

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

**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)**

GEORGE LUÍS DONATI*

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 CNPq

São Carlos – SP

2006

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

D677av

Donati, George Luís.

Avaliação da viabilidade da determinação de cobalto e cromo em alimentos por espectrometria de absorção atômica com forno tubular na chama e aerossol térmico / George Luís Donati. -- São Carlos : UFSCar, 2006.
99 p.

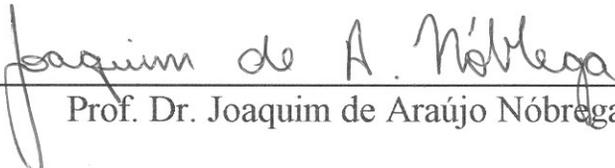
Dissertação (Mestrado) -- Universidade Federal de São Carlos, 2006.

1. Espectroscopia de absorção atômica. 2. Aerossol térmico. 3. Forno sobre chama. 4. Cobalto. 5. Cromo. I. Título.

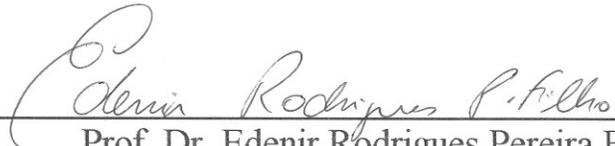
CDD: 543.0858 (20^a)

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

*Assinaturas dos membros da banca examinadora que avaliou e aprovou a defesa de dissertação de mestrado do candidato **George Luis Donati** realizado em 23 de fevereiro de 2006:*


Prof. Dr. Joaquim de Araújo Nóbrega


Prof. Dr. Francisco José Krug


Prof. Dr. Edénir Rodrigues Pereira Filho

Se me perguntassem de que é feito o homem eu diria

Como químico, de átomos, moléculas, interações interatômicas e
intermoleculares, reações ...

Como músico, de dó, ré, fá, acordes em tom menor nos dias tristes e
com sétima maior nos de melancolia. Nos dias felizes, sóis ...

Como professor, de seriedade, dignidade, bons exemplos e muita
paciência, não com os alunos, mas com aquelas reuniões
intermináveis...

Como brasileiro, de beleza, alegria, perseverança, às vezes muita
decepção, e esperança, muita esperança ...

Como mineiro, de montanhas, tradição, simplicidade, trabalho, queijo e
doce-de-leite. Afinal, o que seria do mineiro sem queijo e doce-de-leite?

Como andradense, de vinho, amigos, família, aquele nó na garganta e
saudade ...

Como ser humano, de erros e acertos, passos curtos e muitos tropeços,
amizades verdadeiras e fé ...

Como filho de Deus, de amor, simplesmente amor!

À Deus pela força e serenidade nos momentos difíceis.

À minha mãe, Sara, pelo incentivo, carinho e amor.

Ao meu pai, Eduardo, pelos ensinamentos de vida.

À minha esposa, Eunice, pelo carinho, companheirismo, paciência e amor.

AGRADECIMENTOS

Ao Prof. Dr. Joaquim de Araújo Nóbrega pela orientação, amizade, paciência, incentivo e oportunidade de crescer como profissional e como pessoa.

À Profa. Dra. Clésia Cristina Nascentes pela imensa paciência, incentivo, amizade, companheirismo e apoio de todas as horas.

À Profa. Dra. Ana Rita de Araujo Nogueira pela amizade, pelas valiosas sugestões e pelo apoio.

À minha esposa Eunice pelo incentivo, companheirismo, amor, carinho e paciência nos momentos mais difíceis.

A todos os amigos do Grupo de Análise Instrumental Aplicada: Adriana, Alexandra, Andréa, Ariel, Caio, Carla, Cláudia, Daniela, Edivan, Eveline, Fabiana, Fernanda, Gilberto, Kelly, Lílian, Mário, Marcos, Mirian, Rodolfo, Sílvia, Sinone, Telma e Wladiana e aos ex-Gaia: Marcos, Carla, Edilene, Flávia e Sherlan pelas risadas, sugestões e amizade.

Aos amigos de São Carlos: Daniel e Sara Pasquini, Andréa, Bruno, Joana e Thaís pelo apoio e amizade.

Aos amigos da república Fullerenos: Caio, Éder, Elton, Giovani, Lucas e Vítor pelo apoio e amizade.

Aos colegas do CCDM: Débora, Fernando, Rose e Telma pela paciência e apoio.

Ao Prof. Dr. Eduardo Fausto de Almeida Neves pelas valiosas sugestões, apoio e amizade.

Aos Profs. Drs. Ronaldo Censi Faria e Francisco José Krug pelas sugestões.

Ao Dr. Harald Berndt pela doação dos capilares para a realização deste trabalho.

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

À Profa. Dra. Ivani A. Carlos pela dedicação e sugestões nos relatórios.

Aos funcionários do Departamento de Química da UFSCar, em especial às secretárias do Programa de Pós-Graduação em Química, pela paciência e colaboração.

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

Ao Conselho Nacional de Desenvolvimento Científico e Tecnológico 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 OBRIGADO

LISTA DE ABREVIATURAS

8-HQ	8-hidroxiquinolina
APDC	Pirrolinaditiocarbamato de amônio
BIFF-AAS	Espectrometria de absorção atômica com injeção de amostra em forno aquecido por chama
Br-PF	Dibromofenilfluoreto
CFA-C	Aminas terciárias solúveis em água
CMC	Concentração micelar crítica
CPE	Extração por ponto nuvem
CS AAS	Espectrometria de absorção atômica com fonte contínua
DDTC	Dietilditiocarbamato de sódio
DDTP	O,O-dietilditiofosfato
EDTA	Ácido etilenodiaminatetraacético
FAAS	Espectrometria de absorção atômica com chama
FIA	Análise por injeção em fluxo
G-SH	Glutationa
GF AAS	Espectrometria de absorção atômica com atomização eletrotérmica em forno de grafite

HCL	Lâmpada de catodo oco
HG-FF-AAS	Espectrometria de absorção atômica com forno tubular na chama e geração de hidretos
HHPN	Nebulização hidráulica sob alta pressão
HPLC-ICP OES	Cromatografia líquida de alta eficiência acoplada à espectrometria de emissão óptica com plasma induzido
HR-CS FAAS	Espectrometria de absorção atômica em chama com alta resolução e fonte contínua
HT-HHPN	Nebulização hidráulica sob alta pressão e alta temperatura
IAT	Aprisionamento de átomos integrado
JIN	Nebulização por impacto de jato
LC-MS	Cromatografia líquida acoplada à espectrometria de massa
LPAT	Tubo de absorção de caminho longo
LS FAAS	Espectrometria de absorção atômica em chama com fonte de linha
NIST	Instituto Nacional de Ciência e Tecnologia (EUA)
PAN	Piridilazonaftol
PN	Nebulização pneumática

SDS	Dodecilssulfato de sódio
STAT	Aprisionamento de átomos por tubo com fenda
STWCAT	Aprisionamento de átomos por tubo com fenda resfriado com água
TS-FF-AAS	Espectrometria de absorção atômica com forno tubular na chama e aerossol térmico
USN	Nebulização ultra-sônica
WCAT	Aprisionamento de átomos por resfriamento com água

LISTA DE TABELAS

TABELA 4.1.1	Parâmetros instrumentais recomendados pelo fabricante para a determinação de cobalto e cromo por FAAS	30
TABELA 4.1.1.1	Composição da liga de Ni 200, utilizada na confecção do tubo atomizador do sistema TS-FF-AAS	33
TABELA 4.1.1.2	Propriedades físicas da liga de Ni 200.....	33
TABELA 4.1.1.3	Propriedades físicas do capilar cerâmico de Al ₂ O ₃ utilizado no sistema TS-FF-AAS	33
TABELA 5.1.1	Parâmetros instrumentais utilizados para a determinação de Co(II) e Cr(III) por TS-FF-AAS	39
TABELA 6.1.1	Absorbâncias integradas obtidas para 100 µg L ⁻¹ de Co(II) a partir da complexação com vários reagentes, pré-concentração por ponto nuvem e determinação por TS-FF-AAS	47
TABELA 6.1.2	Absorbâncias integradas obtidas para 100 µg L ⁻¹ de Cr(III) a partir da complexação com vários reagentes, pré-concentração por ponto nuvem e determinação por TS-FF-AAS	47
TABELA 6.8.1	Condições otimizadas para a pré-concentração por ponto nuvem de 10 mL de soluções de Co(II) e Cr(III).....	74
TABELA 6.8.2	Parâmetros instrumentais recomendados para a determinação de Co(II) e Cr(III) por TS-FF-AAS	74

TABELA 6.8.3	Figuras de mérito para a determinação de Co(II) e Cr(III) por TS-FF-AAS após pré-concentração por ponto nuvem	75
TABELA 6.10.1	Avaliação da exatidão do método proposto: teores determinados e certificados de Co(II) em dois materiais de referência certificados (valor médio \pm intervalo de confiança)	82
TABELA 6.11.1	Aplicação do método proposto na determinação de Co(II) em amostras comerciais de alimentos (teor médio \pm desvio padrão)	83

LISTA DE FIGURAS

FIGURA 4.1.1.1	Representação esquemática do sistema TS-FF-AAS.....	32
FIGURA 4.1.1.2	Configurações avaliadas para aumentar a temperatura no interior do tubo de Ni: (a) Tubo convencional e (b) Tubo com maior orifício	32
FIGURA 4.1.1.3	Sistema TS-FF-AAS: (a) sistema completo e (b) tubo de Ni sobre a chama com capilar cerâmico acoplado	34
FIGURA 6.1.1	Pirrolidinaditiocarbamato de amônio (APDC). (a) Fórmula estrutural. (b) Fórmula estrutural genérica dos complexos organometálicos. M = íon metálico	48
FIGURA 6.2.1	Tubo com maior orifício e penetração dos gases da chama verificados pela introdução de uma solução 1000 mg L ⁻¹ de Cu(II).....	49
FIGURA 6.2.2	Tubo com maior orifício e penetração dos gases da chama verificados pela introdução de uma solução 1000 mg L ⁻¹ de Sr(II)	50
FIGURA 6.2.3	Efeito da configuração do tubo atomizador sobre o sinal analítico de soluções de Co(II) e Cr(III) submetidas ao procedimento de pré-concentração por ponto nuvem com APDC e Triton X-114	51
FIGURA 6.3.1	Fórmula estrutural do surfactante α -[p-(1,1,3,3-tetrametilbutil)fenil]- ω -hidroxipoli(oxietileno) (Triton X-114)	52

FIGURA 6.3.2	Gráfico de Pareto: avaliação da influência sobre o sinal analítico dos parâmetros envolvidos na pré-concentração por ponto nuvem de uma solução $100 \mu\text{g L}^{-1}$ de Co(II) determinada por TS-FF-AAS	53
FIGURA 6.3.3	Gráfico de efeitos principais: efeitos dos parâmetros envolvidos na pré-concentração por ponto nuvem sobre o sinal analítico de uma solução $100 \mu\text{g L}^{-1}$ de Co(II) determinada por TS-FF-AAS	54
FIGURA 6.3.4	Gráfico de Pareto: avaliação da influência sobre o sinal analítico dos parâmetros envolvidos na pré-concentração por ponto nuvem de uma solução $100 \mu\text{g L}^{-1}$ de Cr(III) determinada por TS-FF-AAS	55
FIGURA 6.3.5	Gráfico de efeitos principais: efeitos dos parâmetros envolvidos na pré-concentração por ponto nuvem sobre o sinal analítico de uma solução $100 \mu\text{g L}^{-1}$ de Cr(III) determinada por TS-FF-AAS ..	55
FIGURA 6.3.6	Efeito do pH de complexação sobre o sinal analítico de uma solução $100 \mu\text{g L}^{-1}$ de Cr(III) submetida à pré-concentração por ponto nuvem e determinada por TS-FF-AAS.....	56
FIGURA 6.4.1	Gráfico de Pareto: avaliação da influência da estequiometria da chama e da altura do tubo atomizador sobre o sinal analítico de Co(II).....	58
FIGURA 6.4.2	Gráfico de efeitos principais: efeitos da estequiometria da chama e da altura do tubo atomizador sobre o sinal analítico de Co(II) ..	58

FIGURA 6.4.3	Avaliação dos efeitos da estequiometria da chama sobre o sinal analítico de Co(II) e sobre o sinal de fundo para determinação por TS-FF-AAS	60
FIGURA 6.4.4	Gráfico de Pareto: avaliação da influência da estequiometria da chama e da altura do tubo atomizador sobre o sinal analítico de Cr(III).....	60
FIGURA 6.4.5	Gráfico de efeitos principais: Efeitos da estequiometria da chama e da altura do tubo atomizador sobre o sinal analítico de Cr(III)... ..	60
FIGURA 6.4.6	Influência da estequiometria da chama sobre o sinal analítico de Cr(III) obtido por TS-FF-AAS com altura do tubo atomizador de 0,3 cm	62
FIGURA 6.5.1	Gráfico de Pareto: avaliação da influência da vazão e do tipo de carregador sobre o sinal analítico de Co(II) determinado por TS-FF-AAS	63
FIGURA 6.5.2	Gráfico de efeitos principais: influência da vazão e do tipo de carregador sobre o sinal analítico de Co(II) determinado por TS-FF-AAS	64
FIGURA 6.5.3	Influência da vazão do carregador sobre o sinal analítico de Co(II) determinado por TS-FF-AAS. Carregador = ar. A barra de erro representa um desvio padrão de 3 medidas consecutivas.. ..	66
FIGURA 6.5.4	Gráfico de Pareto: avaliação da influência da vazão e do tipo de carregador sobre o sinal analítico de Cr(III) determinado por TS-FF-AAS	67

FIGURA 6.5.5	Gráfico de efeitos principais: influência da vazão e do tipo de carregador sobre o sinal analítico de Cr(III) determinado por TS-FF-AAS 67
FIGURA 6.5.6	Influência da vazão do carregador sobre o sinal analítico de Cr(III) determinado por TS-FF-AAS. Carregador = ar. A barra de erro representa um desvio padrão de 3 medidas consecutivas.... 68
FIGURA 6.6.1	Influência do tipo de solvente empregado na diluição da fase rica sobre o sinal analítico de Co(II) determinado por TS-FF-AAS. 69
FIGURA 6.6.2	Influência do tipo de solvente empregado na diluição da fase rica sobre o sinal analítico de Cr(III) determinado por TS-FF-AAS. 70
Figura 6.7.1	Efeito do volume de amostra injetado sobre o sinal analítico de Co(II) determinado por TS-FF-AAS 72
Figura 6.7.2	Efeito do volume de amostra injetado sobre o sinal analítico de Cr(III) determinado por TS-FF-AAS 72
FIGURA 6.9.1	Efeitos dos concomitantes (a) Al(III) e (b) Fe(III) sobre o sinal analítico de Co(II) determinado por FAAS 78
FIGURA 6.9.2	Efeitos dos concomitantes (a) Al(III) e (b) Fe(III) sobre o sinal analítico de Co(II) determinado por TS-FF-AAS 79
FIGURA 6.9.3	Efeitos dos concomitantes (a) Al(III) e (b) Fe(III) sobre o sinal analítico de Cr(III) determinado por FAAS 80
FIGURA 6.9.4	Efeitos dos concomitantes (a) Al(III) e (b) Fe(III) sobre o sinal analítico de Cr(III) determinado por TS-FF-AAS 81

RESUMO

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)

Neste trabalho, um tubo de níquel usado como célula de atomização e um capilar cerâmico para a geração de um aerossol térmico (TS-FF-AAS) foram empregados para a melhoria do desempenho analítico da espectrometria de absorção atômica com chama (FAAS). Avaliou-se a aplicabilidade do método para a determinação de Co(II) e Cr(III) em amostras alimentícias. Devido a fatores como a baixa temperatura no interior do tubo atomizador, as altas temperaturas requeridas para atomização e os baixos teores desses elementos em amostras biológicas, foi aplicado um método de extração por ponto nuvem (CPE) visando favorecer os processos de volatilização e atomização pela formação de complexos metálicos voláteis e aumentar a sensibilidade pela pré-concentração dos analitos. Para a implementação do procedimento de pré-concentração por ponto nuvem foi empregado o surfactante Triton X-114 e, na avaliação de diversos complexantes, os melhores resultados foram obtidos para pirrolidinaditiocarbamato de amônio (APDC). Fatores como pH de complexação e concentrações do complexante e do surfactante foram otimizados. Visando ao aumento da sensibilidade, dois tipos de configuração foram avaliados para aumentar a temperatura interna do tubo atomizador. O tubo com maior orifício, cuja temperatura interna é maior devido a uma melhor penetração da chama, apresentou um aumento significativo na sensibilidade para Cr(III). Foram também avaliados parâmetros como estequiometria da chama, altura do tubo atomizador em relação ao queimador, solvente da fase rica, volume de amostra, carregador e vazão. A partir das condições otimizadas foram obtidos limites de detecção (LOD) de 2,1 e 2,5 $\mu\text{g L}^{-1}$ e limites de quantificação (LOQ) de 7,0 e 8,4 $\mu\text{g L}^{-1}$ para Co(II) e Cr(III), respectivamente ($n = 10$). A repetibilidade do método (5,8 e 5,4 % para Co(II) e Cr(III), respectivamente), representada como desvio padrão relativo (RSD, %, 1s), foi calculada a partir de 10 medidas consecutivas de soluções pré-concentradas dos analitos. Foram observadas interferências tanto nos processos de volatilização e atomização no interior do tubo atomizador como na

reação de formação dos complexos metálicos devido à complexidade da amostra e às altas concentrações de concomitantes presentes nas amostras analisadas. Na determinação de Co(II), para evitar tais efeitos, foi aplicado um procedimento de extração ácida com solução de HCl 1 mol L^{-1} , no qual apenas espécies divalentes são quantitativamente extraídas enquanto interferentes críticos como Fe(III) e Al(III) não o são. Para Cr(III) foram avaliados procedimentos de complexação dos concomitantes com fluoreto e com ácido etilenodiaminatetraacético (EDTA). A exatidão do método foi verificada pela determinação de Co(II) em dois materiais de referência certificados (folhas de tomateiro e fígado bovino). Não houve diferenças estatísticas entre os teores determinados e certificados em um nível de confiança de 95%. O método é eficiente e possibilitou a determinação de Co(II) em baixas concentrações em amostras comerciais de origem vegetal e animal sem a necessidade de digestão da amostra. Contudo, a determinação de Cr(III) em amostras alimentícias foi impossibilitada devido às altas concentrações e às interferências causadas por concomitantes nas etapas de pré-concentração e determinação.

ABSTRACT

EVALUATION OF THE FEASIBILITY OF COBALT AND CHROMIUM DETERMINATION IN FOODS BY THERMOSPRAY FLAME FURNACE ATOMIC ABSORPTION SPECTROMETRY (TS-FF-AAS)

In this work, a nickel tube used as atomization cell and a ceramic capillary for thermospray generation (TS-FF-AAS) were employed to increase the analytical performance of the flame atomic absorption spectrometry (FAAS). The applicability of the method was evaluated for Co(II) and Cr(III) determination in food samples. Due to factors such as the low temperature into the atomization tube, the high atomization temperatures of the analytes, and the low levels of these elements in biological samples, a cloud point extraction (CPE) method was applied to both improve the processes of volatilization and atomization by formation of volatile metal complexes, and increase the sensitivity. Triton X-114 was used as surfactant to the implementation of the cloud point preconcentration procedure and, after the evaluation of several complexing agents, the best results were obtained with ammonium pyrrolidinedithiocarbamate (APDC). Parameters such as pH of complexation and concentrations of both surfactant and complexing agent were optimized. To improve the sensitivity, two configurations were evaluated to change the internal temperature of the atomization tube. The slotted tube, in which the internal temperature is higher due to more intense flame penetration, provided a significant increase in Cr(III) sensitivity. Parameters such as flame stoichiometry, atomization tube height, rich phase solvent, sample volume, carrier and flow rate were also evaluated. Limits of detection (LOD) of 2.1 and 2.5 $\mu\text{g L}^{-1}$ and quantification (LOQ) of 7.0 and 8.4 $\mu\text{g L}^{-1}$ ($n = 10$) for Co(II) and Cr(III), respectively, were obtained using optimized conditions. Intermediate precision (5.8 and 5.4 % for Co(II) and Cr(III), respectively), presented as relative standard deviation (RSD, %, 1s), were calculated from 10 consecutive readings of both analytes preconcentrated solutions. Interferences were observed in both volatilization and atomization processes into the atomization tube, as well as in the reactions of metal complexes formation due to both the complexity of the sample and the high concentrations of

concomitants. A procedure based on extraction with 1 mol L^{-1} HCl was adopted for Co(II) determination. Only divalent species are quantitatively extracted. On the other hand, critical interferents, such as Fe(III) and Al(III), are not extracted. Procedures for interferents complexation with either fluorides or ethylenediaminetetraacetic acid (EDTA) were evaluated for Cr(III) determination. Method accuracy was checked by Co(II) determination in two certified reference materials (tomato leaves and bovine liver). There were no statistical differences between determined and certified values in a 95 % confidence level. The proposed method is efficient and allowed the determination of trace concentrations of Co(II) in foods without the need of sample digestion. However, the Cr(III) determination in foods was not possible due to the sample complexity and the interferences caused by concomitants in both preconcentration and determination steps.

SUMÁRIO

1 – Introdução	1
2 – Objetivo	5
3 – Revisão Bibliográfica	7
3.1. Cobalto	8
3.2. Cromo	9
3.3. Espectrometria de absorção atômica	11
3.3.1. Espectrometria de absorção atômica com chama (FAAS)	13
3.3.1.1. Nebulização	14
3.3.1.2. Atomização	16
3.3.2. Espectrometria de absorção atômica com injeção de amostra em forno aquecido por chama (BIFF-AAS)	18
3.3.3. Espectrometria de absorção atômica com forno tubular na chama e aerossol térmico (TS-FF-AAS)	20
3.3.4. Formação de complexos voláteis	25
3.3.5. Pré-concentração por ponto nuvem	26
4 – Materiais e Métodos	29
4.1. Equipamentos e acessórios	30
4.1.1. Sistema TS-FF-AAS	31
4.2. Reagentes e soluções	34
4.3. Amostras e materiais de referência certificados	35
4.4. Descontaminação dos materiais	36
5 – Procedimento Experimental	37
5.1. Estudo dos complexantes	38
5.2. Configuração do tubo atomizador	39
5.3. Otimização do procedimento de pré-concentração por ponto nuvem	40
5.4. Estequiometria da chama e altura do tubo atomizador	41
5.5. Vazão e tipo de carregador	41

5.6. Estudo do solvente da fase rica	41
5.7. Volumes da alça de amostragem e do solvente	42
5.8. Efeito causado pelos concomitantes	42
5.9. Preparo de amostras	43
6 – Resultados e Discussão	45
6.1. Reação de complexação	46
6.2. Tubo atomizador	48
6.3. Pré-concentração por ponto nuvem	52
6.4. Estequiometria da chama e altura do tubo atomizador	57
6.5. Carregador e vazão	63
6.6. Efeito de solventes sobre o sinal analítico	68
6.7. Efeito do volume de amostra	71
6.8. Figuras de mérito	73
6.9. Efeitos causados por concomitantes	76
6.10. Avaliação da exatidão	82
6.11. Aplicação do método	83
7 – Conclusões	85
8 – Referências Bibliográficas	89

Capítulo 1

INTRODUÇÃO

1 – INTRODUÇÃO

Na atual sociedade industrial, a Química ocupa um lugar de destaque, sendo uma das ciências responsáveis pelo nível de desenvolvimento tecnológico alcançado pela humanidade. É impensável uma sociedade complexa como a dos dias atuais sem o respaldo de uma ciência robusta e bem estabelecida como a Química, responsável pelo desenvolvimento de novos materiais, combustíveis, medicamentos, prevenção e tratamento de doenças, aumento da produção de alimentos com a utilização de fertilizantes e pesticidas, entre outros. Assim, a Química está diretamente ligada à qualidade de vida das pessoas e necessita, portanto, de uma constante evolução para garantir a saúde e o bem-estar dos cidadãos, reduzir os custos de produção e assegurar a preservação do ambiente.

Apesar da infinidade de benefícios, a evolução dos processos químicos e o desenvolvimento de novos compostos vieram acompanhados de alguns problemas. É inevitável que a cada descoberta estejam associados benefícios e malefícios.¹ Assim, a crescente preocupação com a saúde e o ambiente tem levado a um controle cada vez maior dos meios de produção e dos níveis de contaminação por compostos químicos. Nesse contexto, os produtos alimentícios merecem atenção especial. Principal fonte de nutrientes essenciais, os alimentos podem apresentar-se também como um dos principais veículos de disseminação de contaminantes, juntamente com a água. Muitos tipos de doenças têm sua causa na falta ou no excesso de alguma espécie química e, por isso, um controle rígido da composição nutricional e a monitoração de compostos tóxicos nos alimentos podem funcionar como formas de prevenção, aumentando a qualidade de vida das pessoas e reduzindo os custos com o tratamento de doenças.²

Assim, a evolução dos métodos analíticos é uma decorrência da necessidade de identificação de um número cada vez maior de compostos e da exigência da determinação de teores cada vez menores. Nas últimas décadas observa-se um ciclo que vai do desenvolvimento de novos métodos analíticos à adoção de legislações que exigem um controle mais rígido dos níveis de contaminação por espécies químicas, passando pela compreensão dos processos que levam à degradação do ambiente e dos mecanismos responsáveis pelo desenvolvimento de algumas doenças.³ Por isso, a evolução da Química Analítica, pelo desenvolvimento de novos métodos e o aperfeiçoamento daqueles já

existentes, torna-se permanente e desempenha um papel de grande importância na sociedade atual.

Contudo, essa evolução tem levado a um aumento significativo dos custos e o desafio é desenvolver métodos adequados, que atendam às exigências das novas legislações, mas que sejam viáveis economicamente, de modo a serem implementados em análises de rotina.

Um dos métodos de determinação elementar mais usado é a espectrometria de absorção atômica com chama (FAAS). É um método simples, rápido, robusto, seletivo e, principalmente, econômico – tanto na aquisição do equipamento e dos acessórios quanto na sua operacionalidade.⁴ Contudo, esse método apresenta suas limitações, especialmente devido ao estabelecimento de legislações exigindo métodos cada vez mais sensíveis.⁵ Como consequência da ineficiência na introdução da amostra, devido ao processo de nebulização pneumática, e do reduzido tempo disponível para que o analito seja atomizado e permaneça no caminho óptico, a espectrometria de absorção atômica com chama pode não apresentar sensibilidade adequada para algumas aplicações, sendo tipicamente utilizada para determinar teores na faixa de mg L^{-1} .⁴

Outros métodos foram desenvolvidos no sentido de aumentar a sensibilidade e a rapidez das análises, porém isso implicou em aumento dos custos e da complexidade dos procedimentos.^{6,7} Muito tem sido feito no sentido de aperfeiçoar a FAAS, procurando-se manter a simplicidade, o baixo custo e buscando aumento de sensibilidade. Um método recente e promissor é a espectrometria de absorção atômica com forno tubular na chama e aerossol térmico (TS-FF-AAS).⁸ Nesse método, um tubo metálico ou cerâmico é colocado sobre o queimador de um espectrômetro de absorção atômica com chama e a amostra é introduzida no interior desse tubo aquecido por meio de um capilar cerâmico. O tubo metálico (ou cerâmico) funciona como uma célula de atomização, aumentando o tempo disponível para a atomização do analito e concentrando a nuvem atômica no caminho óptico. O capilar cerâmico, aquecido pela chama e pelo contato com o tubo metálico, é responsável pela formação de um aerossol térmico que garante a introdução completa da alíquota de amostra, a partir de um sistema de propulsão com o auxílio de uma bomba peristáltica. Dessa forma, tenta-se resolver as principais limitações da FAAS de uma maneira simples, aumentando sua sensibilidade sem necessariamente aumentar os custos.

No presente trabalho, avaliou-se a aplicabilidade da espectrometria de absorção atômica com forno tubular na chama e aerossol térmico (TS-FF-AAS) para a determinação de Co(II) e Cr(III) em amostras alimentícias. Devido a fatores como a baixa temperatura no interior do tubo atomizador, as altas temperaturas requeridas para atomização e os baixos teores desses elementos em amostras biológicas, foi aplicado um método de extração por ponto nuvem (CPE) de modo a facilitar a volatilização e atomização pela formação de complexos metálicos voláteis e aumentar a sensibilidade pela pré-concentração dos analitos. Foram observados efeitos de interferências tanto nos processos de volatilização e atomização no interior do tubo atomizador como na reação de formação dos complexos metálicos devido ao grande número e às altas concentrações de concomitantes presentes nas amostras analisadas. Na determinação de Co(II), para evitar tais efeitos, foi aplicado um procedimento de extração ácida com solução de HCl 1 mol L⁻¹ em que apenas espécies divalentes são quantitativamente extraídas, enquanto interferentes críticos como Fe(III) e Al(III) não o são.⁹ Para Cr(III) foram avaliados procedimentos de complexação dos concomitantes com fluoreto e com ácido etilenodiaminatetraacético (EDTA).

Capítulo 2

OBJETIVO

2 – OBJETIVO

O objetivo deste trabalho foi a melhoria do desempenho analítico da espectrometria de absorção atômica com chama empregando um tubo de níquel como atomizador e um capilar cerâmico para a geração de um aerossol térmico (TS-FF-AAS). O desempenho do sistema foi avaliado para a determinação de cobalto e cromo em amostras alimentícias.

