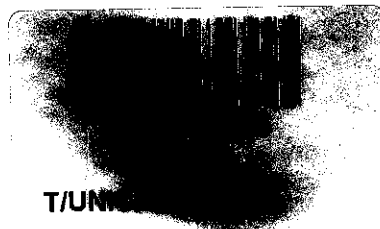




Universidade Estadual de Campinas

Instituto de Química



**EMPREGO DA AMOSTRAGEM DE SUSPENSÃO NA
DETERMINAÇÃO DE METAIS EM AMOSTRAS
ANTÁRTICAS E DE SEDIMENTO DE RIO POR
ESPECTROMETRIA DE ABSORÇÃO ATÔMICA COM
CHAMA**

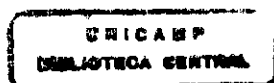
Flávia de Lima Alves

Tese de Doutorado

**Orientador: Prof. Dr. Marco Aurélio Zezzi Arruda
Co-Orientador: Prof. Dr. Wilson de Figueiredo Jardim**

Campinas

Abril de 2001



Agradecimentos

☆ Ao meu orientador Prof. Dr. Marco Aurélio Zezzi Arruda e co-orientador Prof. Dr. Wilson de Figueiredo Jardim meus agradecimentos pela orientação.

☆ À todas as pessoas que trabalham na CPG (Bel, André e Celi), sempre prestativas.

☆ Ao CNPq e a FAPESP, pelos auxílios financeiros concedidos, que sem os quais, esta tese não se realizaria.

☆ Aos meus companheiros de laboratório (Luciana, Madson, Araceli, Edenir, Clésia, Geraldo, Carlos, Aline, Alex, Liliam e Patrícia) pelos bons momentos no cafezinho.

☆ Aos meus amigos Alex, Aline, Aloísia, Helena, Madson e Araceli pelo constante apoio e amizade.

☆ Ao Prof. Dr. João Carlos de Andrade, Prof. Dr. Nivaldo Baccan e Prof^a. Dra. Heloíse de Oliveira Pastore (Lolly) pelas valiosas conversas ao longo destes quatro anos.

☆ Um agradecimento muito especial a Prof^a. Dra. Solange Cadore, pela grande amizade, apoio e compreensão incondicionais nos momentos mais difíceis.

- ☆ À todos os funcionários da BIQ (Biblioteca do Instituto de Química), da BC-BAE (Biblioteca Central - Engenharia), das oficinas e da vidraria, especialmente, o Sr. Fontana.
- ☆ À Joyce e ao Divino, por todo apoio e ajuda oferecidos nos momentos em que realizei atividades didáticas no laboratório de ensino.
- ☆ À grande amiga Carminha pelas agradáveis conversas e, principalmente, bons conselhos.
- ☆ Ao Ernesto pela paciência, compreensão, apoio e carinho nos momentos de "stress" e irritação.
- ☆ À D. Paula do Xerox do IQ - UNICAMP.
- ☆ Ao Instituto de Geociências da UNICAMP, pela realização da análise de fluorescência de raios-X.
- ☆ As técnicas Raquel, Helena e Luciane, do IQ - UNICAMP, pela realização das análises de difração de raios-X, determinação do Ni no ICP OES e análise elementar, respectivamente.
- ☆ À Patricia Smichowski por nos ter cedido as amostras de krill e de lapa.
- ☆ À todas as pessoas que, de alguma forma, contribuíram para o bom desenvolvimento desta Tese.

Resumo

“Emprego da Amostragem de Suspensão na Determinação de Metais em Amostras Antárticas e de Sedimento de Rio por Espectrometria de Absorção Atômica com Chama”

Autora: Flávia de Lima Alves

Orientador: Prof. Dr. Marco Aurélio Zezzi Arruda

Co-orientador: Prof. Dr. Wilson de Figueiredo Jardim

Os métodos propostos neste trabalho, utilizam a amostragem de suspensão aliada à espectrometria de absorção atômica com chama, na determinação de metais em diferentes matrizes ambientais. Para o desenvolvimento destes métodos, foram estudadas as melhores condições experimentais para a determinação de Cu, Pb, Zn e Ni em amostras de sedimento de rio; Cu, Zn, Fe e Mn em amostras de krill antártico (*Euphausia superba*) e Cu e Zn em lapa antártica (*Nacella concinna*). As principais condições experimentais estudadas foram o tamanho de partícula (38 - 150 μm), a acidez do meio de suspensão (0 – 6 mol L^{-1} em HNO_3 ou HCl), a concentração de cloreto de amônio (2 – 10% m/v) e possíveis interferentes. Para a determinação de Cu, Pb e Zn em sedimento de rio, as melhores condições experimentais foram a utilização de cloreto de amônio 2% (m/v) em HNO_3 6 mol L^{-1} como meio de suspensão, e um diâmetro de partícula entre 63 e 75 μm . Já para o Ni utilizou-se como meio de suspensão cloreto de amônio 2% (m/v) em HCl 2 mol L^{-1} e um diâmetro de partícula entre 53 e 63 μm . Na determinação de Cu, Zn e Fe em krill antártico, utilizou-se HNO_3 2 mol L^{-1} como meio de suspensão e para Mn,

HNO_3 4 mol L^{-1} . Na determinação de Cu e Zn em lapa antártica, utilizou-se HNO_3 1 mol L^{-1} como meio de suspensão e um diâmetro de partícula entre 65 e 75 μm . A exatidão dos métodos propostos (Erro < 7%), foi avaliada por outro procedimento de preparo de amostra, a decomposição assistida por microondas e utilizando materiais certificados de referência.

Abstract

“ Employment of Slurry Sampling for Metals Determination in Antarctic and River Sediment Samples by Flame Atomic Absorption Spectrometry ”

The method proposed in this work employs the slurry sampling combined to flame atomic absorption spectrometry for metal determination in environmental samples. For the development of these methods, the best experimental conditions were studied for the determination of Cu, Pb, Zn and Ni in river sediment samples; Cu, Zn, Fe and Mn in the antarctic krill samples (*Euphausia superba*) and Cu and Zn in the antarctic lapa samples (*Nacella concinna*). The main experimental parameters investigated were: the particle size (38-150 μm), the acidity of the suspension medium (0-6 mol L^{-1} HNO_3 or HCl), releasing agent concentration [2-10% (w/v) NH_4Cl] and possible concomitant effects. For Cu, Pb and Zn determinations in river sediment, the best experimental conditions were the use of 2% (w/v) NH_4Cl in 6 mol L^{-1} HNO_3 as suspension medium, and a particle size between 63 - 75 μm . For Ni determination, the slurry was prepared in 2% (w/v) NH_4Cl plus 2 mol L^{-1} HCl , and a particle size between 53 - 63 μm . Determinations of the Cu, Zn and Fe in antarctic krill were made from the slurries containing 2 mol L^{-1} HNO_3 and for Mn in 4 mol L^{-1} HNO_3 . For Cu and Zn determinations in the antarctic lapa, a 1 mol L^{-1} HNO_3 suspension medium was used and a particle size between 63 – 75 μm . The accuracy of the proposed methods (Error < 7%), was checked employing certified reference

materials, as well as, with other procedure for sample preparation (microwave assisted decomposition).

