

UNIVERSIDADE FEDERAL DE SÃO CARLOS

CENTRO DE CIÊNCIAS EXATAS E DE TECNOLOGIA

DEPARTAMENTO DE QUÍMICA

PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM QUÍMICA

**DETERMINAÇÃO DE CÁDMIO, CHUMBO, TÁLIO E ZINCO EM
ÁGUAS E ALIMENTOS POR ESPECTROMETRIA DE ABSORÇÃO
ATÔMICA COM INJEÇÃO DE AMOSTRA EM FORNO AQUECIDO
POR CHAMA (BIFF-AAS)**

POLIANA CAROLINA ALEIXO

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

Orientador: Prof. Dr. Francisco José Krug

SÃO CARLOS – SP

2005

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

A366dc

Aleixo, Poliana Carolina.

Determinação de cádmio, chumbo, tálio e zinco em águas e alimentos por espectrometria de absorção atômica com injeção de amostra em forno aquecido por chama (BIFF-AAS) / Poliana Carolina Aleixo. -- São Carlos : UFSCar, 2005.

151 p.

Tese (Doutorado) -- Universidade Federal de São Carlos, 2005.

1. Espectrometria de absorção atômica. 2. Preparação de amostra (Química analítica). 3. BIFF-AAS. 4. Extração ultrassônica. 5. Alimentos. I. Título.

CDD: 543.0858 (20^a)

Andei,
Por caminhos difíceis, eu sei.
Mas, olhando o chão sob meus pés, vejo a vida correr.
E assim, cada passo que eu der, tentarei fazer o melhor que puder.
Aprendi.
Não tanto quanto quis, mas vi que,
Conhecendo o universo ao meu redor,
aprendo a me conhecer melhor.
E assim, escutarei o tempo que ensinará
a tomar a decisão certa em cada momento.
E partirei, em busca de muitos ideais.
Mas sei que hoje
Encontram-se meu passado, futuro e presente.
Hoje sinto em mim a emoção da despedida.
Hoje é um ponto de chegada e, ao mesmo tempo,
Ponto de partida.
Se em horas de encontros pode haver tantos desencontros,
Que a hora da separação seja, tão somente,
A hora de um verdadeiro, profundo e coletivo encontro.
De tudo ficaram três coisas:
A certeza de que estamos sempre começando,
A certeza de que é preciso continuar
E a certeza de que podemos ser interrompidos antes de terminar.
Façamos da interrupção, um caminho novo,
Da queda, um passo de dança,
Do medo, uma escada,
Do sonho, uma ponte,
Da procura, um encontro.

Fernando Sabino

A Deus, pela força que me motiva e aos meus amigos e familiares.

Ao meu pai Antônio, minha mãe Regina e meus irmãos Aletéia, Toninho e Natacha pelo apoio, incentivo e respeito que sempre tiveram pelo meu trabalho.

AGRADECIMENTOS

Ao Prof. Dr. Francisco José Krug pela orientação, amizade, paciência e oportunidade na realização desse trabalho.

Ao Prof. Dr. Joaquim Araújo Nóbrega pelo constante apoio e amizade, pelas contribuições a esse trabalho e por ser um exemplo de dedicação e incentivo para mim e para todo o grupo de trabalho de São Carlos.

A Dra. Ana Rita de Araújo Nogueira pela grande amizade, pelo imenso apoio e por ter uma família maravilhosa pela qual tenho muito carinho.

Ao Imero, pelo amor, incentivo, amizade, carinho e apoio nos momentos mais difíceis.

Aos meus amigos de Ribeirão Preto: Fabiana, Simone, Marco, Vanessa, Cassiana e Fernanda(Neusa) pelo apoio e incentivo.

Aos meus amigos e colaboradores de laboratório: Dário (esse merece uma página inteira do meu agradecimento), Fernando, Samuel, Paulo, Flávio e a nova amiga Quienly.

As velhas amigas de laboratório, Zilvanir-Vivi (pelo apoio, amizade e passeios no Fascina), Tatinha (meu exemplo de trabalho) e Andreinha por tudo que fizeram por mim durante esses quatro anos.

Aos meus amigos da UFSCar. São tantos que aqui não caberia todo o meu agradecimento pela força, amizade, apoio e incentivo durante todo doutorado.

Aos meus amigos do CENA-USP (Cherrine, André, Ana Cristi, Tati, Vivi, Simone, Eduardo, Paula Gervásio, Nádia, Fátima, Sheila, Patrícia, Fábio, Amauri e Cristiane) pelo apoio, pelas valiosas conversas e amizade.

A minha roommate Profa. Dra. Elma Neide Vasconcelos Martins Carrilho pelo carinho, incentivo e longas conversas nos momentos de maiores dúvidas. Também por conseguir morar comigo em Jaboticabal e conseguirmos comer “naqueles” restaurantes.

Ao Prof. Dr. Eduardo Fausto de Almeida Neves pelas sugestões e presença em todos os meus seminários.

Aos pesquisadores do Laboratório de Química Analítica “Henrique Bergamin Filho” do Centro de Energia Nuclear na Agricultura (CENA-USP) pela convivência e pelo espaço concedido para a realização desse trabalho.

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

Aos professores do Departamento de Química da UFSCar que contribuíram para minha formação acadêmica.

Ao Prof. Dr. Harald Berndt pelas valiosas contribuições e pela doação dos acessórios, para a realização desse trabalho.

Aos funcionários do DQ/UFSCar, em especial às secretárias da Pós-Graduação: Ariane, Cristina e Luciani pela eficiência, paciência e colaboração.

À Oxiquímica Agrociência pela oportunidade, financiamento e apoio e principalmente aos companheiros de laboratório (Anselmo, Edivaldo, Robson, Renato e Maurício) por me incentivarem e realizarem meu trabalho enquanto eu estava em Piracicaba.

A todos que, diretamente ou indiretamente contribuíram para a realização desse trabalho.

Meu muito obrigada.

LISTA DE ABREVIATURAS

AAS –	Espectrometria de absorção atômica
ASTM –	Sociedade americana para ensaios e materiais (American Society for Testing and Materials)
ATFAAS –	Espectrometria de absorção atômica com chama com aprisionamento de átomos
BIFF-AAS –	Espectrometria de absorção atômica com injeção de amostra em forno aquecido por chama
CETESB –	Companhia de Tecnologia de Saneamento Ambiental do Estado de São Paulo
CONAMA –	Comissão Nacional de Meio Ambiente
CFA-C –	Aminas terciárias solúveis em água
CRM –	Material de referência certificado
CS-AAS –	Espectrometria de absorção atômica com fonte contínua de xenônio
CVAAS –	Espectrometria de absorção atômica com geração de vapor a frio
ETAAS –	Espectrometria de absorção atômica com atomização eletrotérmica
ETV-ICP-MS –	Espectrometria de massas acoplada com plasma de argônio com vaporização eletrotérmica
FAAS –	Espectrometria de absorção atômica com chama
FIA –	Sistema de injeção em fluxo
GFAAS –	Espectrometria de absorção atômica com forno de grafite
HGAAS –	Espectrometria de absorção atômica com geração de hidretos
HHPN –	Nebulização hidráulica sob alta pressão
HPLC –	Cromatografia líquida de alta eficiência
IAT –	Tubo integrado de aprisionamento de átomos

ICP-MS –	Espectrometria de massas acoplada com plasma de argônio
ICP-OES –	Espectrometria de emissão óptica acoplada com plasma de argônio
ICP-TOFMS –	Espectrometria de massas por tempo-de-vôo acoplado com plasma de argônio
LA-ICP-MS –	Espectrometria de massas acoplado com plasma de argônio com ablação a laser
LCO –	Lâmpada de cátodo oco
OMS –	Organização Mundial de Saúde
PEEK –	Diéter poli cetona
PET –	Polietileno tereftalato
SS-GFAAS –	Espectrometria de absorção atômica com forno de grafite com amostragem de sólidos
STAT –	Tubo de quartzo com fenda longitudinal
STPF –	Temperatura estabilizada na plataforma do forno de grafite
T_{eff} –	Temperatura estimada do vapor da chama ou de um tubo atomizador.
TFM –	Tetraflúoretileno modificado (Tetrafluoro ethylene modified)
THGA –	Tubo de grafite com aquecimento transversal (Perkin Elmer)
THGA <i>end-capped</i> –	Tubo de grafite tipo THGA com aberturas laterais restritivas (Perkin Elmer)
THGA <i>standard</i> -	Tubo de grafite com aquecimento transversal do tipo padrão (Perkin Elmer)
TS-FF-AAS –	Espectrometria de absorção atômica com introdução de amostra por nebulização térmica em forno aquecido por chama

LISTA DE TABELAS

TABELA 2.2.2.1.1	Comparação dos limites de detecção para elementos determinados por FAAS com tubo de quartzo com fenda e sem tubo	18
TABELA 2.2.2.2.2	Limites de detecção obtidos na determinação de Ag, Cd, Cu, Fe, In, Mn, Pb, Tl e Zn em cerveja utilizando o aprisionamento de átomos com tubo integrado	22
TABELA 2.3.1	Tendência de acúmulo de elementos químicos em vários vegetais	41
TABELA 4.2.4.1	Programa de aquecimento para digestão de amostras de alimentos assistida por microondas	62
TABELA 4.3.1	Parâmetros operacionais para determinação de Cd, Pb, Tl e Zn por BIFF-AAS	65
TABELA 4.4.1	Programa de aquecimento para determinação de Cd e Pb em digeridos e extratos de alimentos por GFAAS ...	66
TABELA 5.1.1.1	Parâmetros recomendados para determinação de Cd no sistema BIFF-AAS	87
TABELA 5.1.2.1	Parâmetros recomendados para determinação de Pb no sistema BIFF-AAS	97
TABELA 5.1.3.1	Parâmetros recomendados para determinação de Zn no sistema BIFF-AAS	103
TABELA 5.1.4.1	Parâmetros recomendados para determinação de Tl no sistema BIFF-AAS	107
TABELA 5.2.1	Sinais analíticos obtidos para $100 \mu\text{g l}^{-1}$ Cd na presença de diversas concentrações de Na em água desionizada no espectrômetro sem corretor de fundo.....	110

TABELA 5.2.2	Sinais analíticos obtidos para 1000 $\mu\text{g l}^{-1}$ Pb na presença de diversas concentrações de Na em água desionizada no espectrômetro sem corretor de fundo.....	112
TABELA 5.2.3	Sinais analíticos obtidos para 100 $\mu\text{g l}^{-1}$ Zn na presença de diversas concentrações de Na em água desionizada no espectrômetro sem corretor de fundo.....	114
TABELA 5.3.1.1	Condições recomendadas para extração de Cd, Pb e Zn em amostras biológicas com sonda e banho ultrassônico.....	122
TABELA 5.4.1	Concentrações características de Cd, Pb, Zn e Tl com nebulização pneumática e por sistema BIFF-AAS	127
TABELA 5.4.2	Comparação de métodos para determinação de Cd em alimentos por BIFF-AAS e GFAAS.....	128
TABELA 5.4.3	Determinação de Cd por BIFF-AAS e GFAAS em amostras de águas de efluentes e interiores conservadas em HNO_3 0,01 % (v/v) e material de referência certificado.....	129
TABELA 5.4.4	Comparação de métodos para determinação de Pb em alimentos por BIFF-AAS e GFAAS.....	130
TABELA 5.4.5	Determinação de Pb por BIFF-AAS e GFAAS em amostras de águas de efluentes e interiores conservadas em HNO_3 0,01 % (v/v) e material de referência certificado.....	131
TABELA 5.4.6	Comparação de métodos para determinação de Zn em alimentos por BIFF-AAS e GFAAS.....	132
TABELA 5.4.7	Determinação de Zn por BIFF-AAS e GFAAS em amostras de águas de efluentes e interiores conservadas em HNO_3 0,01 % (v/v) e material de referência certificado.....	133

TABELA 5.4.8	Comparação das características analíticas obtidas com o sistema BIFF-AAS e com FAAS utilizando nebulização pneumática.....	135
TABELA 5.5.1	Recuperação de Tl nas amostras de alimentos contaminados com 30 µg Tl.....	138

LISTA DE FIGURAS

FIGURA 2.2.1.1	Arranjo esquemático do tubo de absorção proposto por FUWA & VALEE.....	12
FIGURA 2.2.1.2	Tubo com abertura central utilizado por ZELYUKOVA & POLUEKTOV.....	13
FIGURA 2.2.1.3	Tubo de absorção proposto por AGASSI	14
FIGURA 2.2.1.4	Tubo de quartzo e vidro aquecido com forno. Sistema proposto por HINGLE	15
FIGURA 2.2.1.5	Arranjo esquemático do tubo de absorção proposto por RUBESKA	16
FIGURA 2.2.2.1.1	Tubo de quartzo com fenda (Varian mod. ACT-80) colocado em um suporte sobre o queimador. Foto adaptada de MOFFET	19
FIGURA 2.2.2.2.2	Sistema de “aprisionamento de átomos” (ATFAAS) utilizado por SUN <i>et al.</i>	20
FIGURA 2.2.2.2.3	Sistema integrado de aprisionamento de átomos (IAT) desenvolvido por MATUSIEWICZ & KOPRAS.....	21
FIGURA 2.2.2.4.1	Aerossol gerado na esfera de impacto no sistema de nebulização hidráulica de alta pressão	25
FIGURA 2.2.3.1.1	Sistema BIFF-AAS adaptado a um espectrômetro de absorção atômica com chama	27
FIGURA 2.2.3.1.2	Nozzle com microcanal e filtro de proteção integrado utilizado no sistema BIFF-AAS	29
FIGURA 2.2.3.2.1	Sistema de amostragem direta de sólidos com válvula aberta para introdução de amostra proposta por FLORES <i>et al.</i>	33

FIGURA 2.2.3.2.2	Arranjo esquemático do sistema de nebulização térmica em forno aquecido por chama (TS-FF-AAS) utilizado por PEREIRA-FILHO <i>et al.</i>	35
FIGURA 2.2.3.3.1	Sistema de introdução de amostra com barqueta (a) e copo DELVES (b)	37
FIGURA 2.2.3.3.2	Tubo na chama desenvolvido por ALVARADO & JAFFE (a) centro do tubo preso na barra e (b) lateral do tubo presa na barra	38
FIGURA 3.5.1	Arranjo esquemático do sistema BIFF-AAS	51
FIGURA 3.5.2	Detalhe do conjunto suporte, anel de vedação, nozzle e conectores do BIFF-AAS. Frente e verso do nozzle utilizado	51
FIGURA 3.5.3	Fotos do nozzle: (a) vista de frente e (b) verso	52
FIGURA 3.5.4	Foto do tubo atomizador com orifício centralizado onde o jato de líquido é introduzido	53
FIGURA 3.5.5	Fotos dos tubos atomizadores a 90 ° do orifício de introdução do jato de líquido	53
FIGURA 4.1.2.2	Esquema do sistema de zonas coalescentes utilizado no estudo de interferentes.....	58
FIGURA 5.1.1.1	Efeito da vazão da solução carregadora no sistema BIFF-AAS no sinal analítico de 100 µg l ⁻¹ Cd	73
FIGURA 5.1.1.2	Efeito da vazão de C ₂ H ₂ no sinal analítico de 100 µg l ⁻¹ Cd	76
FIGURA 5.1.1.3	Tubos atomizadores sobre a chama do queimador do espectrômetro	77
FIGURA 5.1.1.4	Efeito da vazão de ar no sinal analítico de 100 µg l ⁻¹ Cd	78

FIGURA 5.1.1.5	Efeito da razão da mistura gasosa C_2H_2/ar na temperatura da chama. Valores calculados por ALKEMADE <i>et al.</i>	79
FIGURA 5.1.1.6	Efeito da vazão de solução carregadora (água desionizada) na temperatura da fase vapor do analito no tubo atomizador com 6 furos sobre a chama do FAAS. Par termométrico Sn I 286,3 nm e Sn II 284,0 nm.	81
FIGURA 5.1.1.7	Comparação da sensibilidade para razões C_2H_2/ar proporcionais. Dados para $100 \mu g l^{-1} Cd$	82
FIGURA 5.1.1.8	Efeito do tipo de tubo atomizador no sinal analítico de $100 \mu g l^{-1} Cd$	84
FIGURA 5.1.1.9	Efeito do volume de amostra na magnitude do sinal analítico de $100 \mu g l^{-1} Cd$	85
FIGURA 5.1.1.10	Efeito do volume de amostra nos sinais transientes de solução $100 \mu g l^{-1} Cd$	86
FIGURA 5.1.2.1	Efeito da vazão da solução carregadora no sinal analítico de $1000 \mu g l^{-1} Pb$	88
FIGURA 5.1.2.2	Efeito da vazão de C_2H_2 no sinal analítico de $1000 \mu g l^{-1} Pb$	89
FIGURA 5.1.2.3	Efeito da vazão de ar no sinal analítico de $1000 \mu g l^{-1} Pb$	90
FIGURA 5.1.2.4	Comparação de sensibilidade para razões C_2H_2/ar proporcionais. Dados para $1000 \mu g l^{-1} Pb$	91
FIGURA 5.1.2.5	Efeito do tipo de tubo atomizador no sinal analítico de $1000 \mu g l^{-1} Pb$	92

FIGURA 5.1.2.6	Tubo atomizador com furos sobre a chama do queimador. Nebulização pneumática com (a) água, (b) Ba, (c) Na (d) Sr em chama oxidante. (e) e (f) envolvimento/contorno de uma chama redutora no tubo atomizador com introdução de água e solução de Na, respectivamente	94
FIGURA 5.1.2.7	Efeito do volume de amostra na magnitude do sinal analítico de $1000 \mu\text{g l}^{-1}$ Pb	96
FIGURA 5.1.3.1	Efeito da vazão da $\mu\text{g l}^{-1}$ Pb solução carregadora no sinal analítico de $100 \mu\text{g l}^{-1}$ Zn	98
FIGURA 5.1.3.2	Efeito da vazão de C_2H_2 no sinal analítico de $100 \mu\text{g l}^{-1}$ Zn	99
FIGURA 5.1.3.3	Efeito da vazão de ar no sinal analítico de $100 \mu\text{g l}^{-1}$ Zn	100
FIGURA 5.1.3.4	Comparação de sensibilidade para razões $\text{C}_2\text{H}_2/\text{ar}$ proporcionais. Dados para de $100 \mu\text{g l}^{-1}$ Zn	101
FIGURA 5.1.3.5	Efeito do tipo de tubo atomizador no sinal analítico de $100 \mu\text{g l}^{-1}$ Zn	102
FIGURA 5.1.4.1	Efeito da vazão da solução carregadora no sinal analítico de $100 \mu\text{g l}^{-1}$ Tl	104
FIGURA 5.1.4.2	Efeito da vazão de C_2H_2 no sinal analítico de $100 \mu\text{g l}^{-1}$ Tl	105
FIGURA 5.1.4.3	Efeito do tipo de tubo atomizador no sinal analítico de $100 \mu\text{g l}^{-1}$ Tl	106
FIGURA 5.2.1	Influência de 2000 mg l^{-1} concomitantes no sinal analítico de $100 \mu\text{g l}^{-1}$ Cd utilizando sistema BIFF-AAS em espectrômetro sem sistema de correção de fundo	109

FIGURA 5.2.2	Influência de 2000 mg l ⁻¹ concomitantes no sinal analítico de 1000 µg l ⁻¹ Pb utilizando sistema BIFF-AAS em espectrômetro sem sistema de correção de fundo	111
FIGURA 5.2.3	Influência de 2000 mg l ⁻¹ concomitantes no sinal analítico de 100 µg l ⁻¹ Zn utilizando-se sistema BIFF-AAS em espectrômetro sem sistema de correção de fundo	113
FIGURA 5.2.4	Interferências provocadas por Na no sinal analítico de 100 µg l ⁻¹ Cd, 1000 µg l ⁻¹ Pb e 100 µg l ⁻¹ Zn no sistema BIFF-AAS utilizando espectrômetro sem sistema de correção de fundo.....	115
FIGURA 5.3.1.1	Extração de Cd em suspensão 2,0 % m/v de alface crespa em meio contendo HNO ₃ utilizando banho ultra-sônico com potência média de 90 W. Tempos de sonicação: (a) 5 min; (b) 10 min; (c) 20 min; (d) 30 min	118
FIGURA 5.3.1.2	Extração de Pb em suspensão 2,0 % m/v de alface crespa em meio contendo HNO ₃ utilizando banho ultra-sônico com potência média de 90 W. Tempos de sonicação: (a) 5 min; (b) 10 min; (c) 20 min; (d) 30 min	120
FIGURA 5.3.1.3	Extração de Zn em suspensão 2,0 % m/v de alface crespa em meio contendo HNO ₃ utilizando banho ultra-sônico com potência média de 90 W. Tempos de sonicação: (a) 5 min; (b) 10 min; (c) 20 min; (d) 30 min	121
FIGURA 5.4.1	Curvas analíticas de calibração para Cd, Pb, Zn e Tl por FAAS com nebulização pneumática	124
FIGURA 5.4.2	Curva analítica de calibração e sinais analíticos obtidos para Cd pelo sistema BIFF-AAS	125
FIGURA 5.4.3	Curva analítica de calibração e sinais analíticos obtidos para Pb pelo sistema BIFF-AAS	125

FIGURA 5.4.4	Curva analítica de calibração e sinais analíticos obtidos para Zn pelo sistema BIFF-AAS	126
FIGURA 5.4.5	Curva analítica de calibração e sinais analíticos obtidos para Tl pelo sistema BIFF-AAS	126

RESUMO

DETERMINAÇÃO DE CÁDMIO, CHUMBO, TÁLIO E ZINCO EM ÁGUAS E ALIMENTOS POR ESPECTROMETRIA DE ABSORÇÃO ATÔMICA COM INJEÇÃO DE AMOSTRA EM FORNO AQUECIDO POR CHAMA (BIFF-AAS)

Avaliou-se um sistema de atomização baseado na introdução da amostra na forma de um jato líquido em um tubo atomizador posicionado sobre o queimador de um espectrômetro de absorção atômica com chama.

O sistema de injeção de amostra em forno aquecido por chama (BIFF-AAS) foi constituído por uma bomba de pistão para transporte da solução carregadora e da amostra, uma válvula Rheodyne para injeção da amostra, tubos de transmissão de PEEK (0,7 mm d.i.) e um nozzle (restritor) com filtro integrado, feito de PEEK, com canal (50 μm d.i. e 200 μm comprimento) para geração do jato de líquido. O tubo atomizador consistiu de um tubo de super liga de níquel (1 cm d.i. e 10 cm comprimento) colocado em um suporte com pinos de cerâmica fixados nas laterais do queimador. Os efeitos da vazão de solução carregadora (1 a 2 ml min^{-1}), volume de injeção de amostra, composição da mistura dos gases combustível e oxidante ($\text{C}_2\text{H}_2/\text{ar}$), vazão total da mistura gasosa, diâmetro e número de furos no tubo atomizador foram criticamente investigados na atomização dos analitos. A importância da entrada dos gases da chama no interior do tubo atomizador também foi avaliada. Para melhor entendimento dos processos de atomização, utilizou-se um pirômetro ótico para medidas de temperatura na parede externa do tubo e o método das duas linhas com pares termométricos de Sn e Pb (SnI 286,3 e 284,0 nm; PbI 386,3 e 280,2 nm) para medidas de temperatura na fase vapor dentro do tubo. A entrada dos gases da chama no interior do tubo atomizador foi decisiva para a atomização de Cd, Pb, Tl e Zn. Por outro lado, verificou-se que a temperatura da fase vapor diminui de, aproximadamente, 1500 °C para 1100 °C quando a solução carregadora é introduzida no tubo,

limitando o uso deste método de atomização apenas para elementos voláteis. O efeito de concomitantes, geralmente presentes em amostras de águas e alimentos, foi insignificante em espectrômetros equipados com sistema de correção de fundo com lâmpada de D₂. No espectrômetro sem corretor de fundo, apenas o Na em concentrações acima de 1000 mg l⁻¹ apresentou interferência espectral significativa. Os limites de detecção obtidos foram 0,65 µg l⁻¹ Cd, 32,0 µg l⁻¹ Pb, 8,0 µg l⁻¹ Tl e 5,0 µg l⁻¹ Zn. O coeficiente de variação das medidas (n=3) foi de 3 a 9 % e o sistema possibilita a análise de 60 amostras h⁻¹ após o preparo.

Em comparação com a espectrometria de absorção atômica com chama com introdução de amostra por nebulização pneumática, os limites de detecção com o sistema BIFF-AAS melhoraram 26 vezes para Cd, 20 vezes para Pb, 4 vezes para Zn e 12 vezes para Tl. Os resultados obtidos na determinação de Cd, Pb e Zn em amostras de águas e alimentos por BIFF-AAS apresentaram boa concordância com os obtidos por espectrometria de absorção atômica com atomização eletrotérmica em forno de grafite e nenhuma diferença foi encontrada entre os resultados obtidos (teste-*t* ao nível de 95%) e os valores certificados de materiais de referência certificados. A recuperação de Tl adicionado às amostras de águas e alimentos ficou entre 98 e 102%.

Finalmente, esse método simples pode ser utilizado com sucesso na determinação de Cd e Pb em alimentos, tanto em digeridos como em extratos obtidos por sonicação de suspensões, pois atende aos critérios recomendados pela Organização Mundial de Saúde (Codex Alimentarius Commission). Para águas, o sistema atende as exigências do Conselho Nacional do Meio Ambiente para Cd em todas as classes e para Pb a partir da classe 3.

ABSTRACT

DETERMINATION OF CADMIUM, LEAD, THALIUM AND ZINC IN WATERS AND FOOD SAMPLES BY BEAM INJECTION FLAME FURNACE ATOMIC ABSORPTION SPECTROMETRY

A flame atomic absorption method based on the introduction of a liquid sample jet into a heated tube placed in the burner head of the spectrometer was evaluated for the determination of Cd, Pb, Tl and Zn in foods and waters.

The beam injection flame furnace system consisted of a piston pump, a Rheodyne valve for sample injection, PEEK tube transmission lines (0.7 mm inner diameter), a nozzle made from PEEK with a channel (50 μm inner diameter; 200 μm long) and an integrated filter, for liquid jet generation. The flame furnace consisted of a Ni-base superalloy tube (1 cm inner diameter; 10 cm long) positioned in the flame, held by ceramic pins fixed at both ends of the burner head. The effects of sample carrier flow rate (1 to 2 ml min^{-1}), sample injection volume, composition of fuel/oxidant mixture (C_2H_2 / air), total flow rate of gaseous mixture, diameter and number of holes in the tube atomizer on analytes atomization are presented. The importance of flame gases introduced through the holes into the tube atomizer was also investigated. For better understanding the atomization process, an optical pyrometer was used to measure external tube wall temperature, and the two lines method with Sn and Pb thermometric atomic lines (SnI 286.3 and 284.0 nm; PbI 368.3 and 280.2 nm) for measuring the gas phase temperature inside the tube. Entrance of flame gases into the tube atomizer was decisive for the atomization of Cd, Pb, Tl, and Zn. On the other hand, it was demonstrated that the gas phase temperature drops from ca. 1600 $^\circ\text{C}$ to 1200 $^\circ\text{C}$ when the water jet is introduced into the atomizer. This explains why this method is restricted to more volatile elements. The effect of concomitants usually present in food and water

samples was negligible in spectrometers furnished with D₂ background correction system. Without background correction, only Na in high concentrations (> 1000 mg l⁻¹) showed significant spectral interference. Limits of detection were 0.65 µg l⁻¹ Cd, 32.0 µg l⁻¹ Pb, 8.0 µg l⁻¹ Tl e 5.0 µg l⁻¹ Zn. The relative standard deviation of measurements (n=3) varied from 3 to 9% and up to 60 samples can be analyzed per hour. In comparison with flame atomic absorption spectrometry with sample introduction by pneumatic nebulization, the limits of detection with BIFF-AAS improved 26 times for Cd, 20 times for Pb, 4 times for Zn and 12 times for Tl. Results obtained for determination of Cd, Pb, and Zn in water and food samples by BIFF-AAS showed good agreement with those obtained by graphite furnace atomic absorption spectrometry, and no differences were found between results at 95% confidence level by the *t*-test, when using certified reference materials. Recoveries of thallium spiked in food and water samples were in the 98-102% range.

For food analysis the BIFF-AAS system showed compatibility with centrifuged slurry food extracts obtained by ultrasound assisted extraction, as well as with the acid digests. Finally, this simple method can be successfully used for the determination of Cd and Pb in foods (useful for checking WHO Codex Alimentarius Commission criteria). It can also be recommended for the determination of Cd and Pb (except classes 1 and 2) in waters, following the CONAMA (National Environmental Council of Brazil) legislation.

SUMÁRIO

1 – Introdução	01
1.1 – Objetivos	03
2 – Revisão Bibliográfica	05
2.1 – A espectrometria de absorção atômica	06
2.2 – O sistema de nebulização	09
2.2.1 – Desenvolvimento dos dispositivos de nebulização e atomização	11
2.2.2 – Métodos baseados na introdução de amostras em câmara de nebulização	17
2.2.2.1 – Tubo de quartzo com fenda longitudinal (STAT) e tubo de aprisionamento de átomos	17
2.2.2.3 - Métodos empregando sistema de injeção em fluxo (FIA)	23
2.2.2.4 – Nebulização hidráulica sob alta pressão (HHPN)	24
2.2.3 – Métodos baseados na introdução da amostra em tubos sobre a chama	26
2.2.3.1 – Injeção de amostra em forno aquecido por chama (BIFF)	26
2.2.3.2 – Amostragem de sólidos e nebulização térmica	31
2.2.3.3 – Introdução de amostra em copo e barqueta	36
2.3 – A importância da determinação de Cd, Pb, Tl e Zn	39
3 – Materiais e Métodos	45
3.1 – Instrumentação	46
3.2 – Reagentes e soluções	47
3.3 – Descontaminação dos materiais	49
3.4 – Amostras e materiais de referência certificados	50

3.5 – O sistema BIFF-AAS	50
4 – Procedimento Experimental	55
4.1 – Sistema BIFF-AAS	56
4.1.1 – Efeitos da vazão da solução carregadora, do volume de amostra inserida, da mistura gasosa e do tipo de tubo atomizador .	56
4.1.2 – Estudo de interferentes	58
4.2 – Preparo de amostras	59
4.2.1 – Coleta	59
4.2.1.1 – Águas	59
4.2.1.2 – Alimentos	60
4.2.1.3 – Peixe e bivalvo (<i>Anodontites trapezialis</i>)	60
4.2.2 – Secagem	60
4.2.3 – Moagem criogênica	61
4.2.4 – Digestão	62
4.2.5 – Extração	63
4.3 – Determinação de Cd, Pb, Zn e Tl por BIFF-AAS	65
4.4 – Programa de aquecimento do forno de grafite	66
4.5 – Adição e recuperação de Tl nas amostras de águas e alimentos .	66
5 – Resultados e Discussão	69
5.1 – Avaliação do sistema BIFF-AAS	70
5.1.1 – Avaliação do sistema BIFF-AAS para a determinação de cádmio	72
5.1.2 – Avaliação do sistema BIFF-AAS para a determinação de chumbo	87
5.1.3 – Avaliação do sistema BIFF-AAS para a determinação de zinco	97
5.1.4 – Avaliação do sistema BIFF-AAS para a determinação de tálio	104

5.2 – Estudo de interferentes	108
5.3 – Preparo de amostras	116
5.3.1 – Avaliação do método de extração ultra-sônica no preparo de amostras para determinação de Cd, Pb, Tl e Zn no sistema BIFF-AAS	116
5.4 – Determinação de Cd, Pb, Zn e Tl nas amostras de águas interiores e alimentos por BIFF-AAS, FAAS e GFAAS	124
5.5 – Adição e recuperação de Tl nas amostras de águas e alimentos .	137
6 – Conclusões	139
7 – Referências Bibliográficas	143

Capítulo 1

Introdução

1 – Introdução

A espectrometria de absorção atômica com chama (FAAS) é uma das técnicas mais utilizadas para a determinação de elementos em uma infinidade de amostras¹. A técnica, mesmo na sua conhecida versão monoelementar, é rápida e de operação simples. O equipamento com acessórios é de baixo custo, assim como o próprio custo operacional. A espectrometria de absorção atômica apresenta excelente seletividade espectral, o que a torna uma técnica atraente¹⁻³, mas a atomização com chama é raramente utilizada para a determinação de elementos presentes em baixas concentrações, devido à insuficiente sensibilidade³. Durante a segunda metade dos anos 60 houve uma melhora na sensibilidade da FAAS com o desenvolvimento dos nebulizadores pneumáticos⁴. No entanto, ainda hoje, esse tipo de nebulizador apresenta baixa eficiência de nebulização (< 10 %). Nessa época, também se verificou que não apenas o nebulizador, mas o sistema nebulizador-atomizador, seria a parte mais importante para melhora da sensibilidade e do limite de detecção da espectrometria de absorção atômica com chama. Nesse sentido, muitos estudos foram feitos visando ao desenvolvimento de novos sistemas de nebulização para melhoria do transporte do aerossol líquido/gasoso de amostra para a chama. Ainda nos anos 60, tubos atomizadores foram propostos com o objetivo de prolongar do tempo de residência dos átomos no volume de absorção⁵. Alguns trabalhos foram realizados depositando-se a amostra líquida em uma barqueta sobre a chama (boat-in-flame) ou em um copo de Delves (ambos de tântalo⁴) e essa amostra, após a dessolvatação próxima à chama, era colocada sob um tubo com fenda posicionado sobre o queimador.

Outros métodos foram propostos visando ao aumento da sensibilidade e melhoria do limite de detecção da FAAS, como o “aprisionamento de átomos”, o tubo de quartzo com fenda⁷, a nebulização térmica, a nebulização hidráulica sob alta pressão² e outros, citados ao longo desse trabalho.

Recentemente, um novo sistema de atomização descrito por GÁSPAR & BERNDT⁸, denominado BIFF-AAS (do inglês "*Beam Injection Flame Furnace-Atomic Absorption Spectrometry*"), foi proposto. Esse sistema se baseia na injeção de um jato da amostra líquida diretamente dentro de um tubo colocado sobre a chama de um espectrômetro de absorção atômica convencional. Assim, como em um sistema de análise por injeção em fluxo, a amostra é introduzida em uma solução carregadora, a qual é impulsionada por uma bomba peristáltica ou de pistão, e transportada em direção ao atomizador colocado sobre o queimador no espectrômetro. Como a amostra é totalmente transportada para o tubo atomizador e há um aumento do tempo de residência dos átomos no volume de observação, os limites de detecção obtidos para 17 elementos em soluções aquosas foram de 1,5 a 69 vezes melhores em comparação com a nebulização pneumática convencional.

1.1 – Objetivos

O objetivo deste trabalho foi avaliar o desempenho do novo atomizador BIFF e desenvolver metodologias para a determinação de Cd, Pb, Tl e Zn em águas e alimentos, de forma a atender as recomendações das organizações ambientais e de saúde (CONAMA, CETESB e OMS) e critérios recomendados pelo Codex Alimentarius Commission⁹.

Capítulo 2

Revisão Bibliográfica

2 – REVISÃO BIBLIOGRÁFICA

2.1 – A espectrometria de absorção atômica

A espectrometria de absorção atômica com chama é uma das técnicas espectrométricas mais antigas. Por muitos anos ela foi a principal técnica de determinação de elementos químicos e, hoje em dia, é difícil imaginar um laboratório de rotina analítica sem esse equipamento. Devido a sua simplicidade e economia, desde 1960 muitos avanços foram realizados empregando a técnica com chama que, em parte, substituiu com sucesso as técnicas de emissão atômica com arco ou faísca⁴.

Na teoria, a AAS é simples: átomos gasosos no estado fundamental são gerados no caminho óptico do espectrômetro pelo atomizador e uma medida da absorção da radiação no comprimento de onda específico do elemento de interesse é realizada. A magnitude dessa absorção está diretamente relacionada com a concentração do elemento presente na amostra.

Os primeiros estudos da espectrometria de absorção atômica como técnica analítica foram feitos em 1955 por ALAN WALSH¹⁰. Com base no princípio da absorção de KIRCHHOFF e BUNSEN e na lei quântica de absorção e emissão de radiação proposta por PLANCK, ele propôs o conceito da espectrometria de absorção atômica e montou o primeiro protótipo de um espectrômetro de absorção atômica. No mesmo ano, ALKEMADE & MILATZ¹¹ também propuseram um espectrômetro de absorção atômica, porém, devido às contribuições no desenvolvimento das lâmpadas de cátodo oco, WALSH é, reconhecidamente, o pai da técnica.

As aplicações da AAS foram ampliadas quando POLUEKTOV & VITKUN¹² em 1963, propuseram a determinação de Hg pelo método da geração do vapor a frio (CVAAS), que consistiu na redução de íons de mercúrio (II) a mercúrio no estado fundamental, com posterior transporte dos átomos gasosos para uma célula de quartzo colocada no caminho óptico do atomizador. Em 1966, a

utilização da chama óxido nitroso-acetileno com características redutoras e temperatura máxima de 2850 °C, proposta por AMOS & WILLIS¹³, permitiu a atomização de diversos elementos refratários que não atomizavam eficientemente na chama ar-acetileno (temperatura máxima de 2250 °C). Em 1969, HOLAK¹⁴ propôs a determinação de As, Bi, Pb, Sb, Se, Sn e Te via geração de hidretos gasosos com a posterior atomização em uma célula de quartzo aquecida com temperatura entre 800 e 1200 °C (HGAAS).

Entretanto, apesar de todos esses desenvolvimentos, verificou-se que no final da década de 70, ocorreu uma diminuição do número de publicações em FAAS, CVAAS e HGAAS e um aumento das publicações sobre a ETAAS, principalmente com atomização em forno de grafite⁵. Nessa época, a atomização eletrotérmica foi melhorada com avanços na tecnologia eletrônica e na proposição das condições STPF (“Stabilized Temperature Platform Furnace”) em 1979, por MANNING *et al.*¹⁵.

Apesar disso, os espectrômetros de absorção atômica com chama, ainda hoje, praticamente lideram o mercado de vendas para laboratórios de prestação de serviços analíticos e de indústrias. A diminuição do número de publicações e o aumento das vendas indicam que a espectrometria de absorção atômica tornou-se uma técnica analítica madura durante sua existência de mais de 50 anos, sendo comumente utilizada na sua conhecida versão monoelementar¹⁶. Recentemente, a utilização de microprocessadores facilitou a operação dos espectrômetros de absorção atômica, que hoje em dia são conectados a softwares que permitem o total gerenciamento dos dispositivos, bem como dos acessórios ligados ao equipamento (autoamostrador, bomba injetora, fonte de corrente elétrica para lâmpadas) obtendo-se assim, maior rapidez no ajuste dos parâmetros operacionais. Além disso, a FAAS como técnica monoelementar vem sendo constantemente aprimorada. Um exemplo é o desenvolvimento de equipamentos de absorção atômica com fonte contínua de xenônio (CS-AAS) que, durante os anos 90, foi possível graças ao aumento da resolução dos policromadores Echelle e

utilização de detectores de estado sólido. Segundo HARNLY¹⁷, esse novo espectrômetro apresenta, como vantagens, a utilização de apenas uma fonte de radiação para determinação simultânea de vários elementos e melhoria do limite de detecção de 1,5 a 2 vezes, em comparação com a espectrometria de absorção atômica com a lâmpada de cátodo oco. Esse tipo de equipamento já está comercialmente disponível¹⁸.

Mas, infelizmente, a FAAS é raramente utilizada para determinação de elementos em baixas concentrações, devido à sua insuficiente sensibilidade³. Essa desvantagem pode ser atribuída, principalmente, a dois fatores: baixa eficiência de nebulização da amostra até o atomizador (< 10 %) e o curto período de residência dos átomos do analito na chama (< 5 ms)⁸. Sendo assim, elementos presentes em baixas concentrações têm sido determinados por métodos mais sensíveis, como a atomização em forno de grafite, mas que infelizmente, apresenta alto custo em consumíveis, acessórios e manutenção.

Com o objetivo de melhorar a sensibilidade da FAAS, muitos métodos têm sido propostos com diversas alternativas para a introdução de amostras.

- Métodos baseados na introdução de amostras em câmara de nebulização:
 - tubo de quartzo com fenda longitudinal¹⁹⁻²⁵ (“slotted quartz tube”)
 - tubo para aprisionamento de átomos^{7,26-28} (“atom trap”)
 - minicolunas em sistemas FIA²⁹⁻³⁵
 - extração por solventes³⁶⁻³⁸
 - nebulização hidráulica sob alta pressão³⁹⁻⁴⁸

- Métodos baseados na introdução da amostra em tubos sobre a chama:
 - injeção de amostra em forno aquecido por chama⁴⁹⁻⁵²
 - amostragem de sólidos⁵³⁻⁵⁵
 - nebulização térmica⁵⁶⁻⁶¹
 - copo de Delves⁶² e barqueta⁶³⁻⁶⁴
 - tubo na chama⁶⁵⁻⁶⁶ (“tube in flame”)

Como a proposta do trabalho é a avaliação de um novo sistema nebulizador-atomizador para o espectrômetro de absorção atômica com chama, os principais desenvolvimentos desse dispositivo serão discutidos detalhadamente a seguir.

2.2 – O sistema de nebulização

A função de um sistema de nebulização no espectrômetro de absorção atômica com chama é a conversão da solução da amostra líquida em um aerossol (gotículas dispersas em gás) e seu transporte até o atomizador⁵. As gotículas entram na câmara de nebulização e chegam ao queimador transportadas pela mistura dos gases combustível e oxidante. O nebulizador, normalmente, é constituído em aço inoxidável, ou material inerte, e o queimador em titânio para resistir às elevadas temperaturas. A parte interna da câmara de nebulização é fabricada com um material inerte a corrosão, podendo ser metálico ou plástico¹⁶.

O nebulizador pneumático é o dispositivo mais utilizado para produção do aerossol da amostra líquida em espectrômetros de absorção atômica com chama^{4,5,16,67-68}. O desenvolvimento dos nebulizadores pneumáticos, da forma como hoje são conhecidos, baseou-se no antigo trabalho de GOUY⁶⁹ e de HEINEMANN⁷⁰, que estudaram os fatores que influenciavam a eficiência da nebulização: geometria do nebulizador, diâmetro do capilar, pressão dos gases de arraste, estabilidade da taxa de aspiração e viscosidade da solução.

Quando uma solução é aspirada por um nebulizador pneumático, que opera pela ação de um fluxo de gás comprimido, um aerossol primário é gerado. As gotas grandes colidem com uma superfície de impacto, tipo esfera ou barra, dentro da câmara de nebulização, gerando um aerossol secundário com gotículas entre 50 e 0,8 μm . Apenas uma pequena fração desse aerossol secundário (< 10%) se torna terciário (4,5 a 0,8 μm) e chega ao queimador⁷¹. A distribuição do tamanho de gotas e, conseqüentemente, a eficiência de nebulização, dependem do

ajuste da taxa de aspiração da amostra e do tipo de superfície de impacto na saída do nebulizador (esfera ou barra). Geralmente, a taxa de aspiração varia de 3 a 6 ml min⁻¹⁵. Entretanto, se a geometria da câmara de nebulização impedir que gotas pequenas (< 10 µm) atinjam a chama, a sensibilidade será prejudicada. Por outro lado, se gotas grandes (> 20 µm) alcançarem a chama, ocorrerá a incompleta evaporação do solvente, causando a diminuição da fração dessolvatada e, conseqüentemente, da eficiência de atomização. Além disso, essas gotas poderão causar incrustações no queimador e diminuição da temperatura da chama, causando perdas de sensibilidade. A eficiência de nebulização pode ser melhorada, alterando-se a distribuição do tamanho de gotas do aerossol. O uso de um contra-fluxo na saída do nebulizador pode ser utilizado para esse propósito^{5,72-73}. Nesse sistema, um tubo é posicionado em frente à saída do nebulizador dentro da câmara de nebulização. Por esse tubo, a mistura dos gases combustível e oxidante é expelida contra o fluxo da amostra e colide com o aerossol primário proveniente da saída do nebulizador. Esse choque causa o espalhamento das gotas grandes que saem do nebulizador, transformando-as em gotas menores, melhorando a eficiência de nebulização de 2 a 3 vezes, em comparação ao nebulizador pneumático convencional⁷³.

O uso de nebulizadores mais eficientes, em conjunto com atomizadores que permitam um maior tempo de residência dos átomos no estado fundamental no volume de observação, pode melhorar os limites de detecção da técnica, como poderá ser visto a seguir.

2.2.1 – Desenvolvimento dos dispositivos de nebulização e atomização

Alguns estudos para o desenvolvimento de novos sistemas de atomização com chama foram publicados⁷⁴⁻⁷⁸, sendo que alguns desses sistemas foram ou ainda estão comercialmente disponíveis. O principal objetivo era buscar uma forma de confinar os átomos no volume de absorção do feixe de radiação e, assim, aumentar a sensibilidade da técnica.

Em 1963, FUWA & VALEE⁷⁴ adaptaram dois tubos longos sobre a chama de um queimador de consumo total. Um tubo de quartzo com 91 cm de comprimento e 1 cm de diâmetro interno foi colocado dentro de um outro tubo de borossilicato com 99 cm de comprimento. Como isolante térmico, uma camada de 5 mm de espessura de MgO foi colocada entre os tubos. A solução foi nebulizada diretamente em uma chama ar-H₂ por meio de um queimador de consumo total posicionado em um ângulo de 15° do caminho óptico para permitir a entrada da chama sem interferir no feixe de radiação da LCO. Para Cd e Zn, as sensibilidades encontradas foram 3 vezes melhores em comparação com a atomização por chama vertical. Para Co, Ni e Cu, a sensibilidade foi duas vezes melhor e para Mg apenas uma vez. Esse sistema possibilitou que os átomos no estado fundamental permanecessem um maior tempo no caminho óptico, resultando no aumento da sensibilidade. Porém, essa sensibilidade estava restrita ao tempo de residência dos átomos até ocorrerem recombinações com a diminuição da temperatura ao longo do tubo. A temperatura do tubo próxima ao queimador era de 1800 °C, mas a 70 cm era de apenas 500 °C. O arranjo esquemático é mostrado na FIGURA 2.2.1.1

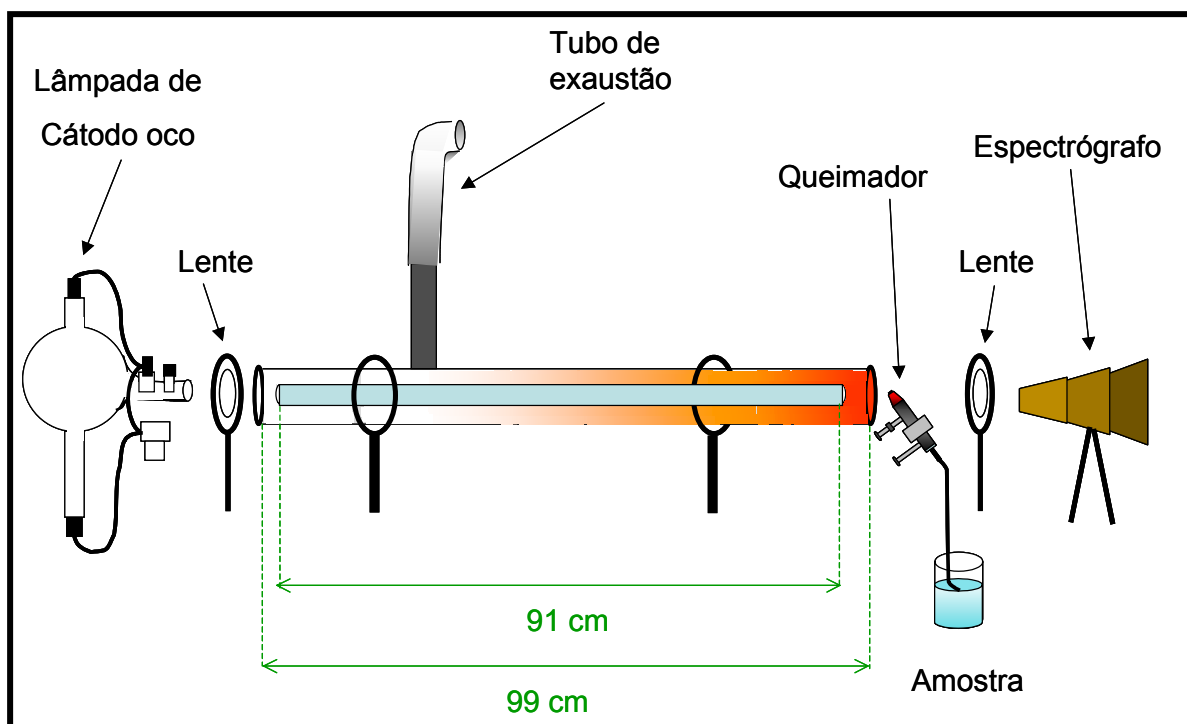


FIGURA 2.2.1.1 – Arranjo esquemático do tubo de absorção proposto por FUWA & VALEE⁷⁴.

