

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

**Aspectos analíticos em TS-FF-AAS: estudo de  
interferências e aplicação para a determinação de  
metais em vinhos e sucos**

DANIELA SCHIAVO\*

Dissertação apresentada como parte dos  
requisitos para a obtenção do título de  
MESTRE EM CIÊNCIAS, área de  
concentração: QUÍMICA ANALÍTICA.

Orientador: Prof. Dr. Joaquim de Araújo Nóbrega

\* bolsista CAPES

**São Carlos – SP**

**2007**

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

S329aa

Schiavo, Daniela.

Aspectos analíticos em TS-FF-AAS : estudo de interferências e aplicação para a determinação de metais em vinhos e sucos / Daniela Schiavo. -- São Carlos : UFSCar, 2007.  
80 f.

Dissertação (Mestrado) -- Universidade Federal de São Carlos, 2007.

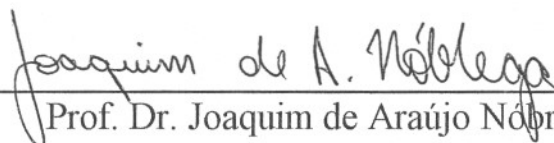
1. Espectroscopia de absorção atômica. 2. TS-FF-AAS. 3. Forno sobre chama. 4. Interferência. 5. Vinho. 6. Suco. I. Título.

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

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

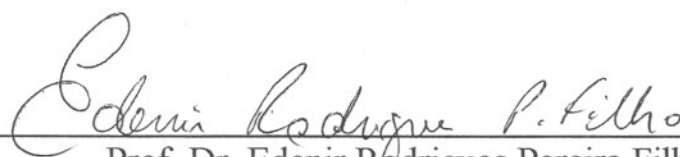
---

*Assinaturas dos membros da banca examinadora que avaliaram e aprovaram a defesa de dissertação de mestrado da candidata **Daniela Schiavo** realizado em 28 de fevereiro de 2007:*



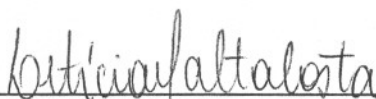
---

Prof. Dr. Joaquim de Araújo Nóbrega



---

Prof. Dr. Edení Rodrigues Pereira Filho



---

Profa. Dra. Leticia Malta Costa

Viver, não é doar um pouco.....é doar sempre.  
Não é apenas suportar a ofensa ..... é esquecê-la.  
Não é compadecer .....é ajudar, mesmo que isso se torne incômodo.  
Viver, não é simplesmente sorrir.....é mais do que isso, é fazer alguém sorrir.  
Viver não é ajudar somente quem está perto, mas estar sempre perto para ajudar.  
Quem realmente vive e ama, não faz o que pode .....faz o impossível.  
Viver é sempre dizer aos outros que eles são importantes e o quanto significa  
para você, perceba que a felicidade é uma coisa tão simples, que você pode  
alcançá-la num só gesto, desde que esse gesto transmita tudo de bom que existe  
em você, desde que signifique SINCERIDADE. Desde que demonstre AMOR.

“O tempo, a ausência e a distância, jamais poderão tirar do meu coração a  
imagem daqueles que souberam cativar a minha amizade”.

Charles Chaplin

À Deus pela vida e força que me motiva nos momentos difíceis

À minha mãe, Mariza, pelo incentivo, ensinamentos de vida, carinho e  
amor.

À minha avó, Milza (*in memoriam*), por ter me criado com tanto amor,  
dedicação e carinho.....muita saudade.

Ao meu irmão, Gustavo, pelo companheirismo, amizade e carinho.

## AGRADECIMENTOS

Ao Prof. Dr. Joaquim de Araújo Nóbrega pela orientação, amizade, paciência, carinho e as valiosas conversas que nos fazem crescer como profissional e ser humano.

À Profa. Dra. Ana Rita de Araújo Nogueira pela amizade e apoio.

Ao Prof. Dr. Edenir Rodrigues Pereira Filho pela colaboração no trabalho realizado, sugestões, amizade e paciência.

Ao Prof. Dr. José Yamil Neira pelos ensinamentos, pelo trabalho realizado na sua passagem pelo Brasil e pela amizade.

À Profa. Dra. Quézia Bezerra Cass pela preocupação, cuidados, carinho e amizade.

Aos meus “tios” Milton e Dirce pela preocupação, atenção e carinho.

A todos os amigos do Grupo de Análise Instrumental Aplicada: Adriana, Alexandra, Allen, Andréa Oliveira, Caio, Carla, Cláudia, Edivan, Eveline, Fernanda, Gilberto, José Augusto, Lílian, Mário, Marcos, Rodolfo, Silmara, Silvéria, Silvia, Simone, Telma e Wladiana e aos ex-Gaia: Andréa, Kelly, Mirian e Sherlan pelas risadas, sugestões, apoio e amizade. Agradeço em especial a Fabiana e o George pela paciência, apoio e amizade.

Aos amigos da turma de Química de 2001.

Aos amigos do Departamento de Química.

Aos colegas de CCDM: Fernando, Rose e Telma pela paciência, apoio e amizade.

A todos os professores do Programa de Pós-Graduação em Química da UFSCar pela oportunidade e contribuição para a minha formação acadêmica.

Aos funcionários do Departamento de Química, às secretárias da Pós-Graduação: Ariane, Cristina e Luciani pela paciência e colaboração e em especial a técnica Dorái.

Ao Programa de Pós-Graduação em Química da UFSCar pela oportunidade.

À Coordenação de Aperfeiçoamento de Pessoal de Nível Superior pela bolsa de estudo concedida.

À Fundação de Amparo à Pesquisa do Estado de São Paulo pelos recursos fornecidos para a realização do projeto de pesquisa sobre TS-FF-AAS (Processo nº 03/00326-1).

**MUITO OBRIGADA**

**LISTA DE ABREVIATURAS**

<b>AAS</b>	Espectrometria de absorção atômica
<b>APDC</b>	Pirrolidinaditiocarbamato de amônio
<b>CFA-C</b>	Aminas terciárias solúveis em água
<b>DDTPA</b>	O, O – dietilditiofosfato de amônio
<b>ETAAS</b>	Espectrometria de absorção atômica com atomização eletrotérmica
<b>FAAS</b>	Espectrometria de absorção atômica com chama
<b>GFAAS</b>	Espectrometria de absorção atômica com forno de grafite
<b>OMS</b>	Organização Mundial da Saúde
<b>TS-FF-AAS</b>	Espectrometria de absorção atômica com forno tubular na chama e aerossol térmico



**LISTA DE TABELAS**

<b>Tabela 3.4.1.</b>	Elementos determinados por TS-FF-AAS em diferentes amostras e seus respectivos limites de detecção, volume de amostra, frequência analítica e estratégia de calibração .....	14
<b>Tabela 4.1.1.</b>	Parâmetros instrumentais recomendados pelo fabricante para a determinação de Co, Cu e Mn por FAAS .....	25
<b>Tabela 4.1.2.</b>	Parâmetros instrumentais para Co e Mn por TS-FF-AAS .....	26
<b>Tabela 4.2.1.</b>	Composição da liga de Ni 200 (Catálogo Camacam Industrial Ltda.), utilizada na confecção do tubo atomizador do sistema TS-FF-AAS .....	27
<b>Tabela 4.2.2.</b>	Propriedades físicas da liga de Ni 200 .....	27
<b>Tabela 4.2.3.</b>	Propriedades físicas do capilar cerâmico de Al <sub>2</sub> O <sub>3</sub> utilizado no sistema TS-FF-AAS .....	29
<b>Tabela 5.1.1.</b>	Parâmetros instrumentais para Co e Mn por TS-FF-AAS .....	33
<b>Tabela 5.4.1.</b>	Parâmetros instrumentais para as medidas de Cu, Cd e Pb por TS-FF-AAS .....	34
<b>Tabela 6.1.1.</b>	Sinais de absorvância (média ± desvio padrão, n = 3) obtidos para Co e Mn por TS-FF-AAS e FAAS .....	37
<b>Tabela 6.1.2.</b>	Percentuais de interferências em FAAS e TS-FF-AAS sobre o sinal analítico de Co e Mn .....	45

<b>Tabela 6.5.1.</b>	Planejamento fatorial para estudos com concomitantes sobre o sinal analítico de Cu .....	53
<b>Tabela 6.5.2.</b>	Percentuais de interferências por TS-FF-AAS sobre o sinal analítico de Cu em meio ácido nítrico 0,014 mol L <sup>-1</sup> e etanol 2% (v/v) .....	59
<b>Tabela 6.6.1</b>	Figuras de mérito para as determinações de Cu, Cd e Pb por TS-FF-AAS em amostras de vinho .....	61
<b>Tabela 6.6.2.</b>	Figuras de mérito para as determinações de Cu, Cd e Pb por TS-FF-AAS em amostras de sucos de uva .....	61
<b>Tabela 6.7.1.</b>	Figuras de mérito para a determinação de Cu por TS-FF-AAS e FAAS .....	63
<b>Tabela 6.8.1</b>	Figuras de mérito para a determinação de Cd e Pb empregando diferentes estratégias de calibração .....	65
<b>Tabela 6.9.1.</b>	Determinação direta de Cu, Cd e Pb em amostras de vinho tinto e experimentos de adição e recuperação .....	67
<b>Tabela 6.9.2.</b>	Avaliação da exatidão de Cd em vinho por TS-FF-AAS e GF AAS .....	68
<b>Tabela 6.9.3.</b>	Determinação de Cu, Cd e Pb em amostras de sucos de uva e experimentos de adição e recuperação .....	70

## LISTA DE FIGURAS

<b>Figura 3.4.1.</b>	Levantamento sobre (A) número de trabalhos publicados referentes a cada elemento, (B) número de trabalhos publicados por ano ....	21
<b>Figura 4.2.1.</b>	Esquema do sistema TS-FF-AAS .....	28
<b>Figura 4.2.2.</b>	Fotografias da montagem do sistema TS-FF-AAS: (a) sistema em funcionamento e (b) tubo de Ni sobre a chama e capilar cerâmico.....	29
<b>Figura 6.1.1.</b>	Efeito dos concomitantes Na(I), K(I), Ca(II), Mg(II), Fe(III), Al(III) e Zn(II) sobre o sinal analítico de Co por FAAS e TS-FF-AAS ..	40
<b>Figura 6.1.2.</b>	Efeito dos concomitantes Na(I), K(I), Ca(II), Mg(II), Fe(III), Al(III) e Zn(II) sobre o sinal analítico de Mn por FAAS e TS-FF-AAS ..	43
<b>Figura 6.2.1.</b>	Influência da concentração de etanol sobre os sinais analíticos para Cu 2,0 mg L <sup>-1</sup> por FAAS e TS-FF-AAS .....	46
<b>Figura 6.2.2.</b>	Influência da concentração de etanol sobre os sinais analíticos de Cd 25 µg L <sup>-1</sup> e Pb 500 µg L <sup>-1</sup> por TS-FF-AAS .....	47
<b>Figura 6.3.1.</b>	Influência do meio aquoso, nítrico e etanólico sobre os sinais analíticos para Cu, Cd e Pb .....	49
<b>Figura 6.4.1.</b>	Influência da vazão do carregador sobre os sinais analíticos de Cu por TS-FF-AAS. Carregador = ar .....	50
<b>Figura 6.5.1.</b>	Sinais transientes para Cu em soluções contendo diferentes concomitantes em meio ácido nítrico 0,014 mol L <sup>-1</sup> .....	55

- Figura 6.5.2.** Sinais transientes para Cu em soluções contendo diferentes concomitantes em meio etanol 2% (v/v) ..... 57
- Figura 6.5.3.** Gráfico da densidade de probabilidade em uma distribuição normal para Cu em meio ácido nítrico  $0,014\text{mol L}^{-1}$  e etanol 2% (v/v) ... 58
- Figura 6.8.1.** Curvas de calibração para Cd e Pb utilizando diferentes estratégias de calibração ..... 64

## RESUMO

### ASPECTOS ANALÍTICOS EM TS-FF-AAS: ESTUDO DE INTERFERÊNCIAS E APLICAÇÃO PARA A DETERMINAÇÃO DE METAIS EM VINHOS E SUCOS

Este trabalho de pesquisa avaliou o efeito de concomitantes em espectrometria de absorção atômica com chama (FAAS) e espectrometria de absorção atômica com forno tubular na chama e aerossol térmico (TS-FF-AAS) sobre a determinação de Co, Cu e Mn. Identificaram-se os principais concomitantes considerando-se os elementos tipicamente presentes em amostras de alimentos e de bebidas e os efeitos causados sobre os sinais analíticos desses analitos. Um aerossol térmico foi gerado em um capilar cerâmico aquecido condutivamente por contato com um tubo de níquel posicionado sobre a chama ar-acetileno. A solução das amostras foi introduzida no forno tubular sem a necessidade de um nebulizador. Além disso, a sensibilidade também foi melhorada pelo maior tempo de residência da nuvem atômica no interior do atomizador. O estudo evidenciou a ocorrência de severos efeitos de interferências para todos os analitos. Esses processos de interferências exigem a aplicação de procedimentos de separação ou estratégias especiais de calibração. Em seguida, a aplicabilidade da TS-FF-AAS foi avaliada para a determinação direta de Cu, Cd e Pb em amostras de vinhos e de sucos de uva. O efeito causado pelo etanol foi avaliado e as amostras foram diluídas previamente às medidas. O procedimento adotado não requer nenhum pré-tratamento da amostra. A partir das condições otimizadas e aplicando-se o método das adições de analito, o procedimento foi aplicado para amostras de vinhos do Brasil e do Chile e foram obtidos limites de detecção (LOD) de 12,9; 1,76 e 5,32  $\mu\text{g L}^{-1}$  para Cu, Cd e Pb, respectivamente ( $n = 14$ ). Os desvios padrão relativos (RSD, %) foram 2,7; 2,1 e 2,6 para Cu, Cd e Pb, respectivamente ( $n = 6$ ). Os LOD's para as amostras de sucos de uva foram 13,7; 0,90 e 5,55  $\mu\text{g L}^{-1}$  e os desvios padrão relativo (RSD, %) foram 3,3; 2,0 e 2,3 para Cu, Cd e Pb, respectivamente ( $n = 6$ ). O procedimento proposto se mostrou eficiente e possibilitou a determinação de Cu, Cd e Pb em baixas concentrações nas amostras de vinhos e sucos de uva. A frequência foi 45 determinações  $\text{h}^{-1}$  e a exatidão foi comprovada por experimentos de adição e recuperação.

## ABSTRACT

### ANALYTICAL ASPECTS OF TS-FF-AAS: STUDY OF INTERFERENCES AND APPLICATION FOR DETERMINATIONS OF METALS IN WINES AND GRAPE JUICES

In this work, it was evaluated the effects of interferences caused by major and minor constituents on Co, Cu and Mn atomized by flame atomic absorption spectrometry (FAAS) and by thermospray flame furnace atomic absorption spectrometry (TS-FF-AAS). The main concomitants were chosen according to the typical concentrations found in foods and beverages. The liquid samples were propelled by a peristaltic pump through a ceramic capillary conductively heated by a flame and then into a nickel tube. The nickel tube was positioned on a lab-made stainless steel support with four ceramic pins on the flame burner. The thermospray was generated inside the heated ceramic capillary in contact with the nickel tube. The samples were introduced into the flame heated tube without the need of a nebulizer. Additionally, the sensitivity was significantly improved by increasing the residence time of the free analyte atoms in the observation zone. Severe interference effects were observed for all analytes. These interference processes require the application of either previous separation steps or special strategies of calibration. Afterwards, the applicability of TS-FF-AAS was evaluated for direct determination of Cu, Cd and Pb in wines and grape juices. The developed procedure did not require any step of digestion. The effect of ethanol was evaluated and samples were properly diluted before measurements. All determinations were carried out adopting optimized conditions and quantification was based on the standard additions method. Limits of detection (LOD) of 12.9, 1.7 and 5.32  $\mu\text{g L}^{-1}$  ( $n = 14$ ) for Cu, Cd and Pb, respectively, were obtained using optimized conditions for wine samples. Relative standard deviations (RSD, %) of 2.7, 2.1 and 2.6% for Cu, Cd and Pb were obtained ( $n = 6$ ). Limits of detection (LOD) for grape juice samples were 13.7, 0.90 and 5.55  $\mu\text{g L}^{-1}$  and relative standard deviations (RSD, %) of 3.3, 2.0 and 2.3 for Cu, Cd and Pb, respectively. The analytical throughput was 45 determinations  $\text{h}^{-1}$  and accuracy was proved by addition-recovery experiments.

## ÍNDICE

<b>1 – Introdução .....</b>	<b>1</b>
<b>2 – Objetivo .....</b>	<b>5</b>
<b>3 – Revisão Bibliográfica .....</b>	<b>7</b>
3.1 – Espectrometria de absorção atômica .....	8
3.2 – Espectrometria de absorção atômica com chama .....	9
3.3 – Espectrometria de absorção atômica com forno tubular na chama e aerossol térnico (TS-FF-AAS) .....	10
3.4 – Aplicações em espectrometria de absorção atômica com forno tubular na chama e aerossol térnico (TS-FF-AAS).....	13
3.5 – Importância da determinação de Cu, Cd e Pb em amostras de vinho por TS-FF- AAS .....	22
<b>4 – Materiais e Métodos .....</b>	<b>24</b>
4.1 – Equipamentos e acessórios .....	25
4.2 – Configuração do sistema TS-FF-AAS .....	26
4.3 – Reagentes e soluções .....	29
4.4 – Amostras .....	30
4.5 – Descontaminação dos materiais .....	30
<b>5 – Procedimento Experimental .....</b>	<b>31</b>
5.1 – Estudo de interferentes sobre o sinal analítico de Co e Mn por FAAS e TS-FF-AAS .....	32
5.2 – Influência da concentração de etanol sobre o sinal analítico de Cu, Cd e Pb ..	32
5.3 – Estudo da influência do meio sobre os sinais analíticos de Cu, Cd e Pb .....	33
5.4 – Otimização de parâmetros como vazão do carregador, volume da amostra e tempo de medida .....	33

5.5 – Estudo de interferentes sobre o sinal analítico de Cu em meio alcoólico e ácido nítrico utilizando planejamento fatorial .....	34
5.6 – Preparo de amostras .....	34
<b>6 – Resultados e Discussão .....</b>	<b>36</b>
6.1 – Estudo do efeito de interferentes sobre os sinais analíticos de Co e Mn por FAAS e TS-FF-AAS .....	37
6.2 – Influência da concentração de etanol sobre os sinais analíticos de Cu, Cd e Pb .....	46
6.3 – Estudo da influência do meio aquoso, nítrico e etanólico sobre os sinais analíticos de Cu, Cd e Pb .....	47
6.4 – Otimização de parâmetros como vazão do carregador, volume de amostra e tempo de medida .....	49
6.5 – Estudo do efeito de concomitantes sobre os sinais analíticos de Cu em meio alcoólico e ácido nítrico utilizando planejamento fatorial .....	51
6.6 – Figuras de mérito para as determinações de Cu, Cd e Pb em amostras de vinhos e sucos de uva.....	60
6.7 – Comparação entre TS-FF-AAS e FAAS .....	62
6.8 – Avaliação da estratégia de calibração .....	63
6.9 – Determinação de Cu, Cd e Pb em amostras de vinho e sucos de uva por TS-FF-AAS .....	66
<b>7 – Conclusões .....</b>	<b>71</b>
<b>8 – Referências Bibliográficas .....</b>	<b>74</b>



## Capítulo 1

---

# *INTRODUÇÃO*

## 1 – INTRODUÇÃO

A química analítica vem crescendo ao longo dos anos com o desenvolvimento de novos métodos e aperfeiçoamento daqueles já existentes e encontra aplicações em diversas áreas da ciência e tecnologia. A necessidade por análises mais rápidas e por resultados exatos e precisos faz com que as técnicas instrumentais evoluam, possibilitando a determinação de um grande número de analitos presentes em variadas concentrações em diferentes tipos de amostras de maneira adequada e precisa.

A espectrometria de absorção atômica com chama (FAAS) é uma das técnicas mais empregada para análise elementar, pois é seletiva, rápida, pode ser facilmente automatizada, apresenta baixos custos de aquisição e manutenção, é robusta e geralmente as interferências podem ser controladas.<sup>1</sup>

Entretanto, a sensibilidade da FAAS convencional é baixa, sendo limitada por vários fatores. Quando uma amostra líquida é nebulizada para introdução na chama, os átomos gerados pelos analitos permanecem pouco tempo na zona de observação (*ca.* 3-5 ms), portanto, o tempo é insuficiente para que o analito seja atomizado completamente e, somente a concentração de átomos no estado estacionário é medida. Outro fator que afeta a sensibilidade é a ineficiência do processo de nebulização, no qual o aerossol que alcança a chama contém somente cerca de 5 – 10% do volume da solução original.<sup>2-3</sup> Somente partículas do aerossol com diâmetro ao redor de 5  $\mu\text{m}$  atingem a chama. Partículas do aerossol de maiores dimensões são descartadas, pois além de não serem atomizadas com eficiência, causariam processos de espalhamento de radiação na chama.

Algumas alternativas foram desenvolvidas buscando reduzir tais limitações e, conseqüentemente, aumentando a sensibilidade da FAAS. Um dos trabalhos pioneiros foi proposto por DELVES<sup>4</sup> em 1970. No método proposto ocorre a introdução total da amostra e a eficiência do processo de atomização é alta. Além disso, a amostra pode ser preparada diretamente no copo metálico (Ni), diminuindo problemas de contaminação.

No que se refere ao desenvolvimento de novos métodos, alguns trabalhos criativos e inovadores foram propostos por GASPAR & BERNDT<sup>5-6</sup> para melhorar a

sensibilidade dessa técnica pelo aumento da eficiência na geração e transporte do aerossol e aumento do tempo de residência da amostra na zona de observação.

Surgiu então, a espectrometria de absorção atômica com forno tubular na chama e aerossol térmico (TS-FF-AAS), na qual um aerossol é gerado pelo calor absorvido em um capilar cerâmico aquecido pelo contato direto com um tubo de níquel, o qual se encontra posicionado sobre a chama de um espectrômetro de absorção atômica e que funciona como uma célula de atomização. A sensibilidade é melhorada, pois a amostra é introduzida diretamente no forno tubular sem a necessidade de um nebulizador, ou seja, não há perdas devido à ineficiência do processo de nebulização. Além disso, o tempo de residência da nuvem atômica na superfície do tubo atomizador é maior, portanto há mais tempo disponível para que ocorram os processos físicos-químicos de atomização do analito.<sup>5-7</sup>

A TS-FF-AAS apresenta algumas limitações como, por exemplo, a temperatura na superfície do tubo atomizador ser de aproximadamente 1000 °C e no interior do mesmo de 1352 °C<sup>8</sup>, o que torna a técnica aplicável e efetiva para elementos voláteis (Ag, As, Bi, Cd, Hg, Se, Te, Pb, Tl e Zn).<sup>9</sup> Para obtenção de sensibilidade adequada na determinação de analitos de baixa volatilidade é necessário efetuar uma etapa de derivatização para formar espécies mais voláteis desses analitos. Nesse caso, a formação de um complexo volátil por reação entre o íon metálico e um composto orgânico, pode aumentar a eficiência de atomização possibilitando a determinação de elementos refratários, redução de efeitos de matriz e o aumento da sensibilidade.<sup>10</sup>

No trabalho desenvolvido, realizou-se um estudo para comparar os efeitos causados por concomitantes em FAAS e TS-FF-AAS. As interferências causadas por concomitantes podem afetar os processos de volatilização, dissociação e atomização dos analitos no interior da célula de atomização, ou seja, com uma completa introdução da amostra no tubo atomizador tem-se um aumento na sensibilidade, mas podem-se agravar os processos de interferências pela maior concentração de espécies químicas efetivamente introduzidas no atomizador. Além de um estudo do efeito de interferentes, também foi avaliada a aplicabilidade da técnica de TS-FF-AAS para a determinação total de cobre, cádmio e chumbo em amostras de vinho e sucos de uva sem a necessidade de digestão da amostra. Salienta-se que, um crescente controle

químico da qualidade de alimentos e bebidas tem sido exigido pelos órgãos controladores, com legislações vigentes que exigem um controle rigoroso dos níveis de contaminação por metais em bebidas.

## **Capítulo 2**

---

### *OBJETIVO*

## **2 – OBJETIVO**

O objetivo do trabalho desenvolvido foi realizar um estudo comparativo da magnitude dos processos de interferências em espectrometria de absorção atômica com chama (FAAS) e espectrometria de absorção atômica com forno tubular na chama e aerossol térmico (TS-FF-AAS). Os concomitantes foram selecionados entre aqueles elementos tipicamente presentes em amostras de alimentos e bebidas. Este trabalho de pesquisa se justifica pelo desconhecimento sobre processos de interferências em TS-FF-AAS. Além disso, a aplicabilidade da TS-FF-AAS foi avaliada para a determinação direta de cádmio, cobre e chumbo em vinhos e sucos de fruta. Esses analitos foram selecionados considerando-se a legislação na área e, por outro lado, as amostras selecionadas possibilitariam avaliar efeitos causados pelo etanol e açúcares sobre o processo de atomização. Dessa forma, podem-se ampliar as potencialidades de uma técnica simples e de baixo custo tornando-a mais abrangente, robusta e aplicável para análises de rotina de amostras complexas.

