elemento, o RSD obtido foi 3,8% para Cu, 3,4% para Cd, 4,0% para Pb e 3,6% para Zn. Portanto, após 60 s de atraso para aquisição do sinal, Cd, Cu, Pb e Zn podem ser determinados em 12 s. É importante ressaltar que o valor da absorbância fornecida pelo programa do equipamento após cada segundo é na verdade uma média de 60 sinais. Além disso, os valores de RSD obtidos no modo sequencial são compatíveis com os resultados apresentados na literatura quando a TS-FF-AAS foi usada no modo monoelementar. DAVIES e BERNDT⁴⁶ obtiveram valores para RSD que variaram de 1,4% (para K) a 5,5% (para Hg) quando esses elementos foram determinados em modo monoelementar usando a área do perfil total do pico com aquisição de 80 s.

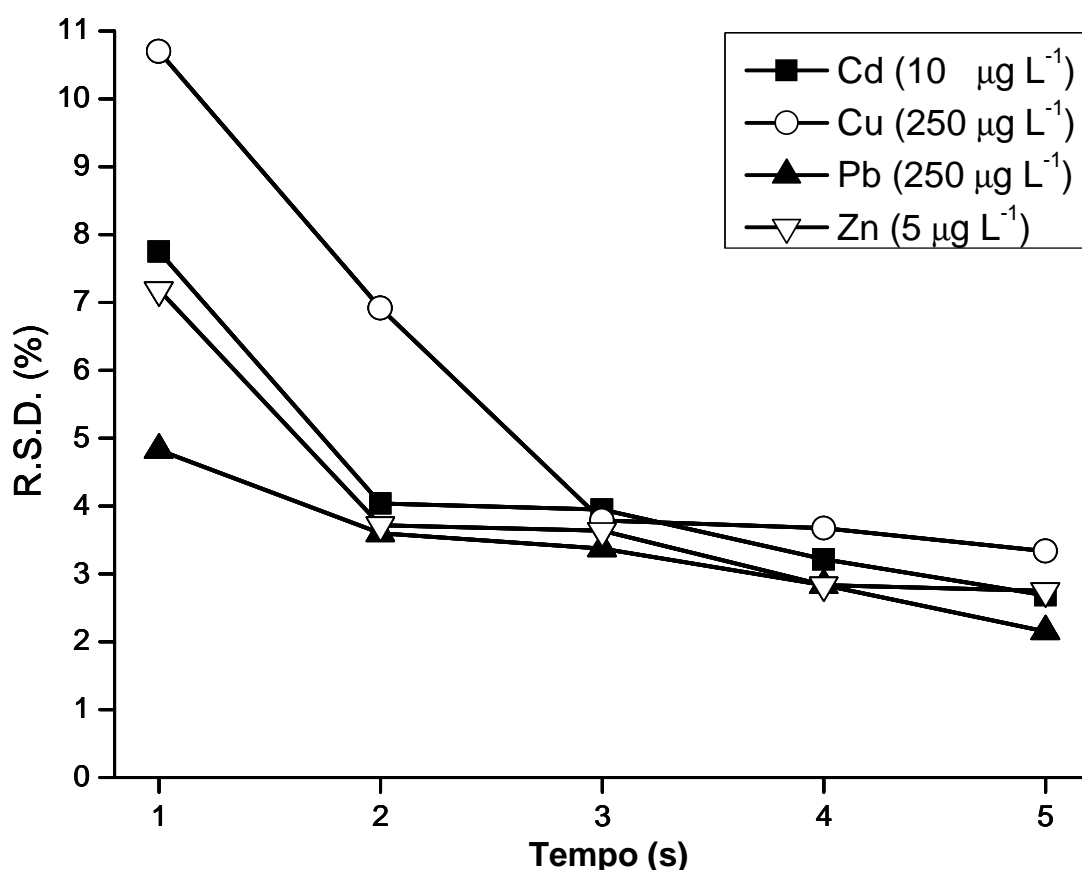


FIGURA 3.4 – RSD obtido através de 10 medidas da solução multielementar de Cu $250 \mu\text{g L}^{-1}$, Cd $10 \mu\text{g L}^{-1}$, Pb $250 \mu\text{g L}^{-1}$ e Zn $5 \mu\text{g L}^{-1}$ usando tempos de integração de 1 a 5 s.

16.1.2 – Avaliação dos tubos de Ni

Para avaliar o desempenho dos cinco tubos de Ni (mencionados na Parte experimental) para a determinação sequencial de Cd, Cu, Pb e Zn, preparou-se uma solução multielementar contendo $40 \mu\text{g L}^{-1}$ de Cd, $1000 \mu\text{g L}^{-1}$ de Cu, $1000 \mu\text{g L}^{-1}$ de Pb e $20 \mu\text{g L}^{-1}$ de Zn (solução de maior concentração da curva de calibração) e o perfil do sinal de cada analito foi obtido separadamente. Para verificar a máxima absorvância alcançada pelo Cd, o primeiro tubo de Ni (10 mm d.i. com 6 furos) foi colocado sobre o queimador, a solução foi introduzida continuamente e a absorvância obtida em 228,8 nm (Cd) foi registrada durante 72 s. Para verificar a ocorrência de efeitos de memória, água desionizada foi introduzida imediatamente após e o perfil do sinal foi registrado novamente por mais 72 s. Em seguida, os outros quatro tubos foram testados da mesma maneira para Cd. Todo o procedimento foi repetido utilizando os cinco tubos de Ni para Cu (324,8 nm), Pb (283,3 nm) e Zn (213,9 nm). A Figura 3.5 mostra os perfis dos sinais obtidos para Cd, Cu, Pb e Zn utilizando um tubo de Ni de 8 mm d.i. com 10 orifícios como atomizador.