Um sistema de nebulização semelhante foi proposto no mesmo ano por ZELYUKOVA & POLUEKTOV⁷⁵. Os autores utilizaram um tubo de quartzo com 70 cm de comprimento e 22 mm de diâmetro interno, posicionado a 10 cm da base de um queimador de consumo total com chama propano-butano ($T = 1920\text{ }^{\circ}\text{C}$). O tubo possuía uma abertura central na parte inferior, onde a chama do queimador era posicionada perpendicularmente. A FIGURA 2.2.1.2 ilustra o sistema utilizado. Os ganhos de sensibilidade foram de aproximadamente 5 vezes para Cu, 8 para Au, 11 para Ag e 14 vezes para Cd, em comparação com a determinação realizada diretamente na chama propano-butano. O aumento de sensibilidade foi atribuído ao maior tempo de residência dos átomos no caminho óptico. Porém, para metais alcalinos, o sistema não apresentou nenhuma melhoria nos limites de detecção e, segundo os autores, isso foi devido ao menor tempo de vida desses átomos no estado fundamental e reações com o quartzo. A diminuição do comprimento do tubo e a introdução da chama em uma abertura central, visando

à obtenção de homogeneidade da temperatura do tubo, não evitaram que as recombinações ocorressem nas partes mais frias, prejudicando a sensibilidade.

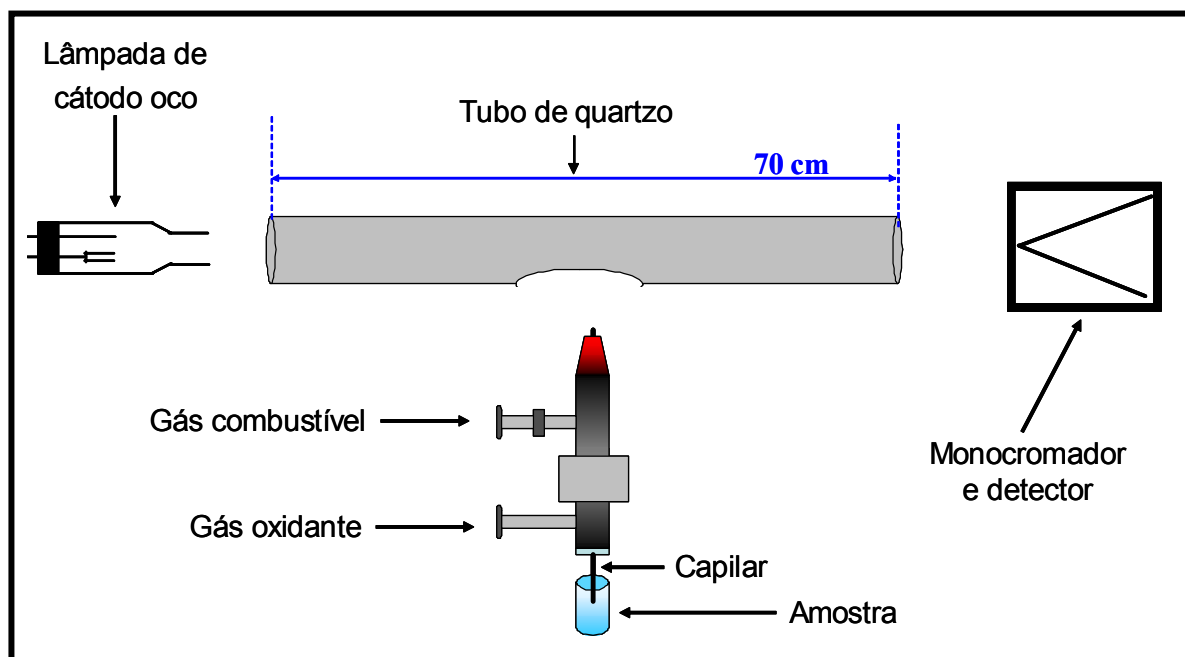


FIGURA 2.2.1.2 – Tubo com abertura central utilizado por ZELYUKOVA & POLUEKTOV⁷⁵.

Em 1965, AGASSI⁷⁶ utilizaram um tubo de quartzo menor com 40 cm de comprimento e 9 mm de diâmetro interno. Nesse sistema (FIGURA 2.2.1.3), uma corrente de ar foi injetada próxima à entrada da amostra pelo queimador Beckman, para evitar o derretimento do tubo com a temperatura da chama O_2-H_2 ($T = 2660\text{ }^\circ C$). Uma outra corrente de ar foi posicionada na saída do tubo para evitar que os gases com alta temperatura atingissem o monocromador. A amostra era injetada no queimador por uma seringa. O limite de detecção encontrado para a determinação de Sn em peróxido de hidrogênio foi de $0,05\text{ mg l}^{-1}$, mas, infelizmente, outros elementos não foram determinados. Os autores verificaram que o diâmetro, o comprimento do tubo e a reflexão do feixe de radiação pelas paredes, afetaram o sinal analítico. Em tubos com diâmetro interno $< 10\text{ mm}$, a sensibilidade foi maior devido ao aumento da concentração de átomos no menor volume de absorção. Em tubos com d.i. $> 10\text{ mm}$, houve o

espalhamento da nuvem atômica e, conseqüentemente, sinais analíticos menores. Com o uso contínuo, o tubo foi sendo recoberto internamente por compostos refratários, sendo necessário refazer as leituras da curva analítica de calibração.

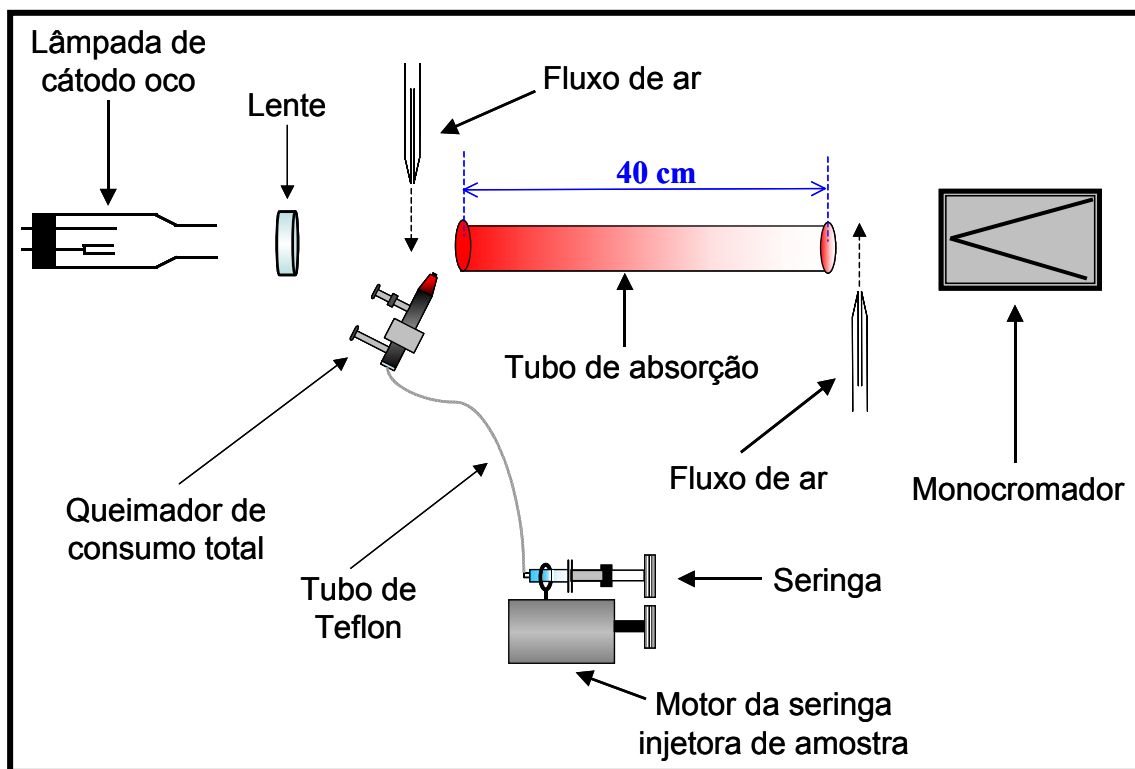


FIGURA 2.2.1.3 – Tubo de absorção proposto por AGASSI⁷⁶.

Um trabalho com princípio similar foi feito por HINGLE *et al.*⁷⁷ em 1968, empregando-se um tubo de quartzo e um forno aquecido por resistência com temperatura entre 300 a 1100 °C (FIGURA 2.2.1.4). Um queimador de consumo total com chama O₂-C₂H₂ (T = 3100 °C) foi utilizado. Para aumento das características reductoras, diminuição dos sinais de fundo e estabilização da chama, uma vez que a vazão de C₂H₂ era inferior a 1,2 l min⁻¹, foi utilizado hidrogênio. No interior do forno, o tubo de quartzo foi unido a um tubo de borossilicato para resistir às altas temperaturas (1100 °C). O acoplamento forno-tubo foi feito na tentativa de evitar o resfriamento do tubo ao longo do caminho óptico e, conseqüentemente, as recombinações. Contudo, nesse sistema houve a formação de incrustações nas paredes do tubo próximas ao queimador de consumo total.

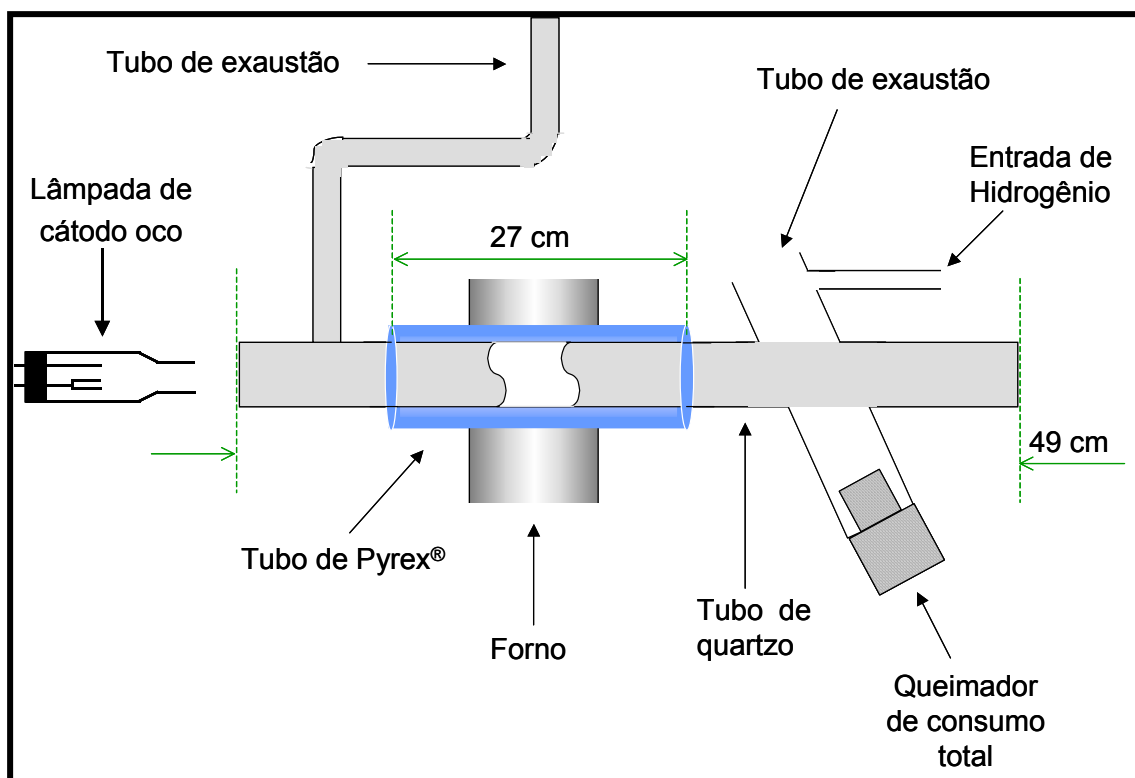


FIGURA 2.2.1.4 - Tubo de quartzo e vidro aquecido em forno. Sistema proposto por HINGLE *et al.*⁷⁷.

No mesmo ano, RUBESKA⁷⁸ utilizaram o mesmo princípio do tubo aquecido com forno para melhoria da sensibilidade do AAS. Um tubo com 45 cm de comprimento e 1,7 cm de diâmetro interno foi colocado no caminho do feixe óptico e aquecido por um forno elétrico. A amostra foi introduzida no queimador de consumo total com chama ar-H₂ (T = 2045 °C) posicionado em um ângulo de 30° da entrada do tubo. O forno foi ligado com 1 h de antecedência e uma corrente de ar foi posicionada na saída do tubo, para evitar que os gases aquecidos atingissem o monocromador (FIGURA 2.2.1.5). Em comparação com a atomização na chama ar-C₂H₂, os limites de detecção foram 10 vezes melhores, para Cd e Ag, e 3 vezes melhor para Pb. No entanto, os autores esclareceram que a precisão das medidas utilizando tubos foi prejudicada em comparação com a chama convencional, sendo que o coeficiente de variação foi de 7,0 % (n=15). Além disso, medidas sucessivas causaram efeitos de memória prejudicando a determinação de elementos em baixas concentrações.

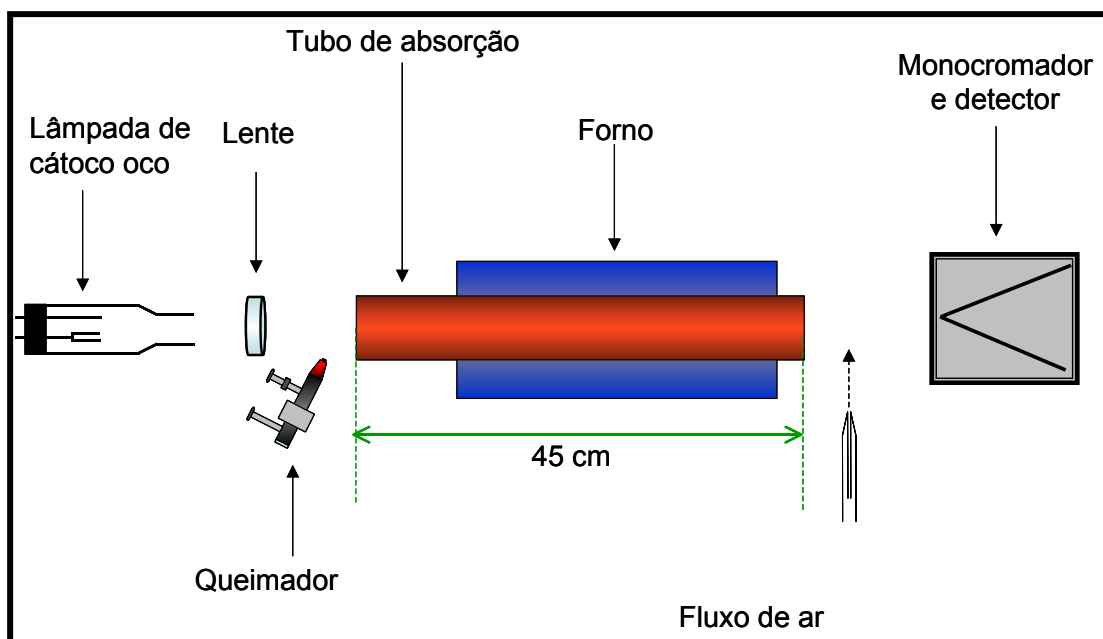


FIGURA 2.2.1.5 – Arranjo esquemático do tubo de absorção proposto por RUBESKA⁷⁸.

Todos os sistemas que utilizaram tubos no caminho óptico para manter os átomos mais tempo no volume de absorção, apresentaram fortes interferências nas regiões de temperaturas mais baixas ao longo do tubo. Além disso, o tempo de passagem dos átomos pelo volume de absorção excedia o tempo de vida dos átomos livres com conseqüente recombinação. As amostras foram nebulizadas pneumáticamente por queimadores de consumo total e gotas grandes, que não foram completamente dessolvatadas, eram introduzidas nos tubos, provocando sinais de absorção não atômica. Essas gotas grandes originavam cristais que, dependendo do teor de sólidos totais dissolvidos na solução, causavam o espalhamento da radiação, além de incrustações e/ou depósitos nas paredes dos tubos⁷⁴⁻⁷⁸.

2.2.2 – Métodos baseados na introdução de amostras em câmara de nebulização

2.2.2.1 – Tubo de quartzo com fenda longitudinal (STAT) e tubo de aprisionamento de átomos

Utilizando o mesmo princípio do confinamento dos átomos no caminho óptico, um tubo de quartzo com fendas posicionado sobre a chama, denominado STAT (Slotted quartz tube atom trap) foi desenvolvido¹⁹⁻²⁵. O comprimento e a largura do tubo e das fendas dependem do fabricante. Geralmente os tubos são feitos de quartzo mas, também, podem ser utilizados aço inox ou grafite. O comprimento dos tubos varia de 120 a 150 mm e a largura varia de 4 a 14 mm. A fenda superior fica entre 120° e 180° da fenda inferior e pode ter um comprimento de 30 a 80 mm. A fenda inferior mede entre 50 e 115 mm de comprimento com 1 a 3 mm de largura e fica alinhada na direção do plano de propagação da chama. Após a nebulização pneumática da amostra, a fração atomizada fica confinada no tubo aquecido por um maior período de tempo no caminho óptico em comparação com a atomização em chama sem a presença do tubo de quartzo. Devido a esse retardo na diluição dos átomos na chama, o uso do tubo de quartzo com fendas aumentou a sensibilidade da técnica. Entretanto, para chamas ricas em combustível houve o aparecimento de material particulado disperso dentro do tubo, devido à combustão incompleta, ocasionando espalhamento da radiação e, conseqüentemente, sinais de absorção de fundo. Portanto, para elementos como As, Cr e Mo, que necessitam de chamas redutoras para completa atomização, o sistema não foi viável. Além disso, metais alcalinos e alcalino terrosos que reagem com o quartzo, também não puderam ser quantificados nesse método. O aumento da sensibilidade foi de até 5 vezes em comparação com a atomização convencional sem tubo^{4,7,22-25}. Alguns resultados estão mostrados na TABELA 2.2.2.1.1.

TABELA 2.2.2.1.1 – Comparação dos limites de detecção para elementos determinados por FAAS com tubo de quartzo com fenda e sem tubo²⁴.

Elemento	LOD* (mg g⁻¹) FAAS sem o tubo	LOD* (mg g⁻¹) FAAS com o tubo	Fator de melhora
Ag	0,0019	0,0020	1,0
Au	0,0148	0,0036	4,1
Bi	0,0766	0,0177	4,3
Cd	0,0047	0,0011	4,3
Cu	0,0055	0,0056	1,0
Fe	0,0110	0,0102	1,1
Hg	0,3094	0,1121	2,8
Mn	0,0025	0,0019	1,3
Pb	0,0301	0,0090	3,3
Pt	0,1220	0,0967	1,3
Sb	0,0678	0,0462	1,5
Se	0,1381	0,0927	1,5
Te	0,0760	0,0492	1,5
Tl	0,0112	0,0052	2,2

* LOD – limite de detecção

Comercialmente disponível²³, o STAT pode ser instalado no suporte do acessório de geração de hidretos de um espectrômetro de absorção atômica com chama.

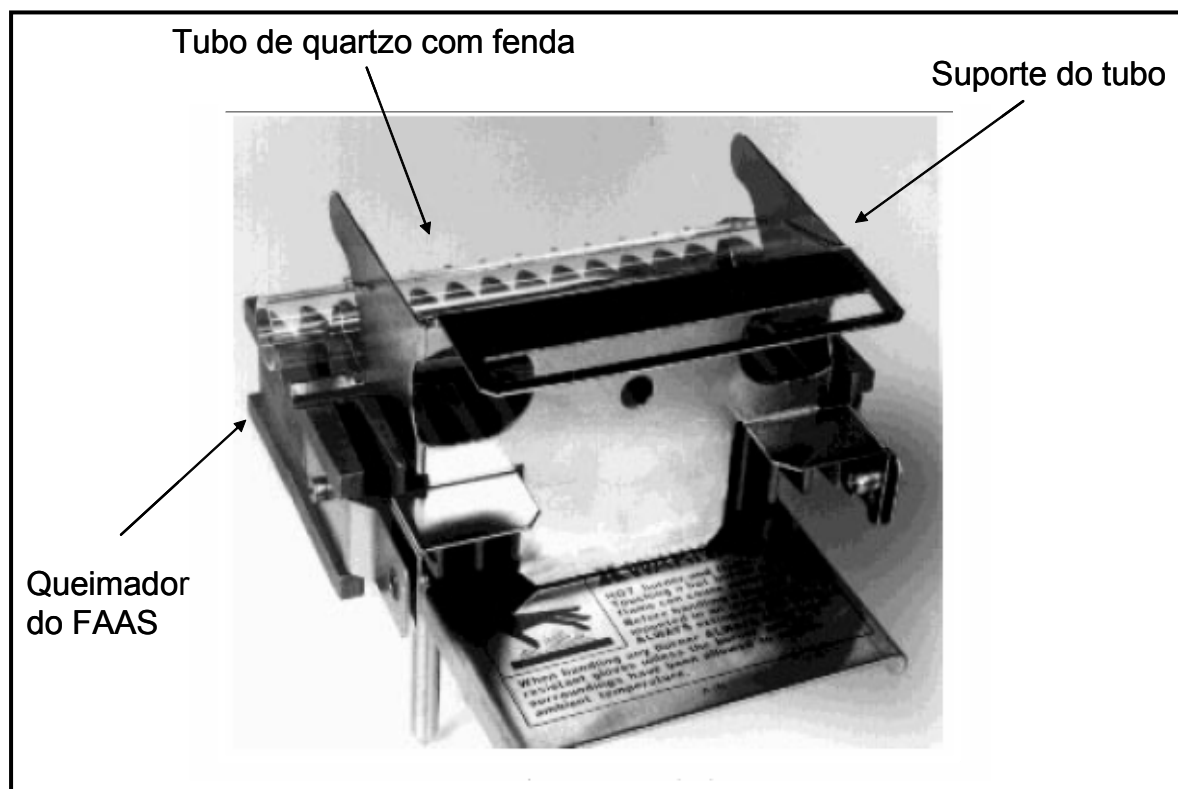


FIGURA 2.2.2.1.1 – Tubo de quartzo com fenda (Varian mod. ACT-80) colocado em um suporte sobre o queimador. Foto adaptada de MOFFET²⁴.

O termo aprisionamento de átomos utilizado para o STAT não é apropriado, uma vez que o tubo tem uma fenda que permite a saída da nuvem atômica. Esse acessório apenas aumenta o tempo de trânsito dos átomos no volume de observação, não realizando o aprisionamento de átomos propriamente dito. Sistemas adequados de aprisionamento de átomos como o ATFAAS (atom trap flame absorption atomic spectrometry) foram utilizados com sucesso na determinação de elementos relativamente voláteis e facilmente atomizados, como Ag, As, Cd, Hg, Pb, Se, Tl e Zn^{7,26-28}. Este aprisionamento é baseado na condensação da nuvem atômica na superfície fria de um tubo colocado sobre a chama. O tubo é resfriado pela passagem de água ou ar em seu interior, proporcionando a pré-concentração do analito na superfície fria. Após um período de tempo adequado, o processo de resfriamento é interrompido e a atomização

ocorre pelo aumento da temperatura do tubo aquecido pela chama. Desse modo, a pré-concentração proporcionou uma melhora de 2 a 50 vezes os limites de detecção da técnica em comparação com a atomização por chama.

SUN *et al.* em 1997²⁸ avaliaram o sistema ATFAAS para a determinação de Cd em águas e obtiveram um limite de detecção de $0,39 \text{ ng ml}^{-1}$ e uma concentração característica de $0,95 \text{ ng ml}^{-1}$. Nesse trabalho, o tubo de aço, resfriado por água fria, foi posicionado sobre a chama do queimador durante 2 min para o “aprisionamento” e/ou pré-concentração. Quando a vazão de água era interrompida, iniciava-se, então, o aquecimento do tubo pela chama, sendo o Cd rapidamente atomizado. Esse sistema é mostrado na FIGURA 2.2.2.2.

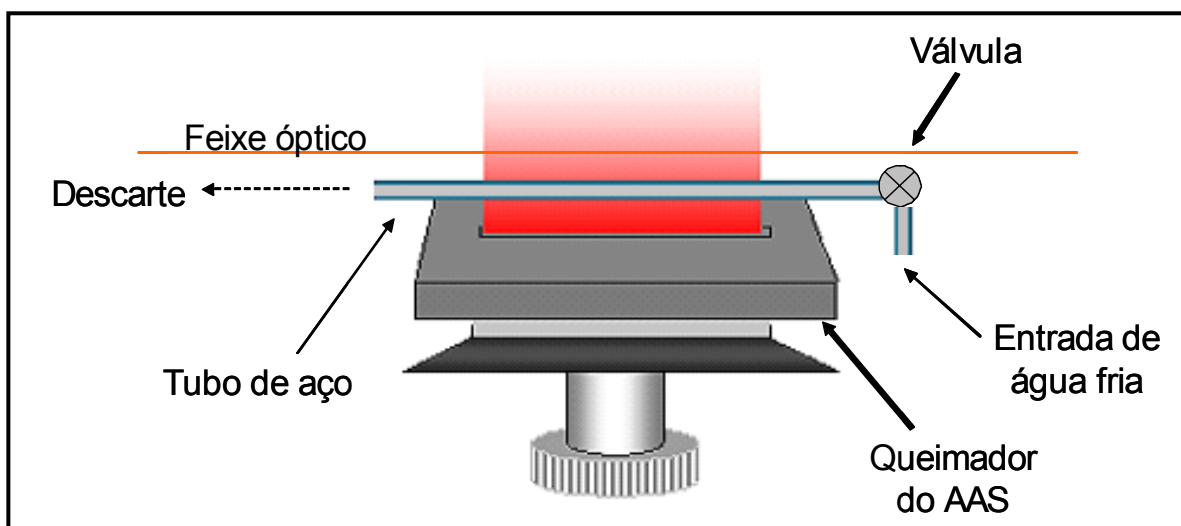


FIGURA 2.2.2.2 - Sistema de “aprisionamento de átomos” (ATFAAS) utilizado por SUN *et al.*²⁸.

MATUSIEWICZ & KOPRAS⁷ propuseram um outro sistema para a determinação de Ag, Cd, Cu, Fe, In, Mn, Pb, Tl e Zn em cerveja utilizando o aprisionamento de átomos. O sistema foi denominado IAT (Integrated Atom Trap) e consistia na combinação de um tubo de sílica e de um tubo de quartzo com fenda (STAT). O princípio de funcionamento do tubo integrado é relativamente simples e a amostra é nebulizada de modo convencional diretamente na chama. O resfriamento do sistema foi feito por uma corrente de água fria que circulava pelo

tubo de sílica posicionado dentro do tubo STAT. Durante o período de aspiração da amostra, o resfriamento provocado pelo fluxo contínuo de água permitia a condensação dos átomos na superfície do tubo de sílica. Depois desse período, o fluxo de água era interrompido e argônio era forçado através do tubo de sílica para remoção da água (FIGURA 2.2.2.2.3). Os limites de detecção obtidos utilizando-se 2 min de pré-concentração “in situ” no tubo sobre a chama estão apresentados na TABELA 2.2.2.2.

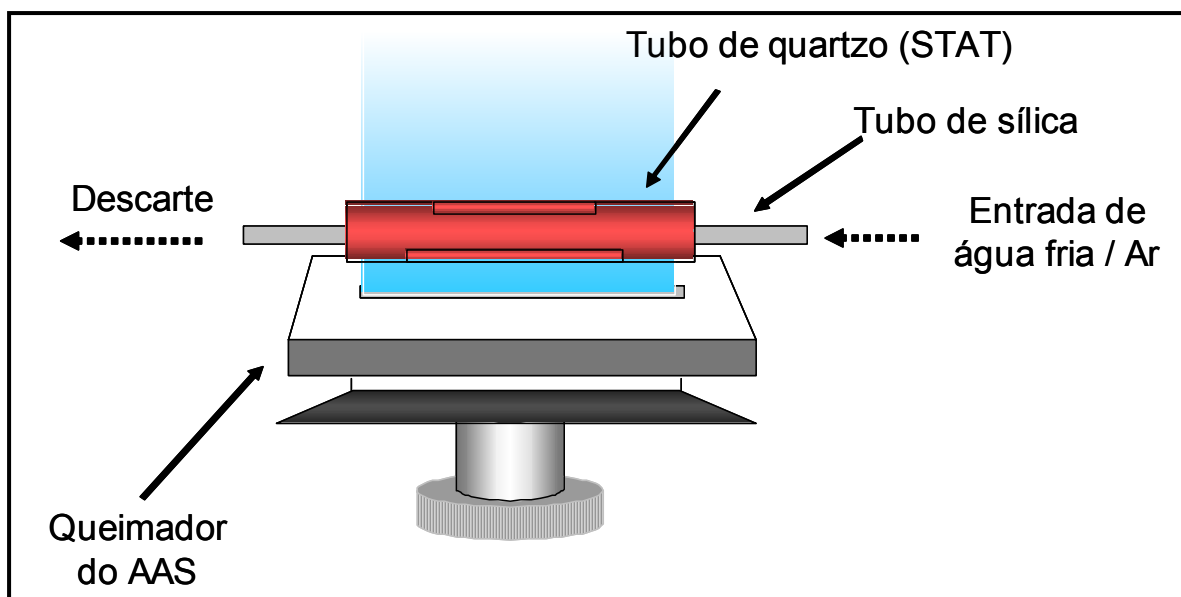


FIGURA 2.2.2.2.3 - Sistema integrado de aprisionamento de átomos (IAT) desenvolvido por MATUSIEWICZ & KOPRAS⁷.

TABELA 2.2.2.2.2 – Limites de detecção obtidos na determinação de Ag, Cd, Cu, Fe, In, Mn, Pb, Tl e Zn em cerveja utilizando o aprisionamento de átomos com tubo integrado⁷.

Analitos	Limite de detecção ($\mu\text{g l}^{-1}$)
Ag	0,6
Cd	0,5
Cu	3,0
Fe	5,0
In	10
Mn	1,2
Pb	4,0
Tl	10
Zn	0,1

O quartzo foi o material escolhido para o aprisionamento devido à sua alta temperatura de fusão e ao baixo coeficiente de expansão térmica²⁶. Entretanto, a determinação de elementos alcalinos e alcalinos terrosos não pode ser feita por esse método devido à reação desses elementos com o quartzo. O uso de revestimentos foi proposto para aumentar o tempo de vida útil dos tubos, permitir a determinação de metais alcalinos e alcalino terrosos e aumentar a sensibilidade na determinação de elementos voláteis. Um exemplo foi o uso do tubo de quartzo com revestimento de ouro para determinação de mercúrio²⁸. O aprisionamento do Hg foi feito com a formação de um amálgama, reduzindo a volatilidade do elemento. Entretanto, não houve a melhora da sensibilidade em comparação com a CVAAS. Além disso, os tubos revestidos apresentavam fissuras ou até quebras durante o tempo de uso, exigindo o constante monitoramento para segurança do operador²⁶.

O uso dos métodos de aprisionamento de átomos apresenta importantes vantagens como o baixo custo operacional e a simplicidade de operação. Entretanto, o inconveniente é que os sistemas requerem um rápido resfriamento durante o ciclo. Se uma corrente de ar ou água não resfriar rapidamente o exterior do tubo, a superfície do tubo não “aprisionará” o analito com eficiência, prejudicando a sensibilidade analítica²⁶⁻²⁸.

2.2.2.3 - Métodos empregando sistema de injeção em fluxo (FIA)

O sistema FIA em conjunto com algumas técnicas, em particular a espectrometria de absorção atômica, tem sido bastante relatado nos últimos anos²⁹⁻³⁵. A maioria dos trabalhos foi realizada por espectrometria de absorção atômica com chama, pois esse método é bastante apropriado para esse tipo de acoplamento. Sistemas de separação do analito, principalmente com mini-colunas e extração por solvente, têm sido propostos para aumentar a sensibilidade e melhorar o limite de detecção da FAAS³⁶⁻³⁸.

No trabalho desenvolvido por BAKIRCIOGLU *et al.*³⁰, a pré-concentração de Pb, Fe e Co em amostras de águas de rio foi feita em uma minicoluna, preenchida com Cromosorb-103 como material adsorvente, em um sistema de injeção em fluxo. O pH das amostras foi ajustado para 4,0 e os analitos foram complexados com ditiocarbamato pirrolidina de amônio (APDC, do inglês: ammonium pyrrolidine dithiocarbamate), utilizado como ligante. Após a formação do complexo em batelada, as amostras eram inseridas com uma seringa no FIA contendo a minicoluna. Os analitos foram eluídos com 1,0 mol l⁻¹ de HNO₃ em acetona sob uma vazão de 20 ml min⁻¹. O fator de enriquecimento alcançado foi de 200 vezes e o limite de detecção para Co foi de 4,8 µg l⁻¹, para Fe de 14,0 µg l⁻¹ e para Pb 15,0 µg l⁻¹.

LEMOS *et al.*³⁷ utilizaram o sistema de injeção em fluxo com extração em fase sólida para pré-concentração de Cd em materiais de referência

certificados de água. Uma minicoluna preenchida com Amberlit XAD-2 e ácido cromotrópico CA-XAD foi utilizada como sorvente. O Cd adsorvido na minicoluna foi eluído por um fluxo de $4,0 \text{ ml min}^{-1}$ com HCl $1,0 \text{ mol l}^{-1}$, diretamente para o sistema nebulizador-queimador do FAAS. O limite de detecção obtido foi de $0,4 \text{ } \mu\text{g l}^{-1}$ e o fator de enriquecimento foi de 21 vezes para $7,0 \text{ ml}$ de amostra em 60 s de pré-concentração.

Apesar dos bons resultados obtidos com os sistemas de injeção em fluxo com pré-concentração em mini-colunas, a desvantagem dos procedimentos em batelada é o consumo elevado de reagentes e amostras (de 7 a 20 ml por determinação)²⁹⁻³⁸.

2.2.2.4 – Nebulização hidráulica sob alta pressão (HHPN)

Em 1988, BERNDT³⁹ desenvolveu um sistema sob alta pressão para a introdução de amostras em espectrometria de absorção atômica, a nebulização hidráulica sob alta pressão (HHPN). Esse sistema é baseado na introdução de amostra por uma bomba de pistão, ou bomba de HPLC, onde o líquido é forçado através de um “nozzle” com uma abertura de 15 ou $20 \text{ } \mu\text{m}$ de diâmetro. Esse feixe de líquido é, então, gerado dentro da câmara de mistura de gases de um nebulizador pneumático convencional. O nozzle não produz diretamente o aerossol, mas um fino jato de líquido em alta velocidade que se choca com a superfície de uma esfera de vidro posicionada a alguns centímetros da saída do nozzle (FIGURA 2.2.2.4.1). O aerossol formado é então misturado aos gases da câmara de nebulização e conduzido para a chama do queimador. A injeção da amostra era realizada de maneira similar à técnica de análise por injeção em fluxo, utilizando uma válvula de injeção de amostra. A vazão de solução carregadora variava de 1 a 2 ml min^{-1} , dependendo da viscosidade da solução. A pressão de trabalho variava de 10 a 40 MPa ($100 - 400 \text{ bar}$). Segundo o autor, esse sistema

alcançou entre 25 e 50% de eficiência de nebulização com conseqüente melhoria da sensibilidade da técnica³⁹⁻⁴⁰.

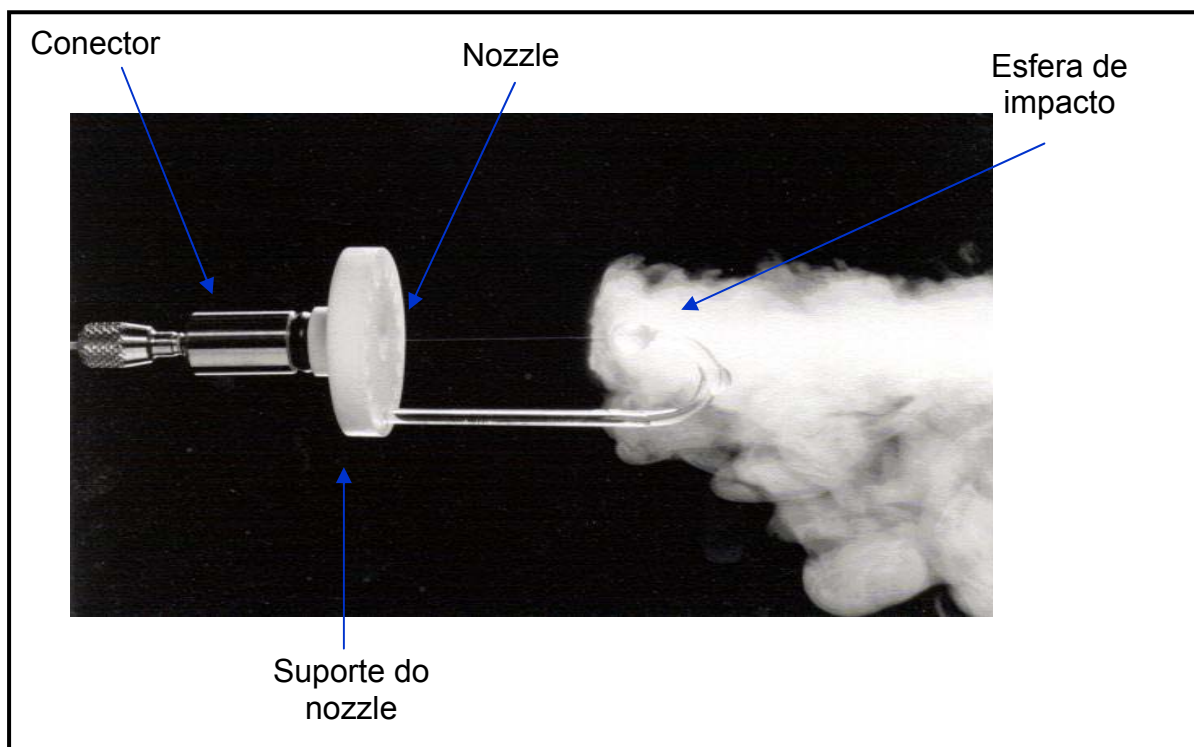


FIGURA 2.2.2.4.1 - Aerossol gerado na esfera de impacto no sistema de nebulização hidráulica de alta pressão².

O HHPN também foi empregado em técnicas como ICP-OES⁴¹ e ICP-MS⁴²⁻⁴³. No trabalho realizado por STEFÁNKA *et al.*⁴², a nebulização hidráulica sob alta pressão foi utilizada para introdução de amostras biológicas por ICP-TOFMS para determinação simultânea de 19 elementos. Outras utilizações foram os acoplamentos da nebulização hidráulica sob alta pressão com sistemas de pré-concentração em linha⁴⁴⁻⁴⁷ e digestão em linha⁴⁸.

BERNDT & JACOB⁴⁸ avaliaram um sistema de digestão em linha acoplada a nebulização hidráulica sob alta pressão para determinação de Cd, Pb, Cu, Mn e Zn em amostras biológicas e ambientais. A digestão foi realizada em um capilar de Pt-Ir aquecido a 300 °C, através do qual as suspensões das amostras com concentrações entre 0,1 e 4,0 % foram inseridas por um determinado tempo. O

tempo de mineralização da amostra dependeu da natureza da amostra, distribuição de tamanho de partícula e concentração da suspensão.

2.2.3 – Métodos baseados na introdução da amostra em tubos sobre a chama

2.2.3.1 – Injeção de amostra em forno aquecido por chama (BIFF)

Em 1999, um novo atomizador denominado BIFF-AAS (Beam Injection Flame Furnace Atomic Absorption) foi proposto por GASPAR & BERNDT⁸, onde a amostra também foi transportada como um jato de líquido em alta velocidade para o interior de um tubo aquecido pela chama ar/acetileno do FAAS e não para uma câmara de nebulização, como no HHPN (FIGURA 2.2.3.1.1). O arranjo desse sistema foi constituído por uma bomba de pistão, uma válvula de introdução de amostra, um “nozzle” para gerar o jato de líquido e um tubo colocado sobre o queimador. Tubos atomizadores sem furos e com furos na parte inferior foram avaliados. Segundo os autores, a presença de furos aumentou a temperatura no interior do tubo, atomizando elementos medianamente voláteis. Nesse trabalho, 17 elementos foram determinados em soluções aquosas de calibração. A sensibilidade foi de 1,5 a 69 vezes melhor para os elementos estudados em comparação com a técnica de nebulização pneumática convencional. Os elementos mercúrio, cádmio, chumbo, cobre, tálio e zinco apresentaram os melhores limites de detecção para esse sistema, sendo $67 \mu\text{g l}^{-1}$ Hg, $0,25 \mu\text{g l}^{-1}$ Cd, $25 \mu\text{g l}^{-1}$ Pb, $1,4 \mu\text{g l}^{-1}$ Cu, $6,9 \mu\text{g l}^{-1}$ Tl e $0,4 \mu\text{g l}^{-1}$ Zn.

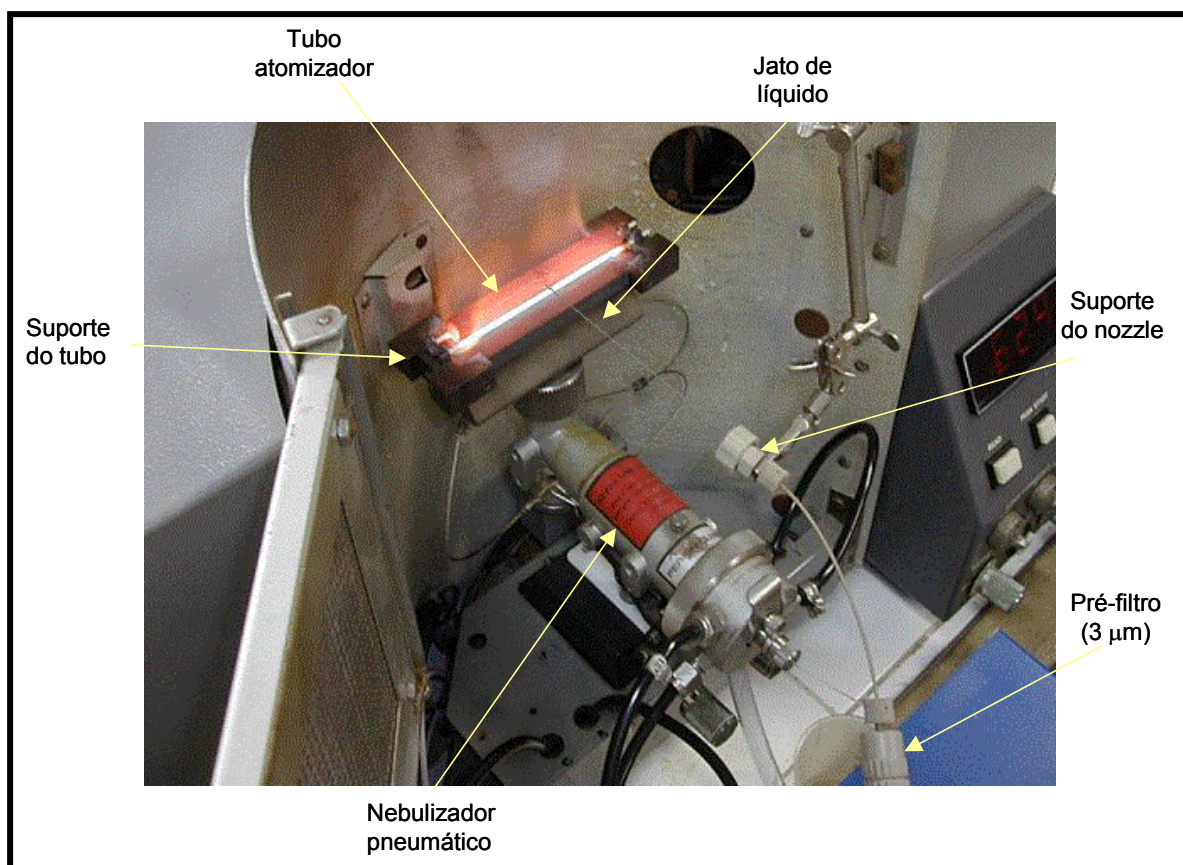


FIGURA 2.2.3.1.1 - Sistema BIFF-AAS adaptado a um espectrômetro de absorção atômica com chama.

Em 2000, NEIRA & BERNDT⁴⁹ avaliaram o sistema BIFF-AAS para determinação de Pb e Cd em soluções aquosas com e sem a presença de NaCl. Para uma concentração de $100 \mu\text{g l}^{-1}$ de Pb, sinais de fundo (background) foram observados a partir de 80 g l^{-1} de NaCl no tubo atomizador sem furos e a partir de 120 g l^{-1} de NaCl no tubo com seis furos. Para uma solução de $10 \mu\text{g l}^{-1}$ Cd, os sinais de radiação fundo foram observados a partir de 30 g l^{-1} de NaCl no tubo atomizador com furos. A diminuição da interferência causada pela presença de NaCl no tubo atomizador com furos foi devida ao aumento da temperatura no interior do tubo. As interferências provavelmente foram causadas pela interferência espectral da molécula de NaCl na região de 225-290 nm. O limite de detecção encontrado para Pb foi de $7,0 \mu\text{g l}^{-1}$ e para Cd $0,2 \mu\text{g l}^{-1}$. Em comparação com a

nebulização pneumática e atomização na chama, houve uma melhora de uma a duas ordens de magnitude na sensibilidade com a utilização do BIFF-AAS.