## **Capítulo 3**

---

# *REVISÃO BIBLIOGRÁFICA*

### 3 – REVISÃO BIBLIOGRÁFICA

#### 3.1 – Espectrometria de absorção atômica

As pesquisas precursoras sobre espectrometria de absorção atômica (AAS) como técnica analítica foram realizadas na Austrália em 1955 por ALAN WALSH<sup>11</sup>. Baseando-se nos princípios da espectrometria de absorção atômica (AAS) propostos por BUNSEN e KIRCHHOFF e na lei quântica de absorção e emissão de radiação proposto por PLANCK, WALSH construiu o primeiro espectrômetro de absorção atômica usando uma chama como atomizador.

A teoria básica de AAS é simples: um átomo gasoso no estado fundamental absorve energia e é promovido a sub-níveis mais energéticos, portanto, se encontra em um estado denominado excitado. Quando um átomo no estado excitado retorna ao estado fundamental ocorre à emissão de energia na forma de radiação eletromagnética em um comprimento de onda específico. Medindo-se a intensidade de absorção ou emissão da radiação eletromagnética em um determinado comprimento de onda, característico de um elemento, é possível a determinação da concentração desse analito a partir da atomização da amostra sob altas temperaturas, sendo que a maioria dos compostos se decompõe em átomos na fase gasosa. Na espectrometria atômica, as amostras são evaporadas a 2000 – 6000 K e as concentrações de átomos são determinadas pelas intensidades dos processos de absorção ou de emissão em comprimentos de onda característico para cada espécie química. A magnitude desses processos está diretamente relacionada com a concentração do elemento presente na amostra. No caso de processos de absorção essa relação é descrita pela lei LAMBERT-BEER.

A espectrometria de absorção atômica é uma das principais técnicas analíticas, especialmente em indústrias, devido à sua sensibilidade, simplicidade de operação, robustez, baixo custo, capacidade de distinguir um elemento de outro em uma amostra complexa e a facilidade com que várias amostras podem ser analisadas automaticamente. A medida de concentrações dos constituintes em partes por milhão (ppm ou  $\text{mg Kg}^{-1}$  ou  $\text{mg L}^{-1}$ ) é uma rotina, enquanto que níveis de partes por bilhão (ppb ou  $\mu\text{g Kg}^{-1}$  ou  $\mu\text{g L}^{-1}$ ) se torna mais difícil.<sup>2</sup> O analito desejado é atomizado e a



concentração desse na amostra é obtida pela razão logarítmica ( $\log I_0/I_t$ ) entre a quantidade de radiação incidente e a quantidade de radiação transmitida, *i.e.* que passa pelo caminho óptico, é selecionada pelo monocromador e atinge o detector. A energia necessária para que ocorra a atomização do analito pode ser obtida de várias formas: chama (ar/acetileno ou óxido nítrico/acetileno) ou eletrotérmica (tubos de grafite, filamentos de tungstênio, tubos de quartzo para a atomização de hidretos, tubos metálicos e cerâmicos).<sup>1-2</sup>

### 3.2 – Espectrometria de absorção atômica com chama

A espectrometria de absorção atômica com chama (FAAS), ainda hoje, é a principal técnica de determinação de elementos químicos em laboratórios de prestação de serviço e de indústrias, portanto, é difícil imaginar um laboratório de rotina analítica sem esse equipamento devido à sua rapidez, simplicidade, seletividade, robustez e baixo custo de manutenção e aquisição. No que diz respeito à sensibilidade, uma das limitações do método é a dificuldade de determinação de alguns analitos na faixa de  $\mu\text{g L}^{-1}$  devido a alguns fatores como: processos de absorção, emissão e espalhamento de radiação pelos constituintes da chama prejudicando a determinação elementar em algumas regiões espectrais e diluição da amostra pelos gases da chama.<sup>12</sup> Porém, as maiores limitações estão relacionadas à ineficiência do processo de nebulização e introdução da amostra.

Na espectrometria de absorção atômica com chama, o caminho óptico geralmente é de aproximadamente 10 cm. Para gerar as frequências específicas da radiação que são absorvidas pelos átomos do analito, as lâmpadas de cátodo oco possuem um cátodo feito do mesmo elemento químico. Quando o cátodo é bombardeado com íons energéticos ( $\text{Ar}^+$  ou  $\text{Ne}^+$ ), os átomos do elemento são ejetados, excitados e, em seguida, decaem emitindo radiação eletromagnética com a mesma frequência com que são absorvidos pelos átomos do analito no estado fundamental na chama.<sup>2</sup>

Quando a amostra líquida é aspirada por efeito VENTURI por um nebulizador pneumático concêntrico para o interior da câmara de nebulização, o líquido se dispersa e o sólido remanescente é atomizado na chama. A maioria dos espectrômetros de

chama utiliza um queimador de pré-mistura, no qual são misturados o combustível, o oxidante e a amostra antes da introdução na chama. A amostra em solução é aspirada para a câmara de nebulização pelo rápido fluxo do oxidante (geralmente ar) que passa próximo à extremidade do nebulizador pneumático. O líquido se dispersa em uma fina névoa úmida assim que deixa o capilar. O aerossol é direcionado em alta velocidade contra uma superfície de impacto, na qual as gotas são quebradas em partículas menores. Esse processo é denominado nebulização. Uma fina suspensão de partículas líquidas (ou sólidas) em um gás é chamada de aerossol. O objetivo do nebulizador é criar um aerossol da amostra líquida. As partículas líquidas com tamanho diminuto presentes no aerossol, o oxidante e o combustível passam pelos defletores, que promovem uma mistura adicional e bloqueiam as gotas grandes de líquidos. As gotas maiores são transportadas para o fundo da câmara de nebulização e removidas por um dreno. O aerossol que alcança a chama contém somente cerca de 5 – 10% do volume da solução original com gotículas de diâmetro entre 0,8 e 4,5  $\mu\text{m}$ . A posição da chama na qual ocorre o máximo de absorção depende da característica do analito que está sendo determinado, temperatura, vazão dos gases entre outras.<sup>2</sup>

Assim, devido à ineficiência do processo de nebulização e os átomos gerados pelos analitos permanecerem pouco tempo na zona de observação para que ocorra a completa atomização (menos que 5 ms), a espectrometria de absorção com chama apresenta baixa sensibilidade e dificilmente pode ser utilizada para a determinação de analitos em baixas concentrações.

### **3.3 – Espectrometria de absorção atômica com forno tubular na chama e aerossol térmico (TS-FF-AAS)**

O aerossol térmico convencional surgiu como uma interface entre a cromatografia líquida e a espectrometria de massas<sup>13-14</sup>. Porém, a utilização de aerossol térmico na introdução de amostras em tubo atomizador (TS-FF-AAS) em uma chama (ar e acetileno) foi inicialmente proposta por GASPAR & BERNDT<sup>5</sup>, em 2000.

Nessa proposta um tubo de níquel foi colocado sobre o queimador de um espectrômetro de absorção atômica com chama e atuou como uma célula de atomização. A solução da amostra a ser analisada é introduzida como um aerossol

térmico diretamente no interior desse tubo aumentando a eficiência do processo de atomização e o tempo de residência do analito no caminho óptico.<sup>5</sup>

Na espectrometria de absorção atômica com forno tubular e aerossol térmico a amostra é completamente introduzida no interior do tubo atomizador por um capilar cerâmico de diâmetro interno de 0,5-1,0 mm aquecido sob altas temperaturas, sendo que a extremidade alcança aproximadamente 900°C pelo contato com o tubo aquecido sobre a chama. Ao atingir a extremidade do capilar, a amostra é imediatamente vaporizada e o aerossol formado é totalmente introduzido no interior do tubo de níquel a uma temperatura menor que a da chama, o que torna a técnica mais diretamente aplicável e efetiva para elementos com maior volatilidade (Ag, As, Bi, Cd, Hg, Se, Te, Pb, Tl e Zn). Para o transporte da amostra até o tubo, é utilizada uma bomba peristáltica ou uma bomba de cromatografia líquida de alta eficiência (HPLC). Nesse sistema, a bomba deve ser usada sob uma baixa pressão, devido à baixa resistência do capilar a altas pressões.<sup>5</sup>

No primeiro trabalho publicado<sup>5</sup>, foram avaliados alguns parâmetros como o diâmetro do capilar, volume da amostra, vazão do carregador e composição do tubo atomizador para a determinação de Cd, Cu, Hg, Pb e Tl. Baixos limites de detecção foram obtidos para esses elementos em solução aquosa: 0,19; 1,3; 21; 13 e 5,2  $\mu\text{g L}^{-1}$  para Cd, Cu, Hg, Pb e Tl, respectivamente. Isso ocorre devido à completa introdução da amostra no tubo atomizador e, conseqüentemente, melhor é a eficiência do processo de nebulização e a nuvem de átomos gerada no interior do tubo de Ni permanece por mais tempo (200 ms) no caminho óptico, ou seja, maior o tempo de residência dos átomos para que ocorram os processos de dissociação, volatilização e atomização do analito. Os resultados mostraram aumentos significativos no limite de detecção em comparação à FAAS convencional como: 57, 14, 67, 31 e 17 vezes para Cd, Cu, Hg, Pb e Tl, respectivamente.

Em outro trabalho<sup>9</sup>, a completa introdução da amostra e aumento do tempo de residência dos átomos na zona de observação, levou a um aumento no poder de detecção de 3 a 110 vezes para 17 elementos (Ag, As, Au, Bi, Cd, Cu, Hg, In, K, Pb, Pd, Rb, Sb, Se, Te, Tl e Zn) por TS-FF-AAS quando comparado com FAAS convencional. Nesse trabalho foram avaliadas a constituição do tubo atomizador (Ni puro e três diferentes ligas), vazão do carregador, composição do capilar e para o

transporte das soluções uma bomba de HPLC, uma bomba peristáltica e uma bomba de diafragma (utilizando uma válvula de injeção de cromatografia líquida) foram utilizadas. Assim, foram obtidos limites de detecção como 2,4; 0,6 e 0,2  $\mu\text{g L}^{-1}$  para Pb, Ag e Zn, respectivamente, e aumento de sensibilidade em relação à FAAS de 32 vezes para Tl, 92 vezes para Pb e 113 vezes para Cd.

GASPAR et al.<sup>6</sup> obtiveram aumento de sensibilidade para a determinação de Pb em relação à FAAS convencional de 6,5, 8,6 e 10,4 vezes para volumes de 0,3; 1,0 e 10  $\mu\text{L}$ , respectivamente, e os limites de detecção foram de 69  $\mu\text{g L}^{-1}$  para 0,3  $\mu\text{L}$ , 52  $\mu\text{g L}^{-1}$  para 0,3  $\mu\text{L}$ , 1,0  $\mu\text{g L}^{-1}$  para 10  $\mu\text{L}$ . Portanto, a TS-FF-AAS se mostrou viável para se trabalhar com pequenos volumes de amostra, o que reduz o tempo de análise, a produção de resíduos e custos.

Recentemente, PETRUCCELLI et al.<sup>15</sup> descreveram algumas estratégias para a caracterização e avaliação do desempenho de tubos atomizadores por TS-FF-AAS. Tubos metálicos compostos por Cr, Fe, Mo, Ni, Ti e W e tubos cerâmicos foram caracterizados antes e depois de serem utilizados para a determinação de Cd, Cu, Mn, Pb e Zn em soluções aquosas. Todos os tubos atomizadores (14 tubos no total) apresentavam um orifício frontal de 2,5 mm de diâmetro para a introdução da amostra e 10 cm de comprimento. Tubos de níquel do Brasil e da Alemanha, algumas ligas e tubos de cerâmica foram utilizados. No caso de tubos cerâmicos, vários problemas foram observados com relação à durabilidade do material. Os limites de detecção para Cd, Cu, Mn, Pb e Zn utilizando tubo de Ni foram 0,4; 17; 29; 20 e 0,7  $\mu\text{g L}^{-1}$ , respectivamente. Os melhores resultados foram observados para Cd, Zn e Pb, com um aperfeiçoamento de 113, 14 e 9 vezes, quando os valores de limites de detecção foram comparados com FAAS. Nenhum ganho ocorreu para Mn. Para Cu, o tubo atomizador de Ti possibilitou limites de detecção de 6,5  $\mu\text{g L}^{-1}$ , ou seja, 2,5 vezes menor que aqueles observados em FAAS ou em TS-FF-AAS com um tubo de Ni. Contudo, o tempo de vida do tubo de Ti foi de apenas 5 h.

### 3.4 – Aplicações em espectrometria de absorção atômica com forno tubular na chama e aerossol térmico (TS-FF-AAS)

A partir de 2000 quando a TS-FF-AAS foi proposta por GASPAR & BERNDT<sup>5</sup>, a mesma se apresentou como uma alternativa de baixo custo, simples e que proporcionou um aumento no poder de detecção. Desde então, estudos vem sendo realizados para avaliar a aplicabilidade da técnica, a Tabela 3.4.1 apresenta os elementos que já foram determinados até o presente momento utilizando-se a espectrometria de absorção atômica com forno tubular e aerossol térmico, destacando-se as respectivas amostras nas quais foram realizadas as determinações, os limites de detecção, volume de amostra, frequência analítica e a estratégia de calibração.

No primeiro trabalho publicado envolvendo aplicação em 2002<sup>7</sup>, foram determinados Cd, Cu e Pb em suspensões de amostras biológicas em meio de HNO<sub>3</sub> 0,3 mol L<sup>-1</sup>. Para essas determinações, foi utilizado um volume de amostra de 300 µL (0,1 e 1,0% m/v) de vários materiais biológicos, tais como espinafre, folhas de tomateiro, fígado bovino, rim suíno e folhas de cítricos. Os limites de detecção encontrados para Cd, Cu e Pb foram 0,5; 4,3; e 3,5 µg g<sup>-1</sup>, respectivamente. Estudos do efeito de interferentes foram efetuados para checar a seletividade do método proposto. A influência de quatro macronutrintes (Ca, K, Mg e Na) e alguns micronutrientes (Cu, Fe, Mn e Zn) foi investigada. Somente concentrações maiores que 5 g L<sup>-1</sup> de Mg e Na diminuíram os valores de absorbância em 14 e 21%, respectivamente, na determinação de Cd. Contudo, o sinal analítico de Pb sofreu uma depreciação de aproximadamente 50% na presença de 2 g L<sup>-1</sup> de Ca e para Mg e Na como concomitante (2 g L<sup>-1</sup>) a absorbância decresceu 25 e 23%, respectivamente. No caso da determinação de Cu, decréscimos nos sinais analíticos de 18, 26 e 39% foram observados quando foram adicionados 1 g L<sup>-1</sup> de Mg, Na e K, respectivamente. Dois diferentes métodos de calibração foram estudados: o método de adições de padrão e soluções padrão preparadas em HNO<sub>3</sub> 0,3 mol L<sup>-1</sup> com Triton X-100 (1% v/v). Os resultados mostraram que a calibração com soluções aquosas foi equivalente ou até mais eficiente no que diz respeito à concordância entre os valores de concentrações determinados e certificados que o método das adições de analito.

**Tabela 3.4.1.** Elementos determinados por TS-FF-AAS em diferentes amostras e seus respectivos limites de detecção (LOD), volume de amostra, frequência analítica e estratégia de calibração

	<b>Amostra</b>	<b>LOD (<math>\mu\text{g L}^{-1}</math>)</b>	<b>Volume da amostra (<math>\mu\text{L}</math>)</b>	<b>Frequência Analítica (<math>\text{h}^{-1}</math>)</b>	<b>Calibração (<math>\mu\text{g L}^{-1}</math>)</b>	<b>Comentários adicionais</b>	<b>Referência</b>
Cd	material de referência certificado	0,03	-	-	-	-	25
Cd	água e cigarro	0,01	200	20	calibração externa	-	28
Cd	pimenta	0,2-0,4	200	-	solução aquosa	-	23
Cd	plantas medicinais	0,9	300	-	adições de padrão	-	20
Cd	água e sedimento marinho	0,32	50	-	compatibilização de matriz	-	19
Cd	materiais biológicos e de água	0,12	2000	16	-	estudo de concomitantes e avaliação da estratégia de calibração	17
Cd	água	0,1	1500	24	solução aquosa	-	16
Cd	materiais biológicos	0,5**	300	12	adições de padrão e solução aquosa	estudo de concomitantes	07
Cd	lama de esgoto	0,2*	100	60	calibração multivariada	4 diferentes estratégias de calibração foram avaliadas	26
Co	material biológico	2,1	150	15	solução aquosa	concomitantes	27
Cu	água	0,22	2000	13	-	estudo de concomitantes e avaliação da estratégia de calibração	21
Cu	cerveja	2,2	300	15	adição de padrão	padrão em meio aquoso causou erros negativos	24
Cu	sucos e leite bovino	2,2	300	15	calibração externa	-	18
Cu	materiais biológicos	4,3**	300	12	adições de padrão e solução aquosa	estudo de concomitantes	07
Pb	pimenta	5-9	200	-	solução aquosa	-	23

Pb	água e vegetais	1,5	2000	16	-	estudo de concomitantes e avaliação da estratégia de calibração	22
Pb	cerveja	1,6	300	15	adições de padrão	calibração com soluções padrão em meio aquoso causou erros negativos	24
Pb	água e sedimento marinho	2,6	50	-	compatibilização de matriz	-	19
Pb	água	2,4	1500	24	solução aquosa	-	16
Pb	materiais biológicos	3,5**	300	12	adições de padrão e solução aquosa	estudo de concomitantes	07
Pb	lama de esgoto	0,7*	100	60	calibração multivariada	4 diferentes estratégias de calibração foram avaliadas	26
Mn	cerveja	18	300	15	adições de padrão	calibração com soluções padrão em meio aquoso causou erros negativos	24
Zn	cerveja	0,9	300	15	adições de padrão	calibração com soluções padrão em meio aquoso causou erros negativos	24
Zn	água e sedimento marinho	0,21	50	-	compatibilização de matriz	-	19
Zn	sucos e leite bovino	0,91	300	15	calibração externa	flutuações no branco	18

\*  $\mu\text{g kg}^{-1}$  e \*\*  $\mu\text{g g}^{-1}$

Na tentativa de aumentar ainda mais a sensibilidade do método PEREIRA et al.<sup>16</sup> determinaram Cd e Pb em amostras de água após pré-concentração dos analitos pela formação de um complexo com pirrolidinaditiocarbamato de amônio, APDC, e posterior adsorção dos quelatos. Limites de detecção de 0,1 e 2,4  $\mu\text{g L}^{-1}$  foram obtidos para Cd e Pb, respectivamente. Para avaliar a exatidão do método, os resultados obtidos foram comparados com aqueles gerados aplicando-se a espectrometria de absorção atômica com atomização eletrotérmica (ETAAS). Na determinação de Cd e Pb em materiais de referência certificados de centeio e rim suíno, não houve diferenças entre os valores determinados e certificados em um nível de confiança de 95% aplicando-se o teste-t. Em outro trabalho<sup>16</sup>, foi determinado Cd em amostras de água e material de referência certificado fisiológico usando o sistema de pré-concentração em linha com espuma poliuretana juntamente com o sistema TS-FF-AAS. O Cd foi pré-concentrado em meio ácido (pH = 2) pela complexação com o, o–dietilditiofosfato de amônio (DDTP) que foi adsorvido em uma espuma poliuretana. A etapa de eluição foi efetuada utilizando etanol 80% (v/v). A exatidão do método foi confirmada usando-se uma técnica de referência (ETAAS) com amostras de água e materiais de referência certificados. O método apresentou baixo limite de detecção (0,12  $\mu\text{g L}^{-1}$ ) quando comparado com TS-FF-AAS sem o sistema de pré-concentração (0,62  $\mu\text{g L}^{-1}$ ), ou seja, um aumento de aproximadamente cinco vezes no poder de detecção. O agente complexante DDTP, não reagiu com metais alcalinos e alcalinos terrosos ou com íons metálicos: Al(III), Cr(III), Cr(VI), Fe(II) ou Se(VI), mas pode reagir com Cu(II), Co(II), Fe(III), Mn(II), Ni(II), Pb(II) e Zn(II). Dessa forma, o comportamento de íons Cd(II) na presença desses íons metálicos foi investigado para verificar a seletividade do método. Os resultados mostraram recuperações para Cd entre 70,1–106,8%, isso indica a seletividade do método na presença de vários metais de transição. Interferências foram observadas quando concentrações elevadas de Cu(II) (5  $\text{mg L}^{-1}$ ), Co(II) (5  $\text{mg L}^{-1}$ ), Fe(III) (100  $\text{mg L}^{-1}$ ), Mn(II) (10  $\text{mg L}^{-1}$ ), Ni(II) (5  $\text{mg L}^{-1}$ ), Pb(II) (10  $\text{mg L}^{-1}$ ) e Zn(II) (10  $\text{mg L}^{-1}$ ) foram adicionadas.

NASCENTES et al.<sup>18</sup> efetuaram a determinação de Cu e Zn em amostras de suco de frutas e leite bovino sem qualquer preparação preliminar da amostra, exceto diluição em água ou em uma solução aquosa contendo aminas terciárias solúveis em água (CFA-C 20% (v/v)). Na determinação de Cu em amostras de leite, uma solução



de CFA-C foi usada como diluente. Os limites de detecção para Cu e Zn em solução aquosas foram 2,2 e 0,9  $\mu\text{g L}^{-1}$ , respectivamente, e 3,2  $\mu\text{g L}^{-1}$  para Cu em CFA-C, contudo as medidas realizadas para o limites de detecção são afetadas pelas flutuações do branco, isso foi observado principalmente para Zn devido ao baixo comprimento de onda (213,9 nm). Calibração externa com soluções padrão foi empregada. Recuperações para Cu e Zn em diferentes amostras foram avaliadas pela adição de diferentes concentrações de ambos elementos e os valores obtidos variaram de 97,7 a 105,3% para Cu e Zn.

NEIRA et al.<sup>19</sup> empregaram o sistema de TS-FF-AAS para a determinação de Cd, Pb e Zn em águas, água do mar e sedimentos marinho. A curva de calibração de Cd, Pb e Zn foram obtidas usando como matriz uma salmoura sintética de 2,5% m/v de NaCl; 0,5% m/v de  $\text{MgCl}_2$  e 0,8% m/v de  $\text{CaCl}_2$ . Os limites de detecção determinados para Cd, Pb e Zn utilizando uma matriz sintética de água foram 0,32; 2,6 e 0,21  $\mu\text{g L}^{-1}$ , respectivamente. O uso da TS-FF-AAS para a determinação de traços aumentou consideravelmente a sensibilidade diminuindo os limites de detecção em aproximadamente 30 vezes para Cd, 4 vezes para Pb e 10 vezes para o Zn, comparado com a FAAS. A exatidão foi avaliada pela determinação de Cd, Pb e Zn em materiais de referência certificados de água e sedimento marinho.

Em 2005, BRANCALION & ARRUDA<sup>20</sup> empregaram TS-FF-AAS para a determinação de cádmio em amostras de plantas medicinais após digestão ácida assistida por radiação de microondas em minifrascos de polipropileno. O limite de detecção encontrado foi de 0,9  $\mu\text{g L}^{-1}$ . A exatidão foi verificada pela determinação de cádmio em amostras de referência certificadas de centeio e fígado bovino, havendo concordância entre os valores determinados e certificados em um nível de confiança de 95%.

TARLEY et al.<sup>21</sup> descreveram um acoplamento entre um sistema de pré-concentração em linha e a espectrometria de absorção atômica com forno tubular na chama e aerossol térmico para a determinação de Cu em amostras de água. O cobre foi pré-concentrado em uma espuma poliuretana contendo DDTP adsorvido. A eluição foi efetuada usando uma solução 80% (v/v) de etanol. Os resultados obtidos por um planejamento fatorial ( $2^4$ ) e baseado no gráfico de Pareto indicaram que somente o pH, a concentração do complexante e a interação entre o pH e a concentração do

complexante podem exercer influência no sistema em um nível de confiança de 95%. Para checar efeitos de concomitantes no método, soluções de Cu(II) foram pré-concentradas na presença de vários íons metálicos Cd(II), Co(II), Ni(II), Mn(II), Pb(II), Zn(II) e Fe(III), os quais também reagem com DDTP. Os resultados confirmaram a seletividade do método de acordo com os resultados de recuperação (102 e 110%) para 3 ciclos de pré-concentração/eluição. O sistema de pré-concentração em fluxo acoplado a TS-FF-AAS apresentou um fator de pré-concentração 65 vezes maior quando comparado ao TS-FF-AAS sem pré-concentração. Esse fator foi calculado pela razão entre os coeficientes angulares das curvas de calibração com e sem pré-concentração. O limite de detecção obtido foi de  $0,22 \mu\text{g L}^{-1}$  e a repetibilidade expressa como desvio padrão relativo (RSD) para oito determinações independentes foi 2,7% e 1,1% para soluções de Cu contendo 5 e  $30 \mu\text{g L}^{-1}$ .