Curriculum Vitae

1. Principais etapas da carreira

Doutorado

Instituto de Química

Universidade Estadual de Campinas – Campinas – SP

Área: Química Analítica

Título da Tese: Emprego da Amostragem de Suspensão na Determinação de Metais em Amostras Antárticas e de Sedimento de Rio por Espectrometria de Absorção Atômica com Chama.

Bolsa de Doutorado do CNPq (Março/1997 à Fev/ 2001)

Participação no programa de estágio docência (PED)

Instituto de Química – UNICAMP

Área: Química Analítica

Bolsa do PED (1º e 2º Sem/2000)

Mestrado

Instituto Químico de Sarriá – Barcelona – Espanha

Área: Química Analítica

Título da Tese: Lixiviación de materiales monolíticos: influencia de la interrupción del proceso.

Período: Set/1994 à Março/1996

Professora de Química no 2º Grau

Sociedade Educacional Tristão de Athaide (ANGLO) – Bauru, Botucatu e Marília - SP

Período: Agosto/1988 à Agosto/1994

Estágio remunerado

Analista de Laboratório Bromatológico

Gessy lever / Divisão Alimentícia – Bauru – SP

Período: (Nov/1987 à Maio/1988)

2. Trabalhos

2.1. Publicado

- Direct Analysis of Antarctic Krill by Slurry Sampling: Determination of Copper, Iron, Manganese and Zinc by Atomic Absorption Spectrometry. *J. Braz. Chem. Soc.*, 11 (2000) 365.

2.2. Aceitos

- Emprego da Amostragem de Suspensão na Determinação de Cu e Zn em Lapa Antártica e Ni em Sedimento de Rio por Espectrometria de Absorção Atômica com Chama. (Aceito para publicação em-Quím. Nova)

- Direct River Sediment Analysis by FAAS: Determination of Copper, Zinc and Lead. (Aceito para publicação em J. Braz. Chem. Soc.)

3. Participação em eventos científicos

1. XI Chemrawn Meeting on Environmental Chemistry Latin American Symposium on Environmental Analytical Chemistry, de 15 a 20/03/1998 em Montevideo – Uruguay

Apresentação Oral: “ Use of the Slurry Sampling Technique for determination of Copper, Zinc and Lead in River Sediment”.

2. Mini – Curso

“Environmental Geochemical Process in Atmosphere, Pedosphere and Hydrosphere” – ministrado pelo Prof. Dr. Jorg Matschullat (Alemanha) no período de 30/03 – 03/04/1998 no Instituto de Geociências – UNICAMP. O curso teve duração de 30 horas.

3. FIFTH Rio Symposium on Atomic Spectrometry, de 04 a 10/10/1998 em Cancun – México

Apresentação de Poster: “ Sediment Analysis By Flame Atomic Absorption Spectrometry Employing Slurry Sampling Technique”.

4. 10º Encontro Nacional de Química Analítica (ENQA), de 31/08 a 03/09/1999 em Santa Maria – RS

Apresentação de Poster: “Determinação de Cu, Fe, Mn e Zn em Amostras de Krill Antártico Através da Amostragem de Suspensão”.

5. VIII Congreso Latinoamericano sobre Ciencias del Mar, de 17 a 21/10/1999 em Trujillo – Peru.

Apresentação de Poster: “Determinación de Metales Esenciales Y Tóxicos En La Lapa Antártica *Nacella concinna*”.

6. Workshop Sobre Espectrometria Atômica, em 07/06/2000 na Pontificia Universidade Católica do Rio de Janeiro.

7. 4TH European Furnace Symposium and XVTH Slovak Spectroscopic Conference, de 12 – 16/06/2000, na Slovakia.

Apresentação de Poster: “Determination of As in beverages by Hydrate Generation – Atomic – Absorption – Flow System”.

8. Sixth Rio Symposium on Atomic Spectrometry, de 03 a 06/12/2000, em Concepción – Chile.

Apresentação de Poster: “Antarctic Limpet (*Nacella concinna*) and River Sediment Analysis by FAAS Employing Slurry Sampling Technique”.

Sumário

Lista de Figuras.....	p. xxix
Lista de Tabelas.....	p. xxxiii
Lista de Quadros.....	p. xxxvii
Lista de Abreviaturas.....	p. xxxix
I. Introdução.....	p. 1
II. Objetivos.....	p. 3
III. Revisão Bibliográfica	p. 4
1.0. Amostragem de Suspensão - Características Gerais.....	p. 4
1.1. Fatores que influenciam o preparo das suspensões.....	p. 6
1.1.1. Preparo e homogeneização das suspensões.....	p. 6
1.1.2. Influência do tamanho de partícula.....	p. 10
1.1.3. Influência da concentração da suspensão.....	p. 12
1.1.4. Massa representativa - Exatidão.....	p. 13
2.0. Sedimento.....	p. 15
2.1. Composição dos sedimentos.....	p. 17
2.2. Metais no sedimento.....	p. 18
2.3. Preparo das suspensões de solos e sedimentos visando a determinação de metais por diferentes técnicas analíticas.....	p. 21
3.0. Amostras Antárticas.....	p. 35
3.1. Krill (<i>Euphausia superba</i>).....	p. 35

3.2. Lapa (<i>Nacella concinna</i>).....	p. 37
3.3. Metais em invertebrados.....	p. 38
3.4. Preparo das suspensões de organismos marinhos visando a determinação de metais por diferentes técnicas analíticas.....	p. 40
IV. Experimental.....	p. 47
1.0. Equipamentos.....	p. 47
2.0. Reagentes e Soluções.....	p. 49
3.0 Metodologia.....	p. 50
3.1. Sedimento de rio.....	p. 50
3.1.1. Coleta do sedimento.....	p. 50
3.1.2. Preparo do sedimento após coleta.....	p. 50
3.1.3. Material Certificado de Referência.....	p. 51
3.1.4. Preparo das suspensões.....	p. 51
3.1.5. Preparo da fração líquida da suspensão.....	p. 52
3.1.6. Decomposição em forno de microondas.....	p. 53
3.1.7. Difração de raios-X.....	p. 54
3.1.8. Fluorescência de raios-X.....	p. 54
3.1.9. Análise elementar.....	p. 55
3.1.10 Teste de seletividade.....	p. 55
3.2. Krill (<i>Euphausia superba</i>).....	p. 56
3.2.1. Coleta da amostra.....	p. 56
3.2.2. Preparo da amostra após coleta.....	p. 56