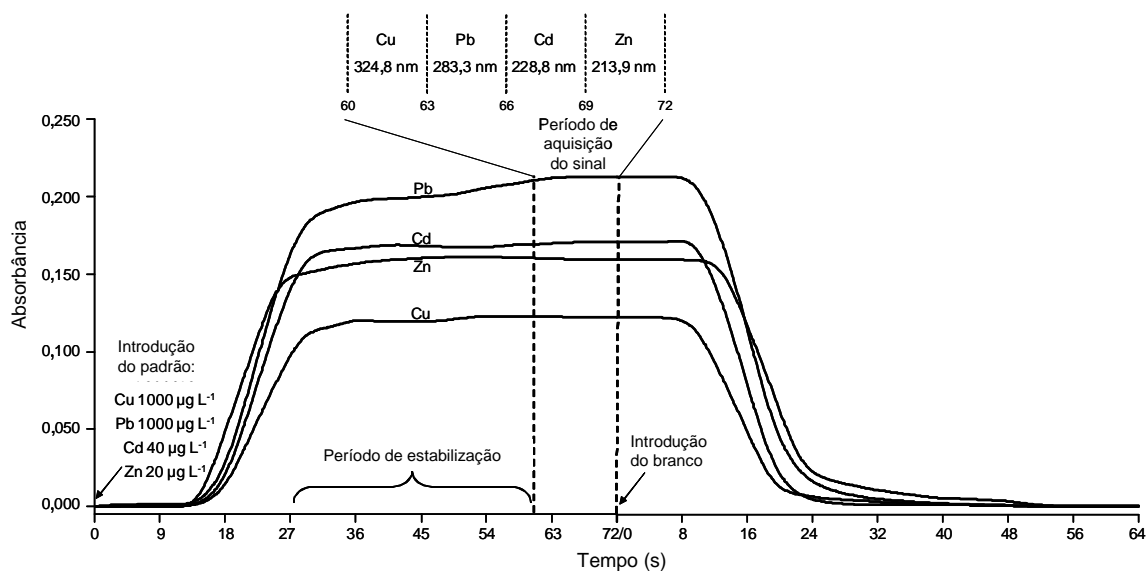


FIGURA 3.5 – Perfis dos sinais de Cd $40 \mu\text{g L}^{-1}$, Cu $1000 \mu\text{g L}^{-1}$, Pb $1000 \mu\text{g L}^{-1}$, Zn $20 \mu\text{g L}^{-1}$ e branco (água desionizada) utilizando um tubo de Ni de 8 mm d.i. com 10 orifícios.

A absorvância máxima e o tempo necessário para que a linha de base retorne a zero (ausência de efeito de memória) para Cd, Cu, Pb e Zn em relação a cada tubo de Ni pode ser visto na Tabela 3.3.

TABELA 3.3 – Absorvância máxima e tempo necessário para que a linha de base retorne ao zero para Cd, Cu, Pb e Zn em relação a cada tubo de Ni.

| Elemento / características do tubo de Ni | Absorvância máxima em 60 s | Tempo para a linha de base retornar a zero (s) |
|--|----------------------------|--|
| Cd / 10 mm 6 orifícios | 0,221 | 46 |
| Cd / 10 mm 10 orifícios | 0,181 | 39 |
| Cd / 10 mm 16 orifícios | 0,177 | 39 |
| Cd / 8 mm 6 orifícios | 0,172 | 42 |
| Cd / 8 mm 10 orifícios | 0,171 | 38 |
| Cu / 10 mm 6 orifícios | 0,133 | 50 |
| Cu / 10 mm 10 orifícios | 0,119 | 42 |
| Cu / 10 mm 16 orifícios | 0,142 | 42 |
| Cu / 8 mm 6 orifícios | 0,121 | 42 |
| Cu / 8 mm 10 orifícios | 0,123 | 39 |
| Pb / 10 mm 6 orifícios | 0,168 | > 70 |
| Pb / 10 mm 10 orifícios | 0,243 | > 70 |
| Pb / 10 mm 16 orifícios | 0,202 | > 70 |
| Pb / 8 mm 6 orifícios | 0,204 | 60 |
| Pb / 8 mm 10 orifícios | 0,213 | 54 |
| Zn / 10 mm 6 orifícios | 0,132 | >70 |
| Zn / 10 mm 10 orifícios | 0,133 | >70 |
| Zn / 10 mm 16 orifícios | 0,160 | >70 |
| Zn / 8 mm 6 orifícios | 0,135 | 56 |
| Zn / 8 mm 10 orifícios | 0,161 | 55 |

A partir dos resultados pode-se concluir que a "absorvância máxima" e o "tempo necessário para nenhum efeito memória" dependem do d.i. e do número de orifícios da parte inferior da célula de atomização. Orifícios adicionais na parte inferior do tubo permitem a entrada da chama que elevam a temperatura da fase gasosa no volume de absorção. No caso do Cd, os sinais tornam-se menores

utilizando o tubo com mais orifícios porque os gases adicionais da chama diluem o vapor da amostra e provavelmente também reduzem o tempo de residência no volume de absorção. Ao contrário, os sinais para Pb e Zn aumentam quando o tubo com mais orifícios é usado porque o aumento da sensibilidade com a temperatura é maior do que a perda de sensibilidade causada pela diluição. No caso do Cu, os sinais não aumentam ao usarmos o tubo atomizador com mais orifícios. O tubo com menor d.i. (8 mm) proporciona menor tempo de residência da amostra devido ao seu menor volume interno e provavelmente também reduz o tempo necessário para que nenhum efeito de memória ocorra. Todos os cinco tubos de Ni não apresentaram efeitos de memória para Cd e Cu, uma vez que menos de 60 s foram necessários para a linha de base retornar a zero. Os três tubos de Ni de 10 mm de d.i. apresentaram efeitos de memória para Pb e Zn, devido ao fato que mais de 70 s foram necessários para a linha de base voltar a zero. Em geral, os tubos de 10 mm d.i. proporcionaram maiores valores de absorbância, mas a principal restrição para usá-los para a determinação multielementar sequencial é que quando Pb e Zn estão envolvidos, leva-se mais de 70 s para a linha de base retornar a zero. Uma vez que 60 s foi considerado o limite máximo do tempo de atraso para aquisição do sinal para se obter uma frequência analítica adequada, verificou-se que o tubo de Ni com um d.i. de 8 mm com 10 orifícios na parte inferior produziu os melhores resultados (valores adequados de absorbância e nenhum efeito memória) .

16.1.3 – Características analíticas da TS-FF-AAS multielementar

Soluções multielementares contendo Cd ($1,0 - 40 \mu\text{g L}^{-1}$), Cu ($50 - 1000 \mu\text{g L}^{-1}$), Pb ($50 - 1000 \mu\text{g L}^{-1}$) e Zn ($0,5 - 20 \mu\text{g L}^{-1}$) foram preparadas e analisadas por TS-FF-AAS multielementar utilizando um tubo de Ni de 8 mm de diâmetro com 10 orifícios, 60 s de tempo de atraso para aquisição do sinal e tempo de aquisição de 3 s para cada elemento. Limites de detecção, exatidão, faixas lineares de calibração, equações de regressão e coeficientes de correlação foram determinados. O limite de detecção foi definido como a concentração correspondente a três vezes o desvio padrão de 10 medidas do branco dividido pela inclinação da curva analítica. As características analíticas para Cd, Cu, Pb e Zn são apresentadas na Tabela 3.4.

TABELA 3.4 – Características analíticas para determinações de Cd, Cu, Pb e Zn por TS-FF-AAS multielementar.

| Parâmetros de calibração | TS-FF-AAS multielementar | | | |
|---|--------------------------|-----------|-----------|----------|
| | Cd | Cu | Pb | Zn |
| ^a LOD ($\mu\text{g L}^{-1}$) | 0,3 | 7,5 | 4,4 | 0,3 |
| ^b RSD (%) | 4,0 | 3,8 | 3,4 | 3,6 |
| Faixa linear ($\mu\text{g L}^{-1}$) | 1,0 - 40 | 50 - 1000 | 50 - 1000 | 0,5 - 20 |
| Coef. de correlação (r) | 0,9998 | 0,9993 | 0,9981 | 0,9992 |

^a LOD: 3σ branco/inclinação, n = 10.

^b RSD (%): Cd, Cu, Pb e Zn com 10, 250, 250 e 5 $\mu\text{g L}^{-1}$, respectivamente, n=10.