Capítulo 3

REVISÃO BIBLIOGRÁFICA

3 – REVISÃO BIBLIOGRÁFICA

3.1 – Cobalto

Do alemão “kobold”, que significa demônio da mina.¹⁰ Foi descoberto em 1735 por J. Brandt e seu nome é devido à toxicidade de seus minérios. Geralmente ocorre associado ao níquel e ao arsênio. Não é encontrado livre na natureza, sendo a cobaltita, a esmaltita e a eritrita seus principais minérios.¹¹ Apresenta-se como Co(II) e Co(III), sendo a forma reduzida a mais estável. Compostos contendo os estados de oxidação -1, +1, +4 e +5 são raros.¹² É encontrado em pequenas quantidades no solo, rochas, ar, água, plantas e animais. Espalha-se pelo ar, solo e corpos aquáticos por ação do vento, aerossol marítimo, erupções vulcânicas, incêndios florestais e processos erosivos em solos ricos em minérios de cobalto. Também pode atingir a atmosfera pela queima de combustíveis fósseis e a partir de indústrias relacionadas à mineração, processamento, produção de ligas metálicas e compostos químicos desse elemento.¹³

No ar, apresenta concentrações que não ultrapassam 2 ng m^{-3} . Na água, são típicas concentrações de $1 \text{ a } 10 \text{ } \mu\text{g L}^{-1}$. No solo apresenta concentrações que variam de $1 \text{ a } 40 \text{ mg kg}^{-1}$, sendo que teores menores que 3 mg kg^{-1} são considerados insuficientes ao desenvolvimento de plantas e, conseqüentemente, animais.¹³

Em 1937, ficou evidenciada a importância do cobalto na dieta alimentar animal. Nessa época, estabeleceu-se a relação entre a carência desse elemento no solo – e, conseqüentemente nas plantas – e o aparecimento da moléstia *coast disease* ou *pine* em rebanhos de carneiros da Austrália. Mais tarde verificou-se que uma doença comum nos rebanhos bovinos brasileiros, conhecida pelos nomes de *peste de secar* ou *mal de colete*, tinha a mesma etiologia: deficiência de cobalto nos pastos por falta do metal no solo.¹⁴ Para os seres humanos, o cobalto é considerado um elemento essencial e sua carência pode causar anemia perniciosa. Ele faz parte da constituição da cianocobalamina ou vitamina B12 e, como o organismo é incapaz de sintetizar vitaminas, é necessária a ingestão de alimentos que a contenham como peixes, ovos, fígado, rins, leite e derivados, mariscos, frutas, verduras e legumes. A ingestão diária recomendada de vitamina B12 é de $2,4 \text{ } \mu\text{g}$, a qual contém cerca de $0,1 \text{ } \mu\text{g}$ de cobalto.¹³

Além da importância na constituição da vitamina B12, o cobalto tem papel fundamental na prevenção e no tratamento da anemia. Foi relatado que a ingestão de 0,16 a 1,0 mg de cobalto por kg de massa corporal pode aumentar a produção de glóbulos vermelhos, além de melhorar a absorção de ferro pelo organismo.^{13,15} Por outro lado, a exposição a altas doses pode causar efeitos tóxicos. Na década de 1960 algumas cervejarias adicionavam cobalto à cerveja como estabilizante da espuma (0,04-0,14 mg kg⁻¹). Algumas pessoas que ingeriram quantidades excessivas de cerveja, 3-11 L dia⁻¹, apresentaram sintomas como náuseas e vômito. Outras, desenvolveram sérios problemas cardíacos, os quais, em alguns casos, levaram até à morte por cardiomiopatia. Um possível mecanismo que explique a toxicidade do cobalto sobre o sistema cardiovascular pode envolver a inibição da desidrogenase mitocondrial com conseqüente falência da respiração celular.¹⁶ Efeitos sobre a tireóide também foram observados em indivíduos expostos a 0,5 mg kg⁻¹ de massa corporal por dia durante algumas semanas. Foram relatados também problemas de visão após uma dieta com 1,3 mg kg⁻¹ de massa corporal por dia durante 6 semanas.¹³

Devido a fatores relacionados à toxicidade e, principalmente, à sua função nutricional, a determinação de cobalto em amostras biológicas desempenha um importante papel no controle de produção de alimentos e na prevenção e tratamento de doenças.

3.2 – Cromo

Do grego “chroma”, que significa cor. Descoberto em 1797 por Louis N. Vauquelin, seu nome deriva de seus compostos multicoloridos (a cor do rubi, por exemplo, é proveniente de um composto de cromo).¹⁰ Apresenta-se em estados de oxidação que variam de +6 a -2. Contudo, os mais importantes são os estados (II), (III) e (VI). O cromo metálico, Cr(0), não ocorre naturalmente e o Cr(II) é relativamente instável, convertendo-se facilmente na forma trivalente. A forma mais estável do elemento é o Cr(III), o qual ocorre naturalmente na forma de minérios como ferrocromita, FeCr₂O₄. A forma Cr(VI) ocorre naturalmente em minérios raros como a crocoíta, PbCrO₄, tendo como fonte principal atividades antrópicas.¹⁷

Compostos de cromo são utilizados pela indústria na cromação de metais, fabricação de tintas e pigmentos, tratamento de couro e preservação de

madeira. Pequenas quantidades são usadas em inibidores de corrosão, produtos têxteis e cartuchos de copiadoras. Ambas as formas estáveis de cromo, *i.e.* Cr(III) e Cr(VI), podem ser encontradas no ar, água, solo, animais e plantas. A queima de combustíveis fósseis e a produção de aço são fontes de contaminação de Cr(III) no ar, enquanto atividades como a solda de materiais em aço inoxidável e o uso de compostos contendo a espécie hexavalente aumentam os teores de Cr(VI) na atmosfera. Efluentes de indústrias têxteis, eletrodeposição e curtumes são as principais fontes de contaminação tanto para Cr(III) como para Cr(VI) em cursos de água. No solo, o aumento dos teores de Cr(III) e Cr(VI) é devido principalmente ao descarte de produtos comerciais contendo cromo, lixo industrial e deposição de cinza proveniente da queima de combustíveis. No ar, os teores típicos variam entre 0,01 e 0,03 $\mu\text{g m}^{-3}$. No solo, as concentrações variam de 1 a 2000 mg kg^{-1} dependendo do tipo de solo e da região. Na água potável os teores são baixos, tipicamente inferiores a 2 $\mu\text{g L}^{-1}$, ocorrendo principalmente na forma de Cr(III).¹⁸

Em meio aquoso ocorre na forma de diversos íons, hidratos, hidróxidos, dímeros, trímeros, entre outros. Realmente a química desse elemento em solução é bastante complexa. A espécie Cr(III), por exemplo, existe na forma de um complexo hexahidratado, $[\text{Cr}(\text{H}_2\text{O})_6]^{3+}$, em soluções de baixo pH. À medida que o pH aumenta, algumas moléculas de água são substituídas por hidroxilas, formando complexos como o íon $[\text{Cr}(\text{H}_2\text{O})_5\text{OH}]^{2+}$. Aumentando ainda mais o pH ocorre a formação de dímeros, trímeros e outros complexos, com influência significativa no comportamento químico das soluções, bem como na velocidade das reações.^{12,19}

O cromo é encontrado em baixas concentrações em vegetais frescos, frutas, carne e grãos, contudo métodos de processamento, armazenagem e preparação podem alterar tanto a forma química como as concentrações desse elemento. Alimentos em meio ácido podem apresentar altos níveis de cromo quando em contato com materiais de aço inoxidável. Vegetais frescos, por exemplo, apresentam de 30 a 140 $\mu\text{g kg}^{-1}$ de cromo, enquanto algumas amostras enlatadas podem conter até 230 $\mu\text{g kg}^{-1}$; frutas frescas apresentam de 90 a 190 $\mu\text{g kg}^{-1}$ de cromo e frutas enlatadas podem chegar até 510 g kg^{-1} .¹⁸

Processos de refino, por outro lado, podem reduzir os teores de cromo. QUINÁIA e NÓBREGA²⁰ demonstraram esse fato determinando esse elemento por espectrometria de absorção atômica com atomização eletrotérmica em forno de grafite em amostras de açúcar. Enquanto amostras de rapadura e açúcar mascavo

apresentaram teores apreciáveis de cromo, amostras de açúcar cristal e açúcar refinado apresentaram concentrações abaixo do limite de detecção do método proposto (LOD = 3,2 $\mu\text{g g}^{-1}$). Outro exemplo é a farinha de trigo. Pães integrais podem conter cerca de 1750 $\mu\text{g kg}^{-1}$ de cromo, enquanto o pão comum apresenta apenas 140 $\mu\text{g kg}^{-1}$ desse metal.¹⁸

Em seres humanos, a espécie trivalente atua como um nutriente essencial. O Cr(III) potencializa a ação da insulina desempenhando, assim, um papel importante no metabolismo de compostos como a glicose, proteínas e gorduras. Um complexo formado por Cr(III) e ácido picolínico, o picolinato de cromo (III), tem sido usado como suplemento alimentar devido às suas supostas propriedades antidiabéticas e como acelerador do metabolismo.²¹ Gargas *et al.*²² demonstraram que o picolinato de cromo (III) é absorvido mais rapidamente pelo organismo que o cromo proveniente dos alimentos. Infelizmente, o mecanismo de transporte e absorção desse composto não foi determinado. Em outro trabalho,²³ foi observado que o picolinato de cromo (III) é estável no organismo e que a facilidade de absorção pode estar ligada à habilidade de atravessar membranas.

Por outro lado, o cromo hexavalente é uma espécie altamente tóxica, podendo causar dermatites, lesões mutagênicas e carcinogênicas, câncer de fígado, pulmão, rins e leucemia.^{18,24} O íon cromato é facilmente absorvido pelas células, onde é convertido a Cr(III). A conversão se dá, provavelmente, pela interação com peptídeos de função tioálcool como, por exemplo, a glutatona (G-SH), dando origem a compostos como G-CrO_3^- e, eventualmente, dissulfetos.²⁵⁻²⁶ Essa conversão se dá via Cr(IV) e Cr(V). A espécie Cr(V) pode coordenar-se a grupos fosfato, *e.g.* grupos fosfato do DNA, levando ao desenvolvimento do câncer pela clivagem de ligações e/ou formação de ligações cruzadas DNA-proteína^{12,27-28}

Assim, torna-se evidente a necessidade de um monitoramento dos teores de cromo em amostras alimentícias já que a sua determinação pode contribuir tanto na prevenção de doenças como no entendimento dos mecanismos envolvidos no seu metabolismo.

3.3 – Espectrometria de absorção atômica

Segundo a teoria atômica de BÖHR, quando um átomo no estado fundamental absorve energia, alguns elétrons das camadas mais externas são

promovidos a sub-níveis mais energéticos. Diz-se, então, que o átomo encontra-se no estado excitado. Da mesma forma, quando um átomo no estado excitado retorna ao estado fundamental, ele emite energia na forma de radiação eletromagnética em comprimento de onda característico.

A maioria dos compostos sofre decomposição a altas temperaturas dando origem a átomos no estado gasoso. Na espectrometria atômica, a determinação da concentração de um determinado elemento é feita, geralmente, através da medida da intensidade de absorção ou emissão da radiação eletromagnética em um determinado comprimento de onda, característico dos átomos desse elemento, a partir da atomização da amostra a temperaturas que variam de 2000 a 10000 K. A espectrometria atômica é uma das principais ferramentas da Química Analítica devido à sua sensibilidade, robustez, ampla faixa linear, seletividade e capacidade de determinação multielementar simultânea.²⁹ Ela pode ser utilizada na determinação quantitativa de metais e semi-metais em amostras alimentícias, ambientais, geológicas, biológicas entre outras, de maneira rápida, simples e precisa.

A espectrometria de absorção atômica está relacionada com a lei de LAMBERT-BEER, segundo a qual a intensidade de radiação absorvida pelos átomos de um determinado elemento está diretamente relacionada à concentração desse elemento na amostra. Nessa técnica, uma fonte emite radiação eletromagnética no comprimento de onda característico do elemento de interesse. A amostra é, então, atomizada e ocorre a absorção da radiação pela nuvem atômica gerada. A medida dessa absorção, obtida pela diferença entre a quantidade de radiação emitida e a quantidade de radiação que passa pelo caminho óptico e atinge o detector, fornece a concentração do elemento na amostra.

A energia necessária à atomização do analito pode ser obtida de várias fontes: chama (ar/acetileno, óxido nitroso/acetileno, entre outras), eletrotérmica (em forno de grafite ou filamento de tungstênio) etc.

Para se obter radiação eletromagnética no comprimento de onda desejado é comum a utilização de uma lâmpada de catodo oco. Esse tipo de fonte apresenta um catodo constituído do elemento a ser determinado e é preenchida com neônio ou argônio a baixa pressão (1-5 torr). Quando uma alta tensão é aplicada entre os eletrodos, o gás que preenche a lâmpada sofre ionização. Os cátions produzidos são atraídos eletrostaticamente em direção ao catodo e, devido à sua

grande aceleração, são capazes de extrair átomos do eletrodo. Esses átomos passam para a fase gasosa e são excitados através da colisão com elétrons e cátions com alta energia, emitindo radiação eletromagnética no comprimento de onda desejado.²⁹ Essa técnica é tipicamente monoelementar, contudo novos equipamentos têm sido desenvolvidos no sentido de determinar vários elementos simultaneamente como, por exemplo, equipamentos de absorção atômica com fonte contínua (CS AAS), que utilizam lâmpadas de xenônio como fonte de radiação.

3.3.1 – Espectrometria de absorção atômica com chama (FAAS)

A espectrometria de absorção atômica com chama é o mais utilizado de todos os métodos espectroanalíticos. É raro encontrar um laboratório de análises de rotina que não possua um espectrômetro de absorção atômica com chama. Sua popularidade decorre de características como simplicidade, robustez, seletividade, ampla faixa linear e baixo custo.⁴ Contudo, várias são as limitações fundamentais desse método para a determinação de baixas concentrações. Dificuldade de determinação de alguns elementos devido à formação de óxidos e carbetos estáveis; absorção, emissão e espalhamento de radiação pelos constituintes da chama, dificultando a determinação elementar em algumas regiões espectrais; e diluição da amostra pelos gases da chama são alguns exemplos.³⁰ Porém, as maiores limitações estão ligadas à introdução da amostra e à atomização.

Para que ocorra a atomização, é necessário que a amostra seja convertida em um aerossol constituído de partículas pequenas o bastante para que ocorra a evaporação do solvente (dessolvatação) e a formação da nuvem atômica de maneira eficiente. A maioria dos espectrômetros de chama utiliza um queimador de pré-mistura no qual combustível, oxidante e amostra são misturados antes da introdução na chama. A amostra líquida é aspirada para dentro da câmara de nebulização por efeito VENTURI, causado pela alta vazão do gás oxidante (geralmente ar). O líquido se dispersa em uma fina névoa (aerossol primário) que é direcionada em alta velocidade contra uma superfície de impacto, gerando um aerossol secundário constituído de gotículas com diâmetro entre 0,8 e 50 μm . O aerossol secundário disperso na mistura oxidante/combustível dirige-se, então, para os defletores onde ocorre uma mistura adicional e o bloqueio das gotículas maiores.

Assim, apenas o aerossol terciário (cerca de 5 % da amostra), com gotículas de diâmetro entre 0,8 e 4,5 μm , atinge o queimador.^{29,31}

Quando o aerossol atinge a chama ocorre a dessolvatação e a formação de óxidos e hidróxidos metálicos. Pouco acima, onde a temperatura da chama é maior, ocorre a redução das espécies metálicas por espécies provenientes da queima do combustível. É nessa região que ocorre o sinal máximo de absorção atômica e onde deve estar posicionado o feixe de radiação eletromagnética a ser absorvido pela nuvem atômica. Na parte superior da chama, onde a temperatura é menor, pode ocorrer a recombinação, difusão e diluição da nuvem atômica, diminuindo, assim, a intensidade de absorção da radiação.

A posição na chama onde a concentração de átomos livres é máxima depende, portanto, de fatores como a vazão dos gases, distribuição do tamanho das gotículas do aerossol, velocidade de dessolvatação e dissociação, tipo de solvente, tipo de matriz, constituição química da chama, temperatura e características do analito. Na maioria dos casos, o tempo necessário para que ocorra a atomização não é suficiente devido à alta vazão dos gases e/ou à formação de óxidos e carbeto metálicos estáveis. Muitas vezes a atomização só vai ocorrer na parte superior da chama, onde a diluição, a recombinação e a difusão reduzem a intensidade de absorção.³²

Assim, devido à ineficiência do sistema de nebulização (apenas cerca de 5 % da amostra chega até o queimador) e ao tempo insuficiente para que ocorra a atomização (menor que 5 ms), a espectrometria de absorção atômica com chama apresenta baixa sensibilidade e raramente pode ser usada na determinação de analitos na faixa de $\mu\text{g L}^{-1}$. No sentido de reduzir tais limitações e aumentar a sensibilidade da FAAS, vários dispositivos têm sido propostos.³³

3.3.1.1 – Nebulização

Uma alternativa ao sistema de nebulização pneumática convencional (PN) é a nebulização ultra-sônica (USN).³⁴ Na USN, um aerossol é gerado quando a amostra líquida entra em contato com um transdutor piezoeletrônico alimentado por uma fonte de rádio frequência. Diferentemente da nebulização pneumática (PN), o processo de nebulização ultra-sônica não depende da vazão dos gases da chama, possibilitando a otimização do processo de formação do aerossol. Em trabalho

recente, RIBEIRO *et al.*³⁵ propuseram a utilização de um dispositivo de USN com sistema de dessolvatação, acoplado a um espectrômetro de absorção atômica em chama com fonte de linha (LS FAAS) ou a um espectrômetro de absorção atômica em chama com alta resolução e fonte contínua (HR-CS FAAS), para a determinação de zinco em amostras biológicas. Foram observados aumentos de sensibilidade de 3,3 vezes para LS FAAS e de 3,5 vezes para HR-CS FAAS em relação ao sistema convencional (PN). Os limites de detecção (LOD) passaram de 45 $\mu\text{g L}^{-1}$ para 4 $\mu\text{g L}^{-1}$ por LS FAAS e de 9 $\mu\text{g L}^{-1}$ para 2 $\mu\text{g L}^{-1}$ por HR-CS FAAS quando foi substituído o sistema PN pela USN. A magnitude dos processos de interferências não foi avaliada, mas é provável que tenham sido agravados. Apesar de aumentar o sinal analítico, a maior eficiência na introdução da amostra também causa um aumento na concentração dos concomitantes no caminho óptico.

Outra alternativa para aumentar a eficiência da introdução da amostra em FAAS é a nebulização hidráulica sob alta pressão (HHPN).³⁶ Nesse método, a solução da amostra é forçada por uma bomba de HPLC, ou bomba de pistão, através de um capilar de Pt/Ir com orifício (*nozzle*) de 10 a 30 μm de diâmetro, a uma pressão de 100 a 400 bar. Há, então, a formação de um jato de líquido a alta velocidade que se choca com uma esfera de vidro posicionada a alguns centímetros da saída do *nozzle*, gerando um aerossol. Esse aerossol, gerado no interior da câmara de pré-mistura de gases de um sistema de nebulização pneumático convencional, é arrastado até o queimador, onde ocorre a atomização do analito. Em HHPN, a quantidade de amostra que é convertida em aerossol e atinge a chama chega a 50 %, aumentando a sensibilidade da FAAS em até uma ordem de grandeza.³⁶ SOGOR *et al.*³⁷ determinaram cromo em cigarros em níveis de concentração inferiores a 1,0 mg L^{-1} por HHPN-FAAS após pré-concentração em linha.

Em 1996, BERNDT & YAÑES³⁸ propuseram a nebulização hidráulica sob alta pressão e alta temperatura (HT-HHPN), uma modificação da HHPN em que a amostra é forçada por um capilar de Pt/Ir aquecido eletricamente a 300°C e sai por um *nozzle* de 20 μm de diâmetro. O aerossol é formado em decorrência das ondas de choque causadas pela alta pressão do líquido e da vaporização espontânea de parte do líquido devido à alta temperatura. A partir desse método, foram obtidos aumentos de sensibilidade em comparação com a PN na determinação de vários elementos por FAAS, *e.g.* Ag 7 vezes, Cu 8 vezes e Fe 9 vezes. Em decorrência de

um aumento de até 90 % na eficiência de introdução da amostra, menores limites de detecção foram também obtidos, e. g. 36 $\mu\text{g L}^{-1}$ para Cd, 6,2 $\mu\text{g L}^{-1}$ para Zn e 5,7 $\mu\text{g L}^{-1}$ para Cu.

3.3.1.2 – Atomização

ROBINSON³⁹ foi o primeiro a aplicar o conceito de célula de atomização, cujo objetivo é aumentar o tempo disponível para que ocorra a formação da nuvem atômica e sua concentração no caminho óptico. Ele adaptou um tubo de quartzo em forma de “T” sobre o queimador de um espectrômetro de absorção atômica com chama e obteve um aumento de 10 vezes na sensibilidade para a determinação de platina. ZELJUKOVA e POLUEKTOV⁴⁰ determinaram cobre, prata, ouro e cádmio através de um dispositivo semelhante e obtiveram aumentos de sensibilidade de 5 a 13 vezes.

Outro método, conhecido como *long-path absorption tube* (LPAT),⁴¹ utiliza um tubo de quartzo de 91 cm de comprimento e 10 mm de diâmetro interno inserido em um tubo de vidro borossilicato com 99 cm de comprimento. A chama de um queimador de consumo total é posicionada em um dos lados do tubo (em um ângulo de 15° com o caminho óptico) e os produtos da combustão emergem pelo outro lado. Esse dispositivo aumenta a sensibilidade para a determinação de alguns elementos, e.g. Cd, Cu e Zn, mas sofre de severas interferências devido à absorção molecular e ao espalhamento de radiação pelas espécies presentes na chama e outras formadas por recombinação devido à diminuição da temperatura ao longo do tubo.

Em 1970, DELVES⁴² propôs um método que poderia resolver as duas principais limitações da espectrometria de absorção atômica com chama, i.e. introdução total da amostra e eficiência de atomização. Para tanto, eram utilizados um microcadinho de níquel com 10 mm d.e. e 5 mm de altura e um tubo de níquel com 100 mm de comprimento e 12,5 mm d.e. com abertura na parte inferior, posicionado 20 mm acima do queimador de um espectrômetro de chama (por onde passava o caminho óptico). A amostra era colocada no microcadinho e vaporizada na chama do queimador abaixo do tubo metálico. Os vapores atingiam o interior do tubo aquecido e ocorria a formação e concentração da nuvem atômica. O método foi proposto para a determinação direta de chumbo em sangue e o limite de detecção

(LOD) obtido foi de $11,9 \mu\text{g L}^{-1}$. Para a determinação de elementos voláteis tais como chumbo e cádmio em amostras biológicas como sangue, o método mostrou-se bastante efetivo. Método semelhante havia sido proposto em 1968 por KAHN *et al.*,⁴³ com a utilização de uma barqueta de tântalo ao invés do microcadinho de níquel. Apesar da maior eficiência na introdução da amostra e na atomização, a técnica apresenta baixa precisão, provavelmente devido à dificuldade de obtenção de posições idênticas do microcadinho a cada determinação. Além disso, é freqüente a ocorrência da combustão da amostra durante a vaporização devido a uma digestão prévia ineficiente, o que provoca interferências significativas no sinal analítico.³³

WATLING⁴⁴⁻⁴⁷ propôs a utilização de um tubo com orifício posicionado sobre o queimador de um espectrômetro com chama, de maneira similar ao método proposto por DELVES.⁴² Nesse método, conhecido como *slotted tube atom trap* (STAT), um tubo de quartzo com duas aberturas – uma acima e outra abaixo, com ângulo de 120° entre elas – funciona como célula de atomização, aumentando o tempo disponível para a atomização e concentrando a nuvem atômica. Para a introdução da amostra é utilizado um sistema de nebulização pneumática convencional. Para elementos mais voláteis, *e.g.* Ag, As, Bi, Cd, Sb, Se, Sn, observaram-se aumentos de sensibilidade de 2 a 5 vezes. Porém, o método não se apresenta adequado para elementos mais refratários e, provavelmente devido ao sistema de nebulização utilizado e à baixa temperatura no interior do tubo, apresenta aumentos pouco significativos na sensibilidade de alguns elementos.

Uma outra maneira de aumentar a sensibilidade de uma determinada técnica é fazer a pré-concentração do analito antes de sua determinação ou simultaneamente a ela. Em um dos exemplos desse conceito, os átomos produzidos no sistema nebulizador-atomizador são condensados em uma superfície fria a qual é posteriormente aquecida e libera a nuvem atômica no caminho óptico. O primeiro trabalho a utilizar esse conceito foi publicado em 1976 por LAU *et al.*⁴⁸ O método consiste de um tubo de quartzo (4 mm d.e. e 1 mm de espessura) conectado a um sistema de resfriamento com água que é posicionado sobre o queimador de um espectrômetro de chama, ligeiramente abaixo do caminho óptico. O analito é condensado sobre o tubo durante certo tempo e, então, o fluxo de água é interrompido, ocorrendo a atomização. Esse método, conhecido como *water-cooled atom trap* (WCAT) apresenta boa sensibilidade, principalmente para elementos voláteis. HUANG e LI⁴⁹ obtiveram um aumento de sensibilidade de 270 vezes para

cádmio em comparação à FAAS convencional com um tempo de pré-concentração de 1 min e uma precisão de 4,1%.

MATUSIEWICZ *et al.*⁵⁰ compararam os métodos WCAT e STAT para a determinação de vários elementos em águas de rios e estuários. Os limites de detecção obtidos para Cu, Mn e Zn por WCAT foram de 0,9; 1,5 e 0,3 $\mu\text{g L}^{-1}$, respectivamente. Por STAT, foram obtidos 4; 2 e 1,2 $\mu\text{g L}^{-1}$, respectivamente, para os mesmos elementos.

TURNER e ROBERTS⁵¹ e MATUISIEWICZ e KOPRAS⁵² propuseram a combinação dos métodos STAT e WCAT como uma maneira de aumentar ainda mais a sensibilidade e superar alguns problemas apresentados por cada um deles. Em um dos trabalhos,⁵¹ o sistema proposto consiste de um tubo de sílica acoplado a um sistema STAT comercialmente disponível. O híbrido *slotted-tube-water-cooled atom trap* (STWCAT) mostrou alta sensibilidade e excelente precisão na determinação de cádmio e chumbo em águas de rios e efluentes. O segundo trabalho⁵² propôs o uso de um tubo de sílica – utilizado para condensação e pré-concentração do analito – posicionado ligeiramente abaixo do caminho óptico (como em WCAT) e que passa pelo interior de um tubo com orifício como o utilizado em STAT. Esse método, conhecido como *integrated atom trap* (IAT), é similar à STWCAT e foi usado na determinação de Ag, Cd, Cu, Fe, In, Mn, Pb, Tl e Zn em cervejas, com limites de detecção bastante interessantes, *e.g.* 0,6; 0,1 e 1,2 $\mu\text{g L}^{-1}$ para Ag, Cd e Mn, respectivamente. Apesar do aumento significativo da sensibilidade proporcionado por esses métodos, alguns problemas ainda permanecem, principalmente na determinação de elementos refratários. Isso ocorre, provavelmente, devido à formação de óxidos e outros compostos metálicos durante a etapa de pré-concentração, o que dificulta a atomização do analito. Além disso, o alto consumo de amostra devido ao tempo requerido para a pré-concentração e a conseqüente diminuição na frequência analítica são fatores a serem considerados.³³

3.3.2 – Espectrometria de absorção atômica com injeção de amostra em forno aquecido por chama (BIFF-AAS)

Em 2000, GASPAR e BERNDT⁵³ propuseram um novo método de determinação elementar em chama na qual a introdução da amostra era feita por um jato de líquido sob alta pressão. O jato era direcionado para um orifício em um tubo

cerâmico ou de níquel posicionado sobre a chama de um espectrômetro de absorção atômica. Nesse método, conhecido como *beam injection flame furnace atomic absorption spectrometry* (BIFF-AAS), utiliza-se uma bomba para a propulsão da amostra (HPLC, pistão, diafragma ou peristáltica) e um restritor de fluxo (*nozzle*) para produzir um jato da amostra líquida que se choca contra a parede interna de um tubo aquecido sobre a chama, causando a formação de um aerossol pelo efeito de nebulização por impacto de jato (JIN). Dessa forma, a introdução de 100 % da amostra pelo jato de solução e a melhoria da eficiência na etapa de atomização pela utilização do tubo aquecido levam ao aumento da sensibilidade. Nesse trabalho foram estudados o diâmetro do *nozzle*, pressão da bomba, distância em relação ao tubo atomizador, modo de leitura, forma e a composição do tubo atomizador (em cerâmica ou níquel, com ou sem orifícios adicionais etc), entre outros parâmetros. Aumentos na sensibilidade em relação à FAAS convencional para a determinação de 17 elementos, *i.e.* Ag, As, Au, Bi, Cd, Cu, Hg, In, K, Pb, Pd, Rb, Sb, Se, Te, Tl e Zn, variaram entre 6 e 202 vezes (medidas em área de pico). Baixos limites de detecção foram obtidos na determinação desses elementos em solução aquosa, *e.g.* 0,44 $\mu\text{g L}^{-1}$ para Cu, 0,22 $\mu\text{g L}^{-1}$ para Ag e 0,13 $\mu\text{g L}^{-1}$ para Zn. Não foram observados efeitos significativos de matriz pela adição de NaCl até a concentração de 10 % m/v sobre a determinação de cobre, com a utilização de um tubo atomizador em cerâmica com 6 orifícios adicionais para a penetração da chama.

Trabalhos posteriores foram desenvolvidos visando ao aperfeiçoamento do método, principalmente em relação à redução dos custos, simplificação e estudo de parâmetros como tipo de bomba, vazão da solução carregadora, distância percorrida pelo jato,⁵⁴ efeitos de matriz,⁵⁵ tipo de *nozzle*, pressão da bomba e solução carregadora.⁵⁶

ALEIXO *et al.*⁵⁷ aplicaram esse método na determinação de Cd e Pb em alimentos. Após moagem criogênica e extração ácida com HNO₃ assistida por radiação ultra-sônica, amostras de tecido animal e vegetal foram analisadas por BIFF-AAS com limites de detecção de 0,65 e 32 $\mu\text{g L}^{-1}$ para Cd e Pb, respectivamente. A exatidão do método foi verificada pela determinação dos analitos em amostras de referência certificadas de rim suíno e farinha de arroz. Não foram encontradas diferenças estatísticas entre os valores determinados e certificados em um nível de confiança de 95 % pela aplicação do teste-*t*. Estudos com concomitantes (Al, Ca, Fe, K, Mg, Na, e P-PO₄³⁻) mostraram que não ocorreram

interferências sobre o sinal analítico de ambos os elementos pela presença de até 2000 mg L⁻¹ dos concomitantes quando foi utilizada a correção de fundo com lâmpada de deutério.

Em trabalho recente, ALEIXO⁵⁸ determinou Cd, Pb, Tl e Zn em águas e alimentos por BIFF-AAS. A sensibilidade em relação à FAAS convencional foi aumentada de 26, 20, 12 e 4 vezes para a determinação desses elementos, respectivamente. Os limites de detecção foram de 0,65 µg L⁻¹ para Cd, 32 µg L⁻¹ para Pb, 8 µg L⁻¹ para Tl e 5 µg L⁻¹ para Zn. Foram estudados parâmetros como vazão do carregador, volume de amostra, estequiometria da chama, tipo de atomizador e efeito de concomitantes sobre o sinal analítico. Novamente não foi observado efeito significativo no sinal analítico pela presença de concomitantes quando foi utilizada a correção de fundo.