Em trabalho semelhante TARLEY & ARRUDA<sup>22</sup> utilizaram o mesmo sistema de pré-concentração em linha acoplado a TS-FF-AAS descrito anteriormente para a determinação de Pb em amostras de água e materiais de referência certificados de vegetais. Para avaliar os efeitos de interferentes na determinação de Pb, alguns íons metálicos que reagem com DDTP (Cd(II), Co(II), Ni(II), Mn(II), Cu(II), Zn(II) e Fe(III)) foram estudados e os resultados mostraram que ocorrem interferências desses metais no sinal analítico de Pb a partir de uma determinada concentração como: Cu(II) ( $5 \text{ mg L}^{-1}$ ), Co(II) ( $5 \text{ mg L}^{-1}$ ), Fe(III) ( $100 \text{ mg L}^{-1}$ ), Mn(II) ( $10 \text{ mg L}^{-1}$ ), Ni(II) ( $5 \text{ mg L}^{-1}$ ), Cd(II) ( $10 \text{ mg L}^{-1}$ ) e Zn(II) ( $10 \text{ mg L}^{-1}$ ). A sensibilidade no sistema com pré-concentração foi 6,4 vezes maior que a TS-FF-AAS sem pré-concentração. O limite de detecção obtido foi de  $1,5 \mu\text{g L}^{-1}$  e o RSD foi de 7,3 e 4,8% para soluções de Pb contendo 6 e  $200 \mu\text{g L}^{-1}$ , respectivamente.

De maneira a reduzir os custos e simplificar o método, BERNDT & PULVERMACHER<sup>23</sup> propuseram a utilização de ar comprimido ao invés de uma bomba peristáltica para a propulsão da amostra no sistema TS-FF-AAS. O método foi utilizado para a determinação de Pb e Cd em amostras de pimenta e os limites de detecção obtidos foram  $0,005$  e  $0,1 \mu\text{g g}^{-1}$  para Cd e Pb, respectivamente. As faixas de concentrações de Pb e Cd determinadas foram 0,1-2 e  $0,005$ - $0,3 \mu\text{g g}^{-1}$ , respectivamente, nas diferentes amostras de pimenta. Não foram encontradas

diferenças estatisticamente significativas em um nível de confiança de 95% entre os valores determinados e certificados para as amostras de referência de centeio e chá.

NASCENTES et al.<sup>24</sup> determinaram Cu, Mn, Pb e Zn em amostras de cerveja sem a necessidade de digestão da amostra, adotando apenas a desgaseificação em banho ultra-sônico e posterior diluição com uma solução de HNO<sub>3</sub> 0,14 mol L<sup>-1</sup>. Os limites de detecção obtidos foram 2,2; 18; 1,5 e 0,9 µg L<sup>-1</sup> para Cu, Mn, Pb e Zn, respectivamente. A concentração dos metais foi quantificada aplicando-se o método das adições de padrão (SAM), pois a calibração baseada em soluções de referência preparadas em meio aquoso gerou erros negativos para todos os analitos. O SAM foi eficiente para corrigir efeitos de matriz observados quando as amostras de cerveja foram introduzidas depois de uma simples diluição. Os resultados foram concordantes com aqueles obtidos por espectrometria de absorção atômica com atomização eletrotérmica em forno de grafite (GFAAS).

Em 2006, MATOS & ARRUDA<sup>25</sup> empregaram um sistema de pré-concentração on-line acoplado a TS-FF-AAS para a determinação de Cd em materiais de referência certificados. Nesse sistema, cádmio foi concentrado em uma mini-coluna contendo bagaço de uvas e a eluição dos íons foi realizada com solução HCl 1 mol L<sup>-1</sup>. O limite de detecção para Cd foi 0,03 µg L<sup>-1</sup> e o RSD foi 4,6% (n=18). A estabilidade das mini-colunas foi avaliada efetuando-se ciclos sucessivos de pré-concentração/eluição (80 ciclos, RSD 3,9%). O método proposto foi aplicado para materiais de referência certificados e houve boa concordância com os valores obtidos em um nível de confiança de 95%.

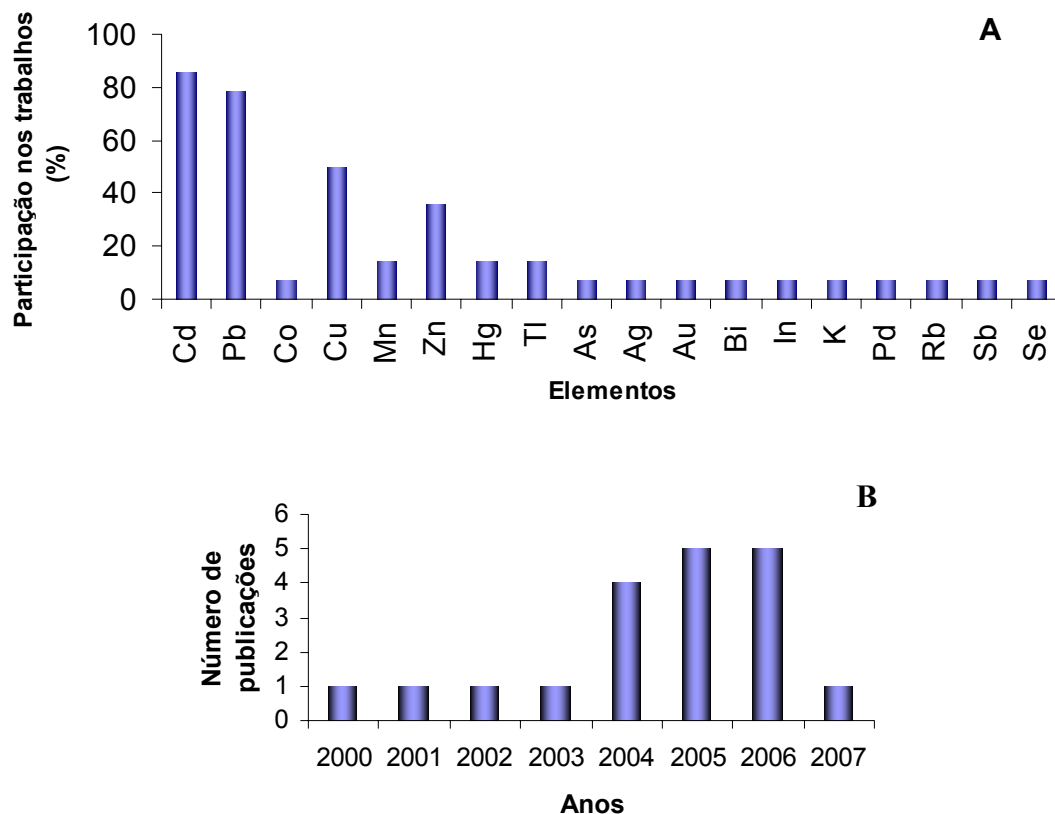
Em outro trabalho, PETRUCELLI et al.<sup>26</sup> desenvolveram um procedimento para a determinação de Cd e Pb em amostras de lama do esgoto. Dois modelos de calibração multivariada baseado no método dos mínimos quadrados parciais (PLS) foram propostos utilizando o perfil do sinal analítico obtido durante 57 s. Os limites de detecção obtido para Cd e Pb foram 0,2 e 0,7 µg kg<sup>-1</sup>, respectivamente. Esses valores foram 3 vezes menores que os limites encontrados quando esses metais foram calibrados com soluções padrão em meio aquoso. Esse procedimento pode ser aplicado para a determinação de outros metais em diferentes amostras.

DONATI et al.<sup>27</sup> determinaram Co em amostras biológicas e de alimentos e devido à baixa sensibilidade para elementos menos voláteis um procedimento de

extração por ponto nuvem foi otimizado para tornar o analito mais volátil e pré-concentrá-lo e, conseqüentemente, melhorar a sensibilidade. As amostras foram tratadas com solução de HCl 1 mol L<sup>-1</sup> para extração quantitativa de Co sem a extração simultânea do Fe que é um forte interferente. Estudo de concomitantes, tais como Al(III), Fe(III), Mn(II) e Cu(II) foram realizados para avaliar possíveis interferências na determinação de Co. Os resultados mostraram que Al(III) e Fe(III) causaram interferência negativa de 60 vezes no sinal analítico de Co, mas o procedimento de extração ácida eliminou os efeitos causados por esses íons, pois íons trivalentes não são extraídos nesse processo. O limite de detecção obtido para Co foi de 2,1 µg L<sup>-1</sup>, o que evidencia que a combinação de TS-FF-AAS com a etapa de derivatização e extração por ponto nuvem possibilita a determinação de Co em baixas concentrações e um ganho de aproximadamente 200 vezes na sensibilidade com relação à TS-FF-AAS sem a pré-concentração.

Um novo procedimento para a determinação de Cd em níveis de ng L<sup>-1</sup> foi proposto por TARLEY et al.<sup>28</sup> baseado no acoplamento em linha de um sistema de pré-concentração em fluxo utilizando nanotubos de carbono com TS-FF-AAS e a etapa de eluição foi realizada com solução de HNO<sub>3</sub> 0,5 mol L<sup>-1</sup>. O limite de detecção obtido foi de 0,01 µg L<sup>-1</sup> para Cd, ou seja, o novo procedimento apresentou um aumento no fator de pré-concentração 51 vezes com relação ao método sem a pré-concentração e 640 vezes quando comparado a FAAS. A exatidão do procedimento proposto foi confirmada por estudos de recuperação e materiais de referência certificados de fígado bovino e centeio.

Tendo em vista as aplicações da TS-FF-AAS, a Figura 3.4.1 apresenta os elementos que já foram determinados até o presente momento e o número de publicações por ano, desde que o método foi proposto em 2000 por GÁSPAR & BERNDT.<sup>5</sup> Entre os elementos apresentados, destacam-se Cd e Pb, que podem ser determinados com relativa facilidade devido à volatilidade e com baixos limites de detecção em comparação a FAAS.



**Figura 3.4.1.** Levantamento sobre (A) número de trabalhos publicados por elemento, (B) número de trabalhos publicados por ano

Constata-se que a TS-FF-AAS tem sido aplicada na análise de uma grande variedade de amostras, incluindo água das mais diversas procedências, sucos de frutas, cerveja, leite, alimentos, amostras biológicas, sedimentos marinhos entre outras. Apesar dos excelentes resultados obtidos, a técnica tem se restringido principalmente à determinação de elementos voláteis, principalmente Cd e Pb devido à menor temperatura no interior do tubo atomizador em relação à chama de ar/acetileno<sup>1</sup>. Elementos refratários como o Co, por exemplo, são difíceis de serem determinados por necessitarem maiores temperaturas de atomização, *e.g.* 2300°C. No sentido de superar essas dificuldades, algumas alternativas são a formação de complexos metálicos voláteis e a pré-concentração do analito.<sup>27</sup>

Outros aspectos importantes na TS-FF-AAS em relação à FAAS estão relacionados ao tempo de residência da amostra e a eficiência dos processos de atomização e volatilização. Esses dois fatores são maiores para TS-FF-AAS o que implica em maiores concentrações do analito e concomitantes na nuvem atômica e

maiores intervalos de tempos para ocorrência de reações entre as espécies químicas e, conseqüentemente, é provável que podem ocorrer interferências mais acentuadas nesse método.

### 3.5 – Importância da determinação de Cu, Cd e Pb em amostras de vinho por TS-FF-AAS

Vinho é uma bebida tradicionalmente consumida em vários países do mundo, mas sua composição é influenciada por vários fatores como a variedade das uvas, tipo de solo, clima etc.<sup>28</sup> Entre os cátions presentes em vinho, os de interesse são os seguintes: K(I), Na(I), Ca(II), Mg(II), Fe(III), Cu(II), As(III), Pb(II), Cd(II) e Zn(II), sendo os mais abundantes o K(I), Na(I), Mg(II), Fe(III) e Cu(II).<sup>30</sup>

Vinhos tintos e brancos podem conter diferentes teores de íons metálicos como Cd(II), Cu(II), e Pb(II), portanto, um monitoramento da concentração desses metais presentes em baixas concentrações em amostras de vinho com técnicas apropriadas é de especial interesse devido à toxicidade desses elementos.

O cobre é um importante catalisador inorgânico de reações de oxidação e sua concentração em vinho geralmente se situa entre 0,1 – 0,3 mg L<sup>-1</sup>.<sup>31</sup> A oxidação de fenóis pode ser afetada na presença de teores mais elevados de cobre. Concentrações superiores a 1,0 mg L<sup>-1</sup> podem ser detectadas sensorialmente, pois podem causar turbidez e a oxidação do vinho levando ao clareamento do vinho tinto e o escurecimento do vinho branco.<sup>32-34</sup> Além disso, juntamente com o mercúrio e o cádmio, são os metais pesados mais tóxicos. Em vinho a presença de cobre decorre de três principais fontes: a) equipamento de cobre utilizado na produção do vinho, b) adição de sais de cobre (CuSO<sub>4</sub>) para corrigir o teor de H<sub>2</sub>S, c) pesticidas à base de cobre, em particular contra *Mildiu*.<sup>30</sup> O nível máximo permitido de cobre em vinho de acordo com a OIV (Organização Internacional de Vinhos) é de 1,0 mg L<sup>-1</sup>.<sup>30, 35</sup>

A Organização Mundial de Saúde (OMS)<sup>36</sup> estima que o limite mínimo aceitável de ingestão oral diária para o cobre é de 20 g kg<sup>-1</sup> de peso corporal para os adultos. Embora o cobre se encontre em todo o corpo, ele tende a se concentrar nos órgãos com alta atividade metabólica, incluindo o fígado, cérebro, rins e coração. Entre seus benefícios, ajuda o corpo a neutralizar os radicais livres para impedir a

destruição celular, é importante para a integridade estrutural do coração e dos vasos sanguíneos e promove a formação de glóbulos vermelhos normais entre outros.<sup>32</sup>

Os riscos por envenenamento por cádmio resultam, principalmente, do consumo de alimentos contaminados. A acumulação desse metal depende dos hábitos nutricionais, contaminação do ambiente em que vivem e predisposição física. De acordo com a OMS<sup>36</sup>, a faixa de concentração permitida para Cd varia de acordo com o tipo de alimento. Os teores são diferentes para cada tipo de alimento (leite, carnes e peixes, farinhas, arroz entre outros). Os níveis mais elevados ( $100-1000 \mu\text{g kg}^{-1}$ ) são encontrados em órgãos internos de animais, como fígados e rins de mamíferos e em certas espécies de moluscos, mariscos e ostras. O teor de Cd em plantações de vegetais e cereais é influenciado pelos solos nos quais essas plantas crescem. A OMS estabelece que a concentração máxima permitida para Cd na água potável deve ser  $1 \mu\text{g L}^{-1}$  e a ingestão média semanal não deve exceder a  $7 \mu\text{g kg}^{-1}$  de massa corpórea.

Uma significativa quantidade de cádmio pode ocorrer em vinhos devido aos resíduos de produtos utilizados como inseticidas e fungicidas e o contato com instrumentos usados na produção de vinho. Portanto, o consumo demasiado de vinho pode implicar em acúmulo de cádmio no organismo.<sup>34</sup> A concentração máxima permitida de cádmio em vinho estabelecida pela OIV é de  $10 \mu\text{g L}^{-1}$ .<sup>35, 37-38</sup>

No caso do Pb, o limite máximo permitido para a ingestão é de  $25 \mu\text{g kg}^{-1}$  de peso corpóreo para adultos, crianças e bebês. A concentração máxima em alimentos depende do tipo e da fonte do alimento. A intoxicação causada pela ingestão de grandes quantidades de alimentos com chumbo pode causar vários danos à saúde como alterações encefálicas (disfunção visual), astênica (fadiga, dor de cabeça, insônia e dores musculares), renais, cardiovasculares e hepáticas.<sup>39</sup> O teor máximo permitido de chumbo em vinho estabelecido pela OIV é de  $200 \mu\text{g L}^{-1}$ .<sup>30, 35</sup>

## **Capítulo 4**

---

# *MATERIAIS E MÉTODOS*



## 4 – MATERIAIS E MÉTODOS

### 4.1 – Equipamentos e acessórios

Todos os experimentos foram efetuados em um espectrômetro de absorção atômica com chama, modelo AA 640 (Varian, Mulgrave, Austrália) equipado com lâmpada de deutério para correção do sinal de fundo (background), lâmpadas de cátodo oco (HCL) como fonte de radiação de Cd, Co, Cu, Mn e Pb (Varian). Os parâmetros instrumentais para FAAS e TS-FF-AAS utilizados estão apresentados nas Tabelas 4.1.1. e 4.1.2.

**Tabela 4.1.1.** Parâmetros instrumentais recomendados pelo fabricante para a determinação de Co, Cu e Mn por FAAS

<b>Parâmetros</b>	<b>Cobalto</b>	<b>Manganês</b>	<b>Cobre</b>
Comprimento de onda (nm)	240,7	279,5	327,4
Resolução espectral (nm)	0,2	0,2	0,5
Corrente da lâmpada (mA)	9,0	5,0	5,0
Vazão de ar (L min <sup>-1</sup> )	13,5	13,5	13,5
Vazão de acetileno (L min <sup>-1</sup> )	2,0	2,0	2,0

**Tabela 4.1.2.** Parâmetros instrumentais para Co e Mn por TS-FF-AAS

<b>Parâmetros</b>	<b>Co</b>	<b>Mn</b>
Vazão do carregador (mL/min)	0,4	0,4
Volume da amostra ( $\mu$ L)	300	300
Vazão de ar (L/min)	13,5	13,5
Vazão de C <sub>2</sub> H <sub>2</sub> (L/min)	2,0	2,0
Tempo de delay (s)	30	30
Tempo de medida (s)	30	60
Resolução espectral (nm)	0,2	0,2
Corrente da lâmpada (mA)	9,0	5,0
Comprimento de onda (nm)	240,7	279,5
Altura do tubo (cm)	1,5	1,5
Carregador	ar	ar

#### 4.2 – Configuração do sistema TS-FF-AAS

Para montagem do sistema TS-FF-AAS, foi confeccionado um suporte em aço inoxidável adaptável ao queimador do espectrômetro de absorção atômica. O suporte foi encaixado sobre o próprio queimador da chama ar/acetileno do equipamento para a adaptação do tubo metálico.

O tubo de Ni possui as seguintes especificações: 10 cm de comprimento, 1 cm de d.i. e 1,2 cm de d.e., com 6 furos na parte inferior com 2 mm de diâmetro e um orifício central localizado com 2 mm de diâmetro e perpendicular aos orifícios inferiores para a introdução do capilar. O tubo empregado possui 99,7% de Ni. As Tabelas 4.2.1 e 4.2.2 apresentam a composição e as propriedades físicas do material utilizado na confecção do tubo de Ni.

**Tabela 4.2.1.** Composição da liga de Ni 200 (Catálogo Camacam Industrial Ltda.), utilizada na confecção do tubo atomizador do sistema TS-FF-AAS<sup>40</sup>

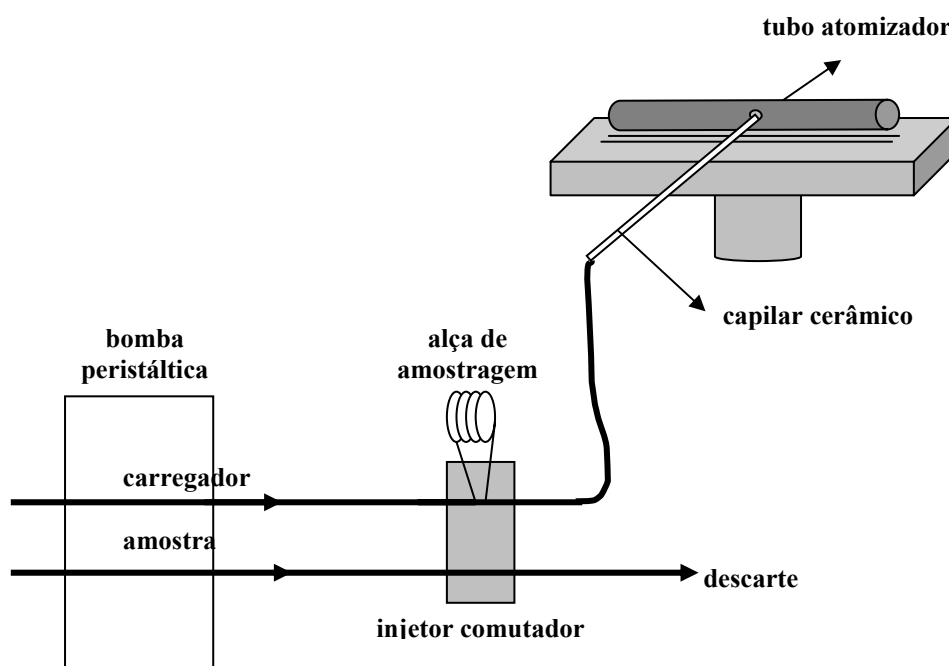
Elemento	% m/m
Ni	99,653
Mn	0,160
Mg	0,065
Ti	0,050
Si	0,030
Fe	0,010
Co	< 0,010
Cu	< 0,010
C	0,009
S	0,002

**Tabela 4.2.2.** Propriedades físicas da liga de Ni 200<sup>39</sup>

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

Esse tubo funciona como uma célula de atomização e foi posicionado no suporte de modo que o feixe proveniente da lâmpada de catodo oco passasse pelo interior do mesmo. Após ajuste da lâmpada, o tubo foi retirado antes da ignição para evitar que o acetileno ficasse aprisionado no interior do tubo e com isso ocorressem explosões.<sup>5</sup> O tubo foi colocado cuidadosamente no suporte após o acionamento da chama com o auxílio de uma garra. A extremidade do capilar cerâmico (Friatec, com a relação d.i./d.e. de 0,5/2,0 mm), conectado ao sistema de fluxo e que produz o aerossol térmico, foi introduzida cerca de 2 mm no interior do tubo atomizador. As propriedades físicas do material utilizado na confecção do capilar são apresentadas na Tabela 4.2.3

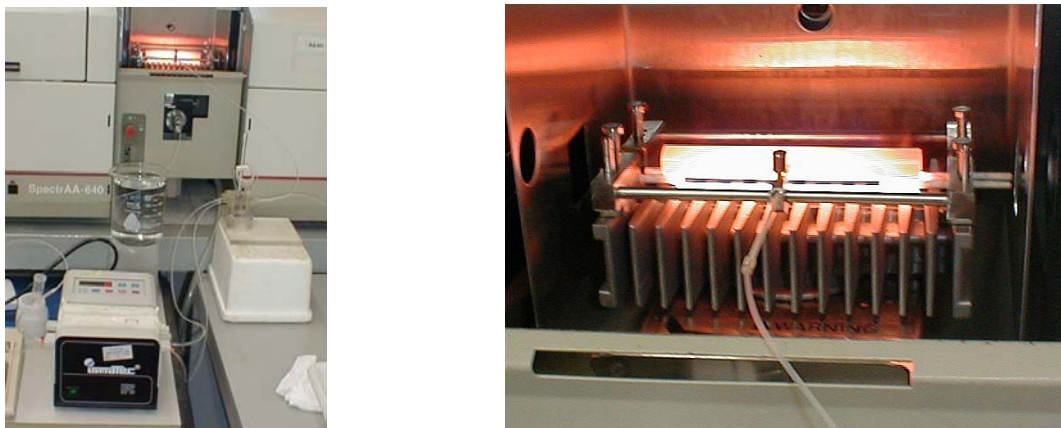
A representação esquemática do sistema de aerossol térmico com forno tubular na chama é mostrada na Figura 4.2.1.



**Figura 4.2.1.** Esquema do sistema TS-FF-AAS

Uma bomba peristáltica de oito canais (Ismatec, Labortechnik Analytik, Glattbrugg-Zurique, Suíça) foi utilizada para preencher a alça de amostragem com a solução do analito e fazer a propulsão do transportador até o capilar cerâmico possibilitando a introdução do aerossol no tubo atomizador. Para a propulsão e transporte de fluídos, foram utilizados tubos de Tygon<sup>®</sup> de diferentes diâmetros e tubos de PTFE de 0,8 mm de diâmetro interno. Um injetor comutador em acrílico foi empregado para introduzir a amostra no fluxo da solução carregadora.

Na Figura 4.2.2 é apresentado o sistema montado e em funcionamento (Figura 4.2.2a) e no detalhe, o tubo incandescente, localizado sobre a chama, com o capilar cerâmico (Figura 4.2.2b).