As mesmas soluções foram analisadas por TS-FF-AAS no modo monoelementar utilizando um alça de amostragem de 200 μL e o tubo de Ni de 10 mm de d.i. com 6 orifícios. Este tubo foi selecionado porque apresentou maior sensibilidade (veja a Tabela 3.3). Os limites de detecção obtidos para Cd, Cu, Pb e Zn por TS-FF-AAS em modo monoelementar foram 0,3, 5,2; 3,1 e 0,4 $\mu\text{g L}^{-1}$, respectivamente. Estes valores são muito próximos aos obtidos pela TS-FF-AAS multielementar (0,3, 7,5, 4,4 e 0,3 $\mu\text{g L}^{-1}$ para Cd, Cu, Pb e Zn, respectivamente).

16.1.4. Determinação de Cd, Cu, Pb e Zn em dois CRMs por TS-FF-AAS multielementar

A exatidão da TS-FF-AAS multielementar foi avaliada através da determinação de Cd, Cu, Pb e Zn em dois CRMs após digestão ácida (mencionada na Parte experimental). Os resultados obtidos podem ser vistos na Tabela 3.5. A realização de um teste t não pareado (n = 3) demonstrou a inexistência de diferenças entre os valores de referência e aqueles obtidos com o método proposto a um nível de confiança de 95% para ambos os CRMs. Visto que a concentração de Zn em ambos os CRMs era maior que o último ponto da curva de calibração, as determinações deste elemento foram realizadas após uma diluição de 1:200 (v/v).

TABELA 3.5 – Valores determinados e de referência ($\mu\text{g g}^{-1}$) em materiais de referência certificados.

| Material de referência certificado | | | | |
|------------------------------------|-----------------|------------------------|-----------------|-------------|
| Human Hair Powder (GBW 07601) | | Beech Leaves (BCR 100) | | |
| | TS-FF-AAS | Valor | TS-FF-AAS | Valor |
| | Multielementar* | certificado | Multielementar* | certificado |
| Cd ($\mu\text{g g}^{-1}$) | $0,10 \pm 0,01$ | 0,11 | $0,34 \pm 0,01$ | 0,34 |
| Cu ($\mu\text{g g}^{-1}$) | $10,4 \pm 0,7$ | 10,6 | 12 ± 1 | 12 |
| Pb ($\mu\text{g g}^{-1}$) | $8,6 \pm 0,6$ | 8,8 | $15,4 \pm 0,9$ | 16,3 |
| Zn ($\mu\text{g g}^{-1}$) | 185 ± 9 | 190 | 67 ± 5 | 69 |

* média \pm desvio padrão, n=3.

16.1.5 – Vantagens da TS-FF-AAS multielementar

Algumas vantagens deste novo arranjo são a capacidade de determinação multielementar rápida, baixos limites de detecção e pouco consumo de amostra. A configuração de injeção da amostra com fluxo contínuo é superior a de alça de amostragem porque facilita o trabalho prático. Assumindo um tempo de aquisição do sinal de 3 s por elemento, uma análise de 10 analitos poderia ser realizada em menos de 2 min, o que significa que apenas 1 mL de amostra seria necessário utilizando-se o arranjo proposto.

16.2 – Desenvolvimento de procedimento analítico para homogeneizar suspensões de amostras biológicas seguido pela determinação multielementar de Cd, Cu, Pb e Zn por TS-FF-AAS

16.2.1 – Efeitos da mistura oxidante, temperatura e tempo de aquecimento sobre a homogeneização das suspensões

Experimentos utilizando temperaturas de 50, 65 e 80 °C, tempo de aquecimento de 10, 15 e 20 min e proporções da mistura $\text{HNO}_3/\text{H}_2\text{O}_2$ de 1:1, 2:1 e 3:1 (v/v), respectivamente, foram realizados para avaliar a eficiência da homogeneização das suspensões. Todas as proporções de mistura oxidante testadas

foram capazes de homogeneizar as suspensões. A mistura contendo a menor concentração de HNO_3 (1:1(v/v)) foi escolhida por proporcionar a melhor reprodutibilidade durante as determinações. A temperatura de 50 °C foi adotada. Quando o procedimento foi realizado a 65 °C, as partículas da amostra subiram pelas paredes dos tubos de vidro e a homogeneização não foi atingida. A 80 °C observou-se a precipitação das proteínas, ocorrendo o entupimento do capilar no momento da introdução da amostra. O menor tempo para uma homogeneização adequada a 50 °C foi de 15 min. A concentração máxima de amostra sólida tolerada nas suspensões foi de 0,67% (100 mg/15 mL), permitindo mais de 500 determinações sem causar problemas relacionados ao entupimento do capilar cerâmico. Concentrações maiores provocaram falta de repetibilidade e problemas de restrição no capilar cerâmico.

16.2.2 – Validação e aplicação do método proposto

No método proposto, tubos de vidro contendo 100 mg de amostras sólidas pulverizadas e 1 mL da mistura $\text{HNO}_3/\text{H}_2\text{O}_2$ 1:1 (v/v) foram aquecidos durante 15 min a 50 °C num mini bloco de aquecimento com 32 cavidades. Em seguida, as amostras foram diluídas para 15 mL com água desionizada e uma gota de Triton X-100 foi adicionada. Os tubos foram fechados com uma tampa de Teflon[®] rosqueada e agitados manualmente. Finalmente, Cd, Cu e Pb foram determinados nas suspensões por TS-FF-AAS multielementar. Visto que a concentração de Zn nos CRMs era cerca de 200 vezes maior que o último ponto da curva de calibração, este elemento foi excluído das determinações sequenciais.

A exatidão do método proposto foi avaliada utilizando-se cinco CRMs (mencionados na Parte Experimental). Os resultados obtidos podem ser vistos na Tabela 3.6, sendo que exceto a amostra 1570a para Cd, não foram encontradas diferenças significativas aplicando-se o teste *t* não pareado ($n = 3$) ao nível de confiança de 95%. A amostra 1570a mostrou uma recuperação de 103% e um valor de RSD de 1,01% para Cd. A concentração de Cd obtida através da análise de suspensão para esta amostra está bem próxima com o valor certificado, apesar do teste *t* não apresentar um valor concordante. Estes cálculos foram repetidos para os demais analitos (Cu e Pb) e os valores de *t* calculados foram inferiores ao tabelado com 95% de confiança. O RSD para Cd, Cu e Pb ficaram abaixo de 6,1, 7,9 e 6,3%, respectivamente. Considerando a complexidade de uma matriz biológica, estes