3.2.3. Preparo das suspensões	p. 57
3.2.4. Decomposição em forno de microondas.....	p. 58
3.3. Lapa (<i>Nacella concinna</i>).....	p. 59
3.3.1. Coleta e preparo da amostra.....	p. 59
3.3.2. Material Certificado de Referência.....	p. 59
3.3.3. Preparo das suspensões.....	p. 59
3.3.4. Decomposição em forno de microondas.....	p. 60
3.3.5. Teste de seletividade.....	p. 60
V. Resultados e Discussão.....	p. 62
1.0 Amostragem de suspensão.....	p. 62
1.1. Estabilidade da suspensão.....	p. 62
1.2. Concentração dos ácidos usados no preparo das suspensões.....	p. 66
1.3. Seletividade.....	p. 71
2.0. Decomposição das amostras de sedimento de rio em forno de microondas.....	p.73
3.0. Caracterização das amostras de sedimento de rio: análise elementar, XRD, XRF.....	p. 75
4.0. Características Analíticas.....	p. 79
5.0. Comparação dos Resultados.....	p. 81
6.0. Perfil de Profundidade (Testemunho).....	p. 83

VI. Conclusão.....	p. 85
VII. Referências Bibliográficas.....	p. 87

Lista de Figuras

- Figura 1.** Foto do krill em seu habitat natural.....p. 36
- Figura 2.** Foto de lapas fixadas à rocha.....p. 38
- Figura 3.** Influência do diâmetro de partícula na concentração de Cu, Pb e Zn para as amostras de sedimento de rio..... 63
- Figura 4.** Influência do diâmetro de partícula na concentração de Ni para as amostras de sedimento de rio.....p. 64
- Figura 5.** Microscopia eletrônica de varredura da amostra de krill.....p. 65
- Figura 6.** Influência da acidez para o preparo das suspensões de sedimento de rio na determinação de Cu, Pb e Zn.....p. 67
- Figura 7.** Influência da acidez para o preparo das suspensões de sedimento de rio na determinação de Ni.....p. 68
- Figura 8.** Influência da acidez para o preparo das suspensões de krill na determinação de Cu, Zn, Fe e Mn.....p. 69
- Figura 9.** Influência da acidez para o preparo das suspensões de lapa na determinação de Cu e Zn.....p. 70
- Figura 10.** Difratoograma de raios-X da amostra do sedimento do rio Atibaia.....p. 76
- Figura 11.** Difratoograma de raios-X da amostra do sedimento do rio Tietê.....p. 77

Figura 12. Difratoograma de raios-X da amostra do sedimento do rio Branco.....	p. 77
Figura 13. Difratoograma de raios-X do sedimento certificado (Estuarine Sediment).....	p. 78
Figura 14. Determinação das concentrações de Cu, Pb, Zn e Ni no Testemunho do rio Atibaia.....	p. 84

Lista de Tabelas

- Tabela 1.** Condições experimentais do FAAS, usadas na determinação de Cu, Pb, Zn e Ni.....p. 52
- Tabela 2.** Programa do forno de microondas para a mineralização das amostras de sedimento de rio. $T_{lim} = 190^{\circ}C$ e $P_{lim} = 2,41$ MPa (350 psi).....p. 53
- Tabela 3.** Condições experimentais do ICP OES para a determinação de Ni nas amostras de sedimento de rio mineralizadas.....p. 54
- Tabela 4.** Condições experimentais do FAAS para a determinação de Cu, Fe, Zn e Mn nas amostras de krill em suspensão.....p. 57
- Tabela 5.** Programa do forno de microondas para a mineralização das amostras de krill.....p. 58
- Tabela 6.** Condições experimentais do ICP OES, para a determinação de Cu, Zn, Fe e Mn nas amostras de krill.....p. 58
- Tabela 7.** Programa do forno de microondas utilizado para a decomposição das amostras de lapa. $T_{lim} = 190^{\circ}C$ e $P_{lim} = 1,24$ MPa 180 psi).....p. 60
- Tabela 8.** Resultados da fluorescência de raios-X realizada para as amostras dos sedimentos dos rios Atibaia, Tietê e Branco, e o sedimento certificado em % de óxido.....p. 79

Tabela 9. Características analíticas na determinação de Cu, Pb, Zn e Ni em sedimento de rio, utilizando a técnica de amostragem de suspensão.....	p. 80
Tabela 10. Características analíticas na determinação de Cu, Zn, Fe e Mn em krill antártico, utilizando a técnica de amostragem de suspensão.....	p. 80
Tabela 11. Características analíticas na determinação de Cu e Zn em lapa antártica, utilizando a técnica de amostragem de suspensão.....	p. 80
Tabela 12. Comparação dos resultados obtidos na determinação de Cu, Pb, Zn e Ni (mg kg^{-1}) no material certificado Estuarine Sediment, em suspensão e mineralizado (n=5).....	p. 81
Tabela 13. Comparação dos resultados obtidos (mg kg^{-1}) nas amostras dos rios Atibaia, Tietê e Branco em suspensão e mineralizadas (n=5).....	p. 82
Tabela 14. Determinação de Cu, Zn, Fe e Mn (mg kg^{-1}) em krill antártico. Comparação dos dados obtidos em suspensão por FAAS (n=5) e mineralizadas por FAAS e ICP OES.....	p. 82
Tabela 15. Resultados obtidos na suspensão do material certificado Oyster Tissue, na determinação de Cu e Zn (n=5).....	p. 83
Tabela 16. Determinação de Cu e Zn (mg kg^{-1}) em lapa antártica. Comparação dos dados obtidos de amostras em suspensão e mineralizadas por FAAS.....	p. 83

Lista de Quadros

- Quadro 1.** Faixa de concentração dos concomitantes estudados no teste de seletividade, para as amostras de sedimento de rio.....p. 56
- Quadro 2.** Concentração dos concomitantes estudados no teste de seletividade para o Cu.....p. 61
- Quadro 3.** Concentração dos concomitantes estudados no teste de seletividade para o Zn.....p. 61

Lista de Abreviaturas

FAAS - Flame Atomic Absorption Spectrometry (espectrometria de absorção atômica com chama)

ICP OES - Inductively Coupled Plasma Optical Emission Spectrometry (espectrometria de emissão óptica com fonte de plasma indutivamente acoplado)

HGAAS - Hydride Generation Atomic Absorption Spectrometry (espectrometria de absorção atômica com geração de hidreto)

GFAAS - Grafite Furnace Atomic Absorption Spectrometry (espectrometria de absorção atômica com forno de grafite)

ETV-ICP-MS - Eletrothermal Vaporization Inductively Coupled Plasma Mass Spectrometry (vaporização eletrotérmica acoplada à espectrometria de massa com fonte de plasma indutivamente acoplado)

XRF - X-Ray Fluorescence (espectrometria de fluorescência de raios-X)

XRD - X-Ray Diffraction (difractometria de raios-X)

I. INTRODUÇÃO

A melhora na qualidade do meio ambiente é um dos maiores objetivos da atualidade, porque o crescimento tecnológico e industrial gera um volume considerável de resíduos^[1,2].