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

A geração de um fluxo controlado e contínuo de gás através do aquecimento elétrico de uma amostra líquida foi descrita pela primeira vez por BLAKLEY *et al.*⁵⁹ O método, conhecido como *thermospray* ou aerossol térmico, apresenta vantagens sobre a nebulização pneumática, pois dá origem a um aerossol com gotículas menores.⁶⁰ Suas características de distribuição do tamanho de partículas no aerossol e facilidade de acoplamento a outros métodos tornaram o aerossol térmico uma alternativa interessante como interface entre diversas técnicas analíticas e a espectrometria atômica,⁶¹ e.g. cromatografia líquida-espectrometria de massas, LC-MS,⁵⁹ e cromatografia líquida de alta eficiência-espectrometria de emissão óptica com plasma acoplado indutivamente, HPLC-ICP OES.⁶²⁻⁶³ O sistema consiste de um capilar cerâmico que é aquecido eletricamente e produz um aerossol a partir da passagem de uma amostra líquida. Estudos sobre as características do aerossol formado em função do gradiente de temperatura aplicado ao capilar,⁶⁴ seu tamanho e diâmetro⁶⁵ e efeitos de matriz⁶⁶ contribuíram para o aperfeiçoamento do método.

RIPSON & DE GALAN⁶⁷ demonstraram que, se a temperatura aplicada ao capilar é suficientemente elevada para vaporizar o solvente, a determinação do analito pode se dar em fase gasosa, sem a necessidade de um aerossol que

transporte a substância de interesse até o atomizador. Dessa forma, problemas com a nebulização, transporte e efeitos de matriz poderiam ser minimizados, aumentando a sensibilidade na detecção.

JIMENEZ *et al.*⁶⁰ propuseram um sistema em que Al, Co e Cr são determinados por esse método. Em um sistema de injeção em fluxo ocorre a formação de complexos metálicos voláteis cuja solução alcança um capilar cerâmico aquecido eletricamente dando origem ao aerossol térmico. O complexo metálico gasoso é, então, arrastado por um fluxo de ar até um tubo de quartzo, em forma de “T”, que é aquecido pela chama de um espectrômetro de absorção atômica. A partir da eficiência na introdução da amostra e na atomização do analito decorrentes do aerossol térmico e do tubo de quartzo, foram obtidos aumentos de sensibilidade em relação à FAAS convencional de 3, 4 e 20 vezes para Al, Co e Cr, respectivamente. Foram utilizados complexantes como acetilacetona, trifluoracetilacetona, pirrolidinaditioformato, dietilditiocarbamato e hexafluoracetilacetona e avaliados os efeitos causados por concomitantes, *i.e.* Be, Co, Cu, Fe, Ni e Zn, sobre o sinal analítico. Complexos de dietilditiocarbamato de sódio, DDTTC, com os três analitos foram os que apresentaram os melhores resultados, com limites de detecção de 0,13; 0,3 e 0,25 mg L⁻¹ para Co, Cr, e Al, respectivamente. A presença de Cu, Fe, Ni e Zn interferiu significativamente na determinação dos analitos quando a razão concomitante:analito atingiu o valor de 5:1.

Em 2000, aproveitando o histórico de métodos de tubo sobre chama, aerossol térmico e a experiência com a BIFF-AAS, GASPARG & BERNDT⁸ propuseram a espectrometria de absorção atômica com forno tubular na chama e aerossol térmico (TS-FF-AAS). Nesse método, um tubo metálico ou cerâmico é posicionado sobre o queimador de um espectrômetro de chama convencional e a amostra é introduzida por um capilar cerâmico conectado a ele. O tubo funciona como célula de atomização, aumentando o tempo de residência do analito no caminho óptico – e, conseqüentemente, a eficiência do processo de atomização – e concentrando a nuvem atômica. A introdução de 100 % da amostra é garantida pela formação de um aerossol térmico no interior do capilar cerâmico em contato com o tubo aquecido sobre a chama. Diferentemente das estratégias anteriores, em que o aquecimento do capilar era feito eletricamente (o que aumentava os custos), na TS-FF-AAS, o capilar é aquecido pela própria chama e, condutivamente, pelo contato com o tubo atomizador. Como na BIFF-AAS, a propulsão da amostra é feita por uma

bomba. Contudo, como não há a necessidade da produção de um jato sob alta pressão, uma bomba operando a baixa pressão, e.g. bomba peristáltica, é adequada para garantir o fornecimento de um fluxo contínuo de amostra, simplificando o método e tornando-o mais econômico.

Nesse primeiro trabalho,⁸ foram avaliados diâmetro e composição do capilar, vazão do carregador, configuração e composição do tubo atomizador e volume de amostra para a determinação de cinco elementos, *i.e.* Cd, Cu, Hg, Pb e Tl. Devido à eficiência dos processos de nebulização (100 % da amostra é convertida em aerossol e chega ao caminho óptico) e atomização (maior tempo disponível, *ca.* 200 ms, para a dessolvatação, dissociação e atomização dos analitos), foram obtidos aumentos significativos no poder de detecção em comparação à FAAS convencional: 57, 14, 67, 31 e 17 vezes para Cd, Cu, Hg, Pb e Tl, respectivamente. Baixos limites de detecção foram também obtidos na determinação desses elementos em solução aquosa: 0,19; 1,3; 21; 13 e 5,2 $\mu\text{g L}^{-1}$, respectivamente.

Em trabalho posterior,⁶⁸ aumentos de sensibilidade de 3 a 110 vezes em relação à FAAS foram obtidos na determinação de 17 elementos, *i.e.* Ag, As, Au, Bi, Cd, Cu, Hg, In, K, Pb, Pd, Rb, Sb, Se, Te, Tl e Zn, por TS-FF-AAS. Nesse trabalho foram otimizados parâmetros como configuração e constituição do tubo atomizador (Ni puro, 10 cm, 1,0 cm d.i., 1,2 cm d.e., 1,0 mm de espessura, 6 orifícios de 2 mm de diâmetro na parte inferior), vazão do carregador (0,4 mL min^{-1}) e configuração e constituição do capilar (cerâmica não-porosa composta por alumina, 10 cm, 0,5 mm d.i., 2 mm d.e.). Assim, foram obtidos limites de detecção como 2,4 $\mu\text{g L}^{-1}$ para Pb, 0,6 $\mu\text{g L}^{-1}$ para Ag e 0,2 $\mu\text{g L}^{-1}$ para Zn, e aumentos de sensibilidade em relação à FAAS de 32 vezes para Tl, 92 vezes para Pb e 113 vezes para Cd.

Em trabalho recente, BRANCALION & ARRUDA⁶⁹ empregaram o método na determinação de Cd em amostras de plantas medicinais após digestão ácida assistida por radiação microondas em minifrascos de polipropileno. Usando etanol 80 % v/v como carregador, 300 μL da solução da amostra digerida foram injetados em uma vazão de 1 mL min^{-1} no sistema TS-FF-AAS. O limite de detecção obtido foi de 0,9 $\mu\text{g L}^{-1}$ ou 0,54 $\mu\text{g g}^{-1}$, ou seja, aproximadamente 18 vezes menor que o obtido para FAAS convencional. 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 %.

VILLAFRANCA⁷⁰ determinou Cd, Cu, Pb e Zn em álcool combustível e óleo diesel e LOBO⁷¹ aplicou a TS-FF-AAS na determinação de Sn em amostras alimentícias. Em ambos os trabalhos, além do tubo metálico, também foi avaliado um tubo cerâmico como atomizador. Verificou-se uma maior sensibilidade na determinação desses elementos por TS-FF-AAS quando o tubo cerâmico foi utilizado, provavelmente devido a um efeito de pré-concentração dos analitos nas paredes internas porosas do tubo. Contudo, maiores efeitos de memória e, conseqüentemente, menores freqüências de amostragem também foram observados.

Algumas vantagens da TS-FF-AAS são a determinação direta de amostras complexas sem tratamento prévio e a possibilidade de trabalhar com pequenos volumes de amostra, o que reduz o tempo de análise, a produção de resíduos e os custos. GASPAR *et al.*⁷² obtiveram um LOD de $69 \mu\text{g L}^{-1}$ na determinação de chumbo em solução, com aumento de sensibilidade em relação à FAAS convencional de 6,5 vezes para um volume de amostra de apenas $0,3 \mu\text{L}$. Apesar do volume reduzido, o desvio-padrão relativo não ultrapassou 3,8%. NASCENTES *et al.*⁷³ determinaram Cu, Mn, Pb e Zn em cerveja após degaseificação em banho ultra-sônico e diluição com solução $0,14 \text{ mol L}^{-1}$ de HNO_3 . Os limites de detecção obtidos foram de 2,2; 18; 1,5 e 0,9 para Cu, Mn, Pb e Zn, respectivamente. Em outro trabalho,⁷⁴ Cu e Zn foram determinados em amostras de suco e leite sem que nenhuma etapa de decomposição da amostra fosse necessária. As amostras foram diluídas com água desionizada ou solução 20 % v/v de aminas terciárias solúveis em água (CFA-C) e determinadas por TS-FF-AAS. Foram obtidos limites de detecção de $2,2 \mu\text{g L}^{-1}$ para Cu e $0,91 \mu\text{g L}^{-1}$ para Zn em meio aquoso e de $3,2 \mu\text{g L}^{-1}$ para Cu em meio CFA-C.

Outra possibilidade é a digestão da amostra e determinação simultânea dos analitos. Devido à alta temperatura no interior do tubo atomizador, ca. 1000°C , suspensões em meio oxidante podem sofrer digestão liberando o analito, que é atomizado e determinado simultaneamente à digestão da amostra. PEREIRA-FILHO *et al.*⁷⁵ determinaram Cd, Cu e Pb em suspensões de amostras biológicas em meio HNO_3 $0,3 \text{ mol L}^{-1}$. Para evitar sedimentação de partículas e entupimento do capilar cerâmico, uma solução 1 % v/v do surfactante Triton X-100 também foi adicionada

às suspensões. Na determinação de amostras de referência certificadas de espinafre, folhas de tomateiro, fígado bovino, rim suíno e folhas de cítricos, os resultados foram concordantes em um nível de 95 % de confiança pela aplicação do teste-*t*. Na determinação de amostras comerciais de extrato de tomate, os limites de detecção foram de 0,5 $\mu\text{g g}^{-1}$ para Cd, 4,3 $\mu\text{g g}^{-1}$ para Cu e 3,5 $\mu\text{g g}^{-1}$ para Pb. Deve-se salientar ainda que a suspensão em meio de ácido nítrico implica em extração, ao menos parcial, dos analitos para a fase aquosa.

Para aumentar ainda mais a sensibilidade do método e evitar a interferência de alguns concomitantes sobre o sinal analítico, uma possibilidade adicional é a pré-concentração em linha. PEREIRA *et al.*⁷⁶ determinaram Cd e Pb em água após pré-concentração dos analitos pela complexação com pirrolidinaditiocarbamato de amônio, APDC, e posterior adsorção dos quelatos metálicos em uma coluna contendo uma mistura de fulerenos, *i.e.* C₆₀ e C₇₀. Foram obtidos limites de detecção de 0,1 e 2,4 $\mu\text{g L}^{-1}$ para Cd e Pb, respectivamente. Na determinação de materiais de referência certificados de centeio e rim suíno, não houve diferença entre os valores determinados e certificados em um nível de confiança de 95 % pela aplicação do teste-*t*. Em outro trabalho,⁷⁷ Cd foi determinado em água e soluções fisiológicas após pré-concentração em linha com O,O-dietilditiofosfato, DDTP, e adsorção em coluna de poliuretano, com limite de detecção de 0,12 $\mu\text{g L}^{-1}$.

De maneira a reduzir os custos e simplificar o método, BERNDT & PULVERMACHER⁷⁸ propuseram, em trabalho recente, a utilização de ar comprimido ao invés de uma bomba peristáltica para a propulsão da amostra no sistema TS-FF-AAS. Na determinação de Cd e Pb em amostras de pimenta, os limites de detecção obtidos foram de 0,005 e 0,1 $\mu\text{g g}^{-1}$, respectivamente. Não foram encontradas diferenças estatisticamente significativas em um nível de confiança de 95% entre os valores determinados e certificados para amostras de referência de centeio e chá.

Apesar dos ótimos resultados obtidos no sentido de ampliar o poder de detecção da FAAS empregando-se TS-FF-AAS, o método tem se restringido a aplicações na determinação de elementos mais voláteis, *e.g.* Cd, Pb e Sn. Devido à menor temperatura no interior do tubo atomizador, *ca.* 1000 °C,⁷⁵⁻⁷⁶ em relação à chama, *ca.* 2250°C para chama de ar/acetileno,⁴ elementos menos voláteis como Co, Cr e Ni são difíceis de serem determinados por requererem maiores temperaturas de atomização, *e.g.* 2300°C para Co e 2600°C para Cr por

espectrometria de absorção atômica com atomização eletrotérmica em forno de grafite (GF AAS).⁴ No sentido de superar essas dificuldades, algumas alternativas são a formação de complexos metálicos voláteis e a pré-concentração dos analitos.

3.3.4 – Formação de complexos voláteis

Outra forma de aumentar a sensibilidade da espectrometria de absorção atômica com chama é a formação de complexos voláteis com o analito de modo a eliminar problemas com a eficiência de nebulização e reduzir efeitos de matriz. Muitas vezes, a formação de um complexo metálico volátil, através da reação com compostos orgânicos, pode aumentar a eficiência de nebulização possibilitando a determinação de elementos refratários e o aumento da sensibilidade para outros elementos.⁷⁹ Essa estratégia pode também proceder a pré-concentração do analito, uma vez que pode separá-lo da matriz antes da detecção, aumentando ainda mais a sensibilidade. Métodos de geração de hidretos,⁸⁰ vapor à frio,⁸¹ carbonil-níquel⁸² e etil-derivados⁸³ são alguns exemplos de determinação elementar com geração de compostos voláteis em que baixos limites de detecção são obtidos.

CASTILLO *et al.*⁸⁴ determinaram cromo em aço por FAAS após a formação do complexo acetilacetonato de cromo e conseguiram um aumento de 30 vezes na sensibilidade quando comparada à FAAS convencional. Nesse método, a solução contendo o analito reagiu com acetilacetona em meio metanólico e, após a formação do complexo, 5 µL da solução foram injetados em um sistema de volatilização. Esse sistema, confeccionado em vidro, foi aquecido eletricamente e estava conectado a um tubo de sílica posicionado sobre a chama de um espectrômetro de absorção atômica. A amostra contendo o complexo metálico foi vaporizada e arrastada por um fluxo de gás nitrogênio até o tubo de sílica aquecido pela chama, por onde passava o feixe de radiação. Ocorreu, então, a decomposição do complexo e a atomização do cromo. Assim, problemas inerentes à FAAS convencional como a ineficiência da nebulização e da atomização, diluição da amostra pelos gases da chama e efeitos de transporte foram superados, levando a baixos limites de detecção.

Método semelhante⁸⁵ foi utilizado na determinação de Co, Cr e Fe por complexação com trifluoracetilacetona obtendo-se aumentos de sensibilidade em relação à FAAS convencional de 25, 60 e 4 vezes, respectivamente.

WOLF⁸⁶ propôs o acoplamento da cromatografia gasosa à FAAS de modo a aumentar a sensibilidade na determinação de cromo. Procedendo a complexação do analito com trifluoracetilacetona e a extração com hexano, a amostra foi injetada em um cromatógrafo a gás que estava acoplado a um espectrômetro de chama. Empregando-se essa estratégia foi determinado cromo em centeio e folhas de citros com baixos limites de detecção. Contudo, os resultados da avaliação da exatidão do método não foram satisfatórios.

Em trabalho recente, FIGUEIREDO e ARRUDA⁸⁷ propuseram o acoplamento da TS-FF-AAS à geração de hidretos (HG-FF-AAS) para a determinação de Sb em amostras de medicamento. O método consiste na geração de SbH_3 , em linha, pela reação de uma solução contendo Sb(III) com KBH_4 em meio ácido. O gás produzido segue, então, para um separador gás/líquido onde é arrastado por um fluxo contínuo de argônio até o capilar cerâmico do sistema TS-FF-AAS. O limite de detecção obtido foi de $0,23 \mu\text{g L}^{-1}$ e a exatidão verificada através da determinação de Sb em amostras de referência certificadas de sedimento. Não foram observadas diferenças estatísticas entre os valores determinados e certificados em um nível de confiança de 95 %.

3.3.5 – Pré-concentração por ponto nuvem

Um dos primeiros trabalhos sobre extração por ponto nuvem (CPE) foi publicado em 1978 por WATANABE & TANAKA⁸⁸ para extração de metais em solução. O método consiste da formação de complexos metálicos que são removidos da solução através de micelas formadas por surfactantes adequados. As moléculas de surfactante são compostas por uma longa cadeia carbônica (apolar) e uma extremidade de característica iônica (polar). A partir de uma certa concentração (conhecida como concentração micelar crítica, CMC) essas moléculas, geralmente presentes em solução aquosa na forma de monômeros, agrupam-se espontaneamente formando macromoléculas coloidais denominadas micelas. O interior dessas micelas é formado pelas cadeias carbônicas das moléculas do surfactante, enquanto a parte polar fica em contato com a solução aquosa. Assim, qualquer composto de característica apolar, ou mesmo fracamente polar, presente na solução migra para o interior das micelas onde fica dissolvido. Para promover a separação e pré-concentração de um determinado analito, procede-se a reação

deste com um composto apolar, de modo a produzir um complexo que tenha afinidade pela parte interna das micelas. Quando as condições de uma solução com surfactante acima da CMC são alteradas adequadamente, *e.g.* aumento de temperatura, pressão ou força iônica, ocorre o turvamento da solução e a separação da fase micelar. Dessa forma, o analito é separado da solução e concentrado em um pequeno volume (fase rica). Na solução aquosa (fase pobre) resta a matriz e uma concentração de surfactante ligeiramente abaixo da CMC.⁸⁹⁻⁹⁰

As vantagens da CPE são a simplicidade, rapidez e eficiência na pré-concentração de íons metálicos em solução. Os surfactantes raramente são tóxicos e podem aumentar a eficiência de nebulização na FAAS.⁹¹ A quantidade de reagentes utilizada é pequena, o que reduz os custos e a quantidade de resíduos produzidos. As maiores dificuldades estão relacionadas à escolha do complexante mais adequado para reagir seletivamente com o analito de interesse e ao controle do pH da reação de complexação.

A extração por ponto nuvem tem sido usada para a determinação de compostos orgânicos,⁹² separação de proteínas,⁹³ determinação de metais,⁹⁴⁻⁹⁶ e, mais recentemente, para especiação química.⁹⁷⁻⁹⁸ Em trabalho recente, KATSAOUNOS *et al.*⁹⁹ aplicaram a CPE na determinação de ânions.

MANZZORI & BAVILI-TABRIZI⁹⁴ determinaram Cu em água, plasma sanguíneo e cabelo humano por FAAS após etapa de pré-concentração por ponto nuvem. O complexante utilizado foi o DDTP e o surfactante, Triton X-100. O limite de detecção para determinação de soluções aquosas do metal foi de $0,94 \mu\text{g L}^{-1}$. As recuperações obtidas pelo método das adições de analito variaram entre 97 e 100 %. Em outro trabalho,⁹⁵ a CPE foi aplicada na determinação de cobalto em amostras de vitamina B12 por FAAS. Foram avaliados piridilazonaftol (PAN) e outros piridilazo compostos como complexantes e Triton X-100 e dodecilssulfato de sódio (SDS) como surfactantes. Como agentes de separação de fase foram avaliados NaCl e HCl. Nas condições otimizadas, foi obtido um LOD de $1,1 \mu\text{g L}^{-1}$.

SUSSULINI E ARRUDA⁹⁶ determinaram cromo em amostras de água por FAAS após CPE com 8-hidroxiquinolina como complexante e Triton X-114 como surfactante. Um limite de detecção de $0,21 \mu\text{g L}^{-1}$ foi obtido utilizando uma solução 5 % m/v de NaCl como agente de separação de fases. PALEOLOGOS *et al.*⁹⁷ aplicaram a CPE para a especiação redox de cromo em amostras de água por FAAS. Como agente complexante foi utilizado o APDC e como surfactante, Triton

X-114. Variando o pH e a temperatura de complexação e utilizando uma solução de ácido etilenodiaminatetraacético (EDTA) para eliminar a interferência de alguns concomitantes, e.g. Fe(III), que competem com o cromo na reação com APDC, foi possível a determinação das espécies Cr(III) e Cr(VI) pela diferença entre o teor de cromo total e Cr(VI) determinados pelo método. O limite de detecção obtido na determinação tanto de Cr total como de Cr(VI) foi de $0,6 \mu\text{g L}^{-1}$ e a exatidão do procedimento foi verificada pela determinação de ambas as espécies, i.e. Cr(III) e Cr(VI), em uma amostra de referência certificada de água. Não foram observadas diferenças estatisticamente significativas entre os valores determinados e certificados em um nível de confiança de 95 %. Em outro trabalho,⁹⁸ a determinação das espécies redox de cromo em água foi feita por espectrometria de absorção atômica com atomização eletrotérmica em forno de grafite (GF-AAS). Foi aplicado um procedimento de CPE em que a espécie Cr(VI) foi separada da solução pela reação com dibromofenilfluoreto (Br-PF) e extração com Triton X-100. O teor de cromo total foi determinado diretamente por GF-AAS, assim como a fase rica proveniente da extração por ponto nuvem. Foi utilizada uma solução de EDTA para mascarar possíveis interferências causadas por concomitantes. O limite de detecção obtido para Cr(VI) foi de $0,01 \mu\text{g L}^{-1}$. A exatidão do método foi verificada pela determinação de ambas as espécies em uma amostra de referência certificada de água. Não foram observadas diferenças estatisticamente significativas entre os valores determinados e certificados em um nível de confiança de 95 %.

Capítulo 4

MATERIAIS E MÉTODOS

4 – MATERIAIS E MÉTODOS

4.1 – Equipamentos e acessórios

Todos os experimentos envolvendo Co e Cr foram feitos em um espectrômetro de absorção atômica com chama, modelo AA 640 (Varian, Mulgrave, Austrália) equipado com corretor de fundo com lâmpada de deutério. Como fontes de radiação foram utilizadas lâmpadas de catodo oco (HCL) de Co e Cr (Varian). Os parâmetros instrumentais utilizados seguiram as recomendações do fabricante e são apresentados na Tabela 4.1.1.

Medidas de temperatura na parede externa dos tubos atomizadores foram feitas por meio de um termopar tipo K acoplado a um termômetro 51 K/J com intervalo de medida entre - 270 e + 1370 °C (Fluke, Everett, WA, EUA).

No preparo de amostras foram utilizados uma estufa modelo 315 SE (Fanem, São Paulo, SP, Brasil), um liofilizador modelo EC Micromodulyo (EC Apparatus, New York, NY, EUA), um moinho de facas modelo MR340 (Microtec, Ribeirão Preto, SP, Brasil), um moinho criogênico modelo 6750 (Spex Certiprep, Metuchen, NJ, EUA), uma balança analítica modelo AS200 (Ohaus Corporation, Florham Park, NJ, EUA), uma chapa elétrica modelo 572A (Fisaton, São Paulo, SP, Brasil), uma centrífuga Hermle modelo Z 200A (Labnet, Woodbridge, NJ, EUA) e um agitador horizontal Maxi-Mix III modelo 65800 (Barnstead/Thermolyne, Dubuque, IO, EUA).

TABELA 4.1.1. Parâmetros instrumentais recomendados pelo fabricante para a determinação de cobalto e cromo por FAAS

Parâmetro	Cobalto	Cromo
Comprimento de onda (nm)	240,7	357,9
Resolução espectral (nm)	0,2	0,2
Corrente HCL (mA)	7,0	6,0
Vazão de ar (L min ⁻¹)	13,5	13,5
Vazão de acetileno (L min ⁻¹)	2,0	2,9

4.1.1 – Sistema TS-FF-AAS

A representação esquemática do sistema de aerossol térmico com forno tubular na chama é mostrada na Figura 4.1.1.1. Ele consiste dos seguintes materiais e acessórios:

- suporte em aço inoxidável posicionado sobre o queimador do espectrômetro de chama com 4 pinos cerâmicos para a adaptação do tubo metálico;
- tubo de níquel com 10 cm de comprimento, 1,0 cm d.i., 1,2 cm d.e. e um orifício central de 2 mm de diâmetro para a introdução da amostra. A Figura 4.1.1.2 mostra as duas configurações avaliadas para aumentar a temperatura no interior do tubo através da penetração da chama. O tubo convencional **(a)** apresenta 6 furos de 2 mm de diâmetro na parte inferior, perpendiculares com o orifício de introdução de amostra. O tubo com maior orifício para penetração da chama **(b)** apresenta uma abertura de 0,3 x 5,2 cm e 2 furos adicionais com 2 mm de diâmetro, distantes 1,3 cm das bordas da abertura, todos perpendiculares com o orifício de introdução de amostra. As Tabelas 4.1.1.1 e 4.1.1.2 apresentam a composição e as propriedades físicas do material utilizado na confecção do tubo Ni;
- capilar de cerâmica não-porosa de Al_2O_3 com 10 cm de comprimento, 0,5 mm d.i. e 2,0 mm d.e. (Friatec, Mannheim, Alemanha). As propriedades físicas do material utilizado na confecção do capilar são apresentadas na Tabela 4.1.1.3;
- bomba peristáltica de 8 canais (Ismatec, Labortechnik Analytik, Glattbrugg-Zürich, Suíça);
- tubos de propulsão de Tygon[®] (d.i. 0,89 mm);
- tubos de extensão de Teflon[®] (d.i. 0,8 mm);
- injetor/comutador em acrílico com alça de amostragem composta por um tubo de Teflon[®] de 0,8 mm d.i.

Na Figura 4.1.1.3 é apresentado o sistema montado e em funcionamento (Figura 4.1.1.3a) e no detalhe, o tubo incandescente, localizado sobre a chama, com o capilar cerâmico acoplado (Figura 4.1.1.3b).

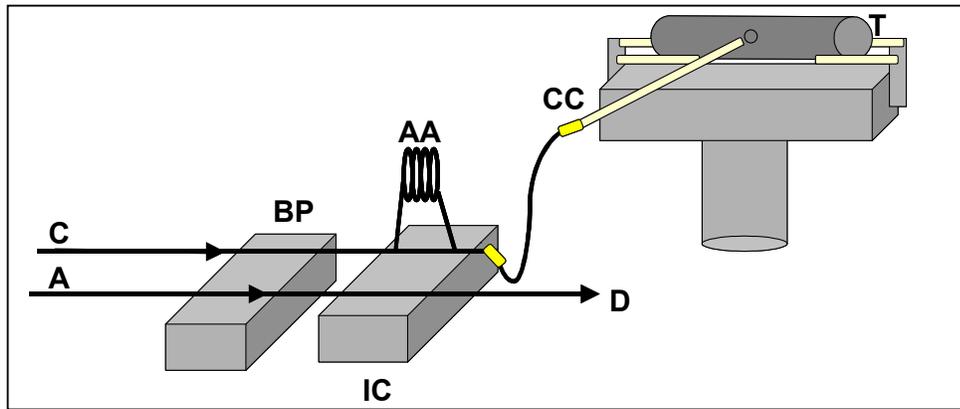


FIGURA 4.1.1.1. Representação esquemática do sistema TS-FF-AAS: **BP** – bomba peristáltica; **C** – carregador; **A** – amostra; **IC** – injetor/comutador; **AA** – alça de amostragem; **D** – descarte; **CC** – capilar cerâmico; **T** – tubo de níquel

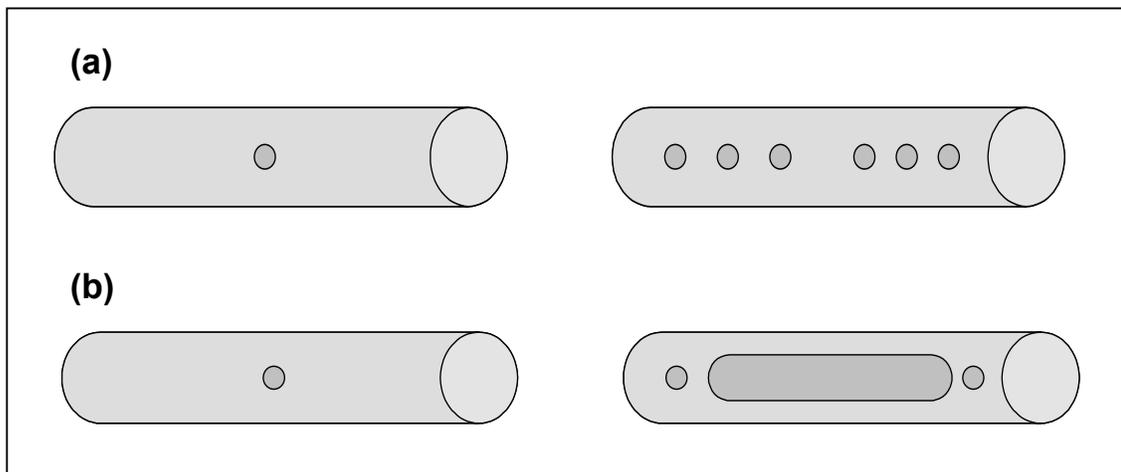


FIGURA 4.1.1.2. Configurações avaliadas para aumentar a temperatura no interior do tubo de Ni: **(a)** Tubo convencional e **(b)** Tubo com maior orifício

TABELA 4.1.1.1. Composição da liga de Ni 200 (Catálogo Camacam Industrial Ltda.), utilizada na confecção do tubo atomizador do sistema TS-FF-AAS

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 4.1.1.2. Propriedades físicas da liga de Ni 200

Densidade (g cm^{-3})	8,9
Calor específico a 20°C ($\text{J kg}^{-1}\text{K}^{-1}$)	440
Condutividade térmica a 100°C ($\text{W m}^{-1}\text{K}^{-1}$)	70
Ponto de fusão a 1 bar (°C)	1435-1445

TABELA 4.1.1.3. Propriedades físicas do capilar cerâmico de Al_2O_3 utilizado no sistema TS-FF-AAS

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

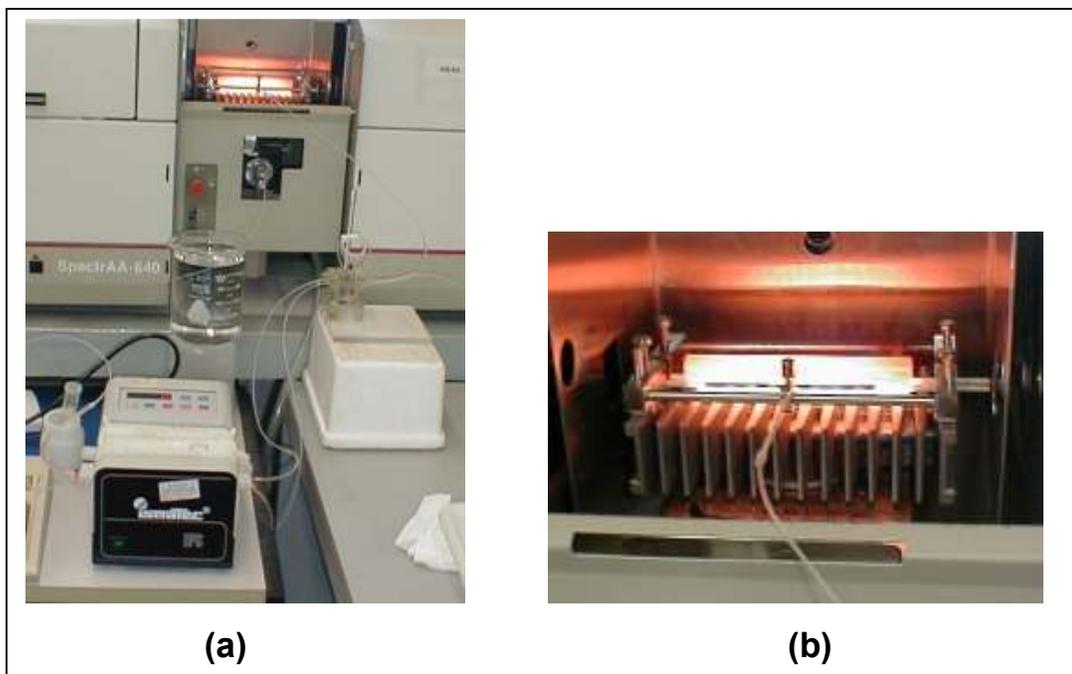


FIGURA 4.1.1.3. Sistema TS-FF-AAS: **(a)** sistema completo e **(b)** tubo de Ni sobre a chama com capilar acoplado

4.2 – Reagentes e soluções

Todos os reagentes utilizados foram de grau analítico. A água foi destilada e desionizada (sistema Milli-Q Plus, Millipore, Bedford, MA, EUA). As soluções de referência foram preparadas pela diluição de soluções-estoque de Co(II), Cr(III), Fe(III), Al(III), Cu(II), e Mn(II) de concentração 1000 mg L^{-1} (Teclab, Hexis, São Paulo, SP, Brasil). Uma solução de ácido clorídrico 1 mol L^{-1} , obtida pela diluição de HCl concentrado (12 mol L^{-1} , Mallinckrodt, Xalostoc, México), foi usada para extração de Co(II) nas amostras alimentícias.