valores de RSD são aceitáveis. Em seguida, utilizou-se o método proposto para determinar Cd, Cu e Pb em sete amostras de folhas de chá adquiridas no mercado local. Inicialmente, as amostras foram moídas com um moinho criogênico. Este processo de moagem proporciona distribuição de partículas de tamanho reduzido, aumentando a área superficial e diminuindo o tempo de preparo da amostra.⁹¹ De acordo com Aleixo *et al.*,⁹² apenas 2 min de moagem criogênica foram necessários para obter um pó fino e totalmente moído a partir de diferentes amostras de alimentos. Neste caso, para os tecidos vegetais, aproximadamente 90% do material moído apresentou distribuição de tamanho de partícula composta por fragmentos inferiores a 63 µm. No presente estudo, a moagem criogênica foi realizada utilizando um tempo de pré-resfriamento de 5 min, seguido por três ciclos de dois min de moagem com intervalos de resfriamento de 2 min. Um total de seis min de moagem foi aplicado para certificar que o tamanho de partícula estaria adequado para promover a homogeneização adequada, evitando a restrição do capilar cerâmico e problemas de repetibilidade. Para fins comparativos, as determinações também foram realizadas utilizando a TS-FF-AAS multielementar nas amostras de folhas de chá após digestão assistida por radiação micro-ondas. Todos os resultados estão apresentados na Tabela 3.7. Os valores de concentração alcançados através do método proposto com suspensões são compatíveis com os obtidos após a digestão, sendo que exceto a amostra “Chá 3” para Cu, não foram encontradas diferenças significativas entre os dois grupos aplicando-se o teste *t* pareado ao nível de confiança de 95%. A amostra “Chá 3” mostrou uma recuperação de 79% e um valor de RSD de 3,53% para Cu. Resultados confiáveis com RSDs aceitáveis foram alcançados com três réplicas. Isto pode ser explicado pela homogeneidade adequada da amostra obtida através da moagem criogênica e pelo emprego de massa de amostra apropriada (100 mg) no preparo das suspensões. A massa considerável de amostra sólida (3,3 mg) introduzida no tubo atomizador de Ni antes da medida dos analitos (60 s) é um outro aspecto favorável para se obter exatidão e precisão adequadas.

TABELA 3.6 - Determinações de Cd, Cu e Pb por TS-FF-AAS sequencial rápida em suspensões de cinco CRMs.

| CRM | Cd (mg kg ⁻¹) (n = 3) | | Cu (mg kg ⁻¹) (n = 3) | | Pb (mg kg ⁻¹) (n = 3) | |
|----------------------------|-----------------------------------|-------------------|-----------------------------------|-------------------|-----------------------------------|-------------------|
| | Suspensão | Valor certificado | Suspensão | Valor certificado | Suspensão | Valor certificado |
| Beech Leaves (BCR 100) | 0,33 ± 0,02 | 0,34 | 13 ± 1 | 11,8 | 16 ± 1 | 16 |
| White Cabbage (BCR 679) | 1,83 ± 0,08 | 1,66 ± 0,07 | < LD ^c | 2,89 ± 0,12 | < LD ^c | - |
| Tomato Leaves (1573a) | 1,53 ± 0,09 | 1,52 ± 0,04 | < LD ^c | 4,70 ± 0,14 | < LD ^c | - |
| Spinach Leaves (1570a) | 2,97 ± 0,03 | 2,89 ± 0,07 | 10,6 ± 0,7 | 12,2 ± 0,6 | < LD ^c | 0,2 |
| Pig kidney (BCR 186) | 2,68 ± 0,09 | 2,71 ± 0,15 | 38 ± 4 | 31,9 ± 0,4 | < LD ^c | 0,306 ± 0,011 |

^a Concentrações inferiores ao limite de detecção (1,2 mg kg⁻¹ para Cu e 0,68 mg kg⁻¹ para Pb).

TABELA 3.7 – Determinações de Cd, Cu e Pb por TS-FF-AAS sequencial rápida em suspensões e digeridos de folhas de chá.

| Amostra | Tipo | Cd (mg kg ⁻¹) (n = 3) | | Cu (mg kg ⁻¹) (n = 3) | | Pb (mg kg ⁻¹) (n = 3) | |
|---------|-------|-----------------------------------|-------------------|-----------------------------------|------------|-----------------------------------|-------------------|
| | | Suspensão | Digerido | Suspensão | Digerido | Suspensão | Digerido |
| Chá 1 | Verde | < LD ^a | < LD ^a | 14,6 ± 0,4 | 13 ± 1 | 3,0 ± 0,4 | 3,4 ± 0,4 |
| Chá 2 | Verde | 0,48 ± 0,02 | 0,48 ± 0,01 | 8,7 ± 0,8 | 9,4 ± 0,2 | < LD ^a | < LD ^a |
| Chá 3 | Verde | 0,65 ± 0,01 | 0,64 ± 0,01 | 8,5 ± 0,3 | 10,9 ± 0,4 | < LD ^a | < LD ^a |
| Chá 4 | Preto | 0,78 ± 0,06 | 0,69 ± 0,02 | 12,6 ± 0,7 | 11,4 ± 0,3 | < LD ^a | < LD ^a |
| Chá 5 | Verde | 0,16 ± 0,01 | 0,18 ± 0,02 | 10 ± 1 | 8,1 ± 0,7 | < LD ^a | < LD ^a |
| Chá 6 | Verde | 0,25 ± 0,01 | 0,25 ± 0,02 | 9,5 ± 0,6 | 8,6 ± 0,2 | < LD ^a | < LD ^a |
| Chá 7 | Verde | 0,41 ± 0,04 | 0,41 ± 0,01 | 10 ± 1 | 9 ± 1 | < LD ^a | < LD ^a |

^a Concentrações inferiores ao limite de detecção (0,05 mg kg⁻¹ para Cd e 0,68 mg kg⁻¹ para Pb).

16.2.3 – Características analíticas do método proposto

O método proposto utiliza soluções multielementares para calibração contendo Cd ($1.0 - 20 \mu\text{g L}^{-1}$), Cu ($50 - 1000 \mu\text{g L}^{-1}$) e Pb ($20 - 400 \mu\text{g L}^{-1}$) preparadas em HNO_3 $0,47 \text{ mol L}^{-1}$. Limites de detecção, precisão, faixas lineares e coeficientes de correlação foram determinados. O LOD foi definido como a concentração correspondente a três vezes o desvio padrão de 10 medidas do branco dividido pela inclinação da curva analítica. Características analíticas para Cd, Cu e Pb são apresentadas na Tabela 3.8.

TABELA 3.8 – Características analíticas para determinações de Cd, Cu e Pb.

| Parâmetros de calibração | Determinações multielementares por TS-FF-AAS | | |
|--|--|-----------|----------|
| | Cd | Cu | Pb |
| ^a LOD (mg kg^{-1}) | 0,05 | 1,2 | 0,68 |
| ^b RSD (%) | < 6,1 | < 7,9 | < 6,3 |
| Faixa linear ($\mu\text{g L}^{-1}$) | 1,0 - 20 | 50 – 1000 | 20 - 400 |
| Coeficiente de correlação (r) | 0,9999 | 0,9987 | 0,9998 |

^a LOD: $3\sigma_{\text{branco}}/\text{inclinação}$, $n = 10$ para suspensões $0,67\%$ (m/v).

^b RSD (%) em suspensões de CRMs, $n=3$.