Substâncias tóxicas que são continuamente geradas pelo homem afetam a qualidade do ar, da água e do solo, causando um efeito devastador sobre as estruturas dos ecossistemas, efeito este denominado Impacto Ambiental^[3].

A poluição das águas implica em modificações físicas ou químicas que podem causar efeitos adversos em todos os seres vivos ^[4]. Algumas substâncias inorgânicas podem poluir as águas e os sedimentos aquáticos, dentre as quais destacam-se alguns sais, ácidos e metais, que podem derivar das mais variadas fontes, principalmente de dejetos industriais, que possuem, na maioria das vezes, concentrações muito elevadas de metais^[4].

Praticamente todos os metais são tóxicos em altas concentrações, mas o chumbo, mercúrio, cádmio e arsênio assumem o papel dos maiores “vilões”, porque além de causarem sérios danos, muitas vezes irreversíveis ao sistema nervoso central nos seres humanos, podem causar, também, a morte de organismos aquáticos^[4,5].

As descargas freqüentes de resíduos industriais em águas fluviais desencadeiam grandes impactos nos sistemas aquáticos. Este incremento dos níveis residuais na água, sedimento e biota, aumentam a exposição de substâncias perigosas (por exemplo, metais pesados) para os animais, plantas e seres humanos^[6].

Em função deste quadro, estudos analíticos mais aprofundados dos poluentes, que ameaçam todas as comunidades de seres vivos, são essenciais para proporcionar informação fidedigna no beneficiamento e recuperação da qualidade do meio aquático e da saúde pública^[5]. Neste caso, torna-se necessário um monitoramento ambiental que seja rápido e efetivo e, para tanto, faz-se necessário a implementação de novas técnicas e processos analíticos que tenham como objetivo a simplificação das análises, diminuição de custos, rapidez, redução da participação humana e minimização da manipulação das amostras.

Através deste breve exposto, pode-se concluir que é de vital importância uma correta administração do meio ambiente em todos os diferentes ecossistemas, tais como, água, solo e biota. Desta maneira, surgiu o principal objetivo deste trabalho, que foi desenvolver métodos que pudessem ser utilizados como uma ferramenta analítica, visando o emprego de recursos simples para o fornecimento de subsídios básicos de gestão ambiental.

II. OBJETIVOS

- Desenvolver métodos rápidos e simples para a determinação de metais em amostras de sedimento de rio e material biológico (krill e lapa antártica), utilizando a amostragem de suspensão aliada a espectrometria de absorção atômica com chama.
- Demonstrar a potencialidade dos métodos desenvolvidos para serem aplicados como uma ferramenta no monitoramento da contaminação ambiental e, também, para estudos de uso e reconstituição histórica de uma bacia, utilizando perfis de profundidade de sedimentos.
- Demonstrar a aplicabilidade do uso da amostragem de suspensão em processos de certificação de materiais.

III. REVISÃO BIBLIOGRÁFICA

1. Amostragem de Suspensão – Características Gerais

A maioria das análises realizadas através das técnicas de emissão e/ou absorção atômica requerem a dissolução total das amostras. Desta maneira, a decomposição das mesmas torna-se necessária antes da realização da determinação do analito, o que faz aumentar o tempo total de análise e o risco de contaminação, devido ao grande número de etapas requerido para estes procedimentos. Por estas razões, têm sido desenvolvidos vários métodos com o intuito de introduzir amostras sólidas diretamente nos equipamentos de emissão e/ou absorção atômica^[7,8].

A espectrometria de absorção atômica com atomização eletrotérmica ou ablação com laser, têm sido empregadas para quantificar elementos minoritários em materiais sólidos. Não obstante, na amostragem direta de sólidos, encontram-se problemas associados às pequenas massas a serem pesadas e a dificuldade em se aplicar métodos de calibração, em virtude da falta de padrões sólidos disponíveis comercialmente^[8]. Objetivando solucionar os problemas relacionados acima, a introdução de amostra na forma de uma suspensão é um procedimento alternativo que têm sido usado para se quantificar diversos elementos em diferentes matrizes^[9-15].

A amostragem de suspensão surgiu em 1974, proposta por Brady *et al.*^[16,17], e possui a característica de combinar as vantagens da amostragem sólida e líquida^[18]. As principais vantagens deste procedimento incluem a simplificação das etapas requeridas no tratamento da amostra, minimizando a contaminação das mesmas e as perdas de

analitos voláteis, além de diminuir custos e o consumo de reagentes. Ainda, a amostragem de suspensão permite que padrões aquosos^[19] e/ou métodos de adição de analito^[20,21] sejam usados para a construção da curva analítica.

O tamanho de partícula e a falta de homogeneidade da amostra podem afetar a precisão e a exatidão das análises, sendo que o tamanho de partícula é um dos fatores mais críticos no preparo das suspensões^[22-24].

Dos trabalhos realizados nas décadas de 80 e 90, envolvendo o uso da amostragem de suspensão aliada a espectrometria atômica, grande parte foi desenvolvida em equipamentos com atomização eletrotérmica, especificamente com forno de grafite (GFAAS).

Existem poucos trabalhos na literatura, que associam a amostragem de suspensão com a técnica de espectrometria de absorção atômica com chama, principalmente quando se trata de matrizes como sedimento de rio e material biológico (organismos marinhos). O primeiro trabalho em que a amostragem de suspensão e espectrometria de absorção atômica com chama foram associadas foi desenvolvido por Willis, no qual metais como Co, Ni, Zn, Mn e Pb foram determinados em amostras geológicas^[25].

Diversos pesquisadores relataram alguns problemas que podem ocorrer na chama quando se alia a amostragem de suspensão à esta técnica, cuja principal dificuldade está relacionada ao transporte das partículas em suspensão através do nebulizador^[26-29]. Com o objetivo de resolver o problema do transporte das partículas sólidas, alguns pesquisadores propuseram o uso de nebulizadores especiais, cujo desenho foi baseado no nebulizador primeiramente desenvolvido por Babington^[30-33].

1.1. Fatores que influenciam o preparo das suspensões

Quando se prepara uma suspensão é necessário considerar alguns fatores que podem influenciar na obtenção de melhores resultados como, por exemplo, o tamanho de partícula, a concentração e homogeneização.

1.1.1. Preparo e homogeneização das suspensões

O preparo das suspensões consiste da adição de um diluente a um material sólido que tenha sido previamente triturado e, quando necessário, peneirado. Este material é pesado e colocado em frasco adequado, ao qual adiciona-se o diluente formando uma suspensão que deverá permanecer estável durante o tempo necessário para a realização da análise. A quantidade de material sólido a ser pesada é dependente da concentração do analito que se deseja determinar e da diluição final da suspensão^[23].