Foram testados como complexantes para a formação dos compostos organometálicos acetilacetona (Merck, Darmsdadt, Alemanha), dietilditiocarbamato de sódio, DDTC (Merck), pirrolidinaditiocarbamato de amônio, APDC (Sigma-Aldrich, St. Louis, MO, EUA), piridilazonaftol, PAN (Merck) e 8-hidroxiquinolina, 8-HQ (Merck). Todas as soluções dos complexantes foram preparadas pela dissolução de quantidades apropriadas dos reagentes em água destilada e desionizada (Milli-Q). O

reagente PAN foi dissolvido em uma solução 50 % v/v de etanol, obtida pela dissolução do reagente puro (Etanol anidro, Merck) em água destilada e desionizada.

No procedimento de extração por ponto nuvem foram avaliados como solventes da fase rica etanol (Merck), metanol (Merck) e uma solução metanólica de ácido nítrico 1,4 mol L⁻¹ obtida pela diluição de HNO₃ 14 mol L⁻¹ (Merck) com metanol anidro (Merck). Como surfactante foi usado o α -[p-(1,1,3,3-tetrametilbutil)fenil]- ω -hidroxipoli(oxietileno) (Triton X-114) (Sigma-Aldrich).

Todos os ajustes de pH foram feitos com hidróxido de amônio (29 % m/m, Mallinckrodt) e soluções-tampão de ácido acético/acetato de sódio (pH 3,0; 4,5; ou 6,0) ou amônia/amônio (pH 8,0 ou 10,0). As soluções tampão foram preparadas com ácido acético glacial (J.T. Baker, Mallinckrodt-Baker, Xalostoc, México), acetato de sódio (Synth, Diadema, SP, Brasil), hidróxido de amônio (Mallinckrodt) e cloreto de amônio (Synth).

Na avaliação do efeito dos concomitantes sobre o sinal analítico de Cr(III) foram usadas soluções de NaF (Mallinckrodt) e ácido etilenodiaminatetraacético (EDTA) (Reagen, Quimibrás, Rio de Janeiro, RJ, Brasil). As soluções foram preparadas pela dissolução de massas apropriadas dos reagentes em água destilada e desionizada (Milli-Q).

4.3 – Amostras e materiais de referência certificados

Todas as amostras analisadas para a determinação de Co(II) foram compradas no comércio local. As amostras de tecidos vegetais foram alface, chicória, repolho, cenoura e beterraba. As amostras de tecidos animais foram rim suíno e fígado, cérebro, costelas e vísceras bovinos.

A exatidão do método proposto foi checada através da determinação de cobalto em amostras de referência certificadas de folhas de tomateiro (NIST 1573a) e fígado bovino (NIST 1577b) produzidas pelo *National Institute of Science and Technology* (NIST, Gaithersburg, MD, EUA).

4.4 – 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 pelo menos 24 h para descontaminação. Esse material foi, então, enxaguado com água destilada e desionizada (Milli-Q) e deixado para secar em capela de fluxo laminar (Veco, Campinas, SP, Brasil).

Capítulo 5

PROCEDIMIENTO

EXPERIMENTAL

5 – PROCEDIMENTO EXPERIMENTAL

5.1 – Estudo dos complexantes

Para avaliar qual é o complexante mais adequado para Co(II) e Cr(III) para a pré-concentração por ponto nuvem, foram preparadas soluções de acetilacetona 1,46 % m/v, PAN 0,11 % m/v, DDTC (sal sódico) 0,6 % m/v, APDC (sal de amônio) 0,6 % m/v e 8-HQ 0,5 % m/v (esse último apenas para Cr(III)). O pH da reação foi ajustado de acordo com as melhores condições de complexação^{97,100,101} para cada um dos reagentes: 3,0 para acetilacetona e PAN, 6,0 para APDC e 8-HQ e 10,0 para DDTC. Para proceder a pré-concentração, foram adicionados 1,0 mL da solução-tampão adequada e 0,5 mL da solução do complexante a 10 mL de uma solução 100 $\mu\text{g L}^{-1}$ de Co(II) ou Cr(III). A mistura foi agitada e deixada para reagir por 20 min. Foram adicionados, então, 0,5 mL de uma solução 5 % v/v do surfactante Triton X-114. A mistura foi agitada e deixada em aquecimento em banho-maria a 45 °C por 20 min. A mistura foi centrifugada a 4000 rpm por 10 min para que ocorresse a separação de fases e deixada em um congelador por 20 min para aumentar a viscosidade da fase rica e facilitar a remoção do sobrenadante (fase pobre) através de uma micropipeta. Após a remoção da fase pobre, foram adicionados 200 μL de etanol à fase rica para diminuir sua viscosidade e possibilitar sua introdução no sistema TS-FF-AAS. Com o objetivo de avaliar o efeito da pré-concentração, foram também determinadas soluções 100 $\mu\text{g L}^{-1}$ dos metais sem pré-concentração. A Tabela 5.1.1 apresenta os parâmetros instrumentais utilizados para o sistema TS-FF-AAS nessa determinação. A aquisição do sinal analítico foi feita em área de pico e representada como absorvância integrada, a partir de um volume de 150 μL de amostra, medidos durante 30 s. A absorvância integrada foi escolhida por apresentar menor suscetibilidade a variações nas condições de atomização, sendo mais adequada a medidas de sinais analíticos transientes como é o caso da TS-FF-AAS.¹⁰² Características do método como o tipo de introdução de amostra e as condições de atomização são as causas principais desse tipo de sinal, daí a necessidade de uma forma de aquisição de sinais que seja compatível, que considere e minimize variações durante os processos de formação da nuvem atômica. Por outro lado, é necessário cautela na consideração da magnitude dos sinais integrados para evitar interpretações errôneas da lei de Beer. Tentou-se,

também, adotar uma base de tempo, e.g. 1 s, para a aquisição dos sinais, porém isso dificultou a interpretação dos efeitos observados. Além disso, medidas em altura de pico não foram adequadas, pois também dificultaram a interpretação dos efeitos devido ao elevado intervalo de tempo de patamar observado para os sinais transientes.

TABELA 5.1.1. Parâmetros instrumentais utilizados para a determinação de Co(II) e Cr(III) por TS-FF-AAS

Carregador	ar
Vazão do carregador (mL min ⁻¹)	0,4
Altura do tubo atomizador (cm)	1,5
Volume da alça de amostragem (μL)	150
Tempo de retardo (s)	30
Tempo de medida (s)	30
Modo de aquisição de sinal	Área de pico

5.2 – Configuração do tubo atomizador

Visando aumentar a eficiência do processo de atomização através do aumento da temperatura no interior do tubo atomizador, foram avaliadas duas configurações para o tubo de Ni (Figura 4.1.1.2). Utilizando-se APDC como complexante e aplicando-se o procedimento de pré-concentração por ponto nuvem descrito no estudo anterior, obteve-se uma solução concentrada, em meio etanólico, a partir de soluções 100 μg L⁻¹ de Co(II) e 500 μg L⁻¹ de Cr(III). Essas soluções foram, então, introduzidas no sistema TS-FF-AAS com forno tubular convencional ou com orifício ampliado. Os parâmetros instrumentais utilizados foram os mesmos apresentados na Tabela 5.1.1.

Medidas da temperatura na parede externa dos tubos convencional e modificado foram feitas utilizando um termopar. Para verificar se ocorria a entrada de um maior volume de gases da chama no interior do tubo com maior orifício, foram introduzidas soluções contendo 1000 mg L⁻¹ de Cu(II) e Sr(II) por meio do sistema de

aerossol térmico de modo a visualizar as colorações características produzidas por esses elementos na chama.

5.3 – Otimização do procedimento de pré-concentração por ponto nuvem

Planejamentos fatoriais foram empregados na otimização das condições de pré-concentração por ponto nuvem de soluções $100 \mu\text{g L}^{-1}$ de Co(II) e Cr(III). Para cobalto foi empregado um planejamento 2^3 com replicata, num total de 16 experimentos, em que foram avaliados o pH (4,5 e 10,0) e as concentrações finais de APDC ($1,59 \times 10^{-3}$ e $3,04 \times 10^{-3} \text{ mol L}^{-1}$) e Triton X-114 na solução ($3,95 \times 10^{-3}$ e $7,58 \times 10^{-3} \text{ mol L}^{-1}$). Para cromo, baseando-se nos resultados obtidos para cobalto, foi empregado um planejamento 2^2 com replicata, num total de 8 experimentos, em que foram avaliadas as mesmas concentrações de APDC e Triton X-114 em pH 4,5. O procedimento de pré-concentração foi o mesmo usado no estudo dos complexantes: a 10 mL de uma solução $100 \mu\text{g L}^{-1}$ de Co(II) ou Cr(III) foram adicionados 1 mL da solução-tampão (4,5 ou 10,0 para Co(II) e 4,5 para Cr(III)) e 0,5 ou 1,0 mL de uma solução 0,6% m/v de APDC. A mistura foi agitada e deixada para reagir por 20 min. Foram adicionados, então, 0,5 ou 1,0 mL de uma solução 5 % v/v de Triton X-114. A mistura foi agitada e aquecida em banho-maria por 20 min para que se desse o ponto nuvem. Após centrifugação por 10 min a 4000 rpm, houve a separação de fases e a mistura foi deixada em um congelador por 20 min para aumentar a viscosidade da fase rica e facilitar a remoção do sobrenadante (fase pobre) com uma micropipeta. Para diminuir a viscosidade da fase rica antes da sua introdução no sistema TS-FF-AAS foram adicionados 200 μL de etanol. Os parâmetros instrumentais usados foram os mesmos apresentados na Tabela 5.1.1, com a utilização do tubo convencional para Co e do tubo com maior orifício para Cr.

Após a otimização das concentrações de complexante e surfactante, foi feito um estudo para determinar a melhor condição de pH para a pré-concentração de Cr(III). Foram avaliados os pHs 2,0; 4,5; 6,0 e 8,0 fixando-se as concentrações de APDC e Triton X-114. O procedimento de pré-concentração usado foi o mesmo dos estudos anteriores apenas variando-se a solução-tampão.

5.4 – Estequiometria da chama e altura do tubo atomizador

Para avaliar os efeitos da temperatura e do ambiente químico no interior do tubo atomizador sobre o sinal analítico de Co(II) e Cr(III), planejamentos fatoriais foram empregados na determinação das melhores condições em relação à estequiometria da chama e à altura do tubo atomizador em relação ao queimador. Foram empregados dois planejamentos 2^2 com replicata, num total de 8 experimentos cada, em que foram avaliadas as alturas de 0,3 e 1,5 cm do tubo atomizador em relação ao queimador e as chamas estequiométrica ($18,8 \text{ L min}^{-1}$ de ar e $1,5 \text{ L min}^{-1}$ de acetileno – razão C:O = 0,4), redutora ($13,5 \text{ L min}^{-1}$ de ar e $3,5 \text{ L min}^{-1}$ de acetileno – razão C:O = 1,3) e recomendada pelo fabricante ($13,5 \text{ L min}^{-1}$ de ar e $2,0 \text{ L min}^{-1}$ de acetileno – razão C:O = 0,74 para Co e $13,5 \text{ L min}^{-1}$ de ar e $2,9 \text{ L min}^{-1}$ de acetileno – razão C:O = 1,07 para Cr). Os procedimentos de pré-concentração por ponto nuvem foram os mesmos utilizados anteriormente, a partir das condições otimizadas.

Para cromo foi também avaliada uma chama redutora intermediária entre a descrita acima e a recomendada pelo fabricante, com vazão de $13,5 \text{ L min}^{-1}$ de ar e $3,1 \text{ L min}^{-1}$ de acetileno (razão C:O = 1,15).

5.5 – Vazão e tipo de carregador

Planejamentos fatoriais foram empregados na avaliação da influência sobre o sinal analítico da vazão e do tipo de carregador utilizados na determinação de Co(II) e Cr(III) por TS-FF-AAS. A partir de um planejamento 3^2 com replicata e ponto central, num total de 20 experimentos, foram avaliados os carregadores ar, água e solução $0,14 \text{ mol L}^{-1}$ de HNO_3 e as vazões de 0,31; 0,43 e $0,57 \text{ mL min}^{-1}$. Foram também avaliadas as vazões de ar de 0,57; 0,67 e $0,80 \text{ mL min}^{-1}$. Soluções $100 \mu\text{g L}^{-1}$ de Co(II) e Cr(III) foram submetidas à pré-concentração por ponto nuvem em condições otimizadas e determinadas por TS-FF-AAS.

5.6 – Estudo do solvente da fase rica

Devido à sua influência sobre os processos de transporte, nebulização e atomização da amostra, foram avaliados três tipos de solvente para a diluição da

fase rica antes da sua introdução no sistema TS-FF-AAS: etanol, metanol e uma solução de HNO_3 $1,4 \text{ mol L}^{-1}$ em meio metanólico. Os procedimentos de pré-concentração utilizados foram os mesmos descritos anteriormente, a partir das condições otimizadas. A dissolução da fase rica foi feita pela adição de $200 \mu\text{L}$ de um dos solventes descritos acima. Ar foi utilizado como carregador a uma vazão de $0,57 \text{ mL min}^{-1}$. Para Co foi utilizado o tubo convencional, a altura de $1,5 \text{ cm}$ e a chama recomendada pelo fabricante (razão C:O = $0,74$). Para Cr foi utilizado o tubo com maior orifício, a altura de $0,3 \text{ cm}$ e a chama redutora intermediária (razão C:O = $1,15$).

5.7 – Volumes da alça de amostragem e do solvente

Para avaliar o efeito da quantidade de amostra injetada sobre o sinal analítico, foram avaliados os volumes de 150 , 300 e $450 \mu\text{L}$ para a alça de amostragem. Depois de aplicado o procedimento otimizado de pré-concentração por ponto nuvem a soluções $100 \mu\text{g L}^{-1}$ de Co(II) e Cr(III), volumes de 200 , 350 ou $500 \mu\text{L}$ de etanol foram adicionados à fase rica e a mistura introduzida no sistema TS-FF-AAS. Os parâmetros utilizados no sistema foram aqueles otimizados para cada um dos analitos.

Para eliminar possíveis efeitos de memória foi realizada uma etapa de limpeza: água destilada e desionizada foi injetada entre cada medida até que o sinal analítico retornasse aos valores do branco instrumental. A determinação da frequência de amostragem foi feita medindo-se o tempo gasto desde o início do preenchimento da alça de amostragem com a solução dos analitos até o final da etapa de limpeza.

5.8 – Efeito causado por concomitantes

A partir das concentrações de Co(II), Cr(III) e alguns concomitantes como Al(III), Fe(III), Cu(II) e Mn(II) presentes no material de referência certificado de folhas de tomateiro (NIST 1573a), foi preparada uma solução que simulasse a matriz dessa amostra para avaliar os efeitos desses concomitantes sobre o sinal analítico. Foram utilizadas concentrações de $0,05 \text{ mg L}^{-1}$ para Co(II) e Cr(III), 53 mg L^{-1} para Al(III), 33 mg L^{-1} para Fe(III), $0,4 \text{ mg L}^{-1}$ para Cu(II) e 23 mg L^{-1} para Mn em um

volume de 10 mL de solução. Essa mistura foi submetida ao procedimento de pré-concentração por ponto nuvem e determinada por TS-FF-AAS nas condições otimizadas.

Para reduzir os efeitos causados pelos concomitantes sobre o sinal analítico de Cr(III) foram avaliados 2 procedimentos de complexação empregando fluoreto e EDTA. O pH da solução sintética descrita anteriormente foi ajustado para 4,5 com NH_4OH concentrado e 1 mL de solução-tampão de ácido acético/acetato de sódio. Em seguida, foram adicionados 1,0 ou 2,0 mL de soluções de NaF ($41,4 \text{ g L}^{-1}$) ou EDTA (40 mg L^{-1}). As misturas permaneceram em reação por 20 ou 30 min e foram submetidas ao procedimento de pré-concentração por ponto nuvem e determinadas por TS-FF-AAS nas condições otimizadas.

Para avaliar o efeito de alguns dos concomitantes, separadamente, sobre o sinal analítico na determinação de Co(II) e Cr(III), foi feito um estudo em que concentrações crescentes de Fe(III) ou Al(III) foram adicionadas a uma solução 5 mg L^{-1} de cada um dos analitos. Foram usadas soluções de concentração 5; 50; 250 e 500 mg L^{-1} para ambos os concomitantes. Soluções com razões analito:concomitante de 1:0, 1:1, 1:10, 1:50 e 1:100 foram determinadas por FAAS convencional e por TS-FF-AAS.

5.9 – Preparo de amostras

Amostras vegetais foram secas em estufa a $60\text{-}65 \text{ }^\circ\text{C}$ por 48 h e moídas em moinho de facas. As amostras de tecido animal foram liofilizadas e moídas em moinho criogênico de acordo com o procedimento proposto por SANTOS JR.¹⁰³ Esse método consiste no pré-congelamento da amostra em nitrogênio líquido por 5 min e moagem em 3 ciclos de 2 min cada com intervalos de 4 min entre cada ciclo para recongelamento. Para a determinação de Co(II) as amostras foram submetidas à extração com $\text{HCl } 1 \text{ mol L}^{-1}$ para evitar interferências causadas por concomitantes como Al(III) e Fe(III).⁹ Um volume de 10 mL da solução ácida foi adicionado a 250 mg de amostra e a mistura foi aquecida em banho-maria a $65 \text{ }^\circ\text{C}$ por 15 min. A mistura foi, então, mantida em um agitador horizontal por mais 30 min, centrifugada a 4000 rpm por 10 min e a solução sobrenadante separada por filtração. Após a redução da acidez pela adição de NH_4OH , a solução foi submetida ao procedimento otimizado de pré-concentração por ponto nuvem.

Capítulo 6

RESULTADOS E DISCUSSÃO

6 – RESULTADOS E DISCUSSÃO

6.1 – Reação de complexação

A espectrometria de absorção atômica com forno tubular na chama e aerossol térmico (TS-FF-AAS) é capaz de aumentar significativamente o poder de detecção da espectrometria de absorção atômica com chama (FAAS) devido à maior eficiência nos processos de introdução da amostra e atomização. Como consequência da nebulização térmica, 100 % da amostra são convertidos em aerossol e introduzidos no atomizador. O tubo atomizador é responsável pela concentração da nuvem atômica no caminho óptico e pelo aumento do tempo disponível para que ocorram a evaporação do solvente e a vaporização e dissociação do composto metálico para a formação da nuvem atômica (tipicamente 200 ms). Apesar do aumento de sensibilidade para vários elementos, e.g. 32 vezes para Tl, 92 vezes para Pb, 113 vezes para Cd,⁶⁸ a TS-FF-AAS não apresenta um bom desempenho na determinação de elementos menos voláteis como Co e Cr, principalmente devido à menor temperatura no interior do tubo metálico⁷⁵⁻⁷⁶ em relação à chama.⁴ Como discutido anteriormente, a determinação desses elementos em amostras alimentícias requer a aplicação de etapas de complexação e pré-concentração para aumentar a eficiência dos processos de vaporização e atomização e aumentar a sensibilidade.

No método de pré-concentração por ponto nuvem, complexos organometálicos interagem com o sistema micelar formado pelas moléculas do surfactante e são separados da fase aquosa (fase pobre) e concentrados em um pequeno volume de solução micelar (fase rica).⁸⁹⁻⁹⁰ Diferentes complexos apresentam temperaturas de volatilização e atomização distintas.

Neste trabalho foram avaliados cinco complexantes e seus efeitos sobre a sensibilidade na determinação de Co(II) e Cr(III) por TS-FF-AAS. Os resultados para a pré-concentração por ponto nuvem de soluções 100 µg L⁻¹ de ambos os analitos, com a formação do complexo organometálico a partir de cada um dos complexantes, são apresentados nas Tabelas 6.1.1 e 6.1.2. Para ambos os analitos as medidas foram feitas usando-se o tubo de níquel convencional.

TABELA 6.1.1. Absorbâncias integradas obtidas para $100 \mu\text{g L}^{-1}$ de Co(II) a partir da complexação com vários reagentes, pré-concentração por ponto nuvem e determinação por TS-FF-AAS

Complexante	Concentração (% m/v)	Absorbância integrada / s
Acetilacetona	$6,09 \times 10^{-2}$	0
PAN	$4,6 \times 10^{-3}$	2,162
DDTC	$2,5 \times 10^{-2}$	1,850
APDC	$2,5 \times 10^{-2}$	2,444

TABELA 6.1.2. Absorbâncias integradas obtidas para $100 \mu\text{g L}^{-1}$ de Cr(III) a partir da complexação com vários reagentes, pré-concentração por ponto nuvem e determinação por TS-FF-AAS

Complexante	Concentração (% m/v)	Absorbância integrada / s
Acetilacetona	$6,1 \times 10^{-2}$	0,043
PAN	$4,6 \times 10^{-3}$	0,013
DDTC	$2,5 \times 10^{-2}$	0,090
APDC	$2,5 \times 10^{-2}$	0,217
8-HQ	$2,2 \times 10^{-2}$	0,072

Considerando que não foram observados sinais de absorbância ao introduzir soluções $100 \mu\text{g L}^{-1}$ de Co(II) e Cr(III) não submetidas ao processo de pré-concentração, verifica-se que todos os complexantes exerceram influência positiva sobre o sinal analítico de ambos os metais – com exceção da acetilacetona para Co(II). O processo de pré-concentração por ponto nuvem é influenciado por fatores como afinidade íon metálico-complexante, velocidade da reação de complexação e hidrofobicidade do complexo organometálico formado. No caso da acetilacetona, o baixo rendimento da reação de complexação e a baixa hidrofobicidade do complexo metálico formado com cobalto são as causas prováveis da baixa sensibilidade. Por outro lado, o complexante APDC foi o que apresentou os melhores resultados para

ambos os analitos, provavelmente devido a uma maior afinidade íon metálico-complexante e complexo organometálico-sistema micelar.

O APDC (pirrolidinaditiocarbamato de amônio) é um composto freqüentemente usado na extração e precipitação de metais em solução.^{89,97,100} É um sólido cristalino, com ponto de fusão entre 142 e 144°C, facilmente solúvel em água (18,9 g por 100 mL de água, a 20°C). O reagente livre (HL) é um ácido fraco, $pK_a = 3,29$ ($\mu = 0,01$, KCl, 25°C) e suas soluções são bastante estáveis: em pH 7,3, por exemplo, uma solução de APDC apresenta um período de meia-vida de 170 dias. Como complexante, comporta-se como um ligante aniônico monovalente bidentado, com dois átomos de enxofre doadores de elétrons (bases de Lewis).¹⁰⁰ A molécula do APDC e a estrutura genérica de seus complexos metálicos são mostradas na Figura 6.1.1.

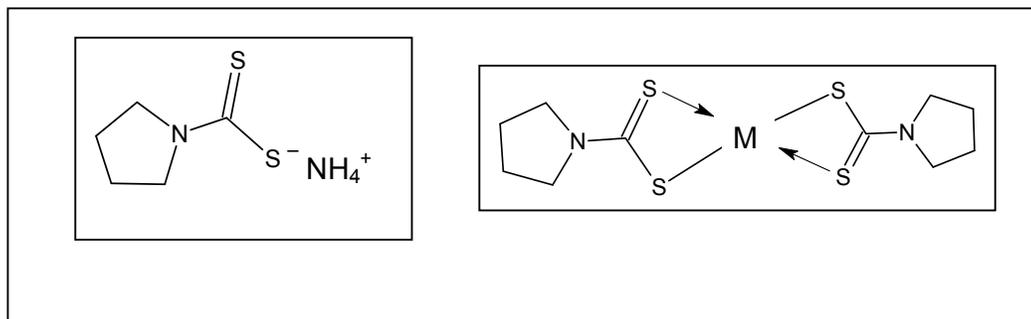


FIGURA 6.1.1. Pirrolidinaditiocarbamato de amônio (APDC). (a) Fórmula estrutural. (b) Fórmula estrutural genérica dos complexos organometálicos. M = íon metálico

6.2 – Tubo atomizador

Um dos fatores que dificultam a determinação de elementos refratários por TS-FF-AAS é a temperatura relativamente baixa no interior do tubo atomizador. Uma maneira de superar o problema é utilizar tubos com pequenos furos na parte inferior, os quais permitem a penetração de parte da chama no interior do tubo, aumentando a temperatura. GASPAR & BERNDT,⁸ por exemplo, obtiveram um aumento de sensibilidade na determinação de Cu a partir da utilização de um tubo contendo 6 orifícios de 2 mm de diâmetro na parte inferior.

Visando ao aumento de temperatura no interior do tubo atomizador, de modo a possibilitar a determinação dos elementos Co e Cr, foram avaliadas duas configurações para o tubo de Ni (Figura 4.1.1.2). Um experimento foi realizado para verificar a penetração da chama no tubo com maior orifício. Para isso, observaram-se os efeitos de mudança na coloração da chama causados pela introdução de soluções de Cu(II) (Figura 6.2.1) e Sr(II) (Figura 6.2.2) no sistema TS-FF-AAS. O elemento cobre produz uma coloração verde intensa na chama devido à emissão atômica no comprimento de onda de 510,6 nm, enquanto a espécie SrOH emite radiação na faixa dos 600-613 nm, produzindo coloração vermelha intensa característica.

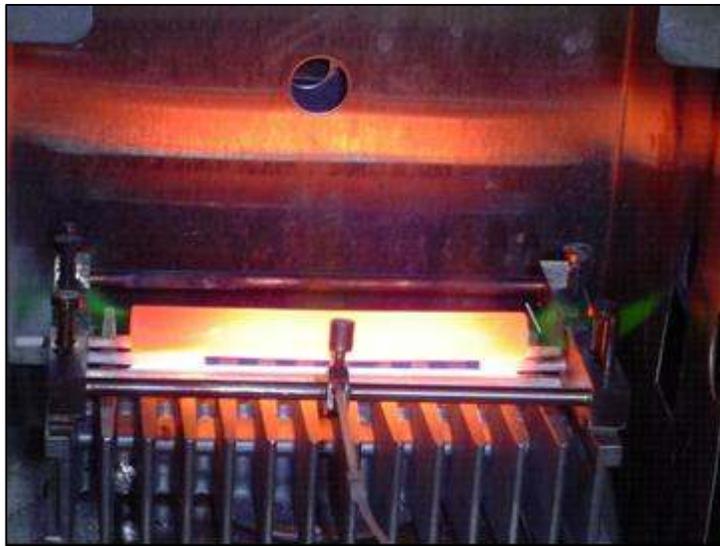


FIGURA 6.2.1. Tubo com maior orifício e penetração dos gases da chama verificados pela introdução de uma solução 1000 mg L^{-1} de Cu(II)



FIGURA 6.2.2. Tubo com maior orifício e penetração dos gases da chama verificados pela introdução de uma solução 1000 mg L^{-1} de Sr(II)

Verifica-se nas Figuras 6.2.1 e 6.2.2 que a chama penetra no tubo com maior orifício. O mesmo ocorre com o tubo convencional, porém em menor intensidade. Isso pode levar ao aumento da temperatura no interior do tubo e maiores sensibilidades na determinação de elementos menos voláteis como Co(II) e Cr(III). Uma verificação indireta desse aumento de temperatura foi obtida por medidas realizadas com termopar na parede externa dos tubos convencional e com maior orifício. Nessas medidas, o tubo convencional apresentou uma temperatura de $1045 \text{ }^\circ\text{C}$, enquanto o tubo com maior orifício atingiu $1163 \text{ }^\circ\text{C}$. Essa diferença de temperatura pode ser uma indicação da maior temperatura interna atingida pelo tubo com maior orifício, como consequência da penetração da chama. Essas temperaturas foram obtidas com os tubos na altura de $0,3 \text{ cm}$ acima do queimador e chama com vazões de ar de $13,5 \text{ L min}^{-1}$ e acetileno de $2,0 \text{ L min}^{-1}$. Para avaliar o efeito da configuração do tubo atomizador sobre o sinal analítico de Co(II) e Cr(III), soluções desses metais foram submetidas à pré-concentração por ponto nuvem e determinadas por TS-FF-AAS utilizando os tubos convencional e com maior orifício. Os resultados são apresentados na Figura 6.2.3.