Os limites de detecção obtidos foram $0,3 \mu\text{g L}^{-1}$ para Cd, $8,0 \mu\text{g L}^{-1}$ para Cu e $4,5 \mu\text{g L}^{-1}$ para Pb, correspondendo a $0,05 \text{ mg kg}^{-1}$ para Cd, $1,2 \text{ mg kg}^{-1}$ para Cu e $0,68 \text{ mg kg}^{-1}$ para Pb, utilizando suspensões de $0,67\%$ m/v ($100 \text{ mg}/15 \text{ ml}$). O RSD de 3 medidas de Cd, Cu e Pb nas suspensões de folhas de chá ficaram geralmente abaixo de 10% . No método proposto, Pb foi determinado utilizando a linha de $217,0 \text{ nm}$ (mais sensível) ao invés de $283,3 \text{ nm}$. Análises realizadas em $217,0 \text{ nm}$ utilizando a FAAS e a GFAAS geralmente apresentam pior relação sinal-ruído e maior LOD quando comparadas com $283,3 \text{ nm}$. Além disso, em TS-FF-AAS a temperatura da fase gasosa no interior do volume de absorção é cerca de $1000 \text{ }^\circ\text{C}$ ⁵⁹ e o sinal de fundo devido à absorção causada por espécies moleculares é

significativamente mais elevado em 217,0 nm.⁶⁰ Contudo, as análises realizadas por TS-FF-AAS em 217,0 nm apresentaram menores LODs do que em 283,3 nm.

16.2.4 – Utilização de padronização interna em TS-FF-AAS multielementar

A introdução de suspensão em FS-FAAS está sujeita à interferência de transporte pois quando a mesma é introduzida através do nebulizador pneumático, a presença de partículas pode influenciar a quantidade de amostra que atinge o queimador. Neste caso, a padronização interna pode ser adotada para aprimorar a exatidão e a precisão analítica. Diferentemente da FS-FAAS, a TS-FF-AAS não está sujeita ao mesmo problema. Em TS-FF-AAS, a suspensão é introduzida através de um capilar cerâmico, favorecendo o transporte do analito. Deste modo, não houve a necessidade de utilizar padronização interna durante as determinações de Cd, Cu e Pb em suspensões de amostras biológicas por TS-FF-AAS multielementar.

17 – Conclusões

A união da TS-FF-AAS com a FS-FAAS é um arranjo simples e interessante que permite o aumento da frequência analítica da TS-FF-AAS. O método analítico desenvolvido consiste de um procedimento rápido de homogeneização de suspensões seguido pela determinação multielementar por TS-FF-AAS. Em GFAAS, o volume de amostra inserido no atomizador é normalmente limitado em 20 µL. Na TS-FF-AAS multielementar, o volume de amostra introduzido (500 µL) é 25 vezes maior, levando a limites de detecção na faixa de poucos µg g⁻¹ e causando menos problemas com a heterogeneidade das suspensões. O método proposto pode ser considerado uma opção simples, rápida e de baixo custo para a análise de suspensões. No entanto, um número limitado de elementos pode ser determinado com sensibilidade adequada. Quando um procedimento de homogeneização que permite o preparo de várias amostras simultaneamente foi utilizado juntamente com a TS-FF-AAS sequencial rápida, uma melhora significativa da frequência analítica foi obtida. Isto é importante quando um grande número de amostras deve ser analisado rapidamente.

Referências Bibliográficas

1. Associação Brasileira de Bebidas. <http://www.abrabe.org.br/cachaca.php> (acesso 18.08.09).
2. LIMA NETO, B.S.C.; BEZERRA, W.D.; POLASTRO, L.R.; CAMPOS, P.; NASCIMENTO, R.F.; FURUYA, S.M.B. & FRANCO, D.W. "Copper in Brazilian sugar-cane spirits: quantification and control". *Quím. Nova*, **17**: 220, 1994.
3. LIMA, A.D.J.B.; CARDOSO, M.D.G.; GUIMARÃES, L.G.D.L.; DE LIMA, J.M. & NELSON, D.L. "Effect of copper removing substances on the amount of secondary compounds of sugar cane spirit". *Quím. Nova*, **32**: 845, 2009.
4. CUNHA, R.M.; SILVA, E.; ALMEIDA, E.; VALENCIA, E.P.E. & NASCIMENTO FILHO, V.F. "Determination of Fe, Cu and Zn in sugar-cane spirits commercialized in Southeastern Brazil by TXRF". *J. Radioanal. Nucl. Ch.*, **260**: 3, 2004.
5. Brasil, Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento, Instrução Normativa Nº 13 de 29/06/2005. Diário Oficial da União-Seção1, Nº 124 de 30 de Junho de 2005, pp. 3–4 (30.06.05).
6. HERNÁNDEZ-CARABALLO, E.A.; AVILA-GÓMEZ, R.M.; CAPOTE, T.; RIVAS, F. & PÉREZ, A.G. "Classification of Venezuelan spirituous beverages by means of discriminant analysis and artificial neural networks based on their Zn, Cu and Fe concentrations". *Talanta*, **60**, 1259, 2003.
7. NAVARRO-ALARCON, M.; VELASCO, C.; JODRAL, A.; TERRÉS, C.; OLALLA, M.; LOPEZ, H. & LOPEZ, M.C. "Copper, zinc, calcium and magnesium content of alcoholic beverages and byproducts from Spain: nutritional supply". *Food Addit. Contam.*, **24**: 685, 2007.
8. LABANCA, R.A.; GLÓRIA, M.B.A.; GOUVEIA, V.J.P & Afonso, .R.J.C.F. "Determination of copper and alcohol contents in sugar cane spirits produced in the state of Minas Gerais, Brazil". *Quím. Nova*, **29**: 1110, 2006.
9. HONORATO, F.A.; HONORATO, R.S.; PIMENTEL, M.F. & ARAUJO, M.C.U. "Analytical curve or standard addition method: how to elect and design — a strategy applied to copper determination in sugarcane spirits using AAS". *Analyst*, **127**: 1520, 2002.
10. WALSH, A. "The application of atomic absorption spectra to chemical analysis". *Spectrochim. Acta*, **7**: 108, 1955.
11. JONES, W.G. & WALSH, A. "Hollow-cathode discharges: the construction and characteristics of sealed-off tubes for use as spectroscopic light sources". *Spectrochim. Acta*, **16**: 249, 1960.
12. WELZ, B. & SPERLING, M. Atomic Absorption Spectrometry. 3a ed. Weinheim, Wiley-VCH, 1999. 941 p.
13. VANDECASTEELE, C. & BLOCK, C.B. Modern Methods for Trace Element Determination. 1a ed. Chichester, John Wiley & Sons Ltd, 1997. 93 p.
14. SKOOG, D.A.; HOLLER, F.J. & NIEMAN, T.A. 5a ed. Trad. I. C.; P. C. I.; R. H. A. S. & R. H. P. F. Porto Alegre, Bookman, 2002. cap. 9.
15. WELZ, B. "High-resolution continuum source AAS: the better way to perform atomic absorption spectrometry". *Anal. Bioanal. Chem.*, **381**: 69, 2005.
16. PROJAHN, H.D.; STEEG, U.; SANDERS, J. & VANCIAY, E. "Application of the reference-element technique for fast sequential flame atomic-absorption spectrometry". *Anal. Bioanal. Chem.*, **378**: 1083, 2004.
17. FERREIRA, S.L.C.; SOUSA, A.S.; BRANDÃO, G.C.; FERREIRA, H.S.; DOS SANTOS, W.N.L.; PIMENTEL, M.F. & Vale, M.G.R. "Direct determination of