No preparo das suspensões, a massa sólida deve estar igualmente distribuída no volume de líquido. Para tanto, diferentes características/procedimentos devem ser considerados tanto para homogeneizar, quanto para manter uma suspensão estável, os quais serão discutidos a seguir:

a) Velocidade de sedimentação

A sedimentação de um material suspenso ocorre depois da mistura da suspensão, sendo que a velocidade de sedimentação depende da densidade do diluente e do material sólido, da viscosidade do meio diluente e do raio das partículas sólidas^[23,34].

A taxa de sedimentação pode ser calculada através da Lei de Stokes (Eq. 1), assumindo-se que as partículas sólidas são totalmente rígidas e esféricas com um raio r_p , que possuem uma força friccional F agindo sobre elas^[22].

$$F = 6 \pi \eta r_p dx/dt \quad (1)$$

onde:

η = viscosidade do meio diluente

dx/dt = velocidade de deposição das partículas

Levando-se em consideração a rigidez das partículas (este modelo não se aplica a partículas não rígidas), o volume exato de cada partícula pode ser substituído na equação 1, onde o termo F desaparecerá, como pode ser visto na equação 2, em virtude de que a força exercida pela partícula é determinada pela força gravitacional (g) e o efeito de flotação, que refletem a diferença entre a densidade do meio (ρ_m) e a densidade das partículas (ρ_p). Portanto, o termo F da equação 1 pode ser substituído da seguinte maneira:

$$(\rho_p - \rho_m) P_v g = 6 \pi \eta r_p dx/dt \quad (2)$$

onde:

P_v = volume da partícula

Assumindo-se que a partícula é rígida e esférica, o volume das mesmas pode ser expresso em termos de raio da partícula, mostrado na equação 3:

$$\frac{4}{3} \pi r_p^3 (\rho_p - \rho_m) g = 6 \pi \eta r_p \frac{dx}{dt} \quad (3)$$

Um simples rearranjo e integração da equação 3, no que se refere ao tempo e a distância, produzirão a seguinte equação:

$$t = \frac{9\eta}{2r_p^2 (\rho_p - \rho_m) g} x \quad (4)$$

onde:

t = tempo requerido para a partícula mover-se a uma distância x

As equações demonstradas acima, apenas consideram as forças mais intensas que atuam sobre as partículas, enquanto que a contribuição de outras forças como, por exemplo, as intermoleculares e estáticas, não foram consideradas. Também existem alguns sistemas como suspensões coloidais, partículas de argila ou qualquer outra partícula que possua carga eletrostática, que estão excluídas deste modelo matemático^[22].

b) Agentes estabilizantes

De acordo com a velocidade de sedimentação de um material específico, se esta for muito rápida, é possível estabilizar uma suspensão promovendo um aumento da viscosidade do meio diluente. Para tanto, existem substâncias como Viscalex^[18,35], Glicerol^[36,37], surfactantes não

iônicos^[38], solventes orgânicos de alta viscosidade^[39], Triton x-100^[14,24], entre outras, que têm sido utilizadas como agentes estabilizantes para as suspensões.

A capacidade de estabilização destes reagentes é fortemente dependente das características da amostra e do diâmetro de partícula, sendo que os efeitos estabilizantes dessas substâncias, podem ser ineficientes quando as suspensões contêm partículas de alta densidade^[23].

c) Mecanismos de agitação

A agitação magnética e o misturador por efeito “vortex” têm sido utilizados como meio de homogeneização em trabalhos envolvendo o uso da amostragem de suspensão. As suspensões são preparadas em um béquer, e estas são agitadas mecanicamente (3-5 minutos) para que se possa alcançar uma distribuição homogênea do material sólido no meio diluente. A eficácia da agitação magnética e do misturador por efeito “vortex” depende basicamente da velocidade de sedimentação do material suspenso^[23].

Os erros associados à sedimentação ocorrem em função do tamanho de partícula e da presença de partículas que tenham diferentes composições. Portanto, erros associados à precisão e exatidão das análises podem ser esperados quando o analito está predominantemente distribuído nas partículas de alta densidade, porque sofrem uma rápida sedimentação^[23].

Em 1988, Miller-Ihli^[37] realizou um estudo comparativo entre o sistema de agitação por efeito “vortex” e agitação por ultra-som na homogeneização das suspensões. Com este experimento pode-se constatar que não existem diferenças significativas com relação a precisão

entre as diferentes técnicas aplicadas. Entretanto, a agitação ultra-sônica quando comparada com a agitação magnética e a agitação por efeito “vortex”, possui uma grande vantagem, porque o analito é parcialmente extraído na fase líquida, em consequência da própria ação ultra-sônica, principalmente quando as suspensões são preparadas em meio ácido.

1.1.2 Influência do tamanho de partícula

O tamanho de partícula utilizado para o preparo de uma suspensão é de particular importância para a representatividade dos resultados analíticos, e também para que a passagem da suspensão, através do capilar que transporta a amostra até o sistema de nebulização do equipamento, não seja interrompida^[8].

O tamanho de partícula pode influenciar a estabilização, deposição e eficiência de atomização da suspensão, que por sua vez podem influenciar a precisão e exatidão das análises^[23].

Partículas entre 10 e 20 μm , devem melhorar a precisão dos resultados analíticos e, podem, também, incrementar a extração do analito durante o preparo das suspensões em meio ácido^[24]. O uso de tamanhos de partícula extremamente pequenos, somente é requerido se os elementos a serem determinados não estiverem homogeneamente distribuídos neste material^[21,40]. Por outro lado, se o analito está homogeneamente distribuído no material sólido, tamanhos de partícula igual ou superior a 500 μm , dependendo do sistema de introdução da amostra, podem ser utilizados. Isso têm sido reportado para amostras alimentícias e biológicas (animais e plantas), quando se utiliza o equipamento de forno de grafite. Entretanto, para amostras de solo,

sedimento e cinzas de incineradora, recomenda-se trabalhar com tamanhos de partícula menores^[41].

Para se obter tamanhos de partícula desejados, e principalmente adequados em diferentes materiais, é necessário utilizar a técnica de moagem que mais se adapte à amostra a ser analisada. Existem diferentes técnicas, e elas são dependentes das propriedades da matriz a serem analisadas, principalmente a dureza^[8].

Materiais biológicos podem ser triturados usando-se partículas de PTFE em frascos de polietileno^[42]. Como técnicas alternativas pode-se utilizar a moagem em almofariz de porcelana^[43], moinho de bolas de ágata^[18,44] e moinho dentado^[16].

Outras técnicas de moagem como moinhos de moagem e pulverização, e centrifugação, também são indicadas para uma grande variedade de materiais. Quando se utiliza uma destas técnicas e o analito de interesse é Fe, Ni e/ou Cr, deve-se evitar que as partes do moinho que entram em contato com a amostra sejam de aço inoxidável. Neste caso pode ser uma alternativa construir essas partes com carbeto de boro, porque este material oferece boa resistência a abrasão e mínima contaminação^[21].