**Figura 4.2.2.** Fotografias da montagem do sistema TS-FF-AAS: (a) sistema em funcionamento e (b) tubo de Ni sobre a chama e capilar cerâmico

**Tabela 4.2.3.** Propriedades físicas do capilar cerâmico de  $\text{Al}_2\text{O}_3$  utilizado no sistema TS-FF-AAS

Densidade ( $\text{g cm}^3$ )	3,70-3,95
Calor específico a $20^\circ\text{C}$ ( $\text{J Kg}^{-1} \text{K}^{-1}$ )	900
Condutividade térmica a $100^\circ\text{C}$ ( $\text{W m}^{-1} \text{K}^{-1}$ )	30
Porosidade total (%)	0
Temperatura máxima de trabalho ( $^\circ\text{C}$ )	1950

Também foram utilizadas micropipetas, vidrarias e frascos plásticos de uso rotineiro em um laboratório de química analítica.

### 4.3 – Reagentes e soluções

As seguintes soluções foram empregadas: ácido nítrico 1% (v/v) obtida pela diluição de  $\text{HNO}_3$   $14 \text{ mol L}^{-1}$  (Merck, Darmsdadt, Alemanha), soluções de referência foram preparadas pela diluição de soluções-estoque de Mn(II), Co(II), Cu(II), Cd(II) e Pb(II) com concentração de  $1000 \text{ mg L}^{-1}$  (Tec-Lab, Hexis, São Paulo, Brasil), peróxido de hidrogênio 30% (v/v) (Labsynth) e etanol 99,7% (v/v) (Merck). A água empregada foi destilada e desionizada em sistema Milli-Q Plus (Millipore, Bedford, MA, EUA).

Na avaliação do efeito dos concomitantes sobre a atomização de Co, Cu e Mn foram utilizados os seguintes reagentes: NaCl (Merck), KCl (Cetus), FeCl<sub>3</sub> (Labsynth), AlCl<sub>3</sub> (Labsynth), ZnCl<sub>2</sub> (Cetus), CaCl<sub>2</sub> (Merck), MgCl<sub>2</sub> (Labsynth) e sacarose (Reagen) para preparar as soluções pela dissolução de massas apropriadas em água destilada e desionizada.

#### **4.4 – Amostras**

Todas as amostras de vinho analisadas foram adquiridas no comércio local e representam alguns tipos de uvas (Merlot e Cabernet Sauvignon) usadas para a preparação de vinho tinto do Chile e Brasil. As amostras de suco de uva concentrado em diferentes tipos de embalagem (caixa Tetrapak<sup>®</sup>, garrafa plástica e de vidro) também foram adquiridas no comércio local. O método de adições de padrão foi aplicado para a quantificação e a exatidão foi checada por experimentos de adição e recuperação.

#### **4.5 – Descontaminação dos materiais**

Todo o material utilizado foi lavado em água corrente com detergente neutro, enxaguado com água destilada e deixado em banho ácido (HCl 10% v/v) por um período de 24 h para a descontaminação. Em seguida, esse material foi enxaguado com água destilada-desionizada e seco em capela de fluxo laminar (Veco, Campinas, SP, Brasil).

## Capítulo 5

---

*PROCEDIMIENTO*

*EXPERIMENTAL*

## **5 – PROCEDIMENTO EXPERIMENTAL**

### **5.1 – Estudo de interferentes sobre o sinal analítico de Co e Mn por FAAS e TS-FF-AAS**

Neste estudo avaliaram-se os efeitos causados por macronutrientes como Na(I), K(I), Ca(II) e Mg(II) sobre os sinais analíticos de Co e Mn, considerando-se os constituintes tipicamente presentes em tecidos animais e vegetais. Foram realizados estudos com o aumento gradativo da concentração dos concomitantes sobre os sinais analíticos obtidos para Co e Mn por TS-FF-AAS e FAAS. As concentrações utilizadas para os macronutrientes foram 10, 100, 1000 e 10000 mg L<sup>-1</sup>. Observou-se que a concentração de 10000 mg L<sup>-1</sup> provocava a obstrução do capilar cerâmico, por isso, em TS-FF-AAS a concentração máxima de macronutriente estudada foi de 1000 mg L<sup>-1</sup>. Observou-se que a concentração de 10000 mg L<sup>-1</sup> provocava a obstrução do capilar cerâmico, por isso, em TS-FF-AAS a concentração máxima de macronutriente estudada foi de 1000 mg L<sup>-1</sup>. Os efeitos causados por elementos menores, tais como Fe(III), Al(III) e Zn(II), também foram avaliados. Assim, foram preparadas soluções que simulassem a matriz de amostras de folhas de tomateiro (NIST 1573a) e fígado bovino (NIST 1577b) para avaliar os efeitos desses concomitantes sobre a atomização de Co e Mn. As concentrações investigadas foram 0,1; 1,0; 5,0 e 10 mg L<sup>-1</sup> em ambas as técnicas.

### **5.2 – Influência da concentração de etanol sobre os sinais analíticos de Cu, Cd e Pb**

Esse estudo foi realizado para verificar o comportamento dos sinais analíticos de Cu, Cd e Pb com o aumento da concentração de etanol. Soluções de Cu contendo 2,0 mg L<sup>-1</sup> e 2,0; 5,0; 8,0; 11; 15; 20; 30% (v/v) de etanol foram analisadas por FAAS e TS-FF-AAS. Para TS-FF-AAS trabalhou-se com um tubo de Ni sem nenhum orifício e com um tubo com seis orifícios na parte inferior. O mesmo experimento foi executado por TS-FF-AAS para Cd (25 µg L<sup>-1</sup>) e Pb (500 µg L<sup>-1</sup>), utilizando apenas o tubo de Ni convencional com seis orifícios.



### 5.3 – Estudo da influência do meio sobre os sinais analíticos de Cu, Cd e Pb

Devido à influência que o meio aquoso, nítrico e etanólico exerce sobre os processos de transporte, nebulização e atomização da amostra, avaliou-se o efeito do meio empregado para o preparo das soluções sobre os sinais analíticos de Cu, Cd e Pb. Foram preparadas soluções de Cu  $1,0 \text{ mg L}^{-1}$ , Cd  $25 \text{ } \mu\text{g.L}^{-1}$  e Pb  $500 \text{ } \mu\text{g.L}^{-1}$ , a partir de soluções estoque contendo  $1000 \text{ mg L}^{-1}$  desses elementos, em diferentes meios como: a) água; b) ácido nítrico  $0,014 \text{ mol L}^{-1}$ ; c) etanol 2% (v/v); d) ácido nítrico  $0,014 \text{ mol L}^{-1}$  e etanol 2% (v/v).

### 5.4 – Otimização da vazão do carregador, volume da amostra e tempo de medida

Para avaliar o efeito da vazão do carregador, foram estudadas vazões de 0,46; 0,54; 0,57 e  $0,85 \text{ mL min}^{-1}$  para a introdução de uma solução  $1,0 \text{ mg L}^{-1}$  de Cu em etanol 2% (v/v) no tubo atomizador.

Para avaliar o efeito da quantidade de amostra injetada sobre o sinal analítico, foram avaliados os volumes de 150, 300 e  $450 \text{ } \mu\text{L}$  para a alça de amostragem.

O tempo de medida foi determinado através da obtenção de um sinal analítico constante para Cu, Cd e Pb. A aquisição dos sinais transientes foi feita em 80s para as amostras de vinho e sucos de uva.

Para evitar efeitos de memória, o sistema foi limpo com água destilada e uma solução de  $\text{HNO}_3$  1% (v/v) depois de cada medida até que o sinal analítico retornasse aos valores do branco instrumental e para evitar acúmulo de açúcares na extremidade do capilar uma solução de peróxido de hidrogênio 1% (v/v) foi utilizada para limpeza após cada medida.

Os parâmetros instrumentais utilizados para as determinações de Cu, Cd e Pb por TS-FF-AAS estão apresentados na Tabela 5.4.1.

**Tabela 5.4.1.** Parâmetros instrumentais para as medidas de Cu, Cd e Pb por TS-FF-AAS

<b>Parâmetros</b>	<b>Cu</b>	<b>Cd</b>	<b>Pb</b>
Vazão do carregador (mL/min)	0,54	0,54	0,54
Volume da amostra (µL)	150	150	150
Vazão de ar (L/min)	13,5	13,5	13,5
Vazão de C <sub>2</sub> H <sub>2</sub> (L/min)	2,0	2,0	2,0
Tempo de medida (s)	80	80	80
Resolução espectral (nm)	0,5	0,5	0,5
Corrente da lâmpada (mA)	4,0	4,0	10,0
Comprimento de onda (nm)	327,4	228,8	283,3
Altura do tubo (cm)	1,5	0,3	0,3
Carregador	HNO <sub>3</sub> 1% (v/v)	HNO <sub>3</sub> 1% (v/v)	HNO <sub>3</sub> 1% (v/v)

### 5.5 – Estudo de interferentes sobre o sinal analítico de Cu em meio alcoólico e ácido nítrico utilizando planejamento fatorial

Um planejamento fatorial (2<sup>4</sup>) foi efetuado para verificar a influência de possíveis interferentes sobre a determinação de cobre em meio alcoólico e ácido nítrico. Nesse caso, foram avaliados os efeitos de Na(I), K(I), Fe(III) e sacarose sobre o sinal analítico de Cu na presença desses concomitantes. As concentrações desses elementos foram selecionadas de tal forma a simular amostras de vinho.<sup>29</sup>

Foram utilizadas concentrações de 500 µg.L<sup>-1</sup> de Cu em meio ácido nítrico 1% (v/v) e etanol 2% (v/v), 0,1 g L<sup>-1</sup> para Na, 2,5 g L<sup>-1</sup> para K, 3,13 g L<sup>-1</sup> para Fe e 15,63 g L<sup>-1</sup> para sacarose. As proporções encontradas entre os concomitantes e o Cu foram de 1:20 (Cu:Na), 1:500 (Cu:K), 1:625 (Cu:Fe) e 1:3125 (Cu:sacarose).

### 5.6 – Preparo de amostras

Para a determinação de Cu, Cd e Pb, as amostras de vinho foram analisadas diretamente sem a necessidade de digestão da amostra, exceto uma simples diluição

com ácido nítrico  $0,014 \text{ mol L}^{-1}$ , pois o teor de etanol em vinho é de aproximadamente 12% (v/v). A diluição das amostras foi necessária para que as mesmas apresentassem um teor de 2% de etanol.

Para a análise dos metais em sucos de uva, as amostras também foram analisadas diretamente. Para evitar obstrução do capilar uma solução de peróxido de hidrogênio 1% (v/v) foi utilizada para limpeza do capilar cerâmico. Essa solução foi inserida de forma intercalada entre as amostras. A análise direta apresenta algumas vantagens pois: evita a contaminação que pode ocorrer durante o preparo da amostra; evita a perda de elementos voláteis que pode ocorrer na etapa de digestão; diminui acentuadamente o consumo de reagentes e, conseqüentemente, diminui a quantidade de resíduos gerados; proporciona uma redução dos custos e tempo de análise.

## **Capítulo 6**

---

# *RESULTADOS E DISCUSSÃO*

## 6 – RESULTADOS E DISCUSSÃO

### 6.1 – Estudo do efeito de interferentes sobre os sinais analíticos de Co e Mn por FAAS e TS-FF-AAS

A primeira etapa do trabalho foi a execução de um estudo preliminar para estabelecer quais concentrações de Co e Mn gerariam sinais analíticos de 0,4 de absorbância por TS-FF-AAS e FAAS. Sinais de absorbância dessa magnitude têm melhor repetibilidade e dariam maior confiabilidade ao estudo enfocando o efeito de interferentes. A concentração encontrada para ambos os analitos foi de 2,0 mg L<sup>-1</sup> por TS-FF-AAS e para FAAS foi de 12 e 6 mg L<sup>-1</sup> para Co e Mn, respectivamente. Em seguida, determinaram-se sequencialmente esses dois elementos presentes em uma única solução para verificar se ocorrem interferências mútuas entre eles. Os resultados estão apresentados na Tabela 6.1.1.

**Tabela 6.1.1.** Sinais de absorbância (média ± desvio padrão, n = 3) obtidos para Co e Mn por TS-FF-AAS e FAAS

	TS-FF-AAS		FAAS	
	Co	Mn	Co	Mn
sem concomitante	0,419 ± 0,015	0,443 ± 0,047	0,402 ± 0,001	0,385 ± 0,007
com concomitante	0,705 ± 0,0368	0,274 ± 0,005	0,404 ± 0,037	0,390 ± 0,006

De acordo com WELZ e SPERLING<sup>1</sup>, cobalto e manganês podem ser determinados em chama de ar/acetileno sem pronunciados efeitos de interferentes em FAAS. Entretanto, os resultados apresentados na Tabela 6.1.1. mostraram que em TS-FF-AAS ocorreu um aumento de 75,4% no sinal analítico de Co quando a solução continha 2,0 mg L<sup>-1</sup> de Mn e, por outro lado, observou-se uma diminuição de 29,8% no sinal analítico de Mn quando a solução continha 2,0 mg L<sup>-1</sup> de Co. A partir desses dados preliminares constatou-se que o estudo dos efeitos causados por concomitantes sobre os sinais analíticos desses analitos deveriam ser efetuados para soluções

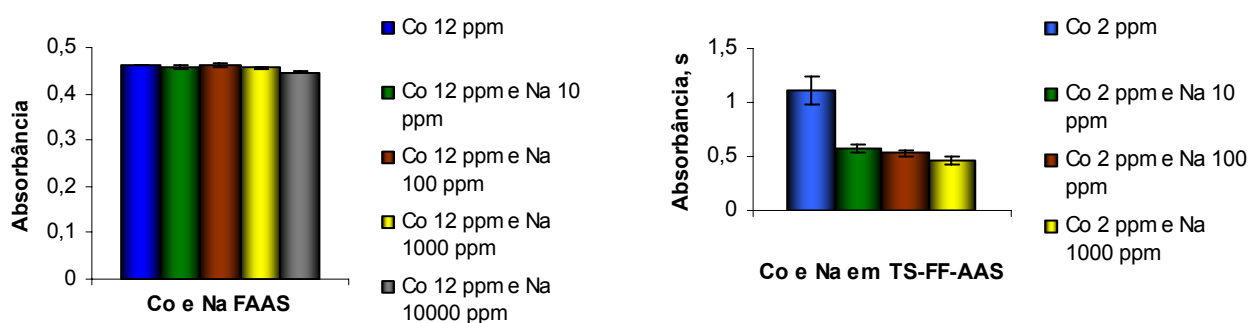
contendo somente um dos analitos. Além disso, obteve-se um primeiro indício da ocorrência de pronunciadas interferências em TS-FF-AAS.

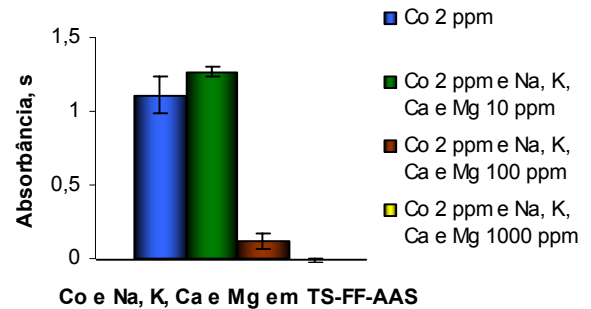
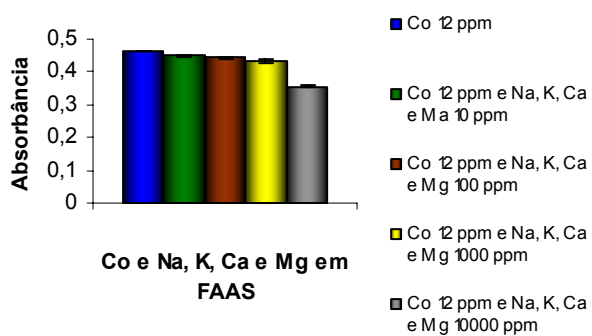
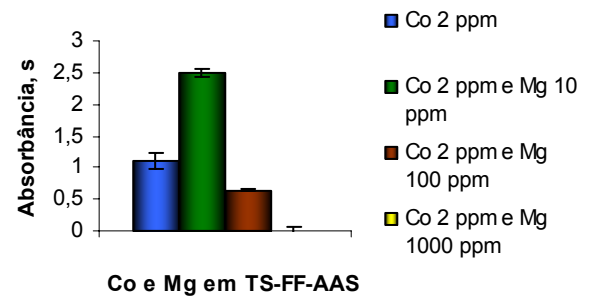
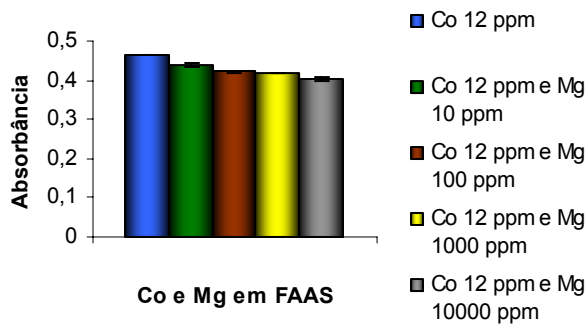
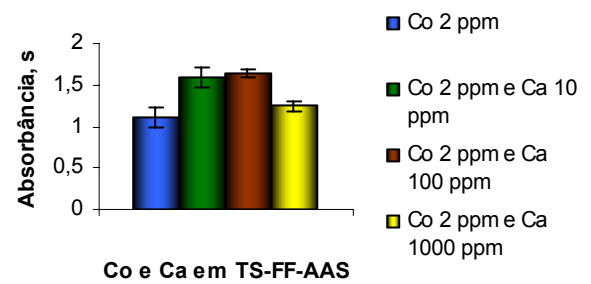
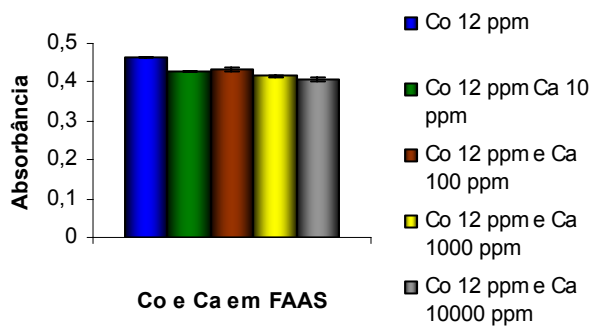
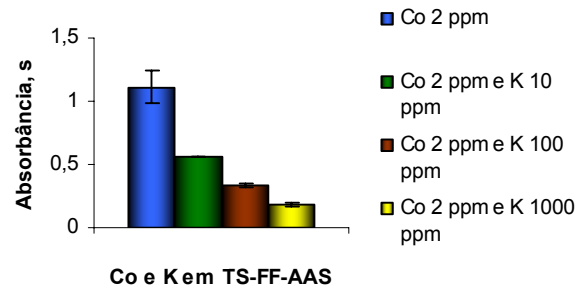
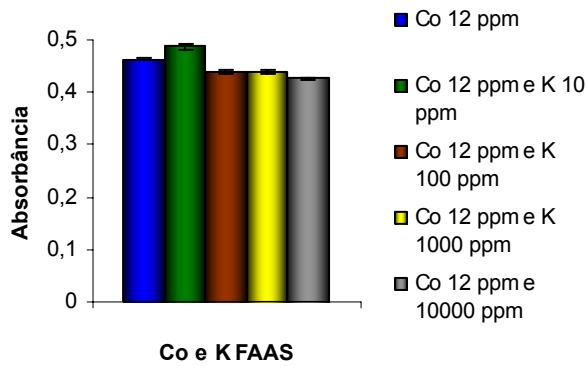
Visando avaliar, separadamente, os efeitos causados pelos principais concomitantes presentes em amostras de alimentos e bebidas sobre os sinais analíticos de Co e Mn, concentrações crescentes de Na(I), K(I), Ca(II), Mg(II), Fe(III), Al(III) e Zn(II) foram adicionadas às soluções dos analitos e determinados diretamente por FAAS e TS-FF-AAS. A determinação por FAAS convencional foi efetuada para avaliar a relação entre os efeitos dos concomitantes sobre os sinais analíticos e os processos de nebulização e atomização.

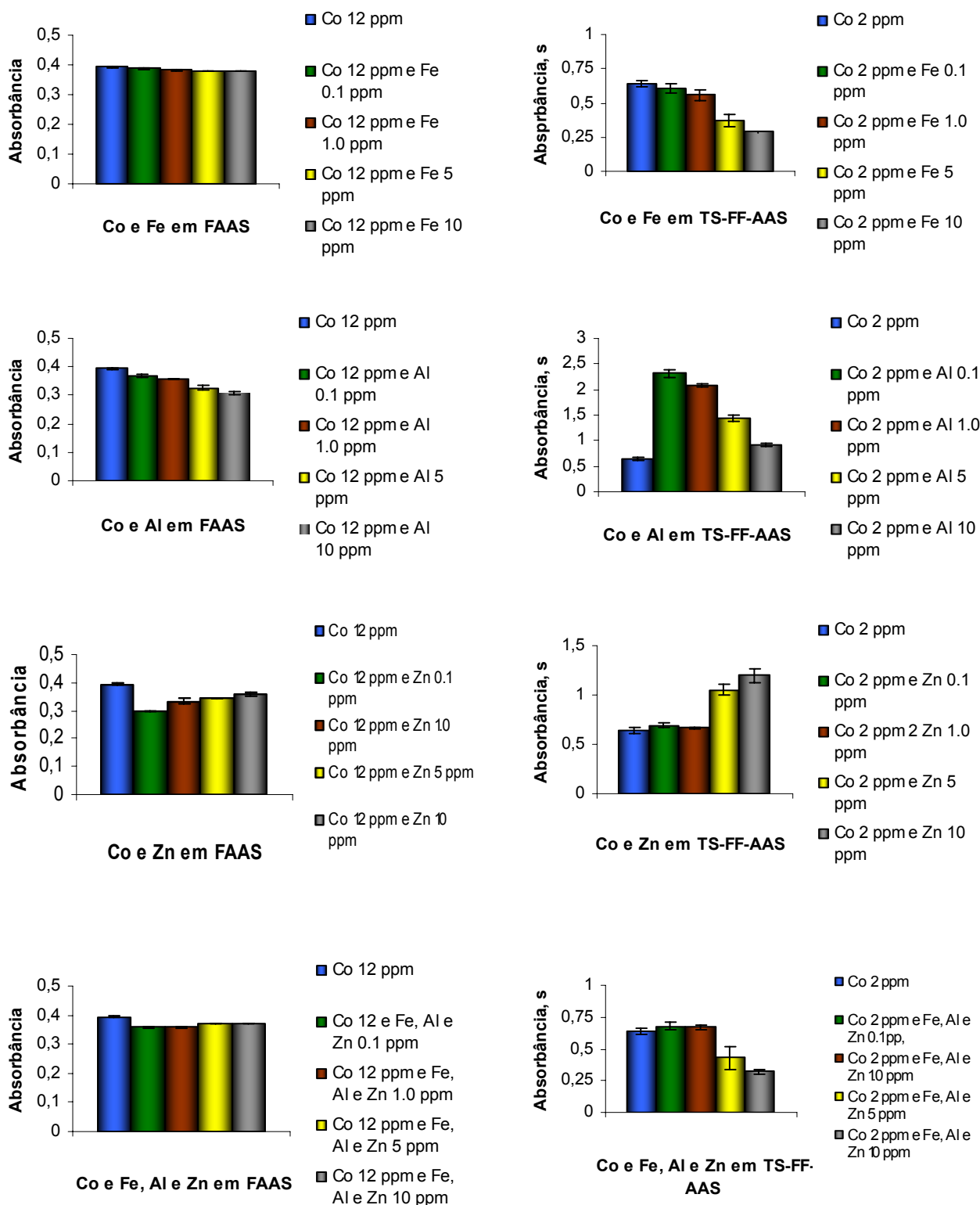
Os parâmetros instrumentais utilizados para as determinações de Co e Mn em FAAS estão de acordo com as recomendações do fabricante e encontram-se na Tabela 4.1.1. As condições utilizadas para as determinações de Co e Mn por TS-FF-AAS foram descritas na literatura<sup>24, 27</sup> e estão apresentadas na Tabela 4.1.2.

A aquisição de todos os dados foi feita no modo área de pico de acordo com o programa de controle do equipamento. A sensibilidade é proporcional ao volume de amostra, portanto, quanto maior o volume de amostra introduzido no tubo atomizador, tanto maior a concentração de átomos na zona de observação.<sup>7</sup>

Os resultados obtidos para os sinais analíticos de Co por TS-FF-AAS e FAAS se encontram na Figura 6.1.1.