- iron and manganese in wine using the reference element technique and fast sequential multi-element flame atomic absorption spectrometry". *Talanta*, **74**: 699, 2008.
18. ROCHA, F.R.P. & NÓBREGA, J.A. "Effects of solution physical properties on copper and chromium signals in flame atomic absorption spectrometry". *J. Chem. Educ.*, **73**: 982, 1996.
 19. FERREIRA, S.L.C.; DA SILVA, E.G.P.; PORTUGAL, L.A.; MATOS, G.D.; DE SANTANA, F.A.; KORN, M.G.A. & COSTA, A.C.S. "Evaluation and application of the internal standard technique for the direct determination of copper in fruit juices employing fast sequential flame atomic absorption spectrometry". *Anal. Lett.*, **41**: 1571, 2008.
 20. Agency for Toxic Substances and Disease Registry, Division of Toxicology/Toxicology Information Branch, Public Health Service, U.S. Department of Health and Human Services, *Toxicological profile for Arsenic*, Atlanta, 2000.
 21. NICKSON, R.; MCARTHUR, J.; BURGESS, W.; AHMED, K.M.; RAVENSCROFT P. & RAHMAN, M. "Arsenic poisoning of Bangladesh groundwater". *Nature*, **395**: 338, 1998.
 22. RICHARDSON, S.D. "Environmental mass spectrometry: emerging contaminants and current issues". *Anal. Chem.*, **82**: 4742, 2010.
 23. KERESZTES, S.; TATÁR, E.; MIHUCZ, V.G.; VIRÁG, I.; MAJDIK, C. & ZÁRAY, G. "Leaching of antimony from polyethylene terephthalate (PET) bottles into mineral water". *Sci. Total Environ.*, **407**: 4731, 2009.
 24. WESTERHOFF, P.; PRAPAIPONG, P.; SHOCK E. & HILLAIREAU, A. "Antimony leaching from polyethylene terephthalate (PET) plastic used for bottled drinking water". *Water Res.*, **42**: 551, 2008.
 25. SHOTYK, W. & KRACHLER, M. "Contamination of Bottled Waters with Antimony Leaching from Polyethylene Terephthalate (PET) Increases upon Storage". *Environ. Sci. Technol.*, **41**: 1560, 2007.
 26. SHOTYK, W.; KRACHLER M. & CHEN, B. "Contamination of Canadian and European bottled waters with antimony from PET containers". *J. Environ. Monitor.*, **8**: 288, 2006.
 27. HANSEN, H.R. & PERGANTIS, S.A. "Detection of antimony species in citrus juices and drinking water stored in PET containers". *J. Anal. Atom. Spectrom.*, **21**: 731, 2006.
 28. Agency for Toxic Substances and Disease Registry, Division of Toxicology/Toxicology Information Branch, Public Health Service, U.S. Department of Health and Human Services, *Toxicological profile for Antimony*, Atlanta, 1992.
 29. JONES, R.D. "Survey of antimony workers: mortality 1961-1992". *Occup. Environ. Med.*, **51**: 772, 1994.
 30. Conselho Nacional do Meio Ambiente – CONAMA. Resolução nº 357, 2005.
 31. DĚDINA, J. & TSALEV, D.L. "Hydride Generation Atomic Absorption Spectrometry". Wiley & Sons, Chichester, 1st edn., 1995.
 32. MURPHY, J.; SCHLEMMER, G.; SHUTTLER, I.L.; JONES P. & HILL, S.J. "Simultaneous multi-element determination of hydride-forming elements by "in-atomiser trapping" electrothermal atomic absorption spectrometry on an iridium-coated graphite tube". *J. Anal. Atom. Spectrom.*, **14**: 1593, 1999.
 33. FRESHI, C.D.; FRESHI, G.P.G. & GOMES NETO, J.A. "Evaluation of sample treatment for simultaneous flow injection hydride generation and

- determination of As, Bi, Sb and Se by GFAAS". *Atom. Spectrosc.*, **25**: 133, 2004.
34. ELSAYED, M.; BJÖRN E. & FRECH, W. "Optimisation of operating parameters for simultaneous multi-element determination of antimony, arsenic, bismuth and selenium by hydride generation, graphite atomiser sequestration atomic absorption spectrometry". *J. Anal. At. Spectrom.*, **15**: 697, 2000.
 35. SAVIO, M.; PACHECO, P.H.; MARTINEZ, L.D.; SMICHOWSKI, P. & GIL, R.A. "Optimization of methods to assess levels of As, Bi, Sb and Se in airborne particulate matter by FI-HG-ICP OES". *J. Anal. At. Spectrom.*, **25**: 1343, 2010.
 36. TYBURSKA, A.; JANKOWSKI, K.; RAMSZA, A.; RESZKE, E.; STRZELEC, M. & ANDRZEJCZUK, A. "Feasibility study of the determination of selenium, antimony and arsenic in drinking and mineral water by ICP-OES using a dual-flow ultrasonic nebulizer and direct hydride generation". *J. Anal. At. Spectrom.*, **25**: 210, 2010.
 37. ROJAS, I.; MURILLO, M.; CARRIÓN, N. & CHIRINOS, J. "Investigation of the direct hydride generation nebulizer for the determination of arsenic, antimony and selenium in inductively coupled plasma optical emission spectrometry". *Anal. Bioanal. Chem.*, **376**: 110, 2003.
 38. RIBEIRO, A.S.; VIEIRA M.A. & CURTIUS, A.J. "Determination of hydride forming elements (As, Sb, Se, Sn) and Hg in environmental reference materials as acid slurries by on-line hydride generation inductively coupled plasma mass spectrometry". *Spectrochim. Acta B*, **59**: 243, 2004.
 39. FORREST, A.; KINGSLEY, R. & SCHILLING, J. "Determination of selenium and tellurium in basalt rock reference materials by isotope dilution hydride generation-inductively coupled plasma-mass spectrometry (ID-HG-ICP-MS)". *Geostand. Geoanal. Res.*, **33**: 261, 2009.
 40. ABRANKÓ, L.; STEFÁNKA, Z. & FODOR, P. "Possibilities and limits of the simultaneous determination of As, Bi, Ge, Sb, Se, and Sn by flow injection-hydride generation-inductively coupled plasma-time-of-flight mass spectrometry (FI-HG-ICP-TOFMS)". *Anal. Chim. Acta*, **493**: 13, 2003.
 41. NIEDZIELSKI, P. "The new concept of hyphenated analytical system: Simultaneous determination of inorganic arsenic(III), arsenic(V), selenium(IV) and selenium(VI) by high performance liquid chromatography-hydride generation-(fast sequential) atomic absorption spectrometry during single analysis". *Anal. Chim. Acta*, **551**: 199, 2005.
 42. BRUNS, R. E.; SCARMINIO, I. S.; & BARROS NETO, B. "Statistical Design – Chemometrics". Elsevier Science, Amsterdam, 1st edn., 2006.
 43. MONTGOMERY, D.C. "Design and Analysis of Experiments". John Wiley & Sons, INC., Hoboken, 6th edn., 2005.
 44. GÜLER, C.; & ALPASLAN, M. "Mineral content of 70 bottled water brands sold on the Turkish market: Assessment of their compliance with current regulations". *J. Food Compos. Anal.*, **22**: 728, 2009.
 45. FRENGSTAD, B.S.; LAX, K.; TARVAINEN, T.; JÆGER, Ø. & WIGUM, B.J. "The chemistry of bottled mineral and spring waters from Norway, Sweden, Finland and Iceland". *J. Geochem. Explor.*, **107**: 350, 2010.
 46. GÁSPÁR, A. & BERNDT, H. "Thermospray flame furnace atomic absorption spectrometry (TS-FF-AAS) - a simple method for trace element determination with microsamples in the $\mu\text{g L}^{-1}$ concentration range".