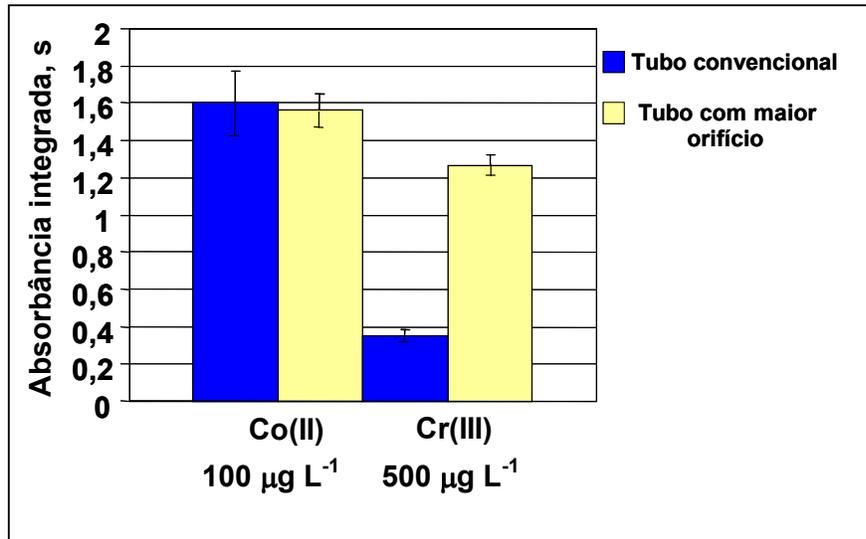


FIGURA 6.2.3. Efeito da configuração do tubo atomizador sobre o sinal analítico de soluções de Co(II) e Cr(III) submetidas ao procedimento de pré-concentração por ponto nuvem com APDC e Triton X-114

Além do aumento de temperatura, a penetração dos gases da chama no interior do tubo atomizador pode diluir a nuvem atômica e modificar quimicamente o meio, causando um decréscimo na sensibilidade. Assim, deve haver um compromisso entre o aumento de temperatura e os efeitos negativos causados pela alta vazão dos gases que penetram o tubo.³²

A partir da Figura 6.2.3, observa-se que a utilização do tubo com maior orifício não causou efeito significativo sobre o sinal analítico de Co(II). Provavelmente, a modificação do ambiente químico no interior do tubo, devido a uma maior concentração de espécies provenientes da combustão, pode ter exercido um efeito negativo sobre os processos de atomização. Assim, os efeitos positivos causados pelo aumento de temperatura não foram suficientes para compensar a redução da eficiência de atomização causada pela penetração dos gases da chama. Pode-se também supor que a temperatura gerada no interior do tubo convencional já foi suficiente para uma atomização eficiente do complexo de Co(II). Por outro lado, observa-se um aumento significativo no sinal analítico de Cr(III) pela utilização do tubo com maior orifício. Nesse caso, uma maior temperatura e, diferentemente do Co(II), um meio quimicamente mais favorável à atomização, devido a uma maior concentração de espécies provenientes da combustão, podem ter levado a uma compensação dos efeitos negativos causados pela diluição da nuvem atômica pelos

gases da chama. A partir desses resultados, os estudos posteriores foram feitos utilizando-se o tubo convencional para a determinação de Co(II) e o tubo com maior orifício para Cr(III).

6.3 – Pré-concentração por ponto nuvem

Como discutido anteriormente, a eficiência da técnica de pré-concentração por ponto nuvem é dependente da reação de formação do complexo organometálico e sua afinidade pelo sistema micelar formado pelas moléculas do surfactante.

Neste trabalho, devido à facilidade de manipulação e à baixa temperatura de ponto nuvem (22°C), foi utilizado o α -[p-(1,1,3,3-tetrametilbutil)fenil]- ω -hidroxipoli(oxietileno) (Triton X-114), um surfactante não iônico frequentemente empregado para a extração e pré-concentração de íons metálicos em solução.⁸⁹⁻⁹⁰ O Triton X-114 apresenta concentração micelar crítica (CMC) de 2×10^{-4} mol L⁻¹ e a formação do sistema micelar (ponto nuvem) se dá quando os segmentos óxido etil, que se repelem a baixas temperaturas, são atraídos mutuamente pelo aumento de temperatura e formam o aglomerado hidrofóbico.¹⁰⁴ A molécula do Triton X-114 é apresentada na Figura 6.3.1.

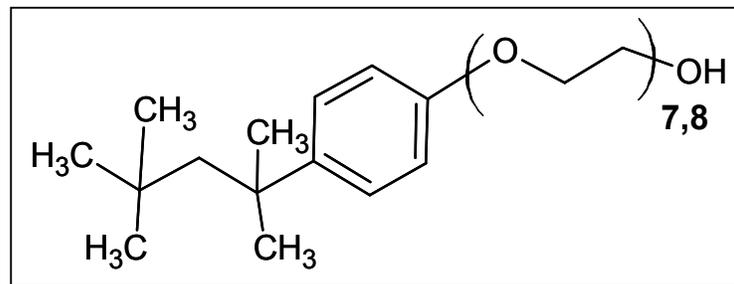


FIGURA 6.3.1. Fórmula estrutural do surfactante α -[p-(1,1,3,3-tetrametilbutil)fenil]- ω -hidroxipoli(oxietileno) (Triton X-114)

Visando otimizar as condições de pré-concentração de Co(II) e Cr(III), um planejamento fatorial foi empregado na avaliação de parâmetros como pH (4,5 ou 10,0) e concentrações do complexante APDC ($1,59 \times 10^{-3}$ ou $3,04 \times 10^{-3}$ mol L⁻¹) e do surfactante Triton X-114 ($3,95 \times 10^{-3}$ ou $7,58 \times 10^{-3}$ mol L⁻¹).

A partir do gráfico de Pareto (Figura 6.3.2), observa-se que o pH (C) e a concentração do surfactante (A) apresentam efeito negativo significativo sobre o sinal analítico de Co(II) em um nível de confiança de 95 %. Por outro lado, na faixa de concentração estudada, o complexante (B) e a interação entre os fatores não causaram efeito significativo sobre os sinais de absorvância. A Figura 6.3.3 mostra o efeito dos fatores estudados sobre a intensidade do sinal analítico de Co(II). Observa-se que um aumento na concentração do surfactante causou uma redução da absorvância, o que pode ser explicado pela dependência do fator de pré-concentração no volume da fase rica, ou seja, quanto maior a concentração do surfactante, maior será o volume da fase rica e menor o fator de pré-concentração.¹⁰⁵ Observa-se também que a reação de complexação foi mais efetiva em pH 4,5 (menor nível). Esse valor foi adotado baseando-se no conhecimento de que os complexos Co-APDC são estáveis em valores de pH maiores que 4,0.¹⁰⁶⁻¹⁰⁷ Contudo, foi verificado que em pH 10,0 a reação de complexação foi afetada negativamente. Esse fato pode ser explicado pela reação entre o íon Co(II) e a amônia – usada na preparação da solução tampão – produzindo o complexo $[\text{Co}(\text{NH}_3)_6]^{2+}$ cuja constante de formação é $2,45 \times 10^4$.¹⁰⁸ Devido à facilidade de formação e à polaridade desse complexo, grande parte dos íons Co(II) provavelmente permaneceram em solução aquosa (fase pobre), o que reduziu a intensidade do sinal analítico.

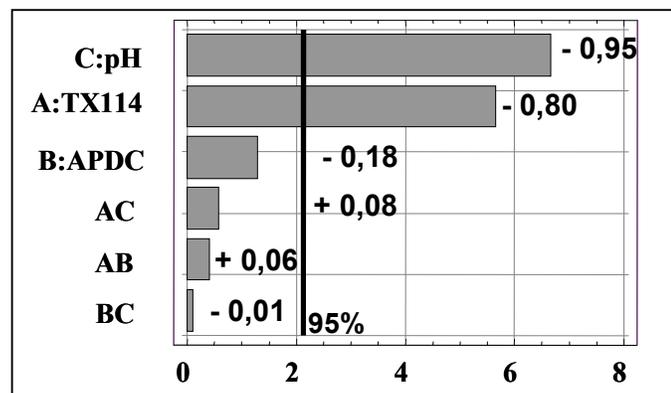


FIGURA 6.3.2. Gráfico de Pareto: avaliação da influência sobre o sinal analítico dos parâmetros envolvidos na pré-concentração por ponto nuvem de uma solução $100 \mu\text{g L}^{-1}$ de Co(II) determinada por TS-FF-AAS

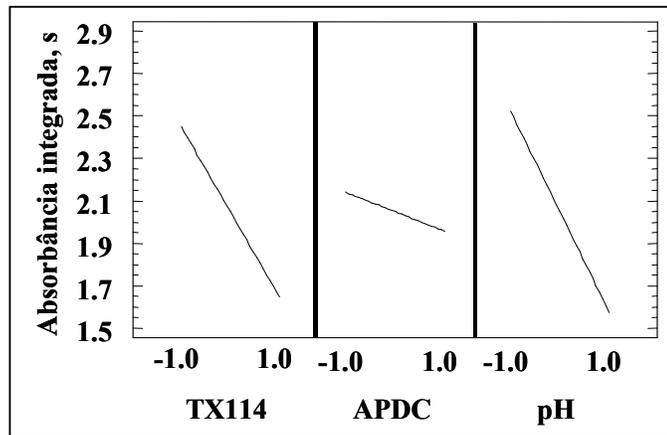


FIGURA 6.3.3. Gráfico de efeitos principais: efeitos dos parâmetros envolvidos na pré-concentração por ponto nuvem sobre o sinal analítico de uma solução $100 \mu\text{g L}^{-1}$ de Co(II) determinada por TS-FF-AAS

Apesar da concentração do complexante (B) não exercer influência significativa sobre o sinal analítico de Co(II) na faixa estudada (Figura 6.3.2), maiores valores de sinal de fundo foram observados quando concentrações maiores de APDC foram utilizadas. Além disso, observa-se que um aumento na concentração do complexante causou uma redução na intensidade do sinal analítico (Figura 6.3.3). Esse efeito é provavelmente causado pela competição entre as moléculas do complexante – em excesso na solução – e as moléculas do complexo organometálico pela interação com o sistema micelar.^{77,95} Assim, uma maior concentração do agente complexante na solução reduziu a eficiência de extração do Co(II) da fase aquosa, diminuindo a intensidade do sinal analítico.

A partir desses resultados, foram adotados os seguintes parâmetros para a pré-concentração de 10 mL de uma solução $100 \mu\text{g L}^{-1}$ de Co(II): 1 mL de solução-tampão ácido acético/acetato de sódio pH 4,5 e 0,5 mL das soluções de APDC 0,6 % m/v (concentração final $1,59 \times 10^{-3} \text{ mol L}^{-1}$) e Triton X-114 5 % v/v (concentração final $3,95 \times 10^{-3} \text{ mol L}^{-1}$).

Baseando-se nos resultados para Co(II), foram avaliadas as mesmas concentrações de APDC e Triton X-114 para a pré-concentração de Cr(III). O pH de complexação foi fixado em 4,5 e os resultados são apresentados nas Figuras 6.3.4 e 6.3.5.

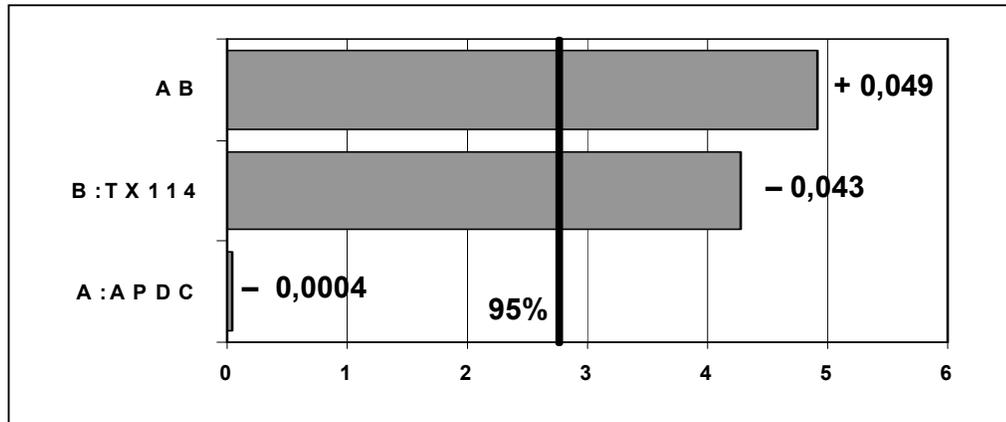


FIGURA 6.3.4. Gráfico de Pareto: avaliação da influência sobre o sinal analítico dos parâmetros envolvidos na pré-concentração por ponto nuvem de uma solução $100 \mu\text{g L}^{-1}$ de Cr(III) determinada por TS-FF-AAS

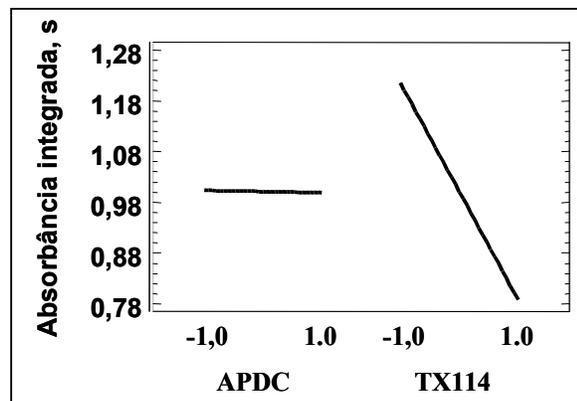


FIGURA 6.3.5. Gráfico de efeitos principais: efeitos dos parâmetros envolvidos na pré-concentração por ponto nuvem sobre o sinal analítico de uma solução $100 \mu\text{g L}^{-1}$ de Cr(III) determinada por TS-FF-AAS

A partir da Figura 6.3.4 observa-se que a concentração de Triton X-114 (B) e a interação entre os fatores (AB) exerceram efeito significativo sobre o sinal analítico de Cr(III) em um nível de confiança de 95%. Por outro lado, a concentração de APDC (A) não causou efeito significativo sobre os sinais de absorbância na faixa estudada. Como observado no estudo para Co(II), verifica-se uma redução na intensidade do sinal analítico pelo aumento da concentração do surfactante (Figura 6.3.5). Como discutido anteriormente, a provável causa dessa redução é a relação

inversamente proporcional entre a concentração do surfactante e o fator de pré-concentração.¹⁰⁵

A partir do gráfico de Pareto (Figura 6.3.4), verifica-se, também, que a interação entre as concentrações de APDC e Triton X-114 (AB), foi o fator que exerceu maior influência sobre o sinal analítico. Nesse caso, é provável que complexante e surfactante atuaram de forma conjunta e tiveram grande importância na redução da inércia das espécies hidratadas de Cr(III) presentes na solução, o que resultou em uma maior extração do analito.¹⁹

A partir desses resultados, um estudo para verificar qual seria o melhor pH de complexação para Cr(III) foi efetuado. Foram avaliados os pHs 2,0; 4,5; 6,0 e 8,0 e os resultados são apresentados na Figura 6.3.6. Volumes de 0,5 mL das soluções de APDC 0,6 % m/v e Triton X-114 5 % v/v foram usados na pré-concentração de 10 mL de uma solução 100 $\mu\text{g L}^{-1}$ do metal.

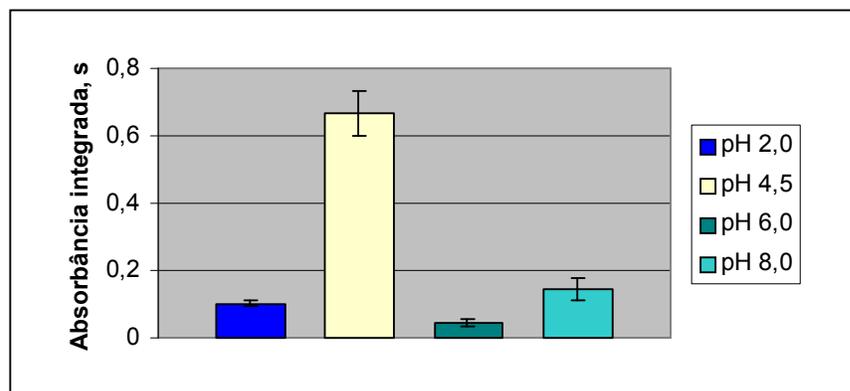


FIGURA 6.3.6. Efeito do pH de complexação sobre o sinal analítico de uma solução 100 $\mu\text{g L}^{-1}$ de Cr(III) submetida à pré-concentração por ponto nuvem e determinada por TS-FF-AAS

A partir da Figura 6.3.6, observa-se que o melhor pH para a formação do complexo Cr(III)-APDC é 4,5. Como discutido anteriormente (Seção 3.2), em soluções mais ácidas, e.g. pH 2,0, o Cr(III) apresenta-se na forma de um íon complexo hexahidratado, $[\text{Cr}(\text{H}_2\text{O})_6]^{3+}$. Para que ocorra a formação do composto organometálico com APDC, algumas moléculas de água desse íon devem ser substituídas por ligações metal-complexante. Contudo, devido à estabilidade e inércia do complexo hidratado, a eficiência de remoção das moléculas de água é

baixa, o que leva a uma menor extração do metal e a uma redução na sensibilidade. Com o aumento do pH, e.g. 4,5, algumas moléculas de água são substituídas por hidroxilas, formando complexos como o íon $[\text{Cr}(\text{H}_2\text{O})_5\text{OH}]^{2+}$. Devido à diminuição da carga do íon, a substituição das moléculas de água restantes é facilitada e o rendimento da reação de complexação com APDC aumenta.¹⁹ Assim, uma maior eficiência na remoção do metal da fase aquosa leva a um aumento de sensibilidade. Por outro lado, quando o pH aumenta ainda mais, e.g. 6,0 e 8,0, pode ocorrer a formação de dímeros, trímeros e outros complexos iônicos estáveis que dificultam a reação do metal com APDC, diminuindo a eficiência de pré-concentração e, conseqüentemente, a intensidade do sinal analítico.

Assim, foram adotados os seguintes parâmetros para a pré-concentração de 10 mL de uma solução $100 \mu\text{g L}^{-1}$ de Cr(III): 1 mL de solução-tampão ácido acético/acetato de sódio pH 4,5 e 0,5 mL das soluções de APDC 0,6 % m/v (concentração final $1,59 \times 10^{-3} \text{ mol L}^{-1}$) e Triton X-114 5 % v/v (concentração final $3,95 \times 10^{-3} \text{ mol L}^{-1}$).

6.4 – Estequiometria da chama e altura do tubo atomizador

Devido à grande influência da temperatura e das condições químicas no interior do tubo atomizador sobre o processo de atomização – especialmente para elementos que requerem altas temperaturas de atomização como cobalto e cromo – foram avaliados dois parâmetros que podem ter influência significativa sobre esses fatores: a estequiometria da chama e a altura do tubo atomizador em relação ao queimador. A partir de um planejamento fatorial, foram avaliadas as chamas: estequiométrica (ar $18,8 \text{ L min}^{-1}$ e C_2H_2 $1,5 \text{ L min}^{-1}$ – razão C:O = 0,4), redutora (ar $13,5 \text{ L min}^{-1}$ e C_2H_2 $3,5 \text{ L min}^{-1}$ – razão C:O = 1,3) e recomendada pelo fabricante (Co: ar $13,5 \text{ L min}^{-1}$ e C_2H_2 $2,0 \text{ L min}^{-1}$ – razão C:O = 0,74 e Cr: ar $13,5 \text{ L min}^{-1}$ e C_2H_2 $2,9 \text{ L min}^{-1}$ de acetileno – razão C:O = 1,07). Foram também avaliadas as alturas de 0,3 cm e 1,5 cm para o tubo atomizador. Soluções $100 \mu\text{g L}^{-1}$ de Co(II) e Cr(III) foram submetidas ao procedimento otimizado de pré-concentração por ponto nuvem e determinadas por TS-FF-AAS. Os resultados para Co(II) são apresentados nas Figuras 6.4.1 e 6.4.2.

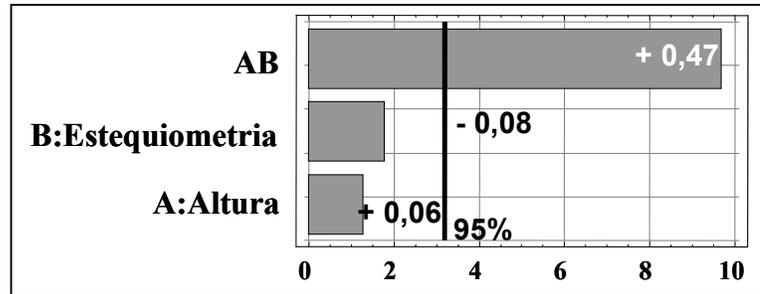


FIGURA 6.4.1. Gráfico de Pareto: avaliação da influência da estequiometria da chama e da altura do tubo atomizador sobre o sinal analítico de Co(II)

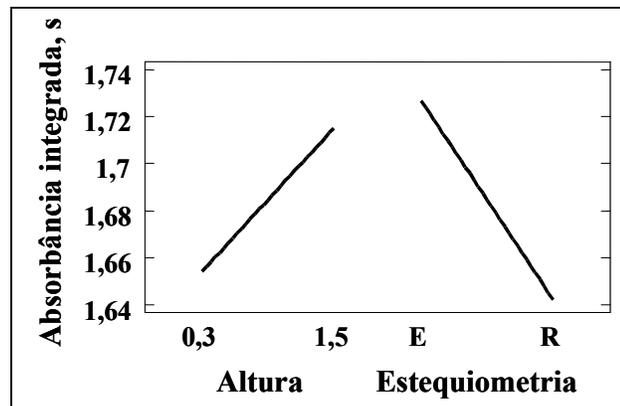


FIGURA 6.4.2. Gráfico de efeitos principais: efeitos da estequiometria da chama e da altura do tubo atomizador sobre o sinal analítico de Co(II). E = chama estequiométrica. R = chama redutora

A partir do gráfico de Pareto (Figura 6.4.1) observa-se que a interação entre a estequiometria da chama e a altura do tubo atomizador (AB) exerceu efeito significativo sobre o sinal analítico de Co(II) em um nível de confiança de 95 %, enquanto a influência de cada parâmetro separadamente (A- altura e B- estequiometria) não foi significativa na faixa estudada. Isso pode indicar a importância de uma interação entre a temperatura da chama e o ambiente químico no interior do tubo atomizador para o processo de atomização do elemento cobalto. Pelo gráfico de efeitos principais (Figura 6.4.2) verifica-se que a altura de 1,5 cm e a chama estequiométrica são as melhores condições para a determinação de Co(II). Esses resultados podem estar relacionados ao comportamento químico do cobalto

na chama. Eventualmente, um aumento na concentração de acetileno na chama (chama redutora) possa promover a formação de carbetos metálicos estáveis, o que reduziria a intensidade de absorção atômica.³² Da mesma forma, a posição do tubo atomizador poderia estar relacionada ao tipo e à concentração de espécies provenientes da combustão presentes durante a atomização. A altura de 0,3 cm poderia representar um ambiente onde a concentração de espécies carbônicas fosse maior, devido ao tempo reduzido para a combustão. Isso poderia favorecer a formação de carbetos e a diminuição do sinal analítico. Por outro lado, a altura de observação de 1,5 cm e a chama estequiométrica poderiam representar um ambiente no qual a temperatura e as condições químicas no interior do tubo atomizador favoreceriam a formação da nuvem atômica, levando a uma maior sensibilidade.

Contudo, a utilização da chama estequiométrica levou a uma rápida degradação do tubo atomizador de níquel e a um aumento da intensidade do sinal de fundo. Esses efeitos podem ser explicados pela alta concentração de oxigênio na chama, o que levaria à formação de óxidos de níquel, degradando o tubo e aumentando os sinais de fundo. A partir da Figura 6.4.2, observa-se que o sinal analítico de Co(II) e a razão C:O na chama são inversamente proporcionais, ou seja, a intensidade do sinal analítico em função da estequiometria da chama segue a seguinte ordem: chama redutora (C:O = 1,3) < chama recomendada pelo fabricante (C:O = 0,74) < chama estequiométrica (C:O = 0,4). Assim, como a chama recomendada apresentou uma intensidade de sinal analítico apenas 7% inferior à chama estequiométrica e menores valores de sinal de fundo (Figura 6.4.3), sem causar a degradação do tubo de Ni, os parâmetros escolhidos para a determinação de Co(II) em relação à estequiometria da chama e a altura do tubo atomizador foram: chama recomendada pelo fabricante e altura de 1,5 cm.

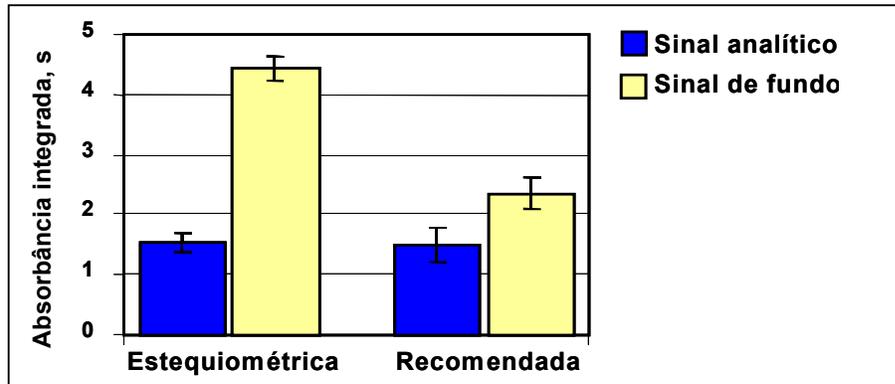


FIGURA 6.4.3. Avaliação dos efeitos da estequiometria da chama sobre o sinal analítico de Co(II) e sobre o sinal de fundo para determinação por TS-FF-AAS. Altura do tubo atomizador = 1,5 cm

Para Cr(III) foram avaliados os mesmos parâmetros e os resultados são apresentados nas Figuras 6.4.4 e 6.4.5.

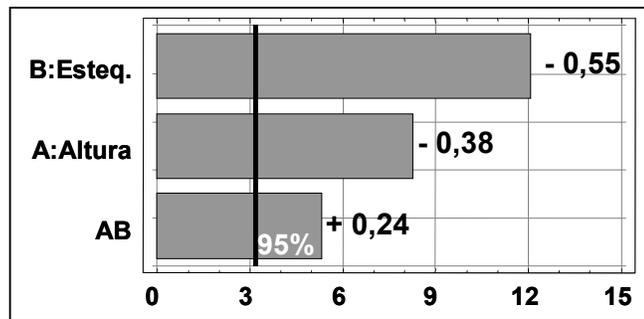


FIGURA 6.4.4. Gráfico de Pareto: avaliação da influência da estequiometria da chama e da altura do tubo atomizador sobre o sinal analítico de Cr(III)

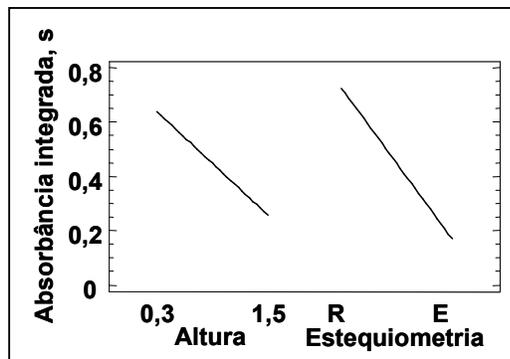
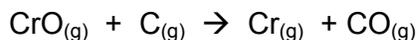


FIGURA 6.4.5. Gráfico de efeitos principais: Efeitos da estequiometria da chama e da altura do tubo atomizador sobre o sinal analítico de Cr(III). E = chama estequiométrica. R = chama redutora

A partir do gráfico de Pareto (Figura 6.4.4) observa-se que tanto a estequiometria (B) e a altura do tubo atomizador (A) quanto a interação entre esses fatores (AB) exerceram influência significativa sobre o sinal analítico de Cr(III) em um nível de confiança de 95 %. Verifica-se, novamente, que uma interação entre a temperatura e o ambiente químico no interior do tubo atomizador afetou o processo de atomização. No caso do Cr(III), a estequiometria (B) exerceu uma influência ainda maior, o que indica diferenças no mecanismo de atomização em relação ao Co(II). Outro fator a ser considerado é a configuração do tubo atomizador. Na determinação de Cr(III) foi utilizado o tubo com maior orifício, o qual permite uma maior penetração da chama no seu interior. Assim, variações na altura do tubo atomizador e na estequiometria da chama, e a interação entre esses dois parâmetros, causam efeitos mais pronunciados sobre o sinal analítico devido à maior variação na temperatura e no tipo e concentração das espécies presentes no interior do tubo.

Pelo gráfico de efeitos principais (Figura 6.4.5), verifica-se que as melhores condições para a determinação de Cr(III) são a altura de 0,3 cm e a chama redutora. O elemento cromo pode formar óxidos estáveis na reação com os componentes da chama, o que reduz a intensidade da absorção atômica.⁴ Isso talvez explique a menor intensidade de sinal analítico obtida quando uma chama rica em oxigênio foi usada (chama estequiométrica). Por outro lado, um aumento de espécies carbônicas na chama (chama redutora) poderia provocar a redução desses óxidos conforme representado na equação química abaixo, com aumento da eficiência de atomização e, conseqüentemente, da sensibilidade.^{4,32}



Como discutido para a determinação de Co(II), a altura de 0,3 cm poderia representar um meio mais redutor, o que inibiria a formação de óxidos metálicos e favoreceria a atomização. Para a altura de 1,5 cm, o efeito seria inverso, ou seja, um meio menos redutor e a inibição da atomização. Assim, devido à temperatura e condições químicas mais adequadas, a altura de 0,3 cm e a chama redutora são as melhores condições para a determinação de Cr(III) por TS-FF-AAS.

Entretanto, a utilização da chama redutora causou a formação de grande quantidade de fuligem no interior do tubo. Apesar da intensidade do sinal de

fundo não ter sido afetada significativamente, a presença desse material poderia causar interferência no sinal analítico. Diferentemente do Co(II), observa-se que um aumento da razão C:O leva a um aumento no sinal analítico de Cr(III) (Figura 6.4.5). Assim, a ordem crescente da intensidade do sinal analítico em função da estequiometria da chama é a seguinte: chama estequiométrica (C:O = 0,4) < chama recomendada pelo fabricante (C:O = 1,07) < chama redutora (C:O = 1,3). Como o sinal analítico obtido a partir da chama redutora é cerca de 1,5 vezes maior que aquele obtido pela chama recomendada, foi avaliada uma chama intermediária entre essas duas estequiometrias: 13,5 L min⁻¹ de ar e 3,1 L min⁻¹ de C₂H₂ (C:O = 1,15). A partir dessa chama obteve-se um sinal apenas 6% inferior ao obtido com a chama redutora, sem que ocorresse a formação de fuligem no interior do tubo atomizador. A Figura 6.4.6. mostra a influência dessas estequiometrias sobre o sinal analítico de uma solução 100 µg L⁻¹ de Cr(III) submetida ao procedimento otimizado de pré-concentração por ponto nuvem e determinada com o tubo atomizador posicionado 0,3 cm acima do queimador.