Durante os últimos dois anos, diversas melhorias foram propostas no sistema BIFF-AAS, como a utilização de bombas de baixa pressão (bomba de diafragma e bomba peristáltica), visando a diminuição dos custos do sistema e a utilização de diferentes tipos de nozzles, com diâmetros internos variando de 15 a 70 μm .

GASPAR & BERNDT⁵⁰ em 2002 utilizaram o sistema BIFF-AAS para determinação de Ag, Cd, Hg, Pb, Se e Zn em soluções aquosas de calibração. Nesse sistema, uma bomba peristáltica de 8 vias foi utilizada para geração do jato de líquido em um nozzle com micro canal. Esse nozzle possui um reservatório para a entrada de água, um filtro integrado e um canal de 200 μm de comprimento com diâmetro interno de 50 μm (FIGURA 2.2.3.1.2). Durante a otimização dos parâmetros operacionais, os efeitos da vazão da solução carregadora, da distância percorrida pelo jato e da vazão da mistura gasosa ar/acetileno foram avaliados. A vazão da solução carregadora foi de 1,5 ml min^{-1} , o jato de líquido foi gerado de 5 a 25 cm de distância do tubo atomizador sem nenhum efeito no sinal analítico e o efeito da vazão da mistura gasosa foi menos pronunciado em comparação com a FAAS. Segundo os autores, isso pode ser devido ao pequeno percentual dos gases da chama que penetram nos furos do tubo atomizador. Entupimentos do nozzle foram observados, provavelmente derivados do bloqueio do filtro integrado. Nesse caso, os autores retiraram o filtro e o nozzle que ainda pôde ser utilizado por mais algumas semanas. Os limites de detecção para os seis elementos investigados melhoraram de 7 a 17 vezes em comparação com a nebulização pneumática da FAAS convencional e os resultados obtidos foram de 0,25 $\mu\text{g l}^{-1}$ Cd, 25 $\mu\text{g l}^{-1}$ Pb, 6,9 $\mu\text{g l}^{-1}$ Tl e 9,6 $\mu\text{g l}^{-1}$ Zn.

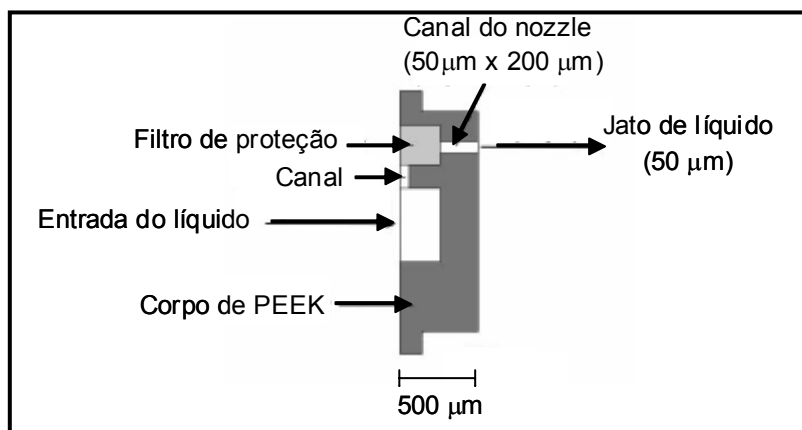


FIGURA 2.2.3.1.2 – Nozzle com microcanal e filtro de proteção integrado utilizado no sistema BIFF-AAS⁵⁰.

Em 2003, RATKA & BERNDT⁵¹ avaliaram a influência de diferentes tipos de nozzles na determinação de Cd, Hg, Pb e Tl em soluções de calibração utilizando o sistema BIFF-AAS. Uma bomba de diafragma para o transporte da solução carregadora e nozzles com aberturas entre 15 μm e 70 μm foram utilizados. Os efeitos da pressão e da vazão da solução carregadora foram avaliados. Para o nozzle de 15 μm, a pressão necessária para geração do jato de líquido foi de 0,2 MPa com uma vazão de solução de 0,2 ml min⁻¹. No caso do nozzle de 70 μm, a pressão necessária foi de 0,6 MPa, utilizando-se uma vazão de 5,5 ml min⁻¹. Os autores observaram que a vazão da solução carregadora influenciou na sensibilidade do sinal analítico, devido a diminuição da temperatura do tubo atomizador causada pelo aumento do volume de solução inserida. A temperatura da chama ar-C₂H₂ é de 2500 °C, mas quando o tubo atomizador com seis furos foi colocado sobre a chama, a máxima temperatura atingida foi de 1200 °C sem a introdução de líquido. Vazões acima de 2,5 ml min⁻¹, utilizada para nozzles maiores que 50 μm, apresentaram uma diminuição da temperatura interna do tubo de aproximadamente 400 °C, dificultando a atomização de elementos menos voláteis, prejudicando a sensibilidade e o limite de detecção.

Nesse mesmo trabalho, os autores utilizaram pela primeira vez gás CO₂ como carregador e como sistema de propulsão. Nesse sistema, um redutor de pressão foi conectado ao cilindro e o CO₂ líquido foi forçado através de um capilar de HPLC. O fluido carregador e a amostra inserida por uma válvula, passaram pelo nozzle e na saída ocorreu a vaporização do CO₂ líquido, gerando um feixe da amostra líquida suspensa no ar. Desse modo, toda a amostra foi transportada até o tubo atomizador sem nenhuma perda por diluição. Os melhores limites de detecção obtidos para Cd, Pb, Hg e Tl utilizando nozzle de 20 µm foram de 0,25 µg l⁻¹ Cd, 5,20 µg l⁻¹ Pb, 28 µg l⁻¹ Hg e 2,0 µg l⁻¹ Tl. A utilização de nozzles com d.i. maiores prejudicou a sensibilidade em fatores de 3 a 10 vezes, devido a necessidade do aumento da vazão de solução carregadora para obtenção do feixe de líquido. O aumento do volume de solução inserida no tubo causou a diminuição da temperatura do atomizador piorando os limites de detecção.

Em 2004, ALEIXO *et al.*⁵² utilizaram o sistema BIFF-AAS para determinação de Cd e Pb em amostras de alimentos. A técnica de extração foi utilizada e a determinação dos elementos foi realizada no sobrenadante. As amostras foram moídas em um moinho criogênico, transferidas para tubos de centrífuga com 5 ml de uma solução 2,8 mol l⁻¹ HNO₃ e sonicadas em um banho ultra-sônico entre 5 e 10 min, dependendo do tipo de amostra. Depois disso, o volume dos tubos de centrífuga foram completados para 10 ml com água ultra pura e centrifugadas à 5400 rpm durante 5 min. Um volume de 400 µl do sobrenadante da extração foi injetada no sistema BIFF-AAS para determinação de Cd e Pb. As amostras também foram digeridas em forno de microondas com sistema fechado e analisadas por GFAAS para comparação dos resultados. Materiais de referência certificados foram utilizados para avaliação da precisão e exatidão do método.

Nesse trabalho, o sistema BIFF-AAS foi constituído por uma bomba de pistão, uma válvula de introdução de amostra, um pré-filtro para evitar entupimentos, um nozzle de 50 µm e tubos atomizadores sem furos e com 10 furos. A utilização de uma bomba peristáltica foi avaliada para transporte da amostra e da

solução carregadora, mas coeficientes de variação das medidas superiores a 10 % foram obtidos, além da observação da interrupção do fluxo quando a amostra era injetada. Para melhor estabilidade do sistema, a bomba de HPLC foi escolhida. Uma outra observação foi feita quanto ao nozzle. Após aproximadamente 100 injeções de amostra, o teor de sais presente nas amostras e a proximidade do nozzle com o tubo atomizador (10 cm) aqueceram o nozzle, solidificando os sais na abertura de 50 μm , causando a interrupção do jato de líquido. Os nozzles foram limpos em 20 ml de HNO_3 2,8 mol l^{-1} em banho ultra-sônico durante 5 min. Esse entupimento não foi observado para soluções de calibração.

Estudos de interferências na presença dos cátions mais comumente encontrados em amostras de alimentos foram realizados nesse trabalho. Os maiores sinais foram observados para Na em concentrações acima de 1000 mg l^{-1} , que apresentou 10% de interferência sobre os sinais analíticos de Cd e Pb. A utilização de um corretor de fundo com lâmpada de D_2 suprimiu essa interferência, indicando serem interferências espectrais. Os limites de detecção para Cd e Pb foram de 0,65 $\mu\text{g l}^{-1}$ e 32 $\mu\text{g l}^{-1}$, respectivamente. A melhora do limite de detecção foi de 26 e de 20 vezes, em comparação com a nebulização pneumática convencional.

Visando a avaliação do sistema BIFF-AAS para a determinação de elementos tóxicos como Cd, Pb e Tl e de elementos essenciais como o Zn, em amostra de águas e alimentos, esse sistema apresentou vantagens em comparação com a nebulização pneumática convencional, como a maior eficiência de nebulização (próxima a 100%) e o maior tempo de residência dos átomos no volume de absorção do feixe de radiação. Isso resultou na melhora dos limites de detecção da técnica com a utilização de pequenos volumes de amostra.

2.2.3.2 – Amostragem de sólidos e nebulização térmica

A introdução de amostras sólidas ou líquidas em chamas sem a necessidade de uma câmara de nebulização tem sido proposta desde o princípio da

técnica⁵. Esse método, em geral, apresenta diversas vantagens, como a redução do tempo de preparo da amostra e o aumento de sensibilidade para elementos em baixas concentrações, uma vez que esse procedimento não requer diluição da amostra. Além disso, há a diminuição dos riscos de perdas ou contaminação do analito durante o pré-tratamento da amostra^{5,53-55}.

Diversos procedimentos de introdução de amostras sólidas⁵³⁻⁵⁵ ou em suspensão estão descritos na literatura, mas nos últimos anos, a amostragem por suspensão tem sido constantemente aperfeiçoada⁷⁹⁻⁸¹.

A introdução da amostra sólida pode ser feita por atomização eletrotérmica com forno de grafite utilizando acessórios específicos (SS-GFAAS) ou outras técnicas como ICP-MS com vaporização eletrotérmica (ETV-ICP-MS) e a ICP-MS com ablação a laser (LA-ICP-MS)⁸⁰⁻⁸¹. Entretanto, a compra dos equipamentos com seus acessórios especiais podem apresentar custos acima de U\$ 250.000,00, além dos custos operacionais e de manutenção.

Utilizando-se GFAAS, as amostras sólidas podem ser introduzidas na forma de suspensão idealmente sem a utilização de acessórios especiais, dependendo do tamanho de partículas. Porém, melhores resultados de repetibilidade são obtidos com a utilização de um amostrador automático equipado com uma ponteira ultra-sônica para homogeneização da suspensão. A amostra é dispersa no mínimo em uma solução contendo ácidos diluídos com algum tipo de tensoativo, antes da introdução no atomizador. Como a digestão da amostra não é necessária, a manipulação é minimizada, diminuindo os riscos de contaminação. Entretanto, a homogeneidade e a distribuição do tamanho de partícula da amostra afetam a estabilidade da suspensão, a eficiência de atomização e a precisão das medidas. Além disso, caso a etapa de separação dos concomitantes não seja completa durante a etapa de pirólise, sinais de fundo poderão ser observados durante a atomização prejudicando a precisão das medidas^{53-55, 80}.

FLORES *et al.*⁵³, em 2001, desenvolveram um método para a determinação de Cu em amostras biológicas sólidas diretamente na chama de um

espectrômetro. Massas entre 50 e 500 μg foram pesadas em pequenos frascos de polietileno e esses frascos foram conectados a uma câmara de vidro. Utilizando um fluxo de ar de $5,0 \text{ ml min}^{-1}$ como gás carregador, as amostras foram introduzidas como um aerossol seco em tubo de quartzo tipo-T, posicionado no caminho óptico e colocado sobre o queimador do equipamento de absorção atômica com chama. (FIGURA 2.2.3.2.1). Os autores mencionaram que a homogeneidade e o tamanho de partícula das amostras estudadas foram os aspectos mais importantes na repetibilidade das medidas. O limite de detecção foi de $16 \mu\text{g g}^{-1}$ Cu no material sólido e o sistema permitia uma determinação a cada 30 s com a amostra já pesada nos recipientes.

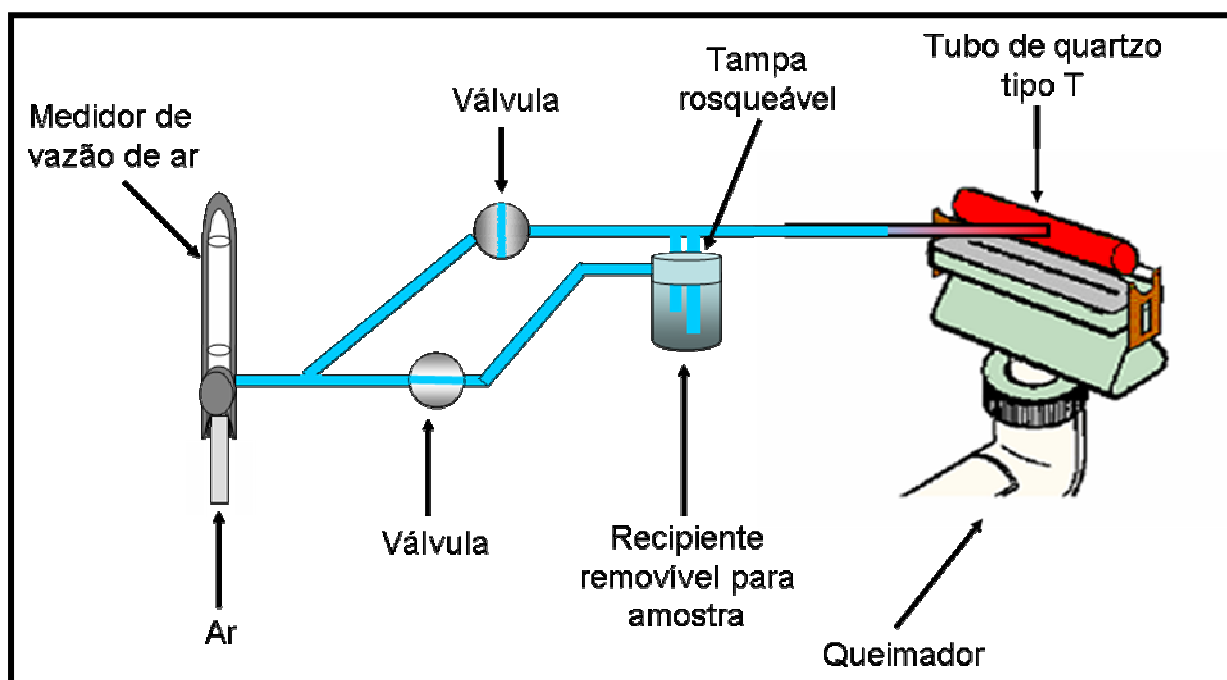


FIGURA 2.2.3.2.1 – Sistema de amostragem direta de sólidos com válvula aberta para introdução de amostra proposta por FLORES *et al.*⁵³

Os mesmos autores propuseram, em 2002, um método para a determinação de Cd em amostras biológicas por amostragem direta de sólidos na chama do espectrômetro⁵⁴ e obtiveram limite de detecção de $0,27 \mu\text{g g}^{-1}$ quando massas de 1,0 mg de amostras foram utilizadas. Utilizando-se nebulização pneumática convencional o limite de detecção do método foi $10 \mu\text{g g}^{-1}$ Cd,

digerindo-se 100 mg de amostra com posterior diluição para 25 ml. A melhora na sensibilidade foi de 37 vezes para a amostragem direta de sólidos, com a redução das etapas de preparo de amostra para apenas moagem e homogeneização. Entretanto, para a utilização de uma massa de 1,0 mg, a amostra precisa estar totalmente homogênea e durante o processo de moagem não podem ocorrer contaminações. A homogeneidade e o tamanho de partículas foram essenciais para garantir a repetibilidade e precisão das medidas.

Outros sistemas de nebulização e atomização foram avaliados para a amostragem de suspensões na espectrometria de absorção atômica com chama⁵⁶⁻⁶¹. O uso da nebulização térmica proposta inicialmente por GÁSPÁR & BERNDT⁵⁶ em 2000 foi utilizada por PEREIRA-FILHO *et al.*⁵⁸ para a determinação de Cd, Cu e Pb em plantas e tecidos animais pela técnica da amostragem de suspensões. Nesse sistema um capilar de cerâmica (0,5 mm de diâmetro interno e 100 mm de comprimento) foi conectado a um orifício central de um tubo de níquel (100 mm de comprimento e 10 mm de diâmetro interno) colocado sobre o queimador do FAAS. Assim que a ignição foi promovida, o tubo era aquecido pela chama ar/acetileno, que, conseqüentemente, aquecia o capilar de cerâmica. As suspensões das amostras, preparadas em 0,3 mol l⁻¹ de HNO₃ foram transportadas em um sistema de injeção em fluxo até o capilar aquecido pela chama. O arranjo está mostrado na FIGURA 2.2.3.2.2 e utiliza uma bomba de diafragma com pressão de 0,6 MPa (84 psi), um amortecedor de pulsação e restritores de PEEK. Dentro do tubo de níquel, com temperatura de aproximadamente 1000 °C, as suspensões foram vaporizadas. Os autores comentaram que a alta temperatura e a presença do HNO₃ concorreram para a decomposição da amostra. Porém, os autores não mencionaram que o analito já poderia estar em solução no aerossol, uma vez que alguns analitos são facilmente extraídos na solução da amostra. O volume de suspensão inserido é de 300 µL e os limites de detecção obtidos foram de 0,5 µg g⁻¹ para Cd, 4,3 µg g⁻¹ para Cu e 3,5 µg g⁻¹ para Pb.

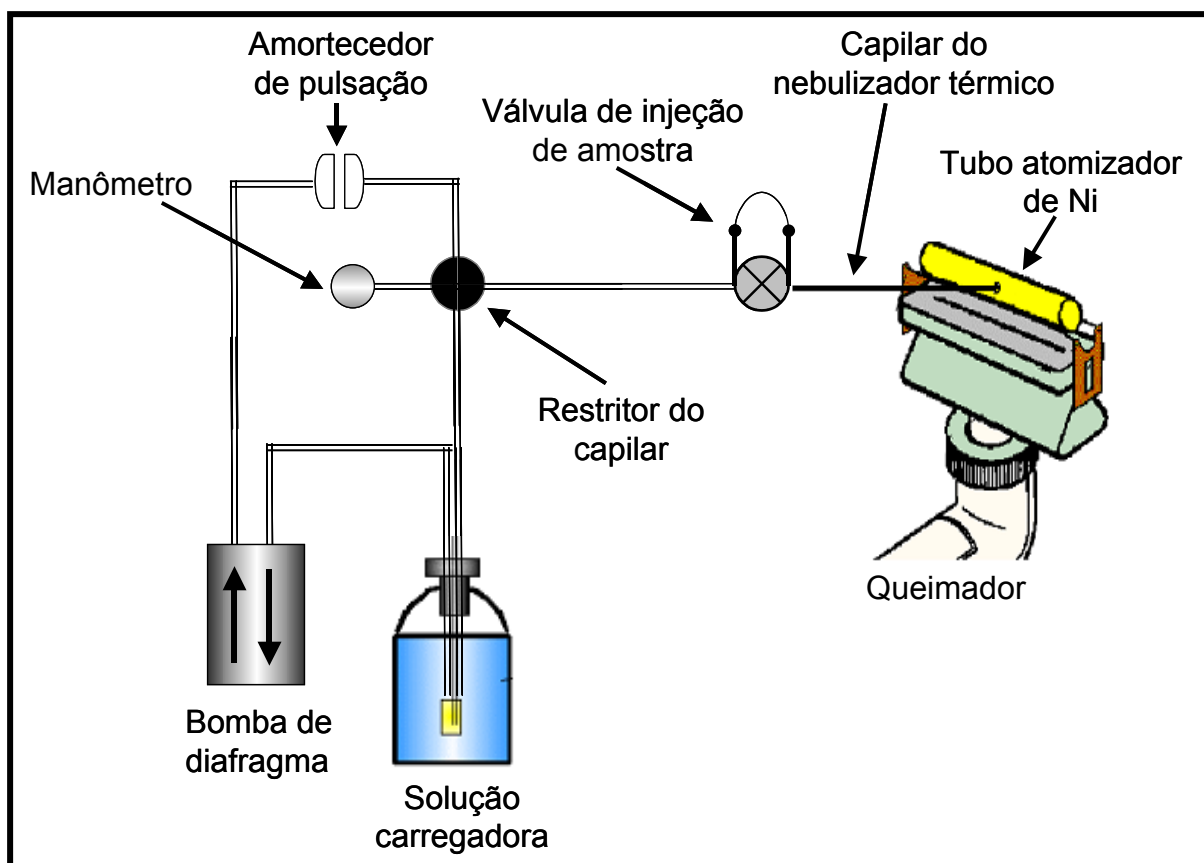


FIGURA 2.2.3.2.2 – Arranjo esquemático do sistema de nebulização térmica em forno aquecido por chama (TS-FF-AAS) utilizado por PEREIRA-FILHO *et al.*⁵⁸

A nebulização térmica para a amostragem de suspensões também foi utilizada por NASCENTES *et al.*⁵⁹ para determinação de Cu e Zn em amostras de sucos de frutas e leite bovino. As suspensões foram preparadas com 10 % v/v de amins terciárias solúveis em água (CFA-C) até pH 8. Segundo os autores, a adição do reagente CFA-C promoveu a dissociação das micelas de caseína, aumentando a concentração do analito para a fase aquosa e minimizando efeitos do matriz. Para evitar efeitos de memória, o sistema foi lavado com solução 1,0 % m/m H₂O₂ depois de cada medida. Os limites de detecção foram de 2,2 µg l⁻¹ Cu e 0,91 µg l⁻¹ Zn para soluções aquosas e 3,2 µg l⁻¹ Cu para a solução em CFA-C.

O sistema de nebulização térmica (TS-FF-AAS) é caracterizado pela introdução de um feixe de líquido em um tubo aquecido colocado sobre o

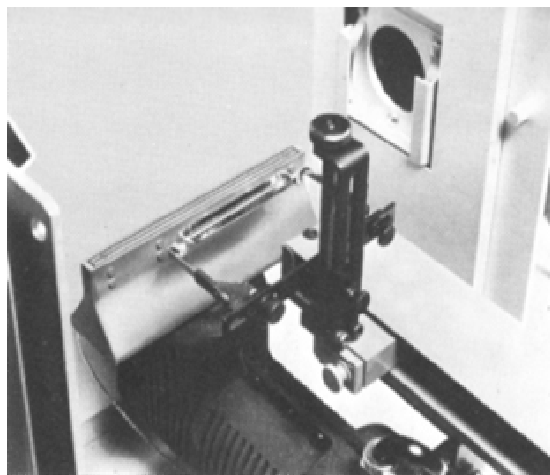
queimador de um equipamento de AAS. O capilar e o tubo atomizador podem ser feito de vários materiais, como metais puros, ligas ou cerâmicas. A amostra a ser analisada é transportada para o interior do tubo atomizador através de um sistema em fluxo, acoplado a uma bomba peristáltica ou bomba de HPLC ou bomba de diafragma. Um simples capilar aquecido pela chama pode atuar como um gerador de aerossol térmico (aproximadamente 3 mm do capilar em contato com o tubo aquecido adquire coloração vermelha), vaporizando completamente a amostra sendo esse vapor inserido no tubo atomizador.

Esse sistema melhorou o limite de detecção de 17 elementos (Ag, As, Au, Bi, Cd, Cu, Hg, In, K, Pb, Pd, Rb, Sb, Se, Te, Tl e Zn) para soluções aquosas de cada elemento em comparação com a FAAS que utiliza a nebulização pneumática convencional. Esse aumento da sensibilidade foi atribuído a dois principais fatores: o aumento do tempo de residência dos átomos no volume de absorção e a total introdução de amostra no atomizador⁵⁶⁻⁶¹.

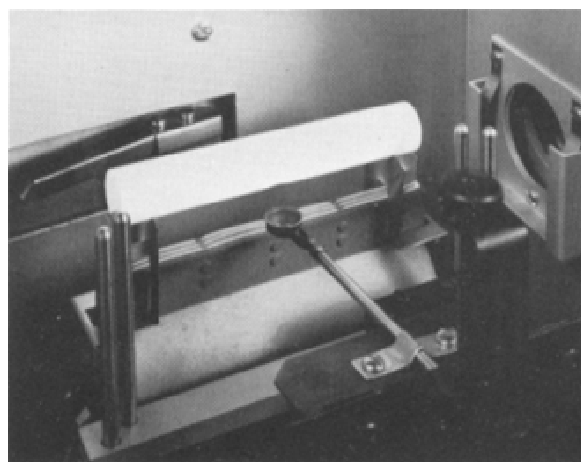
2.2.3.3 – Introdução de amostra em copo e barqueta

Em 1970, DELVES⁶² introduziu uma pequena quantidade de amostra (0,1 – 1,0 ml) em um recipiente feito de tântalo ou níquel, com 1,0 cm de diâmetro. A solução foi levada à secura (por exemplo, perto da chama do espectrômetro) e, posteriormente, o recipiente foi colocado sobre a chama de um queimador de 3 fendas (FIGURA 2.2.3.3.1 a e b). A amostra foi rapidamente vaporizada e os átomos e/ou moléculas atravessaram a abertura de um tubo de quartzo situado sobre a chama, sendo rapidamente vaporizados. Esse método tornou-se popular, devido aos bons limites de detecção (de 20 a 50 vezes melhores que o método convencional de nebulização pneumática) para elementos facilmente atomizáveis: As, Bi, Cd, Pb, Hg, Se, Te, Ag e Zn. Contudo, esse método apresentava algumas desvantagens tais como elevados sinais de fundo, devido, principalmente, à formação de fumaça caso a digestão das amostras não fosse realizada antes da

determinação. O uso de um corretor de fundo é extremamente recomendado para o uso desse método de atomização. O copo também pode ser substituído por barquetas de tântalo (FIGURA 2.2.3.3.1 a). O uso da barqueta para introdução direta de amostra na chama foi utilizado por KAHN *et al.*⁶³⁻⁶⁴.



(a)



(b)

FIGURA 2.2.3.3.1 – Sistemas de introdução de amostra com barqueta (a) e copo DELVES⁶² (b)

A amostragem discreta também foi utilizada por ALVARADO & JAFFE⁶⁵⁻⁶⁶ para determinação de Pb em sedimentos. Por esse método, 10 μ L de amostra digerida era injetada na extremidade de um tubo de grafite com 50 mm de comprimento, 6 mm de diâmetro interno e espessura de 0,5 mm. O tubo ficava preso a uma barra de grafite e com uma garra e essa barra ficava presa a outra barra de alumínio conectada a um suporte por uma mufa. Depois da inserção da amostra na extremidade do tubo, a barra de grafite era movimentada manualmente para até o volume de observação sobre uma chama redutora no FAAS. A FIGURA 2.2.3.3.2. (a) mostra o tubo preso na parte central e (b) o tubo preso pela lateral.

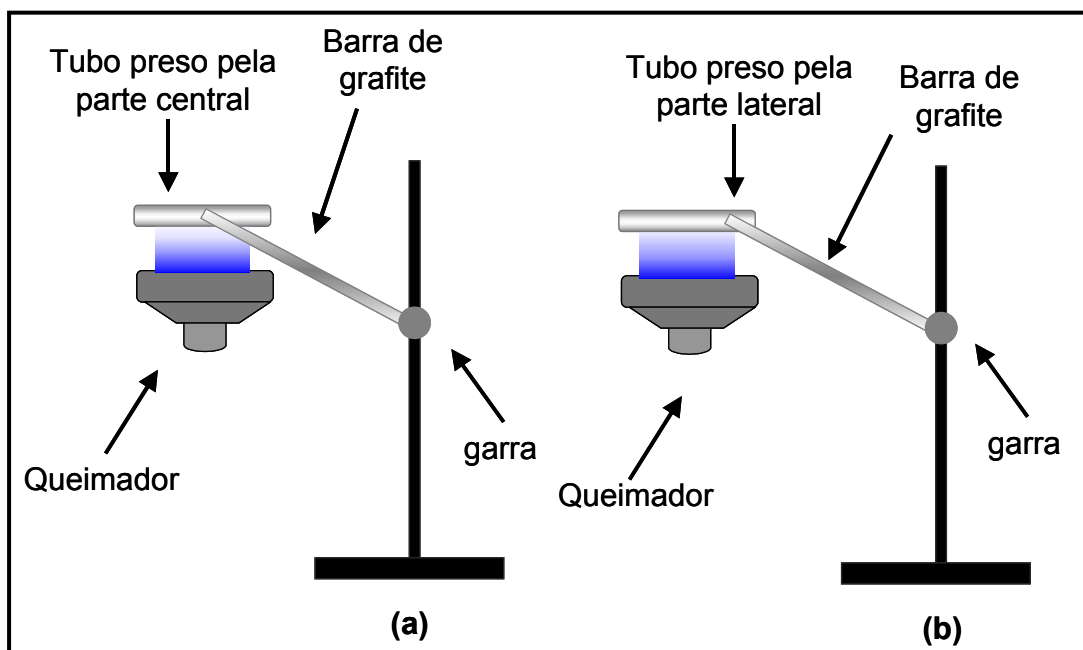


FIGURA 2.2.3.3.2 – Tubo na chama desenvolvido por ALVARADO & JAFFE⁶⁵.
(a) centro do tubo preso na barra e (b) lateral do tubo presa na barra.

Depois da injeção da amostra nos sistemas (a) e (b), verificou-se que o sistema (a) apresentou menor repetibilidade em comparação com o sistema (b). Isso pode ter ocorrido devido à diferença na localização do braço do suporte. No sistema (a) a amostra pode alcançar a metade do tubo e penetrar nas paredes da grafite porosa, que se encontram menos aquecidas devido à conexão com o braço, atrasando a completa atomização do analito. Para o sistema (b), as amostras inseridas próximas ao braço do suporte também apresentaram um atraso na atomização do analito. Em contrapartida, quando a amostra foi inserida do lado contrário ao braço do suporte do sistema (b), a possibilidade de alcançar a zona mais fria do tubo era menor e a repetibilidade foi melhorada.

O tempo de vida útil do tubo foi de 350 ciclos de 20 s (tempo para aquecimento e vaporização da amostra). A melhora do limite de detecção comparada com a atomização por chama convencional foi de 50 vezes. Entretanto, a repetibilidade também pode ser prejudicada se o tubo não for colocado sempre na mesma posição na chama.

2.3 – A importância da determinação de Cd, Pb, Tl e Zn

A determinação de elementos tóxicos em alimentos é um dos parâmetros que indicam a proporção da contaminação de humanos e animais que vivem em um determinado local. Esses metais podem estar presentes em frutas, verduras ou legumes ingeridos de forma direta ou indireta pelo homem, sendo parcialmente acumulados no organismo, causando sérios problemas de saúde. Os elementos Pb, Cd e Tl estão entre os elementos particularmente mais tóxicos⁸²⁻⁸³.

As condições geológicas do solo, tais como a disposição de rochas e minérios e a extensão das modificações realizadas por atividades humanas através de plantas industriais e práticas de agricultura, podem ter influência sobre o conteúdo de elementos químicos em alimentos de origem vegetal e animal.

O cádmio causa sérios distúrbios nas funções do fígado e alguns estudos indicam que ele pode ter efeito cancerígeno. O chumbo é menos tóxico do que o Cd, mas em altas concentrações, particularmente em crianças, pode ocasionar graves efeitos neurológicos, tais como, retardo mental, epilepsia e neuropatia ótica. O tálio é o elemento mais tóxico para os mamíferos em comparação com Cd e o Pb e se encontra presente em concentrações abaixo de 10 mg kg⁻¹ nos solos.

Os riscos de envenenamento por cádmio resultam, principalmente, do consumo de alimentos contaminados, embora o grau de contaminação varie entre indivíduos. A acumulação desse metal depende principalmente dos hábitos nutricionais, comportamentais (fumante), contaminação do meio em que vive e predisposição física.

De acordo com a Organização Mundial de Saúde⁸³, a faixa de concentração permitida para Cd varia de acordo com o tipo de alimento. Os teores são diferentes para alimentos consumidos diretamente sem nenhum preparo como é o caso do leite, onde o teor máximo permitido é de 1,0 µg kg⁻¹ em leite. Para carnes e peixes o limite é de 50 µg kg⁻¹ e para farinhas, arroz e tomate os limites

variam de 10 a 300 $\mu\text{g kg}^{-1}$. Os níveis mais elevados (100-1000 $\mu\text{g kg}^{-1}$) são encontrados em órgãos internos de animais, como fígados e rins de mamíferos e em certas espécies de moluscos, mariscos e ostras. Ambientes poluídos por resíduos industriais ou urbanos que possuem altas concentrações de Cd e derivados de materiais de origem geológica que contenham o minério esfalerita (Zn-Cd), podem contaminar a produção agrícola e, conseqüentemente, os alimentos propensos a bioacumulação de metais, como o arroz, que pode armazenar consideráveis concentrações de cádmio ($> 1000 \mu\text{g kg}^{-1}$). O teor de Cd em plantações de vegetais e cereais é influenciado pelos solos sobre os quais essas plantas crescem. A OMS estabelece que a concentração máxima para Cd na água potável deve ser de 1 $\mu\text{g l}^{-1}$ e a ingestão média semanal não deve exceder 7 $\mu\text{g kg}^{-1}$ de massa corpórea.

No caso do Pb, o limite máximo para ingestão é de 25 $\mu\text{g kg}^{-1}$ de peso corpóreo para adultos, crianças e bebês. No Codex Alimentarius⁸⁴, a concentração máxima em alimentos depende do tipo e da fonte do alimento. Em frutas, vegetais e carnes varia de 100 a 200 $\mu\text{g kg}^{-1}$. Em leite o limite é de 20 $\mu\text{g kg}^{-1}$. Entretanto, muitos cuidados devem ser observados na ingestão de plantas, pois a fitotoxicidade do Pb é baixa e algumas plantas podem não apresentar nenhum sinal externo correlacionado ao teor desse elemento.

A concentração máxima de tálio em alimentos não está descrita no Codex Alimentarius, possivelmente porque a contaminação do meio ambiente por esse elemento seja rara ou desconhecida. Os casos descritos de intoxicação ocorreram propositalmente (suicídios ou homicídios), ou por envenenamento acidental causado por indústrias de cimentos, metalúrgicas e trabalhos de alvenaria.

A concentração em plantas e animais não chega a 0,1 mg kg^{-1} e níveis que excedem 2 mg kg^{-1} são considerados anormais. Entretanto, para plantas, essa concentração depende do emprego de fertilizantes. Em plantas ornamentais, o teor de Tl pode ser maior devido à constante adubação, onde alguns produtos podem

conter de 100 a 210 $\mu\text{g kg}^{-1}$ desse elemento (feldspatos e micas). A ingestão de Tl em humanos, proveniente da dieta, dever ser menor que 5 $\mu\text{g kg}^{-1}$ massa corpórea por dia⁸⁵⁻⁸⁶.

Um estudo com 421 espécies de cogumelos, que são conhecidos como bioacumuladores de elementos químicos, foi feito para avaliação da taxa de acumulação de Tl. O fator de transferência encontrado foi menor que 0,1 (relação entre a concentração no solo e na amostra), indicando que não houve transferência significativa. Entretanto, para algumas espécies de plantas, crescidas em áreas contaminadas, o fator de transferência foi de 2,9 para espécies de *Brassicaceae* como acelga, repolho e couve, sendo que a máxima concentração encontrada foi de 45 mg kg^{-1} no talo verde. Na TABELA 2.3.1 estão descritos os vegetais que possuem maior e menor tendência ao acúmulo de metais (bioacumulação)⁸².

TABELA 2.3.1. Tendência de acúmulo de elementos químicos em vários vegetais⁸².

Tendência de Bioacumulação		
Baixa	Média	Alta
Batata, rabanete, abobrinha	Repolho roxo	Beterraba, alface
Feijão, milho	Repolho crespo	Espinafre, salsinha
Abóbora, tomate	Cebolinha, cenoura	Coentro, folhas de aipo
Maça, pêra	Alho-poró, trigo	Couve, acelga, couve-flor
Cevada, centeio	Repolho branco, brócoli	

Esta característica de bioacumulação pode ser devida a dois fatores: habilidade em extrair os elementos do solo, com seletiva deposição dos metais nos tecidos, indicando maior capacidade de ligações intracelulares pelos sítios ligantes, ou a presença de alta concentração de metais no meio ambiente que, conseqüentemente, leva à contaminação da planta.

O Zn é um elemento essencial. Ele atua como co-fator de um grande número de enzimas, participa na síntese e degradação de carboidratos, lipídeos, proteínas, ácidos nucleicos e no processo de expressão genética. Seu envolvimento em tais atividades fundamentais é responsável pela necessidade desse elemento para todas as formas de vida. Poucos exemplos de intoxicação por Zn foram relatados. Suas manifestações incluem náusea, vômito, diarreia e letargia após a ingestão de 4 a 8 g de zinco. Entretanto, a exposição a longo prazo, resulta na interferência no metabolismo de outros elementos essenciais. Em nutrição humana, a absorção de cobre é especialmente sensível a um excesso de zinco. Essa interação cobre/zinco tem sido responsável pela indução da deficiência de cobre e, conseqüentemente, a anemia cúprica. A ingestão recomendada é de 8 mg (homens) a 11 mg (mulheres) de Zn por dia para manutenção do equilíbrio desse elemento no organismo. Estima-se que as perdas através de fluidos biológicos variem de 0,5 a 3,0 mg Zn por dia e o aumento desses teores pode indicar desordem no metabolismo dos tecidos, cetoses e diabetes. Concentrações acima de 1200 mg dl⁻¹ Zn por dia na urina também pode indicar um processo de cirrose alcoólica^{83,87}.

No Brasil, 10 milhões de pessoas estão expostas a substâncias tóxicas e estima-se que as regiões de risco cheguem a seis mil⁸⁸. Exames em moradores de Paulínia, Grande São Paulo e Bauru, comprovaram a contaminação no sangue por produtos químicos perigosos. Todas essas pessoas podem ter problemas que vão desde uma dor de cabeça constante ao câncer. Duas das seis áreas escolhidas pela Fundação Nacional da Saúde para o projeto piloto de descontaminação estão no Estado de São Paulo. Em Mauá, cerca de 1,8 mil pessoas vivem em um condomínio habitacional construído em cima de um lixão industrial. Em Bauru, a contaminação por chumbo foi causada por uma fábrica de baterias. Laudos divulgados em agosto de 2002 mostraram que 262 pessoas residentes em um raio de 1,0 km do setor metalúrgico da indústria de bateria apresentaram índices de Pb no sangue acima de 10 µg dl⁻¹ (índice aceitável pela OMS). Exames hematológicos feitos pelo Instituto Adolfo Lutz em 30 crianças menores de 7 anos residentes à

menos de 100 m da fábrica, detectaram concentrações de até $27 \mu\text{g dl}^{-1}$ Pb no sangue de 25 crianças que participaram do estudo. Um índice de contaminação próximo de 100%.

Capítulo 3

Materiais e Métodos

3.1 – Instrumentação

As determinações de Cd, Pb, Tl e Zn foram feitas em um espectrômetro de absorção atômica com chama modelo 3110 (*Perkin-Elmer*, Norwalk, CT, EUA) equipado com corretor de fundo com lâmpada de deutério. Como fontes de radiação foram utilizadas lâmpadas de descarga sem eletrodos, alimentadas por uma fonte de radiofrequência *Perkin Elmer* modelo EDLII, utilizando os comprimentos de onda de 228,8 nm para Cd, 283,3 nm para Pb, 276,8 nm para Tl e 213,8 nm para Zn. Um espectrômetro de absorção atômica *Perkin Elmer* modelo 306, sem corretor de fundo, foi utilizado nos experimentos preliminares. No sistema BIFF-AAS, todas as medidas foram feitas em altura de pico. Utilizou-se queimador de uma fenda *Perkin Elmer* (Part N° 00400266) e queimador de 3 fendas (Part n° 00400289) com chama ar/C₂H₂ composta por acetileno 99,70% de pureza (AGA, Campinas, Brasil) e ar pré-filtrado proveniente de um compressor.

Cádmio e chumbo também foram determinados em um espectrômetro de absorção atômica com forno de grafite *Perkin Elmer* modelo 4100ZL, (Überlingen, Alemanha) equipado com corretor de fundo por efeito Zeeman longitudinal e tubo de grafite pirolítico com aquecimento transversal (THGA) do tipo “end-capped” (Part. N°. B3000655), contendo plataforma integrada de grafite. Como gás de proteção utilizou-se argônio 99,96% (AGA, Campinas, Brasil). Neste espectrômetro também foram utilizadas lâmpadas de descarga sem eletrodos de Cd e Pb, utilizando-se os mesmos comprimentos de onda mencionados anteriormente. As medidas foram feitas em absorbância integrada. As alíquotas de 20 µL das soluções das amostras (digeridos e extratos) foram introduzidas no tubo de grafite com plataforma recoberta por modificador permanente W-Rh¹⁰⁰, empregando-se um amostrador automático *Perkin Elmer* modelo AS-71 equipado com copos de polietileno de 1,5 mL. Utilizou-se sistema de agitação ultra-sônica Vibracell VC 50

com uma sonda de titânio (3 mm de diâmetro) de 50 W e 20 kHz da Sonics and Materials (Danbury, EUA) acoplado ao controlador USS-100.

Para o estudo de visualização da entrada dos gases da chama no interior do tubo atomizador, medidas de emissão molecular de SrOH e de emissão atômica de Ba e Na foram feitas entre 600 e 613 nm, 553,6 nm e 589 nm, respectivamente.

No estudo de interferência utilizou-se bomba peristáltica Perkin Elmer FIAS 400 (Überlingen, Alemanha).

Para a moagem das amostras, utilizou-se moinho criogênico Spex 6800 Freezer Mill (Metuchen, EUA). Para secagem da amostra de peixe utilizou-se liofilizador mod. Freeze Dryer 8 da Labconco (Missouri, EUA) e para as amostras vegetais, estufa de secagem Fanem (São Paulo, Brasil).

A decomposição das amostras foi feita em forno de microondas Milestone mod. ETHOS 1600 (Soriso, Itália) equipado com rotor mod. HPR com capacidade para 10 vasos de reação de TFM[®] com capacidade de 100 ml que suportam temperatura de 300 °C e pressão de até 100 bar (Part N^o 33806).

A extração ultra-sônica foi feita em tubos de centrífuga com capacidade de 15 mL, utilizando um banho ultra-sônico modelo USC-750 (1,9 L), com transdutor piezolétrico de 90 W operando em 25 kHz da Unique-Thornton (Indaiatuba, Brasil). A separação das fases, depois do tratamento de extração, foi feita em uma centrífuga Cientec mod. 55 (Piracicaba, Brasil).

Para pesagem das amostras utilizou-se balança Mettler mod. AE 100 (Greifensee, Suíça) com precisão de décimo de miligrama.

3.2 – Reagentes e soluções

Água purificada em sistema Milli-Q[®] Millipore (Bedford, USA) obtida com resistividade de 18,2 MΩcm foi utilizada em todos os experimentos. O sistema Milli-Q[®] foi alimentado com água proveniente de osmose reversa Marconi

(Piracicaba, Brasil). Ácido nítrico de grau analítico Merck (Rio de Janeiro, Brasil) foi destilado em destilador de quartzo, empregando-se sistema de sub-ebulição (destilação em temperatura abaixo do ponto de ebulição) Kürner (Rosenheim, Alemanha) operando a 200 watts com capacidade para 20 ml h⁻¹. O ácido destilado foi coletado em recipiente de quartzo e armazenado em frascos descontaminados de polipropileno Nalgene[®].

Para avaliação do efeito de concomitantes foram preparadas as seguintes soluções:

- 4000 mg l⁻¹ K em 0,12 mol l⁻¹ HCl (como KCl – Merck, Rio de Janeiro, Brasil)
- 4000 mg l⁻¹ Ca em 0,14 mol l⁻¹ HNO₃ (como CaCO₃ - Merck, Rio de Janeiro, Brasil)
- 4000 mg l⁻¹ Mg em 0,12 mol l⁻¹ HCl (como MgO - Johnson Matthey Chemicals, Royston, UK)
- 2000 mg l⁻¹ Sr em 0,14 mol l⁻¹ HNO₃ (como Sr(NO₃)₂ - Johnson Matthey Chemicals, Royston, UK)
- 4000 mg l⁻¹ Fe em 0,12 mol l⁻¹ HCl (como FeCl₃ - Merck, Rio de Janeiro, Brasil)
- 2000 mg l⁻¹ SiO₃ em 0,14 mol l⁻¹ HNO₃ (como Na₂SiO₃ - Johnson Matthey Chemicals, Royston, UK)
- 2000 mg l⁻¹ P em 0,14 mol l⁻¹ HNO₃ (como (NH₄)₂HPO₄ - Merck, Rio de Janeiro, Brasil)
- 4000 mg l⁻¹ Al em 0,12 mol l⁻¹ HCl (como AlCl₃ - Johnson Matthey Chemicals, Royston, UK)
- 40.000 mg l⁻¹ Na em solução aquosa (como NaCl - Johnson Matthey Chemicals, Royston, UK).

As soluções de trabalho foram preparadas em HNO_3 $0,14 \text{ mol l}^{-1}$ a partir de diluições adequadas das soluções estoque contendo 1000 mg l^{-1} de Cd, Pb, Tl e Zn.

Para o estudo de avaliação de entrada dos gases da chama no tubo atomizador, soluções de 1000 mg l^{-1} Sr, 1000 mg l^{-1} Ba e 1000 mg l^{-1} Na foram preparadas em $0,14 \text{ mol l}^{-1}$ HNO_3 .

Todas as soluções foram armazenadas em frascos de polipropileno (Nalgene®).

3.3 – Descontaminação dos materiais

O material plástico e a vidraria foram limpos com lavagem em água corrente, lavagem com água proveniente de osmose reversa e imersão em banho 20% v/v HNO_3 por 24 h. Posteriormente, esses materiais foram enxaguados 4 vezes com água desionizada e 1 vez com água ultra-pura Milli-Q®. Os copos do amostrador automático e as ponteiros das micropipetas foram descontaminados antes de serem utilizados, mantendo-os em banhos contendo 10% v/v HNO_3 por pelo menos 24 h. Os materiais foram secos em capela de fluxo laminar (Veeco, Brasil), instalada em sala limpa.

Para limpeza dos nozzles, utilizou-se banho ultra-sônico com posterior imersão em 20% v/v HNO_3 . Os nozzles foram colocados em um béquer com 100 ml de água no banho ultra-sônico e sonicados por 5 min. Posteriormente, foram retirados do banho e colocados em um frasco de 100 ml com 20 % v/v HNO_3 por 3 dias. Após esse período, foram enxaguados com água e secos em capela de fluxo laminar. Esse procedimento foi utilizado sempre que o nozzle tinha obstrução proveniente de partículas sólidas das amostras.

3.4 – Amostras e materiais de referência certificados

Para determinação dos elementos Cd, Pb, Tl e Zn no sistema BIFF-AAS foram utilizadas amostras de águas interiores (Rio Paracateí – SP), efluentes de uma indústria de baterias (Bauru – SP) e alimentos de origem vegetal (alface crespa, alface lisa, couve-flor, berinjela, abóbora, jiló e cogumelo) e animal (peixe e bivalve) provenientes de áreas contaminadas por rejeitos industriais. No caso das águas, peixe e bivalve, as amostras foram doadas por pesquisadores do projeto BIOTA (CENA –USP)⁸⁹. Os alimentos foram adquiridos em supermercados.