- Spectrochim. Acta Part B*, **55**: 587, 2000.
47. DAVIES, J. & BERNDT, H. "Improvements in thermospray flame furnace atomic absorption spectrometry". *Anal. Chim. Acta*, **479**: 215, 2003.
 48. PEREIRA-FILHO, E.R.; BERNDT, H. & ARRUDA, M.A.Z. "Simultaneous sample digestion and determination of Cd, Cu and Pb in biological samples using thermospray flame furnace atomic absorption spectrometry (TS-FF-AAS) with slurry sample introduction". *J. Anal. Atom. Spectrom.*, **17**: 1308, 2002.
 49. AMORIM, F.A.C. & BEZERRA, M.A. "Online preconcentration system for determining ultratrace amounts of Cd in vegetal samples using thermospray flame furnace atomic absorption spectrometry". *Microchim. Acta*, **159**: 183, 2007.
 50. WU, P.; ZHANG, Y.; LV, Y. & HOU, X. "Cloud point extraction-thermospray flame quartz furnace atomic absorption spectrometry for determination of ultratrace cadmium in water and urine". *Spectrochim. Acta Part B*, **61**: 1310, 2006.
 51. WEN, X.; WU, P.; XU, K.; WANG, J. & HOU, X. "On-line precipitation-dissolution in knotted reactor for thermospray flame furnace AAS for determination of ultratrace cadmium". *Microchem. J.*, **91**: 193, 2009.
 52. GONZÁLEZ, E.; AHUMADA, R. & MEDINA, V. "Espectrofotometría de absorción atómica con tubo en la llama: aplicación en la determinación total de cadmio, plomo y zinc en aguas frescas, agua de mar y sedimentos marinos". *Quim. Nova*, **27**: 873, 2004.
 53. PETRUCELLI, G.A.; POPPI, R.J.; MINCATO, R.L. & PEREIRA-FILHO, E.R. "TS-FF-AAS and multivariate calibration: a proposition for sewage sludge slurry sample analyses". *Talanta*, **71**: 620, 2007.
 54. NASCENTES, C.C.; KAMOGAWA, M.Y.; FERNANDES, K.G.; ARRUDA, M.A.Z.; NOGUEIRA, A.R.A. & NÓBREGA, J.A. "Direct determination of Cu, Mn, Pb, and Zn in beer by thermospray flame furnace atomic absorption spectrometry". *Spectrochim. Acta Part B*, **60**: 749, 2005.
 55. SCHIAVO, D.; NEIRA, J.Y. & NÓBREGA, J.A. "Direct determination of Cd, Cu and Pb in wines and grape juices by thermospray flame furnace atomic absorption spectrometry". *Talanta*, **76**: 1113, 2008.
 56. PEREIRA, M.G.; PEREIRA-FILHO, E.R. & ARRUDA, M.A.Z. "Determination of cadmium and lead at low levels by using preconcentration at fullerene coupled to thermospray flame furnace atomic absorption spectrometry". *Spectrochim. Acta Part B*, **59**: 515, 2004.
 57. NASCENTES, C.C.; ARRUDA, M.A.Z.; NOGUEIRA, A.R.A. & NÓBREGA, J.A. "Direct determination of Cu and Zn in fruit juices and bovine milk by thermospray flame furnace atomic absorption spectrometry". *Talanta*, **64**: 912, 2004.
 58. DA-COL, J.A.; DOMENE, S.M.A. & PEREIRA-FILHO, E.R. "Fast determination of Cd, Fe, Pb, and Zn in food using AAS". *Food Anal. Methods*, **2**: 110, 2009.
 59. GOMES, M.S. & PEREIRA-FILHO, E.R. "Ti and Ni tubes combined in thermospray flame furnace atomic absorption spectrometry (TS-FF-AAS) for the determination of copper in biological samples". *Microchem. J.*, **93**: 93, 2009.
 60. MIRANDA, K.; BUENO, M.I.M.S. & PEREIRA-FILHO, E.R. "Relevant information of concomitants obtained from background signal using

- thermospray flame furnace atomic absorption spectrometry (TS-FF-AAS) and chemometric tools". *J. Anal. At. Spectrom.*, **24**: 304, 2009.
61. CAMPILLO, N.; MUÑOZ-DELGADO, E.; LÓPEZ-GARCÍA, I.; BAEZA-ALBARRACÍN, Y. & HERNÁNDEZ-CÓRDOBA, M. "Suspensions of biological tissues in alkaline medium for the determination of copper, manganese and cobalt by electrothermal atomic absorption spectrometry". *Microchim. Acta*, **171**: 71, 2010.
 62. KOLLANDER, B.; ANDERSSON, M. & PETTERSSON, J. "Fast multi-element screening of non-digested biological materials by slurry introduction to ICP-AES". *Talanta*, **80**: 2068, 2010.
 63. AGUILERA DE BENZO, Z.; FRAILE, R.; CARRION, N. & LORETO, D. "Determination of lead in whole blood by electrothermal atomisation atomic absorption spectrometry using tube and platform atomisers and dilution with Triton X-100". *J. Anal. At. Spectrom.*, **4**: 397, 1989.
 64. FUWA, K. & VALEE, B.L. "The physical basis of analytical atomic absorption spectrometry. The pertinence of the Beer- Lambert law". *Anal. Chem.*, **35**: 942, 1963.
 65. KOROPCHAK, J.A. & WINN, D.H. "Thermospray sample introduction for atomic spectrometry- trends in analytical chemistry". *Trends Anal. Chem.*, **6**: 171, 1987.
 66. VESTAL, M.L. & FERGUSON, G. "Thermospray liquid chromatograph/mass spectrometer interface with direct electrical heating of the capillary, *Anal. Chem.*, **57**: 2373, 1985.
 67. GÁSPÁR, A.; SZÉLEZ, E. & BERNDT, H. "Analysis of submicroliter samples using micro thermospray flame furnace atomic absorption spectrometry". *Anal. Bioanal. Chem.*, **372**: 136, 2002.
 68. TARLEY, C.R.T. & ARRUDA, M.A.Z. "A sensitive method for cadmium determination using an on-line polyurethane foam preconcentration system and thermospray flame furnace atomic absorption spectrometry". *Anal. Sci.*, **20**: 961, 2004.
 69. IVANOVA, E.; BERNDT, H. & PULVERMACHER, E. "Air driven on-line separation and preconcentration on a C18 column coupled with thermospray flame furnace AAS for the determination of cadmium and lead at $\mu\text{g L}^{-1}$ levels". *J. Anal. Atom. Spectrom.*, **19**: 1507, 2004.
 70. LOBO, F.A.; VILAFRANCA, A.C.; OLIVEIRA, A.P. & MORAES, M. "Sistema TS-FF-AAS com chama acetileno-ar como alternativa em relação à chama acetileno-óxido nitroso em FAAS na determinação de estanho". *Eclética*, **30**: 61, 2005.
 71. TARLEY, C.R.T.; FIGUEIREDO, E.C. & ARRUDA, M.A.Z. "Thermospray flame furnace-AAS determination of copper after on-line sorbent preconcentration using a system optimized by experimental designs". *Anal. Sci.*, **21**: 1337, 2005.
 72. BRANCALION, M.L. & ARRUDA, M.A.Z. "Evaluation of medicinal plant decomposition efficiency using microwave ovens and mini-vials for Cd determination by TS-FF-AAS". *Microchim. Acta*, **150**: 283, 2005.
 73. BERNDT, H. & PULVERMACHER, E. "Sample introduction assisted by compressed air in flame furnace AAS: a simple and sensitive method for the determination of traces of toxic elements". *Anal. Bioanal. Chem.*, **382**: 1826, 2005.
 74. DONATI, G.L.; NASCENTES, C.C.; NOGUEIRA, A.R.A.; ARRUDA, M.A.Z. &