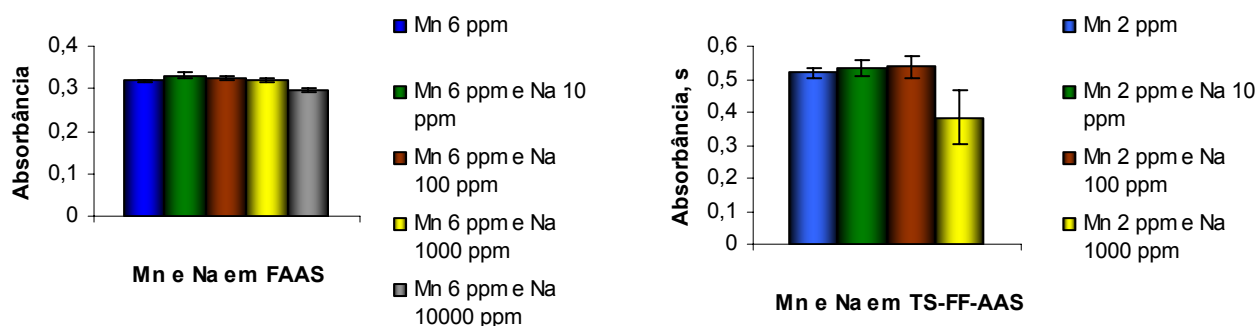


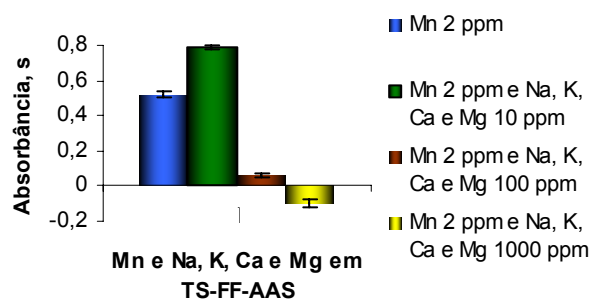
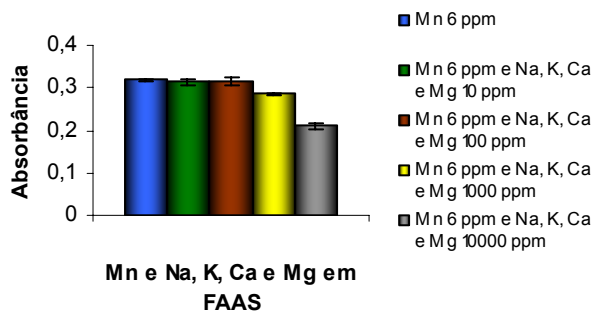
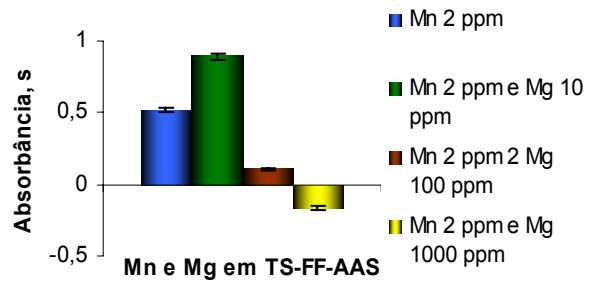
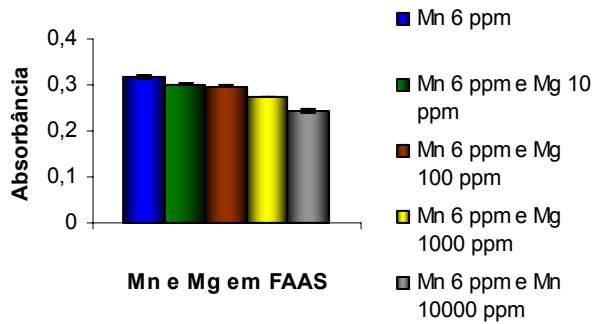
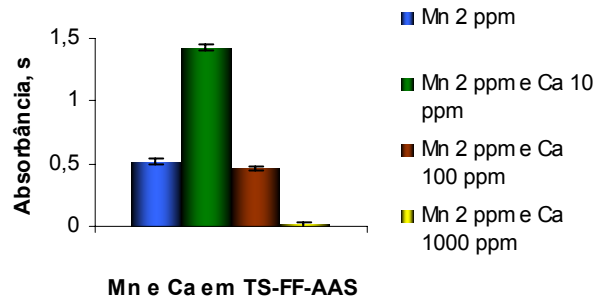
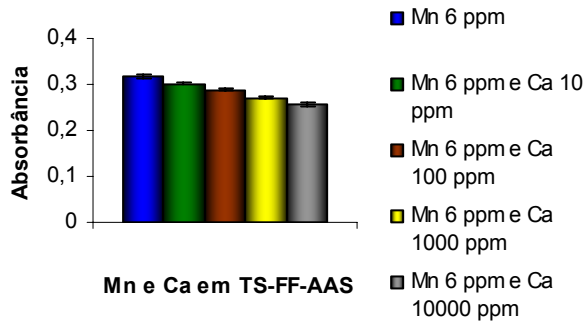
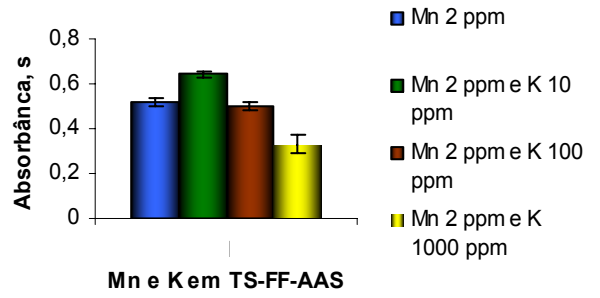
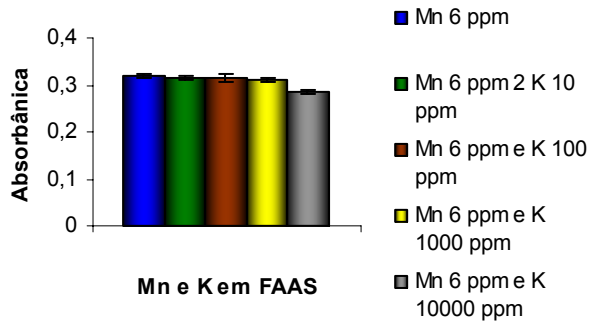
**Figura 6.1.1** Efeito dos concomitantes Na(I), K(I), Ca(II), Mg(II), Fe(III), Al(III) e Zn(II) sobre os sinais analíticos de Co por FAAS e TS-FF-AAS. A barra de erro representa um desvio padrão para 3 medidas consecutivas

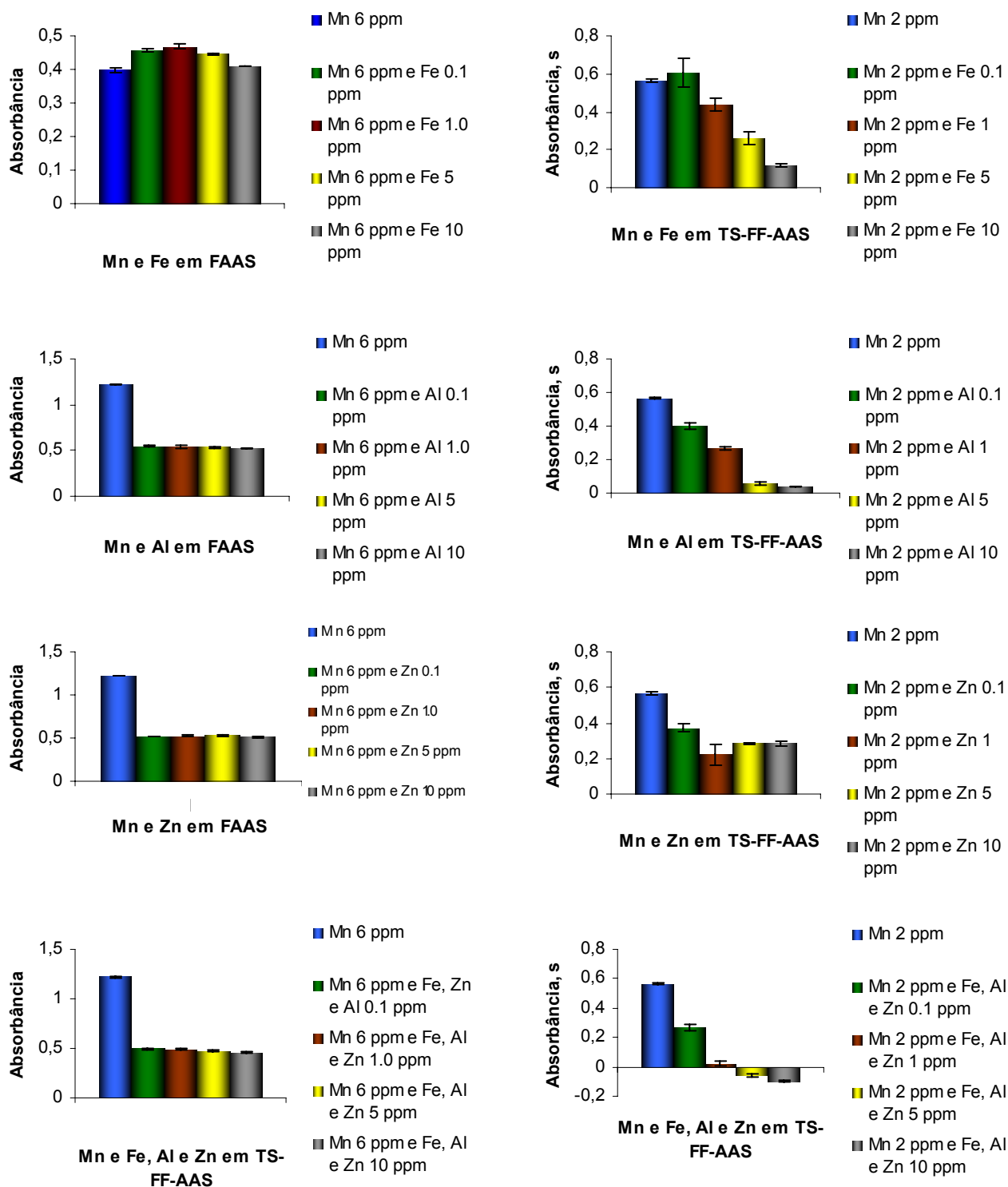


Analisando-se a Figura 6.1.1. observa-se que em FAAS os efeitos provocados sobre o sinal analítico de Co são menos severos do que em TS-FF-AAS. Portanto, cobalto pode ser determinado sem ocorrência de interferências pronunciadas em chama de ar/acetileno em FAAS, porém a sensibilidade geralmente é insuficiente para a maioria das amostras ambientais e biológicas.<sup>1</sup> Por outro lado, em TS-FF-AAS as interferências são mais acentuadas e na maioria dos casos provocam interferências negativas, ou seja, causam uma depreciação do sinal analítico. A formação de óxidos e/ou carbetos duplos refratários pela reação entre os concomitantes, o analito e as espécies químicas presentes na chama é a causa provável dessa tendência de redução do sinal analítico com o aumento da concentração dos concomitantes.<sup>1, 41</sup> Além disso, o analito pode estar formando um composto de menor volatilidade com os concomitantes do meio dificultando a atomização e afetando negativamente os equilíbrios de vaporização e dissociação. É importante ressaltar que TS-FF-AAS é mais efetiva e aplicável para elementos voláteis devido a menor temperatura no interior do tubo atomizador, isso pode provocar a redução na intensidade do sinal analítico no caso do cobalto – elemento mais refratário – portanto, torna-se necessário uma etapa de pré-concentração do analito para tornar a espécie mais volátil e facilitar a atomização.<sup>27</sup> Devido a essas características, o efeito dos concomitantes foi mais pronunciado na determinação de Co por TS-FF-AAS.

A Figura 6.1.2. mostra os resultados obtidos sobre o efeito de concomitante sobre os sinais analíticos de Mn por TS-FF-AAS e FAAS.







**Figura 6.1.2.** Efeito dos concomitantes Na(I), K(I), Ca(II), Mg(II), Fe(III), Al(III) e Zn(II) sobre os sinais analíticos de Mn por FAAS e TS-FF-AAS. A barra de erro representa um desvio padrão para 3 medidas consecutivas.

ALLAN<sup>42</sup> relatou que Na(I), K(I), Ca(II) e Mg(II) e fosfato não causam interferências na determinação de Mn por FAAS em chama de ar-acetileno.

GROSSMANN e MÜLLER<sup>43</sup> investigaram interferências na determinação de Mn por vários constituintes de ligas e constataram que não ocorreram efeitos causados por Fe, Co e Mo. Contudo, ocorreram perdas nos sinais analíticos na presença de Al, Cu e Ni. Assim, Mn pode ser determinado por FAAS sem maiores problemas de interferência.<sup>1</sup> No entanto, deve ressaltar que uma diminuição mais acentuada no sinal analítico de Mn na presença de Al(III) e Zn(II) por FAAS foi observada. Por outro lado, analisando-se a Figura 6.1.2., constata-se que interferências negativas foram mais pronunciadas nas medidas de Mn por TS-FF-AAS. As diferenças fundamentais entre TS-FF-AAS e FAAS estão relacionadas com o tempo de residência da amostra e a eficiência do processo de atomização. Esses dois fatores são maiores para TS-FF-AAS o que implica em maiores concentrações do analito e concomitantes na nuvem atômica e maiores intervalos de tempos para a ocorrência de reações entre as espécies químicas. Pode-se supor que esse aspecto aliado à baixa temperatura no interior do tubo de Ni causam interferências mais acentuadas em TS-FF-AAS. De acordo com os dados da literatura a temperatura na parede externa do tubo de Ni é de aproximadamente 1045 °C.<sup>41</sup>

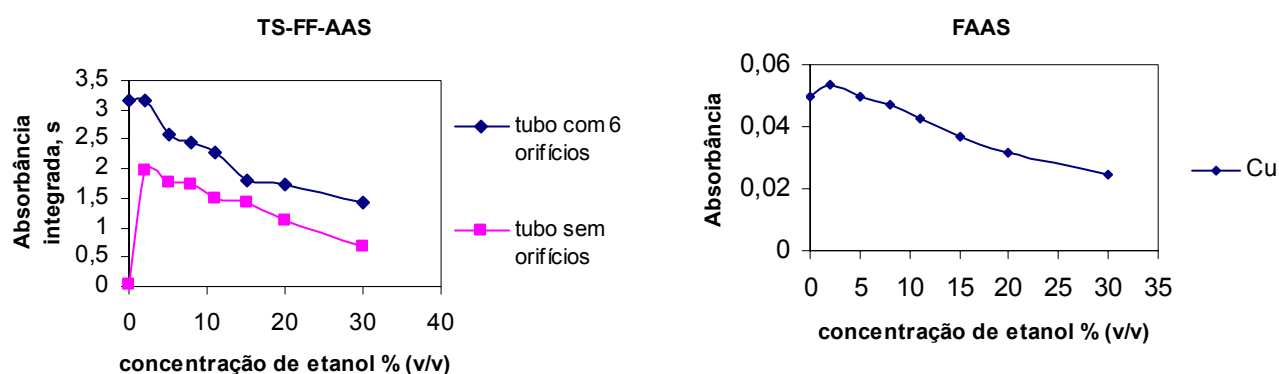
A Tabela 6.1.3. mostra os percentuais de interferências por FAAS e TS-FF-AAS sobre os sinais analíticos de Co e Mn. Pode-se observar que os percentuais de interferência por FAAS variam de -24,4 a + 5,5 % e -62,4 a + 17,5 % para Co e Mn, respectivamente. Por TS-FF-AAS essa variação foi de -101 a +360 % e -117,0 a + 175,5 % para Co e Mn, respectivamente.

**Tabela 6.1.2.** Percentuais de interferências em FAAS e TS-FF-AAS sobre o sinal analítico de Co e Mn

Interferentes	Co		Mn	
	FAAS	TS-FF-AAS	FAAS	TS-FF-AAS
10ppm Na	- 0,8	- 48,4	+ 4,4	+ 3,0
100 ppm Na	- 0,5	- 52,3	+ 2,0	+ 4,0
1000 ppm Na	- 1,4	- 58,6	+ 0,5	- 26,0
10000 ppm Na	- 3,5	-	- 6,5	-
10 ppm K	+ 5,5	- 49,8	- 1,0	+ 23
100 ppm K	- 5,1	- 69,6	- 1,0	- 4,0
1000 ppm K	- 5,2	- 83,5	- 2,7	-36
10000 ppm K	- 8,0	-	- 10,0	-
10 ppm Ca	- 7,6	+ 43	- 5,5	+ 175,5
100 ppm Ca	- 6,3	+ 48	- 9,5	- 12
1000 ppm Ca	- 10,3	+ 12	- 15,0	- 98,3
10000 ppm Ca	- 12,0	-	- 20,0	-
10 ppm Mg	- 5,3	+ 123,6	- 5,1	+ 73
100 ppm Mg	- 9,0	- 42,2	- 6,4	- 79
1000 ppm Mg	- 10,0	- 99,7	- 14	- 132
10000 ppm Mg	- 13,0	-	- 23,2	-
10 ppm Na, K, Ca e Mg	- 2,8	+ 14,2	- 1,6	+ 52,4
100 ppm Na, K, Ca e Mg	- 4,2	- 89,1	- 0,2	- 88,7
1000 ppm Na, K, Ca e Mg	- 7,0	- 101	- 10,3	- 120
10000 ppm Na, K, Ca e Mg	- 23,1	-	- 33,8	-
0,1 ppm Fe	- 1,2	- 6,0	+ 14,3	+ 7,8
1,0 ppm Fe	- 2,9	- 13	+ 17,5	- 22,6
5 ppm Fe	- 3,7	- 42,2	+ 12,0	- 53,7
10 ppm Fe	- 3,5	- 55,4	+ 2,6	- 79,0
0,1 ppm Al	- 6,4	+ 360	- 55,4	- 29,4
1,0 ppm Al	- 8,8	+ 324	- 55,8	- 53,2
5 ppm Al	- 17	+ 225	- 55,8	- 90,0
10 ppm Al	- 22	+ 144	- 57,2	- 93,0
0,1 ppm Zn	- 24,4	+ 107,4	- 57,8	- 34,2
1,0 ppm Zn	- 15	+ 104	- 57,2	- 60,4
5 ppm Zn	- 12,4	+ 164	- 56,2	- 50,0
10 ppm Zn	- 8,8	+ 186	- 58,0	- 49,5
0,1 ppm Fe, Al e Zn	- 9,0	+ 105,8	- 59,4	- 53,0
1,0 ppm Fe, Al e Zn	- 9,0	+ 104,4	- 60,0	- 96,0
5 ppm Fe, Al e Zn	- 5,7	- 33,0	- 61,5	- 110,0
10 ppm Fe, Al e Zn	- 5,7	- 50	- 62,4	- 117,0

## 6.2 – Influência da concentração de etanol sobre os sinais analíticos de Cu, Cd e Pb

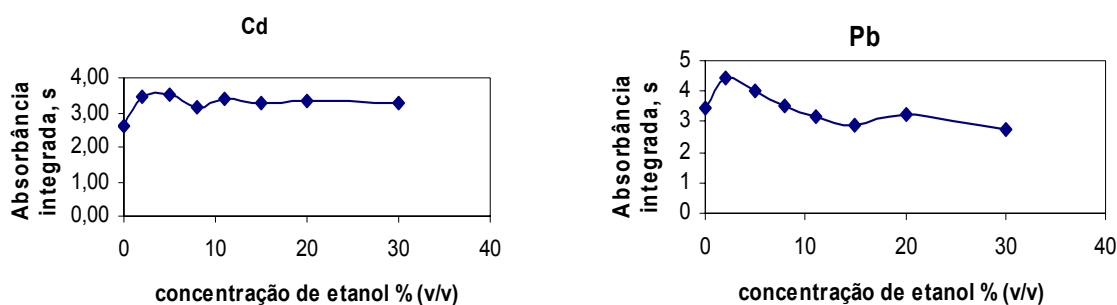
Soluções de Cu contendo  $2,0 \text{ mg L}^{-1}$  e 2,0; 5,0; 8,0; 11; 15; 20; 30% (v/v) de etanol foram medidas por FAAS e TS-FF-AAS com tubo de Ni sem orifícios inferiores e com tubo de Ni com seis orifícios na parte inferior. Esse estudo foi efetuado para avaliar o comportamento dos sinais analíticos com o aumento da concentração de etanol. Os resultados estão apresentados na Figura 6.2.1.



**Figura 6.2.1.** Influência da concentração de etanol sobre os sinais analíticos para Cu  $2,0 \text{ mg L}^{-1}$  por FAAS e TS-FF-AAS

Em relação ao desempenho de TS-FF-AAS a utilização de um tubo com seis orifícios adicionais na superfície inferior proporcionou uma maior sensibilidade em comparação com o tubo sem orifícios, isso ocorre devido ao tubo convencional (com orifícios) possibilitar a penetração da chama no interior do tubo atomizador gerando uma temperatura ligeiramente maior em relação ao tubo sem orifícios, isso favorece o processo de atomização do analito. A baixa sensibilidade de FAAS pode ser atribuída as propriedades físicas das soluções etanólicas, tais como tensão superficial e viscosidade que afetam a velocidade de aspiração da amostra e a nebulização. É possível observar também que uma concentração de etanol acima de 2% (v/v) causou uma diminuição nos sinais analíticos para Cu.

O mesmo procedimento foi aplicado para verificar o comportamento de Cd ( $25 \text{ } \mu\text{g L}^{-1}$ ) e Pb ( $500 \text{ } \mu\text{g L}^{-1}$ ), utilizando apenas o tubo convencional por TS-FF-AAS, *i.e.* o tubo com 6 orifícios. A Figura 6.2.2. mostra os resultados obtidos.



**Figura 6.2.2.** Influência da concentração de etanol sobre os sinais analíticos de Cd  $25 \mu\text{g L}^{-1}$  e Pb  $500 \mu\text{g L}^{-1}$  por TS-FF-AAS

Todos os resultados obtidos estão em concordância com aqueles encontrados por NEIRA & BERNDT para a determinação de Cd e Pb em meio contendo metanol.<sup>44</sup> Entretanto, deve-se ressaltar que nesse caso foi utilizado um nebulizador hidráulico de alta pressão.

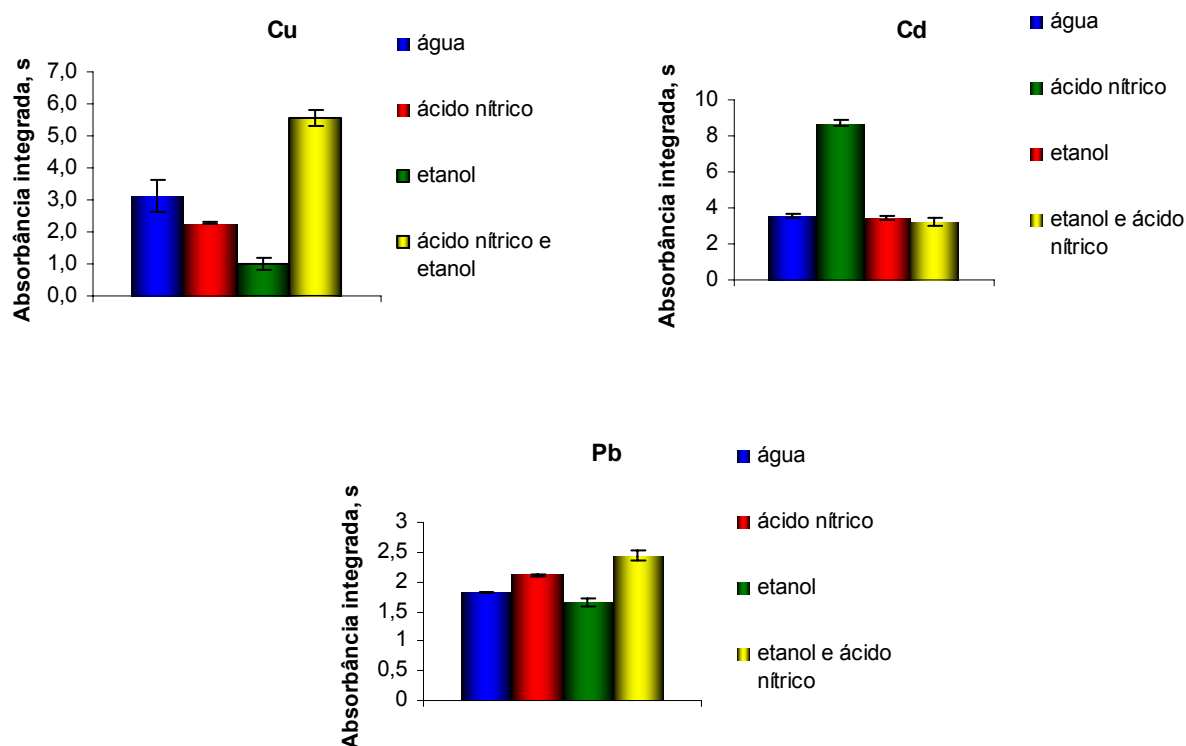
O solvente exerce influência significativa sobre os processos de volatilização e atomização dos analitos, na qual implicando em uma maior ou menor sensibilidade. O etanol por ser volátil e apresentar menor tensão superficial, origina aerossóis constituídos por gotículas menores, o que implica em partículas menores do analito e maior facilidade de dissociação e atomização do analito.<sup>45</sup> A causa provável da redução dos sinais analíticos de Cu, Cd e Pb com o aumento da concentração de etanol deve estar relacionada a formação de espécies carbônicas no interior do tubo atomizador produzidas pela decomposição do solvente que pode estar promovendo processos de redução afetando negativamente o processo de atomização dos analitos, ou seja, quanto maior a concentração de etanol mais espécies carbônicas vão estar presentes na nuvem atômica dificultando a atomização do analito.