Para validação dos métodos desenvolvidos foram utilizados materiais de referência certificados (CRMs) de Pig Kidney 186 da Community Bureau of Reference (BCR, Brussels, Belgium), Rice Flour 10-C do National Institute for Environmental Studies (NIES, Ibaraki, Japan) e Oyster Tissue 1566a do National Institute of Standards and Technology (NIST, Gaithersburg, EUA).

3.5 – O sistema BIFF-AAS

O arranjo do sistema de injeção de amostra em forno aquecido por chama (BIFF-AAS) pode ser visto na FIGURA 3.5.1.

Esse sistema consiste de uma bomba de pistão modelo LC-10AD Shimadzu (Kyoto, Japão), uma válvula de introdução da amostra com seis canais Rheodyne (California, EUA), alças de amostragem de 50 e 500 µl, tubos de transporte feitos de PEEK (0,70 mm de diâmetro interno), um pré-filtro de 3 µm feito de titânio e um restritor (nozzle) também feito de PEEK com abertura de 50 µm de diâmetro interno e microcanal com 200 µm de comprimento da MicroParts (Dortmund, Germany). O conjunto de suportes, nozzle, anéis de vedação e conectores utilizados nesse sistema podem ser vistos nas FIGURAS 3.5.2 e 3.5.3.

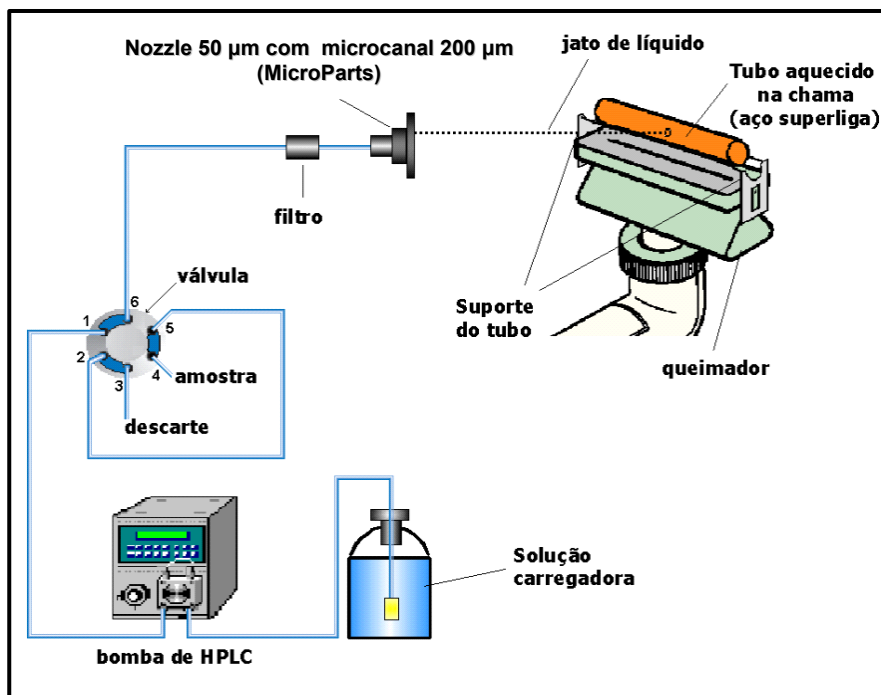


FIGURA 3.5.1 – Arranjo esquemático do sistema BIFF-AAS

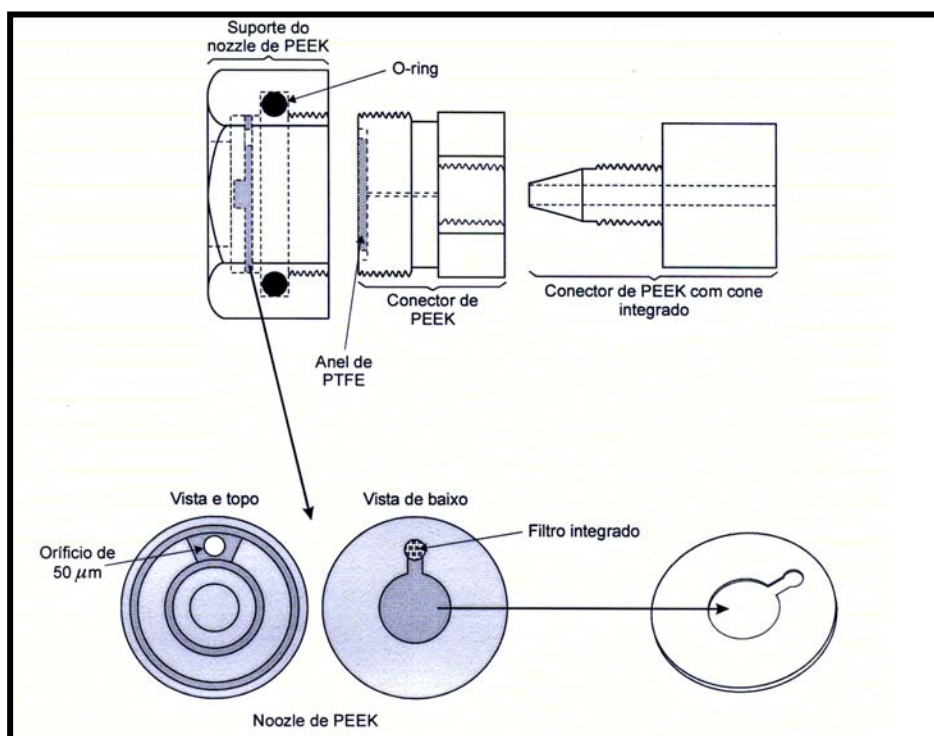


FIGURA 3.5.2 – Detalhe do conjunto suporte, anel de vedação, nozzle e conectores do BIFF-AAS. Frente e verso do nozzle utilizado.

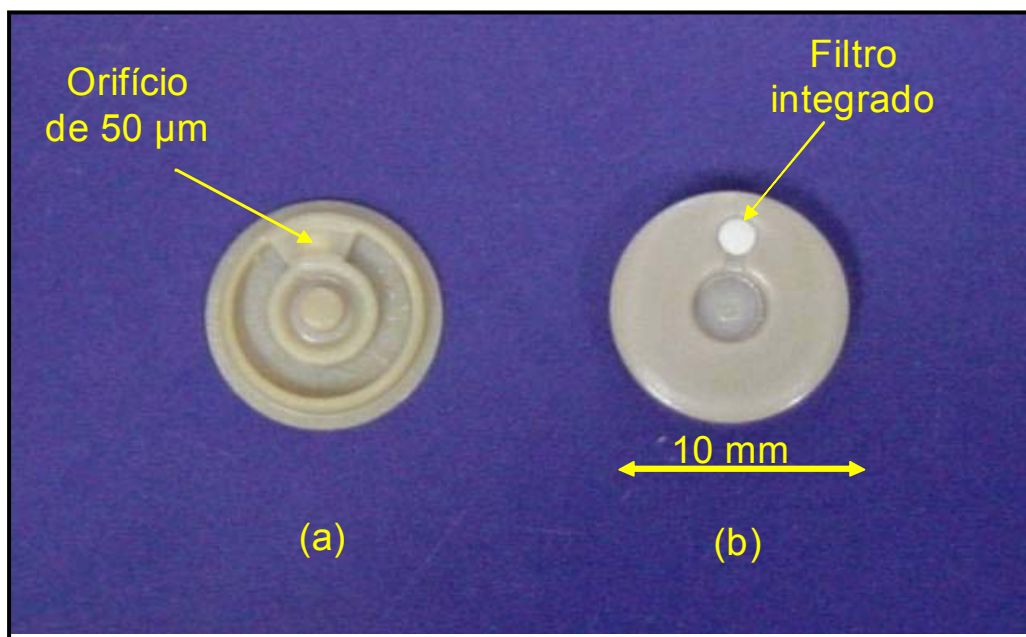


FIGURA 3.5.3 – Fotos do nozzle: (a) vista de frente e (b) verso.

Os tubos atomizadores foram feitos a partir de um tubo comercial de super liga de níquel (ASTM B 167: 74% Ni, 16% Cr, 9% Fe). Cada tubo foi fixado no queimador por pinos de cerâmica, posicionados nas laterais da cabeça queimador. Os tubos atomizadores foram construídos sem furos, com 6 e 10 furos adicionais na parte inferior. Esses furos ficam a 90° do orifício de introdução do jato de líquido. Todos os tubos possuem o mesmo orifício centralizado para introdução do jato de líquido. A FIGURA 3.5.4 mostra um dos tubos atomizadores utilizados durante o trabalho. A FIGURA 3.5.5 mostra a parte inferior dos tubos a 90° do orifício de introdução do jato.



FIGURA 3.5.4 – Foto do tubo atomizador com orifício centralizado onde o jato de líquido é introduzido.

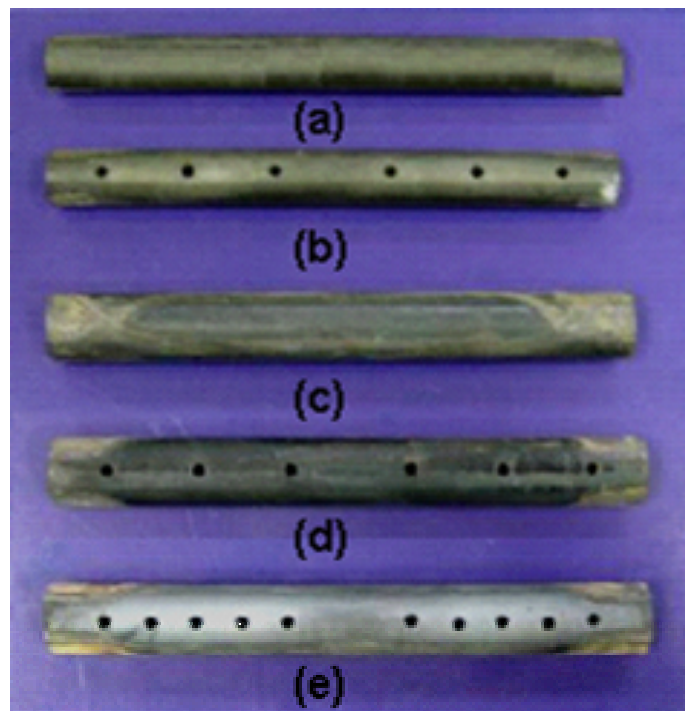


FIGURA 3.5.5 - Fotos dos tubos atomizadores a 90 ° do orifício de introdução do jato de líquido.

- (a) tubo sem furos - 50 mm d.i.;
- (b) tubo com 6 furos - 50 mm d.i.;
- (c) tubo sem furos - 100 mm d.i.;
- (d) tubo com 6 furos - 100 mm d.i.;
- (e) tubo com 10 furos - 100 mm d.i.

Capítulo 4

Procedimento Experimental

4.1 – Sistema BIFF-AAS

4.1.1 – Efeitos da vazão da solução carregadora, do volume de amostra inserida, da mistura gasosa e do tipo de tubo atomizador

Os estudos preliminares sobre a influência dos parâmetros operacionais do sistema BIFF-AAS foram realizados utilizando-se o espectrômetro de absorção atômica com chama, modelo 306 *Perkin Elmer* sem corretor de fundo. Segundo GÀSPÁR & BERNDT⁸, os parâmetros que influenciaram na estabilidade do jato de líquido e na eficiência de atomização foram a vazão da solução carregadora, a vazão dos gases de composição da chama e o tipo de tubo atomizador. Portanto, neste trabalho, esses efeitos foram avaliados para determinação de Cd, Pb, Tl e Zn por BIFF-AAS e para cada variável estudada, os outros parâmetros foram mantidos constantes.

- a. Efeito da vazão de solução carregadora (C_s) – variou-se de 0,8 a 2,2 ml min⁻¹ utilizando-se água Milli-Q[®] como solução carregadora. ($V_{\text{injetado}} = 400 \mu\text{l}$, tubo de 6 furos, vazão de ar = 22,0 l min⁻¹, vazão de C₂H₂ = 3,8 l min⁻¹). Vazões menores que 1,2 ml min⁻¹ não mantinham as condições hidrodinâmicas do jato de líquido e vazões acima de 2,2 ml min⁻¹ causaram diminuição da sensibilidade.
- b. Efeito da vazão gasosa – variou-se a vazão de C₂H₂ de 2,5 a 4,8 l min⁻¹ mantendo-se a vazão de ar constante e depois se variou a vazão de ar de 10 a 30 l min⁻¹ com C₂H₂ constante. ($C_s = 1,40 \text{ l min}^{-1}$, $V_{\text{injetado}} = 400 \mu\text{l}$, tubo de 6 furos)
- c. Efeito do tipo de tubo atomizador – utilizou-se tubos com diâmetro interno de 5 e 10 mm, sem furos, com 6 e 10 furos.
- d. Efeito do volume injetado (V_{injetado}) – variou-se de 50 a 1000 μl . ($C_s = 1,40 \text{ l min}^{-1}$, tubo de 6 furos, vazão de ar = 22,0 l min⁻¹, vazão de C₂H₂ = 3,8 l min⁻¹)

A temperatura no interior do tubo foi estimada utilizando-se o método das duas linhas descrito por CHAKRABARTI *et al.*⁹⁰. A solução contendo 150 mg l⁻¹ Sn foi pneumáticamente nebulizada no espectrômetro de absorção atômica com chama ar/C₂H₂ na vazão de 22,3 l min⁻¹ ar e 4,3 l min⁻¹ C₂H₂. As medidas de absorbância foram feitas nos comprimentos de onda 286,3 e 284,0 nm. Após esse procedimento, o tubo atomizador com 6 furos foi colocado sob a chama e as medidas foram repetidas para as duas linhas do Sn. O cálculo da temperatura da fase vapor foi feito utilizando-se a equação:

$$T_{\text{eff}} = 2143 / \log [4,9 (A_1/A_2)]$$

Onde T_{eff} é a temperatura estimada do vapor na chama ou no tubo atomizador, A_1 é a absorbância medida em 286,3 nm e A_2 é a absorbância medida em 284,0 nm para a mesma solução de Sn.

Também se utilizou Pb como par termométrico. O procedimento foi o mesmo utilizado para o Sn. As medidas de absorbância foram feitas nas linhas 386,3 e 280,2 nm utilizando-se uma solução contendo 1000 mg l⁻¹ Pb. A equação utilizada para o cálculo da temperatura da fase vapor foi:

$$T_{\text{eff}} = 1770 / \log [3,68 (A_1/A_2)]$$

O estudo de avaliação da entrada dos gases da chama no interior do tubo atomizador foi feito utilizando-se soluções contendo 1000 mg l⁻¹ Sr, Ba e Na nebulizadas pneumáticamente na chama do espectrômetro de absorção atômica com tubo atomizador de seis furos com 10 cm de comprimento colocado sobre a fenda de um queimador de 5 cm. Essa montagem foi necessária para melhor aquisição das imagens, uma vez que com a utilização do queimador de 10 cm com uma fenda, parte dos gases da chama entrava pelas extremidades do tubo prejudicando a visualização da entrada dos gases no interior do tubo.

4.1.2 – Estudo de interferentes

Para os estudos de interferência sobre a determinação dos analitos de interesse utilizou-se sistema de injeção em fluxo com zonas coalescentes (FIGURA 4.1.2.2). Na posição de injeção, excluindo-se os efeitos de dispersão, as soluções do analito (L1, 200 μl) e do interferente (L2, 200 μl) foram injetadas simultaneamente na solução carregadora (água ou 0,014 mol l^{-1} HNO_3 ou 0,012 mol l^{-1} HCl) a uma vazão de 0,7 mL min^{-1} em cada canal, confluindo no ponto X, simulando as soluções dos analitos na presença dos interferentes.

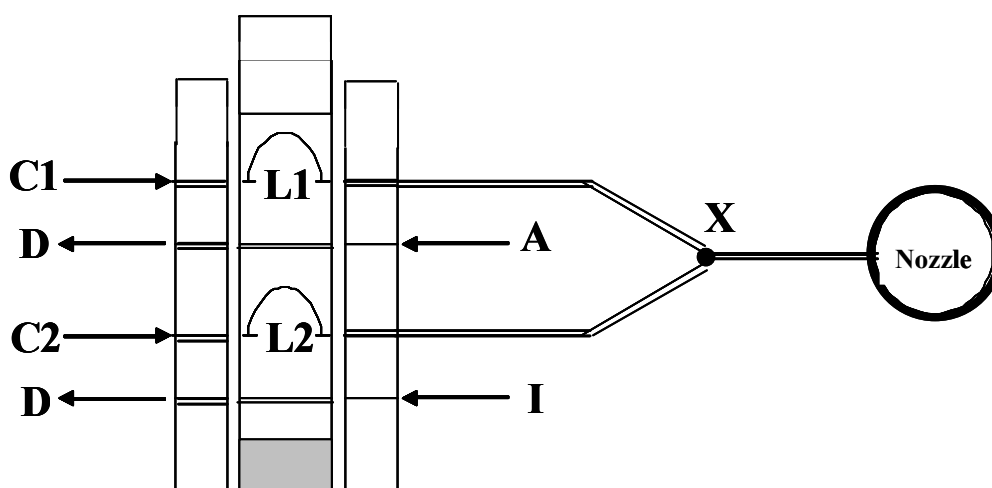


FIGURA 4.1.2.2. Esquema do sistema de zonas coalescentes utilizado no estudo de interferentes. As três peças retangulares representam o injetor comutador, onde: A, solução do analito de interesse; L1, alça de amostragem (200 μL); I, solução do interferente; L2, alça (200 μL); C1 e C2, solução carregadora com vazão de 0,7 ml min^{-1} ; X, confluência.

A vazão de solução carregadora e o volume injetado foram otimizados nos estudos preliminares. A vazão de solução carregadora foi fixada em 0,70 l min^{-1} . O volume injetado foi de 200 μl de solução do analito mais

200 µl de solução interferente para totalizar 400 µl de volume injetado no sistema BIFF-AAS.

As concentrações das soluções dos analitos foram fixadas em 100 µg l⁻¹ Cd, 1000 µg l⁻¹ Pb e 100 µg l⁻¹ Zn e variou-se a concentração dos concomitantes. A avaliação foi feita com soluções contendo de 100 a 20.000 mg l⁻¹ Na, 2000 mg l⁻¹ K, 2000 mg l⁻¹ Ca, 2000 mg l⁻¹ Mg, 2000 mg l⁻¹ Fe, 2000 mg l⁻¹ Al e 1000 mg l⁻¹ P. Os elementos e as concentrações foram escolhidos em função da máxima ocorrência em amostras de águas interiores e alimentos e considerando a diluição no ponto de coalescência.

Os experimentos foram feitos no espectrômetro de absorção atômica com chama modelo 306 (Perkin Elmer – 1974) que não possui corretor de fundo e no equipamento FAAS modelo 3110 (Perkin Elmer – 1985) com correção de fundo com lâmpada de deutério.

4.2 – Preparo de amostras

4.2.1 – Coleta

4.2.1.1 – Águas

Amostras de águas provenientes do rio Paracateí, interior do estado de São Paulo e efluentes de uma indústria de baterias, com suspeitas de contaminação por rejeitos industriais foram doadas pela pesquisadora Dra. Andréa Tomazelli, colaboradora do projeto BIOTA no Centro de Energia Nuclear da Agricultura (CENA-USP).

As amostras foram coletadas em frascos de polietileno tereftalato, filtradas em membrana de acetato de celulose de 0,20 µm e acidificadas com 1,0 ml de ácido nítrico concentrado para cada litro de amostra. As amostras de água foram conservadas em geladeira a 4 °C em frascos de polipropileno.

4.2.1.2 – Alimentos

Alimentos pertencentes à dieta alimentar da população brasileira como alface, couve-flor, berinjela, abóbora, jiló, cogumelo, bivalvo e peixes foram comprados de pescadores ou adquiridos em supermercados localizados em uma região do interior do Estado de São Paulo que possui extensa atividade industrial.

Os alimentos foram lavados em água corrente e depois enxaguados com água destilada e água ultra pura.

4.2.1.3 – Peixe e bivalvo (*Anodontites trapezialis*)

As amostras de peixe e bivalve liofilizadas e moídas também foram fornecidas pela pesquisadora Dra. Andréa Tomazelli. Essas amostras foram coletadas nas bacias dos rios Piracicaba e Mogi-Guaçu e fazem parte do projeto BIOTA. O procedimento de coleta está descrito em TOMAZELLI *et al.*⁸⁹.

4.2.2 – Secagem

Após a lavagem, os alimentos foram secos em capela de fluxo laminar para remoção do excesso de água e divididos em pequenas porções de massas semelhantes. Verduras e legumes foram secos em estufa com temperatura de 60 °C até massa constante (48 a 96 h) e, posteriormente, colocados em sacos de papel pardo. As amostras de peixes foram cortadas ao meio para remoção das vísceras e cortes transversais de filé foram feitos, retirando-se a pele e as escamas. As amostras de mexilhões foram apenas fatiadas. Amostras de peixes e mexilhões foram colocadas em pequenos frascos de vidro para secagem no liofilizador.

4.2.3 – Moagem criogênica

Depois de secas, as amostras de alimentos foram cortadas em pequenos pedaços e massas entre 1 e 2 g foram inseridas nos tubos de policarbonato do moinho criogênico, juntamente com uma barra magnética. Os tubos foram fechados com tampas de aço inoxidável e cada tubo foi colocado em uma abertura do suporte interno do moinho. Esse suporte foi então mergulhado no recipiente de nitrogênio líquido por um tempo de 5 min para pré-congelamento das amostras.

O procedimento de moagem utilizado nas amostras de alimentos foi proposto por SANTOS Jr.⁹¹, com pré-congelamento de 5 min, 3 ciclos de moagem de 2 min, intercalados por recongelamento de 1 min a cada ciclo. O tempo de recongelamento entre os ciclos de moagem foi necessário devido ao aquecimento causado pelo atrito da barra magnética com a amostra e o conjunto de moagem. Assim que o moinho é ligado, um campo magnético alternado é aplicado, fazendo com que a barra atinja as tampas do tubo em alta velocidade com uma frequência média de 20 impactos por segundo. As amostras liofilizadas e moídas apresentaram um aspecto de sólido finamente dividido. Os alimentos, depois de moídos, foram armazenados em frascos de vidro âmbar em temperatura ambiente.

Trabalhos recentemente publicados que utilizaram a moagem criogênica em amostras de alimentos mostraram que a eficiência obtida na homogeneidade e na redução do tamanho de partícula de plantas e animais possibilitou ataques ácidos mais efetivos durante tratamentos de decomposição ou extração, com diminuição do tempo de preparo das amostras^{80,90-95}. Como um resultado geral, a moagem criogênica de amostras de tecidos vegetais apresentou uma distribuição do tamanho de partícula composta por 95 % de partículas menores que 102 μm , 90 % menores que 63 μm e 50 % menores que 20 μm ⁵². Considerando-se esses estudos, procedimentos de extração foram feitos avaliando-se a concentração ácida e o tempo de sonicação e também a decomposição das

amostras empregando-se forno microondas com cavidades e frascos fechados com utilização de ácidos diluídos.

4.2.4 – Digestão

As decomposições das amostras de alimentos e CRMs foram feitas por via úmida, usando o método de digestão assistida por microondas em sistema fechado (Milestone, Ethos 1600) conforme procedimento descrito por SANTOS JR *et al.*⁹⁰⁻⁹¹. As amostras foram decompostas em triplicata, utilizando-se 250 mg de amostra seca e moída, pesando-se diretamente em tubos de TFM[®] do forno de microondas. Em cada frasco foram adicionados 4,0 ml de HNO₃ 2,8 mol l⁻¹ e 2,0 ml de 30% m/m H₂O₂. Depois da decomposição, os frascos de microondas foram resfriados até temperatura ambiente e as soluções de digeridos foram transferidos para tubos volumétricos tipo Falcon com 50 ml de capacidade, completando-se o volume com água. Utilizou-se o programa de aquecimento da TABELA 4.2.4.1.

TABELA 4.2.4.1 – Programa de aquecimento para digestão de amostras de alimentos assistida por microondas*.

Etapa	Tempo (min)	Temperatura (°C)	Potência (W)
1	3	160	1000
2	2	160	0
3	5	230	1000
4	10	230	1000

* Temperatura máxima da parede externa do frasco: 90 °C

Após a digestão, as amostras foram analisadas no sistema BIFF-AAS e no GFAAS para comparação dos resultados.

A digestão de amostras de alimentos empregando radiação microondas tem sido comumente utilizada em substituição aos procedimentos de

digestões "over night" e digestões ácidas em blocos digestores. O método consome um menor volume de reagentes e de amostras e é rápido, eficiente e seguro. Entretanto, ainda possui um alto custo na aquisição dos equipamentos e um reduzido número de amostras pode ser feito por batelada.

O emprego de ácidos diluídos em digestões por microondas foi avaliado por CARRILHO *et al.*⁹², GOUVEIA *et al.*⁹³ e ARAÚJO *et al.*⁹⁴ e bons resultados foram obtidos para as amostras no formato de pós finamente divididos. Em amostras de plantas, tecidos animais e cereais de café da manhã moídos com o moinho criogênico, a homogeneidade e o reduzido tamanho de partícula permitiram um ataque ácido efetivo com a utilização de ácidos diluídos, diminuindo o tempo de digestão e dos desvios padrão relativos das replicatas.

4.2.5 – Extração

Para extração de Cd, Pb, Tl e Zn das amostras de alimentos, suspensões foram preparadas transferindo-se massas de 100 a 200 mg cuidadosamente pesadas das amostras em pó para tubos de centrífuga de 15 ml. Após a pesagem, adicionou-se 5,0 ml de HNO₃ 10 % v/v ou 20 % v/v conforme procedimento descrito por ALEIXO *et al.*⁵². Esses tubos foram fechados, colocados em um suporte de acrílico para seis tubos e levados ao banho ultrassônico durante intervalo de 20 min. A cada intervalo de 5 min, o tubo de centrífuga era retirado do banho e colocado no agitador tipo Vortex para melhor homogeneização da suspensão da amostra. Após a extração, as amostras foram diluídas com água até o volume de 10 ml e centrifugadas durante 5 min a 5400 rpm. Um volume de 400 µl do sobrenadante de cada extração foi injetado no sistema BIFF-AAS.

O uso da extração de analitos em alimentos por ultra-som tem sido uma das alternativas ao tradicional preparo de amostras por digestões que

envolvem ácidos concentrados, altas pressões e temperaturas^{52,91,93,95}. O banho ultra-sônico é um equipamento de baixo custo, geralmente acessível em laboratórios químicos. A energia ultra-sônica gera o fenômeno de cavitação, que consiste na produção de microbolhas em um líquido quando uma pressão negativa é aplicada. Entretanto, no caso do banho ultra-sônico essa energia não é dissipada de forma homogênea, nem constante^{91,96}. Isso ocorre porque a energia de transferência depende das dimensões da cuba, do tipo de frasco reacional (espessura das paredes) e da posição do frasco dentro do banho. Além disso, os equipamentos de limpeza por ultra-som não operam na mesma frequência e isso pode afetar os resultados, particularmente quanto à reprodução de trabalhos descritos na literatura, o que dificulta a comparação de resultados obtidos em diferentes equipamentos. Essas dificuldades podem ser minimizadas com a utilização de sondas ultra-sônicas, porém, esse equipamento tem um custo maior.

No trabalho de NASCENTES *et al.*⁹⁷ foram investigadas as melhores condições de extração por banho ultra-sônico para Ca, Mg, Mn e Zn em vegetais. O método do iodeto foi utilizado para localizar a maior intensidade do fenômeno de cavitação e, conseqüentemente, a melhor localização dos frascos de amostra dentro do banho. Nas condições otimizadas, a maior intensidade de cavitação foi obtida em 0,2 % (m/v) de detergente, na temperatura de 25 °C e apenas um tubo colocado na parte central da cuba. Os autores relataram que um grande número de frascos no banho pode causar a reflexão das ondas, reduzindo a eficiência do processo de sonicação e, conseqüentemente, aumentando o tempo de preparo de 5 para 12 min. para o banho avaliado.

Nesse trabalho, experimentos iniciais foram feitos empregando-se as condições recomendadas por NASCENTES *et al.*⁹⁷ Para a extração de Cd, Pb e Zn, nove tubos de centrífuga com capacidade de 15,0 ml foram usados sem que diferenças estatísticas de extração dos analitos fossem observadas (95% nível de confiança).

4.3 – Determinação de Cd, Pb, Zn e Tl por BIFF-AAS

As curvas analíticas de calibração para a determinação de Cd, Pb, Tl e Zn por FAAS com nebulização pneumática convencional utilizando-se esfera de impacto na saída do capilar foram feitas conforme instruções do manual do fabricante⁹⁸, que cita a esfera de impacto para melhoria da sensibilidade para esses elementos. Segundo o manual, esse aumento é devido à melhora da eficiência de nebulização causada pelo impacto da solução com a pérola, diminuindo os valores de limites de detecção e massas características.

As curvas analíticas de calibração também foram obtidas no sistema BIFF-AAS para comparação dos limites de detecção e concentração característica entre os dois sistemas. A comparação foi feita nas condições de máxima sensibilidade da nebulização pneumática e do BIFF-AAS.

Após o preparo das amostras de águas e alimentos, os analitos foram determinados pelo sistema BIFF-AAS. Os parâmetros operacionais utilizados estão mostrados na TABELA 4.3.1.

TABELA 4.3.1 – Parâmetros operacionais recomendados para determinação de Cd, Pb, Tl e Zn por BIFF-AAS.

Vazão de acetileno	3,8 – 4,3 l min ⁻¹
Vazão de ar	22,3 l min ⁻¹
Distância percorrida pelo jato de líquido	10-15 cm
Vazão da solução carregadora	1,40 l min ⁻¹
Volume da alça de amostragem	400 µl
Tempo de leitura	60 s
Sinais analíticos	Altura de pico
Atomizador	Tube de super liga ASTM (10 mm d.i. e 10 cm comprimento) com 10 furos

4.4 – Programa de aquecimento do forno de grafite

A determinação de cádmio e chumbo nas amostras de alimentos e águas interiores foi feita por GFAAS para comparação com os resultados obtidos pelo sistema BIFF-AAS. Utilizaram-se tubos de grafite previamente preparados com modificador permanente W + Rh e o programa de aquecimento conforme procedimento descrito em LIMA *et al.*⁹⁹ (TABELA 4.4.1).

TABELA 4.4.1 – Programa de aquecimento para determinação de Cd e Pb em digeridos e extratos de alimentos por GFAAS

Etapa	Temperatura (°C)	Rampa (s)	Patamar (s)	Vazão de argônio (ml min ⁻¹)
1	150	5	20	250
2	200	5	15	250
3	500 ^{Cd} 600 ^{Pb}	10	20	250
4	1300 ^{Cd} 1600 ^{Pb}	0	5	0
5	2200	1	3	250

4.5 – Adição e recuperação de Tl nas amostras de águas e alimentos

As amostras de águas e alimentos utilizadas nesse estudo não possuíam uma concentração de tálio que pudesse ser detectada pelo BIFF-AAS e por GFAAS, estando abaixo do limite de detecção desses métodos. O limite de detecção para o sistema BIFF-AAS foi de 8 µg l⁻¹ Tl e para o GFAAS é de 0,1 µg l⁻¹. Considerando-se que a ocorrência de Tl em plantas e animais é menor

que 2 mg kg^{-1} , uma massa de aproximadamente 200 mg de cada amostra foi contaminada com $30 \text{ } \mu\text{g Tl}$. Após a adição, as amostras foram submetidas à digestão assistida por microondas em sistema fechado e extração em banho ultra-sônico.

Capítulo 5

Resultados e Discussão

5.1 – Avaliação do sistema BIFF-AAS

Alguns parâmetros do sistema BIFF-AAS utilizados nesse trabalho foram previamente estudados por BERNDT *et al.*^{8,49-51}. Os autores verificaram os efeitos da vazão da solução carregadora na magnitude do sinal analítico, da distância do nozzle até o tubo atomizador, do diâmetro dos nozzles e do número de furos nos tubos atomizadores.

A eficiência de nebulização do sistema BIFF-AAS depende, principalmente, da geração de um jato de líquido estável, linear e com energia cinética suficiente para percorrer a distância entre o nozzle e o tubo atomizador. O jato de líquido gerado no nozzle precisa ultrapassar uma barreira formada pela chama, penetrar no tubo através de um orifício com 2,0 mm de diâmetro e alcançar a superfície interna do tubo atomizador aquecido^{8,50}. No primeiro trabalho sobre o sistema BIFF-AAS, GASPAR & BERNDT⁸ descreveram que a obtenção de um jato de líquido estável é possível quando a velocidade linear for igual ou superior a 12 m s^{-1} . Essa velocidade linear mínima foi alcançada com solução fluindo a $1,42 \text{ ml min}^{-1}$ e nozzle com 200 μm de comprimento e 50 μm de diâmetro interno (pressão mínima de 1,6 MPa). Segundo os autores, o aumento da vazão melhorou a eficiência de nebulização devido ao aumento da energia cinética do jato. Entretanto, a temperatura do tubo (medida com termopar) foi gradativamente diminuindo com o aumento do volume de líquido inserido por unidade de tempo. Sem a introdução de água, a temperatura do tubo foi de 1050 °C e para as vazões de 1,0, 1,5 e 2,5 ml min^{-1} ocorreu a diminuição para 1010, 940 e 850 °C, respectivamente. Essa queda de temperatura impediu a atomização de precursores atômicos dos elementos mais refratários, como Cr e Mo⁸.

Na presente tese, a vazão da solução carregadora foi avaliada para cada elemento estudado. Um outro parâmetro analisado foi à distância percorrida pelo jato de líquido entre o nozzle e o tubo atomizador. O nozzle foi posicionado a

5 cm de distância da entrada do tubo atomizador e a temperatura do nozzle foi estimada após 10 min da ignição da chama, ou seja, após o estabelecimento do equilíbrio térmico, utilizando-se um termômetro com alvo infravermelho. Focalizou-se a superfície do nozzle e a temperatura foi 140 °C. Durante as análises das amostras pelo sistema BIFF-AAS com o nozzle posicionado nessa distância, observaram-se constantes entupimentos causados pela cristalização de sais na saída do nozzle, prejudicando a manutenção das características físico-químicas do jato de líquido. Aumentando-se a distância do jato para 10 cm, a temperatura diminuiu para 75 °C e os entupimentos foram menos freqüentes. Com o posicionamento do nozzle a 25 cm do tubo, ocorreu um desvio da direção do jato de líquido e a amostra não alcançou a entrada do atomizador. Assim, concluiu-se que a melhor distância entre o nozzle e o tubo deveria estar entre 10 e 15 cm, com solução carregadora fluindo a 1,40 ml min⁻¹ e pressão de 1,6 MPa.

Um outro ponto importante na utilização do sistema BIFF-AAS foi o isolamento térmico das paredes laterais e da parede do fundo do compartimento do queimador do espectrômetro de absorção atômica. Devido à geometria desse compartimento do espectrômetro *Perkin Elmer* mod. 3110, durante o aquecimento do tubo atomizador, a chama se extinguia em menos de 5 min, por causa do aquecimento no sensor de temperatura instalado na parede de fundo do compartimento. Quando a temperatura medida pelo sensor ultrapassava 75 °C, uma válvula solenóide fechava a entrada do acetileno e a chama era automaticamente extinta. Para minimizar o aquecimento, uma manta isolante de fibra cerâmica (53 % Al₂O₃ e 53 % SiO₂)¹⁰¹ foi fixada nas paredes do compartimento por uma chapa de aço de 1,0 mm. Com o isolamento térmico e mantendo-se a chama acesa, a temperatura foi menor que 75 °C. No espectrômetro *Perkin Elmer* mod. 306, um equipamento antigo e fisicamente maior, a geometria nas vizinhanças do queimador é diferente, com maior espaço e não há sensores de temperatura. Quando se utilizou esse espectrômetro, a temperatura do nozzle a 5 cm foi de 120 °C e não ocorreu o aquecimento das paredes do compartimento do

atomizador. Entretanto, esse equipamento foi pouco utilizado por não possuir corretor de fundo.

Para o transporte da solução carregadora, bombas peristálticas e de pistão foram avaliadas. A utilização da bomba peristáltica, que tipicamente trabalha em baixa pressão (máx. 0,2 MPa), permitiu a obtenção de um jato de líquido estável, mas que provocava descontinuidade do feixe de líquido durante a comutação para injeção da amostra. Também, durante o uso desse tipo de bomba, segmentos de ar na solução carregadora interrompiam o jato, que levava até 4 s para voltar a atingir o tubo atomizador. A utilização da bomba de pistão tornou o sistema mais robusto, proporcionando as características hidrodinâmicas necessárias para a manutenção das condições do jato de líquido durante 8 h de trabalho ininterrupto.

Outros parâmetros operacionais do sistema BIFF-AAS para a determinação de Cd, Pb, Zn e Tl foram investigadas:

- Efeito da vazão de solução carregadora de amostra;
- Efeito do diâmetro e do número de furos do tubo atomizador;
- Efeito da vazão e da composição da mistura gasosa ar/C₂H₂;
- Efeito do volume de amostra injetada no sistema.

Os resultados obtidos estão descritos separadamente para cada elemento.

5.1.1 – Avaliação do sistema BIFF-AAS para a determinação de cádmio

Na avaliação do efeito da vazão da solução carregadora inserida no tubo atomizador para a determinação de 100 µg l⁻¹ Cd, obteve-se maior

sensibilidade com a solução fluindo a $1,4 \text{ ml min}^{-1}$, com absorbância de $0,442 \pm 0,004$ ($n=10$) medida em altura de pico. Os resultados estão mostrados na FIGURA 5.1.1.1. A diferença entre o menor e o maior sinal analítico foi de 22,8 %, obtidos nas vazões de $1,4 \text{ ml min}^{-1}$ e $0,8 \text{ ml min}^{-1}$, respectivamente.

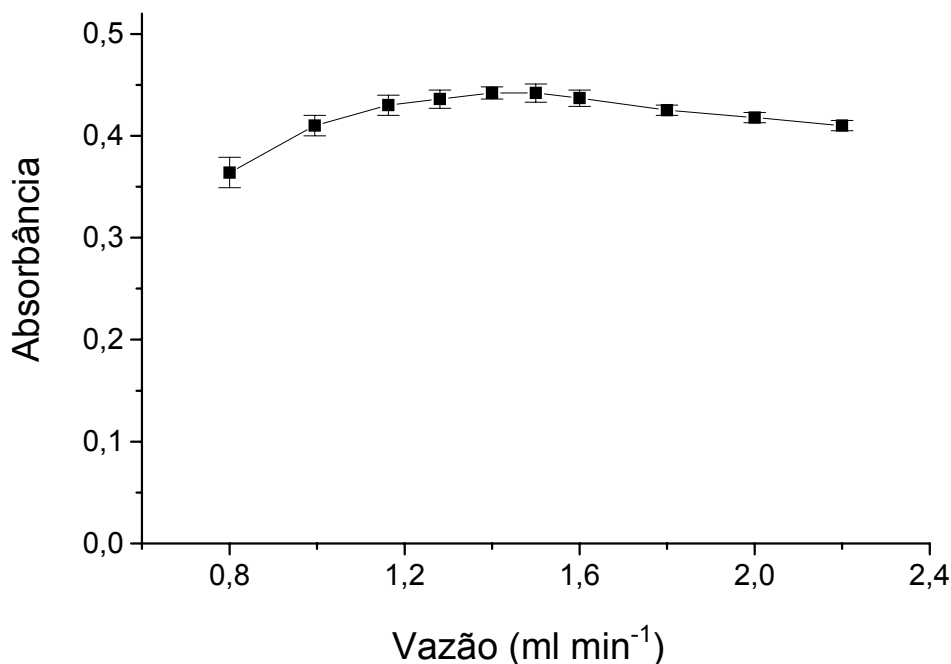


FIGURA 5.1.1.1 – Efeito da vazão da solução carregadora no sistema BIFF-AAS no sinal analítico de $100 \mu\text{g l}^{-1}$ Cd. ($\text{ar/C}_2\text{H}_2 = 22,3 \text{ l min}^{-1}/3,8 \text{ l min}^{-1}$; tubo de 10 mm d.i. sem furos; volume de amostra = $400 \mu\text{l}$). As barras de erros das medidas equivalem a estimativa de desvio-padrão ($n=10$).

Observou-se pelo exame da FIGURA 5.1.1.1 que houve pequena variação na sensibilidade para Cd com o aumento da vazão de líquido inserido no tubo atomizador. Com a solução fluindo a $1,4 \text{ ml min}^{-1}$ obteve-se o mesmo sinal analítico que em $1,5 \text{ ml min}^{-1}$, mas com coeficiente de variação entre 1,5 e 3,0 % medidos em diferentes dias ($n=10$), porém na vazão de $1,5 \text{ ml min}^{-1}$, esse coeficiente variou de 2,0 a 5,0 % ($n=10$).

A injeção de solução carregadora no tubo causou a diminuição do sinal analítico para Cd no atomizador. Isso foi observado quando foram inseridos $250 \mu\text{g l}^{-1}$ Cd por nebulização pneumática com chama ar/C₂H₂ sem o tubo. A absorvância foi de $0,052 \pm 0,001$ (n=5). Posicionando o tubo sobre o queimador e aspirando-se a solução de Cd por nebulização pneumática, a absorvância aumentou para $0,134 \pm 0,002$ (n=5). Entretanto, quando a solução carregadora (água) foi inserida no tubo com vazão de $1,4 \text{ ml min}^{-1}$, a absorvância diminuiu para $0,095 \pm 0,002$ (n=5). Esses resultados comprovam a redução na sensibilidade para a determinação de Cd com o aumento da vazão de solução carregadora inserida no tubo.

Segundo RATKA & BERNDT⁵¹, a temperatura dentro do tubo atomizador pode determinar o número de elementos a serem analisados pelo sistema BIFF-AAS. Essa temperatura depende da vazão da mistura ar/C₂H₂, do número de furos no tubo atomizador, do tipo de nozzle e da quantidade de líquido introduzida por unidade de tempo. A temperatura da chama ar/C₂H₂ é diminuída pelo contato com as paredes do tubo atomizador e pela vaporização do feixe de líquido introduzido. Sendo assim, a temperatura no tubo atomizador é influenciada, principalmente, pela vazão de solução carregadora. A alta vazão de solução (acima de $2,5 \text{ l min}^{-1}$) diminui a temperatura do tubo em aproximadamente $400 \text{ }^\circ\text{C}$ que, conseqüentemente, resulta na incompleta vaporização da amostra introduzida, prejudicando a sensibilidade. Sendo assim, para atingir maior temperatura dentro do tubo atomizador, a vazão de solução carregadora deve ser a menor possível.

Entretanto, no mesmo trabalho, os autores verificaram que a sensibilidade para Cu foi 6 vezes maior para vazão de solução carregadora $2,5 \text{ ml min}^{-1}$, em comparação com a absorvância obtida na vazão de $0,3 \text{ ml min}^{-1}$. Segundo os autores, nesse caso, não apenas a quantidade de líquido por unidade de tempo alterou a sensibilidade, mas também as condições químicas dentro do tubo atomizador (condições de atomização). Esse comportamento foi peculiar para Cu e Co mas, devido a isso, a vazão de solução carregadora deve ser avaliada para

cada elemento a ser analisado.

RATKA & BERNDT⁵¹ utilizaram CO₂ como carregador da amostra empregando BIFF-AAS como alternativa para evitar a perda de temperatura do tubo atomizador com a introdução de água. Entretanto, foi necessária a introdução de dois segmentos de água entre a amostra e o CO₂ para evitar a diluição da amostra no carregador gasoso. Os limites de detecção obtidos foram melhores para os elementos que necessitam de maior temperatura de atomização. No caso do Cd, onde a vazão de solução carregadora tem pouca influência na sensibilidade, o limite de detecção para solução carregadora água e para CO₂ foi o mesmo.

O efeito da vazão da mistura gasosa ar/C₂H₂ na atomização de Cd também foi verificado. Com a vazão da solução carregadora fixada em 1,4 ml min⁻¹, realizou-se o estudo da composição da chama. Na escala arbitrária do rotâmetro da caixa de controle dos gases no espectrômetro, escolheram-se as vazões 9 de ar e 8 de C₂H₂, que correspondem a 22,3 l min⁻¹ ar e 3,8 l min⁻¹ C₂H₂, respectivamente. Nesse estudo, a diferença entre o maior e o menor sinal analítico obtido para Cd foi de apenas 6 % para as vazões das misturas ar/C₂H₂ utilizadas (FIGURA 5.1.1.2).

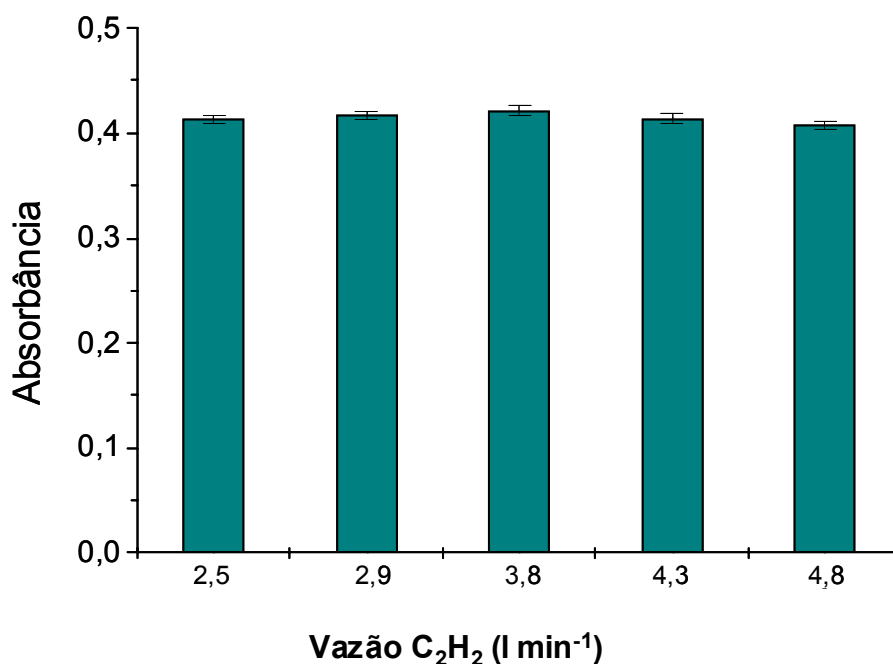


FIGURA 5.1.1.2 – Efeito da vazão de C₂H₂ no sinal analítico de 100 µg l⁻¹ Cd. (vazão de ar = 22,3 l min⁻¹; solução carregadora = 1,4 ml min⁻¹; tubo de 10 mm d.i. sem furos; volume de amostra = 400 µl)

A maior absorbância foi obtida com a mistura 3, obtendo-se um sinal analítico de $0,421 \pm 0,005$ (n=10).