Alguns pesquisadores propuseram o uso de bolas de zircônio como elemento de moagem. Não obstante, as mesmas não poderão ser utilizadas se os analitos de interesse forem Al, Cr e Fe^[10,21].

A moagem criogênica^[45], realizada à temperatura do nitrogênio líquido (-196°C), é um procedimento de moagem direta, que pode ser utilizada para triturar diferentes materiais na determinação de vários elementos. Essa técnica foi usada com sucesso para a moagem e

homogeneização de materiais biológicos secos e/ou frescos e também em matrizes ambientais^[46,47].

1.1.3. *Influência da concentração da suspensão*

Outro fator que se deve considerar quando se utiliza o procedimento de amostragem de suspensão é a sua concentração. Amostras cujos elementos a serem determinados encontrarem-se em altas concentrações, podem ser melhor analisadas na forma de suspensão do que diretamente por amostragem sólida, porque a amostra pode ser facilmente diluída. Não obstante, esta diluição só pode ser realizada dentro de uma faixa limitada, porque suspensões altamente diluídas podem contribuir na perda da precisão da análise. Isso acontece devido ao fato de que um número pequeno de partículas permanecerá em suspensão. Por outro lado, quando o conteúdo do analito na amostra original é baixo, a concentração da suspensão pode ser aumentada até que este incremento não afete a eficiência do transporte na nebulização e não gere efeitos de matriz^[23].

Lynch e Littlejohn^[48] estabeleceram uma faixa ótima de concentração, na determinação de metais por GFAAS, para amostras alimentícias. A precisão foi 4% quando se trabalhou com um diâmetro de partícula menor que 50 μm e uma concentração menor que 10% (m/v), já que suspensões de concentração acima de 5% começam a deteriorar a exatidão das análises.

Os erros associados com a amostragem de suspensão podem surgir a partir do número de partículas existentes no volume total da suspensão e a variação na massa de partículas individuais. Desta forma, os erros podem ser minimizados quando se trabalha com pequenos diâmetros de

partícula, suspensões mais concentradas e em uma distribuição unimodal de tamanho de partícula^[49].

1.1.4. Massa Representativa – Exatidão

A extração do analito para a fase líquida pode proporcionar melhora na precisão e uma análise mais representativa da massa sólida. Entretanto, isso não é um pré-requisito para a obtenção de análises exatas^[24].

Erros de amostragem podem ocorrer no preparo das suspensões. Uma questão importante é o quanto de massa total pesada, para preparar uma suspensão, é realmente representada no volume total de suspensão. Se considerarmos a análise de n_s suspensões de massa m_s , a massa representativa M_r , pode ser calculada da seguinte maneira^[8]:

$$M_r = n_s m_s \quad (5)$$

onde:

m_s = massa total pesada

n_s = número de inserções

Para que a equação 5 seja verdadeira, assume-se que toda a massa m_s foi introduzida no sistema de atomização do equipamento no momento da quantificação do analito. Contudo, se a repetibilidade foi realizada através do preparo de uma suspensão, então, o conteúdo médio pode ser estimado através da equação 6^[8].

$$M_r = n_{ss} \cdot m_{ef} \quad (6)$$

A massa efetiva (m_{ef}) é a massa de amostra sólida que é introduzida no sistema de atomização do equipamento através da introdução de uma alíquota, calculada por:

$$m_{ef} = \frac{V_{ss}}{V_s} \times m_s \quad (7)$$

onde:

V_{ss} = volume inserido de suspensão

m_s = massa total pesada

V_s = volume de suspensão

A massa efetiva é usualmente pequena. Porém, em solução aquosa, uma fração maior ou menor do analito pode ser extraída a partir das partículas sólidas para a fase líquida^[50,51].

Somente no caso de extração total M_r será exatamente igual a m_s , porque, se o analito foi parcialmente extraído, a massa representativa M_r poderá ser calculada da seguinte maneira^[8,24].

$$M_r = m_s x \left[\frac{V_{ss}}{V_s} \times (1 - fx) + fx \right] \quad (8)$$

onde:

fx = fração do analito em solução

Até o momento foram enfocados nesta revisão os aspectos que dizem respeito ao preparo de uma suspensão. A partir deste ponto, serão discutidos especificamente o preparo das amostras que foram analisadas neste trabalho e suas características.

2. Sedimento

Sedimentos aquáticos são importantes depositários de substâncias (por exemplo, metais) no ciclo hidrológico e podem refletir a qualidade do sistema aquático, assim como o desenvolvimento histórico de parâmetros químicos e hidrológicos^[52].

A análise comparativa da concentração total de um perfil longitudinal e vertical do sedimento, é realizada para determinar a presença anômala de metais devido a uma fonte de poluição^[53]. Já o estudo datado dos sedimentos, através de traçadores radioativos como, por exemplo, ^{210}Pb e ^{137}Cs , é realizado para proporcionar registros históricos entre os níveis naturais de metais (nível basal) e a acumulação dos mesmos induzida pelo homem (fonte antrópica)^[52].

A análise de sedimento possui um papel importante na investigação das conseqüências sofridas pelo meio ambiente referindo-se à acumulação de metais através do tempo. Dessa maneira é possível avaliar o nível de contaminação das bacias sedimentares, monitorando bacias ainda não contaminadas, para que estas não sofram impacto ambiental.

Em relação à sua importância como meio indicador de contaminação, os sedimentos são, dependendo das condições ambientais, uma fonte ou depósito de metais. Esses metais não são permanentemente fixados pelo

sedimento podendo ser reciclados através de agentes químicos ou biológicos no próprio sedimento, e/ou voltar para a coluna d'água^[54].

Os sedimentos formam-se a partir dos produtos residuais de rochas antigas desintegradas que afloram na superfície da terra. Os processos de intemperismo que atacam as rochas são de caráter físico e químico.

Os processos físicos que produzem a fratura das rochas, denominam-se desagregação e, os processos químicos, que dissolvem as rochas, chamam-se decomposição. Normalmente estes dois fenômenos agem conjuntamente no ataque as rochas^[55].

A desintegração física consiste na ruptura de rochas causada por mudanças de temperatura, ação do gelo, cisão por crescimento de minerais ou raízes, diastrofismo, rompimento do equilíbrio, erosão subterrânea, choques e mudanças climáticas.

As mudanças diurnas de temperatura causadas pelo sol têm grande influência por serem as rochas más condutoras de calor. A superfície da rocha se dilata, devido as variações nos coeficientes de dilatação dos diferentes minerais que constituem a rocha. Desta maneira, formam-se fendas entre os cristais e, finalmente, a rocha maciça se desagrega. Neste processo, também colaboram a ação química da água e da biosfera (intemperismo químico). Existindo matéria fragmentada, essa pode ser transportada pelas correntes e diminuir o tamanho de seus fragmentos através de pulverizações e choques.