### 6.3 – Estudo da influência do meio aquoso, nítrico e etanólico sobre os sinais analíticos de Cu, Cd e Pb

Soluções de Cu  $1,0 \text{ mg L}^{-1}$ , Cd  $25 \mu\text{g L}^{-1}$  e Pb  $500 \mu\text{g L}^{-1}$  em diferentes meios como: água; ácido nítrico  $0,014 \text{ mol L}^{-1}$ ; etanol 2% (v/v); ácido nítrico  $0,014 \text{ mol L}^{-1}$  nítrico e etanol 2% (v/v) foram preparadas. Esse experimento foi efetuado para avaliar

em qual meio se obtém a melhor sensibilidade para a determinação desses analitos. Os resultados obtidos estão apresentados na Figura 6.3.1. O etanol, como mencionado anteriormente, possui uma menor tensão superficial e, conseqüentemente, facilita a atomização dos analitos. Outra característica importante desse solvente que pode afetar positivamente os processos de volatilização, dissociação e atomização dos analitos, especialmente na técnica em TS-FF-AAS, é a sua volatilidade, pois não reduz a temperatura no interior do tubo atomizador como ocorre com a água.<sup>45</sup> Além disso, considerando-se o calor de combustão ( $327,0 \text{ kcal mol}^{-1}$ ) pode-se inclusive supor um aumento de temperatura no interior do tubo. Os maiores sinais analíticos para Cu e Pb foram obtidos em meio contendo etanol 2% (v/v) e ácido nítrico  $0,014 \text{ mol L}^{-1}$ , enquanto que para Cd a melhor sensibilidade foi obtida em meio ácido nítrico  $0,014 \text{ mol L}^{-1}$ . Embora solução de ácido nítrico tenha proporcionado o melhor meio para gerar o maior sinal analítico para Cd, em todos os estudos realizados no decorrer deste trabalho, Cd foi determinado em meio contendo etanol e ácido nítrico visando simular o teor de álcool tipicamente encontrado em amostras de vinho. Nesse caso, considerou-se o fator de diluição empregado para as amostras.





**Figura 6.3.1.** Influência do meio aquoso, nítrico e etanólico sobre os sinais analíticos para Cu, Cd e Pb. A barra de erro representa um desvio padrão para 3 medidas consecutivas

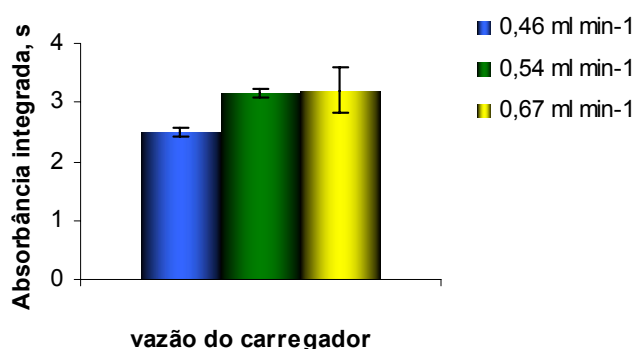
#### 6.4– Otimização de parâmetros como vazão do carregador, volume de amostra e tempo de medida

A avaliação do efeito de parâmetros instrumentais como a vazão, volume de amostra e tempo de medida foi estudado para encontrar as condições que proporcionassem máxima sensibilidade para soluções alcoólicas. Esses parâmetros estão diretamente ligados a fatores como a eficiência de volatilização e atomização, frequência de amostragem, precisão, efeitos de memória, tempo de residência e concentração do analito no interior do tubo atomizador. Assim, a avaliação desses é de fundamental importância na determinação de metais por TS-FF-AAS.

Vários trabalhos<sup>7, 9, 18</sup> têm utilizado a vazão de  $0,4 \text{ mL min}^{-1}$  na determinação de diversos elementos por TS-FF-AAS. No presente trabalho, para a introdução de uma solução de Cu  $1,0 \text{ mg L}^{-1}$  em etanol 2% (v/v) no tubo atomizador variou-se a vazão entre  $0,46 - 0,85 \text{ mL min}^{-1}$ . Vazões acima de  $0,67 \text{ mL min}^{-1}$  não se mostraram

adequadas, porque as condições térmicas na extremidade do capilar cerâmico e no interior do tubo de Ni não proporcionaram eficiente volatilização da solução<sup>5, 23</sup>. Observou-se que uma fração da solução não foi vaporizada. Além disso, sob maiores vazões pode ocorrer o resfriamento do tubo e, conseqüentemente, a diminuição da temperatura no interior do mesmo e da extremidade do capilar comprometendo a geração do aerossol e dificultando a atomização. De acordo com PEREIRA-FILHO et al.<sup>7</sup> a utilização de menores vazões pode levar a um aumento no tempo de residência do analito no interior do tubo atomizador, o que pode gerar um aumento na sensibilidade. Por outro lado, implicam em um maior tempo de medida e, conseqüentemente, uma redução na frequência de amostragem.

A partir da Figura 6.3.2. pode-se constatar que a vazão de  $0,54 \text{ mL min}^{-1}$  foi a que apresentou a melhor sensibilidade com menor desvio entre as medidas, provavelmente como decorrência do aumento da concentração da nuvem de átomos no interior do tubo atomizador e por isso foi escolhida para a determinação de Cu por TS-FF-AAS. Além disso, a vazão de  $0,67 \text{ mL min}^{-1}$  além de piorar a repetibilidade, não contribuiu para o aumento da sensibilidade.



**Figura 6.4.1.** Influência da vazão do carregador sobre os sinais analíticos para Cu por TS-FF-AAS. Carregador = ar. A barra de erro representa um desvio padrão para 3 medidas consecutivas

Para avaliar o efeito do volume da amostra, alças de amostragem de 150, 300 e 450  $\mu\text{L}$  foram empregadas. Como todos os dados foram adquiridos em modo de área de pico, a sensibilidade é proporcional ao volume da amostra, ou seja, um aumento no

volume injetado causou um aumento do sinal analítico<sup>6</sup>, contudo, ocorreu uma redução na frequência analítica devido à necessidade de um maior tempo de limpeza para eliminar possíveis efeitos de memória e maiores desvios foram observados devido a fatores como reações de recombinação, espalhamento de radiação e aumento do tempo requerido para a atomização.

O tempo de medida foi determinado através da obtenção de um sinal analítico constante para Cu, Cd e Pb. A aquisição dos sinais transientes foi feita em 80 s para as amostras de vinho. Para evitar efeitos de memória, o sistema foi limpo com água destilada e uma solução de HNO<sub>3</sub> 1% (v/v) depois de cada medida.

As condições estabelecidas para a determinação de Cu em meio etanólico como vazão do carregador, volume da amostra e tempo de medida foram estudadas, enquanto que outros parâmetros foram encontrados na literatura.<sup>7, 16-18, 23</sup> Os parâmetros instrumentais utilizados para as determinações de Cu, Cd e Pb por TS-FF-AAS estão apresentados na Tabela 5.4.1.

### **6.5 – Estudo do efeito de concomitantes sobre os sinais analíticos de Cu em meio alcoólico e ácido nítrico utilizando planejamento fatorial**

Nesta etapa do trabalho, foram avaliados os efeitos de Na(I), K(I), Fe(III) e sacarose sobre os sinais analíticos de Cu com a finalidade verificar a existência de possíveis interferências, pois de acordo com a literatura são os principais elementos que interferem na análise de vinhos.<sup>33</sup> As proporções encontradas entre Cu e os concomitantes variaram de 1:200 (Cu:Na), 1:5000 (Cu:K), 1:6260 (Cu:Fe) e 1:31260 (Cu:sacarose).

A principal finalidade da utilização do planejamento fatorial é estudar a influência ou efeito de uma determinada variável e interações entre variáveis em um sistema específico.<sup>46</sup> Dessa forma, são executados diversos experimentos em ordem aleatória e, no final, são efetuadas operações matemáticas simples para os cálculos de efeitos. O emprego de planejamento fatorial concentra-se, no estudo dos principais efeitos de concomitantes na determinação de um analito de interesse, sendo possível não apenas o cálculo do efeito de um concomitante em especial, mas os efeitos de possíveis interações entre os mesmos. O cálculo dos efeitos foi efetuado

determinando-se a diferença das médias das respostas para uma variável, segundo a equação:  $b_j = (y_{j+}) - (y_{j-})$ , onde,  $b_j$  é o efeito para a variável  $j$  (concomitantes),  $y_{j+}$  é a média das respostas obtidas para os níveis +1 da variável  $j$ , e  $y_{j-}$  é a média das respostas obtidas para os níveis -1 da variável  $j$ .<sup>46</sup>

Um planejamento fatorial foi executado com um número menor de experimentos, porém, sem perder informações relevantes. Esse fatorial foi composto por um experimento  $2^4$  (4 variáveis: Na(I), K(I), Fe(III) e sacarose) com um total de 16 experimentos (concentrações normalizadas em -1 e 1). A Tabela 6.5.1 mostra os experimentos efetuados e, em todos os casos, a variável de resposta foi o sinal de absorvância integrada. A concentração de Cu adotada nesses experimentos foi de  $500 \mu\text{g L}^{-1}$ .

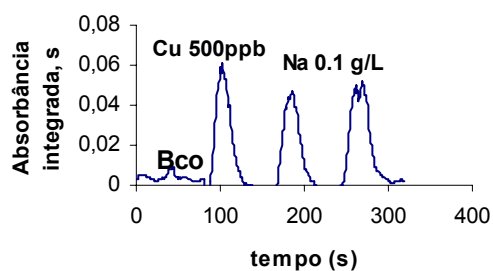
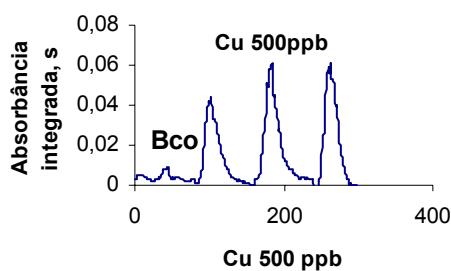
Após a execução dos experimentos de maneira aleatória e de cálculos dos coeficientes e seus respectivos erros, verificou-se que, para a faixa de concentração estudada, os concomitantes apresentaram efeitos negativos tanto em meio alcoólico como em ácido nítrico na maioria dos experimentos. As Figuras 6.5.1. e 6.5.2. mostram as variações no sinal analítico na determinação de Cu na presença de diferentes concentrações de concomitantes em meio ácido nítrico  $0,014 \text{ mol L}^{-1}$  e etanol 2% (v/v), respectivamente.

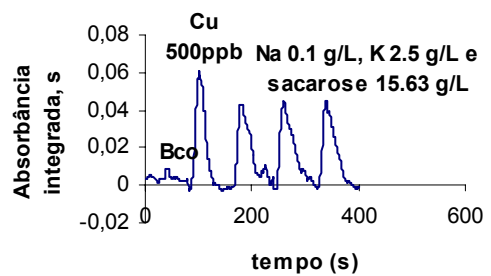
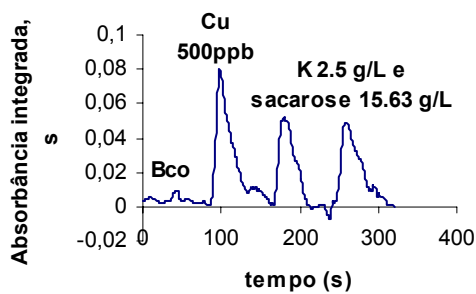
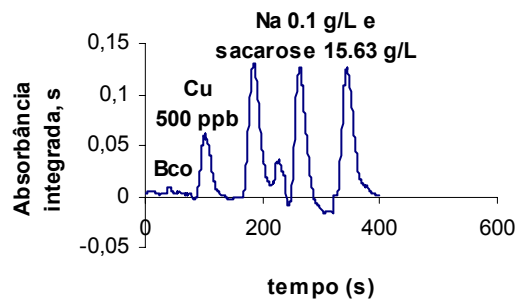
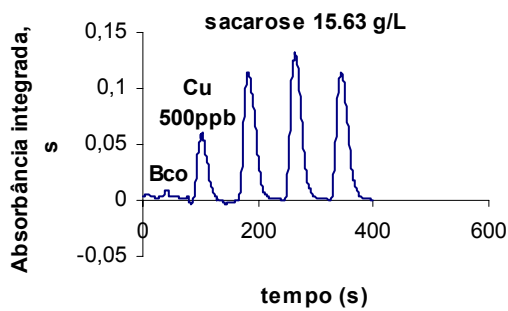
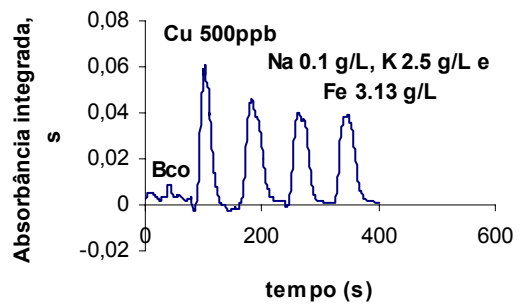
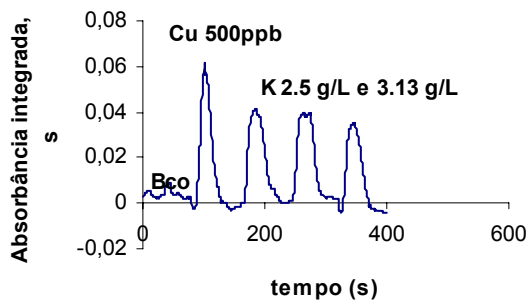
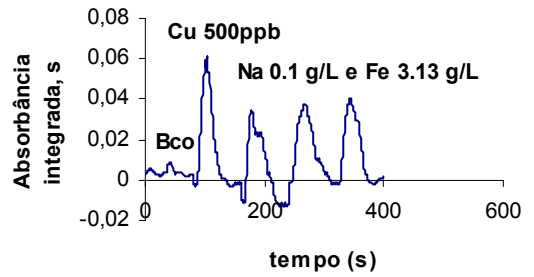
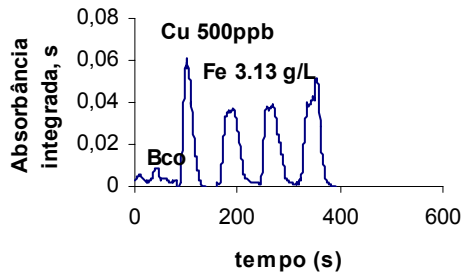
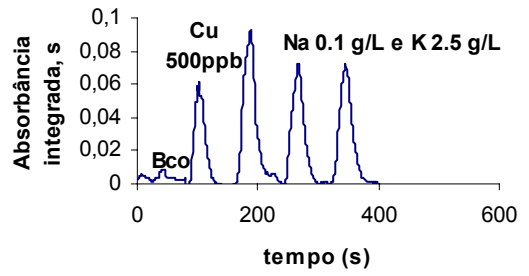
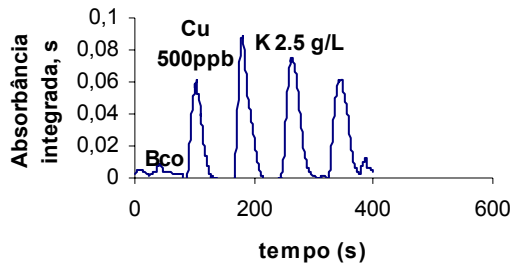
A solução de Cu  $500 \mu\text{g L}^{-1}$  na ausência de concomitantes, apresentou uma absorvância integrada média de  $1,058 \pm 0,182$  (n=3).

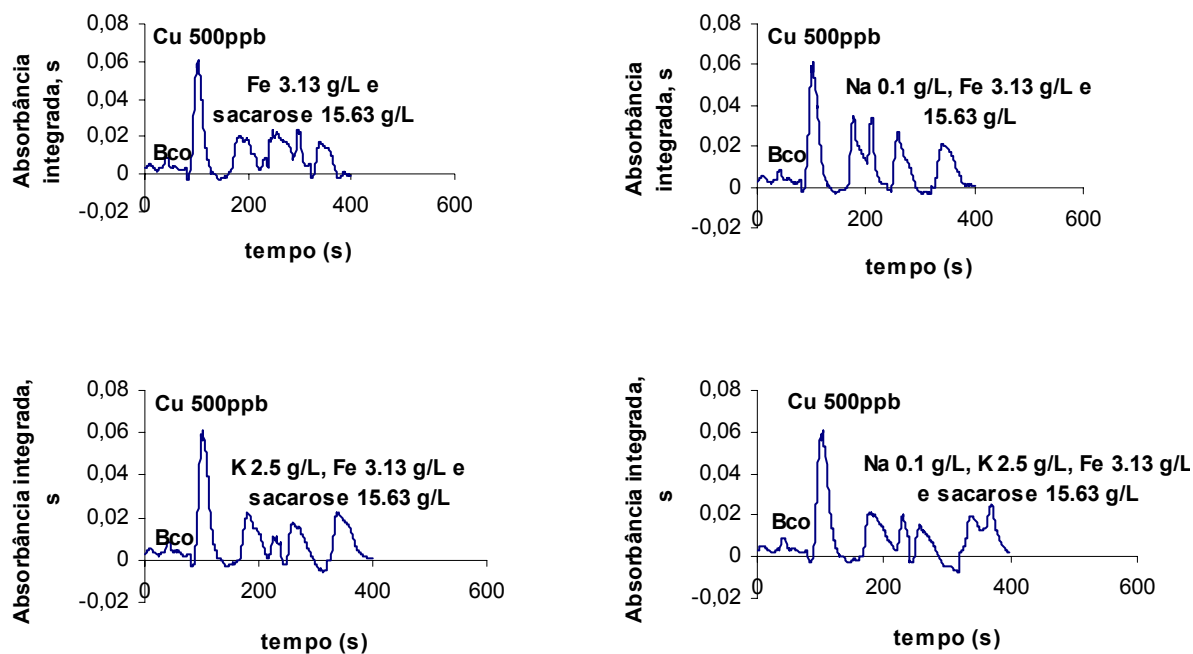
**Tabela 6.5.1.** Planejamento fatorial para estudos com concomitantes sobre o sinal analítico de Cu

Experimentos	Na	K	Fe	sacarose
1	-1	-1	-1	-1
2	1	-1	-1	-1
3	-1	1	-1	-1
4	1	1	-1	-1
5	-1	-1	1	-1
6	1	-1	1	-1
7	-1	1	1	-1
8	1	1	1	-1
9	-1	-1	-1	1
10	1	-1	-1	1
11	-1	1	-1	1
12	1	1	-1	1
13	-1	-1	1	1
14	1	-1	1	1
15	-1	1	1	1
16	1	1	1	1

NOTA: Todos os experimentos contêm  $500 \mu\text{g L}^{-1}$  de Cu e a concentração normalizada em 1 na Tabela 6.5.1. indica as respectivas concentrações para: Na =  $0,1 \text{ g L}^{-1}$ , K =  $2,5 \text{ g L}^{-1}$ , Fe =  $3,13 \text{ g L}^{-1}$  e sacarose  $15,63 \text{ g L}^{-1}$ .

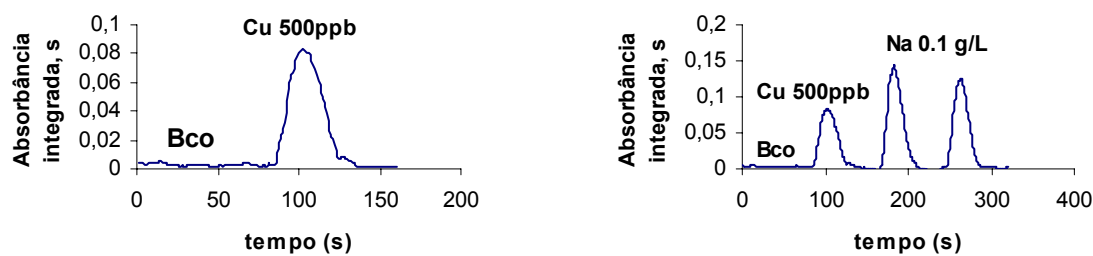


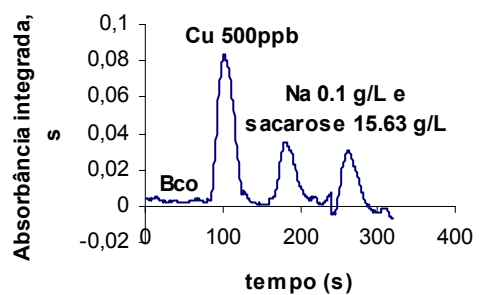
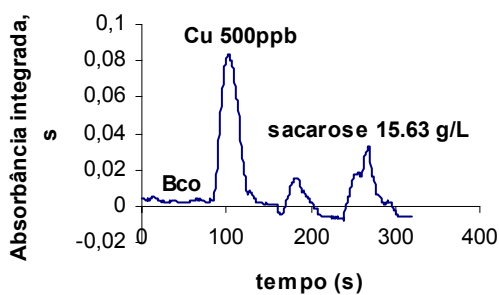
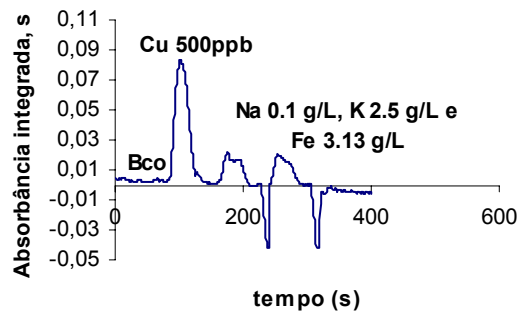
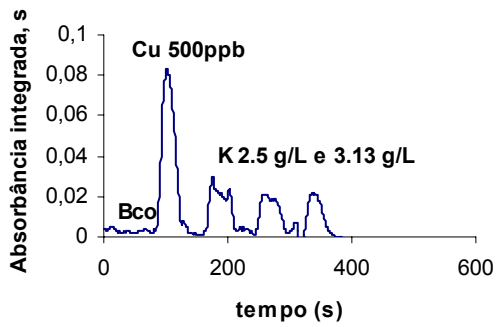
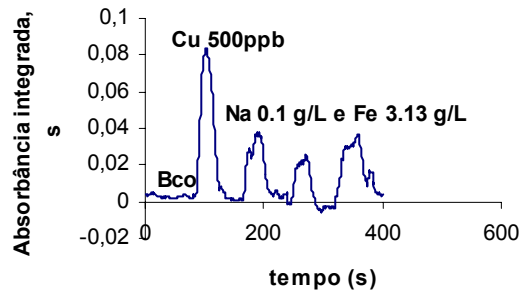
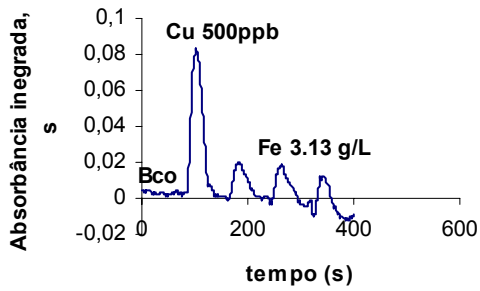
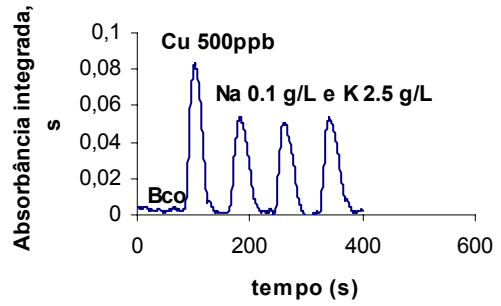
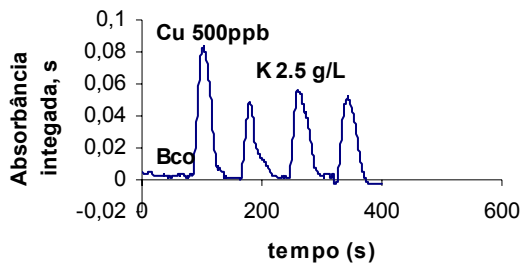