A diminuição da vazão de C₂H₂ para 2,5 l min⁻¹ tornou o tubo atomizador menos incandescente, ficando nitidamente mais escuro, indicando que se menos quente. Entretanto, o aumento da vazão de C₂H₂ para 5,3 l min⁻¹, tornou a chama turbulenta e o tubo começou a emitir um som agudo em consequência da entrada dos gases através dos furos do atomizador. Além disso, o tubo incandescente deslocou-se do suporte e sofreu uma queda, queimando a lateral plástica do espectrômetro. Por medidas de segurança, as leituras não foram feitas nessa vazão. Sendo assim, no limitado intervalo de variação da vazão de C₂H₂ estudado, não houve alteração significativa na sensibilidade.

Na FIGURA 5.1.1.4 pode-se verificar a mudança da intensidade da cor do tubo atomizador com a temperatura.

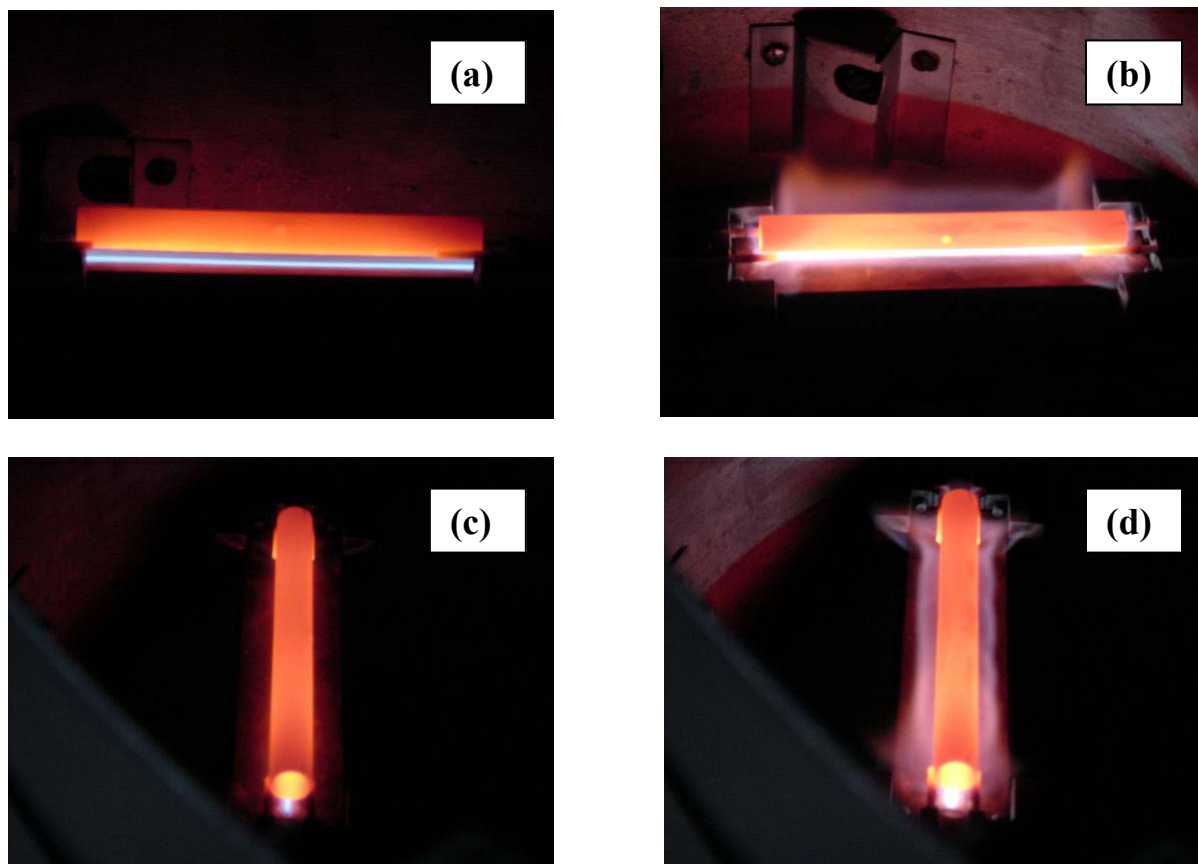


FIGURA 5.1.1.3 – Tubos atomizadores sobre a chama do queimador do espectrômetro. Vazão do ar constante em $22,3 \text{ L min}^{-1}$. (a) e (c) Vazão de $\text{C}_2\text{H}_2 = 2,5 \text{ l min}^{-1}$ e (b) e (d) Vazão $\text{C}_2\text{H}_2 = 4,8 \text{ l min}^{-1}$.

A vazão do ar também foi estudada, mantendo-se C_2H_2 constante em $3,8 \text{ l min}^{-1}$. O intervalo da vazão de ar estudada variou de 10 a 30 l min^{-1} . Com o aumento da vazão do ar a partir de 25 l min^{-1} , a chama tornou-se instável e os sinais analíticos apresentaram coeficientes de variação $< 10\%$, não havendo melhora na sensibilidade. Já o aumento da vazão causou a diminuição do sinal analítico (FIGURA 5.1.1.4).

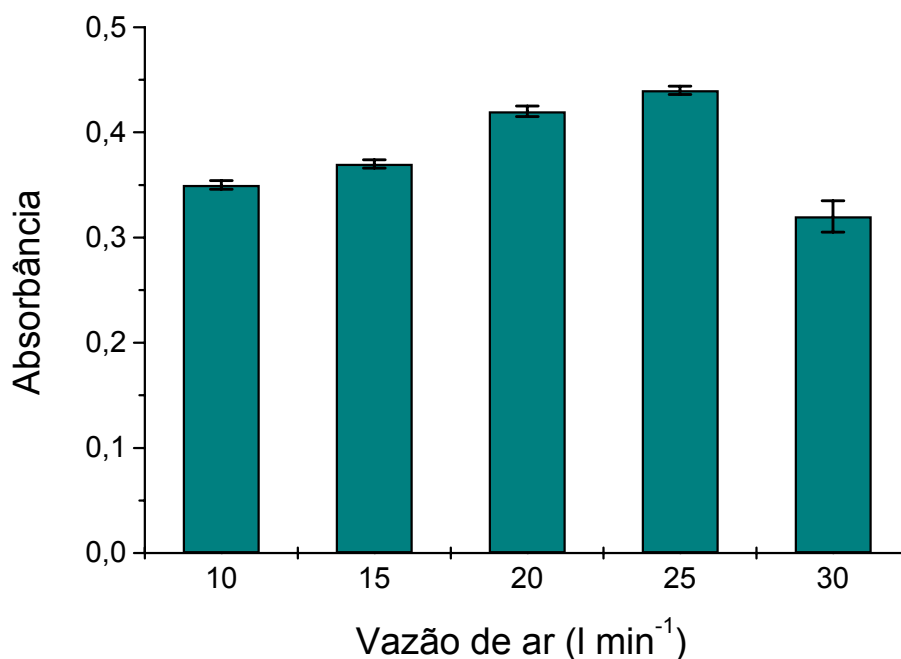


FIGURA 5.1.1.4 – Efeito da vazão de ar no sinal analítico de $100 \mu\text{g l}^{-1}$ Cd. ($\text{C}_2\text{H}_2 = 3,8 \text{ l min}^{-1}$; solução carregadora = $1,4 \text{ ml min}^{-1}$; Tubo de 10 mm d.i. sem furos; volume de amostra = $400 \mu\text{l}$). As barras de erros das medidas equivalem a estimativa de desvio-padrão ($n=10$).

Razões de mistura gasosa $\text{C}_2\text{H}_2/\text{ar} \leq 1,0$ tornaram o tubo menos incandescente, indicando a diminuição da temperatura da super liga. Além disso, observou-se que a chama não contornava/envolvia o tubo. Com o aumento da razão da mistura, a intensidade da emissão do tubo aumentou, a chama contornou/envolveu o tubo e a sensibilidade para o Cd foi melhor. De acordo com o gráfico da FIGURA 5.1.1.5 adaptada de ALKEMADE *et al.*¹⁰¹, cujo conceito envolvido foi o de chama adiabática com produtos de combustão CO_2 e H_2O para chama estequiométrica e nebulização pneumática com água, observou-se que a temperatura da chama é influenciada pela vazão da mistura gasosa $\text{ar}/\text{C}_2\text{H}_2$. Quando $[(\text{C}_2\text{H}_2 / \text{ar})_{\text{est}} / (\text{C}_2\text{H}_2 / \text{ar})] = 1$, a chama é estequiométrica. Quando a razão $\text{for} > 1$, a chama é oxidante e para razão < 1 , a chama é considerada redutora.

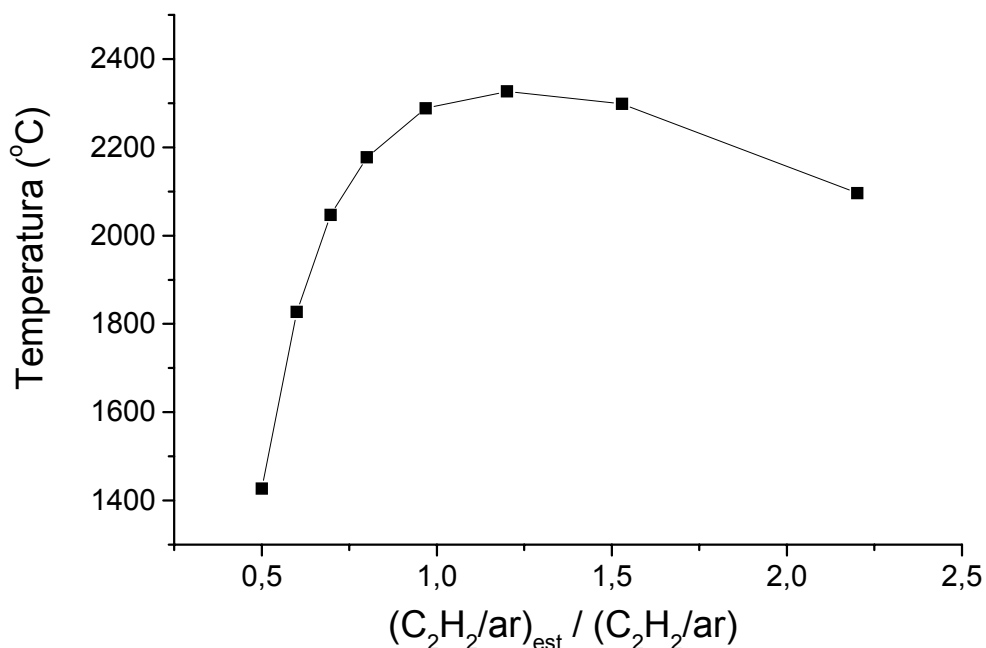


FIGURA 5.1.1.5 – Efeito da razão da mistura gasosa C_2H_2/ar na temperatura da chama. Valores calculados por ALKEMADE *et al.*¹⁰¹.

A primeira vazão da mistura ar/ C_2H_2 estudada com 10 l min^{-1} ar e $3,8 \text{ l min}^{-1}$ C_2H_2 , não tem representação gráfica de temperatura na FIGURA 5.1.1.5. Entretanto, a curva indica que a temperatura da chama é inferior a $2000 \text{ }^\circ\text{C}$. Com o aumento da vazão de ar para 15 l min^{-1} , mantendo-se C_2H_2 constante, a temperatura estimada da chama é de aproximadamente $2000 \text{ }^\circ\text{C}$ e a sensibilidade aumentou 14%. Para 20 e 25 l min^{-1} ar, verificou-se que a sensibilidade melhorou com o aumento da temperatura da chama para $2127 \text{ }^\circ\text{C}$ e $2227 \text{ }^\circ\text{C}$, respectivamente. Porém, o aumento da vazão de ar para 30 l min^{-1} novamente piorou a sensibilidade, mesmo com a temperatura da chama em aproximadamente $2327 \text{ }^\circ\text{C}$. Isso pode ser devido ao efeito de diluição da nuvem atômica na chama, uma vez que, nessa vazão, verificou-se que a chama se tornou turbulenta e instável.

No presente trabalho empregou-se o método das duas linhas utilizado por CHAKRABARTI *et al.*⁹⁰ para estimar a temperatura da fase gasosa (T_{eff}) dentro de um tubo atomizador de grafite. Esse método utiliza um par termométrico com o qual, a partir de medidas de absorbância em dois comprimentos de onda diferentes para o mesmo elemento, é possível calcular a temperatura do vapor. No presente caso, escolheram-se as linhas de Sn e Pb. Entretanto, o Pb não possui um par termométrico adequado (as linhas empregadas são pouco sensíveis), mas foi utilizado para conhecimento. No procedimento empregado, prepararam-se soluções de 150 mg l⁻¹ Sn e de 1000 mg l⁻¹ Pb e as medidas de absorbância para Sn foram feitas a 286,3 (A_1) e 284,0 (A_2) nm; para o Pb as medidas foram feitas a 386,3 (A_1) e 280,2 (A_2) nm. As equações utilizadas são mostradas a seguir:

$$T_{\text{eff}} = 2143 / \log [4,9 (A_1 / A_2)] \quad \text{para Sn}$$

e

$$T_{\text{eff}} = 1770 / \log [3,68 (A_1 / A_2)] \quad \text{para Pb}$$

Para determinação da T_{eff} com Sn na chama, introduziu-se a solução de estanho por nebulização pneumática e utilizou-se chama ar/C₂H₂ = 22,3 l min⁻¹ / 4,3 l min⁻¹. A T_{eff} calculada foi de 2290 ± 46 °C. Colocando-se o tubo de seis furos sobre o queimador e continuando com a introdução da solução de Sn por nebulização pneumática convencional, a T_{eff} calculada foi de 1539 ± 34 °C. Para o Pb, nas mesmas condições, a T_{eff} na chama foi de 2282 ± 205 °C e com o tubo atomizador foi de 1352 ± 243 °C. Entretanto, o sinal analítico de 1000 mg l⁻¹ Pb foi próximo ao sinal da água Milli-Q (branco) no comprimento de onda de 280,2 nm e por esse motivo, a qualidade das medidas ficou prejudicada com coeficientes de variação entre 9 e 18 %.

Nesse experimento verificou-se que a presença do tubo atomizador suprimiu calor da chama, pois houve a diminuição da temperatura do vapor dentro do tubo em comparação com a temperatura da chama. Esse efeito prejudica a vaporização da amostra e a atomização dos elementos, limitando a utilização do sistema BIFF-AAS apenas para a determinação de elementos mais voláteis. Nesse estudo também se avaliou o efeito da temperatura de vapor na presença de solução carregadora inserida dentro do tubo atomizador (FIGURA 5.1.1.6.).

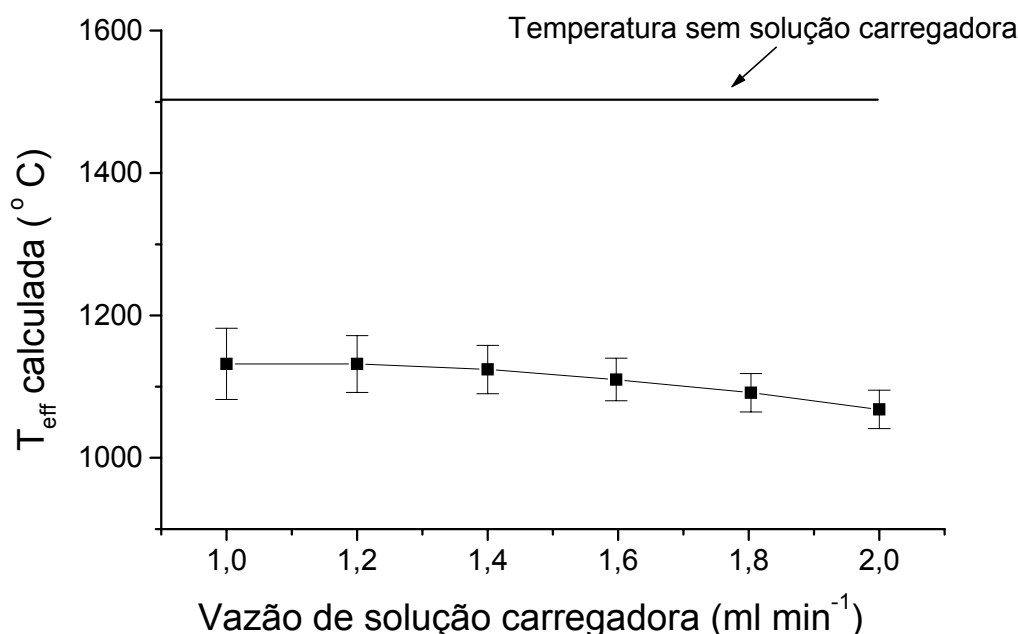


FIGURA 5.1.1.6 – Efeito da vazão de solução carregadora (água desionizada) na temperatura da fase vapor do analito no tubo atomizador com 6 furos sobre a chama do FAAS. Par termométrico Sn I 286,3 nm e Sn II 284,0 nm.

Pela FIGURA 5.1.1.6 verificou-se que o aumento da vazão de solução carregadora introduzida no interior do tubo atomizador provocou uma queda na temperatura do meio devido à vaporização do líquido introduzido, comprovando que a temperatura no tubo atomizador é influenciada pela vazão de solução carregadora. A vazão 1,0 ml min⁻¹ diminuiu a temperatura da fase gasosa em aproximadamente 380 °C e a vazão de 2,0 ml min⁻¹ diminuiu em 460 °C em

comparação com a T_{eff} do tubo sem a injeção da solução carregadora. Essa diminuição da temperatura do meio atomizador pode resultar na incompleta vaporização da amostra e atomização do analito, prejudicando a sensibilidade. Entretanto, a temperatura na fase gasosa é a temperatura média no volume de absorção da nuvem atômica, sendo provável a ocorrência de regiões com temperaturas mais elevadas, mas cujas medidas são de difícil realização.

Um outro estudo foi feito com razões das misturas $\text{C}_2\text{H}_2/\text{ar}$ proporcionais para verificar se a chama estequiométrica alterava a sensibilidade para Cd. Utilizou-se a proporção de 20 l min^{-1} ar e 2 l min^{-1} C_2H_2 e, também, 30 l min^{-1} ar e 3 l min^{-1} C_2H_2 . Uma outra proporção foi avaliada com 20 l min^{-1} ar e 4 l min^{-1} C_2H_2 e também com 30 l min^{-1} ar e 6 l min^{-1} C_2H_2 (FIGURA 5.1.1.7).

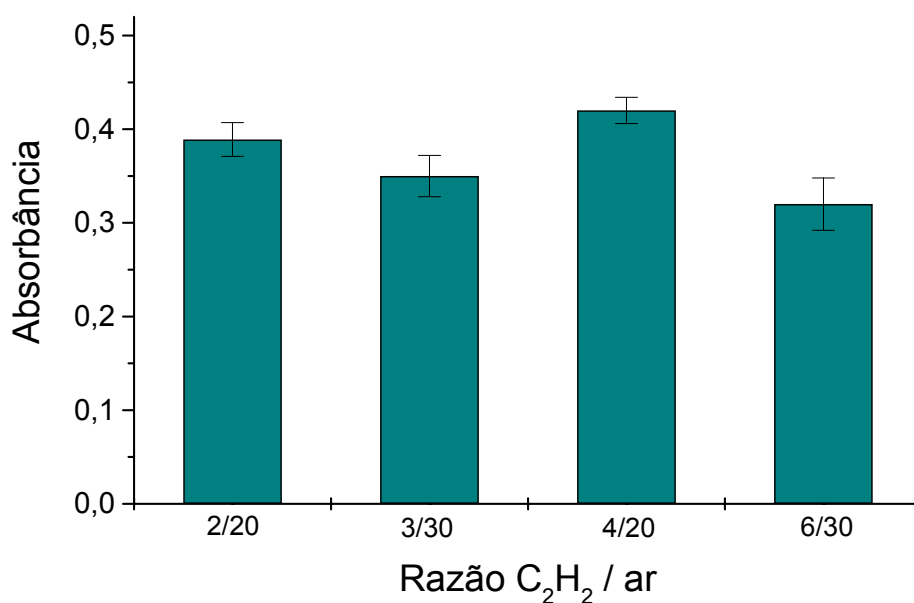


FIGURA 5.1.1.7 – Comparação da sensibilidade para razões $\text{C}_2\text{H}_2/\text{ar}$ proporcionais. Dados para $100 \mu\text{g l}^{-1}$ Cd. (solução carregadora = $1,4 \text{ ml min}^{-1}$; Tubo de 10 mm d.i. sem furos; volume de amostra = $400 \mu\text{l}$). As barras de erros das medidas correspondem a estimativa de desvio-padrão ($n=10$).

Nesse estudo observou-se que a sensibilidade para Cd não foi alterada com a variação da razão C₂H₂/ar de 0,1 para 0,2. Entretanto, a repetibilidade foi, aproximadamente, 1,2 % (n=5) para ar fluindo a 20 l min⁻¹ e de 10 % (n=5) para 30 l min⁻¹ ar. Como ocorreu no estudo do efeito do aumento da vazão de ar com C₂H₂ constante, aqui a vazão de 30 l min⁻¹ ar também causou um aumento do desvio entre as medidas, possivelmente devido ao aspecto turbulento e instável da chama.

Os efeitos do número de furos e do diâmetro interno dos tubos atomizadores na atomização de Cd foram verificados com cinco diferentes tipos de tubos atomizadores. Os tubos atomizadores foram fabricados com superliga de níquel (ASTM B 167: 74 % Ni, 16 % Cr, 9 % Fe), com diâmetros internos de 10 e 5 mm, sem furos, com 6 furos e com 10 furos dispostos longitudinalmente e na mesma direção, na parte inferior ao longo de seu comprimento de 10 cm. Cada tubo foi colocado em um suporte fixado no queimador de titânio de 10 cm.

Para 100 µg l⁻¹ Cd, o tubo com d.i. de 10 mm sem furos apresentou sensibilidade similar ao tubo com 5 mm de d.i., porém com melhor repetibilidade. A diferença de sensibilidade para o tubo atomizador com menor sensibilidade (5 mm de d.i. e com furos) e o tubo com maior sensibilidade foi de 21,3 % (FIGURA 5.1.1.8).

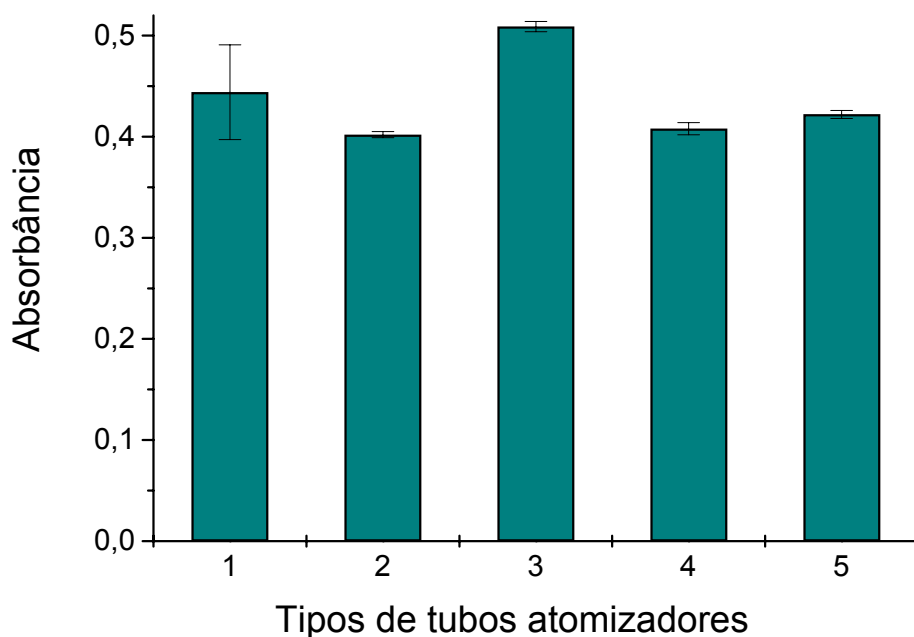


FIGURA 5.1.1.8 – Efeito do tipo de tubo atomizador no sinal analítico de $100 \mu\text{g l}^{-1}$ Cd. (solução carregadora = $1,4 \text{ ml min}^{-1}$; $\text{ar}/\text{C}_2\text{H}_2 = 22,3 \text{ l min}^{-1}/3,8 \text{ l min}^{-1}$; volume de amostra = $200 \mu\text{l}$)

Tubo 1: sem furos e d.i. de 5 mm;

Tubo 2: 6 furos adicionais e d.i. de 5 mm;

Tubo 3: sem furos e d.i. de 10 mm;

Tubo 4: 6 furos adicionais e d.i. de 10 mm;

Tubo 5: 10 furos adicionais e d.i. de 10 mm.

O aumento de sensibilidade para Cd no tubo sem furos, em comparação com os tubos com furos, é devido ao maior tempo de residência da nuvem atômica no tubo sem os furos. A presença de furos aumenta a vazão dos gases que penetram no tubo atomizador e esse efeito pode dissipar a nuvem atômica, diminuindo a concentração de átomos presentes no caminho ótico e, conseqüentemente, o sinal analítico do elemento de interesse.

Os mesmos tubos atomizadores também foram testados em queimadores com 3 fendas. Entretanto, o jato de líquido apresentou turbulências próximas à fenda frontal do queimador devido à alta vazão gasosa, que dificultou a entrada do feixe de líquido no tubo, causando o espalhamento da solução na entrada do orifício do atomizador.

Uma vez estabelecida a vazão da solução carregadora, a vazão e composição da mistura ar/C₂H₂ e o tubo atomizador, o volume de amostra inserida foi avaliado. Nesse estudo, volumes de 50 a 1000 µl de solução de 100 µg l⁻¹ Cd foram injetados no sistema BIFF-AAS. O volume de 400 µl foi escolhido para determinação de Cd por apresentar resultados com boa repetibilidade com tempo de limpeza inferior a 60 s. Maiores volumes injetados não proporcionaram aumento significativo na sensibilidade. O volume de 1000 µl resultou em um aumento 20 % em relação ao volume de 400 µl, mas com tempo limpeza de acima de 100 s (FIGURA 5.1.1.9 e FIGURA 5.1.1.10).

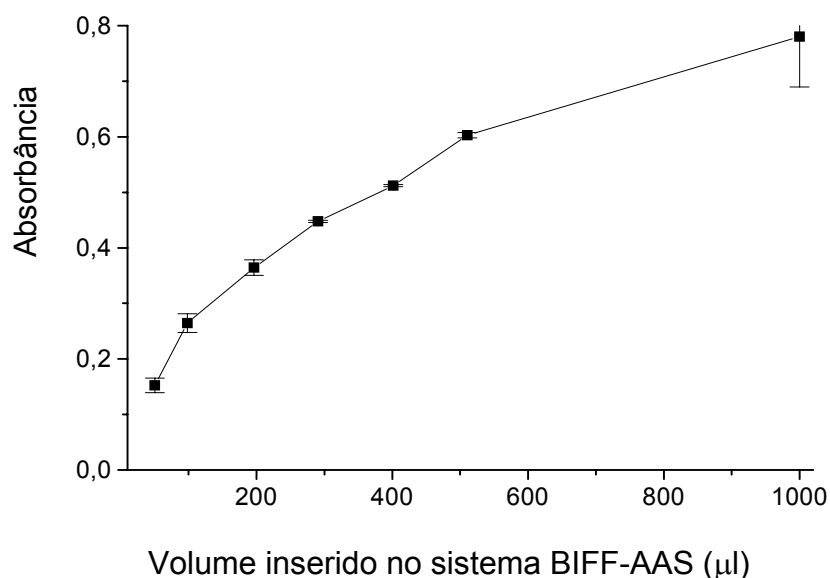


FIGURA 5.1.1.9 – Efeito do volume de amostra na magnitude do sinal analítico de 100 µg l⁻¹ Cd. (solução carregadora = 1,4 ml min⁻¹; ar/C₂H₂ = 22,3 l min⁻¹/ 3,8 l min⁻¹; tubo com 10 mm d.i. sem furos)

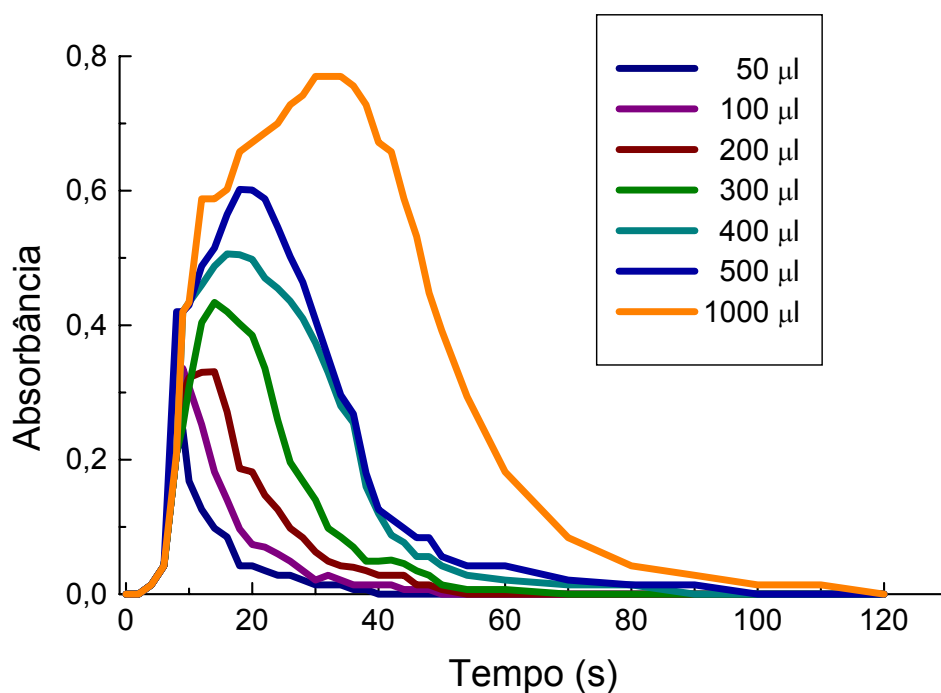


FIGURA 5.1.1.10 – Efeito do volume de amostra nos sinais transientes de solução $100 \mu\text{g l}^{-1}$ Cd. (solução carregadora = $1,4 \text{ ml min}^{-1}$; $\text{ar}/\text{C}_2\text{H}_2 = 22,3 \text{ l min}^{-1} / 3,8 \text{ l min}^{-1}$; tubo com 10 mm d.i. sem furos)

Com o auxílio das FIGURAS 5.1.1.9 e 5.1.1.10, observa-se um aumento da sensibilidade para $100 \mu\text{g l}^{-1}$ Cd com o aumento do volume de solução inserida no tubo. Entretanto, o coeficiente de variação entre medidas foi superior a 10 % para volumes acima de $500 \mu\text{l}$ com tempo de limpeza superior a 70 s. Diminuindo-se o volume injetado para $400 \mu\text{l}$ de amostra, o tempo de limpeza foi de 60 s, com diferença de apenas 8 % no sinal de absorbância, em relação a injeção de $500 \mu\text{l}$. Portanto, o volume de $400 \mu\text{l}$ foi escolhido para ser utilizado na introdução das amostras.

À semelhança de um sistema FIA, houve um aumento do sinal analítico com o aumento do volume de amostra injetado. Entretanto, apesar do tubo atomizador ter um volume de aproximadamente 7,5 ml, a saturação do meio foi atingida para volumes de amostra acima de $500 \mu\text{l}$.

As melhores condições obtidas para o Cd estão recomendadas na TABELA 5.1.1.1.

TABELA 5.1.1.1 – Parâmetros recomendados para determinação de Cd no sistema BIFF-AAS.

Parâmetros	Resultados
Solução carregadora	1,4 ml min ⁻¹
Volume de amostra	400 µl
Composição da chama	Ar – 22,3 l min ⁻¹
	C ₂ H ₂ – 3,8 l min ⁻¹
Tubo atomizador	10 mm d.i. sem furos

5.1.2 – Avaliação do sistema BIFF-AAS para a determinação de chumbo

A otimização dos parâmetros operacionais do sistema BIFF-AAS para a determinação de Pb foi realizada de acordo com os mesmos procedimentos descritos para o Cd. O primeiro estudo foi a verificação do efeito da vazão da solução carregadora no sinal analítico do elemento. Vazões entre 1,2 e 2,0 ml min⁻¹ foram avaliadas e os resultados podem ser visualizados na FIGURA 5.1.2.1.

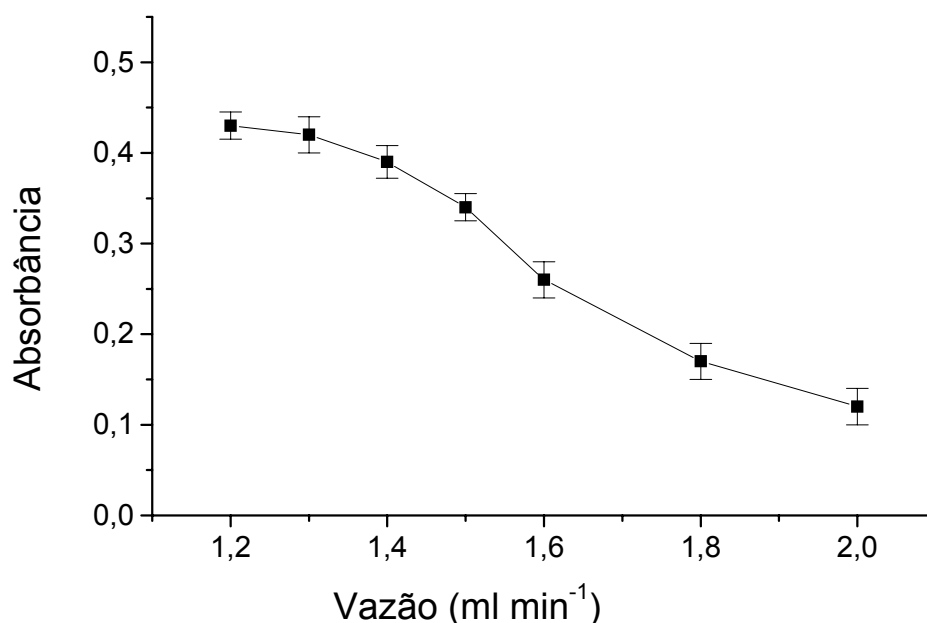


FIGURA 5.1.2.1 – Efeito da vazão da solução carregadora no sinal analítico de $1000 \mu\text{g l}^{-1}$ Pb. ($\text{ar/C}_2\text{H}_2 = 22,3 \text{ l min}^{-1} / 3,8 \text{ l min}^{-1}$; tubo 10 mm d.i. com 6 furos; volume de amostra = $400 \mu\text{l}$). As barras de erros das medidas correspondem a estimativa de desvio-padrão ($n=10$).

No caso do Pb, verificou-se uma diminuição no sinal analítico com aumento da vazão da solução carregadora introduzida no tubo atomizador. Os sinais analíticos obtidos com injeção de $400 \mu\text{l}$ de solução $1000 \mu\text{g l}^{-1}$ Pb nas vazões de $1,2$ e $1,3 \text{ ml min}^{-1}$ foram iguais e uma ligeira queda foi observada a partir de $1,4 \text{ ml min}^{-1}$. Na vazão de $2,0 \text{ ml min}^{-1}$ ocorreu uma diminuição de 75% no sinal analítico.

Com o uso de um pirômetro ótico, as temperaturas medidas do tubo foram de $900 \text{ }^\circ\text{C}$ para a vazão de $1,6 \text{ ml min}^{-1}$ e de 1100°C para a solução fluindo a $1,2 \text{ ml min}^{-1}$. Como já foi explicado anteriormente, a diminuição da absorbância foi devido ao resfriamento do tubo atomizador, que com o aumento da vazão, recebeu um maior volume de líquido por unidade de tempo, causando uma diminuição da temperatura do tubo, prejudicando a eficiência de atomização do analito. Isso foi

verificado em um experimento no qual, a introdução de 10 mg l^{-1} Pb por nebulização pneumática convencional apresentou absorvância de $0,074 \pm 0,003$ ($n=5$). Sem desligar a chama, e ainda com a nebulização pneumática, o tubo com seis furos foi colocado sobre a cabeça do queimador. Nessa situação, a absorvância para 10 mg l^{-1} Pb foi de $0,185 \pm 0,004$ ($n=5$), o que corresponde a um aumento de aproximadamente 140%. Entretanto, com a introdução da solução carregadora de água fluindo a $1,2 \text{ ml min}^{-1}$ no tubo atomizador, o sinal diminuiu para $0,070 \pm 0,004$ ($n=5$). Esta é uma indicação de que a introdução de água diminui a temperatura do tubo atomizador causando a incompleta vaporização da amostra e a perda de energia para a atomização do analito.

O efeito da razão da mistura $\text{C}_2\text{H}_2/\text{ar}$ na atomização do Pb também foi avaliado. As vazões $\text{C}_2\text{H}_2/\text{ar}$ estudadas variaram de 2,9 a $4,80 \text{ l min}^{-1}$ C_2H_2 e de 10 a 30 l min^{-1} ar. Os sinais analíticos obtidos para $1000 \text{ } \mu\text{g l}^{-1}$ Pb em diferentes vazões ar/ C_2H_2 estão representados nas FIGURAS 5.1.2.2 e 5.1.2.3.

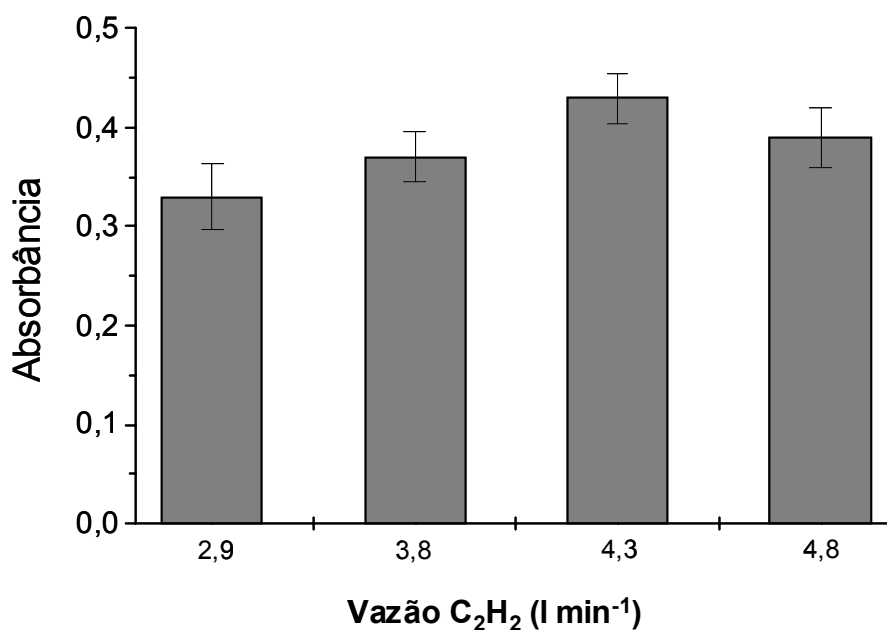


FIGURA 5.1.2.2 – Efeito da vazão de C_2H_2 no sinal analítico de $1000 \text{ } \mu\text{g l}^{-1}$ Pb. (vazão de ar = $22,3 \text{ l min}^{-1}$; solução carregadora = $1,2 \text{ ml min}^{-1}$; tubo de 10 mm d.i. com 6 furos; volume de amostra = $400 \text{ } \mu\text{l}$).

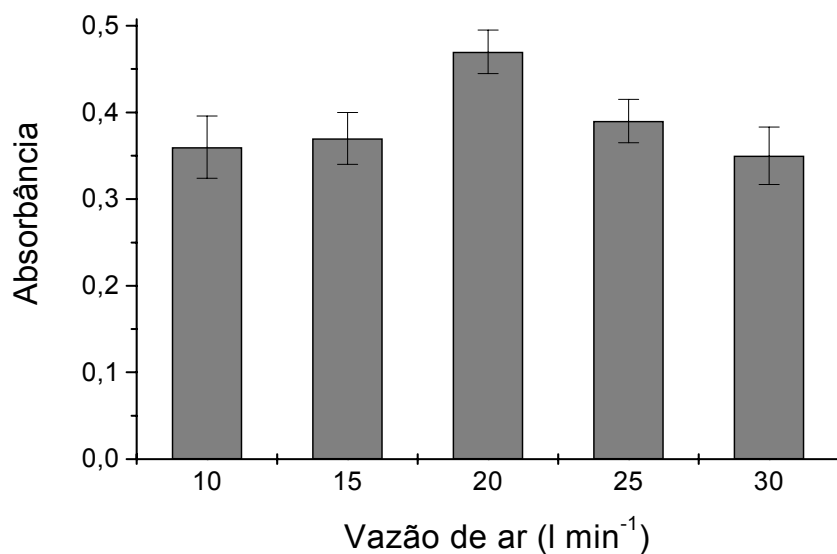


FIGURA 5.1.2.3 – Efeito da vazão de ar no sinal analítico de $1000 \mu\text{g l}^{-1}$ Pb. ($\text{C}_2\text{H}_2 = 4,3 \text{ l min}^{-1}$; solução carregadora = $1,2 \text{ ml min}^{-1}$; Tubo de 10 mm d.i. 6 furos; volume de amostra = $400 \mu\text{l}$)

A vazão da mistura ar que apresentou maior a sensibilidade para o sinal analítico de Pb foi a número 3, com $22,3 \text{ l min}^{-1}$ ar e $4,3 \text{ l min}^{-1}$ C_2H_2 . Como no caso do Cd, o aumento da vazão de ar também causou turbulência na chama, diminuindo o sinal analítico por dissipação da nuvem atômica no interior do tubo atomizador. As outras razões gasosas estudadas com menor quantidade de C_2H_2 não foram suficientes para promover a completa atomização do elemento.

O estudo da vazão da mistura $\text{C}_2\text{H}_2/\text{ar}$ mantendo-se a mesma proporção entre as vazões dos gases combustível e oxidante para chamas estequiométricas e redutoras está mostrado na FIGURA 5.1.2.4.

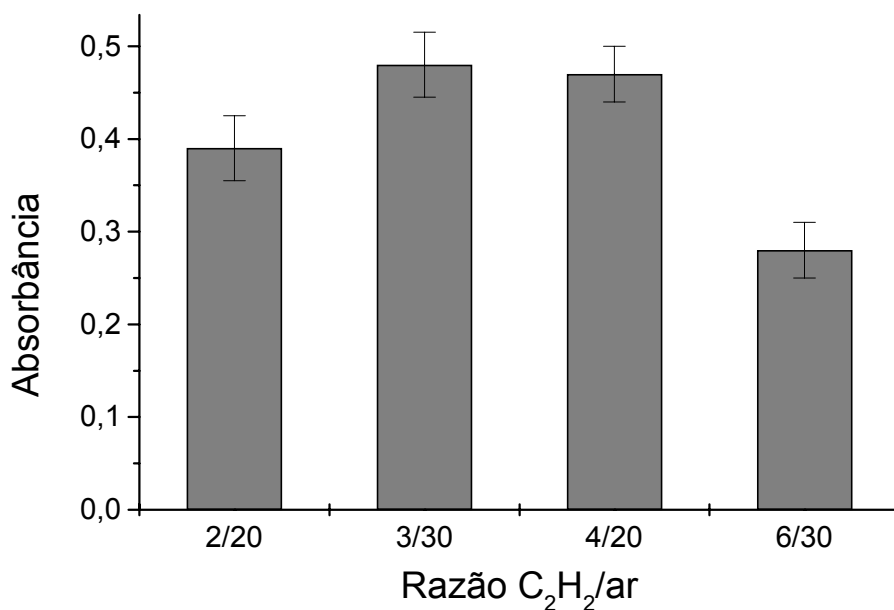


FIGURA 5.1.2.4 – Comparação de sensibilidade para razões C₂H₂/ar proporcionais. Dados para 1000 µg l⁻¹ Pb. (solução carregadora = 1,2 ml min⁻¹; Tubo de 10 mm d.i. com seis furos; volume de amostra = 400 µl). As barras de erros correspondem a estimativa de desvio-padrão (n=10).

As razões utilizadas foram as mesmas do estudo feito para o Cd. Porém, observou-se que os sinais analíticos das razões 3/30 e 4/20 foram similares para 1000 µg l⁻¹ Pb. Isso mostra que pode ser possível a obtenção da mesma sensibilidade para chamas com composições e vazões diferentes, dificultando a explicação para o mecanismo de atomização. Entretanto, observou-se que a repetibilidade foi alterada com o aumento da vazão dos gases, uma vez que com o aumento das vazões a chama tornou-se turbulenta causando maior incerteza nas medidas de absorbância.

Tubos atomizadores com e sem furos e com diferentes diâmetros internos também foram avaliados. A FIGURA 5.1.2.5 mostra os sinais analíticos obtidos para 1000 µg l⁻¹ Pb utilizando-se diferentes tubos atomizadores.

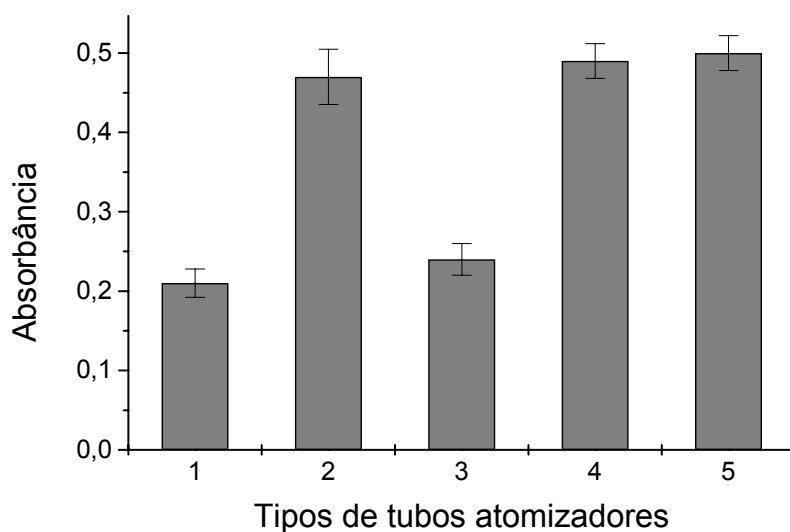


FIGURA 5.1.2.5 – Efeito do tipo de tubo atomizador no sinal analítico de $1000 \mu\text{g l}^{-1}$ Pb. (solução carregadora = $1,2 \text{ ml min}^{-1}$; $\text{ar/C}_2\text{H}_2 = 22,3 \text{ l min}^{-1}/4,3 \text{ l min}^{-1}$; volume de amostra = $400 \mu\text{l}$).

Tubo 1: sem furos e d.i. de 5 mm;

Tubo 2: 6 furos adicionais e d.i. de 5 mm;

Tubo 3: sem furos e d.i. de 10 mm;

Tubo 4: 6 furos adicionais e d.i. de 10 mm;

Tubo 5: 10 furos adicionais e d.i. de 10 mm.

Pelos resultados obtidos, verifica-se que a atomização do Pb ocorreu com maior eficiência nos tubos atomizadores com furos, independentemente do diâmetro interno. O aumento do número de furos para 10 não melhorou significativamente o sinal analítico em comparação com o tubo atomizador de 6 furos.

Como já foi salientado, os tubos sem furos apresentam uma temperatura menor porque os gases da chama não penetram no interior do atomizador. Para a determinação de elementos voláteis, como o Cd, essa menor temperatura no interior do tubo sem furos foi suficiente para a completa atomização do elemento. Entretanto, não foi suficiente para atomização do Pb.