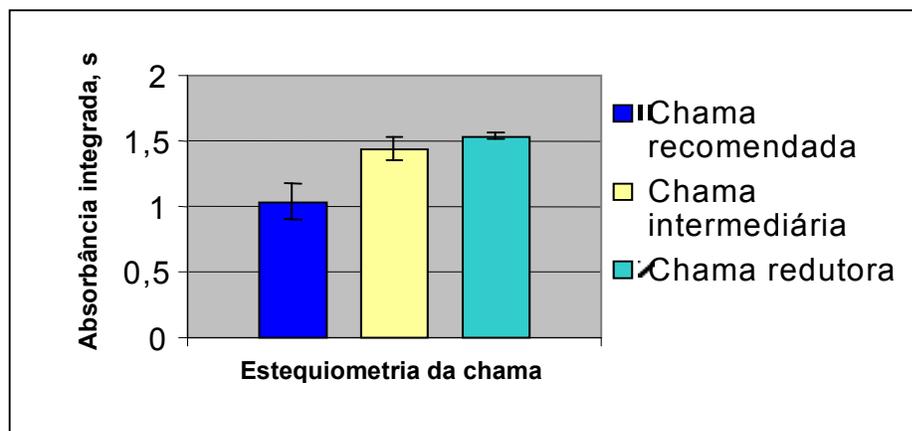


FIGURA 6.4.6. Influência da estequiometria da chama sobre o sinal analítico de Cr(III) obtido por TS-FF-AAS com altura do tubo atomizador de 0,3 cm

A partir desses resultados, os parâmetros escolhidos para a determinação de Cr(III) em relação à estequiometria da chama e à altura do tubo atomizador foram: chama redutora intermediária (C:O = 1,15) e altura de 0,3 cm.

6.5 – Carregador e vazão

A vazão e o tipo de carregador estão diretamente ligados a fatores como a eficiência de nebulização, frequência de amostragem, precisão, efeitos de memória, tempo de residência, temperatura e concentração do analito no interior do tubo atomizador. Assim, a avaliação desses parâmetros é de fundamental importância na determinação de Co(II) e Cr(III) por TS-FF-AAS. A partir de um planejamento fatorial, foram avaliados os carregadores água (+1), ar (zero) e solução HNO₃ 0,14 mol L⁻¹ (-1) e as vazões de 0,57 mL min⁻¹ (+1), 0,43 mL min⁻¹ (zero) e 0,31 mL min⁻¹ (-1). Soluções 100 µg L⁻¹ de Co(II) e Cr(III) foram submetidas ao procedimento otimizado de pré-concentração por ponto nuvem e determinadas por TS-FF-AAS. As Figuras 6.5.1 e 6.5.2 apresentam os resultados para Co(II).

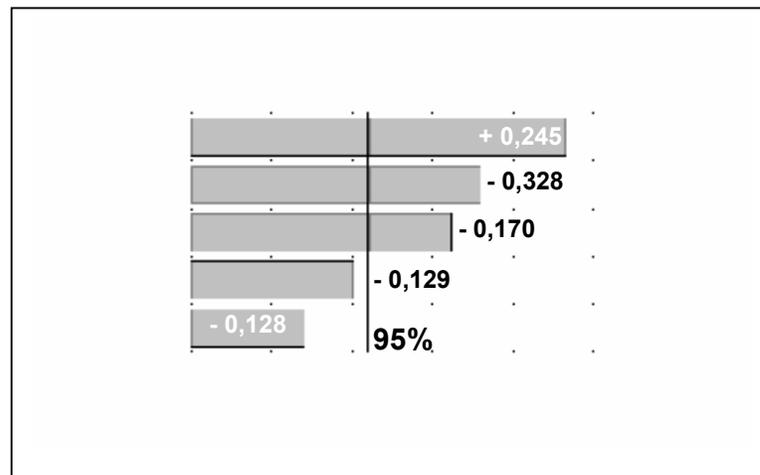


FIGURA 6.5.1. Gráfico de Pareto: avaliação da influência da vazão e do tipo de carregador sobre o sinal analítico de Co(II) determinado por TS-FF-AAS

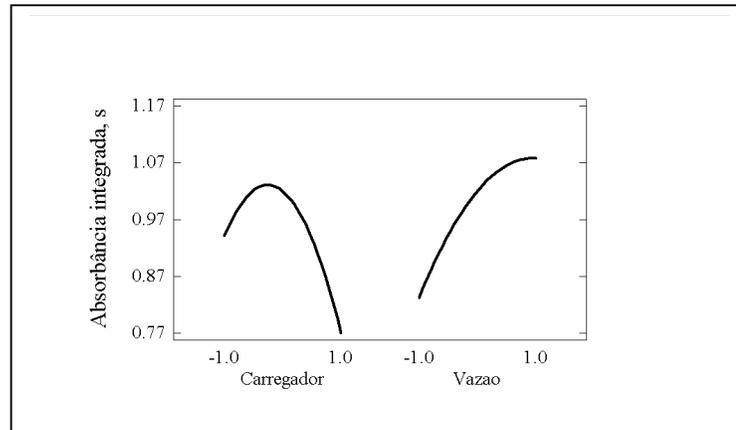


FIGURA 6.5.2. Gráfico de efeitos principais: influência da vazão e do tipo de carregador sobre o sinal analítico de Co(II) determinado por TS-FF-AAS

Observa-se através da Figura 6.5.1 que o tipo de carregador (A), sua vazão (B) e a interação entre os tipos de carregador (AA) foram os fatores que tiveram influência significativa sobre o sinal analítico de Co(II) em um nível de confiança de 95 %. Por outro lado, as interações vazão x tipo de carregador (AB) e vazão x vazão (BB) não tiveram influência significativa na faixa estudada. Como essas interações não exerceram influência sobre o sinal analítico e as interações AA e BB não têm significado experimental, os fatores independentes vazão e carregador são os que merecem maior atenção na otimização do sistema para Co(II).

A partir do gráfico de efeitos principais (Figura 6.5.2), verifica-se que a utilização de ar (zero) como carregador levou a uma maior sensibilidade na determinação de Co(II). Apesar da ocorrência de maiores efeitos de memória devido à ineficiência na limpeza do sistema entre cada medida, a ausência de um fluxo contínuo de líquido evita a perda de sensibilidade por problemas como a diluição da nuvem atômica, a dispersão líquido/líquido na interface amostra/carregador e o resfriamento do tubo atomizador devido à evaporação do solvente.⁷³ A eliminação dos efeitos de memória pode ser obtida pela introdução de água entre as medidas, de modo a promover a limpeza do sistema.

Vários trabalhos^{68,74-75} têm utilizado a vazão de $0,4 \text{ mL min}^{-1}$ na determinação de diversos elementos por TS-FF-AAS como um compromisso entre a sensibilidade e a precisão das medidas. A utilização de menores vazões pode levar a um aumento do tempo de residência do analito no interior do tubo atomizador, o que poderia gerar um aumento de sensibilidade. Considerando uma vazão de água

de $0,3 \text{ mL min}^{-1}$ e uma temperatura de $1000 \text{ }^\circ\text{C}$, e aplicando-se a equação de Clapeyron (Lei dos Gases Ideais), haverá a formação de um fluxo de vapor a $1,74 \text{ L min}^{-1}$. Se considerarmos um tubo atomizador com 10 cm de comprimento e $1,0 \text{ cm}$ d.i. (volume interno de $7,8 \text{ mL}$), o tempo de residência de uma espécie química no interior do tubo será de aproximadamente 269 ms , ou seja, mais de 50 vezes maior que na região de observação de um espectrômetro de absorção atômica com chama convencional. Dessa forma, haverá um maior tempo disponível para que ocorra a volatilização e dissociação das moléculas do analito, levando a uma maior eficiência na formação da nuvem atômica. Por outro lado, a utilização de baixas vazões pode comprometer a formação do aerossol térmico e reduzir a precisão das medidas devido a uma vaporização irregular do solvente. A fração de solução que vaporiza cria uma diferença de pressão no interior do capilar cerâmico e arrasta parte da amostra líquida dando origem a sinais irregulares de absorção devido aos diferentes tempos de atomização. GASPAR & BERNDT⁸ obtiveram desvios de 32% nas medidas de $20 \text{ } \mu\text{g L}^{-1}$ de Cd fluindo a $0,1 \text{ mL min}^{-1}$ e de apenas $2,7\%$ para uma vazão de $0,6 \text{ mL min}^{-1}$. Além disso, menores vazões implicam em um maior tempo de medida e, conseqüentemente, em redução da freqüência de amostragem.

A utilização de maiores vazões também poderia aumentar a sensibilidade já que uma maior quantidade de analito seria introduzida no atomizador, aumentando a intensidade de absorção.⁸ Apesar da diminuição no tempo de residência, ainda se teria uma boa vantagem sobre a FAAS convencional. Por exemplo, uma vazão de $0,6 \text{ mL min}^{-1}$ significaria um tempo de residência de 134 ms , ou seja, cerca de 25 vezes maior que a FAAS. Contudo, quando altas vazões são utilizadas, o tempo necessário para que ocorra a formação do aerossol térmico no interior do tubo capilar é insuficiente e um fluxo de líquido, ao invés de vapor, atinge o interior do tubo atomizador. As gotas maiores no interior do atomizador permanecem mais tempo na forma líquida devido ao isolamento promovido pela camada de vapor entre a gota e a parede do tubo (fenômeno LEIDENFROST). Algumas dessas gotas escapam pela borda do tubo sem que ocorra a vaporização e atomização do analito, diminuindo a intensidade do sinal analítico.^{8,74-75}

A partir da Figura 6.5.2, observa-se que a vazão de $0,57 \text{ mL min}^{-1}$ (+1) foi a que apresentou os melhores resultados, provavelmente como decorrência do aumento da concentração de analito no atomizador, como discutido acima. Para verificar a influência de maiores vazões sobre o sinal analítico, uma solução

100 $\mu\text{g L}^{-1}$ de Co(II) foi submetida ao procedimento otimizado de pré-concentração por ponto nuvem e determinada pelo sistema TS-FF-AAS a partir de vazões de ar de 0,57, 0,67 e 0,80 mL min^{-1} . Os resultados são apresentados na Figura 6.5.3.

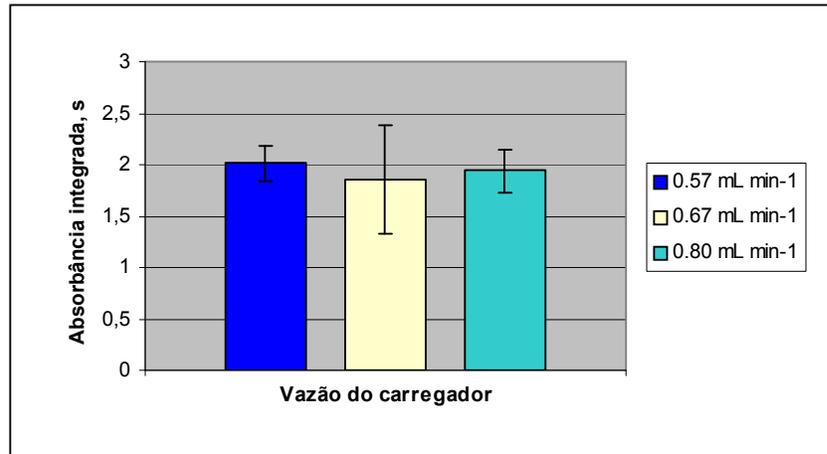


FIGURA 6.5.3. Influência da vazão do carregador sobre o sinal analítico de Co(II) determinado por TS-FF-AAS. Carregador = ar. A barra de erro representa um desvio padrão de 3 medidas consecutivas

Verifica-se, a partir da Figura 6.5.3, que vazões maiores que 0,57 mL min^{-1} , além de causarem o aumento dos desvios, não contribuíram para o aumento da sensibilidade. A ineficiência na nebulização, devido a um menor tempo de contato entre a solução da amostra e a porção mais aquecida do capilar, pode causar a vaporização irregular da amostra, refletindo em maiores desvios. Esse fato e a introdução de um volume maior de amostra por unidade de tempo podem ter causado o resfriamento do tubo atomizador, levando a uma menor eficiência na atomização. Assim, apesar de haver uma maior quantidade de analito sendo introduzida no tubo atomizador, maiores vazões podem ter afetado negativamente os processos de nebulização e atomização, causando uma piora na repetibilidade sem aumentar o sinal analítico de Co(II). A partir desses resultados, a vazão de ar de 0,57 mL min^{-1} foi escolhida para a determinação de Co(II) por TS-FF-AAS.

Para Cr(III), foram avaliados os mesmos parâmetros e os resultados são apresentados nas Figuras 6.5.4 e 6.5.5. A partir do gráfico de Pareto (Figura

6.5.4), observa-se que a interação carregador x carregador (AA) e os fatores independentes carregador (A) e vazão (B) exerceram influência significativa sobre o sinal analítico de Cr(III) em um nível de confiança de 95 %. Por outro lado, as outras interações, *i.e.* carregador x vazão (AB) e vazão x vazão (BB), não tiveram influência significativa na faixa estudada. Assim, como as interações AA e BB não têm significado experimental e a interação AB não apresentou influência significativa na faixa estudada, os parâmetros independentes carregador (A) e vazão (B) foram considerados para a otimização do sistema para a determinação de Cr(III).

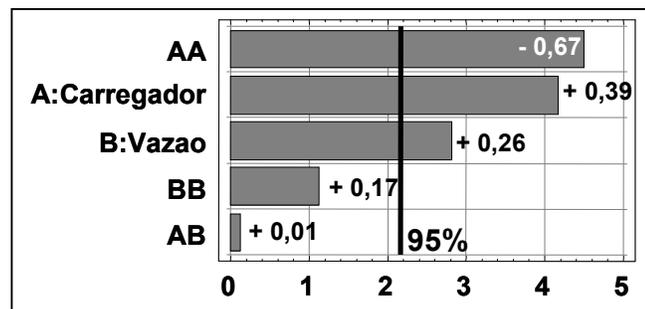


FIGURA 6.5.4. Gráfico de Pareto: avaliação da influência da vazão e do tipo de carregador sobre o sinal analítico de Cr(III) determinado por TS-FF-AAS

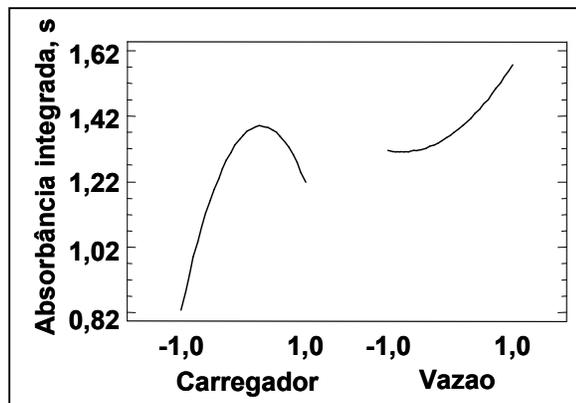


FIGURA 6.5.5. Gráfico de efeitos principais: influência da vazão e do tipo de carregador sobre o sinal analítico de Cr(III) determinado por TS-FF-AAS

Como no caso da otimização para Co(II), a utilização de ar (zero) como carregador levou a uma maior intensidade do sinal analítico de Cr(III) (Figura 6.5.5).

Como discutido anteriormente, isso se deve à ausência de fatores relacionados à utilização de carregadores líquidos e que afetam negativamente a sensibilidade. Da mesma forma, observa-se que a vazão em seu maior nível ($0,57 \text{ mL min}^{-1}$) resultou em uma maior sensibilidade. Assim como na determinação de Co(II) , um maior volume de amostra sendo introduzido a unidade de tempo significa uma maior concentração do analito no interior do tubo atomizador, o que pode ter causado um aumento na intensidade do sinal analítico de Cr(III) . Contudo, a utilização de vazões ainda maiores não causou aumento na sensibilidade (Figura 6.5.6). Como discutido anteriormente, fatores relacionados à ineficiência nos processos de nebulização e atomização podem ter contribuído para esses resultados.

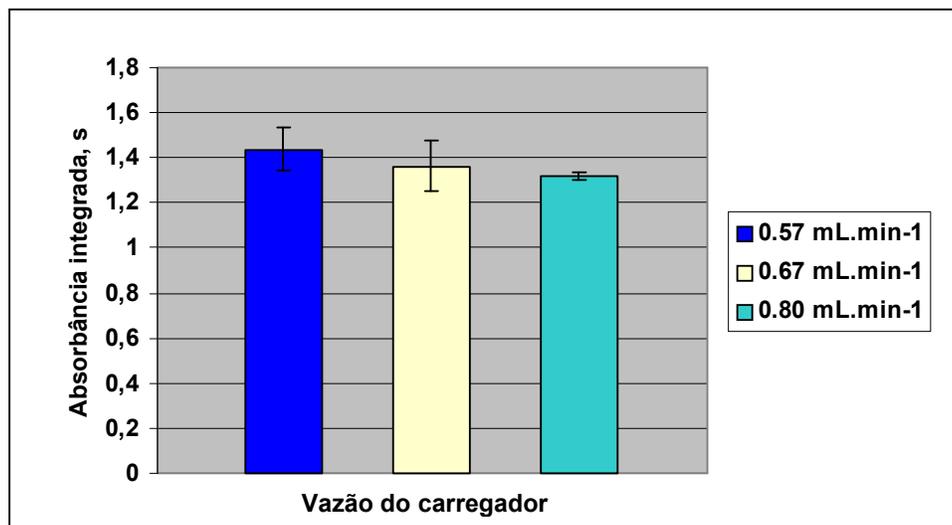


FIGURA 6.5.6. Influência da vazão do carregador sobre o sinal analítico de Cr(III) determinado por TS-FF-AAS. Carregador = ar. A barra de erro representa um desvio padrão de 3 medidas consecutivas

A partir desses resultados, a vazão de ar de $0,57 \text{ mL min}^{-1}$ foi escolhida para a determinação de Cr(III) por TS-FF-AAS.

6.6 – Efeito de solventes sobre o sinal analítico

Após a aplicação do procedimento de pré-concentração por ponto nuvem, obtém-se um pequeno volume de solução micelar concentrada do metal

(cerca de 200 μL de fase rica). Devido à elevada viscosidade dessa solução, é necessária a sua diluição antes da introdução no sistema TS-FF-AAS. Como o tipo de solvente utilizado influencia fatores importantes como a nebulização da amostra e a volatilização e atomização dos analitos, um estudo avaliando os efeitos desse parâmetro sobre os sinais analíticos de Co(II) e Cr(III) foi efetuado. Vários trabalhos empregando a pré-concentração por ponto nuvem têm utilizado uma solução de HNO_3 em metanol como solvente da fase rica.⁹⁶⁻⁹⁸ No presente trabalho, foram avaliados três tipos de solvente: etanol, metanol e uma solução metanólica de HNO_3 1,4 mol L^{-1} . Soluções 100 $\mu\text{g L}^{-1}$ de Co(II) e Cr(III) foram submetidas ao procedimento otimizado de pré-concentração por ponto nuvem e determinadas por TS-FF-AAS, com diluição da fase rica a partir de cada um dos solventes citados. Os resultados para Co(II) e Cr(III) são apresentados nas Figuras 6.6.1 e 6.6.2, respectivamente.

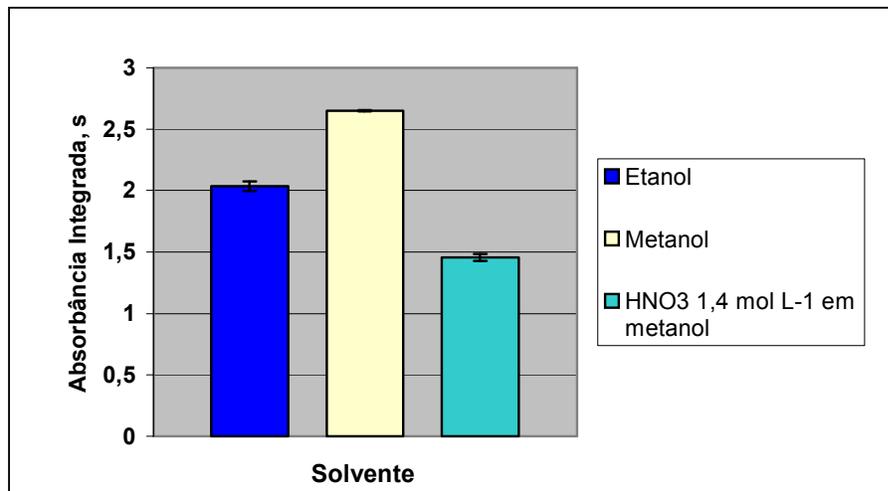


FIGURA 6.6.1. Influência do tipo de solvente empregado na diluição da fase rica sobre o sinal analítico de Co(II) determinado por TS-FF-AAS

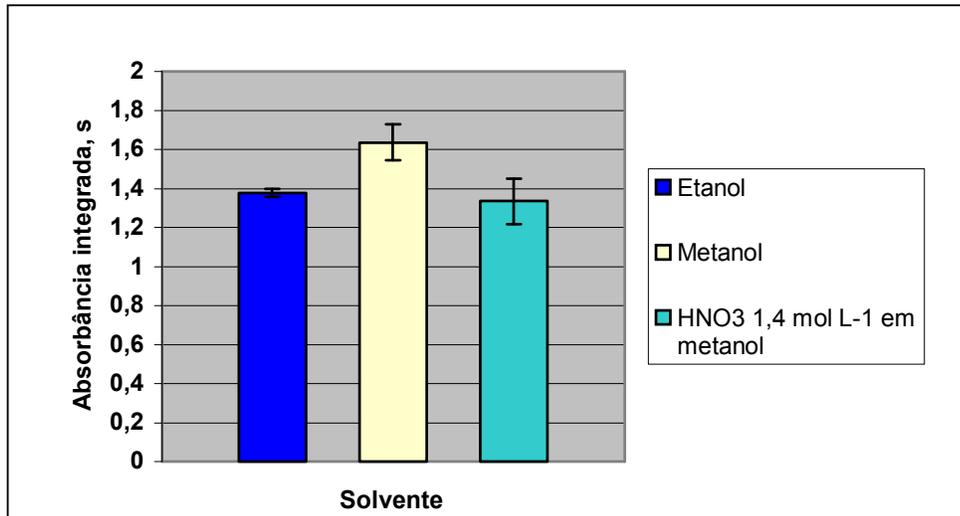


FIGURA 6.6.2. Influência do tipo de solvente empregado na diluição da fase rica sobre o sinal analítico de Cr(III) determinado por TS-FF-AAS

Como discutido anteriormente, o solvente da amostra exerce influência significativa sobre os processos de nebulização, volatilização e atomização do analito, a qual implica em uma maior ou menor sensibilidade. Solventes orgânicos, por exemplo, tipicamente apresentam moléculas de baixa polaridade e, conseqüentemente, menor tensão superficial. Assim, originam aerossóis constituídos por gotas menores, o que implica em partículas menores do analito e maior facilidade de dissociação e atomização.³² Outra característica importante dos solventes orgânicos e que pode afetar positivamente os processos de nebulização, volatilização, dissociação e atomização dos analitos, especialmente na técnica de TS-FF-AAS, é a sua volatilidade. Solventes como o metanol e o etanol não reduzem a temperatura no interior do tubo atomizador como ocorre com a água. Ao contrário, devido aos seus altos calores de combustão ($173,8 \text{ kcal mol}^{-1}$ e $327,0 \text{ kcal mol}^{-1}$, respectivamente), são capazes de aumentá-la. Além disso, as espécies carbônicas produzidas na decomposição dessas substâncias podem aumentar a eficiência do processo de atomização promovendo processos de redução.

A partir das Figuras 6.6.1 e 6.6.2, observam-se comportamentos semelhantes para ambos os analitos: a melhor sensibilidade foi obtida a partir do metanol e a pior, a partir da solução de HNO_3 em metanol. Esses resultados podem ser explicados a partir da polaridade e da volatilidade de cada um dos solventes. Devido à semelhança entre as estruturas do etanol e do metanol, fatores como

espécies químicas presentes no interior do tubo atomizador e sua influência sobre os processos de atomização e os efeitos da polaridade sobre a eficiência da nebulização não parecem ter exercido significativa influência sobre o sinal analítico. Nesse caso, é provável que as diferenças de sensibilidade tenham sido uma decorrência da volatilidade. O metanol apresenta calor de vaporização de 9,1 kcal mol⁻¹, com ponto de ebulição de 64 °C e o etanol, um calor de vaporização de 10,2 kcal mol⁻¹, com ponto de ebulição de 78 °C. Assim, a maior volatilidade do metanol provavelmente promoveu uma maior volatilização dos compostos organometálicos dissolvidos, levando a um maior sinal analítico. É importante observar que, além desses fatores, a interação entre o solvente e o complexo organometálico também pode exercer apreciável influência sobre o sinal analítico. No caso da solução de HNO₃, vários fatores podem estar envolvidos na redução da sensibilidade por afetarem negativamente os processos de nebulização, volatilização e atomização dos analitos. A alta concentração de íons H⁺, levando à decomposição do complexo organometálico, a maior polaridade e tensão superficial da solução, levando à formação de um aerossol com gotículas maiores e a formação de espécies químicas que afetam negativamente o processo de atomização dos analitos no interior do tubo atomizador são alguns exemplos.

Apesar de ter proporcionado uma maior sensibilidade na determinação de ambos os analitos, a utilização do metanol como solvente da fase rica apresenta problemas relacionados à sua alta toxicidade.¹⁰⁹ Assim, apesar da menor sensibilidade em relação ao metanol, o etanol foi escolhido como solvente da fase rica na determinação de Co(II) e Cr(III) por TS-FF-AAS devido à sua menor toxicidade.

6.7 – Efeito do volume de amostra

Para avaliar o efeito do volume de amostra injetado sobre o sinal analítico de Co(II) e Cr(III), alças de amostragem de 150, 300 e 450 µL foram empregadas na determinação de soluções 100 µg L⁻¹ de ambos os analitos. As soluções foram submetidas ao procedimento otimizado de pré-concentração por ponto nuvem e determinadas por TS-FF-AAS. Os resultados são apresentados nas Figuras 6.7.1 e 6.7.2.

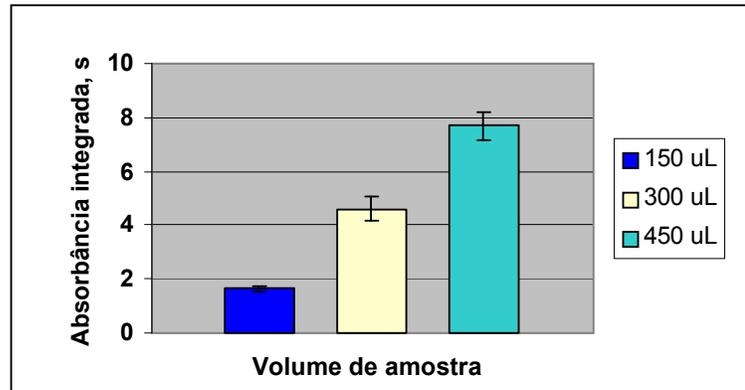


Figura 6.7.1. Efeito do volume de amostra injetado sobre o sinal analítico de Co(II) determinado por TS-FF-AAS

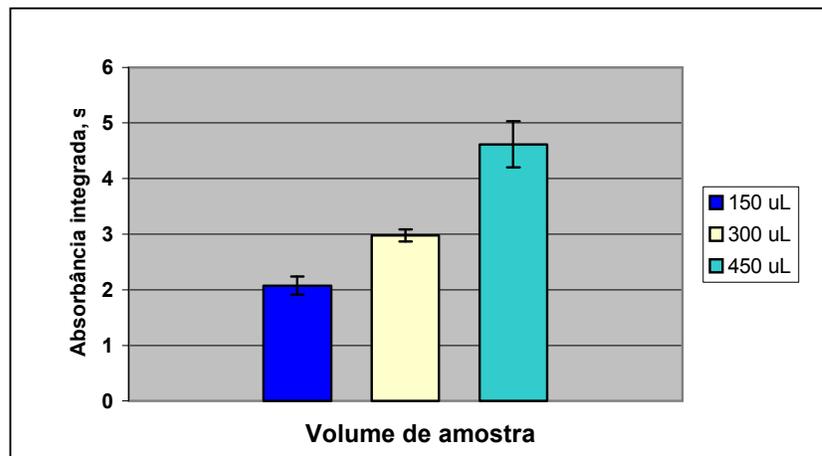


Figura 6.7.2. Efeito do volume de amostra injetado sobre o sinal analítico de Cr(III) determinado por TS-FF-AAS

A partir das Figuras 6.7.1 e 6.7.2, verifica-se uma maior sensibilidade na determinação de ambos os analitos pela introdução de 450 μL de amostra. Como é comum nas técnicas de análise por injeção em fluxo (FIA), um aumento no volume de amostra injetado causa um aumento do sinal analítico.⁷² Um maior volume de amostra significa uma maior população de átomos presente no atomizador e, conseqüentemente, uma maior intensidade do sinal analítico.⁷⁴ Contudo, maiores desvios e uma redução na freqüência de amostragem foram observados pela introdução de uma maior quantidade de amostra.

A redução da temperatura do tubo atomizador devido ao calor absorvido nos processos de vaporização, dissociação e atomização é intensificada

pela introdução de um volume maior de amostra. Essa redução de temperatura leva a uma menor eficiência na atomização. Assim, o aumento do sinal analítico não é proporcional ao volume de amostra injetado e fatores como reações de recombinação, espalhamento de radiação e aumento do tempo requerido para a atomização levam a maiores desvios. Além desses problemas, a introdução de elevados volumes de amostra reduz a frequência de amostragem, principalmente devido à necessidade de um maior tempo de limpeza para eliminar possíveis efeitos de memória. Assim, sem considerar o preparo de amostras, foram obtidas as seguintes frequências de amostragem em função do volume de amostra injetado: $150 \mu\text{L} = 15 \text{ h}^{-1}$, $300 \mu\text{L} = 13 \text{ h}^{-1}$ e $450 \mu\text{L} = 11 \text{ h}^{-1}$.

A partir desses resultados e para que houvesse um compromisso entre sensibilidade, precisão, facilidade de manipulação e frequência de amostragem, os volumes de $150 \mu\text{L}$ para Co(II) e $300 \mu\text{L}$ para Cr(III) foram escolhidos.

6.8 – Figuras de mérito

A partir da otimização do procedimento de pré-concentração por ponto nuvem e dos parâmetros instrumentais do sistema TS-FF-AAS para cada um dos elementos estudados (Tabelas 6.8.1 e 6.8.2), a determinação das figuras de mérito do método proposto foi feita pelo estabelecimento de algumas características analíticas como 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 10 medidas consecutivas de soluções $100 \mu\text{g L}^{-1}$ de Co(II) e Cr(III) submetidas ao procedimento de pré-concentração por ponto nuvem e determinadas 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 15 medidas consecutivas das soluções pré-concentradas do branco. As figuras de mérito para a determinação de Co(II) e Cr(III) por TS-FF-AAS são apresentadas na Tabela 6.8.3.