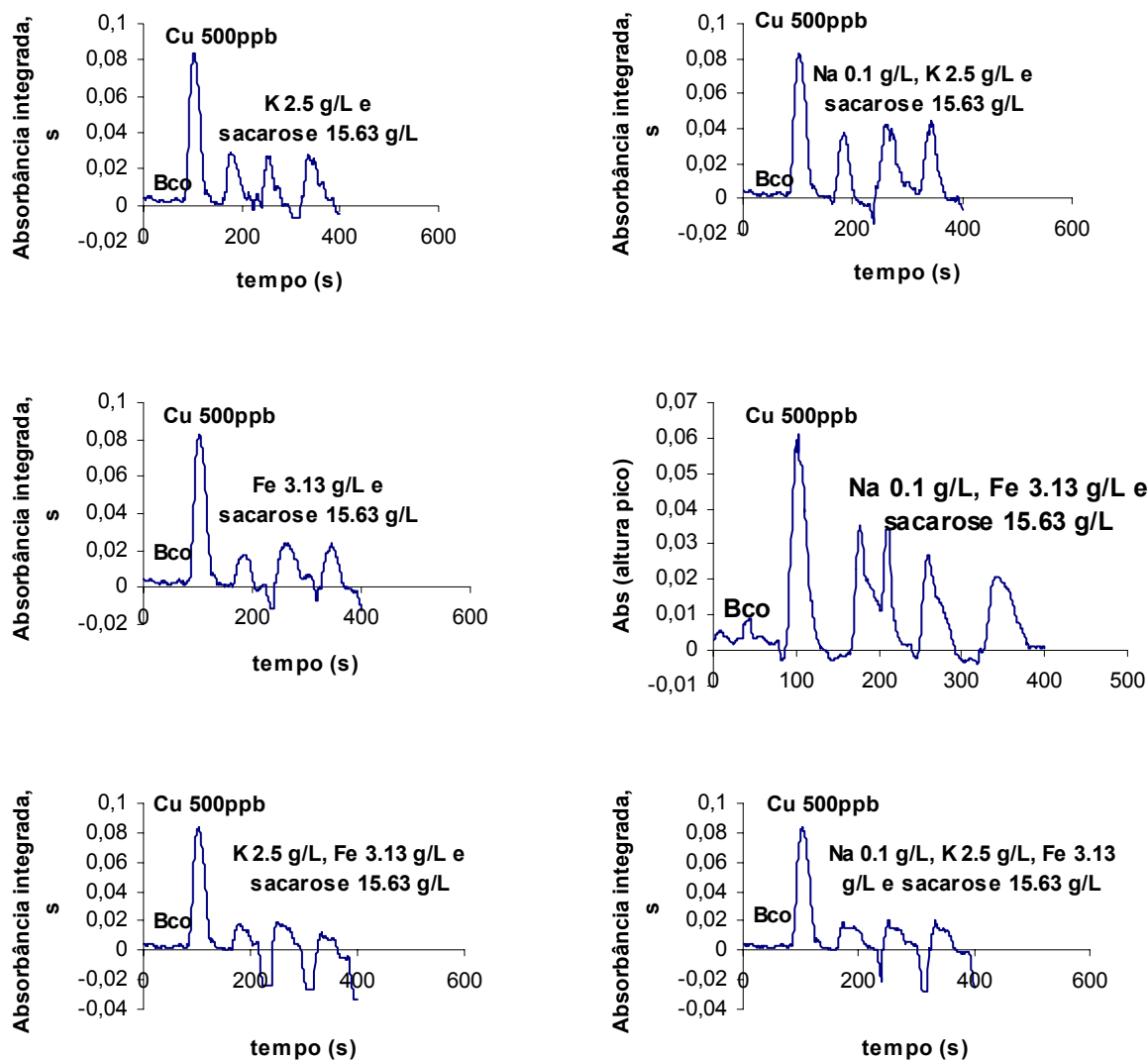
**Figura 6.5.1.** Sinais transientes para Cu em soluções contendo diferentes concomitantes em meio ácido nítrico  $0,014\text{mol L}^{-1}$

A solução de Cu  $500\ \mu\text{g L}^{-1}$  com 2% etanol (v/v), na ausência de concomitantes, apresentou uma absorbância integrada média de  $2,076 \pm 0,016$ , ou seja, um aumento no sinal de 96% em relação a solução de  $500\ \mu\text{g L}^{-1}$  de Cu em meio de ácido nítrico.



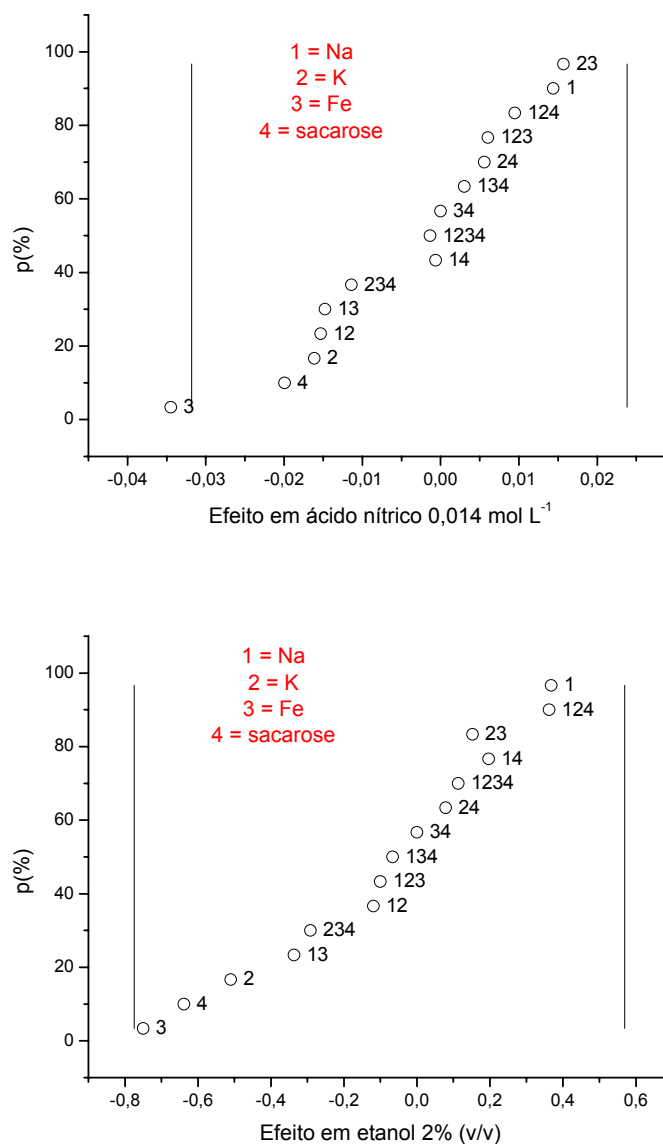






**Figura 6.5.2.** Sinais transientes para Cu em soluções contendo diferentes concomitantes em meio etanol 2% (v/v)

A análise por meio de gráficos normais é um método alternativo para tentar distinguir o que realmente é efeito do que é apenas erro experimental nos resultados de um planejamento.<sup>46</sup> A Figura 6.5.3. mostra os gráficos normais para Cu em meio ácido nítrico 0,014 mol L<sup>-1</sup> e etanol 2% (v/v).



**Figura 6.5.3.** Gráfico da densidade de probabilidade em uma distribuição normal para Cu em meio de ácido nítrico 0,014 mol L<sup>-1</sup> e etanol 2% (v/v)

Cobre é um elemento freqüentemente determinado por FAAS, pode ser atomizado facilmente e praticamente não exibe nenhuma interferência em chama de ar-acetileno, independente da estequiometria da chama e corrente da lâmpada.<sup>1, 47-48</sup>

De acordo com os gráficos, pode-se observar que o Fe(III) apresentou um efeito mais pronunciado em meio de ácido nítrico, além disso, nenhum efeito de concomitante em especial foi mais pronunciado e nem as interações entre os mesmos nos dois meios. Em meio de etanol também pode se observar efeitos significativos causados por potássio e sacarose. Entretanto, analisando-se as Figuras 6.5.1. e 6.5.2.

observa-se que os efeitos provocados sobre os sinais analíticos de Cu nos dois meios foram bem significativos, reduzindo em alguns casos em mais de 50% os sinais conforme pode ser constatado na Tabela 6.5.2. Portanto, não se pode observar o efeito dessas interferências por meio de gráficos normais, pois os dados obtidos estão excessivamente dispersos, o que provocou um alargamento da gaussiana e concentrou todos os dados na região central.

**Tabela 6.5.2.** Percentuais de interferências por TS-FF-AAS sobre o sinal analítico de Cu em meio ácido nítrico 0,014 mol L<sup>-1</sup> e etanol 2% (v/v)

Experimento	Variáveis	HNO <sub>3</sub> 0,014 mol L <sup>-1</sup>	EtOH 2% (v/v)
2	Na	+ 12,2	+ 34,2
3	K	+ 63,5	-36,8
4	Na e K	+ 67,3	- 28,5
5	Fe	+ 18,4	- 79,0
6	Na e Fe	- 8,5	- 50,3
7	K e Fe	- 4,7	- 52,5
8	Na, K e Fe	+ 5,0	- 90,7
9	sacarose	+ 154,4	- 73,5
10	sacarose e Na	+ 158,8	- 38,0
11	K e sacarose	+ 36,6	- 98,6
12	Na, K e sacarose	+ 5,4	- 40,9
13	Fe e sacarose	- 14,0	- 58,7
14	Na, Fe e sacarose	- 36,1	- 63,2
15	K, Fe e sacarose	- 37,9	- 98,5
16	Na, K, Fe e sacarose	- 19,3	- 78,3

PEREIRA-FILHO<sup>49</sup> verificou o comportamento de possíveis concomitantes sobre as determinações de Cd, Cu e Pb. Nesses estudos foi empregado um planejamento fatorial com 30 experimentos e os resultados mostraram que os concomitantes causaram efeitos negativos sobre as determinações de Cd, Cu e Pb somente quando a proporção analito:concomitante foi máxima (1:500000). Nenhum efeito sinérgico foi observado entre os possíveis concomitantes. No caso do Cu, o

Ca(II) não implicou em nenhum efeito negativo ou positivo sobre os sinais analíticos. Outros macronutrientes como Mg(II), Na(I) e K(I) suprimiram o sinal do Cu em 18, 36 e 39%, respectivamente, mas somente quando presentes em concentrações elevadas ( $5 \text{ g L}^{-1}$ ). Para Pb, uma depreciação no sinal analítico de 50% foi observada na presença de Ca(II). Nos experimentos com micronutrientes nenhuma interferência positiva ou negativa ocorreu quando Cd e Pb foram determinados em meio contendo Cu(II), Fe(II), Mn(II) e Zn(II) e para a determinação de Cu na presença de Fe(III), Mn(II) e Zn(II).

### **6.6 – Figuras de mérito para as determinações de Cu, Cd e Pb em amostras de vinhos e sucos de uva**

A partir da otimização dos parâmetros instrumentais do sistema TS-FF-AAS para cada um dos elementos estudados, a determinação das figuras de mérito foi feita pelo estabelecimento da precisão, limites de detecção e quantificação e equação linear da curva de calibração. A precisão foi representada na forma de desvio-padrão relativo (RSD, %) obtido a partir de 6 medidas consecutivas de Cu ( $1 \text{ mg L}^{-1}$ ), Cd ( $25 \text{ } \mu\text{g L}^{-1}$ ) e Pb ( $500 \text{ } \mu\text{g L}^{-1}$ ) por TS-FF-AAS. Os limites de detecção (3 vezes o valor do desvio-padrão dos brancos dividido pelo coeficiente angular da equação linear da curva de calibração) e quantificação (10 vezes o valor do desvio-padrão dos brancos dividido pelo coeficiente angular da equação linear da curva de calibração) foram calculados a partir de 14 medidas consecutivas da solução do branco analítico. As figuras de mérito para a determinação de Cu, Cd e Pb por TS-FF-AAS em amostras de vinho e sucos de uva estão apresentadas na Tabela 6.6.1. e 6.6.2. respectivamente.

**Tabela 6.6.1.** Figuras de mérito para as determinações de Cu, Cd e Pb por TS-FF-AAS em amostras de vinho

Parâmetros	TS-FF-AAS		
	Cobre	Cádmio	Chumbo
LOD <sup>a</sup> / $\mu\text{g L}^{-1}$	12,9	1,76	5,32
LOQ <sup>b</sup> / $\mu\text{g L}^{-1}$	43,0	5,8	17,7
Repetibilidade (R.S.D. %) <sup>c</sup>	2,7	2,1	2,6
Faixa linear de calibração/ $\mu\text{g L}^{-1}$	43,0 – 200	5,8– 200	17,7 – 200
Equação linear	$y = 0,00130x + 0,0498$	$y = 0,0877x + 0,0503$	$y = 0,0082x + 0,0534$
Tempo de medida/s	80	80	80
Volume de amostra/ $\mu\text{L}$	150	150	150
Coefficiente de correlação	0,9999	0,9992	1,0000
Frequência de amostragem <sup>d</sup> / $\text{h}^{-1}$	45	45	45

<sup>a</sup> LOD: limite de detecção ( $3 \times s_{\text{branco}}$ /coeficiente angular,  $n = 14$ )

<sup>b</sup> LOQ: limite de quantificação ( $10 \times s_{\text{branco}}$ /coeficiente angular,  $n = 14$ )

<sup>c</sup> R.S.D. (%): desvio padrão relativo,  $n = 6$

<sup>d</sup> Frequência de amostragem: estimada para 1 h de trabalho

**Tabela 6.6.2.** Figuras de mérito para as determinações de Cu, Cd e Pb por TS-FF-AAS em amostras de sucos de uva

Parâmetros	TS-FF-AAS		
	Cobre	Cádmio	Chumbo
LOD <sup>a</sup> / $\mu\text{g L}^{-1}$	13,7	0,90	5,55
LOQ <sup>b</sup> / $\mu\text{g L}^{-1}$	45,6	3,00	18,3
Repetibilidade (R.S.D. %) <sup>c</sup>	3,3	2,0	2,3
Faixa linear de calibração/ $\mu\text{g L}^{-1}$	45,6 – 200	3,0 – 50	18,3 – 100
Equação linear	$y = 0,0045x + 1,552$	$y = 0,186x + 0,435$	$y = 0,0069x + 0,2301$
Tempo de medida/s	80	80	80
Volume de amostra/ $\mu\text{L}$	150	150	150
Coefficiente de correlação	0,9992	1,0000	0,9999
Frequência analítica <sup>c</sup> / $\text{h}^{-1}$	45	45	45

<sup>a</sup> LOD: limite de detecção ( $3 \times s_{\text{branco}}$ /coeficiente angular,  $n = 14$ )

<sup>b</sup> LOQ: limite de quantificação ( $10 \times s_{\text{branco}}$ /coeficiente angular,  $n = 14$ )

<sup>c</sup> R.S.D. (%): desvio padrão relativo,  $n = 6$

<sup>d</sup> Frequência de amostragem: estimada para 1 h de trabalho

A partir das Tabelas 6.6.1. e 6.6.2 observam-se adequados limites de detecção e quantificação para todos os analitos. Verificam-se também amplas faixas lineares de calibração com coeficientes de correlação linear próximos de 1,000.

### **6.7 – Comparação entre TS-FF-AAS e FAAS**

Soluções de Cu contendo 1,5; 3,0; 4,5; 6,0 e 7,5 mg L<sup>-1</sup> em meio etanol 2% (v/v) foram medidas por TS-FF-AAS e FAAS usando as condições otimizadas. Curvas de calibração analíticas foram plotadas e equações lineares calculadas para comparação da sensibilidade dos métodos. A Tabela 6.7.1. mostra as figuras de mérito para a determinação de Cu por FAAS e TS-FF-AAS e pode-se observar uma apreciável redução no limite de detecção de 8 vezes para essa última. Tal aperfeiçoamento no LOD estão relacionados a fatores como: maior eficiência no processo de transporte devido a uma redução na tensão superficial pela utilização de um solvente orgânico, maior eficiência no processo de introdução de amostra devido à formação do aerossol térmico e à volatilidade do solvente utilizado, aerossol com partículas menores devido à menor tensão superficial promovida pelo etanol, levando a uma maior eficiência nos processos de vaporização, dissociação e atomização, maior tempo disponível para a ocorrência dos processos de volatilização, dissociação e atomização no interior do tubo atomizador e maior concentração da nuvem de átomos no interior do tubo atomizador.

**Tabela 6.7.1.** Figuras de mérito para a determinação de Cu por TS-FF-AAS e FAAS

Parâmetros	Cobre		Cobre
	TS-FF-AAS		FAAS
	com 6 orifícios	sem orifícios	
LOD <sup>a</sup> / $\mu\text{g L}^{-1}$	20	63	160
LOQ <sup>b</sup> / $\mu\text{g L}^{-1}$	66	210	533
Repetibilidade (R.S.D. %) <sup>c</sup>	3,0	4,5	8,0
Faixa linear de calibração/ $\mu\text{g l}^{-1}$	66 - 7500	210 - 6000	533 - 6000
Equação linear	$y = 1,203x + 0,158$	$y = 0,869x + 0,1371$	$y = 0,028x + 0,002$
Tempo de medida/s	80	80	20
Volume de amostra/ $\mu\text{L}$	150	150	1000
Coefficiente de correlação	0,9986	0,9968	0,9983
Frequência de amostragem <sup>d</sup> / $\text{h}^{-1}$	45	45	180

<sup>a</sup> LOD: limite de detecção ( $3 \times s_{\text{branco}}$ /coeficiente angular,  $n = 14$ )

<sup>b</sup> LOQ: limite de quantificação ( $10 \times s_{\text{branco}}$ /coeficiente angular,  $n = 14$ )

<sup>c</sup> R.S.D. (%): desvio padrão relativo,  $n=6$

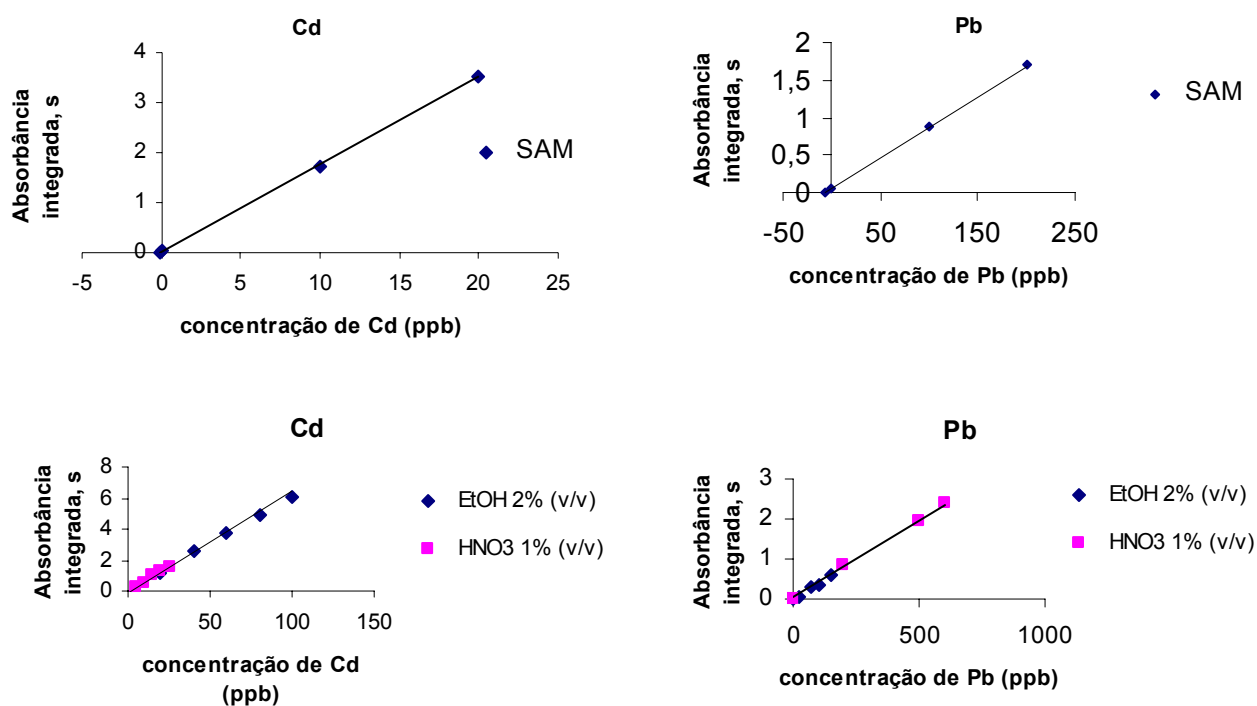
<sup>d</sup> Frequência de amostragem: estimada para 1 h de trabalho

## 6.8 – Avaliação da estratégia de calibração

O método das adições de padrão (SAM) é frequentemente usado quando a composição da amostra é desconhecida e interferências causadas por concomitantes podem se manifestar. Esse método foi originalmente usado em FAAS para eliminar interferências de transporte causada, por exemplo, pela diferença de viscosidade das soluções analisadas.<sup>1</sup> Considerando-se o trabalho com soluções contendo etanol, efetuou-se um estudo de calibração simples em meio de ácido nítrico  $0,014 \text{ mol L}^{-1}$  e em álcool etílico 2% (v/v) para Cd e Pb e a Figura 6.8.1. mostra as curvas de calibração resultantes. As figuras de mérito estão apresentadas na Tabela 6.8.1. e mostra os diferentes tipos de calibração. Constata-se que os coeficientes angulares obtidos para Cd e Pb aplicando-se o SAM para amostras de vinho são diferentes. Isso indica que há interferências que não foram corrigidas e que a SAM deve ser adotado como estratégia de calibração para a quantificação desses analitos nas amostras. Ou seja, como as amostras de vinho possuem diferentes teores de álcool e açúcar, essa estratégia foi adotada para minimizar os efeitos de matriz, pois as amostras de vinho e suco de uva apresentam uma composição complexa devido ao processamento dessas

bebidas. Alguns trabalhos relatados na literatura para a determinação de metais em amostras de cerveja e plantas medicinais também utilizaram essa estratégia de calibração devido à complexidade da matriz.<sup>21, 25</sup>

Para verificar a exatidão, o método de adições de padrão foi aplicado para estudos de adição e recuperação nas amostras de vinho e de suco de uva, pois não existe material de referência certificado para esses tipos de amostras.



**Figura 6.8.1.** Curvas de calibração para Cd e Pb utilizando diferentes estratégias de calibração



**Tabela 6.8.1.** Figuras de mérito para a determinação de Cd e Pb empregando diferentes estratégias de calibração

Parâmetros	Cd			Pb		
	SAM	HNO <sub>3</sub> 1% (v/v)	EtOH 2% (v/v)	SAM	HNO <sub>3</sub> 1% (v/v)	EtOH 2% (v/v)
LOD <sup>a</sup> / µg L <sup>-1</sup>	-	2,7	3,0	-	20,5	19,0
LOQ <sup>b</sup> / µg L <sup>-1</sup>	-	9,0	10	-	68,3	63,4
Faixa linear de calibração/ µg L <sup>-1</sup>	5,8 - 200	9,0 - 25	10,1 - 100	17,7 - 200	68,3 - 600	63,4 - 150
Equação linear µg L <sup>-1</sup>	$y = 0,1751x + 0,0134$	$y = 0,0629x + 0,032$	$y = 0,0612x + 0,0369$	$y = 0,0082x + 0,0534$	$y = 0,0039x + 0,0255$	$y = 0,0039x + 0,0195$
Tempo de medida/s	80	80	80	80	80	80
Volume de amostra/µL	150	150	150	150	150	150
Coefficiente de correlação	0,9996	0,9926	0,9989	1,0000	0,9987	0,9936
Frequência de amostragem <sup>c</sup> / h <sup>-1</sup>	45	45	45	45	45	45

<sup>a</sup> LOD: limite de detecção ( $3 \times s_{\text{branco}}$ /coeficiente angular, n=14)

<sup>b</sup> LOQ: limite de quantificação ( $10 \times s_{\text{branco}}$ /coeficiente angular, n=14)

<sup>c</sup> Frequência de amostragem: estimada para 1 h de trabalho

### **6.9 – Determinação de Cu, Cd e Pb em amostras de vinho e sucos de uva por TS-FF-AAS**

Cobre, Cd e Pb foram determinados em amostras de vinho e sucos de uva concentrado empregando TS-FF-AAS. As amostras de vinho apresentam um teor de alcoólico de aproximadamente 12% (v/v). Assim, para as amostras conterem 2% de etanol (v/v), que foi a concentração de etanol que possibilitou máxima sensibilidade nas medidas por TS-FF-AAS, foi necessário apenas a diluição das mesmas com ácido nítrico 0,014 mol L<sup>-1</sup>. Por outro lado, as amostras de suco de uva concentrado foram analisadas diretamente sem a necessidade de qualquer tratamento da amostra. Os resultados estão apresentados na Tabela 6.9.1. Observa-se uma variação apreciável dos valores de Cu, Cd e Pb em amostras de vinho. Todas as amostras apresentaram teores dos metais acima dos limites de detecção obtidos que foram 12,9; 1,76 e 5,32 µg L<sup>-1</sup> para Cu, Cd e Pb, respectivamente. Todas as concentrações de Cu, Cd e Pb estão abaixo dos limites máximos permitidos pela OIV que são de 1,0 mg L<sup>-1</sup>, 10 µg L<sup>-1</sup> e 200 µg L<sup>-1</sup>, respectivamente. Além disso, a Tabela 6.9.1. indica a exatidão do procedimento desenvolvido aplicando-se experimentos de adição e recuperação para a determinação desses metais em baixas concentrações em amostras de vinho. Os valores de recuperação ficaram entre 96,0 e 112,7% para Cu, 95,3 e 110% para Cd e 87,8 e 103,0% para Pb. Os valores de desvio padrão podem ser considerados adequados. Para cádmio, além dos experimentos de adição e recuperação, a exatidão também foi verificada pelo emprego de GFAAS. Os resultados estão apresentados na Tabela 6.9.2 e aplicando-se o teste t houve concordância a um nível de 95% de confiança.