A FIGURA 5.1.2.6 mostra o tubo atomizador sobre a chama com diferentes misturas ar/C₂H₂. Para esta avaliação da entrada dos gases da chama no interior do tubo atomizador, alguns analitos que emitem cor na chama, como Sr*, Ba** e Na*** foram utilizados. Assim, verificou-se que a presença dos furos possibilitou a entrada dos gases no interior do tubo atomizador, promovendo o aumento da temperatura do meio e possibilitando a melhoria da sensibilidade na determinação do Pb. Também se observou a diferença de contorno/envolvimento da chama no tubo quando a vazão ar/C₂H₂ foi aumentada.

* Sr (emissão molecular de SrOH entre 600 – 613 nm)

** Ba (emissão atômica a 553,6 nm)

*** Na (emissão atômica a 589 nm)

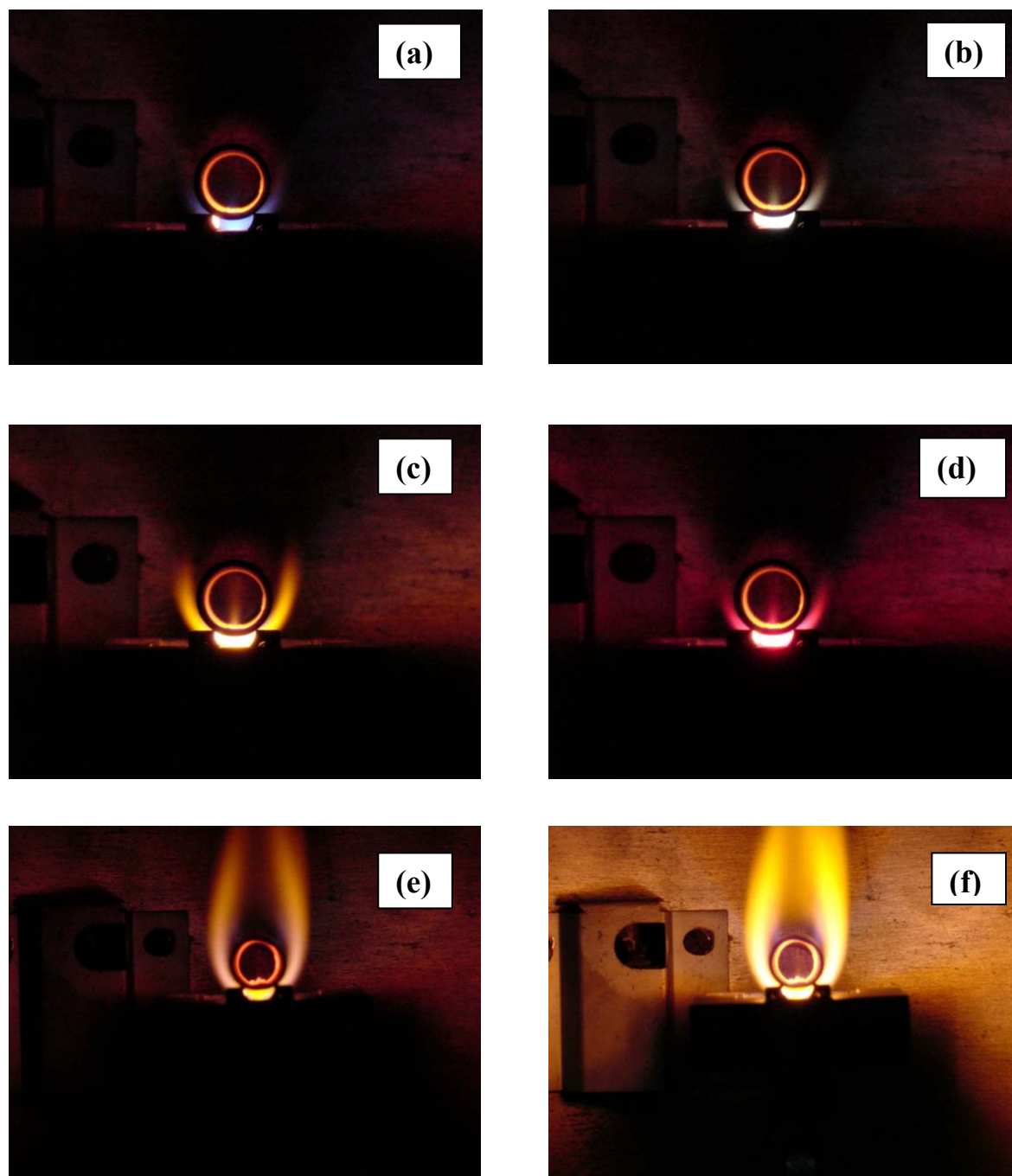


FIGURA 5.1.2.6 – Tubo atomizador com furos sobre a chama do queimador. Nebulização pneumática com (a) água, (b) Ba, (c) Na (d) Sr em chama oxidante. (e) e (f) envolvimento/contorno de uma chama redutora no tubo atomizador com introdução de água e solução de Na, respectivamente.

Na fase gasosa a temperatura dentro do tubo atomizador depende de algumas variáveis, cuja avaliação não é simples⁵⁰⁻⁵¹. A distribuição da temperatura externa do tubo depende da composição da liga metálica, do tipo de chama, da vazão da mistura combustível/oxidante que chega ao atomizador, das vias e dos precursores da atomização, da distância entre o tubo atomizador e o queimador e da vazão da solução carregadora introduzida por unidade de tempo. O gradiente de temperatura também varia com o comprimento do tubo. Se as extremidades do tubo estiverem posicionadas sobre a chama, um efeito de entrada dos gases é observado nessas aberturas. Isso pode influenciar a quantidade de gases que entra através dos furos localizados na parte inferior do tubo atomizador. Há, ainda, a influência do diâmetro, da posição e do número de furos. A temperatura do tubo atomizador com 10 furos na parte inferior foi medida com um pirômetro óptico, fixando-se a vazão de 22,3 l min⁻¹ ar e 4,3 l min⁻¹ C₂H₂. A temperatura encontrada foi de, aproximadamente, 1250 °C na ausência da solução carregadora (sem água). Recentemente, verificou-se como a temperatura também é alterada em função da dimensão do nozzle e da vazão de solução carregadora. Entretanto, a temperatura real dentro do tubo atomizador era desconhecida⁵¹.

O volume da amostra também foi avaliado para a determinação do Pb, no intervalo entre 50 e 1000 µl com solução contendo 1000 µg l⁻¹ Pb. O efeito pode ser observado na FIGURA 5.1.2.7.

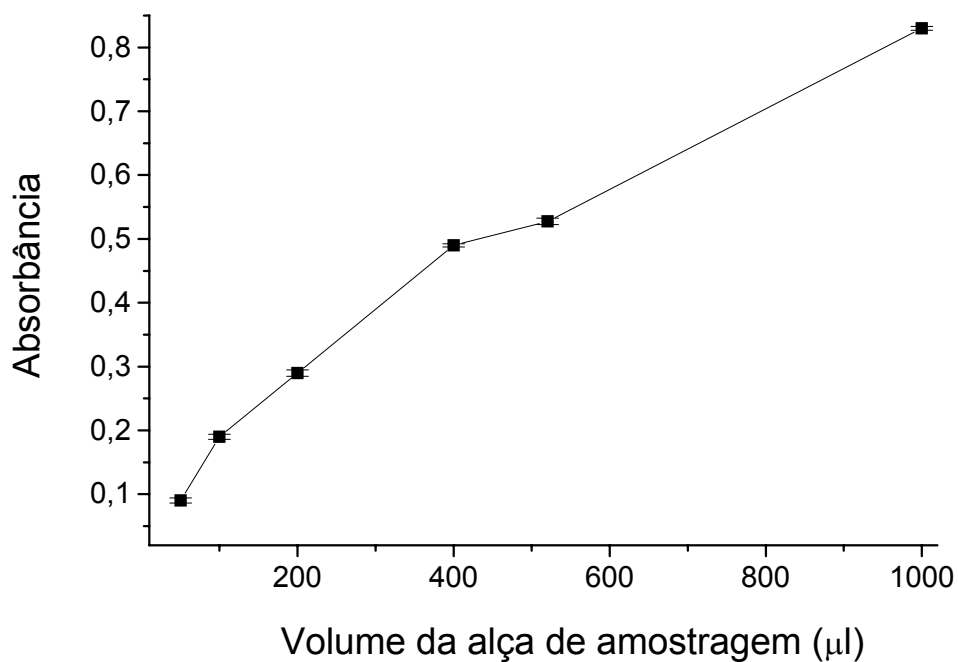


FIGURA 5.1.2.7 – Efeito do volume de amostra na magnitude do sinal analítico de $1000 \mu\text{g l}^{-1}$ Pb. (solução carregadora = $1,2 \text{ ml min}^{-1}$; $\text{ar/C}_2\text{H}_2 = 22,3 \text{ l min}^{-1} / 4,3 \text{ l min}^{-1}$; tubo 10 mm d.i. com seis furos).

Como no caso do Cd, observou-se que a introdução de 400 μl de amostra apresentou menor coeficiente de variação e menor tempo de limpeza em relação aos maiores volumes injetados, que apresentaram maior sinal analítico, como esperado.

As condições recomendadas para a determinação de Pb estão resumidas na TABELA 5.1.2.1.

TABELA 5.1.2.1 – Parâmetros recomendados para determinação de Pb no sistema BIFF-AAS.

Parâmetros	Resultados
Solução carregadora	1,2 ml min ⁻¹
Volume de amostra	400 µl
Composição da chama	Ar – 22,3 l min ⁻¹ C ₂ H ₂ – 4,3 l min ⁻¹
Tubo atomizador	10 mm d.i. com 6/10 furos

5.1.3 – Avaliação do sistema BIFF-AAS para a determinação de zinco

A otimização dos parâmetros operacionais do sistema BIFF-AAS para a determinação de Zn foi realizada seguindo-se os mesmos procedimentos descritos anteriormente para o Pb e para o Cd. O primeiro estudo foi do efeito da vazão da solução carregadora no sinal analítico de 100 µg l⁻¹ Zn. Vazões entre 1,2 e 1,6 ml min⁻¹ foram avaliadas e os resultados podem ser visualizados na FIGURA 5.1.3.1.

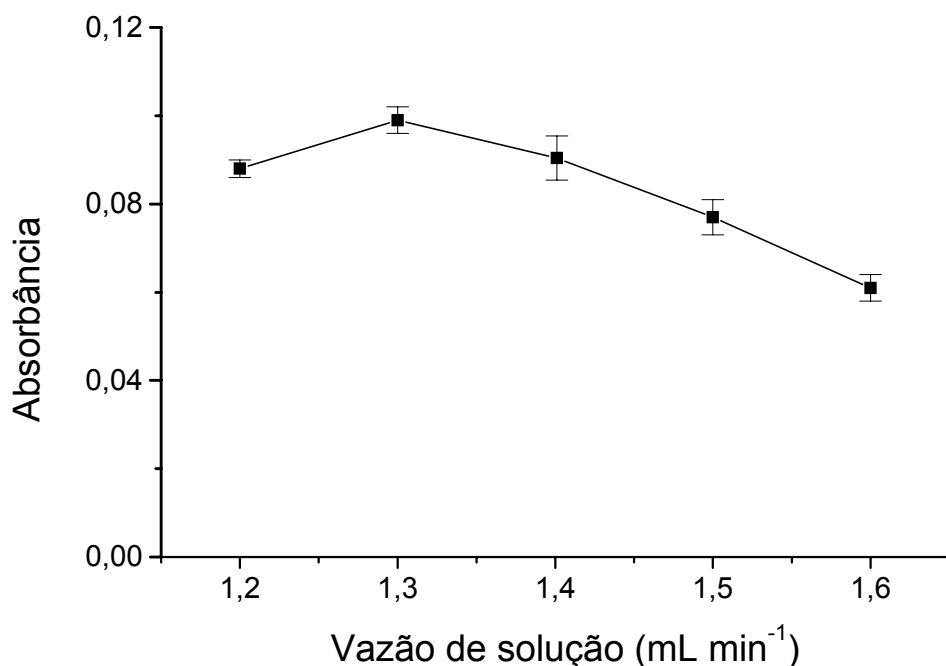


FIGURA 5.1.3.1 – Efeito da vazão da solução carregadora no sinal analítico de $100 \mu\text{g l}^{-1}$ Zn. ($\text{ar/C}_2\text{H}_2 = 22,3 \text{ l min}^{-1}/ 3,8 \text{ l min}^{-1}$; tubo 10 mm d.i com dez furos; volume de amostra = $400 \mu\text{l}$)

O efeito da vazão da solução carregadora inserida no sistema BIFF-AAS para a determinação de Zn apresentou o mesmo comportamento do observado para o Pb. O sinal analítico de $100 \mu\text{g l}^{-1}$ Zn apresentou maior absorbância na vazão de $1,3 \text{ ml min}^{-1}$, apresentando queda de sensibilidade a partir de $1,4 \text{ ml min}^{-1}$. Semelhantemente ao Pb, o aumento da vazão de solução causou a diminuição da sensibilidade para Zn, provavelmente devido ao resfriamento do tubo atomizador que recebeu maior volume de solução por unidade de tempo. Não foram feitas medidas abaixo de $1,0 \text{ ml min}^{-1}$ devido a instabilidade do jato de líquido nessa vazão.

A introdução de $500 \mu\text{g l}^{-1}$ Zn por nebulização pneumática convencional apresentou absorbância de $0,145 \pm 0,003$ ($n=5$). Sem desligar a chama, o tubo com 6 furos foi colocado no queimador e a absorbância aumentou cerca de 114%, apresentando sinal de $0,310 \pm 0,004$ ($n=5$). Entretanto, com a

introdução de $1,3 \text{ ml min}^{-1}$ de solução carregadora (água) no tubo atomizador, o sinal diminuiu para $0,140 \pm 0,004$ ($n=5$). Como foi observado para o Pb, a introdução de água diminuiu a temperatura do tubo atomizador causando a diminuição da sensibilidade devido à perda de energia para completa atomização do analito.

O efeito da mistura $\text{C}_2\text{H}_2/\text{ar}$ na atomização do Zn também foi avaliado. Como no estudo realizado para Cd e Pb, as vazões de ar variaram entre 10 a 30 l min^{-1} e de C_2H_2 entre $2,9 \text{ l min}^{-1}$ a $4,8 \text{ l min}^{-1}$. Os sinais de absorbância obtidos para $100 \mu\text{g l}^{-1}$ Zn em diferentes misturas ar/ C_2H_2 estão mostrados na FIGURA 5.1.3.2.

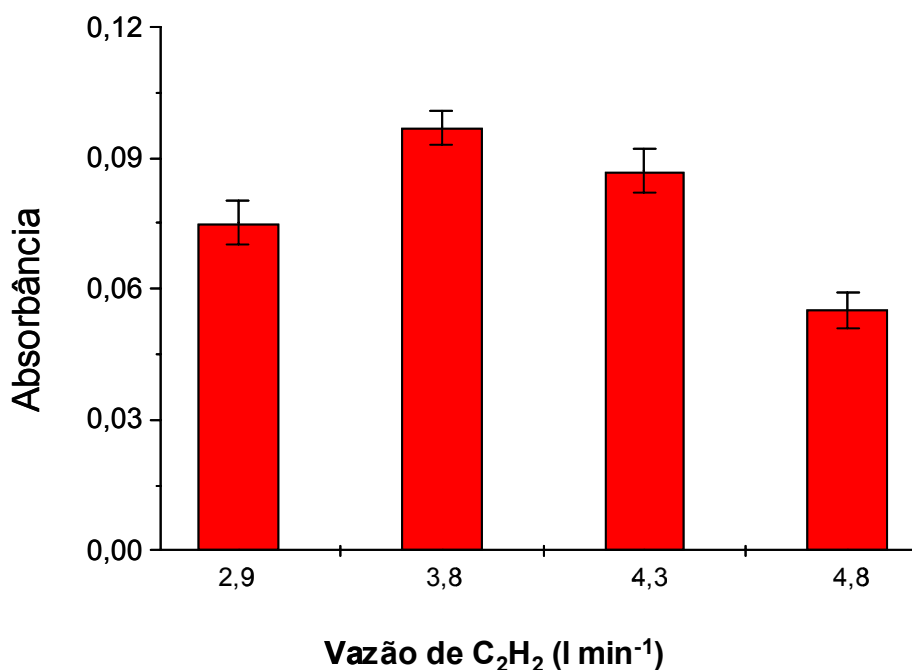


FIGURA 5.1.3.2 – Efeito da vazão de C_2H_2 no sinal analítico de $100 \mu\text{g l}^{-1}$ Zn. (vazão de ar = $22,3 \text{ l min}^{-1}$; solução carregadora = $1,3 \text{ ml min}^{-1}$; tubo 10 mm d.i. com dez furos; volume de amostra = $400 \mu\text{l}$).

A vazão de C_2H_2 que apresentou maior sensibilidade para o sinal analítico de Zn foi a número 2, com $22,3 \text{ l min}^{-1}$ de ar e $3,8 \text{ l min}^{-1}$ de C_2H_2 (FIGURA 5.1.3.3). Como no caso do Cd e do Pb, o aumento da vazão de C_2H_2

também diminuiu o sinal analítico por dissipação da nuvem atômica ou aumento da característica redutora da chama no interior do tubo atomizador. A mistura de número 1, com menor vazão de C_2H_2 , não foi suficiente para promover a completa atomização do elemento.

O estudo da vazão de ar e da razão C_2H_2 /ar, mantendo-se a mesma proporção entre as vazões dos gases combustível e oxidante para chamas estequiométricas e redutoras, estão mostrados nas FIGURAS 5.1.3.3 e 5.1.3.4, respectivamente.

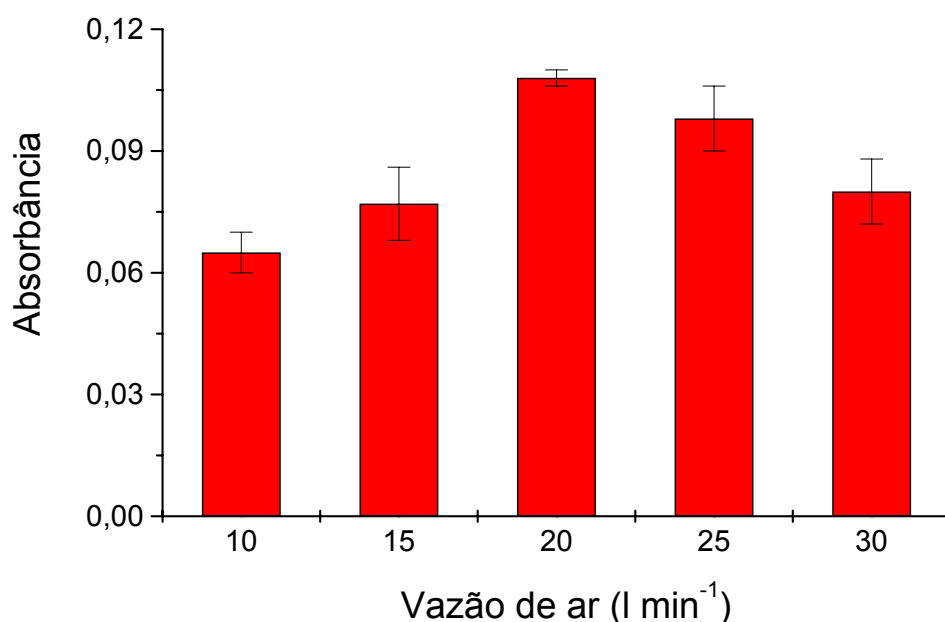


FIGURA 5.1.3.3 – Efeito da vazão de ar no sinal analítico de $100 \mu\text{g l}^{-1}$ Zn. ($C_2H_2 = 3,8 \text{ l min}^{-1}$; solução carregadora = $1,3 \text{ ml min}^{-1}$; Tubo de 10 mm d.i. 6 furos; volume de amostra = $400 \mu\text{l}$).

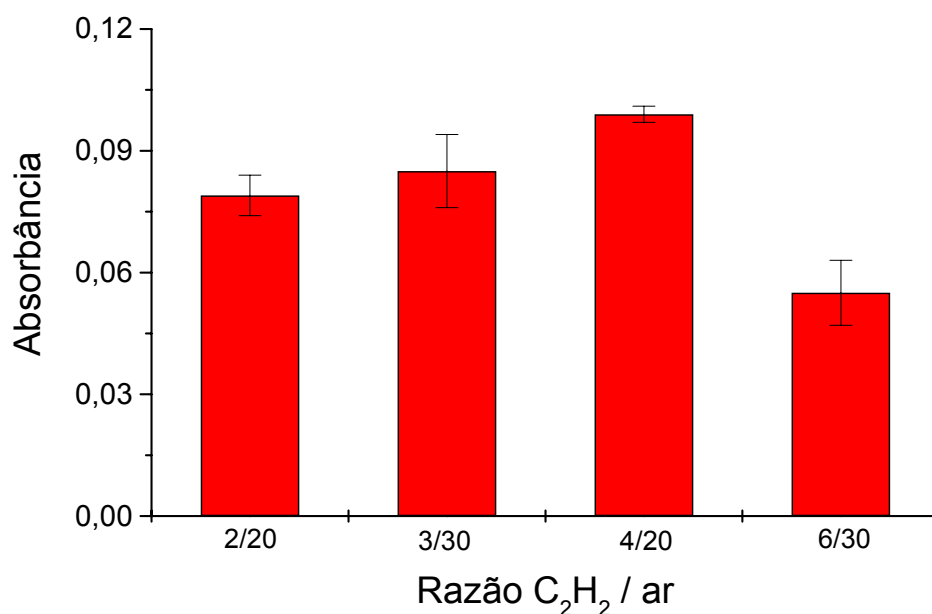


FIGURA 5.1.3.4 – Comparação de sensibilidade para razões C₂H₂/ar proporcionais. Dados para 100 µg l⁻¹ Zn. (solução carregadora = 1,3 ml min⁻¹; Tubo de 10 mm d.i. com seis furos; volume de amostra = 400 µl). As barras de erros correspondem a 1 desvio-padrão.

No caso do Zn, as razões C₂H₂/ar estudadas proporcionaram diferentes sensibilidades, sendo que o maior sinal analítico foi observado para a razão 4/20, que corresponde a 4 l min⁻¹ C₂H₂ e 20 l min⁻¹ ar. Para comparação, a razão 6/30 que também corresponde a 0,2 de proporção C₂H₂/ar, resultou em praticamente metade da sensibilidade da razão 4/20. Isso pode ser devido ao aumento da vazão dos gases que rapidamente dispersou a nuvem atômica no caminho ótico, diminuindo a sensibilidade. Além disso, as razões estudadas com 30 l min⁻¹ ar apresentaram menor repetibilidade entre as leituras devido as turbulências na chama.

Utilizando-se o mesmo procedimento anteriormente descrito para Cd e Pb, tubos atomizadores com e sem furos e com diferentes diâmetros internos foram avaliados. A FIGURA 5.1.3.5 mostra os sinais analíticos obtidos para $100 \mu\text{g l}^{-1}$ Zn utilizando os diversos tubos atomizadores disponíveis.

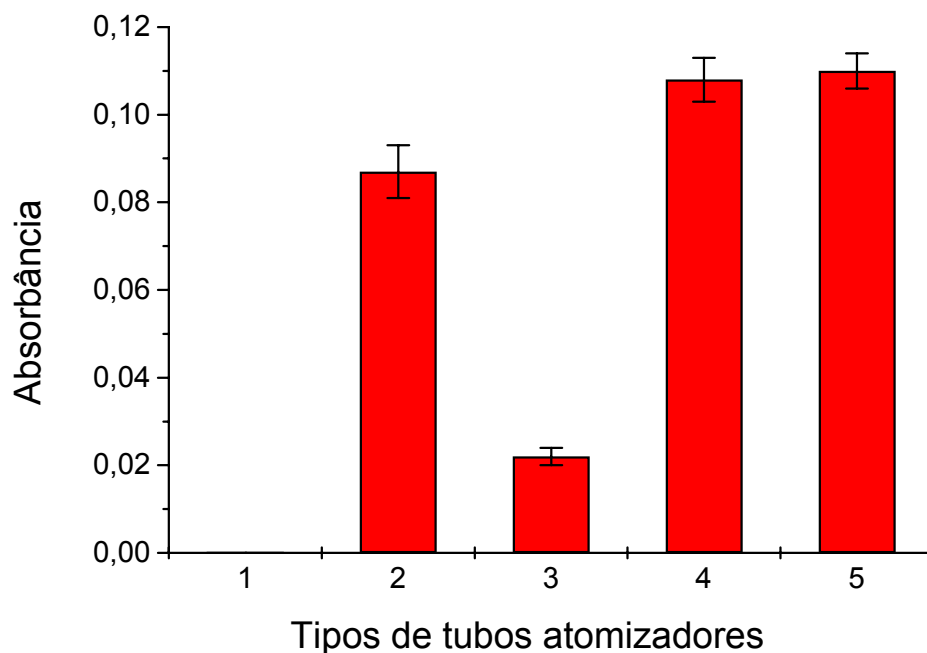


FIGURA 5.1.3.5 – Efeito do tipo de tubo atomizador no sinal analítico de $100 \mu\text{g l}^{-1}$ Zn. (solução carregadora = $1,3 \text{ ml min}^{-1}$; $\text{ar/C}_2\text{H}_2 = 22,3 \text{ l min}^{-1}/3,8 \text{ l min}^{-1}$; volume de amostra = $400 \mu\text{l}$).

Tubo 1: sem furos e d.i. de 5 mm;

Tubo 2: 6 furos adicionais e d.i. de 5 mm;

Tubo 3: sem furos e d.i. de 10 mm;

Tubo 4: 6 furos adicionais e d.i. de 10 mm;

Tubo 5: 10 furos adicionais e d.i. de 10 mm.

A atomização do Zn ocorreu com maior eficiência nos tubos atomizadores com furos e diâmetro interno de 10 mm. Os tubos atomizadores 1 e 3, sem furos, apresentaram menor sensibilidade, indicando que a entrada da chama é necessária para o aquecimento da fase gasosa no interior do tubo e, conseqüentemente, para a completa atomização do elemento.

A utilização do tubo com diâmetro interno de 5 mm e seis furos apresentou um sinal analítico 24% menor em comparação com os tubos de 10 mm de d.i. com seis e dez furos. Como no caso do Pb, o aumento do número de furos também não melhorou o sinal analítico do Zn.

O volume de introdução de amostra não foi avaliado para o Zn, uma vez que pelos resultados obtidos para o Cd e o Pb, o volume de 400 µl apresentou a melhor sensibilidade com menor tempo de limpeza em comparação com os maiores volumes de amostra injetados.

As condições recomendadas para determinação de Zn estão resumidas na TABELA 5.1.3.1.

TABELA 5.1.3.1 – Parâmetros recomendados para determinação de Zn no sistema BIFF-AAS.

Parâmetros	Resultados
Solução carregadora	1,3 ml min ⁻¹
Volume de amostra	400 µl
Composição da chama	Ar – 22,3 l min ⁻¹ C ₂ H ₂ – 3,8 l min ⁻¹
Tubo atomizador	10 mm d.i. com 6/10 furos

5.1.4 – Avaliação do sistema BIFF-AAS para a determinação de tálio

A otimização de alguns parâmetros do sistema BIFF-AAS para determinação de Tl foi realizada conforme descrito anteriormente para Cd, Pb e Zn. No estudo do efeito da vazão de solução carregadora inserida no tubo atomizador, a maior sensibilidade para $100 \mu\text{g l}^{-1}$ Tl foi obtida com a solução fluindo a $1,4 \text{ ml min}^{-1}$. Os resultados podem ser visualizados na FIGURA 5.1.4.1.

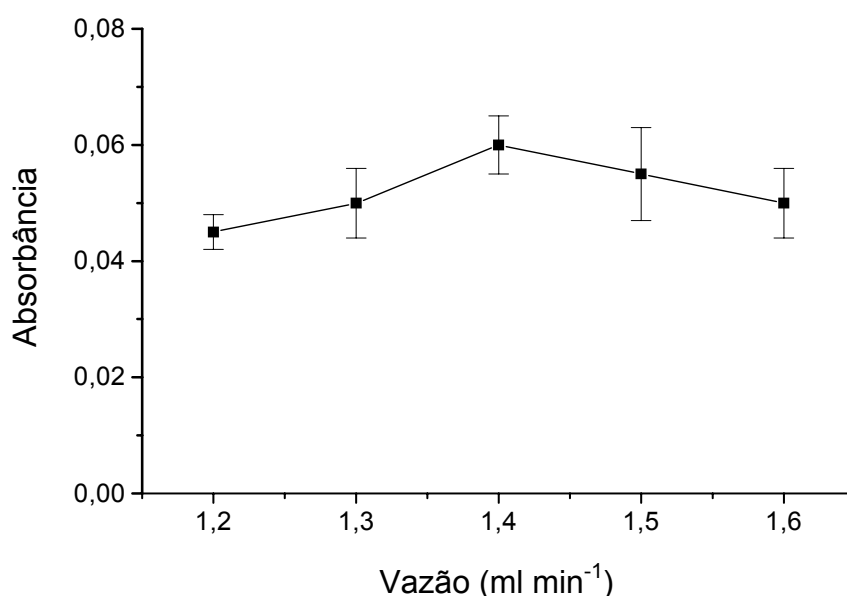


FIGURA 5.1.4.1 – Efeito da vazão da solução carregadora no sinal analítico de $100 \mu\text{g l}^{-1}$ Tl. ($\text{ar}/\text{C}_2\text{H}_2 = 22,3 \text{ l min}^{-1}/ 3,8 \text{ l min}^{-1}$; tubo 10 mm d.i. com 6 furos; volume de amostra = $400 \mu\text{l}$).

Como observado anteriormente, a vazão da solução carregadora inserida no sistema BIFF-AAS para a determinação de Tl, apresentou o mesmo comportamento do Cd e do Zn. Com o aumento da vazão de solução carregadora, houve um aumento do sinal analítico do Tl até a vazão de $1,4 \text{ ml min}^{-1}$. A partir desse ponto, ocorreu uma diminuição da sensibilidade com o aumento do volume de amostra inserida no tubo, prejudicando a atomização.

O efeito da mistura C_2H_2 /ar na atomização do Tl também foi avaliado. Como no estudo realizado para os elementos Cd, Pb e Zn, as vazões de ar variaram de 10 l min^{-1} a 30 l min^{-1} e para C_2H_2 de $2,5 \text{ l min}^{-1}$ a $4,8 \text{ l min}^{-1}$. Os sinais analíticos obtidos para $100 \mu\text{g l}^{-1}$ Tl em diferentes vazões de C_2H_2 estão mostrados na FIGURA 5.1.4.2.

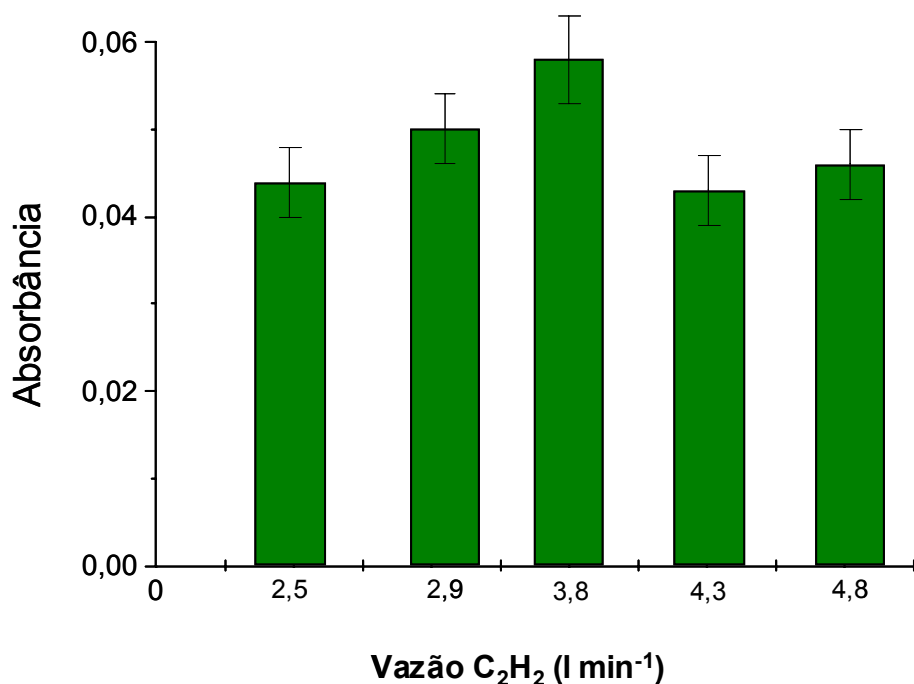


FIGURA 5.1.4.2 – Efeito da vazão de C_2H_2 no sinal analítico de $100 \mu\text{g l}^{-1}$ Tl. (vazão de ar = $22,3 \text{ l min}^{-1}$; solução carregadora = $1,4 \text{ ml min}^{-1}$; volume de amostra = $400 \mu\text{l}$; tubo 10 mm d.i. com dez furos).

A vazão de C_2H_2 de número 3 foi a que apresentou maior sensibilidade para o Tl. Como havia sido observado para o Cd, Pb e Zn, aqui também o aumento da vazão de acetileno concorreu para a diminuição do sinal analítico, possivelmente por dissipação da nuvem atômica no interior do tubo atomizador. Nos sinais obtidos para as menores vazões do C_2H_2 , verificou-se uma diminuição da sensibilidade, indicando que as condições do meio (temperatura e produtos de combustão) foram decisivas para a atomização do elemento.

Como já realizado anteriormente para o Cd, Pb e Zn, avaliaram-se tubos atomizadores com e sem furos e com diferentes diâmetros internos. A FIGURA 5.1.4.3 mostra os sinais analíticos obtidos para $100 \mu\text{g l}^{-1}$ Tl, utilizando-se os tubos atomizadores disponíveis.

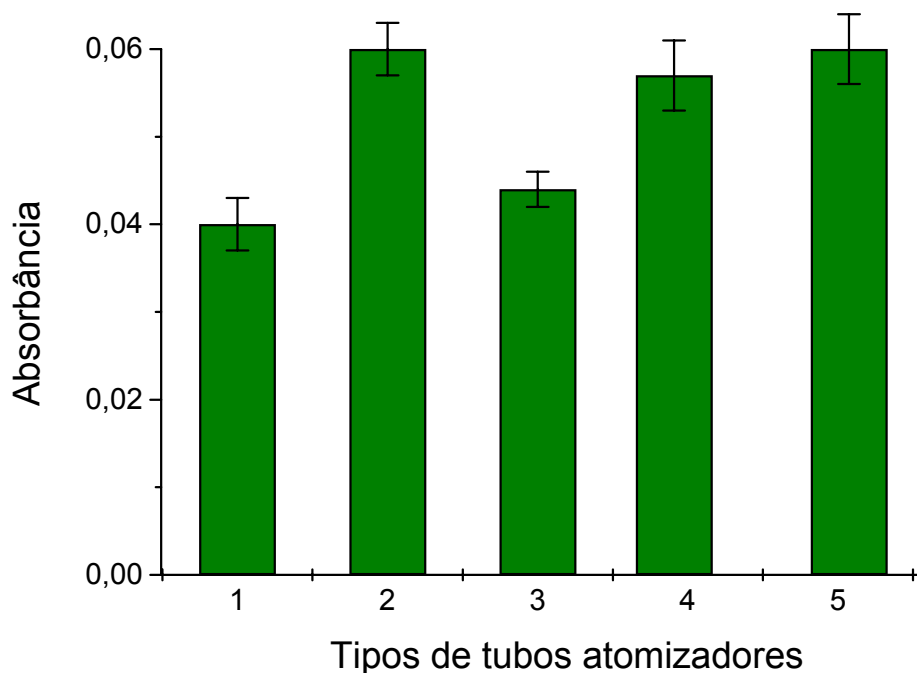


FIGURA 5.1.4.3 – Efeito do tipo de tubo atomizador no sinal analítico de $100 \mu\text{g l}^{-1}$ Tl.

Tubo 1: sem furos e d.i. de 5 mm;

Tubo 2: 6 furos adicionais e d.i. de 5 mm;

Tubo 3: sem furos e d.i. de 10 mm;

Tubo 4: 6 furos adicionais e d.i. de 10 mm;

Tubo 5: 10 furos adicionais e d.i. de 10 mm.

Pelos resultados obtidos, verifica-se que a atomização do Tl também ocorreu com maior eficiência nos tubos atomizadores com furos. Os tubos com d.i. de 5 mm apresentaram praticamente a mesma sensibilidade dos tubos com 10 mm, indicando que a presença dos furos influenciou a sensibilidade, independentemente

do diâmetro interno do mesmo. Verificou-se um aumento de 8 % no sinal analítico, utilizando-se o tubo atomizador com 10 furos, em comparação com o tubo de 6 furos.

O volume de introdução de amostra também não foi avaliado para o Tl, utilizando-se 400 µl para introdução da amostra.

As condições recomendadas para a determinação de Tl estão resumidas na TABELA 5.1.4.1.

TABELA 5.1.4.1 – Parâmetros recomendados para determinação de Tl no sistema BIFF-AAS.

Parâmetros	Resultados
Solução carregadora	1,4 ml min ⁻¹
Volume de amostra	400 µl
Composição da chama	Ar – 22,3 l min ⁻¹ C ₂ H ₂ – 3,8 l min ⁻¹
Tubo atomizador	10 mm d.i. com 10 furos

Para generalização do uso do sistema BIFF-AAS, elegeu-se a vazão da solução carregadora em 1,4 ml min⁻¹, tubo atomizador com 10 furos e d.i. de 10 mm e volume de introdução de amostra de 400 µl. Entretanto, a composição da chama deve ser avaliada para cada analito.

5.2 – Estudo de interferentes

Elementos comumente presentes em amostras de águas e alimentos como Na, K, Ca, Mg, Fe, Al, P, Si e Sr foram adicionados às soluções de referência para avaliação da interferência desses concomitantes nas determinações de Cd, Pb e Zn.

Alíquotas de 200 μL de soluções contendo 100 $\mu\text{g l}^{-1}$ Cd, 1000 $\mu\text{g l}^{-1}$ Pb e de 100 $\mu\text{g l}^{-1}$ Zn foram injetadas separadamente no sistema BIFF-AAS. Após a leitura, essas soluções foram contaminadas com soluções contendo 20.000 mg l^{-1} Na, 2000 mg l^{-1} K, 2000 mg l^{-1} Ca, 2000 mg l^{-1} Mg, 2000 mg l^{-1} Fe, 2000 mg l^{-1} Al, 1000 mg l^{-1} P, 1000 mg l^{-1} Si ou 1000 mg l^{-1} Sr após diluições, através de um sistema de injeção em fluxo com zonas coalescentes descrito na sub-seção 4.1.2. Para todos os estudos, foram utilizados tubo atomizador com 6 furos e solução carregadora fluindo com volume total de 1,4 ml min^{-1} . A composição da chama ar/ C_2H_2 variou de acordo com o estudo dos parâmetros operacionais avaliados nesse trabalho para Cd, Pb, Tl e Zn. Os espectrômetros *Perkin Elmer* mod. 306 (sem corretor de fundo) e mod. 3110 (correção de fundo com lâmpada de D_2) foram utilizados para avaliação de interferências espectrais. Os resultados obtidos para determinação de Cd no espectrômetro sem corretor de fundo estão mostrados na FIGURA 5.2.1.

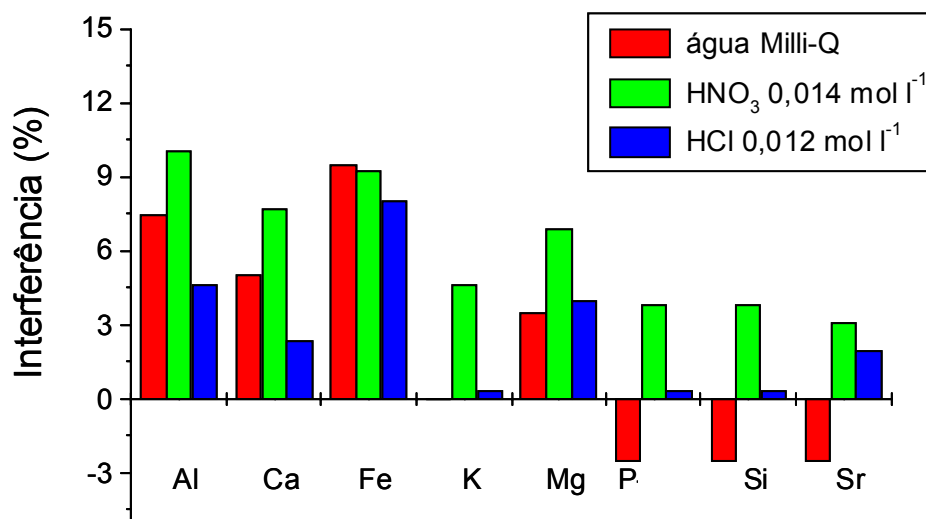


FIGURA 5.2.1 – Influência de 2000 mg l⁻¹ concomitantes no sinal analítico de 100 µg l⁻¹ Cd utilizando sistema BIFF-AAS em espectrômetro sem sistema de correção de fundo (P, Sr e Si 1000 mg l⁻¹).

A partir do primeiro exame dos dados da FIGURA 5.2.1 pôde-se concluir que na presença de 0,012 mol l⁻¹ HCl a porcentagem de interferência causada pelos concomitantes que apresentaram maiores sinais interferentes foram menores do que na presença de HNO₃. Entretanto, o coeficiente de variação das medidas da solução de referência dos analitos foi de 5 - 7 %. Nesse sentido, pode-se afirmar que as diferenças encontradas não se constituem sérias interferências na atomização do Cd, mesmo no espectrômetro sem correção de fundo, uma vez que interferências de até ± 7 % estão dentro do desvio experimental das soluções de referência. Por outro lado, a presença de Na acima de 1000 mg l⁻¹ promoveu interferência no sinal analítico (TABELA 5.2.1).

Para avaliação da concentração de Na que começou a interferir no sinal analítico de 100 µg l⁻¹ Cd, adições entre 100 mg l⁻¹ Na e 20.000 mg l⁻¹ de Na foram feitas na solução de referência. A TABELA 5.2.1 apresenta as porcentagens de interferência do sinal analítico de Cd com a crescente adição de Na na solução de calibração.

TABELA 5.2.1 – Sinais analíticos obtidos para 100 $\mu\text{g l}^{-1}$ Cd na presença de diversas concentrações de Na em água desionizada no espectrômetro sem corretor de fundo.

Na (mg l^{-1})	Absorbância em altura de pico	% Interferência positiva
-	0,442	-
100	0,449	1,6
500	0,468	6,0
1.000	0,477	8,0
2.000	0,517	17
4.000	0,672	52
10.000	0,955	116
20.000	2,082	371

De acordo com o estudo realizado, observou-se que a concentração de 2000 mg l^{-1} de Na na presença de 100 $\mu\text{g l}^{-1}$ Cd apresentou sinais de absorção 17 % maior que o sinal analítico de Cd. Sendo assim, na determinação de Cd, as amostras de águas e alimentos deverão conter concentrações de Na abaixo de 1000 mg l^{-1} a fim de evitar interferências positivas no sinal analítico em espectrômetros que não possuem sistema de correção de fundo (background).

Entretanto, quando os mesmos estudos foram feitos no espectrômetro de absorção atômica *Perkin Elmer* mod. 3110, que possui sistema de correção de fundo com lâmpada de D_2 , nenhum sinal interferente foi obtido para Cd, Pb, Tl e Zn na presença dos concomitantes que podem estar presentes em amostras de alimentos e águas. Esses resultados indicaram que as interferências eram espectrais e foram corrigidas eficientemente com o corretor de D_2 .

Resultados similares foram observados para o Pb. A FIGURA 5.2.2 mostra as alterações percentuais no sinal de absorvância de $1000 \mu\text{g l}^{-1}$ Pb na presença de Al, Ca, P, K, Mg, Fe, Si e Sr obtidas no espectrômetro de absorção atômica sem corretor de fundo (*Perkin Elmer mod. 306*).

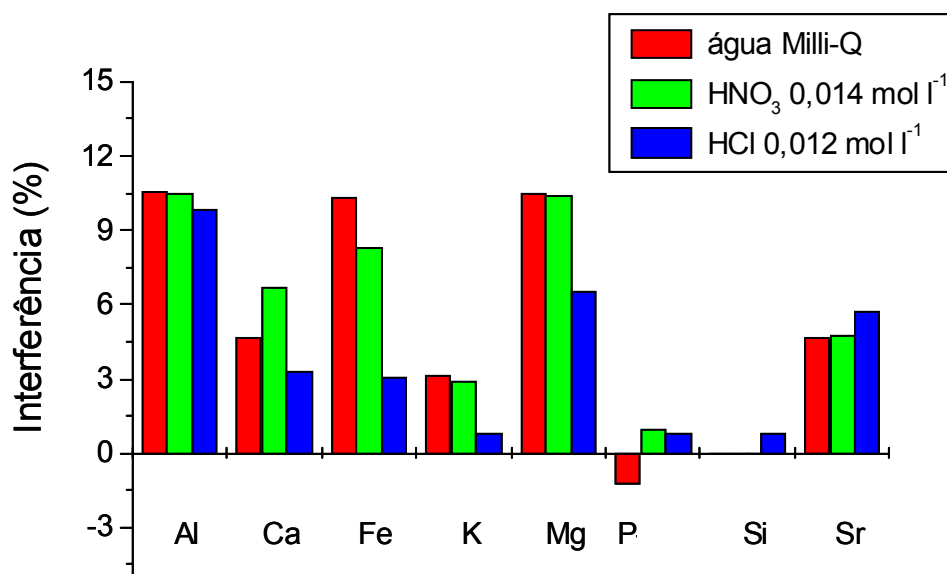


FIGURA 5.2.2 – Influência de 2000 mg l^{-1} concomitantes no sinal analítico de $1000 \mu\text{g l}^{-1}$ Pb utilizando sistema BIFF-AAS em espectrômetro sem sistema de correção de fundo. (P, Si e Sr 1000 mg l^{-1}).

Em presença dos concomitantes, os sinais analíticos para solução de referência contendo $1000 \mu\text{g l}^{-1}$ Pb apresentaram porcentagens de interferências de até 10 %. Como no caso do Cd, apenas o Na apresentou porcentagem de interferência acima de 10 %. Para avaliação da concentração de Na que começou a interferir no sinal analítico, concentrações crescentes de Na foram adicionadas a solução de $1000 \mu\text{g l}^{-1}$ Pb. Os resultados estão mostrados na TABELA 5.2.2.

TABELA 5.2.2 – Sinais analíticos obtidos para 1000 $\mu\text{g l}^{-1}$ Pb na presença de diversas concentrações de Na em água desionizada no espectrômetro sem corretor de fundo.

Na (mg l^{-1})	Absorbância em altura de pico	% Interferência positiva
-	0,482	-
100	0,506	5,0
500	0,539	12
1.000	0,597	24
2.000	0,723	50
4.000	0,954	98
10.000	2,019	319

A adição de 1000 mg l^{-1} Na na solução de 1000 $\mu\text{g l}^{-1}$ Pb apresentou sinais de absorção 24 % acima do sinal analítico obtido para o Pb, indicando que a determinação desse elemento nas amostras de águas e alimentos deverão conter teores de Na menores que 1000 mg l^{-1} para espectrômetros que não possuem corretor de fundo.