TABELA 6.8.1. Condições otimizadas para a pré-concentração por ponto nuvem de 10 mL de soluções de Co(II) e Cr(III)

pH de complexação	4,5
Volume da solução tampão ácido acético/acetato de sódio (mL)	1,0
Volume de APDC 0,6 % m/v (mL)	0,5
Concentração final de APDC (mol L ⁻¹)	1,59 x 10 ⁻³
Volume de Triton X-114 5 % v/v	0,5
Concentração final de Triton X-114 (mol L ⁻¹)	3,95 x 10 ⁻³

TABELA 6.8.2. Parâmetros instrumentais recomendados para a determinação de Co(II) e Cr(III) por TS-FF-AAS

Parâmetro	Co(II)	Cr(III)
Configuração do tubo atomizador	Convencional	Maior orifício
Altura do tubo atomizador em relação ao queimador (cm)	1,5	0,3
Estequiometria da chama	Recomendada (C:O = 0,74)	Redutora (C:O = 1,15)
Carregador	ar	ar
Vazão do carregador (mL min ⁻¹)	0,57	0,57
Solvente da fase rica	Etanol	Etanol
Volume da alça de amostragem (µL)	150	300
Tempo de retardo ^a (s)	23	23
Tempo de medida (s)	25	50
Modo de medida	Área de pico	Área de pico

^a Tempo entre a injeção da amostra e sua chegada ao tubo atomizador

TABELA 6.8.3. Figuras de mérito para a determinação de Co(II) e Cr(III) por TS-FF-AAS após pré-concentração por ponto nuvem

	Co(II)	Cr(III)
Equação linear da curva de calibração ($\mu\text{g L}^{-1}$)	$A = 0,026 C_{\text{Co}} + 0,0306$	$A = 0,0087 C_{\text{Cr}} + 0,0572$
Coefficiente de correlação linear (n = 15)	0,9968	0,9991
Faixa linear da curva de calibração ($\mu\text{g L}^{-1}$)	2,1 – 100	2,5 - 250
LOD ($\mu\text{g L}^{-1}$)	2,1	2,5
LOQ ($\mu\text{g L}^{-1}$)	7,0	8,4
Precisão (RSD, 1s,%)	5,8	5,4

A partir da Tabela 6.8.3, observam-se adequados limites de detecção e quantificação para ambos os analitos, possibilitando suas determinações em amostras alimentícias. Verificam-se também amplas faixas lineares com coeficientes de correlação linear próximos de 1,000. As precisões são adequadas considerando-se as várias etapas do método desenvolvido.

Reduções nos limites de detecção da FAAS comprovam a eficiência do método proposto, baseado em TS-FF-AAS, para a determinação de Co(II) e Cr(III): de 54 para 2,1 $\mu\text{g L}^{-1}$ e de 60 para 2,5 $\mu\text{g L}^{-1}$, respectivamente. Deve-se ressaltar que esse aperfeiçoamento observado também decorre da derivatização e da extração no ponto nuvem. Ou seja, tal aumento de sensibilidade provavelmente está relacionado com os seguintes fatores:

- maior eficiência no processo de transporte devido a uma redução na tensão superficial pela utilização do surfactante e de um solvente orgânico,
- maior eficiência no processo de nebulização devido à formação do aerossol térmico e à volatilidade do solvente utilizado,
- aerossol com partículas menores devido à menor tensão superficial promovida pelo solvente orgânico e pelo surfactante, levando a uma maior eficiência nos processos de vaporização, dissociação e atomização,

- maior eficiência no processo de vaporização devido à volatilidade do solvente orgânico,
- maior eficiência no processo de dissociação devido à facilidade de decomposição do complexo organometálico,
- maior tempo disponível para ocorrência dos processos de volatilização, dissociação e atomização no interior do tubo atomizador,
- maior eficiência no processo de atomização devido à formação de espécies redutoras no interior do tubo atomizador pela decomposição do solvente,
- concentração da nuvem atômica no interior do tubo atomizador.

Assim, parâmetros como complexação, pré-concentração, aerossol térmico e célula de atomização (tubo de Ni) não podem ser considerados separadamente e o aumento no poder de detecção dos elementos Co(II) e Cr(III) em relação à FAAS convencional é resultado da interação entre eles.

6.9 – Efeitos causados por concomitantes

Para avaliar o efeito de alguns concomitantes comuns em amostras alimentícias sobre os sinais analíticos de Co(II) e Cr(III), foi preparada uma solução simulando a matriz de um material de referência certificado de folhas de tomateiro. A solução foi preparada a partir das concentrações de Co(II) ou Cr(III) e alguns concomitantes como Al(III), Fe(III), Cu(II) e Mn(II) encontradas nessa amostra. Esses concomitantes foram escolhidos por reagirem com o complexante APDC, podendo interferir tanto na etapa de pré-concentração quanto na determinação dos analitos por TS-FF-AAS. Metais comumente encontrados em altas concentrações como Na, K, Ca e Mg não foram avaliados devido à sua pequena reatividade com APDC,¹¹⁰⁻¹¹¹ o que os mantém em solução aquosa (fase pobre) durante a pré-concentração por ponto nuvem e evita interferências sobre os sinais analíticos de ambos os analitos.

A solução obtida foi, então, submetida ao procedimento otimizado de pré-concentração por ponto nuvem e determinada por TS-FF-AAS. Durante a reação de complexação foi observada a formação de um precipitado de coloração escura, provavelmente resultado da reação do APDC com alguns concomitantes presentes em altas concentrações na solução. Devido a essas altas concentrações, e.g. Fe(III): 650 vezes maior que Co e 185 vezes maior que Cr; Al: 1050 vezes maior que Co e

300 vezes maior que Cr, e às tipicamente altas estabilidades dos complexos formados por cátions trivalentes, foram observadas reduções nos sinais analíticos de Co(II) e Cr(III) de 60 e 18 vezes, respectivamente.

Para superar as interferências causadas por esses concomitantes na determinação de Co(II) em amostras alimentícias pelo método proposto, foi utilizado um procedimento de extração ácida com HCl 1 mol L⁻¹ proposto por MIYAZAWA *et al.*⁹ Nesse procedimento, íons trivalentes, como Al(III) e Fe(III), não são extraídos quantitativamente e interferências nos processos de pré-concentração e atomização foram eliminadas.

PALEOLOGOS *et al.*⁹⁷ determinaram Cr(III) e Cr(VI) em amostras de água por FAAS aplicando um procedimento de pré-concentração por ponto nuvem com APDC e Triton X-114. As interferências causadas por Fe(III) foram eliminadas pela complexação do concomitante com EDTA. Visando reduzir os efeitos causados pelos concomitantes sobre o sinal analítico de Cr(III), de modo a possibilitar a sua determinação em alimentos, foram avaliados 2 procedimentos de complexação com fluoreto e com EDTA (Seção 5.8). Contudo, sinais analíticos abaixo dos valores do branco analítico foram obtidos para uma solução 100 µg L⁻¹ de Cr(III) na presença dos concomitantes em ambos os procedimentos. Isso se deve, provavelmente, à reação do analito com os complexantes (especialmente no caso do fluoreto) e à formação de complexos metálicos de característica polar que não foram extraídos da solução aquosa (fase pobre) pelas micelas apolares formadas pelas moléculas do surfactante. Outra explicação seria a baixa eficiência da reação de complexação devido às baixas concentrações dos complexantes frente às elevadas concentrações dos concomitantes ou ao tempo reduzido de reação. Assim, novos estudos foram realizados aumentando-se as concentrações dos complexantes pela adição de um volume maior de solução (2 mL) e o tempo de reação para 30 min. Porém, novamente, nenhum sinal analítico foi obtido.

Visando avaliar, separadamente, os efeitos dos principais concomitantes presentes na amostra sobre os sinais analíticos de Co(II) e Cr(III), concentrações crescentes de Al(III) ou Fe(III) foram adicionadas às soluções dos analitos e determinadas diretamente, *i.e.* sem pré-concentração, por FAAS e TS-FF-AAS. A determinação por FAAS convencional foi realizada para avaliar a relação entre os efeitos dos concomitantes sobre o sinal analítico e os processos de

nebulização e atomização. Os resultados para Co(II) são apresentados nas Figuras 6.9.1 (FAAS) e 6.9.2 (TS-FF-AAS).

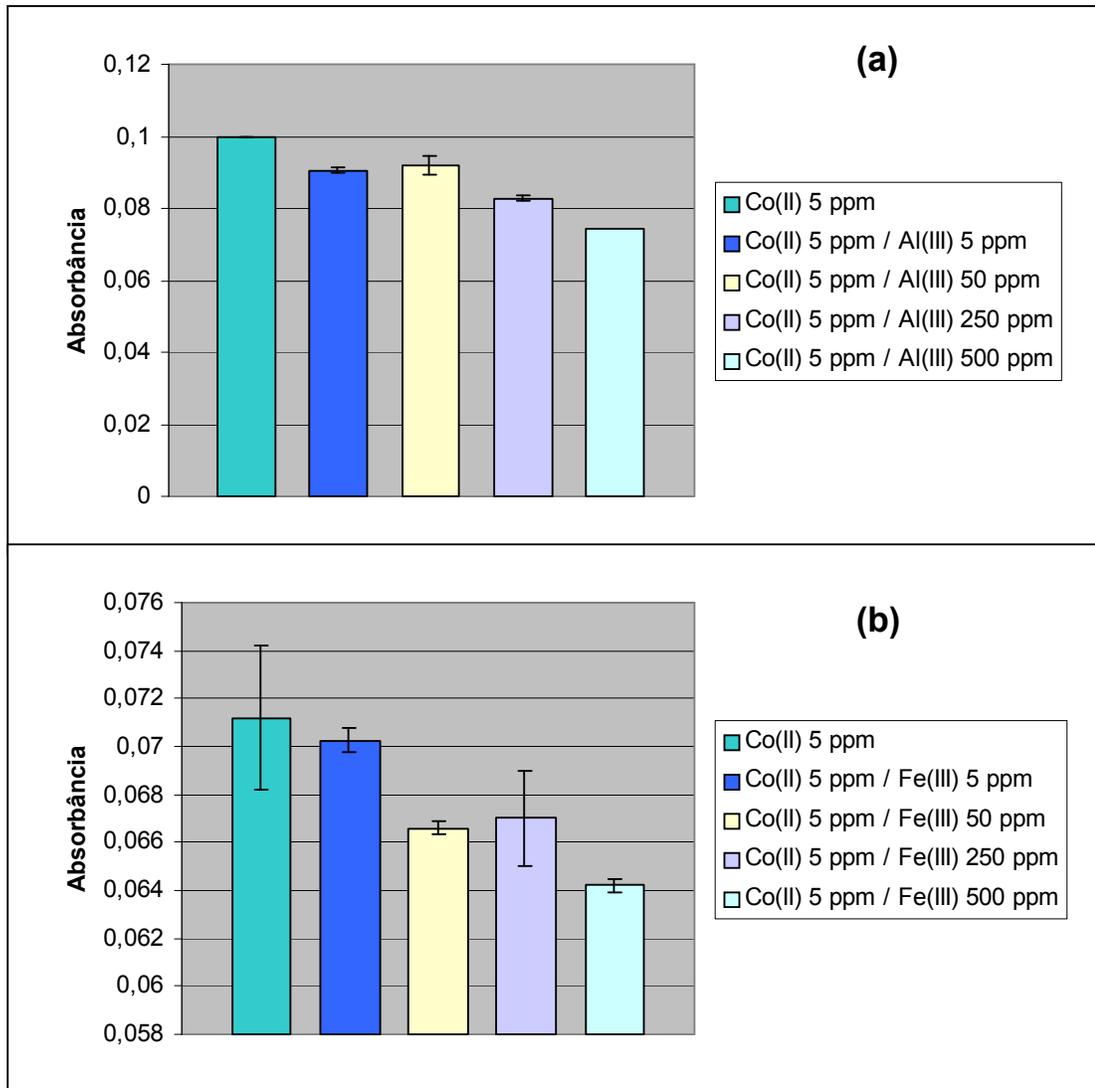


FIGURA 6.9.1. Efeitos dos concomitantes (a) Al(III) e (b) Fe(III) sobre o sinal analítico de Co(II) determinado por FAAS

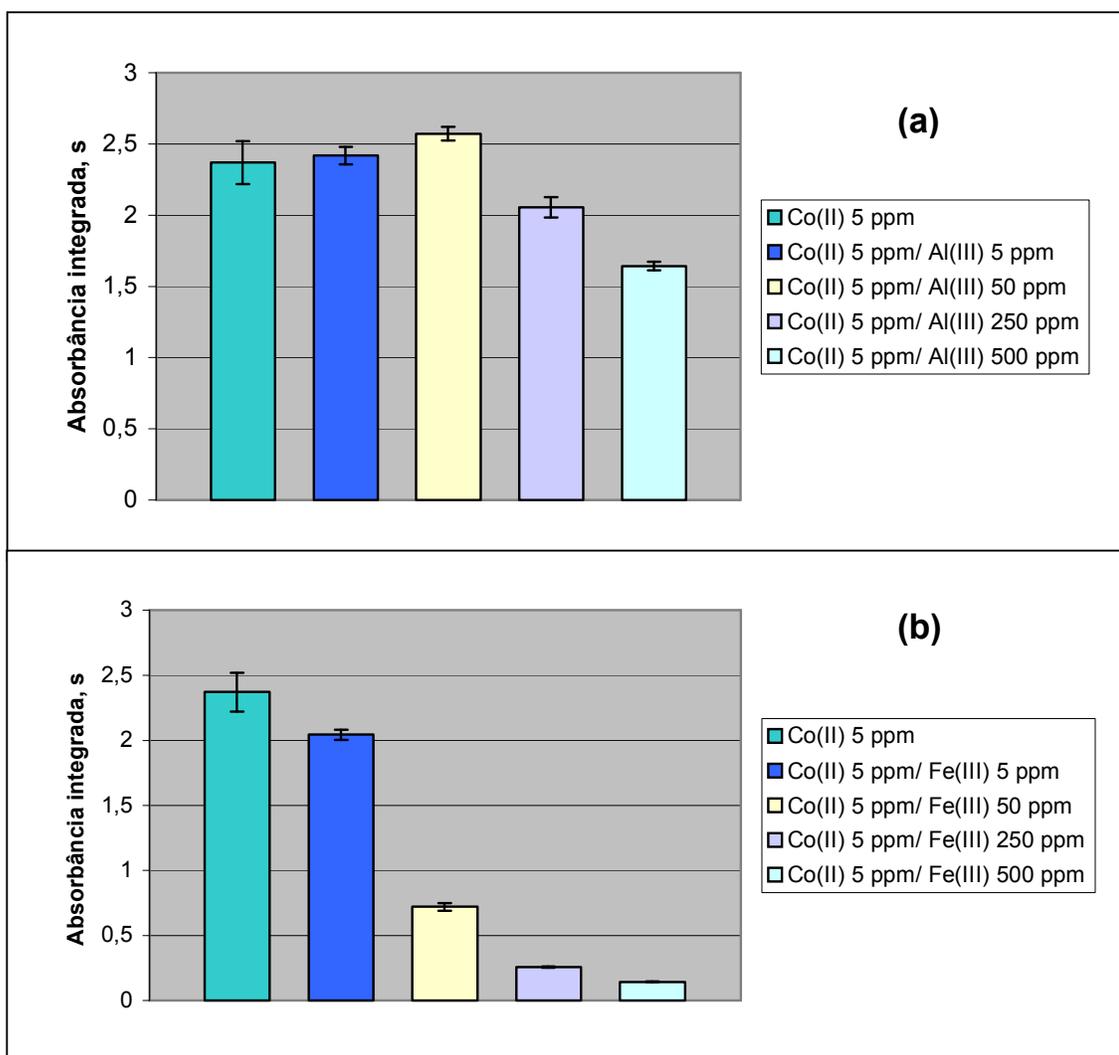


FIGURA 6.9.2. Efeitos dos concomitantes (a) Al(III) e (b) Fe(III) sobre o sinal analítico de Co(II) determinado por TS-FF-AAS

A partir das Figuras 6.9.1 e 6.9.2, observa-se um comportamento semelhante para o efeito de ambos os concomitantes sobre o sinal analítico de Co(II), ou seja, uma tendência geral de redução do sinal analítico com o aumento da concentração dos concomitantes na solução. Observa-se, também, um efeito mais pronunciado quando o concomitante é o Fe(III) e o método é a TS-FF-AAS.

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.⁴ O efeito mais pronunciado provocado pelo Fe(III) é uma indicação da menor volatilidade do composto formado entre o analito e esse

concomitante. No caso da TS-FF-AAS, a maior eficiência na introdução da amostra e a concentração em um pequeno volume no interior do tubo atomizador levou a uma alta concentração de concomitantes, o que pode ter afetado negativamente os equilíbrios de vaporização, dissociação e atomização de Co(II) – além da formação de espécies refratárias e da menor temperatura no interior do tubo atomizador. Devido a essas características, o efeito dos concomitantes foi ainda mais pronunciado na determinação de Co(II) por TS-FF-AAS.

O mesmo comportamento foi observado na determinação de Cr(III) . As Figuras 6.9.3 e 6.9.4 apresentam os resultados para FAAS e TS-FF-AAS, respectivamente.

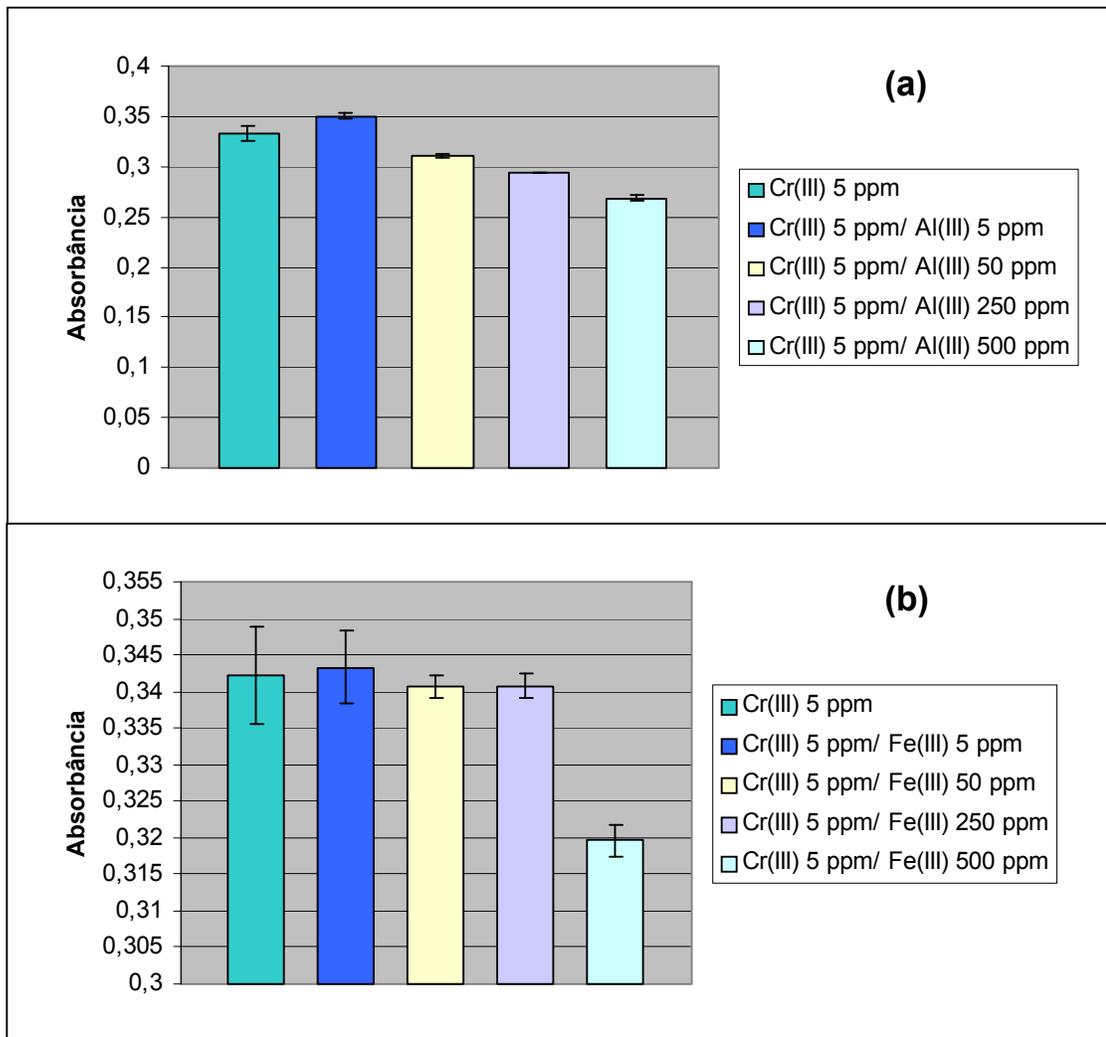


FIGURA 6.9.3. Efeitos dos concomitantes (a) Al(III) e (b) Fe(III) sobre o sinal analítico de Cr(III) determinado por FAAS

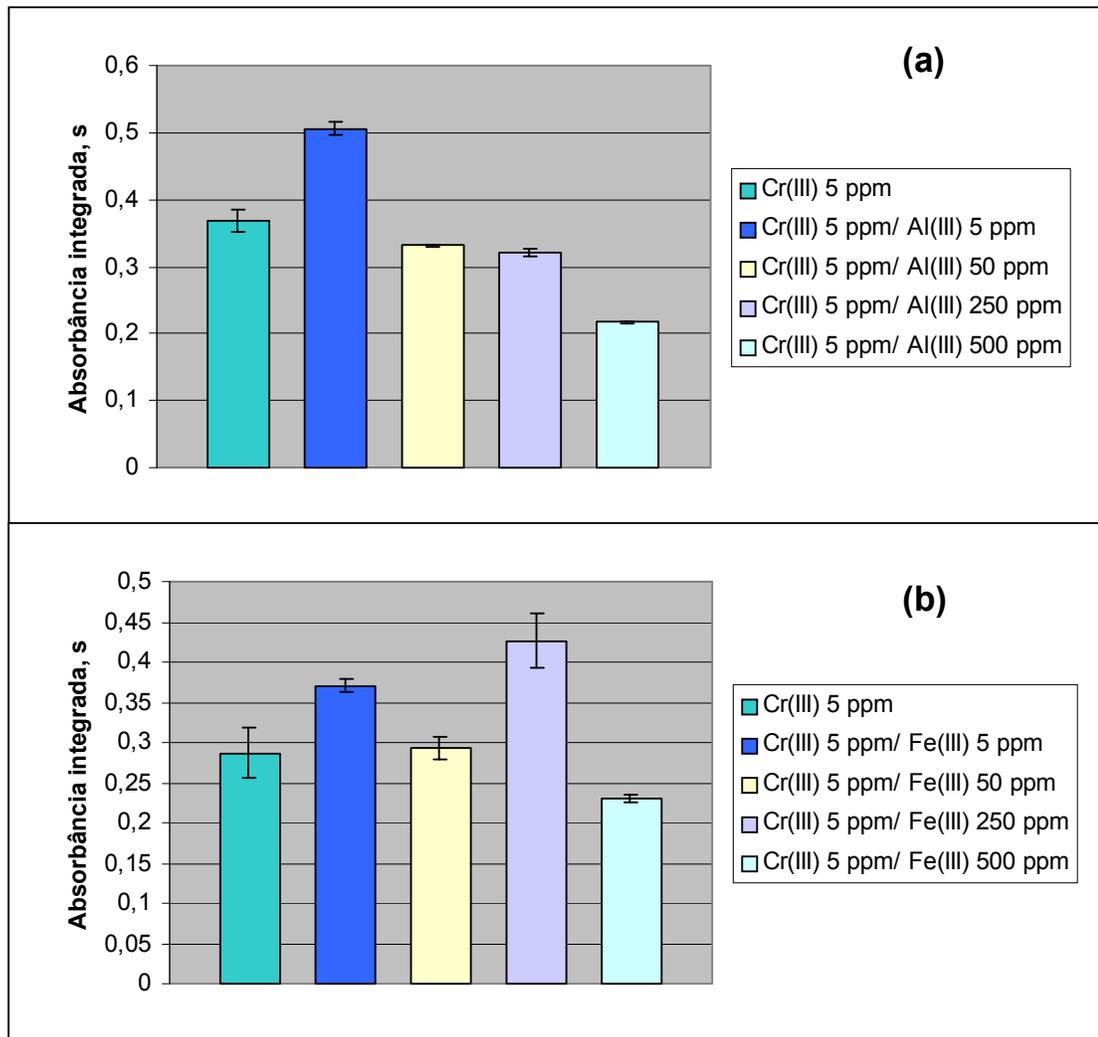


FIGURA 6.9.4. Efeitos dos concomitantes (a) Al(III) e (b) Fe(III) sobre o sinal analítico de Cr(III) determinado por TS-FF-AAS

Como no caso do Co(II), observa-se uma tendência à redução nos sinais analíticos de Cr(III), medidos por ambos os métodos, com o aumento da concentração dos concomitantes, e uma maior intensidade de redução desses sinais quando o concomitante é o Fe(III) (Figuras 6.9.3 e 6.9.4). Como discutido anteriormente, a formação de óxidos e/ou carbetos duplos refratários pela reação entre os concomitantes, o analito e as espécies presentes na chama pode ser a causa provável dessa redução na sensibilidade, sendo o composto formado por Fe(III) ainda mais refratário.⁴ Também para Cr(III), verificou-se um efeito mais pronunciado de redução dos sinais analíticos, causado pelo aumento da concentração dos concomitantes, na determinação por TS-FF-AAS, em relação à

FAAS (Figura 6.9.4) . Como discutido para Co(II), a maior eficiência no processo de nebulização, a concentração da amostra em um volume reduzido e a menor temperatura no interior do tubo atomizador são os prováveis fatores responsáveis por essa redução na intensidade do sinal analítico devido às interferências nos processos de volatilização, dissociação e atomização do analito. Para Fe(III), observou-se um comportamento irregular dos efeitos causados sobre o sinal analítico de Cr(III) determinado por TS-FF-AAS (Figura 6.9.4b). Contudo, uma tendência de redução no sinal analítico com o aumento do concomitante também foi observada.

6.10 – Avaliação da exatidão

Para verificar a exatidão do método desenvolvido para a determinação de Co(II) em amostras alimentícias, amostras de referência certificadas de folhas de tomateiro (NIST 1573a) e fígado bovino (NIST 1577b) foram submetidas aos procedimentos de extração ácida e pré-concentração por ponto nuvem e determinadas por TS-FF-AAS. Os resultados são apresentados na Tabela 6.10.1.

TABELA 6.10.1. Avaliação da exatidão do método proposto: teores determinados e certificados de Co(II) em dois materiais de referência certificados (valor médio \pm intervalo de confiança, n = 3, 1s)

Amostra	Método proposto ($\mu\text{g g}^{-1}$) ^a	Teor certificado ($\mu\text{g g}^{-1}$)
Fígado bovino	0,24 \pm 0,07	0,25 ^b
Folhas de tomateiro	0,55 \pm 0,07	0,57 \pm 0,02

^a $\bar{x} \pm t s/(n)^{1/2}$, n = 3, P = 0,05

^b valor determinado, mas não certificado

A partir da Tabela 6.10.1, confirma-se a exatidão do método proposto para a determinação de Co(II) em baixas concentrações em amostras alimentícias. Pela aplicação do teste-*t* não foram observadas diferenças entre os teores determinados e certificados em um nível de confiança de 95 % (n=3).

6.11 – Aplicação do método

O método desenvolvido foi aplicado para a determinação de Co(II) em amostras alimentícias de origem animal e vegetal. As amostras foram tratadas conforme descrito na Seção 5.9 e determinadas por TS-FF-AAS. Os resultados são apresentados na Tabela 6.11.1.

TABELA 6.11.1. Aplicação do método proposto na determinação de Co(II) em amostras comerciais de alimentos (teor médio \pm desvio padrão, n = 3, 1s)

Amostra	Co(II) ($\mu\text{g g}^{-1}$)
Cenoura	0,963 \pm 0,008
Beterraba	0,592 \pm 0,058
Repolho	0,208 \pm 0,041
Fígado bovino	1,320 \pm 0,079
Costela bovina	0,632 \pm 0,041
Rim suíno	0,220 \pm 0,011

A partir da Tabela 6.11.1, observa-se uma variação apreciável dos teores de Co(II) em amostras alimentícias de origem animal e vegetal. O limite de detecção calculado a partir da matéria seca foi de $0,084 \mu\text{g g}^{-1}$ e algumas amostras apresentaram teores do metal abaixo desse valor: alface, chicória, cérebro e vísceras bovinos. Os valores de desvio padrão obtidos podem ser considerados adequados para um procedimento com várias etapas, *i.e.* extração ácida, complexação e pré-concentração. Entre as amostras vegetais, cenoura e beterraba apresentaram os maiores teores de Co(II), indicando uma acumulação preferencial desse elemento em raízes.¹¹²⁻¹¹³ Nas amostras animais, o maior teor de Co(II) foi determinado para fígado bovino. Isso ocorre devido à acumulação do metal nesse órgão¹¹⁴⁻¹¹⁶ e também a fatores externos, principalmente aqueles relacionados ao tipo de alimentação.

Capítulo 7

CONCLUSÕES

7 – CONCLUSÕES

O método proposto apresenta-se como uma alternativa interessante aos principais métodos de determinação de elementos em baixas concentrações. É um método eficiente, que mantém as características de simplicidade e baixo custo da FAAS, mas amplia suas possibilidades de aplicação com o aumento da sensibilidade por meio de procedimentos e dispositivos simples. A associação entre a complexação com APDC, pré-concentração por ponto nuvem, utilização de solvente orgânico e TS-FF-AAS proporcionou aumentos significativos na sensibilidade da FAAS para a determinação de Co(II) e Cr(III). Devido a uma maior eficiência nos processos de introdução da amostra e atomização, foram obtidos aumentos significativos de sensibilidade em relação à FAAS convencional, com conseqüentes reduções nos limites de detecção (26 e 24 vezes para Co(II) e Cr(III), respectivamente) e quantificação: LOD = 2,1 e 2,5 $\mu\text{g L}^{-1}$ e LOQ = 7,0 e 8,4 $\mu\text{g L}^{-1}$ para Co(II) e Cr(III), respectivamente, possibilitando a determinação de Co(II) em amostras alimentícias. A repetibilidade do método (5,8 e 5,4 % para Co(II) e Cr(III), respectivamente), representada como desvio padrão relativo (RSD, %) e calculada a partir de 10 medidas consecutivas de soluções pré-concentradas de Co(II) e Cr(III), é adequada, principalmente considerando-se que o método é constituído por várias etapas.