**Tabela 6.9.1.** Determinação direta de Cu, Cd e Pb em amostras de vinho tinto e experimentos de adição e recuperação (n =3)

Amostra	Cu ( $\mu\text{g L}^{-1}$ )	Cd ( $\mu\text{g L}^{-1}$ )	Pb ( $\mu\text{g L}^{-1}$ )	Cu ( $\mu\text{g L}^{-1}$ )		Cd ( $\mu\text{g L}^{-1}$ )		Pb ( $\mu\text{g L}^{-1}$ )		Rec,(%)		
				Adic.	Encon.	Adic.	Encon.	Adic.	Encon.	Cu	Cd	Pb
Gato Negro	216,0 $\pm$ 0,01	2,4 $\pm$ 0,07	25,6 $\pm$ 0,05	100	323,0	10	12,2	100	123,4	107,0	97,5	97,8
de Neira	232,2 $\pm$ 0,04	5,4 $\pm$ 0,03	40,4 $\pm$ 0,06	100	332,0	10	16,5	100	140,2	99,8	110,0	90,7
Santa Alícia	764,4 $\pm$ 0,03	1,7 $\pm$ 0,03	70,2 $\pm$ 0,04	100	868,1	10	11,9	100	171,3	103,7	102,8	101,1
Boscato	189,6 $\pm$ 0,01	3,4 $\pm$ 0,04	100,3 $\pm$ 0,09	100	298,7	10	13,4	100	209,4	109,1	95,3	100,2
Chalise	148,2 $\pm$ 0,01	5,8 $\pm$ 0,03	39,1 $\pm$ 0,01	100	260,9	10	15,6	100	138,4	112,7	98,3	99,3
Cosecha	77,6 $\pm$ 0,04	7,7 $\pm$ 0,04	84,6 $\pm$ 0,04	100	189,8	10	16,5	100	182,0	112,1	117,8	87,8
Concha y Toro	56,2 $\pm$ 0,02	8,6 $\pm$ 0,03	17,3 $\pm$ 0,11	100	158,7	10	19,5	100	42,6	102,5	108,5	101,3
Gato Negro				200	408,0	20	22,7	200	229,6	96,0	101,4	102,0
de Neira				200	427,5	20	25,1	200	243,7	97,7	98,1	101,7
Santa Alícia				200	949,2	20	21,7	200	268,6	97,4	99,9	99,2
Boscato				200	393,9	20	23,4	200	301,6	102,1	99,6	99,9
Chalise				200	343,4	20	26,9	200	239,4	97,6	105,6	100,2
Cosecha				200	270,0	20	28,3	200	285,7	96,2	96,2	103,0
Concha y Toro				200	262,2	20	28,3	200	67,9	103,1	98,5	101,4

**Tabela 6.9.2.** Avaliação da exatidão de Cd em vinho por TS-FF-AAS e GFAAS

Amostras	Cd $\mu\text{g L}^{-1}$	
	TS-FF-AAS	GF AAS
A	2,4 $\pm$ 0,07	2,4 $\pm$ 0,03
B	5,4 $\pm$ 0,03	5,0 $\pm$ 0,17
C	1,7 $\pm$ 0,03	2,0 $\pm$ 0,04
D	3,4 $\pm$ 0,04	3,6 $\pm$ 0,04
E	5,8 $\pm$ 0,03	5,0 $\pm$ 0,25
F	7,7 $\pm$ 0,04	8,5 $\pm$ 0,29
G	8,6 $\pm$ 0,03	8,3 $\pm$ 0,06

Como mencionado anteriormente, os metais Cd e Pb são conhecidos por serem potencialmente tóxicos, portanto, um monitoramento da concentração desses metais em vinho com métodos apropriados que apresentem baixos custos e alta sensibilidade é de especial interesse.

Todas as análises foram realizadas utilizando um corretor de sinal de fundo com fonte contínua. Para verificar se a correção do sinal de fundo estava sendo efetiva, uma amostra de vinho foi diluída nas proporções 1:6 e 1:3 (v/v) e Cu foi determinado. Mesmo com diferentes diluições, as concentrações de Cu estabelecidas foram de 279,6  $\mu\text{g L}^{-1} \pm 0,0630$  e 283,8  $\mu\text{g L}^{-1} \pm 0,0302$ , respectivamente, para as diluições 1:6 e 1:3 (v/v). Portanto, confirma-se que a correção do sinal de fundo foi efetuada com exatidão.

Buscando-se avaliar a aplicabilidade da TS-FF-AAS para amostras praticamente isentas de etanol, mas com elevados conteúdos de sacarose, estudou-se o desempenho do método para as amostras de sucos de uva concentrado. As determinações foram feitas diretamente, sem qualquer pré-tratamento da amostra e os resultados estão apresentados na Tabela 6.9.3. Nesse caso nem mesmo uma mera diluição foi efetuada.

De acordo com a legislação vigente do Ministério da Agricultura, suco de uva é uma bebida não-fermentada e não diluída, obtida da parte comestível da uva (*Vitis sp.*) são, fresca e madura, empregando processo tecnológico adequado, ou do mosto

sulfitado ou concentrado, sendo tolerada a presença de álcool etílico até o máximo de 0,5% v/v. Conforme o processo de obtenção e constituição, o suco de uva pode ser classificado como: concentrado, reprocessado ou reconstituído, desidratado, integral e adoçado.<sup>50</sup>

Os níveis máximos permitidos de metais em sucos de uva são de 1,0 mg L<sup>-1</sup> para Cu, 10 µg L<sup>-1</sup> para Cd e 300 µg L<sup>-1</sup> para Pb. Nas amostras de sucos de uva, as concentrações dos metais variaram de 31,1-3431,1 µg L<sup>-1</sup> para Cu, 16,5-171,8 µg L<sup>-1</sup> para Pb e 2,25-4,55 µg L<sup>-1</sup> para Cd. Portanto, as amostras E e F apresentaram concentrações acima do limite permitido para Cu e nenhuma amostra apresentou concentrações de Cd e Pb acima dos limites máximos permitidos.

Todas as amostras apresentaram concentrações acima dos limites de detecção obtidos de 13,7; 0,90 e 5,55 µg L<sup>-1</sup> para Cu, Cd e Pb, respectivamente. Os valores de recuperação se situaram entre 90,1 e 106,9% para Cu, 93,1 e 115,9% para Pb e 97,1 e 107,3% para Cd.

Deve-se ainda ressaltar que duas amostras de sucos de uva continham teores de Cd e Cu entre o LOD e o LOQ. Essa não é uma região recomendada para obtenção de dados quantitativos, entretanto devido ao baixo desvio padrão das medidas e aos adequados valores de recuperação resultantes optou-se por manter esses resultados nas tabelas, porém não se pode desprezar essa ressalva.

Geralmente, as uvas que dão origem aos melhores sucos não são adequadas para a produção de vinho, em função do menor teor de açúcar, aroma característico, acidez mais elevada e inadequabilidade para o envelhecimento.<sup>50</sup>

**Tabela 6.9.3.** Determinação de Cu, Cd e Pb em amostras de sucos de uva e experimentos de adição e recuperação (n = 3)

Amostra de sucos	Cu( $\mu\text{g L}^{-1}$ )	Cd( $\mu\text{g L}^{-1}$ )	Pb( $\mu\text{g L}^{-1}$ )	Cu ( $\mu\text{g L}^{-1}$ )		Cd ( $\mu\text{g L}^{-1}$ )		Pb ( $\mu\text{g L}^{-1}$ )		Recup.(%)	Recup.(%)	Recup.(%)
				Adic.	Encon.	Adic.	Encon.	Adic.	Encon.	Cu	Cd	Pb
A*	31,1 $\pm$ 0,02	3,0 $\pm$ 0,08	16,5 $\pm$ 0,08	100	121,1	25	29,9	25	40,9	90,1	107,3	97,3
B*	344,9 $\pm$ 0,08	3,7 $\pm$ 0,03	79,3 $\pm$ 0,12	100	450,8	25	28,5	50	125,9	105,9	98,8	93,1
C**	239,8 $\pm$ 0,01	3,1 $\pm$ 0,13	26,1 $\pm$ 0,06	100	337,6	25	27,4	50	82,6	97,7	97,1	112,8
D**	105,5 $\pm$ 0,09	4,5 $\pm$ 0,04	75,9 $\pm$ 0,08	100	204,5	25	31,8	50	126,1	98,9	109,0	100,4
E***	1463,6 $\pm$ 0,07	2,3 $\pm$ 0,06	171,8 $\pm$ 0,11	100	1569,3	25	27,1	50	227,5	105,7	99,2	111,2
F***	3431,1 $\pm$ 0,04	2,2 $\pm$ 0,05	25,0 $\pm$ 0,09	100	3537,9	25	27,7	50	72,5	106,9	102,0	95,0
A*				200	235,1	50	52,1	50	74,5	102,0	98,2	115,9
B*				200	534,7	50	53,9	100	182,2	94,9	100,2	103,0
C**				200	441,5	50	53,5	100	129,2	100,5	100,7	103,0
D**				200	301,0	50	53,5	100	175,6	98,2	97,7	99,7
E***				200	1662,4	50	52,4	100	267,5	99,4	100,2	95,7
F***				200	3625,3	50	52,1	100	126,3	97,2	99,5	101,3

\* embalagem Tetrapak®

\*\* garrafa plástica

\*\*\* garrafa de vidro

## **Capítulo 7**

---

# *CONCLUSÕES*

## 7 – CONCLUSÕES

A espectrometria de absorção atômica com forno tubular na chama e aerossol térmico (TS-FF-AAS) se mostrou uma alternativa versátil e de baixo custo para a determinação de elementos em baixas concentrações. Assim, demonstra-se que usando um dispositivo simples pode-se ampliar acentuadamente a capacidade analítica da FAAS. Devido a uma maior eficiência nos processos de introdução da amostra e atomização, obtiveram-se aperfeiçoamentos nos limites de detecção 160 para  $20 \mu\text{g L}^{-1}$  para Cu em FAAS e TS-FF-AAS, respectivamente, em meio contendo etanol 2% (v/v). Para as determinações de Cu, Cd e Pb em amostras de vinho foram obtidos  $\text{LOD} = 12,9; 1,76 \text{ e } 5,32 \mu\text{g L}^{-1}$  e  $\text{LOQ} = 43,0; 5,8 \text{ e } 17,7 \mu\text{g L}^{-1}$ , respectivamente. Para as amostras de sucos de uva foram obtidos  $\text{LOD} = 13,7; 0,90 \text{ e } 5,55 \mu\text{g L}^{-1}$  e  $\text{LOQ} = 45,6; 3,0 \text{ e } 18,3 \mu\text{g L}^{-1}$ , respectivamente, para Cu, Cd e Pb. A repetibilidade foi de 2,7; 2,1 e 2,6% para Cu, Cd e Pb, respectivamente, representada como desvio padrão relativo (RSD, %) e calculada a partir de 6 medidas consecutivas.

Considerando-se a temperatura no interior do tubo atomizador de Ni e o ambiente químico, constata-se que TS-FF-AAS tem maior aplicabilidade para elementos voláteis. As determinações de Cu, Cd e Pb foram viáveis em meio contendo etanol 2% (v/v) uma vez que não ocorrem efeitos drásticos sobre os processos de transporte, volatilização, dissociação e atomização. Além disso, a maior volatilidade e o calor de combustão provavelmente contribuíram para que não ocorresse a redução da temperatura do tubo atomizador durante a introdução da amostra e colaboraram para um ligeiro aumento de sensibilidade na determinação desses analitos.

Para os parâmetros instrumentais avaliados, uma vazão de  $0,54 \text{ mL min}^{-1}$  foi a que proporcionou as melhores sensibilidades para todos os analitos. Vazões maiores não contribuíram para o aumento de sensibilidade devido ao resfriamento do tubo atomizador e da extremidade do capilar e, como consequência, incompleta vaporização da solução o que causou aumento nos desvios das medidas. Por outro lado, menores vazões causam uma redução na frequência de amostragem. Para que houvesse um compromisso entre sensibilidade, repetibilidade, facilidade de manipulação da amostra e frequência de amostragem, optou-se por um volume de amostra de  $150 \mu\text{L}$  para a determinação de todos os analitos.



Nos estudos efetuados para avaliar os efeitos de interferências sobre os sinais analíticos de Co e Mn por FAAS e TS-FF-AAS, constatou-se que elevadas concentrações de concomitantes podem interferir nos processos de volatilização, dissociação e atomização do analito. As interferências foram mais acentuadas em TS-FF-AAS. As diferenças entre as duas técnicas estão relacionadas com o tempo de residência da amostra e a eficiência do processo de introdução da amostra. Esses dois parâmetros são maiores para TS-FF-AAS, portanto, isso implica em maiores concentrações de analitos e concomitantes na nuvem de átomos e maiores intervalos de tempos para a ocorrência de reações entre as espécies químicas e, conseqüentemente, as interferências mais severas ocorreram e podem ser explicadas pela temperatura relativamente baixa no interior do tubo atomizador de Ni. Interferências mais severas também foram observadas para as determinações de Cu por TS-FF-AAS em meio de ácido nítrico  $0,014 \text{ mol L}^{-1}$  e em meio etanol 2% (v/v) empregando-se um planejamento fatorial ( $2^4$ ). Esse experimento foi conduzido em meio contendo concomitantes tipicamente presentes em amostras de vinho.

A TS-FF-AAS se mostrou aplicável para as determinações de Cu, Cd e Pb em amostras de vinho e suco de uva e pode ser estendida a outros elementos com devida atenção à volatilidade. Entretanto, mais estudos são necessários para compreender e minimizar os efeitos causados por concomitantes.

Como perspectivas para trabalhos futuros pode-se destacar a necessidade de etapas prévias de separação, formação de complexos voláteis e a pré-concentração dos analitos para superar a dificuldade da determinação de elementos refratários em TS-FF-AAS devido a baixa temperatura do tubo atomizador ou na adoção de estratégia de calibração que possibilite a correção desses processos.

## Capítulo 8

---

# *REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS*

**8 – REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS**

1. WELZ, B. & SPERLING, M. *Atomic Absorption Spectrometry*, 3ª ed., Weinheim, Wiley-VCH, 1999. 941 p.
2. HARRIS, D. C., *Análise Química Quantitativa*, 5ª ed. Trad. C. A. S. RIEHL & A. W. S. GUARINO. Rio de Janeiro, LTC Livros Técnicos e Científicos, 2001. 862 p.
3. MATUSIEWICZ, H. “*Atom trapping and in situ preconcentration techniques for flame atomic absorption spectrometry*”. *Spectrochim. Acta Part B*, **52**(12): 1711-1736, 1997.
4. DELVES, H. T. “*A micro-sampling method for the rapid determination of lead in blood by atomic-absorption spectrometry*”. *Analyst*, **95**(1130): 431-438, 1970.
5. GASPAR, A. & BERNDT, H. “*Thermospray flame furnace atomic absorption spectrometry (TS-FF-AAS) – a simple method for trace element determination with microsamples in the µg/l concentration range*”, *Spectrochim. Acta Part B*, **55** (6): 587-597, 2000.
6. GASPAR, A.; SZELES, E. & BERNDT, H. “*Analysis of microliter samples using micro thermospray flame furnace atomic absorption spectrometry*”. *Anal. Bioanal. Chem.*, **372**(1): 136-140, 2002.
7. PEREIRA-FILHO, E. R.; BERNDT, H. & ARRUDA, M. A. Z. “*Simltaneous sample digestion and determination of Cd, Cu and Pb in biological samples using thermospray flame furnace atomic absorption spectrometry (TS-FF-AAS) with slurry sample introduction*”. *J. Anal. At. Spectrom.*, **17**(10): 1308-1315, 2002.
8. ALEIXO, P. C. Determinação de cádmio, chumbo, tálio e zinco em águas e alimentos por espectrometria de absorção atômica com injeção de amostras em forno aquecido por chama (BIFF-AAS), São Carlos, Programa em Pós-Graduação em Química – UFSCar, 2006. Tese de doutorado, 152 p.
9. DAVIES, J. & BERNDT, H. “*Improvements in thermospray flame furnace atomic absorption spectrometry*”. *Anal. Chim. Acta*, **479**(2): 215-223, 2003.

10. HILDERBRAND, D. C. & PICKETT, E. E. “*Determination of the volatility of metal chelates by atomic absorption*”. Anal. Chem., **47**(3): 424-427, 1975.
11. WALSH, A. “*The application of atomic absorption spectrochemical analysis*”. Spectrochim. Acta, **7**(2): 108-117, 1955.
12. RIGIN, V. I. “*Gas-phase atomization in analytical atomic spectrometry*”. Fresenius Z. Anal. Chem., **335**(1): 15-18, 1989.
13. BLAKLEY, C. R.; McADAMS, M. J. & VESTAL, M. L. “*Crossed-beam liquid chromatograph-mass spectrometer combination*”. J. Chromatog. Part A, **158**: 261-276, 1968.h
14. VESTAL, M. L. & FERGUSON, G. “*Thermospray liquid chromatograph mass-spectrometer interface with direct electrical heating of the capillary*”. Anal. Chem., **57**(12): 2373-2378, 1985.
15. PETRUCCELLI, C. 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. At. Spectrom., **21**(11): 1298-1304, 2006.
16. PEREIRA, M. G.; PEREIRA-FILHO, E. R.; BERNDT, H. & 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**(4): 515-521, 2004.
17. 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**(6): 961-966, 2004.
18. 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**(4): 912-917, 2004.
19. NEIRA, J.; GONZÁLEZ, E.; AHUMADA, R.; MEDINA, V. & GONZÁLEZ, U. "Espectrofotometría de absorción atômica com tubo em la llama: aplicación em la determinación total de cadmio, plomo y zinc em águas frescas, água de mar y sedimentos marinos". Quím. Nova, **27**(6): 873-877, 2004.
  20. 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**(3-4): 283-290, 2005.
  21. 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**(11): 1337-1341, 2005.
  22. TARLEY, C. R. T. & ARRUDA, M. A. Z. "Online coupling of a flow injection system to TS-FF-AAS for preconcentration and determination of lead in water and vegetables". Anal. Lett., **38**(9): 1427-1443, 2005.
  23. BERNDT, H. & PULVERMACHER, E. "Sample introduction assisted by compressed air in flame furnace AAS: a simple and sensitive method for the determination of trace toxic elements". Anal. Bioanal. Chem. **382**(8): 1826-1834, 2005.
  24. 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**(5): 749-753, 2005.
  25. MATOS, G. D. & ARRUDA, M. A. Z. "Online preconcentration/determination of cadmium using grapes bagasse in a flow system coupled to thermospray flame furnace atomic absorption spectrometry". Spectrosc. Lett., **39**(6): 755-768, 2006.

26. PETRUCCELLI, 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**(2): 620-626, 2007.
27. DONATI, G. L.; NASCENTES, C. C.; NOGUEIRA, A. R. A.; ARRUDA, M. Z. A. & NÓBREGA, J. A. “*Acid extraction and cloud point preconcentration as sample preparation strategies for determination in biological materials by thermospray flame furnace atomic absorption spectrometry*”. *Microchem. J.*, **82**(2): 189-195, 2006.
28. 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<sup>-1</sup> levels using a simple flow injection minicolumn preconcentration system with multiwall carbon nanotubes*”. *J. Anal. At. Spectrom.*, **21**(11): 1305-1313, 2006.
29. BALUJA-SANTOS, C. & GONZALEZ-PORTAL, A. “*Application of hydride generation to atomic absorption spectrometric analysis of wines and beverages: A review*”. *Talanta* **39** (4) 329-339, 1992.
30. BORDEU, E. S. & SCARPA, J. B. B. *Análisis Químico del Vino*, Ediciones Universidad Católica de Chile, Texto Universitários, 1998.
31. LLOBAT-ESTELLÉS, M.; MAURI-AUCEJO, A. R. & MARIN-SAEZ, R. “*Deteccion of bias errors in ETAAS: determination of copper in beer and wine samples*”. *Talanta*, **68**(5): 1640-1647, 2006.
32. LISHKOVSKII, Z. N. & SKURIKHIN, I. M. *Chemistry of Wine*, Moscou, Pischevaya Promyshlennost, 1976, p. 312.
33. CLARK, A. C. & SCOLLARY, G. R. “*Determination of copper in white wine by stripping potentiometry utilizing medium exchange*”. *Anal. Chim. Acta*, 413(1-2): 25-32, 2000.

34. LARA, R.; CERUTTI, S.; SALONIA, J. A.; OLSINA, R. A. & MARTINEZ, L. D. “Trace element determination of Argentine Wines using ETAAS and USN-ICP-OES”. *Food Chem. Tox.*, **43**(2): 293-297, 2005.
35. OIV (Organização Internacional de Vinhos). [www.oiv.gov/uk/accueil/index.php](http://www.oiv.gov/uk/accueil/index.php), 23/10/2006
36. Organização Mundial da Saúde de Genebra. *Elementos traços na Nutrição e Saúde Humanas*. 1ª ed., Genebra, Editora Roca, 1998.
37. ZOECKLEIN, B. W.; FUGELSANG, K. C.; GUMP, B. H. & NURY O. S. “*Wine analysis and production*”. Chapman & Hall, New York 1994.
38. CVETKOVIC, J.; ARPADJAN, S.; KARADJOVA, I. & STAFILOV, T. “*Determination of cadmium in wine by electrothermal atomic absorption spectrometry*”. *Acta Pharm.*, **56**: 69-77, 2006.
39. ANVISA. [www.anvisa.gov.br/auxilio/sites/inter.htm](http://www.anvisa.gov.br/auxilio/sites/inter.htm), acesso em 23/10/2006
40. CAMACAM Industrial LTDA, Certificado de Qualidade
41. DONATI, G.L., Avaliação da viabilidade da determinação de cobalto e cromo em alimentos por espectrometria de absorção atômica com forno tubular na chama e aerossol térmico (TS-FF-AAS), São Carlos, Programa em Pós-Graduação em Química – UFSCar, 2006. Dissertação de mestrado, 79 p.
42. ALLAN, J. E. “*The determination of iron and manganese by atomic absorption*”. *Spectrochim. Acta Part B*, **15**(10): 800-806, 1959.
43. GROSSMANN, O. & MÜLLER, E. “*Application of the design of experiments for standardizing the determination of manganese in several alloys by means of atomic-absorption spectroscopy*”. *Fresenius Z. Anal. Chem.*, **308**(4): 327-331, 1981.
44. NEIRA, J., BERNDT, H. “*Determination of Cd and Pb at  $\mu\text{g L}^{-1}$  levels by HHPN-beam injection flame furnace-AAS*”. *Fresenius J. Anal. Chem.*, **368**(7): 649-655, 2000.

45. STURGEON, R. E. & CHAKRABARTI, C. L. “*Atomization of molybdenum in air-acetylene and nitrous oxide-acetylene flames*”. Anal. Chem., **48**(4): 677 – 686, 1976.
46. BARROS NETO, B.; SCARMINIO, I. S. & BRUNS, R. E., *Planejamento e Otimização de Experimentos*, 2ª ed., Campinas, Editora da Unicamp, 1996.
47. KITAGAWA, K.; YANAGISA, M. & TAKEUCHI, T. “*Spectroscopy determination of atomization efficiency (CuCl-Cu+Cl) in an air-hydrogen flame*”. Anal. Chim. Acta, **68**(1): 212-216, 1974.
48. PLATTE, J. A. & MARCY, V. M. “*Atomic absorption spectrophotometry as a tool for the water chemist*”. At. Absorpt. Newsletter, **4/6**: 289-292, 1965.
49. PEREIRA-FILHO, E. R., Análise de suspensões de materiais biológicos por espectrometria de absorção atômica: Novas alternativas em atomização empregando análise quimiométrica, Campinas, Universidade Estadual de Campinas – UNICAMP, 2003. Tese de doutorado, 161p.
50. [www.agricultura.gov.br](http://www.agricultura.gov.br), acesso em 26/01/2007