Esse processo inclui reações químicas que ocorrem entre a rocha e diferentes tipos de soluções aquosas. A água pura, precipitada da atmosfera é um diluente fraco, mas a biosfera fornece meios para aumentar a decomposição química através da decomposição de animais e plantas. O ácido carbônico pode ser considerado o segundo agente mais

importante desse processo, porque ele se forma a partir da reação entre água e CO_2 . O CO_2 é liberado constantemente a partir dos organismos, fenômenos vulcânicos e decomposição dos carbonatos.

Em terceiro lugar, existe a água como agente ativo pelo seu conteúdo de íons livres H^+ e OH^- , que com o desequilíbrio dos mesmos pode-se, por exemplo, propiciar um ambiente mais alcalino, aumentando a troca catiônica.

Outra causa de decomposição química é a ação dos ácidos húmicos, os quais são formados na decomposição da matéria orgânica e podem ser muito agressivos^[55].

2.1. Composição dos sedimentos

Diante de uma extensa modalidade de ocorrência e uma variedade de associações quase infinita dos minerais que podem constituir um sedimento específico, apenas uma noção básica da composição será abordada neste tópico.

Os sedimentos constituem-se tipicamente de uma mistura de argila, areia, sais minerais e matéria orgânica. Como consequência de sua composição, estes subdividem-se em dois grupos principais^[56,57]:

a) Sedimento fino, constituído por partículas menores que $50\ \mu\text{m}$ e compreendendo, principalmente, argilo minerais, matéria orgânica, quartzo finamente dividido e feldspatos.

b) Sedimento grosseiro ou grosso, constituído por partículas maiores que $50\ \mu\text{m}$ compreendendo, principalmente, areia, cascalho e detritos.

A deposição simultânea do material particulado fino e grosso, resulta em uma estrutura porosa, onde a relação entre a massa de sólidos que constitui o sedimento e a massa de água que circula pelos poros (água

intersticial) varia desde 20% de sólidos, em sedimentos com alto teor de finos, até 80% de sólidos, em sedimentos constituídos principalmente por sólidos grosseiros^[58].

2.2. Metais no sedimento

Os sedimentos e também partículas suspensas encontradas nos rios, lagos e mares são importantes reservatórios de metais tais como Cr, Cd, Cu, Mo, Ni, Co e Mn^[58]. Estes metais podem estar presentes como compostos discretos, íons retidos através da troca catiônica com argilo-minerais, ligados a óxidos hidratados de ferro e/ou manganês ou, ainda, formando quelatos com substâncias húmicas insolúveis. A forma como os metais são encontrados é fortemente dependente do pH e a solubilização destes, a partir do sedimento ou do material suspenso na água, é função de agentes complexantes presentes no meio aquático tais como aminoácidos, íons citrato e cloreto e o surfactante NTA (ácido nitrilo acético), freqüentemente encontrado em detergentes domésticos.

Os metais encontrados nos sedimentos estão menos disponíveis que os encontrados diretamente na água, mas os que estão retidos em partículas pequenas, como no material suspenso, são mais acessíveis. O conhecimento da toxicidade de metais no sedimento e a sua disponibilidade para os seres vivos é importante na determinação dos efeitos ambientais causados pelos metais em sistemas aquáticos. A maioria dos sedimentos são anaeróbios e, portanto, a redução do sulfato a sulfeto por microorganismos gera, preponderantemente, os metais na forma de sulfetos. As baixas solubilidades dos sulfetos metálicos tendem a limitar a biodisponibilidade dos metais em sedimentos anaeróbios. Não obstante, exposições de tais sedimentos ao ar, e a conseqüente oxidação

dos sulfetos a sulfatos, podem desprender quantidades significantes de metais pesados^[58].

O cobre é rapidamente adsorvido no sedimento e, desta forma, gera altos níveis residuais. A velocidade de adsorção varia com o tipo de argila/sedimento, pH, competição entre cátions e a presença de ligantes e óxidos de Fe e/ou Mn. Segundo Willey e Fitzgerald^[59] existe uma grande porcentagem de cobre ligado à matéria orgânica, onde 27% dele está nas frações mais grosseiras do sedimento e 62% nas frações mais finas.

A desorção de cobre dos sedimentos para a coluna d'água depende do pH do meio, da salinidade e da presença de agentes quelantes naturais e/ou sintéticos. Banat *et al.*^[60] demonstraram que o cobre foi solubilizado na presença de baixas concentrações de NTA.

Níveis elevados de Cu em sedimentos ($\geq 1000 \text{ mg kg}^{-1}$) geralmente estão associados com a descarga de resíduos provenientes de áreas de mineração. Outras fontes industriais também podem gerar resíduos de até 500 mg kg^{-1} , mas as concentrações associadas às descargas de esgoto são geralmente menores que 250 mg kg^{-1} ^[61].

A adsorção de Pb em sedimento de rio está relacionada ao conteúdo de matéria orgânica presente e ao tamanho de partícula. Na ausência de espécies complexantes solúveis, o Pb é quase que totalmente adsorvido na forma de espécies que se precipitam a $\text{pH} > 6$.

Em meio ácido, as substâncias húmicas tendem a adsorver mais fortemente o chumbo que os argilo-minerais, mas essa tendência se inverte a $\text{pH} \geq 6$, onde existe a formação de complexos solúveis de humatos de Pb. Nestas condições as argilas competem com os humatos, retraindo mais facilmente o chumbo^[61].

Nriagu e Coker^[62] reportaram que em sedimentos do lago Ontário, entre 5-10% de Pb estava ligado à matéria orgânica e enriquecido na fração húmica. Ramamoorthy e Rust^[63] relataram que a desorção de chumbo está fortemente associada a presença do surfactante NTA.

A concentração de níquel pode ser incrementada nos sedimentos, principalmente perto da margem, através de descargas de resíduos industriais, domésticos e de resíduos provenientes de áreas de mineração^[61].

O níquel pode ser encontrado nos sedimentos ligado à matéria orgânica, principalmente nos ácidos húmicos e fúlvicos, óxido de ferro hidratado e em locais onde possam ocorrer processos de troca iônica^[62].

O níquel não é um contaminante comum na maioria dos sedimentos marinhos ou de água potável, mas pode-se encontrar altos níveis residuais deste metal ($> 500 \text{ mg kg}^{-1}$) em rios próximos a áreas de fundição. A partir de outras fontes, como por exemplo em áreas industrializadas, as concentrações de níquel raramente excedem 100 mg kg^{-1} ^[61].

Tessier *et al.*^[64] realizaram estudos para avaliar a presença de zinco nos sedimentos e, para tal, coletaram amostras em dois rios do Canadá. Os autores encontraram que o zinco estava presente predominantemente em suas formas solúveis.