A utilização de um tubo atomizador com maior orifício, para a penetração da chama e aumento da temperatura interna, foi decisiva para a determinação de Cr(III). A temperatura e o meio químico no qual ocorrem os processos de volatilização, dissociação e atomização exercem influência significativa sobre a sensibilidade para ambos os analitos na determinação por TS-FF-AAS. Devido às diferenças nos processos de atomização, observaram-se condições distintas para a estequiometria da chama e a altura do tubo atomizador em relação ao queimador para cada um dos analitos. A determinação de Co(II) foi ligeiramente favorecida por um ambiente menos redutor (tubo atomizador a 1,5 cm acima do queimador e chama recomendada pelo fabricante – C:O = 0,74), em que menores concentrações de espécies carbônicas inibem a formação de carbetos metálicos refratários proporcionando um aumento na eficiência de atomização. Contudo, deve-se mencionar que a atomização de cobalto não é apreciavelmente afetada pela altura de observação e pela concentração de espécies carbônicas. Por outro lado, a

atomização do Cr(III) foi favorecida por um meio mais redutor (tubo atomizador a 0,3 cm acima do queimador e chama redutora – C:O = 1,15), provavelmente devido à redução de óxidos metálicos refratários por espécies carbônicas presentes na chama.

A utilização de ar como carregador gerou melhores resultados para a determinação de ambos os analitos. A eliminação de problemas inerentes ao uso de carregadores líquidos tais como diluição da nuvem atômica, dispersão líquido/líquido na interface amostra/carregador e resfriamento do tubo atomizador devido à evaporação do solvente proporcionou maiores sensibilidades. Efeitos de memória causados pela menor eficiência de limpeza do sistema quando se utilizou ar como carregador foram eliminados pela introdução de água entre as medidas. Uma vazão de ar de $0,57 \text{ mL min}^{-1}$ foi a que proporcionou os melhores resultados para ambos os analitos. Vazões menores levaram a uma redução na sensibilidade como decorrência de uma menor quantidade de analito sendo introduzida no atomizador por unidade de tempo. Vazões maiores não contribuíram para o aumento da sensibilidade e causaram um aumento dos desvios devido à ineficiência na nebulização.

As eficiências dos processos de transporte, nebulização, volatilização, dissociação e atomização também foram aumentadas pela utilização de um solvente orgânico. A menor tensão superficial, a maior volatilidade e a formação de espécies redutoras após sua combustão colaboraram para o aumento da sensibilidade na determinação de ambos os analitos por TS-FF-AAS. Além disso, os elevados calores de combustão contribuíram para que não ocorresse a redução da temperatura do atomizador durante a introdução da amostra, favorecendo a atomização e aumentando o sinal analítico. Devido à menor toxicidade, o etanol foi escolhido como solvente.

Para que houvesse um compromisso entre sensibilidade, precisão, facilidade de manipulação da amostra e frequência de amostragem, volumes de amostra de 150 e 300 μL foram utilizados para a determinação de Co(II) e Cr(III), respectivamente. Volumes menores e maiores de amostra levaram a reduções dos sinais analíticos em decorrência de fatores como menor quantidade de analito presente no atomizador (para volumes menores de amostra), resfriamento do tubo atomizador (para volumes maiores de amostra) e maiores desvios (para ambos).

A presença de uma alta concentração de concomitantes, que podem interferir tanto na etapa de pré-concentração quanto nos processos de volatilização, dissociação e atomização do analito, pode ser considerada uma limitação do método. No caso do Co(II) e outros íons divalentes, esse obstáculo pode ser superado pela aplicação de uma extração ácida, com HCl 1 mol L⁻¹, em que os analitos são quantitativamente extraídos e interferentes críticos como Al(III) e Fe(III) não o são. É um método eficiente e não requer a digestão da amostra. Contudo, a determinação de Cr(III) em amostras alimentícias foi impossibilitada devido a esse tipo de interferência.

A exatidão do método mostrou-se adequada pela determinação de Co(II) em materiais de referência certificados de origem animal e vegetal em que os valores determinados e certificados não diferiram significativamente em um nível de confiança de 95 %. A determinação de Co(II) em amostras comerciais demonstrou a aplicabilidade do método a diversos tipos de amostra.

O método pode ser estendido a outros elementos, principalmente aqueles que requerem uma maior temperatura de atomização. Contudo, mais estudos são necessários para resolver problemas relacionados aos efeitos causados pelas altas concentrações de concomitantes.

Capítulo 8

REFERÊNCIAS

BIBLIOGRÁFICAS

1. KOTZ, J. C. & TREICHEL JR., P. *Química e Reações Químicas*. 3ª ed. V.1. Rio de Janeiro, LTC Livros Técnicos e Científicos, 1998. pp. 1-9.
2. CUBADDA, F.; RAGGI, A. & MARCONI, E. "Effects of processing on five selected metals in the durum wheat food chain". *Microchem. J.*, **79**(1-2): 97-102, 2005.
3. KUBAN, P.; GUCHARDI, R. & HAUSER, P. C. "Trace-metal analysis with separation methods". *Trends Anal. Chem.*, **24**(3): 192-198, 2005.
4. WELZ, B. & SPERLING, M. *Atomic Absorption Spectrometry*. 3ª ed. Weinheim, Wiley-VCH, 1999. 941 p.
5. CONSELHO NACIONAL DO MEIO AMBIENTE - CONAMA. *Resolução nº 357/2005* de 17/03/2005, Diário Oficial da União, 18/03/2005. <http://www.mma.gov.br/port/conama/res/res05/res35705.pdf>, acesso em 10/12/2005.
6. SLAVIN, W.; MANNING, D. C. & CARNRICK, G. R. "The stabilized temperature platform furnace". *At. Spectrosc.* **2**(5): 137-145, 1981.
7. MONTASER, A. ed. *Inductively Coupled Plasma Mass Spectrometry*. 1ª ed. New York, Wiley-VCH, 1998. 964 p.
8. 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.
9. MIYAZAWA, M.; PAVAN, M. A. & BLOCH, M. F. M. "Determination of Ca, Mg, K, Mn, Cu, Zn, Fe and P in coffee, soybean, corn, sunflower, and pasture grass leaf tissues by a HCl extraction method". *Commun. Soil Sci. Plant. Anal.*, **15**(2): 141-147, 1984.
10. BARBOSA, A. L. *Dicionário de Química*. 1ª ed. Goiânia, AB-Editora, 1999. pp.88-101.
11. ROSA, U. ed. *Enciclopédia Didática de Informação e Pesquisa Educacional - EDIPE*. 7ª ed. São Paulo, Iracema, 1990. p. 940.
12. COTTON, F. A.; WILKINSON, G.; MURILLO, C. A. & BOCHMANN, M. *Advanced Inorganic Chemistry*. 6ª ed. New York, John Wiley & Sons, 1999. pp.736-835.
13. Agency for Toxic Substances and Disease Registry. *Toxicological Profile for Cobalt*. Atlanta, U.S. Department of Health and Human Services, 2001. 394 p. <http://www.atsdr.cdc.gov/toxprofiles/tp7.pdf>, acesso em 14/01/2006.
14. CHAVES, N. *Nutrição Básica e Aplicada*. 1ª ed. Rio de Janeiro, Guanabara Koogan, 1978. pp. 149-151.
15. GOODHART, R. S. & SHILS, M. E. *Modern Nutrition in Health and Disease – Dietotherapy*. 5ª ed. Philadelphia, Lea & Febiger, 1973. pp.390-394.

16. SEGHIZZI, P. D'ADDA, F.; BORLERI, D.; BARBIC, F. & MOSCONI, G. "Cobalt cardiomyopathy. A critical review of the literature". *Sci. Tot. Environ.*, **150**(1-3): 105-109, 1994.
17. HURLBUT, C. S. Jr. ed. *Dana's Manual of Mineralogy*, 18^a ed. New York, John Wiley & Sons, 1971. pp.346-347.
18. Agency for Toxic Substances and Disease Registry. *Toxicological Profile for Chromium*. Atlanta, U.S. Department of Health and Human Services, 2000. 421 p. <http://www.atsdr.cdc.gov/toxprofiles/tp33.pdf>, acesso em 14/01/2006.
19. RICHENS, D. T. *The Chemistry of Aqua Ions*. 1^a ed. Chichester, John Wiley & Sons, 1997. p. 86-280.
20. QUINÁIA, S. P. & NÓBREGA, J. A. "Determinação direta de cromo em açúcar e leite por espectrometria de absorção atômica com atomização eletrotérmica em forno de grafite". *Quím. Nova*, **23**(2): 185-190, 2000.
21. BROADHURST, C. L.; SCHMIDT, W. F.; REEVES, J. B.; POLANSKY, M. M.; GAUTSCHI, K. & ANDERSON, R. A. "Characterization and structure by NMR and FTIR spectroscopy, and molecular modeling of chromium(III) picolinate and nicotinate complexes utilized for nutritional supplementation". *J. Inorg. Biochem.*, **66**(2): 119-130, 1997.
22. GARGAS, M. L.; NORTON, R. L.; PAUSTENBACH, D. J.; FINLEY, B. L. "Urinary excretion of chromium by humans following ingestion of chromium picolinate: implications for biomonitoring". *Drug Metab. Dispos.*, **22**(4): 522-529, 1994.
23. CHAKOV N. E.; COLLINS, N. A.; VINCENT, J. B. "A re-investigation of the electron spectra of chromium(III) picolinate complexes and high yield synthesis and characterization of $Cr_2(\mu-OH)_2(pic)_4 \cdot 5H_2O$ (Hpic = picolinate acid)". *Polyhedron*, **18**: 2891-2897, 1999.
24. CIESLAK-GOLONDA, M. "Toxic and mutagenic effects of chromium(VI). A review". *Polyhedron*, **15**: 3667-3689, 1996.
25. BOSE, R. N.; MOGHADDAS, S. & GELERINTER, E. "Long-lived chromium(IV) and chromium(V) metabolites in the chromium(VI)-glutathione reaction: NMR, ESR, HPLC, and kinetic characterization". *Inorg. Chem.*, **31**(11): 1987-1994, 1992.
26. BRAUER, S. L.; HNEIHEN, A. S.; McBRIDE, J. S. & WETTERHAHN, K. E. "Chromium(VI) forms thiolate complexes with γ -glutamylcysteine, N-acetylcysteine, cysteine, and the methyl ester of N-acetylcysteine". *Inorg. Chem.*, **35**(2): 373-381, 1996.
27. SUGDEN, K. D. & WETTERHAHN, K. E. "EPR evidence for chromium(V) binding to phosphate and pyrophosphate: implications for chromium(V)-DNA interactions". *Inorg. Chem.*, **35**(13): 3727-3728, 1996.
28. WENG, W.; TIAN, L.; NOWELS, G. & GORDON, N. R. "Chromium(III) complexes from CrO_4^{2-} reduction at pH 7". *Inorg. Chim. Acta*, **188**(1): 85-90, 1991.

29. 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.
30. RIGIN, V. I. "Gas-phase atomization in analytical atomic spectrometry". *Fresenius Z. Anal. Chem.*, **335**(1): 15-18, 1989.
31. BROWNER, R. F.; BOORN, A. W. & SMITH, D. D. "Aerosol transport model for atomic spectrometry". *Anal. Chem.*, **54**(8): 1411-1419, 1982.
32. STURGEON, R. E. & CHAKRABARTI, C. L. "Atomization of molybdenum in air-acetylene and nitrous oxide-acetylene flames". *Anal. Chem.*, **48**(4): 677-686, 1976.
33. MATUSIEWICZ, H. "Atom trapping and in situ preconcentration techniques for flame atomic absorption spectrometry". *Spectrochim. Acta Part B*, **52**(12): 1711-1736, 1997.
34. BROWNER, R. F. "Fundamental aspects of aerosol generation and transport". IN: *Inductively Coupled Plasma Emission Spectrometry*. BOUMANS, P. W. J. M. (Ed.). New York, John Wiley & Sons, 1987. Ch. 8.
35. RIBEIRO, A. S.; BORGES, D. L. G.; VIEIRA, M. A.; WELZ, B. & CURTIUS, A. J. "Uso da nebulização ultra-sônica (USN) em espectrometria de absorção atômica em chama com fonte de linha (LS F AAS) ou de alta resolução com fonte contínua (HR-CS F AAS)". Anais do 13º Encontro Nacional de Química Analítica (13º ENQA). Niterói-RJ, 2005. CD-ROM, S12, p.5.
36. BERNDT, H. "High pressure nebulization: a new way of sample introduction for atomic spectrometry". *Fresenius J. Anal. Chem.*, **331**(3-4): 321-323, 1998.
37. SOGOR, C.; GASPAR, A. & POSTA, J. "Flame atomic absorption spectrometric determination of total chromium and Cr(VI) in cigarette ash and smoke using flow injection/hydraulic high-pressure sample introduction". *Microchem. J.*, **58**(3): 251-255, 1998.
38. BERNDT, H. & YAÑES, J. "High-temperature hydraulic high-pressure nebulization: a recent nebulization principle for sample introduction". *J. Anal. At. Spectrom.*, **11**(9): 703-712, 1996.
39. ROBINSON, J. W. "Observations in atomic absorption spectroscopy". *Anal. Chim. Acta*, **27**: 465-469, 1962.
40. ZELJUKOVA, Y. V. & POLUEKTOV, N. S. "Atomic-absorption analysis by means of exhaust gases of the flame". *Zh. Anal. Khim.*, **18**: 435-439, 1963.
41. FUWA, K. & VALLEE, B. L. "The physical basis of analytical atomic absorption spectrometry. The pertinence of the Beer-Lambert law". *Anal. Chem.*, **35**(8): 942-946, 1963.
42. 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.

43. KAHN, H. L.; PETERSON, G. E. & SCHALLIS, J. E. *At. Absorpt. Newsl.*, **7**: 35-39, 1968. *Apud* MATUSIEWICZ, H. "Atom trapping and in situ preconcentration techniques for flame atomic absorption spectrometry". *Spectrochim. Acta Part B*, **52**(12): 1711-1736, 1997.
44. WATLING, R. J. "The use of a slotted quartz tube for the analysis of trace metals in fresh water". *Water SA*, **3**: 218-220, 1977.
45. WATLING, R. J. "The use of a slotted quartz tube for the determination of arsenic, antimony, selenium and mercury". *Anal. Chim. Acta*, **94**(1): 181-186, 1977.
46. WATLING, R. J. "The use of a slotted tube for the determination of lead, zinc, cadmium, bismuth, cobalt, manganese and silver by atomic absorption spectrometry". *Anal. Chim. Acta*, **97**(2): 395-398, 1978.
47. WATLING, R. J. "The analysis of volatile metals in biological material" IN: *The Analysis of Biological Materials*. BUTLER, L. R. P. (Ed.). Oxford, Pergamon Press, 1979. pp.81-89.
48. LAU, C.; HELD, A. & STEPHENS, R. "Sensitivity enhancements to flame AAS by use of a flame atom trap". *Can. J. Spectrosc.*, **21**: 100-104, 1976.
49. HUANG, G. & LI, Y. "Improvement of slotted quartz tube flame atomization technique". *Gaodeng Xuexiao Huaxue Xuebao*, **13**: 1057-1060, 1992. *Apud* MATUSIEWICZ, H. "Atom trapping and in situ preconcentration techniques for flame atomic absorption spectrometry". *Spectrochim. Acta Part B*, **52**(12): 1711-1736, 1997.
50. MATUSIEWICZ, H.; STURGEON, R.; LUONG, V. & MOFFATT, K. "Determination of copper, iron, manganese and zinc in river and estuarine water by atom trapping-flame atomic absorption spectrometry". *Fresenius J. Anal. Chem.*, **340**: 35-40, 1991.
51. TURNER, A. D. & ROBERTS, D. J. "Metal determinations with a novel slotted-tube water-cooled atom trap". *J. Anal. At. Spectrom.*, **11**(4): 231-234, 1996.
52. MATUSIEWICZ, H. & KOPRAS, M. "Methods for improving the sensitivity in atom trapping flame atomic absorption spectrometry: analytical scheme for the direct determination of trace elements in beer". *J. Anal. At. Spectrom.*, **12**(11): 1287-1292, 1997.
53. GASPAR, A. & BERNDT, H. "Beam injection flame furnace atomic absorption spectrometry: a new flame method". *Anal. Chem.*, **72**(1): 240-246, 2000.
54. GASPAR, A. & BERNDT, H. "Beam-injection flame-furnace atomic absorption spectrometry (BIFF-AAS) with low-pressure sample-jet generation". *Anal. Bioanal. Chem.*, **372**(5-6): 695-699, 2002.
55. NEIRA, J. & BERNDT, H. "Determination of Cd and Pb at $\mu\text{g/L}$ levels by HHPN-beam injection flame furnace-AAS". *Fresenius J. Anal. Chem.*, **368**(7): 649-655, 2000.

56. RATKA, A. & BERNDT, H. "Beam-injection flame furnace AAS: comparison of different nozzle types for beam generation and application of sub-critical liquid carbon dioxide as carrier and gas pressure pump". *Anal. Bioanal. Chem.*, **378**(2): 416-422, 2004.
57. ALEIXO, P. C.; SANTOS JÚNIOR, D.; TOMAZELLI, A. C.; RUFINI, I. A.; BERNDT, H. & KRUG, F. J. "Cadmium and lead determination in food by beam injection flame furnace atomic absorption spectrometry after ultrasound-assisted sample preparation". *Anal. Chim. Acta*, **512**(2): 329-337, 2004.
58. ALEIXO, P. C. *Determinação de Cádmio, Chumbo, Tálho e Zinco em Águas e Alimentos por Espectrometria de Absorção Atômica com Injeção de Amostra em Forno Aquecido por Chama (BIFF-AAS)*. São Carlos, Programa de Pós-Graduação em Química - UFSCar, 2005. Tese de doutorado, 149 p.
59. BLAKLEY, C. R.; McADAMS, M. J. & VESTAL, M. L. "Crossed-beam liquid chromatograph-mass spectrometer combination". *J. Chromatog. Part A*, **158**: 261-276, 1968.
60. JIMENEZ, M. S.; MIR, J. M. & CASTILLO, J. R. "On-line thermospray continuous volatilization of cobalt, aluminum and chromium volatile chelates and determination by heated quartz tube atomic absorption spectrometry". *J. Anal. At. Spectrom.*, **8**(4): 665-670, 1993.
61. KOROPCHAK, J. A. & WINN, D. H. "Thermospray sample introduction for atomic spectrometry". *Trends Anal. Chem.*, **6**(7): 171-175, 1987.
62. DE LOOS-VOLLEBREGT, M. T. C.; TIGGELMAN, J. J.; BANK, P. C. & DEGRAEUWE, C. "Thermospray sample introduction into a horizontal low-flow inductively coupled plasma with end-on observation". *J. Anal. At. Spectrom.*, **4**(2): 213-218, 1989.
63. LABORDA, F. & DE LOOS-VOLLEBREGT, M. T. C. "Coupling of HPLC and ICP-AES for speciation". *Spectrochim. Acta Part B*, **46**(6-7): 1089-1098, 1991.
64. SCHWARTZ, S. A. & MEYER, G. A. "Characterization of aerosols generated by thermospray nebulization for atomic spectrometry". *Spectrochim. Acta Part B*, **41**(12): 1287-1298, 1986.
65. KOROPCHAK, B.; ARYAMANYA-MUGISHA, H. & WINN, D. H. "Effects of capillary diameter on thermospray sample introduction to inductively coupled plasma atomic emission spectrometry". *J. Anal. At. Spectrom.*, **3**(6): 799-802, 1988.
66. DE LOOS-VOLLEBREGT, M. T. C.; PENG, R. & TIGGELMAN, J. J. "Matrix interferences observed with a thermospray sample introduction system for inductively coupled plasma atomic emission spectrometry". *J. Anal. At. Spectrom.*, **6**(2): 165-168, 1991.
67. RIPSON, P. A. M. & DE GALAN, L. "A sample introduction system for an inductively coupled plasma operating on an argon carrier gas flow of 0.1 l/min". *Spectrochim. Acta Part B*, **36**(1): 71-76, 1981.

68. DAVIES, J. & BERNDT, H. "Improvements in thermospray flame furnace atomic absorption spectrometry". *Anal. Chim. Acta*, **479**(2): 215-223, 2003.
69. 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.
70. VILLAFRANCA, A. C. *Avaliação da Espectrometria de Absorção Atômica com Nebulização Térmica em Tubo Aquecido em Chama (TS-FF-AAS) para Determinação de Cd, Cu, Pb e Zn em Álcool Combustível e Óleo Diesel*. Araraquara, Instituto de Química, Universidade Estadual Paulista-UNESP, 2004. Tese de doutorado, 144 p.
71. LOBO, F. A. *Desenvolvimento de Sistemas de Injeção em Fluxo para a Determinação de Estanho por Espectrometria de Absorção Atômica com Forno Aquecido na Chama, em Amostras Alimentícias Enlatadas*. Araraquara, Instituto de Química, Universidade Estadual Paulista-UNESP, 2005. Dissertação de mestrado, 110 p.
72. GASPAR, A.; SZELES, E. & BERNDT, H. "Analysis of submicroliter samples using micro thermospray flame furnace atomic absorption spectrometry". *Anal. Bioanal. Chem.*, **372**(1): 136-140, 2002.
73. 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.
74. 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.
75. PEREIRA-FILHO, E. R.; BERNDT, H. & ARRUDA, M. A. Z. "Simultaneous sample digestion and determination of Cd, Cu and Pb in biological samples using thermospray flame furnace atomic absorption spectrometry (TS-FF-AAS) with slurry sample introduction". *J. Anal. At. Spectrom.*, **17**(10): 1308-1315, 2002.
76. 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.
77. 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.
78. 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.

79. HILDERBRAND, D. C. & PICKETT, E. E. "Determination of the volatility of metal chelates by atomic absorption". *Anal. Chem.*, **47**(3): 424-427, 1975.
80. GODDEN, R. G. & THOMERSON, D. R. "Generation of covalent hydrides in atomic-absorption spectrometry. A review". *Analyst*, **105**(1257): 1137-1156, 1980.
81. AGEMIAN, H. & CHAU, A. S. Y. "Automated method for the determination of total dissolved mercury in fresh and saline waters by ultraviolet digestion and cold vapor atomic absorption spectrometry". *Anal. Chem.*, **50**(1): 13-16, 1978.
82. LEE, D. S. "Determination of nickel in seawater by carbonyl generation". *Anal. Chem.*, **54**(7): 1182-1184, 1982.
83. ASHBY, J. R. & CRAIG, P. J. "New method for the production of volatile organometallic species for analysis from the environment; some butyl tin levels in U.K. sediments". *Sci. Total Environ.*, **78**: 219-232, 1989.
84. CASTILLO, J. R.; MIR, J. M. & BENDICHO, C. "Determination of chromium in steel by atomic absorption spectrometry using a direct chelate volatilization method". *J. Anal. At. Spectrom.*, **4**(1): 105-107, 1989.
85. CASTILLO, J. R.; GARCIA, E.; DELFA, J.; MIR, J. M. & BENDICHO, C. "Determination of chromium, cobalt, and iron by flame-atomic absorption spectrometry using volatilization of metal trifluoroacetyl acetates". *Microchem. J.* **40**: 103-109, 1990.
86. WOLF, W. R. "Coupled gas chromatography-atomic absorption spectrometry". *J. Chromatog. Part A*, **134**(1): 159-165, 1977.
87. FIGUEIREDO, E. C. & ARRUDA, M. A. Z. "Acoplamento de atomizador baseado em tubo de Ni à geração de hidretos (HG-FF-AAS)". *Anais do 13º Encontro Nacional de Química Analítica (13º ENQA)*. Niterói-RJ, 2005. CD-ROM, H038, p. 5.
88. WATANABE, H. & TANAKA, H. "A non-ionic surfactant as a new solvent for liquid-liquid extraction of zinc(II) with 1-(2-pyridylazo)-2-naphthol". *Talanta*, **25**(10): 585-589, 1978.
89. PALEOLOGOS, E. K.; GIOKAS, D. L. & KARAYANNIS, M. I. "Micelle-mediated separation and cloud-point extraction". *Trends Anal. Chem.*, **24**(5): 426-436, 2005.
90. BEZERRA, M. A.; ARRUDA, M. A. Z. & FERREIRA, S. L. C. "Cloud point extraction as a procedure of separation and pre-concentration for metal determination using spectroanalytical techniques: a review". *Appl. Spectrosc. Rev.*, **40**(4): 269-299, 2005.
91. KODOMA, M. & MIYAGAWA, S. "Enhancing and suppressing effects of surfactants in atomic absorption flame spectrometry". *Anal. Chem.*, **52**(14): 2358-2361, 1980.

92. SAITOH, T.; MATSUDO, T. & MATSUBARA, C., "Micelle-mediated extraction for concentrating hydrophobic organic compounds". J. Chromatogr. Part A, **879**(2): 121-128, 2000.
93. SAITHO, T.; TANI, H.; KAMIDATE, T. & WATANABE, H. "Phase separation in aqueous micellar solutions of nonionic surfactants for protein separation". Trends Anal. Chem., **14**(5): 213-217, 1995.
94. MANZOORI, J. L. & BAVILI-TABRIZI, A. "The application of cloud point preconcentration for the determination of Cu in real samples by flame atomic absorption spectrometry". Microchem. J., **72**(1): 1-7, 2002.
95. NASCENTES, C. C. & ARRUDA, M. A. Z. "Cloud point formation based on mixed micelles in the presence of electrolytes for cobalt extraction e preconcentration". Talanta, **61**(6): 759-768, 2003.
96. SUSSULINI, A. & ARRUDA, M. A. Z. "Chromium (III) determination by flame atomic absorption spectrometry after cloud point extraction in natural waters". 7th International Symposium on Advances in Extraction Technologies. Campinas-SP, 2005. CD-ROM.
97. PALEOLOGOS, E. K.; STALIKAS, C. D. & KARAYANNIS, M. I. "An optimized single-reagent method for the speciation of chromium by flame atomic absorption spectrometry based on surfactant micelle-mediated methodology". Analyst, **126**(3): 389-393, 2001.
98. ZHU, X.; HU, B.; JIANG, Z. & LI, M. "Cloud point extraction for speciation of chromium in water samples by electrothermal atomic absorption spectrometry". Water Res., **39**(4): 589-595, 2005.
99. KATSAOUNOS, C. Z.; GIOKAS, D. L.; VLESSIDIS, A. G.; PALEOLOGOS, E. K. & KARAYANNIS, M. I. "The use of surfactant-based separation techniques for monitoring of orthophosphate in natural waters and wastewater". Sci. Total Environ. **305**(1-3): 157-167, 2003.
100. UENO, K.; IAMAMURA, T. & CHENG, K. L. *CRC Handbook of Organic Analytical Reagents*. 2^a ed. Boca Raton, CRC Press, 1992. pp. 85-109, 185-195, 253-267, 389-401.
101. TANG, A.; JIANG, D.; JIANG, Y.; WANG, S. & YAN, X. "Cloud point extraction for high-performance liquid chromatographic speciation of Cr(III) and Cr(VI) in aqueous solutions", J. Chromatogr. Part A, **1036**(2): 183-188, 2004.
102. WELZ, B. "Symbols and units for integrated absorbance in electrothermal atomic absorption spectrometry (ET-AAS)". Spectrochim. Acta Part B, **47**(8): 1043-1044, 1992.
103. SANTOS JR. D. *Moagem Criogênica para o Preparo de Suspensões de Alimentos Visando à Determinação de Cd, Cr e Pb por Espectrometria de Absorção Atômica com Atomização Eletrotérmica em Forno de Grafite*. São Carlos, Programa de Pós-Graduação em Química - UFSCar, 2001. Dissertação de Mestrado, 76 p.

104. CORTI, M.; MINERO, C. & DEGIORGIO, V. "Cloud point transition in nonionic micellar solutions". *J. Phys. Chem.*, **88**(2): 309-317, 1984.
105. PALEOLOGOS, E. K.; STALIKAS, C. D.; TZOUWARA-KARAYANNI, S. M. & KARAYANNIS, M. I. "Selective speciation of trace chromium through micelle-mediated preconcentration, coupled with micellar flow injection analysis-spectrofluorimetry". *Anal. Chim. Acta*, **436**(1): 49-57, 2001.
106. GIOKAS, D. L.; PALEOLOGOS, E. K.; TZOUWARA-KARAYANNI, S. M. & KARAYANNIS, M. I. "Single-sample cloud point determination of iron, cobalt and nickel by flow injection analysis flame atomic absorption spectrometry – application to real samples and certified reference materials". *J. Anal. At. Spectrom.*, **16**(5): 521-526, 2001.
107. BÖYÜKBAYRAM, A. E. & VOLKAN, M. "Cloud point preconcentration of germanium and determination by hydride generation atomic absorption spectrometry". *Spectrochim. Acta Part B*, **55**(7): 1071-1078, 2000.
108. LURIE, J. *Handbook of Analytical Chemistry*, 1^a ed. Moscou, Mir Publisher, 1975. 488 p.
109. SKRZYDLEWSKA, E. "Toxicological and metabolic consequences of methanol poisoning". *Toxicol. Mechan. Methods*, **13**(4): 277-293, 2003.
110. NARIN, I. & SOYLAK, M. "Enrichment and determinations of nickel(II), cadmium(II), copper(II), cobalt(II) and lead(II) ions in natural waters, table salts, tea and urine samples as pyrrolydine dithiocarbamate chelates by membrane filtration-flame atomic absorption spectrometry combination". *Anal. Chim. Acta*, **493**(2): 205-212, 2003.
111. ANTHEMIDIS, A. N.; ZACHARIADIS, G. A.; KOUGOULIS, J. S. & STRATIS, J. A. "Flame atomic absorption spectrometry determination of chromium(VI) by on-line preconcentration system using a PTFE packed column". *Talanta*, **57**(1): 15-22, 2002.
112. PAGE, V. & FELLER, U. "Selective transport of zinc, manganese, nickel, cobalt and cadmium in the root system and transfer to the leaves in young wheat plants". *Ann. Bot. (Lond.)*, **96**(3): 425-434, 2005.
113. WANG, H. F.; TAKEMATSU, N. & AMBE, S. "Effects of soil acidity on the uptake of trace elements in soybean and tomato plants". *Appl. Radiat. Isot.*, **52**(4): 803-811, 2000.
114. UNDERWOOD, E. J. & SUTTLE, N. F. *Cobalt in Mineral Nutrition of Lifestock*. 1^a ed. New York, CABI Publishing, 1999. 624 p.
115. KAWASHIMA, T.; HENRY, P. R.; AMMERMAN, C. B.; LITTELL, R. C. & PRICE, J. "Bioavailability of cobalt sources for ruminants. 2. Estimation of relative value of reagent grade and feed grade cobalt sources from tissue cobalt accumulation and vitamin B₁₂ concentrations". *Nutr. Res.*, **17**(6): 957-974, 1997.

116. KINCAID, R. L.; LEFEBVRE, L. E.; CRONRATH, J. D.; SOCHA, M. T. & JOHNSON, A. B. "*Effect of dietary cobalt supplementation on cobalt metabolism and performance of dairy cattle*". J. Dairy Sci., **86**(4): 1405-1414, 2003.