- NÓBREGA, J.A. "Acid extraction and cloud point preconcentration as sample preparation strategies for cobalt determination in biological materials by thermospray flame furnace atomic absorption spectrometry". *Microchem. J.*, **82**: 189, 2006.
75. PETRUCELLI, G.A.; STOCCO, P.K.; BUENO, M.I.M.S. & PEREIRA-FILHO, E.R. "Tube atomizers in thermospray flame furnace atomic absorption spectrometry: characterization using x-ray fluorescence, scanning electron microscopy and chemometrics". *J. Anal. Atom. Spectrom.*, **21**: 1298, 2006.
76. TARLEY, C.R.T.; BARBOSA, A.F.; SEGATELLI, M.G.; FIGUEIREDO, E.C. & LUCCAS, P.O. "Highly improved sensitivity of TS-FF-AAS for Cd(II) determination at ng L⁻¹ levels using a simple flow injection minicolumn preconcentration system with multiwall carbon nanotubes". *J. Anal. Atom. Spectrom.*, **21**: 1305, 2006.
77. MATOS, G.D. & ARRUDA, M.A.Z. "Online preconcentration/determination of cadmium using grape bagasse in a flow system coupled to thermospray flame furnace atomic absorption spectrometry". *Spectrosc. Lett.*, **39**: 755, 2006.
78. ROSINI, F.; NASCENTES, C.C.; NEIRA, J.Y. & NÓBREGA, J.A. "Evaluation of selenium behavior in thermospray flame furnace atomic absorption spectrometry". *Talanta*, **73**: 845, 2007.
79. BRANCALION, M.L.; SABADINI, E. & ARRUDA, M.A.Z. "Description of the thermospray formed at low flow rate in thermospray flame furnace atomic absorption spectrometry based on high-speed images". *Anal. Chem.*, **79**: 6527, 2007.
80. WU, P.; GAO, Y.; CHENG, G.; YANG, W.; LV, Y. & HOU, X. "Selective determination of traces amounts of silver in complicated matrices by displacement-cloud point extraction coupled with thermospray flame furnace atomic absorption spectrometry". *J. Anal. Atom. Spectrom.*, **23**: 752, 2008.
81. MATOS, G.D. & ARRUDA, M.A.Z. "Improvements in cobalt determination by thermospray flame furnace atomic absorption spectrometry using an on-line derivatization strategy". *Talanta*, **76**: 475, 2008.
82. COELHO, L.M. & BEZERRA, M.A.; ARRUDA, M.A.Z.; BRUNS, R.E. & FERREIRA, S.L.C. "Determination of Cd, Cu, and Pb after cloud point extraction using multielemental sequential determination by thermospray flame furnace atomic absorption spectrometry (TS-FF-AAS)". *Sep. Sci. Technol.*, **43**: 815, 2008.
83. LOBO, F.A.; VILLAFRANCA, A.C.; DE OLIVEIRA, A.P. & DE MORAES, M. "Evaluation and application of TS-FF-AAS system using ceramic tube as atomization cell for tin determination in canned foods". *Atom. Spectrosc.*, **29**: 186, 2008.
84. SCHIAVO, D. & NÓBREGA, J.A. "Interferences in thermospray flame furnace AAS: Co and Mn behavior". *Spectrosc. Lett.*, **41**: 354, 2008.
85. WEN, X.; WU, P.; XU, K.; WANG, J. & HOU, X. "On-line precipitation-dissolution in knotted reactor for thermospray flame furnace AAS for determination of ultratrace cadmium". *Microchem. J.*, **91**: 193, 2009.
86. DA-COL, J.A.; DOMENE, S.M.A.; PEREIRA-FILHO, E.R. "Fast determination of Cd, Fe, Pb, and Zn in food using AAS". *Food Anal. Method.*, **2**: 110, 2009.
87. GOMES, M.S.; PEREIRA-FILHO, E.R. "Ti and Ni tubes combined in thermospray flame furnace atomic absorption spectrometry (TS-FF-AAS) for the determination of copper in biological samples". *Microchem. J.*, **93**: 93,

- 2009.
88. SOUZA, S.N.P; FADINI, P.S.; PEREIRA-FILHO, E.R. "Cd and Pb determination: Evaluation of sediments from Jundiaí and Pirai streams and sludge from a wastewater treatment plant". *Quim. Nova*, **32**: 2367, 2009.
 89. VIÑAS, P.; PARDO-MARTÍNEZ, M. & HERNÁNDEZ-CÓRDOBA, M. "Determination of copper, cobalt, nickel, and manganese in baby food slurries using electrothermal atomic absorption spectrometry". *J. Agric. Food Chem.*, **48**: 5789, 2000.
 90. CAMPILLO, N.; VIÑAS, P.; LÓPEZ-GARCÍA, I. & HERNÁNDEZ-CÓRDOBA, M. "Determination of arsenic in biological fluids by electrothermal atomic absorption spectrometry". *Analyst*, **125**: 313, 2000.
 91. TADEO, J.L.; SÁNCHEZ-BRUNETE, C.; ALBERO, B. & GARCÍA-VALCÁRCEL, A.I. "Application of ultrasound-assisted extraction to the determination of contaminants in food and soil samples". *J. Chromatogr. A*, **1217**: 2415, 2010.
 92. ALEIXO, P.C.; SANTOS JR., D.; TOMAZELLI, A.C.; RUFINI, I.A.; BERNDT, H. & KRUG, F.J. "Cadmium and lead determination in foods by beam injection flame furnace atomic absorption spectrometry after ultrasound-assisted sample preparation". *Anal. Chim. Acta*, **512**: 329, 2004.