Como no caso do Cd, soluções de calibração contendo 1000 $\mu\text{g l}^{-1}$ Pb com as mesmas concentrações dos concomitantes foram analisadas pelo espectrômetro de absorção atômica *Perkin Elmer* mod. 3110 com corretor de fundo e os concomitantes não apresentaram nenhum sinal analítico interferente. Isso indicou que as interferências observadas para o Pb também eram espectrais e foram corrigidas pelo corretor de fundo.

O estudo de interferências também foi feito para o Zn. Soluções de calibração contendo 100 $\mu\text{g l}^{-1}$ de Zn foram contaminadas com 20.000 mg l^{-1} Na, 2000 mg l^{-1} K, 2000 mg l^{-1} Ca, 2000 mg l^{-1} Mg, 2000 mg l^{-1} Fe, 2000 mg l^{-1} Al, 1000 mg l^{-1} P, 1000 mg l^{-1} Si e 1000 mg l^{-1} Sr.

A FIGURA 5.2.3 mostra as porcentagens de interferência obtidas para cada interferente adicionado.

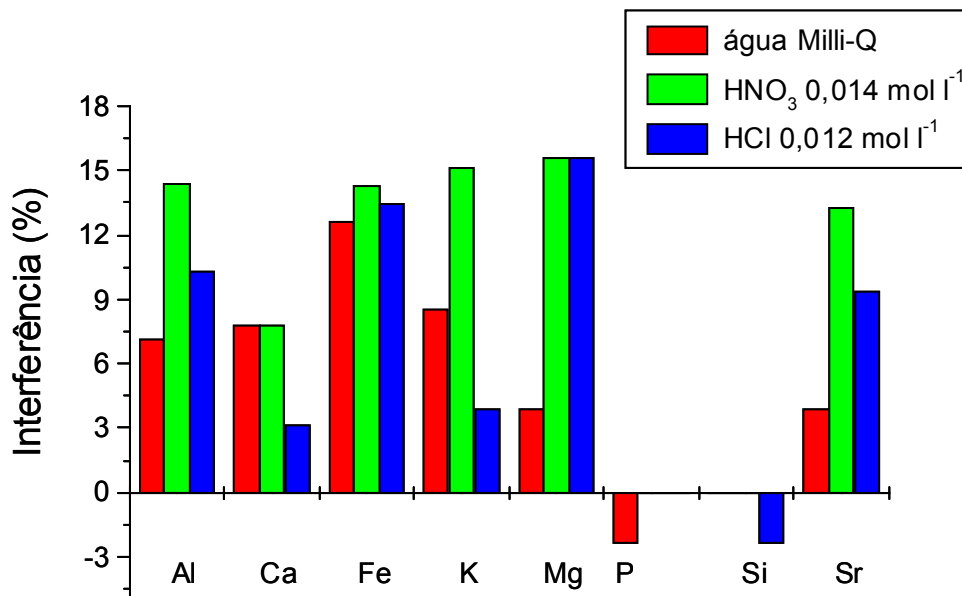


FIGURA 5.2.3 – Influência de 2000 mg l⁻¹ concomitantes no sinal analítico de 100 µg l⁻¹ Zn utilizando sistema BIFF-AAS em espectrômetro sem sistema de correção de fundo (P, Si e Sr 1000 mg l⁻¹).

Alumínio, sódio e ferro provocaram alterações positivas nos sinais de absorvância de Zn. Entretanto, para K, Mg, Sr e Ca a escolha da solução carregadora pode ser determinante para a diminuição da porcentagem de interferência. As interferências negativas de P e Si não foram significativas, uma vez que estão no intervalo de coeficiente de variação das medidas. Como nos estudos realizados para Cd e Pb, a concentração de 20.000 mg l⁻¹ de Na apresentou sinais de absorvância acima de 300 % em comparação com o sinal obtido com a solução de Zn sem a adição do concomitante. O estudo da máxima concentração de Na que pode ser tolerada nas amostras de águas e alimentos sem interferir no sinal analítico de Zn está mostrado na TABELA 5.2.3

TABELA 5.2.3 – Sinais analíticos obtidos para 100 $\mu\text{g l}^{-1}$ Zn na presença de diversas concentrações de Na em água desionizada no espectrômetro sem corretor de fundo.

Na (mg l^{-1})	Absorbância em altura de pico	% Interferência positiva
-	0,108	-
100	0,112	3,7
500	0,115	6,5
1.000	0,116	7,4
2.000	0,130	20
4.000	0,175	62
10.000	0,318	194
20.000	0,528	389

A adição de 2000 mg l^{-1} Na provocou interferência positiva de 20 % no sinal de absorbância de 100 $\mu\text{g l}^{-1}$ Zn. Sendo assim, a concentração de Na tolerada para determinação de Cd, Pb e Zn em amostras de águas e alimentos pelo sistema BIFF-AAS é de 1000 mg l^{-1} para espectrômetros que não possuem corretor de fundo.

Como descrito anteriormente para o Cd e o Pb, a solução de referência de Zn com os concomitantes foi analisada no espectrômetro de absorção atômica *Perkin Elmer* mod. 3110 com corretor de fundo. Os interferentes não apresentaram nenhum sinal analítico durante a determinação do Zn. Isso indicou que as interferências observadas também eram espectrais para esse elemento e foram corrigidas pelo corretor de fundo.

A FIGURA 5.2.4 ilustra a interferência de Na nos sinais de absorbância de Cd, Pb e Zn.

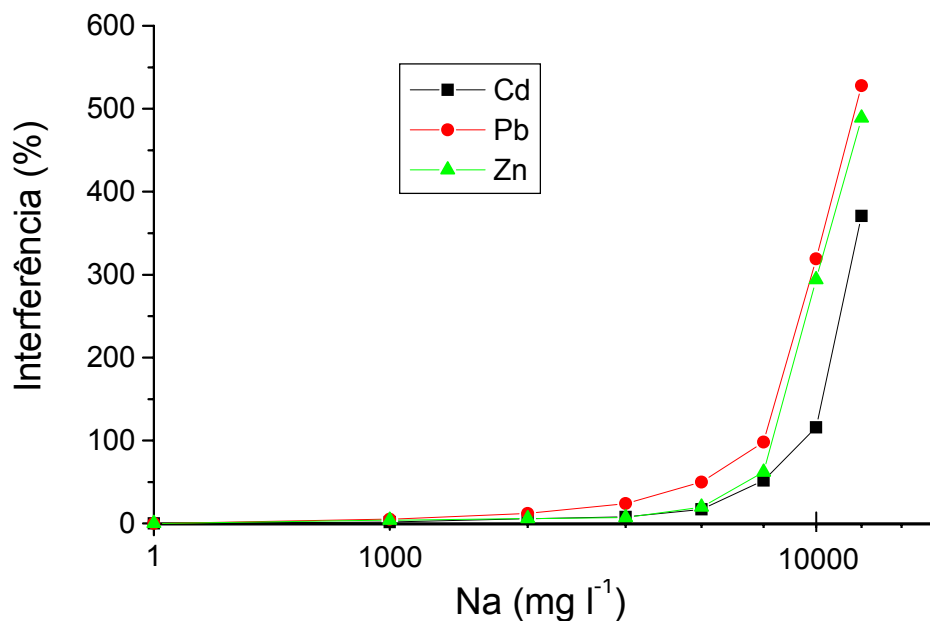


FIGURA 5.2.4. Interferências provocadas por Na no sinal analítico de $100 \mu\text{g l}^{-1}$ Cd, $1000 \mu\text{g l}^{-1}$ Pb e $100 \mu\text{g l}^{-1}$ Zn no sistema BIFF-AAS utilizando espectrômetro sem sistema de correção de fundo.

A avaliação de interferências para a determinação de Tl pelo sistema BIFF-AAS foi feita apenas no espectrômetro de absorção atômica com correção de fundo e, como previsto, nenhuma alteração foi observada no sinal analítico de Tl nas medidas de absorbância com soluções de $100 \mu\text{g l}^{-1}$ de Tl contendo os mesmos concomitantes avaliados no estudo de interferência para Cd, Pb e Zn.

5.3 – Preparo de amostras

5.3.1 – Avaliação do método de extração ultra-sônica no preparo de amostras para determinação de Cd, Pb, Tl e Zn no sistema BIFF-AAS

Um dos aspectos mais relevantes na análise de amostras biológicas tem sido o preparo de amostras. Recentemente, ênfase tem sido dada aos métodos que não utilizam ácidos concentrados em sistemas fechados ou requerem capelas de exaustão. Nesse sentido, os métodos que utilizam suspensões de amostras têm sido alvo de investigações. A extração de analitos em suspensões de amostra por ultra-som descritos na literatura, em geral, utiliza soluções ácidas diluídas ($< 3 \text{ mol l}^{-1}$) e pode ser feita com equipamentos de baixo custo. Essa característica atrativa permitiu o desenvolvimento de procedimentos seguros e com menores riscos de contaminação. Entretanto, os efeitos da concentração ácida e do tempo de sonicação na extração precisam ser avaliados para cada tipo de amostra para otimização do método. SANTOS JR.¹⁰¹ avaliou o emprego da extração ultra-sônica no preparo de amostras biológicas, solos e sedimentos. As extrações foram feitas em meios contendo ácido nítrico e ou clorídrico diluídos ($< 2,4 \text{ mol l}^{-1}$) sonicando-se as amostras por no máximo 20 min. Os extratos foram centrifugados durante 5 min a 5400 rpm e as soluções obtidas analisadas por ICP-OES e GFAAS. As extrações variaram entre amostras e entre elementos na faixa de 11 a 105 % para banhos ultra-sônicos e entre 18 e 105 % com sonda de 50 W. Extrações quantitativas de As, Cd, Cu, Mn, Pb e Zn foram constatadas na quase totalidade dos materiais biológicos e das amostras de solos e sedimentos. De modo geral, o coeficiente de variação dos resultados foi de 2 a 11 %. A comparação das análises feitas com amostras preparadas por decomposição assistida por radiação microondas e materiais de referência certificados permitiu ao autor concluir que a extração ultra-sônica pode ser recomendada como uma

alternativa rápida e de baixo custo para determinação de Ca, Cd, Cu, Fe, Mg, Mn, Mo, Pb e Zn em vegetais, de As, Ca, Cd, Cu, Fe, Mg, Mn, Pb, Se e Zn em tecidos animais e de As, Cd, Cu, Mn, Pb e Zn em solos e sedimentos.

Neste trabalho, avaliou-se a possibilidade de análise de extratos de suspensões com o sistema BIFF-AAS. Porém, com a agravante de que a injeção das partículas poderia provocar o entupimento no nozzle. Sendo assim, após a sonicação de bateladas com 6 frascos no banho ultra-sônico, fez-se necessário a centrifugação das suspensões durante 5 min a 5400 rpm, conforme recomendado por SANTOS JR.¹⁰² com a determinação dos analitos no sobrenadante. Também foram avaliados os efeitos da concentração ácida e do tempo de sonicação para a extração de Cd, Pb e Zn empregando-se banho ultra-sônico de 90 W com 100% de amplitude, em amostra de alface previamente seca e moída. A FIGURA 5.3.1.1 mostra a porcentagem de extração de Cd em HNO₃.

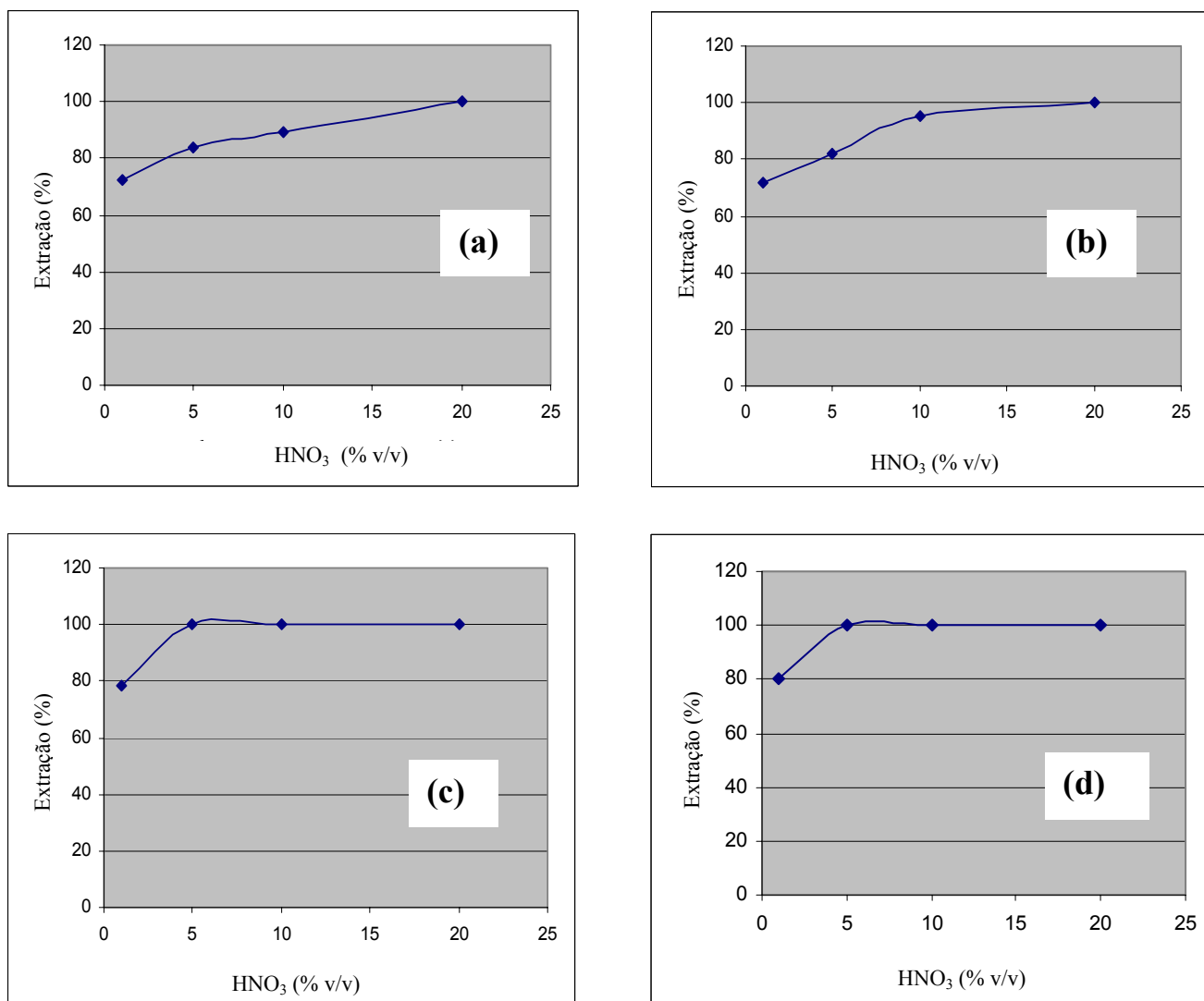


FIGURA 5.3.1.1 - Extração de Cd em suspensão 2,0 % m/v de alface crespa em meio contendo HNO₃ utilizando banho ultra-sônico com potência média de 90 W. Tempos de sonicação: **(a)** 5 min; **(b)** 10 min; **(c)** 20 min; **(d)** 30 min.

Para 5 e 10 min de sonicação observou-se um aumento da porcentagem de extração com o aumento do tempo de sonicação e da concentração ácida. Os procedimentos foram feitos em triplicata e os resultados comparados com o teor de Cd determinado no digerido da amostra obtido por decomposição assistida por microondas. A determinação de Cd nos extratos foi feita por BIFF-AAS.

Na FIGURA 5.3.1.1 (a) com apenas 5 min de sonicação, 100 % do Cd presente na amostra foi extraído com 20 % v/v HNO₃. Porém, a extração total também foi alcançada com soluções ácidas mais diluídas (5,0 % v/v HNO₃) em maiores tempos de sonicação. Esses resultados indicaram que para o Cd, a extração por ultra-som foi dependente da concentração ácida utilizada e do tempo de sonicação da amostra.

A avaliação das condições de extração para Pb com emprego de ultra-som também foi feita em amostras de alface. A FIGURA 5.3.1.2 mostra as porcentagens de extração obtidas em função do tempo de sonicação e da concentração ácida da amostra. Após a extração, as suspensões foram centrifugadas por 5 min a 5400 rpm e a determinação de Pb foi feita no sobrenadante utilizando-se sistema BIFF-AAS. O resultados obtidos foram comparados com teor de Pb encontrado na amostra digerida.

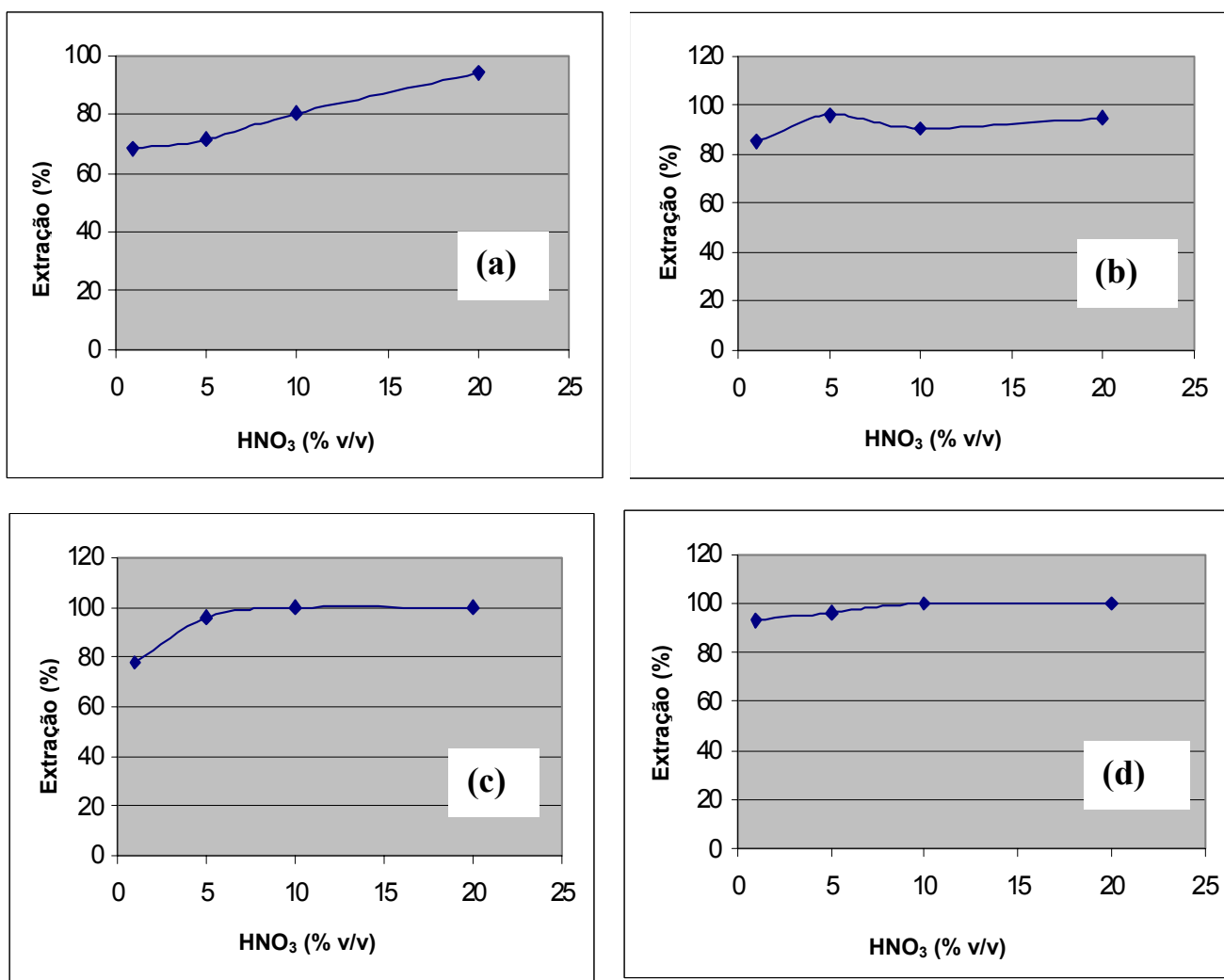


FIGURA 5.3.1.2 - Extração de Pb em suspensão 2,0 % m/v de alface crespa em meio contendo HNO₃ utilizando banho ultra-sônico com potência média de 90 W. Tempos de sonicação: **(a)** 5 min; **(b)** 10 min; **(c)** 20 min; **(d)** 30 min.

Na extração de Pb em amostra de alface por ultra-som, observou-se que a porcentagem de extração ficou acima de 90% apenas em meio contendo 20 % v/v HNO₃, com tempo de sonicação de 5 min. Entretanto, o aumento do período de sonicação da amostra na banho ultra-sônico para 20 min, mostrou que o Pb foi totalmente extraído com 10,0 % v/v HNO₃.

Os resultados obtidos para extração de Zn na suspensão de amostra de alface foram semelhantes aos obtidos nas extrações realizadas para Cd e Pb (FIGURA 5.3.1.3). Sonicando-se a suspensão de alface durante 10 min em 10 % v/v HNO₃, a extração foi praticamente completa, ficando em torno de 98%.

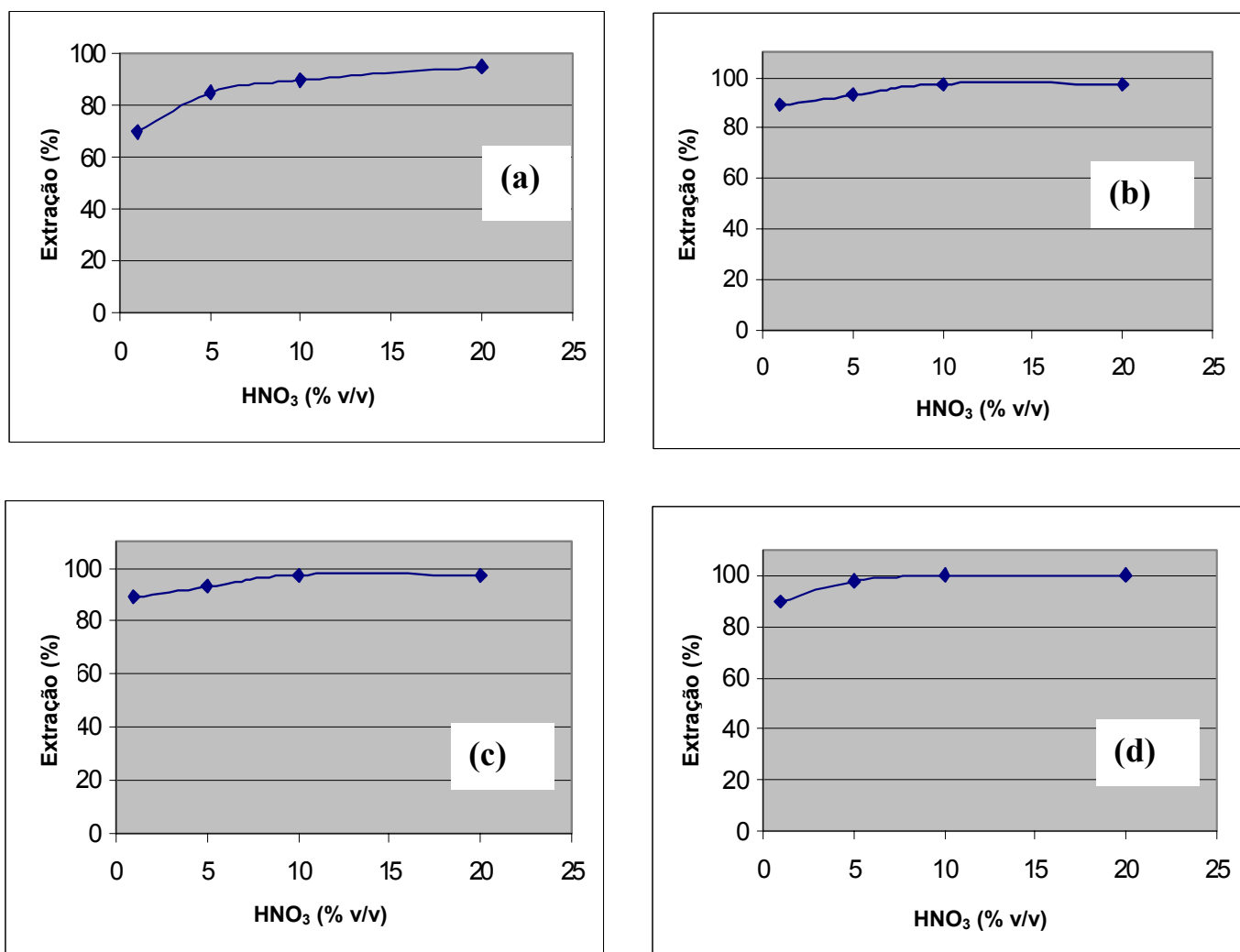


FIGURA 5.3.1.3 - Extração de Zn em suspensão 2,0 % m/v de alface crespa em meio contendo HNO₃ utilizando banho ultra-sônico com potência média de 90 W. Tempos de sonicação: (a) 5 min; (b) 10 min; (c) 20 min; (d) 30 min.

As extrações de Cd, Pb e Zn na amostra de alface crespa também foram feitas utilizando-se a sonda ultra-sônica Vibracell de 50 W com ponta de titânio de 3 mm. O tempo de sonicação, a concentração ácida e a porcentagem de extração foram comparados com os obtidos com o emprego do banho ultra-sônico. As determinações de Cd, Pb e Zn foram feitas utilizando-se sistema BIFF-AAS. A TABELA 5.3.1.1. mostra as condições recomendadas para extração de Cd, Pb e Zn em amostras biológicas com o emprego da sonda ou do banho ultra-sônico.

TABELA 5.3.1.1 – Condições recomendadas para extração de Cd, Pb e Zn em amostras biológicas com sonda e banho ultra-sônico.

Parâmetros	Tecidos vegetais			Tecidos animais		
	Cd	Pb	Zn	Cd	Pb	Zn
Sonda ultra-sônica						
HNO ₃ (mol l ⁻¹)	0,7	1,4	1,4	0,7	0,7	0,7
Tempo (min)	5	5	5	5	5	5
Extração ^a (%)	93-105	93-101	90-101	95-103	92-102	89-101
C. V. ^b (%)	3 – 8	2 – 9	4 – 9	1 – 5	3 – 8	2 – 8
Banho ultra-sônico						
HNO ₃ (mol l ⁻¹)	1,4	2,8	1,4	2,8	2,8	2,8
Tempo (min)	10	10	10	10	10	10
Extração ^a (%)	90-98	91-105	95-98	90-105	89-98	90-102
C. V. ^b (%)	4 – 10	5 – 7	3 – 9	1 – 6	2 – 7	3 – 9

a – porcentagem de extração de diferentes amostras. Cada amostra foi feita em triplicata

b – coeficiente de variação das medidas feitas em 3 extratos.

As diferenças entre os tempos de sonicação e concentrações ácidas nos diferentes tipos de equipamentos de ultra-som podem ser explicados pela melhor eficiência da sonda na quebra dos tecidos vegetais ou animais, disponibilizando maior quantidade de analitos para o meio extrator. A extração

utilizando o banho ultra-sônico também dependeu da frequência do transdutor. A taxa de sedimentação das partículas em suspensão para um banho que operava em 37 kHz foi menor do que para um banho de 25 kHz, onde as suspensões necessitaram de maior intervenção operacional (homogeneização manual) durante o procedimento de extração. Além disso, as diferenças obtidas entre as concentrações ácidas para extração de tecidos vegetais e animais indicaram que a recomendação para o procedimento de extração ultra-sônica também foi dependente do tipo de amostra (interações analito-matriz).

A extração ultra-sônica também foi comparada com a agitação tipo Vortex para avaliar se apenas o meio ácido extraía quantitativamente o analito. Uma massa de 100 mg de material de referência certificado de fígado bovino (Bovine Liver NIST 1577b) foi pesada em um tubo de centrífuga e adicionou-se 2,5 ml de HNO₃ 10,0% v/v ou 2,5 ml de HCl 10,0% v/v. A suspensão foi agitada no Vortex por 20 min para extração de Cd e Pb. A determinação dos analitos no sobrenadante foi feita por GFAAS. Os resultados de extração foram 93 % para Cd e 81 % para Pb, com coeficientes de variação entre 10 e 20 % (n=3). Isso indicou que a contribuição da energia ultra-sônica na extração de Cd e Pb foi importante para a diminuir o tempo de preparo de amostra, para reduzir a concentração ácida e para a melhoria da eficiência de extração dos analitos de interesse.

5.4 – Determinação de Cd, Pb, Zn e Tl nas amostras de águas interiores e alimentos por BIFF-AAS, FAAS e GFAAS

Soluções de referência de Cd, Pb, Zn e Tl preparadas em HNO₃ 0,5% (v/v) foram aspiradas por nebulização pneumática no espectrômetro de absorção atômica com chama. As curvas de calibração obtidas foram comparadas com as curvas feitas no sistema BIFF-AAS para estimativa do aumento de sensibilidade com o método proposto. (FIGURAS 5.4.1, 5.4.2, 5.4.3, 5.4.4 e 5.4.5)

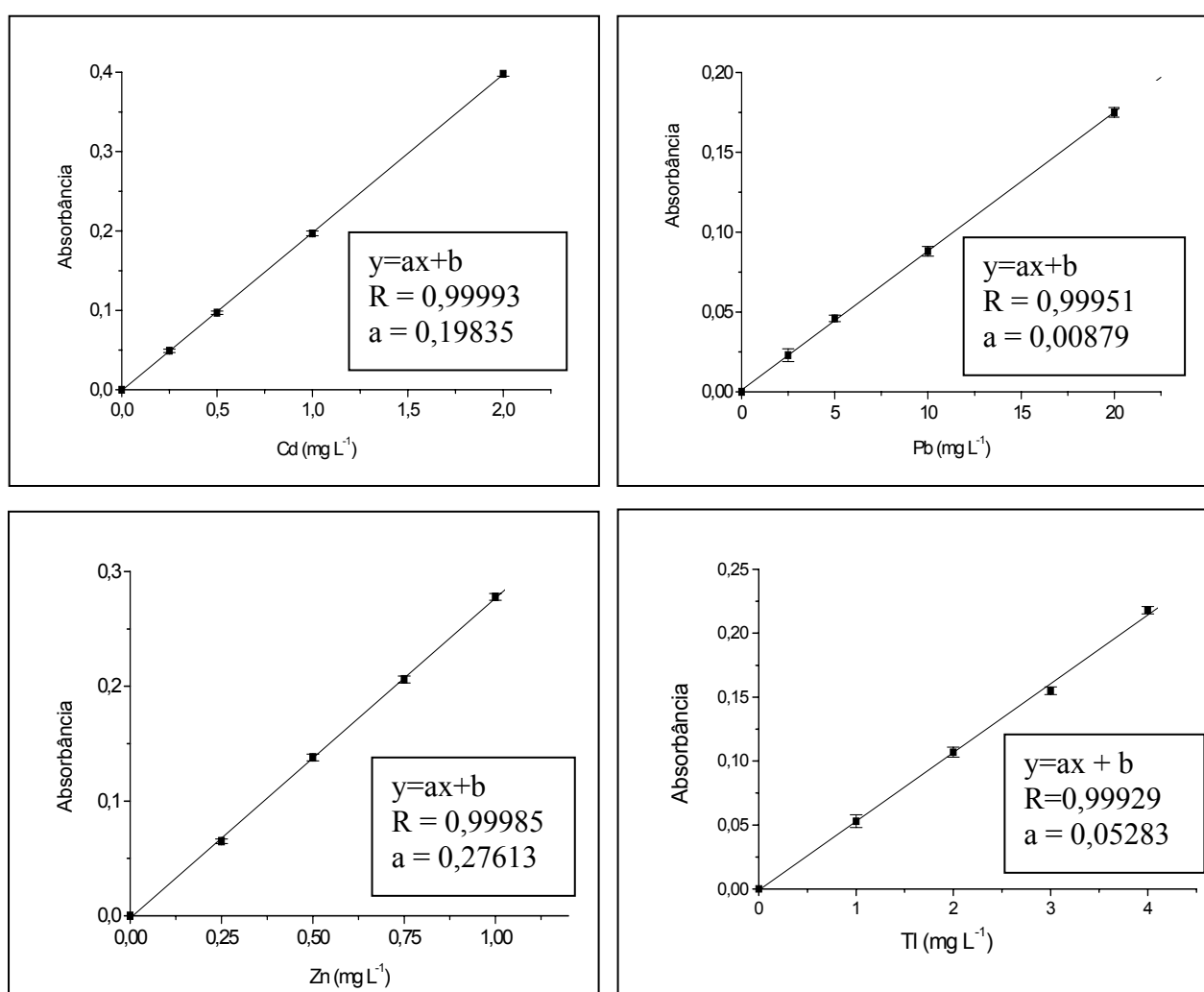


FIGURA 5.4.1 – Curvas analíticas de calibração de Cd, Pb, Zn e Tl por FAAS com nebulização pneumática. (chama ar/C₂H₂; queimador de 1 fenda com 10 cm; taxa de aspiração 5 ml min⁻¹)

As FIGURAS 5.4.2 a 5.4.5 mostram as curvas de calibração para Cd, Pb, Tl e Zn obtidas no sistema BIFF-AAS e os sinais transientes de absorvância para diferentes soluções de referência de cada analito.

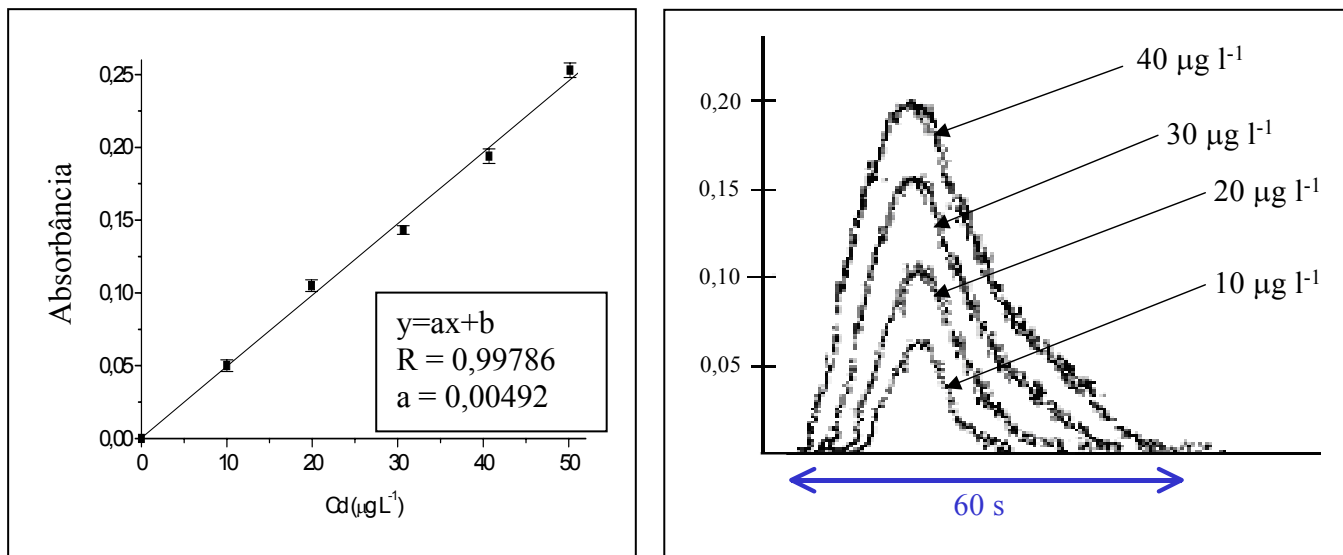


FIGURA 5.4.2 – Curva analítica de calibração e sinais analíticos obtidos para Cd pelo sistema BIFF-AAS (solução carregadora água = 1,4 ml min⁻¹; tubo com 6 furos com 10 mm d.i.; volume injetado = 400 µl)

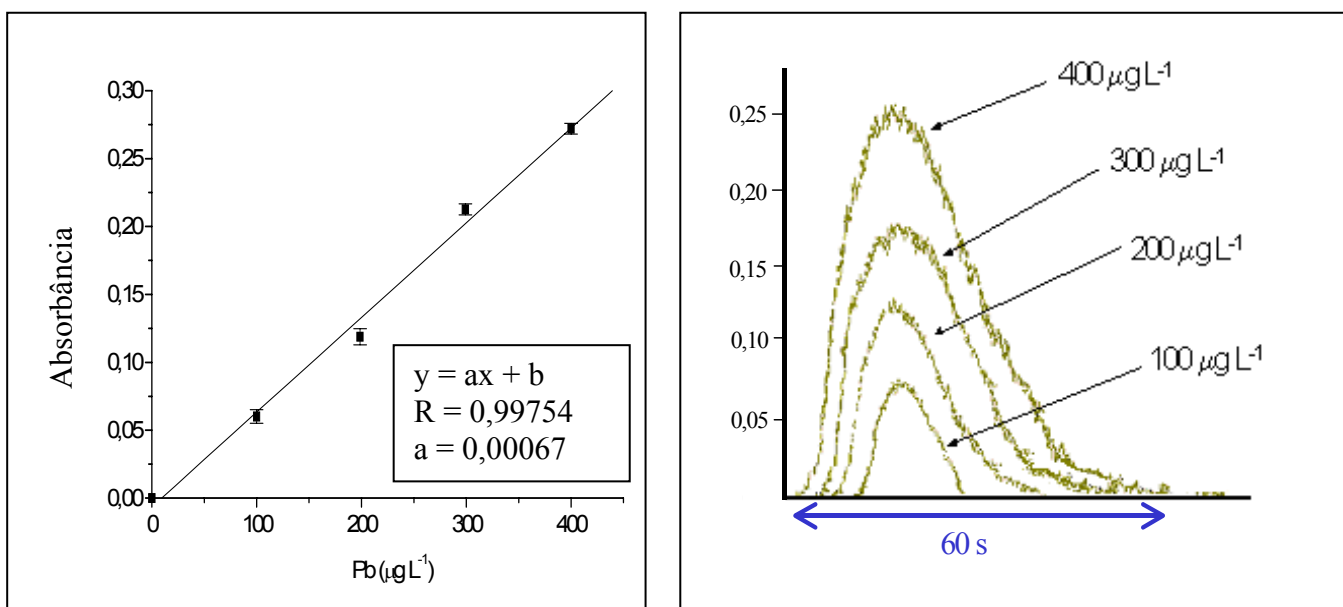


FIGURA 5.4.3 – Curva de calibração e sinais analíticos obtidos para Pb pelo sistema BIFF-AAS (solução carregadora água = 1,4 ml min⁻¹; tubo com 6 furos com 10 mm d.i.; volume injetado = 400 µl)

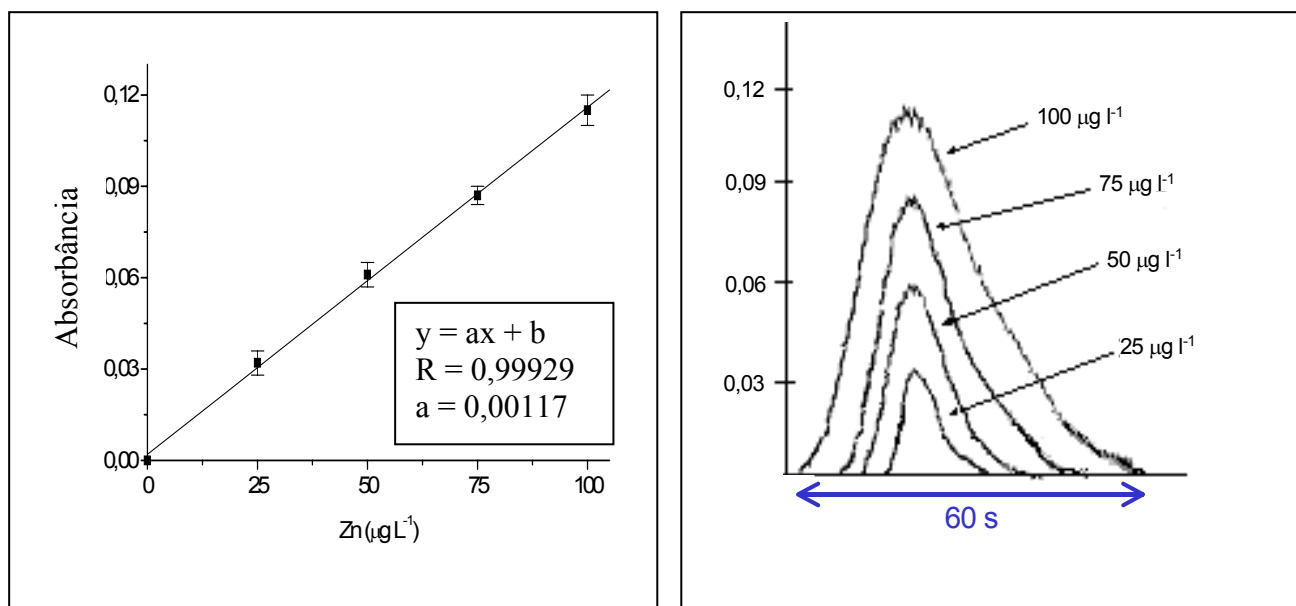


FIGURA 5.4.4 – Curva de calibração e sinais analíticos obtidos para Zn no sistema BIFF-AAS. (solução carregadora água = $1,4 \text{ ml min}^{-1}$; tubo com 6 furos com 10 mm d.i.; volume injetado = $400 \mu\text{l}$)

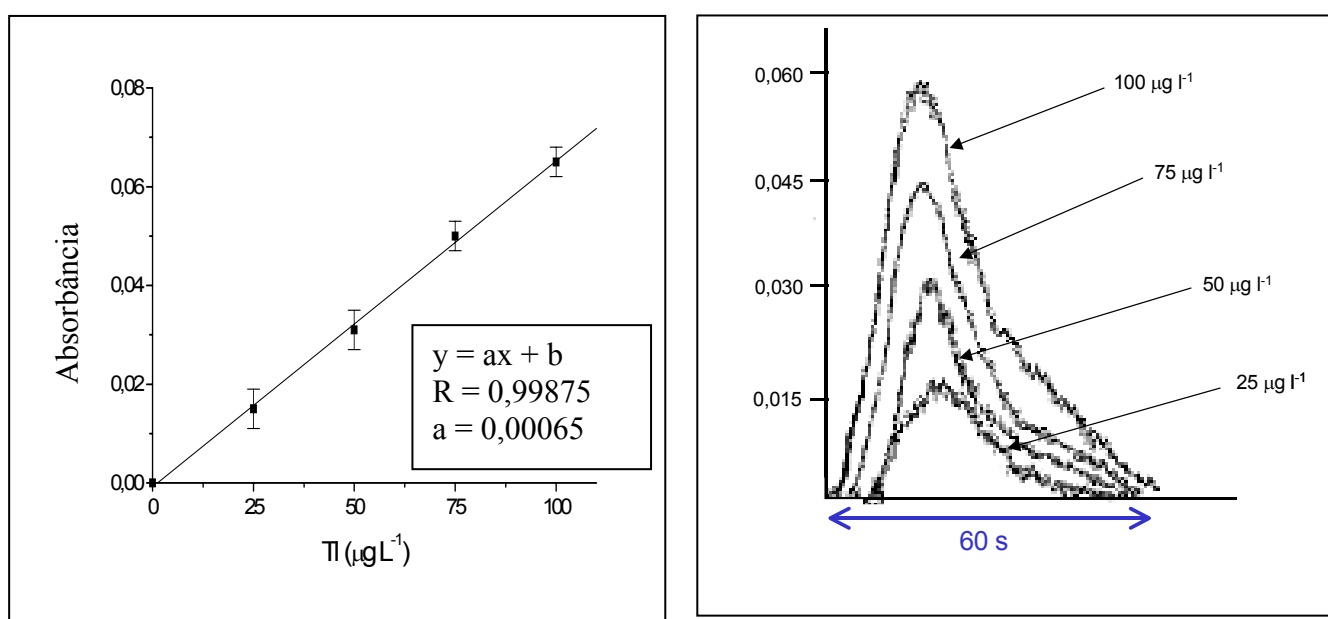


FIGURA 5.4.5 – Curva analítica de calibração e sinais analíticos para Tl no sistema BIFF-AAS. (solução carregadora água = $1,4 \text{ ml min}^{-1}$; tubo com 6 furos com 10 mm d.i.; volume injetado = $400 \mu\text{l}$)

Comparando-se as concentrações características de cada elemento obtidas por FAAS com nebulização pneumática e por BIFF-AAS (TABELA 5.4.1), verificou-se que os ganhos de sensibilidade foram de 25 vezes para Cd, 76 para Pb, 4,3 para Zn e 12 vezes para Tl. Em ambos os casos, empregaram-se chama ar-C₂H₂ nas condições de máxima sensibilidade.

TABELA 5.4.1 – Concentrações características de Cd, Pb, Zn e Tl por FAAS com nebulização pneumática e por sistema BIFF-AAS. ($V_{inj} = 400 \mu\text{l}$; tubo de 10 cm com 6 furos, chama ar-C₂H₂)

	FAAS ($\mu\text{g l}^{-1}$)	BIFF-AAS ($\mu\text{g l}^{-1}$)
Cd	22	0,88
Pb	496	6,51
Tl	83	6,71
Zn	16	3,73

Apesar dos ganhos de sensibilidade do sistema BIFF-AAS em relação a FAAS, não se pode afirmar que o tempo de residência foi um fator decisivo para esse aumento, uma vez que o ganho de sensibilidade obtido pelo maior tempo de residência dos átomos no caminho ótico foi prejudicado com a entrada de solução carregadora no tubo atomizador, que provavelmente alterou os precursores da atomização dos analitos. A melhora dos resultados de concentração característica no sistema BIFF-AAS pode ser resultado da completa introdução da amostra no atomizador.

Com as curvas de calibração preparadas e apresentando coeficientes de correlação acima de 0,998, as determinações de Cd, Pb, Tl e Zn foram feitas em amostras de águas e de alimentos. A TABELA 5.4.2 mostra os resultados para Cd encontrados nas amostras e materiais de referência certificados empregando-se digestão assistida por microondas e extração assistida por ultra-som em banho.

TABELA 5.4.2 – Comparação de métodos para determinação de Cd em alimentos por BIFF-AAS e GFAAS.

Amostras	Cd (mg kg ⁻¹)		
	Extração (n=3)* BIFF-AAS	Digestão (n=3)** BIFF-AAS	Digestão GFAAS (n=3)
Alface lisa	0,78 ± 0,03	0,75 ± 0,04	0,79 ± 0,03
Alface crespa	0,93 ± 0,04	0,94 ± 0,01	0,91 ± 0,04
Berinjela	< 0,033	< 0,033	0,049 ± 0,004
Cogumelo	10,15 ± 0,49	10,17 ± 0,89	10,51 ± 0,59
Abóbora	0,17 ± 0,03	0,14 ± 0,02	0,18 ± 0,03
Jiló	< 0,033	< 0,033	0,032 ± 0,001
Couve-flor	0,29 ± 0,03	0,28 ± 0,01	0,23 ± 0,01
Peixe	1,78 ± 0,03	1,75 ± 0,04	1,78 ± 0,02
Molusco	0,83 ± 0,06	0,84 ± 0,14	0,87 ± 0,04

CRM	Extração (n=3) BIFF-AAS	Digestão (n=3) BIFF-AAS	Valor certificado
Rice Flour (NIES 10)	1,76 ± 0,19	1,78 ± 0,15	1,82 ± 0,05
Pig Kidney (BCR 186)	2,60 ± 0,22	2,64 ± 0,19	2,71 ± 0,16
Oyster Tissue (NIST 1566 a)	4,24 ± 0,32	4,17 ± 0,32	4,15 ± 0,38

* extração em 2,8 mol l⁻¹ HNO₃ durante 10 min com posterior centrifugação e análise do sobrenadante.

** digestão assistida por microondas com 4,0 ml de solução 2,8 mol l⁻¹ HNO₃ e 2,0 ml de solução 30% v/v H₂O₂

A TABELA 5.4.3 mostra os resultados de Cd em amostras de águas coletadas próximo de uma indústria de baterias do Estado de São Paulo.

TABELA 5.4.3 – Determinação de Cd por BIFF-AAS e GFAAS em amostras de águas de efluentes e interiores conservadas em HNO₃ 0,01 % (v/v) e material de referência certificado.

Amostras	Cd ($\mu\text{g l}^{-1}$)	
	BIFF-AAS	GFAAS
Água do efluente de indústria de bateria	121 \pm 6	118 \pm 10
Água da lagoa 1	34,9 \pm 1,1	31,7 \pm 1,0
Água da lagoa 2	< 0,65	0,10 \pm 0,01
Água do rio 1	<0,65	0,10 \pm 0,01
Água do rio 2	<0,65	0,10 \pm 0,01
Água do pesqueiro	<0,65	0,10 \pm 0,01
CRM	Direto (n=3)	Valor
	BIFF-AAS	certificado
Natural Water (NIST 1640)	0,0228 \pm 0,012	0,02279 \pm 0,0096

Os teores de Cd encontrados nas amostras de alimentos que empregaram procedimentos de extração por ultra-som apresentaram concordância (teste-t pareado ao nível de 95%) com o preparo utilizando a digestão assistida por microondas. A exatidão foi confirmada com a análise dos materiais de referência certificados.

De acordo com a Resolução CONAMA nº357/2005 ⁹ o teor máximo permitido de Cd para águas interiores Classe 1 (abastecimento doméstico, irrigação de hortaliças e aquicultura) é < 0,001 mg l⁻¹. Para carnes, peixes e frutas, a Organização Mundial de Saúde estabelece um limite entre 1 e 50 $\mu\text{g kg}^{-1}$ Cd e para farinhas, arroz e tomate de 10 a 300 $\mu\text{g kg}^{-1}$ Cd. Não cabe aqui uma maior discussão, mas entre as amostras de alimentos analisados muitos estão com teores de Cd acima dos limites estabelecidos. No caso das amostras de água, pode-se

considerar que a água do efluente e a água da lagoa 1 estão dentro dos parâmetros estabelecidos para o lançamento de efluentes que admite um máximo de 0,2 mg l⁻¹ Cd.

A TABELA 5.4.4 mostra os resultados de Pb encontrados nas amostras e materiais de referência certificados empregando-se digestão assistida por microondas e extração assistida por banho ultra-sônico.

TABELA 5.4.4 – Comparação de métodos para determinação de Pb em alimentos por BIFF-AAS e GFAAS.

Amostras	Pb (mg kg ⁻¹)		
	Extração (n=3)* BIFF-AAS	Digestão (n=3)** BIFF-AAS	Digestão GFAAS (n=3)
Alface lisa	20,04 ± 0,15	20,15 ± 0,14	20,16 ± 0,30
Alface crespa	6,25 ± 0,55	6,79 ± 0,50	6,80 ± 0,48
Berinjela	11,35 ± 0,26	11,26 ± 0,24	11,60 ± 0,17
Cogumelo	2,49 ± 0,19	2,41 ± 0,20	2,32 ± 0,15
Abóbora	8,93 ± 0,30	8,92 ± 0,30	9,11 ± 0,30
Jiló	4,29 ± 0,18	4,37 ± 0,18	4,36 ± 0,10
Couve-flor	2,55 ± 0,20	2,67 ± 0,14	2,65 ± 0,16
Peixe	1,92 ± 0,21	1,95 ± 0,14	1,84 ± 0,25

CRM	Extração (n=3) BIFF-AAS	Digestão (n=3) BIFF-AAS	Valor certificado
Pig Kidney (BCR 186)	0,309 ± 0,022	0,307 ± 0,018	0,306 ± 0,012
Oyster Tissue (NIST 1566 a)	0,391 ± 0,020	0,379 ± 0,016	0,371 ± 0,014

* extração em 2,8 mol l⁻¹ HNO₃ durante 10 min com posterior centrifugação e análise do sobrenadante.

** digestão assistida por microondas com 4,0 ml de solução 2,8 mol l⁻¹ HNO₃ e 2,0 ml de solução 30% v/v H₂O₂.

Os teores de Pb encontrados nas amostras de alimentos que utilizaram o procedimento de extração por ultra-som como pré-tratamento, apresentaram concordância com os resultados obtidos por digestão assistida por microondas (teste-t pareado ao nível de 95%). A exatidão foi confirmada com a determinação de Pb por BIFF-AAS em amostras de materiais de referência certificados.

A TABELA 5.4.5 mostra os resultados de Pb em amostras de águas coletadas próximo de uma indústria de baterias do Estado de São Paulo.

TABELA 5.4.5 – Determinação de Pb por BIFF-AAS e GFAAS em amostras de águas de efluentes e interiores conservadas em HNO₃ 0,01 % (v/v) e material de referência certificado.

Amostras	Pb ($\mu\text{g l}^{-1}$)	
	BIFF-AAS	GFAAS
Água do efluente de indústria de bateria	3640 \pm 170	3500 \pm 160
Água da lagoa 1	340 \pm 11	317 \pm 10
Água da lagoa 2	< 32	2,20 \pm 0,11
Água do rio 1	< 32	6,30 \pm 0,37
Água do rio 2	< 32	1,30 \pm 0,10
Água do pesqueiro	< 32	13,30 \pm 0,30

No caso do Pb a Resolução CONAMA n^o357/2005 ⁹ estabelece um limite de até 0,01 mg l⁻¹ para águas Classe 1. Para frutas, vegetais e carnes os limites permitidos pela Organização Mundial de Saúde estão entre 100 e 200 $\mu\text{g kg}^{-1}$. Como no caso do Cd, não cabe, aqui, uma discussão sobre os teores recomendados pelos órgãos de saúde e ambientais, porém todas as amostras de alimentos apresentaram teores de Pb acima dos limites estabelecidos, principalmente as amostras de alface, berinjela e abóbora. O mesmo ocorreu com a amostra de água do efluente, onde o limite máximo estabelecido é de 0,5 mg l⁻¹ Pb para águas de lançamento de efluentes.

Na TABELA 5.4.6 estão os resultados de Zn encontrados nas amostras e materiais de referência certificados empregando-se digestão assistida por microondas e extração assistida por ultra-som em banho.

TABELA 5.4.6 – Comparação de métodos para determinação de Zn em alimentos por BIFF-AAS e GFAAS.

Amostras	Zn (mg kg ⁻¹)		
	Extração (n=3) BIFF-AAS	Digestão (n=3) BIFF-AAS	Digestão FAAS (n=3)
Alface lisa	60,3 ± 0,7	60,1 ± 0,4	62,2 ± 0,5
Alface crespa	57,2 ± 2,0	54,0 ± 2,0	55,3 ± 1,8
Berinjela	32,5 ± 1,6	31,7 ± 2,2	34,7 ± 1,5
Cogumelo	120,2 ± 4,3	119,0 ± 3,0	118,0 ± 3,5
Abóbora	61,4 ± 0,9	61,8 ± 0,4	63,3 ± 0,5
Jiló	26,1 ± 0,7	24,9 ± 0,5	25,4 ± 0,5
Couve-flor	26,4 ± 1,0	26,0 ± 1,5	26,6 ± 0,8
Peixe	104,0 ± 2,5	105,5 ± 2,5	105,4 ± 3,2

CRM	Extração (n=3) BIFF-AAS	Digestão (n=3) BIFF-AAS	Valor certificado
Rice Flour (NIES 10)	23,04 ± 1,09	23,10 ± 0,92	22,50 ± 1,22
Pig Kidney (BCR 186)	128 ± 17	128 ± 15	131 ± 15
Oyster Tissue (NIST 1566 a)	818 ± 60	830 ± 57	800 ± 54

* extração em 2,8 mol l⁻¹ HNO₃ durante 10 min com posterior centrifugação e análise do sobrenadante.

** digestão assistida por microondas com 4,0 ml de solução 2,8 mol l⁻¹ HNO₃ e 2,0 ml de solução 30% v/v H₂O₂

No caso do Zn, os teores encontrados nas amostras de alimentos que utilizaram o procedimento de extração por ultra-som como pré-tratamento, também apresentaram concordância com os resultados obtidos por digestão assistida por microondas (teste-t pareado ao nível de 95%). A exatidão foi confirmada com a determinação de Zn por BIFF-AAS em amostras de materiais de referência certificados.

A TABELA 5.4.7 mostra os resultados de Zn em amostras de águas coletadas próximo de uma indústria de baterias do Estado de São Paulo.

TABELA 5.4.7 – Determinação de Zn por BIFF-AAS e GFAAS em amostras de águas de efluentes e interiores conservadas em HNO₃ 0,01 % (v/v) e material de referência certificado.

Amostras	Zn ($\mu\text{g l}^{-1}$)	
	BIFF-AAS	FAAS
Água do efluente de indústria de bateria	355 ± 15	365 ± 58
Água da lagoa 1	22 ± 1	< 18
Água da lagoa 2	156 ± 10	147 ± 20
Água do rio 1	< 5	< 18
Água do rio 2	< 5	< 18
Água do pesqueiro	32 ± 2	31 ± 3
CRM	BIFF-AAS	Valor certificado
Natural Water (NIST 1640)	0,053 ± 0,001	0,053 ± 0,002

Para as amostras de alimentos e águas interiores, não foi necessária a utilização da GFAAS como método de comparação, pois os teores de Zn encontrados puderam ser determinados por FAAS com nebulização pneumática convencional, uma vez que estavam dentro do limite de detecção dessa técnica.

Nesse caso, também não seria preciso utilizar o sistema BIFF-AAS para a quantificação. Mas, a inclusão do Zn foi implementada para avaliar se haveria um ganho de sensibilidade na determinação de diversos analitos por BIFF-AAS, conforme discutido durante a comparação das concentrações características entre BIFF-AAS e FAAS com nebulização pneumática.

Entretanto, o sistema BIFF-AAS pode ser utilizado em casos excepcionais de ocorrência de baixas concentrações de Zn em alimentos.

Os teores encontrados nas amostras de alimentos e de águas estão dentro dos limites estabelecidos pela Organização Mundial de Saúde e CONAMA. Águas classe 1 tem limite recomendado de $0,18 \text{ mg l}^{-1}$ Zn e para lançamento de efluentes de até $5,0 \text{ mg l}^{-1}$ Zn.

Os teores de Tl não foram detectados nas amostras, pois estavam abaixo do limite de detecção do sistema BIFF-AAS.

A TABELA 5.4.8 mostra as características analíticas do sistema BIFF-AAS e da FAAS utilizando nebulização pneumática.

TABELA 5.4.8 – Comparação das características analíticas obtidas com o sistema BIFF-AAS e com FAAS utilizando nebulização pneumática.

BIFF-AAS				
	Cd	Pb	Zn	Tl
LOD* ($\mu\text{g l}^{-1}$)	0,65	32,0	5,0	8,0
Conc. Característica ($\mu\text{g l}^{-1}$)	0,88	6,51	3,73	6,71
Repetibilidade** (%)	5-7	5-10	3-8	3-9

FAAS				
	Cd	Pb	Zn	Tl
LOD* ($\mu\text{g l}^{-1}$)	17	640	18	100
Conc. Característica ($\mu\text{g l}^{-1}$)	22	496	16	83
Repetibilidade** (%)	2-4	2-4	2-4	2-4

* LOD – limite de detecção para soluções de referência (n=20)

** Repetibilidade (coeficiente de variação para n=10); valores mínimos e máximos calculados a partir de medidas realizadas em dias diferentes.

Observando-se a TABELA 5.4.8 apenas o limite de detecção obtido para o Pb não alcançou os limites recomendados pela nova resolução CONAMA 357/2005⁹ para águas classes 1 e 2. Na antiga resolução, CONAMA 20/1986⁹, o limite recomendado para Pb era de $50 \mu\text{g l}^{-1}$. Com a recente alteração para $10 \mu\text{g l}^{-1}$ em águas classe 1 e 2, o teor desse elemento não poderá ser determinado por esse método. Entretanto, as melhoras dos limites de detecção obtidos pelo sistema BIFF-AAS, em comparação com a FAAS utilizando introdução de amostra por nebulização pneumática, foram boas: aproximadamente 26 vezes melhor para Cd, 20 vezes para Pb, 4 vezes para Zn e 12 vezes para Tl.

Os limites de detecção obtidos na presente tese também foram comparados com os trabalhos de BERNDT *et al.*^{8,50-51}. Em 2000, no primeiro

trabalho sobre o sistema BIFF-AAS⁸, empregou-se água Milli-Q fluindo a $1,5 \text{ ml min}^{-1}$ como solução carregadora, nozzle com d.i. de $50 \text{ }\mu\text{m}$ e 3 cm de comprimento e tubo atomizador de super-liga de aço com e sem furos. Os limites de detecção foram de $0,25 \text{ }\mu\text{g l}^{-1}$ Cd, $25 \text{ }\mu\text{g l}^{-1}$ Pb, $6,9 \text{ }\mu\text{g l}^{-1}$ Tl e $9,6 \text{ }\mu\text{g l}^{-1}$ Zn. Na determinação dos limites de detecção do método utilizou-se tubo atomizador sem furos para Cd e tubo com 6 furos para os outros elementos.

Em 2002, GÁSPAR & BERNDT⁵⁰ avaliaram o sistema BIFF-AAS com um nozzle de $50 \text{ }\mu\text{m}$ de d.i e canal de $200 \text{ }\mu\text{m}$ de comprimento (o mesmo utilizado nesse trabalho) utilizando-se bomba peristáltica para transporte da solução carregadora. O volume da alça de amostragem foi de $1,0 \text{ ml}$ com solução carregadora (água) fluindo a $1,5 \text{ ml min}^{-1}$. Os limites de detecção obtidos foram de $1,1 \text{ }\mu\text{g l}^{-1}$ Cd, $27 \text{ }\mu\text{g l}^{-1}$ Pb e $1,6 \text{ }\mu\text{g l}^{-1}$ Zn. Em comparação com o trabalho publicado em 2000, houve melhora apenas do limite de detecção para Zn.

No trabalho de RATKA & BERNDT⁵¹ em 2004, os autores avaliaram diferentes tamanhos de nozzles e CO_2 para transporte da amostra como alternativa para diminuir o resfriamento no tubo atomizador causado pela solução carregadora aquosa. Os limites de detecção obtidos com nozzle de $20 \text{ }\mu\text{m}$, gás carregador fluindo a $0,62 \text{ ml min}^{-1}$ e volume de amostra de $500 \text{ }\mu\text{l}$ foram de $0,25 \text{ }\mu\text{g l}^{-1}$ Cd, $5,2 \text{ }\mu\text{g l}^{-1}$ Pb e $2,0 \text{ }\mu\text{g l}^{-1}$ Tl. Para o nozzle de $30 \text{ }\mu\text{m}$ com CO_2 fluindo a $1,32 \text{ ml min}^{-1}$, os limites de detecção foram de $1,0 \text{ }\mu\text{g l}^{-1}$ Cd e $17 \text{ }\mu\text{g l}^{-1}$ Pb.

Portanto, na presente tese, os limites de detecção obtidos podem ser comparados com o trabalho de 2002, onde foi utilizado o mesmo tipo de nozzle, mas com transporte de solução carregadora com bomba de HPLC. Os resultados para Pb foram comparáveis e para Cd foram 2 vezes pior. O limite de detecção para Cd ficou entre $0,25 \text{ }\mu\text{g l}^{-1}$ (melhor limite obtido por BERNDT^{8,50}) e $1,1 \text{ }\mu\text{g l}^{-1}$ (pior limite de detecção obtido por BERNDT^{50,51}). O mesmo ocorreu para Zn, onde o limite de detecção obtido de $5,0 \text{ }\mu\text{g l}^{-1}$ ficou entre os resultados dos trabalhos de 2000⁸ e de 2002⁵⁰.

5.5 – Adição e recuperação de Tl nas amostras de águas e alimentos

As amostras de alimentos foram analisadas pelo sistema BIFF-AAS para determinação de Tl, mas o teor estava abaixo do limite de detecção do método ($< 8 \mu\text{g l}^{-1}$). Como a concentração desse elemento em solos e plantas é menor que $0,1 \text{ mg kg}^{-1}$ ^{83,85}, seria difícil encontrar amostras com o teor necessário para determinação por BIFF-AAS. A maior fonte de contaminação de alimentos por Tl provém, principalmente, da fertilização das plantas e do solo ⁸⁵. Sendo assim, dois experimentos de contaminação de Tl em mudas de rabanete, couve, alface e cebolinha, foram realizados. Essas plantas foram escolhidas devido aos diferentes graus de bioacumulação de metais por essas espécies ⁸⁵⁻⁸⁶. As plantas foram cultivadas em caixas de madeira (40 x 40 x 10 cm) com terra, em casa de vegetação. No primeiro experimento, cada muda foi irrigada duas vezes por dia com 50 ml de uma solução de 1000 mg l^{-1} Tl durante 10 dias. Após esse período, algumas folhas de cada cultura foram amostradas, lavadas, secas em estufa de secagem até massa constante, moídas em moinho criogênico e digeridas. Não se observou nenhuma alteração no aspecto das folhas e nenhum teor de Tl foi detectado pelo sistema BIFF-AAS.

Em outro experimento, as mesmas hortaliças foram semeadas em caixas com solo contaminado com 1000 mg kg^{-1} de Tl, mas nesse caso, não houve germinação.

Portanto, para avaliação do método proposto para determinação de Tl pelo sistema BIFF-AAS, adicionou-se $30 \mu\text{g}$ Tl às amostras de alimentos antes da digestão. A TABELA 5.5.1 mostra as recuperações obtidas com a quantificação realizada por BIFF-AAS.

TABELA 5.5.1 – Recuperação de Tl nas amostras de alimentos contaminadas com 30 µg Tl.

Amostras	Tl (µg kg ⁻¹)		Recuperação (%)
	Massa adicionada (µg)	Massa encontrada BIFF-AAS (µg)	
Alface lisa	30,0	29,8 ± 0,12	99,5
Alface crespa	30,0	29,5 ± 0,14	98,2
Berinjela	30,0	29,7 ± 0,09	99,1
Cogumelo	30,0	30,2 ± 0,10	100,5
Abóbora	30,0	29,9 ± 0,09	99,8
Jiló	30,0	30,0 ± 0,08	100,1
Couve-flor	30,0	29,9 ± 0,08	99,7
Peixe	30,0	30,0 ± 0,08	100

Os resultados obtidos mostraram que aproximadamente 100% dos teores de Tl adicionado nas amostras foram recuperados. Entretanto, a exatidão da metodologia não foi avaliada com nenhuma amostra de material de referência certificado, devido às baixas concentrações (por exemplo 0,004 µg g⁻¹ para DORM-2) desse elemento em todos os CRMs de nosso laboratório, que não alcançavam o limite de detecção do método proposto.

Capítulo 6

Conclusões

6 – Conclusões

O sistema de injeção de amostra em forno aquecido por chama (BIFF-AAS) pode ser utilizado como um método alternativo de atomização baseado na introdução da amostra na forma de um jato líquido em um tubo atomizador posicionado sobre a queimador de um espectrômetro de absorção atômica com chama.

Em comparação com a FAAS com chama com introdução de amostra por nebulização pneumática, os limites de detecção com o sistema BIFF-AAS foram melhores 26 vezes para Cd, 20 vezes Pb, 4 vezes Zn e 12 vezes para Tl. Os resultados obtidos foram de $0,65 \mu\text{g l}^{-1}$ Cd, $32,0 \mu\text{g l}^{-1}$ Pb, $8,0 \mu\text{g l}^{-1}$ Tl e $5,0 \mu\text{g l}^{-1}$ Zn. O coeficiente de variação das medidas ($n=3$) variou de 3 a 10% e o sistema permite a análise de até 60 amostras h^{-1} .

Nos estudos realizados para obtenção das melhores condições de trabalho do sistema BIFF-AAS, verificou-se que a introdução de solução dentro do tubo atomizador causou a incompleta vaporização da amostra e perda de energia para atomização do Pb, Zn e Cd sendo, porém, menos crítico para esse elemento. A avaliação da temperatura das paredes externas e do vapor dentro do tubo atomizador mostrou que a introdução de solução aquosa resfriou o tubo, com conseqüente prejuízo na sensibilidade dos elementos estudados, sendo essa diminuição dependente da vazão de solução carregadora introduzida. Essa redução da temperatura do tubo e da fase gasosa restringiu a utilização do sistema BIFF-AAS para elementos mais voláteis. A extensão do sistema BIFF-AAS para outros elementos pode depender do estudo de diferentes tipos de tubos construídos com outros materiais como cerâmica, recentemente avaliado por VILLAFRANCA¹⁰³, onde a perda de calor poderia não ser tão significativa com a introdução da solução carregadora ou que a composição química do material pudesse favorecer processos de atomização.

A composição da mistura dos gases combustível e oxidante (C_2H_2/ar), bem como a vazão total da mistura gasosa e, conseqüentemente, os produtos de combustão, devem ser escolhidos com cuidado, pois afetam a sensibilidade e a robustez do atomizador. De fato, a entrada dos gases da chama no interior do tubo atomizador foi decisiva para a atomização de Pb e Zn. Entretanto, para Cd a temperatura da fase vapor do interior do tubo sem furos foi suficiente para atomização do analito, sendo que a presença de furos dispersou a nuvem atômica, diminuindo a sensibilidade. Para Pb e Zn, a dispersão da nuvem atômica é compensada com o aumento de temperatura causada pela entrada dos gases no interior do tubo com furos.

A emissão de radiação infravermelha pelo tubo atomizador, pode limitar o uso do BIFF-AAS, face ao aquecimento excessivo das paredes do espectrômetro próximas do queimador. Neste caso, o revestimento com manta cerâmica se mostrou apropriado como isolante térmico.

O efeito de concomitantes, geralmente presentes em amostras de águas e alimentos, foi imperceptível em espectrômetros equipados com sistema de correção de fundo com lâmpada de D_2 . No espectrômetro sem corretor de fundo, apenas o Na em concentrações acima de 1000 mg l^{-1} apresentou interferência espectral significativa. Portanto, a correção de fundo é essencial para determinação dos analitos em amostras de águas e alimentos por BIFF-AAS na presença de Na em altas concentrações.

O preparo das amostras de alimentos por extração assistida por ultra-som foi empregado com sucesso na determinação dos analitos de interesse pelo sistema BIFF-AAS. Entretanto, a centrifugação das suspensões para a separação do sobrenadante foi essencial para evitar o entupimento do nozzle. Os teores de Cd, Pb e Zn obtidos com a extração e com a decomposição assistida por microondas apresentaram concordância (teste- t pareado ao nível de 95%). A sonicação de uma suspensão de amostra por 10 min preparada em $2,8\text{ mol l}^{-1}$ HNO_3 em banho ultra-sônico foi suficiente para extrações quantitativas ($> 98\%$)

de Cd, Pb e Zn. Sendo assim, a extração assistida por ultra-som pode ser utilizada como um procedimento de preparo simples, rápido e de baixo custo.

Em resumo, o sistema BIFF-AAS é um método que pode ser utilizado com sucesso na determinação de Cd e Pb em alimentos, tanto em digeridos como em extratos obtidos por sonicação de suspensões, pois atende aos critérios de qualidade recomendados pela Organização Mundial de Saúde (Codex Alimentarius Commission)⁸⁴. Para águas, o sistema atende as exigências do Conselho Nacional do Meio Ambiente⁹ para Cd em todas as classes e para Pb a partir da classe 3, onde a FAAS apresenta sérios impedimentos. Amostras de águas, alimentos e materiais de referência certificados, analisados pelo sistema BIFF-AAS, apresentaram boa concordância (teste-t pareado ao nível de 95 %) com os resultados obtidos pelo método de comparação (GFAAS) e com os valores certificados dos CRMs.

Capítulo 7

Referências Bibliográficas

6 – Referências Bibliográficas

1. CARAZEK, E. “A low-cost flame atomic absorption spectrometry method for determination of trace metals in aqueous samples”. *Talanta*, **51**(1): 173, 2000.
2. BERNDT, H. & POSTA, J. “A high-performance flow hydraulic high-pressure nebulization system (HPF/HHPN) in flame-aas for improved elemental trace determination in highly concentrated salt-solutions”. *Spectrochim. Acta Part B*, **47**(8): 993, 1992.
3. MARTÍN-ESTEBAN, A.; GARCUNUÑO, R. M.; ANGELINO, S.; FERNÁNDEZ, P. & CÁMARA, C. “Determination of trace metals in waters and compost by on-line precipitation coupled to flame atomic absorption spectrophotometry or ion chromatography”. *Talanta*, **48**: 959, 1999.
4. WELZ, B. & SPERLING, M. *Atomic Absorption Spectrometry*. 3^a edition, Weinheim, Wiley-VCH, 1999.
5. LAJUNEN, L. H. J. *Chemical Analysis by Atomic Absorption and Emission*. Cambridge, The Royal Society of Chemistry, 1992.
6. DÉDINA, J. & TSALEV, D. L. *Hydride Generation Atomic Absorption Spectrometry*. Londres, John Wiley & Sons, 1995.
7. 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**: 1287, 1997.
8. GÀSPÁR, A. & BERNDT, H. “Beam injection flame furnace atomic absorption spectrometry: A new flame method”. *Anal. Chem.*, **72**(1): 240, 2000.
9. Companhia de Tecnologia de Saneamento Ambiental. www.cetesb.sp.gov.br/Agua/Rios/rel_aguas_int_2004/anexo1_legislacao.zip acesso em 14/06/2005.
10. WALSH, A. “The application of atomic absorption spectra to chemical analysis”. *Spectrochim. Acta*, **7**: 108, 1955.
11. ALKEMADE, C. T. J. & Milatz, J. M. W. “A double-beam method of spectral selection with flames”. *Appl. Sci. Res.*, **4B**: 289, 1955.
12. POLUEKTOV, N. S. & VITKUN R. A. “Atomic-absorption determination of mercury by means of a flame method”. *Zh. Anal. Klim.*, **18**: 37, 1963.
13. AMOS, M. D. & WILLIS, J. B. “Use of high-temperature pre-mixed flames in atomic absorption spectroscopy,” *Spectrochim. Acta*, **22**: 1325, 1966.
14. HOLAK, W. “Gas-sampling technique for arsenic determination by atomic absorption spectrophotometry”. *Anal. Chem.*, **41**: 1712, 1969.
15. MANNING, D. C.; SLAVIN, W. & MYERS, S. “Sampling at constant temperature in graphite furnace atomic absorption spectrometry”. *Anal. Chem.*, **51**: 2375, 1979.
16. KRUG, F. J.; NÓBREGA, J. A. & OLIVEIRA, P. V. *Espectrometria de Absorção Atômica*. Piracicaba, CENA – USP, 2001. Apostila, 42 p.

17. HARNLY J. M. "The future of atomic absorption spectrometry: a continuum source with a charge coupled array detector". *J. Anal. At. Spectrom.*, **14**: 137, 1999.
18. Analytikjena AG acesso em 14/06/2004
http://www.analytikjena.de/e/bu/as/aas/devices/e_08contrAA.html
19. WATLING, R. J. "The use of a slotted quartz tube for the determination of arsenic, antimony, selenium and mercury". *Anal. Chim. Acta*, **94**: 181, 1977.
20. BROWN, A. A.; MILNER, B. A. & TAYLOR, A. "Use a slotted quartz tube to enhance the sensitivity of conventional flame atomic absorption spectrometry". *Analyst*, **110**: 501, 1985.
21. BURNS, D. T.; CHIMPALEE, N. & HARRIOTT, M. "Applications of a slotted tube atom trap and flame atomic absorption spectrometry: determination of tin in copper-based alloys after hydride generation". *Fresenius J. Anal. Chem.*, **349**: 530, 1994.
22. BURNS, D. T.; CHIMPALEE, N. & HARRIOTT, M. "Applications of a slotted tube atom trap and flame atomic absorption spectrometry: determination of antimony in copper based alloys". *Fresenius J. Anal. Chem.*, **349**: 527, 1994.
23. Varian, Inc. Scientific Instruments. <http://www.varianinc.com/cgi-bin/nav?products/spectr/aa/accessories/act80&cid=IMPHOMLMFK>, acesso em 14/06/2005.
24. MOFFETT, J. "Sensitivity enhancement for flame atomic absorption spectrometry using an atom concentrator tube, the ACT-80". *Varian Instruments at Work*, **August**: AA-91, 1989.
25. BYE R. "Sensitivity enhancement for flame AAS using an atom concentrator tube for elements dissolved in organic solvents". *Varian Instruments at Work*, **March**: AA-116, 1995.
26. MATUZIEWICZ, H. "Atom trap and in situ preconcentration techniques for flame atomic absorption spectrometry". *Spectrochim. Acta Part B*, **52(12)**: 1711, 1997.
27. MATUZIEWICZ, 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(1)**: 35, 1991.
28. SUN, H.; YANG, L.; ZHANG, D. & SUN, J. "Direct determination of cadmium at parts-per-billion level in waters by derivative atomic absorption spectrometry using atom trapping technique". *Talanta*, **44**: 1979, 1997.
29. DA SILVA, E. L.; BUDZIAK, D. & CARAZEK, E. "Determination of trace metals in fuel alcohol by FAAS using Nb₂O₅-SiO₂ as sorbent material in a flow injection on-line preconcentration system". *Anal. Lett.*, **37(9)**: 1909, 2004.

30. BAKIRCIOGLU, Y.; BAKIRCIOGLU, D. & AKMAN, S. "Evaluation of syringe-connected minicolumn technique for preconcentration of some trace elements using chromosorb-103 and determination by flame atomic absorption spectrometry". *Anal. Lett.*, **37(9)**: 1937, 2004.
31. ALCANTARA, T. L.; ROLDAN, P. S.; CASTRO, G. R.; MORAES, F.V.; SILVA, F. A.; PADILHA, F. F. C.; OLIVEIRA, J. A & PADILHA, P. M. "Determination of cadmium in river water samples by flame AAS after on-line preconcentration in mini-column packed with 2-aminothiazole-modified silica gel". *Anal. Sci.*, **20(7)**: 1029, 2004.
32. GREENWAY, G. M.; NELMS, S. M.; SKHOSANA, I. & DOLMAN, S. J. L. "A comparison of preconcentration reagents for flow injection analysis flame atomic spectrometry". *Spectrochim Acta Part B*, **51**: 1909, 1996.
33. SILVA, M. M. *Separação e Pré-Concentração de Cádmio, Chumbo e Níquel Empregando Sistemas FIA e Espectrometria de Absorção Atômica com Filamento de Tungstênio*. São Carlos, Programa de Pós-Graduação em Química – USP, 1997. Tese de doutorado, 77 p.
34. BIURRUN-YEBRA, M. C.; BERMEJO-BARRERA, A.; BERMEJO-BARRERA, M. P. & BARCIELA-ALONSO, M. C. "Determination of trace-metals in natural-waters by flame atomic-absorption spectrometry following online ion-exchange preconcentration". *Anal. Chim. Acta*, **303(2-3)**: 341, 1995.
35. RAO, A. S.; GUPTA, K. K.; SIRCAR, J. K. & SRIVASTAVA, S. C. "A rapid flame atomic absorption spectroscopic procedure for determination of lead in aluminum base alloys". *Indian J. Chem. Tech.*, **11(4)**: 475, 2004.
36. SMITH, R. G. & WINDOM, H. L. "A solvent extraction technique for determining nanogram per liter concentrations of cadmium, copper, nickel and zinc in sea water". *Anal. Chim. Acta*, **113(1)**: 39, 1980.
37. LEMOS, V. A.; NUNES, L. S., BALIZA, P. X.; SANTOS, J. S.; YAMAKI, R. T. & DE JESUS, A. A. "On-line solid phase extraction system for cadmium preconcentration and determination by flame atomic absorption spectroscopy". *Canadian J. Anal. Sci. Spectrosc.*, **49(1)**: 24, 2004.
38. KIRK, M.; PERRY, E. G. & ARRITT, J. M., "The separation and atomic-absorption measurement of trace amounts of lead, silver, zinc, bismuth and cadmium in high-nickel alloys". *Anal. Chim. Acta*, **80(1)**: 163, 1975.
39. BERNDT, H. "High pressure nebulization: a new way of sample introduction for atomic spectroscopy". *Fresenius Z. Anal. Chem.*, **331**: 321, 1988.
40. BERNDT, H. & YAÑEZ, J. "High-temperature hydraulic high-pressure nebulization: A recent nebulization principle for sample introduction". *J. Anal. At. Spectrom.*, **11(9)**: 703, 1996.
41. LUO, S., K. & BERNDT, H. "Sample introduction in ICP spectrometry by hydraulic high-pressure nebulization". *Spectrochim. Acta Part B*, **49**: 485, 1994.

42. JAKUBOWSKI, J.; FELDMANN, I.; STUWER, D. & BERNDT, H. "Hydraulic high pressure nebulization-application of a new nebulization system for inductively plasma mass spectrometry". *Spectrochim. Acta Part B*, **47**: 119, 1992.
43. STEFÁNKA, Z.; ABRANKÓ, L.; DERNOVICS, M. & FODOR, P. "Characterization of a hydraulic high-pressure sample introduction assisted flow injection-inductively coupled plasma time-of-flight mass spectrometry system and its application to the analysis of biological samples". *Talanta*, **63**: 705, 2004.
44. NEIRA, J. & POVEDA, I. "Combinación de sistemas de flujo de baja y alta presión para la determinación de Mg, Ca y Sr en salmueras por espectrofotometría de absorción atómica con llama". *Quim. Nova*, **24**(2): 180, 2001.
45. SOGOR, C.; GÀSPÁR, 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, 1998.
46. GÀSPÁR, A. & POSTA, J. "On-line sorption preconcentration of Cr(VI) and its determination by flame atomic absorption spectrometry". *Anal. Chim. Acta*, **354**: 151, 1997.
47. POSTA, J.; GÀSPÁR, A.; TÓTH, R. & OMBÓDI, L. "Cr(III) and Cr(VI) on-line preconcentration and determination with high performance flow flame emission spectrometry in natural samples". *Fresenius J. Anal. Chem.*, **355**(5-6): 719, 1996.
48. BERNDT, H. & JACOB, P. "Online element determination in biological and environmental samples by flame AAS coupled with a high-temperature/high-pressure flow digestion system". *J. Anal. At. Spectrom.*, **17**: 1615, 2002.
49. 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, 2000.
50. GÀSPÁR, A. & BERNDT, H. "Beam-injection flame-furnace atomic-absorption spectrometry (BIFF-AAS) with low-pressure sample-jet generation". *Anal. Bioanal. Chem.*, **372**: 695, 2002.
51. RATKA, A. & BERNDT, H. "Beam-injection flame furnace AAS: comparison of different nozzle types for beam generation and application of sub-critical liquid carbon dioxide as carrier and gas pressure pump". *Anal. Bioanal. Chem.*, **378**: 416, 2004.
52. ALEIXO, P. C.; SANTOS Jr., D.; TOMAZELLI, A. C.; RUFINI I. A.; BERNDT, H. & KRUG, F. J. "Cadmium and lead determination in foods by beam injection flame furnace atomic absorption spectrometry after ultrasound-assisted sample preparation". *Anal. Chim. Acta*, **512**: 329, 2004.

53. FLORES, E. M. M.; COSTA, A. B.; BARIN, J. S.; DRESSLER, V. L.; PANIZ, J. N. G. & MARTINS, A. F. “Direct flame solid sampling for atomic absorption spectrometry: determination of copper in bovine liver”. *Spectrochim. Acta Part B*, **56**: 1875, 2001.
54. FLORES, E. M. M.; PANIZ, J. N. G.; MARTINS, A. F.; DRESSLER, V. L. MÜLLER, E. I. & COSTA, A. B.; “Cadmium determination in biological samples by direct solid sampling flame atomic absorption spectrometry”. *Spectrochim. Acta Part B*, **57**: 2187, 2002
55. FLORES, E. M. M.; PANIZ, J. N. G.; SAIDELLES, A. P. F.; BARIN, J. S.; DRESSLER, V. L. MÜLLER, E. I. & COSTA, A. B.; “Direct solid sampling by flame atomic absorption spectrometry: determination of manganese in coal samples”. *J. Braz. Chem. Soc.*, **15**(2): 199, 2004
56. GÁSPAR, 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**: 587, 2000.
57. GÁSPAR, A.; SZÉLES, E. & BERNDT, H. “Analysis of submicroliter samples using micro thermospray flame furnace atomic absorption spectrometry”. *Anal. Bionanal. Chem.*, **372**: 136, 2002.
58. PEREIRA-FILHO, E. R.; BERNDT, H. & ARRUDA, M. A. Z. “Simultaneous sample digestion and determination of Cd, Cu e Pb in biological samples using thermospray flame furnace atomic absorption spectrometry (TS-FF-AAS) with slurry sample introduction”. *J. Anal. At. Spectrom.*, **17**: 1308, 2002.
59. 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, 2004.
60. 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**: 515, 2004.
61. DAVIES, J. & BERNDT, H. “Improvements in thermospray flame furnace atomic absorption spectrometry”. *Anal. Chim. Acta*, **479**: 215, 2003.
62. DELVES, H. T. “A micro-sampling method for rapid determination of lead in blood by atomic-absorption spectrophotometry”. *Analyst*, **95**(1130): 431, 1970.
63. SCHALLIS, J. E. & KAHN, H. L. “Determination of tin in lubricating oils with a nitrous oxide-acetylene flame”. *At. Absorpt. Newsletter*, **7**: 84, 1968.
64. KAHN, H. L. & PETERSON, G. E. & MANNING, D. C. “Determination of iron and chromium in used lubricating oils”. *At. Absorpt. Newsletter*, **9**: 79, 1970.
65. ALVARADO, J. & JAFFE, R. “Tube in flame atomization: a way of enhancing detection limits in flame atomic absorption spectrometry”. *J. Anal. At. Spectrom.*, **13**(1): 37, 1998.

66. ALVARADO, J. & JAFFE, R. "Determination of lead by atomic absorption spectrometry using tube-in-flame atomization and solid sampling". *J. Anal. At. Spectrom.*, **13(11)**: 1297, 1998.
67. GREENFIELD, S.; SMITH, P. B.; BREEZE, A. E. & CHILTON, N. M. D. "Atomic absorption with an electrodeless high-frequency plasma torch". *Anal. Chim. Acta*, **41(2)**: 385, 1968.
68. VEILLON, C. & MARGOSHES, M. "An evaluation of induction-coupled radio-frequency plasma torch for atomic emission and atomic absorption spectrometry". *Spectrochim. Acta Part B*, **23(8)**: 503, 1968.
69. GOUY, C. L. *Ann. Chim. Phys.*, 18: 5, 1879 citado em VARMA, A. *CRC Handbook of Inductively Coupled Plasma Atomic Emission Spectroscopy*. Weinheim, CRC PRESS, 1991.
70. HEINEMANN, W. "Optimizing of measuring conditions for atomic-absorption spectroscopy demonstrated by determination of noble-metals". *Fresenius Z. Anal. Chem.*, **279(5)**: 351, 1976.
71. BROWNER, R. F.; BOORN, A. W. & SMITH, D. D. "Aerosol transport model for atomic spectrometry". *Anal. Chem.*, **54**: 1411, 1982.
72. VEILLON, C. & MARGOSHES, M. "A pneumatic solution nebulization system producing dry aerosol for spectroscopy". *Spectrochim. Acta Part B*, **23(8)**: 553, 1968.
73. CHRISTIAN, G. D. & FELDMAN, F. J. *Atomic Absorption Spectrochemical Analysis*. New York, John Wiley & Sons, 1970.
74. FUWA, K. & VALLEE, B. L. "The physicals basis of analytical atomic absorption spectrometry. The pertinence of the Beer-Lambert law". *Anal. Chem.*, **35**: 942, 1963.
75. ZELYUKOVA, Y. V. & POLUEKTOV, N. S. "Atomic-absorption analyses by means of exhaust gases of the flame". *Zh. Anal. Khim.*, **18**: 435, 1963.
76. AGASSI, E. J. "Determination of tin in hydrogen peroxide solutions by atomic absorption spectrometry". *Anal. Chem.*, **37**: 364, 1965.
77. HINGLE, D. N.; KIRKBRIGHT, G. F. & WEST, T. S. "Spectroscopy in separated flames. 2. Use of separated air-acetylene flame in long path atomic absorption spectroscopy". *Talanta*, **15(2)**: 199, 1968.
78. RUBESKA, I. "The determination of trace elements in sulphide minerals by atomic absorption spectrophotometry with absorption tubes". *Anal. Chim. Acta*, **40**: 187, 1968.
79. CAL-PIETRO, M. J.; FELIPE-SOTELO, M.; CARLOSENA, A.; ANDRADE, J. M.; LOPES-MAHIA, P.; MUNIATEGUI, S. & PRADA, D. "Slurry sampling for direct analysis of solid materials by electrothermal atomic absorption spectrometry (ETAAS). A literature review from 1990 to 2000". *Talanta*, **56**: 1, 2002.

80. SANTOS JR., D.; BARBOSA JR., F.; SOUZA, S. S. & KRUG, F. J. "Cryogenic sample grinding for copper, lead and manganese determination in human teeth by slurry sampling GFAAS". *J. Anal. At. Spectrom.*, **18**: 939, 2003.
81. SEGADE, S. R. & TYSON, J. F. "Evaluation of two flow injection systems for mercury speciation analysis in fish tissues samples by slurry sampling cold vapor atomic absorption spectrometry". *J. Anal. At. Spectrom.*, **18**: 268, 2003.
82. Senate Department of Urban Development. *Heavy Metals in Plants and Soil* Berlin Digital Environmental Atlas, 1992 http://www.stadtentwicklung.berlin.de/umwelt/umweltatlas/edinh_01.htm acesso em 14/06/2004.
83. Organização Mundial de Saúde de Genebra. *Elementos Traço na Nutrição e Saúde Humanas*. 1ª. Edição, Editora Roca Ltda, 1998.
84. Codex Alimentarius. Codex Stan 230 vol. 1A, 2001. <http://www.codexalimentarius.net> *Lead: Maximum Levels*. Acesso em 14/06/2005.
85. MAHER, J. P. "Aluminum, gallium, indium and thallium" *Annu. Rep. Prog. Chem. Sect. A*, **96**: 45, 2000
86. SCHAUB, G. *Environmental Health Criteria 182 Thallium*. 1ª. Edition, World Health Organization, Geneva, 1996.
87. LANTZSCH, H. J. & SCHENKEL H. "Effect of specific nutrient toxicities in animals and man". IN: *Zinc in Handbook Series in Nutrition and Food*. Section E, vol. 1, Boca Raton FL, CRC Press, 1978, p. 291-307.
88. FELLIPE C. & NUNES, J. C. "Lixo tóxico: perigo perto de casa". *J. Correio Brasiliense*, 10 de agosto, 2002.
89. TOMAZELLI, A. C.; MARTINELLI, L. A.; AVELAR, W. E. P.; CAMARGO, P. B.; FOSTIER, A.; FERRAZ, E. S. B.; KRUG, F. J. & SANTOS Jr., D. "Biomonitoring of Pb and Cd in two impacted watersheds in southeast Brazil, using the freshwater mussel *Anodontites trapesialis* (Lamarck, 1819) (bivalvia: mycetopodidae) as a biological monitor". *Braz.. Arch. Biology and Technology*, **46**(4): 673, 2003.
90. CHAKRABARTI C. L.; SHAOLE WU; KARWOWSKA, R.; ROGERS, J. T.; HALEY, L.; BERTELS, P. C. & DICK, R "Temperature of platform, furnace wall and vapour in a pulse-heated electrothermal graphite furnace in atomic absorption spectrometry" *Spectrochim. Acta Part B*, **39**(2-3): 415, 1984.
91. SANTOS Jr. *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.
92. CARRILHO, E. N. V. M.; GONZALEZ, M. H.; NOGUEIRA, A. R. A. & CRUZ, G. M. "Microwave-assisted acid decomposition of animal- and plant-derived samples for element analysis". *J. Agric. Food Chem.*, **50**: 4164, 2002.

93. GOUVEIA, S. T.; LOPES, G. S.; FATIBELLO-FILHO, O.; NOGUEIRA, A. R. A. & NÓBREGA, J. A. “Homogenization of breakfast cereals using cryogenic grinding”. *J. Food Eng.* **51**(1): 59, 2002
94. ARAÚJO, G. C. L.; GONZALES, M. H.; FERREIRA, A. G.; NOGUEIRA, J. A. “Effect of acid concentration on closed-vessel microwave-assisted digestion of plant materials”. *Spectrochem. Acta Part B*, **57**(12): 2121, 2002.
95. SANTOS Jr, D.; BARBOSA JR, F.; TOMAZELLI, A. C.; KRUG, F. J.; NÓBREGA, J. A. & ARRUDA, M. A. Z. “Determination of cadmium and lead in food slurries by graphite furnace atomic absorption spectrometry using criogenic griding for sample preparation”. *Anal. Bioanal. Chem.*, **373**: 183, 2002.
96. MASSON, T. J. & LORIMER, J. P. *Applied Sonochemistry*. Weinheim, Wiley-VCH, 2002, p. 148.
97. NASCENTES, C. C.; KORN, M.; SOUZA, C. S. & ARRUDA, M. A. Z. “Use of ultrasonic baths for analytical applications: A new approach for optimization conditions”. *J. Braz.. Chem. Soc.*, **12**(1): 57, 2001.
98. Perkin Elmer. *Analytical Methods for Atomic Absorption Spectrophotometry*. Norwalk, Perkin Elmer, 1982
99. LIMA, E. C.; KRUG, F. J. & JACKSON, K. W. “Evaluation of tungsten-rhodium coating on an integrated platform as a permanent chemical modifier for cadmium, lead and selenium determination by electrothermal atomic absorption spectrometry”. *Spectrochim. Acta Part B*, **53**(13): 1791, 1998.
100. Unifrax. www.unifrax.com.br/principal/fichas_tecnicas/pdf/Mantas/br_-_Mantas_-_Manta_Durablanket.pdf acesso em 20/06/2005
101. ALKEMADE, C. T. J.; LOLLANDER, T.; SNELLEMAN, W. & ZEEGERS, P. J. T. *Metal Vapours in Flames*, London, Pergamon Press, 1982.
102. SANTOS Jr., D. *Avaliação da extração ultra-sônica para determinação de elementos em materiais de interesse agrônômico e ambiental por espectrometria de emissão óptica com plasma indutivamente acoplado e espectrometria de absorção atômica com forno de grafite*. Piracicaba, Centro de Energia Nuclear na Agricultura – USP, 2005. Tese de doutorado, 121 p.
103. VILLAFRANCA, A. C. *Desenvolvimento de métodos analíticos empregando a técnica de 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, Universidade Estadual Paulista Júlio de Mesquita Filho, 2004. Tese de doutorado.