O desprendimento de metais para o meio aquático a partir do sedimento é dependente do pH do meio e do potencial redox. Desta maneira, a biodisponibilidade dos mesmos geralmente segue a seguinte ordem: fração trocável, metais ligados a carbonatos, óxidos de Fe e Mn e a fração orgânica^[61].

Banat *et al.*^[60], realizaram estudos do desprendimento de zinco e outros metais pesados, em sedimentos de rios poluídos, na presença do

surfactante NTA. Os autores observaram que este fenômeno está positivamente relacionado com as concentrações de NTA, e negativamente com o tempo de agitação, que pode ser explicado através de uma possível biodegradação do quelato Zn-NTA.

O incremento de zinco em ácidos húmicos e fúlvicos, associados aos sedimentos, é menor que para Cu, Pb, Ni e Cr.

Níveis totais de Zn em sedimentos de água doce freqüentemente excedem 1000 mg kg^{-1} quando próximos a áreas de mineração, e valores menores são geralmente registrados para os rios que passam através de áreas urbanas. Em áreas não contaminadas, as concentrações geralmente não excedem $50 \text{ mg kg}^{-1[61]}$.

2.3. Preparo das suspensões de solos e sedimentos visando a determinação de metais por diferentes técnicas analíticas

Diversos trabalhos podem ser encontrados na literatura que utilizam o procedimento de amostragem de suspensão para a determinação de metais em diferentes matrizes, assim como trabalhos envolvendo o estudo de parâmetros a serem otimizados no preparo das mesmas.

Objetivando alcançar melhor exatidão e precisão das análises realizadas através da amostragem de suspensão, Fuller *et al.*^[65] realizaram um estudo da eficiência de atomização em diferentes técnicas analíticas, utilizando suspensões de material geológico. Os fatores estudados foram, principalmente, o tamanho de partícula, a eficiência de transporte e a temperatura de atomização. Através desse estudo, pode-se concluir que as técnicas que possuem sistemas de nebulização, como espectrometria de absorção atômica com chama (FAAS) e espectrometria de emissão

atômica com plasma induzido (ICP OES), são mais dependentes do tamanho de partícula da amostra do que GFAAS.

Com o intuito de estabelecer uma continuidade desses estudos, Majidi e Holcombe^[22] realizaram um estudo sobre a sedimentação de partículas, estudando principalmente a viscosidade e densidade do meio diluente, assim como tamanho e densidade das partículas sólidas, e concluíram que a sedimentação das partículas é um parâmetro que se deve considerar, porque este parâmetro representa o intervalo de tempo entre a mistura completa da suspensão e o processo de amostragem. Isso quer dizer que em uma dada matriz, se for necessário aumentar este tempo, isso pode ser feito, simplesmente, mudando-se a densidade ou a viscosidade do meio diluente.

Em 1994, Miller-Ihli^[24] estudou a influência do preparo das suspensões sobre a exatidão das análises, considerando a “massa representativa de amostra” em GFAAS. A autora explica que quando se usa a amostragem de suspensões, o analista deve ter conhecimento da distribuição do analito na fase sólida e líquida da suspensão para se obter o máximo proveito da técnica, e conclui que muitos fatores devem ser considerados quando se otimiza o preparo de uma suspensão. Também enfoca que o conceito de “massa representativa de amostra” é importante quando se reportam dados sobre uma dada suspensão, onde exista a probabilidade do analito estar tanto na fase sólida, quanto na líquida.

A maioria dos trabalhos reportados na literatura envolvendo a determinação de metais em suspensões de amostras de sedimento e solo, são realizados pela técnica de GFAAS ^[43,50,66-84].

Em 1983, Jackson e Newman^[66] introduziram suspensões de solo em um GFAAS para determinar chumbo. Os solos foram primeiramente

tritutados em um moinho de bolas de porcelana equipado com bolas de silicato de magnésio. Como meio diluente os autores utilizaram água, e foram usados padrões aquosos para a construção da curva analítica. As suspensões foram homogeneizadas por agitação magnética.

Hinds *et al.*^[67] estudaram a possibilidade de determinar Pb e Cd em diferentes tipos de solo. Neste mesmo trabalho, os autores também investigaram a distribuição de Pb nas diferentes frações de tamanho de partícula que podem ser encontradas no solo. Para o preparo das suspensões, a moagem das amostras foi realizada usando um moinho de bolas equipado com bolas de silicato de magnésio. Após a moagem, pode-se atingir um diâmetro de partícula de 30 μm . As suspensões foram preparadas em meio aquoso e agitadas magneticamente, enquanto alíquotas de 20 e 50 μL foram pipetadas para a determinação de Pb e Cd, respectivamente, e imediatamente introduzidas no forno de grafite. Nenhum tipo de agente estabilizante foi utilizado e a curva analítica foi construída com padrões aquosos.

Em outro trabalho Hinds *et al.*^[43] desenvolveram um estudo sistemático do uso da mistura de Pd/Mg como modificador químico, verificando sua efetividade na determinação de Pb em soluções aquosas e suspensões de solo. Na determinação do mesmo elemento, em 1991, Hinds *et al.*^[68] realizaram um estudo sistemático da temperatura e do tempo utilizado na etapa de secagem, do programa de aquecimento do GFAAS, com o objetivo de suprimir a etapa de decomposição. As suspensões de solo foram preparadas a partir de diferentes materiais de referência e, portanto, a etapa de moagem foi eliminada. O diluente foi água e as suspensões foram homogeneizadas magneticamente onde, sob agitação

contínua, uma alíquota de 20 µL de suspensão foi amostrada e inserida no forno de grafite. Não foram utilizados agentes estabilizantes.

Hoenig *et al.*^[69] descreveram um método para a determinação de Cr, Ni e Co em suspensões de sedimento e material particulado. Previamente ao preparo das suspensões, as amostras de sedimento foram secas em estufa e trituradas em um moinho planetário de ágata. Como meio diluente, os autores utilizaram glicerol e as suspensões foram homogeneizadas por um agitador magnético. Foram utilizados padrões aquosos para a construção da curva analítica.

Em 1989, Epstein *et al.*^[50] avaliaram a aplicação de um mecanismo automatizado para a introdução de amostras na forma de suspensão, para a determinação de Pb, Mn, Fe e As em sedimento, por GFAAS. Para a determinação de Pb e Mn as suspensões foram preparadas por dois métodos diferente. No primeiro, foram pesadas de 1-2 mg de amostra diretamente nos frascos do auto-amostrador do equipamento (método da pesagem direta) enquanto o segundo método baseou-se na retirada de uma alíquota da suspensão homogeneizada através de um misturador por efeito “vortex”. Nenhuma diferença foi encontrada pelos autores entre os dois métodos utilizados; portanto, na determinação de As e Fe, apenas o método da pesagem direta foi usado. O meio diluente foi HNO₃ 5% (v/v) e Triton X-100 0,04%, como agente estabilizante. No método da pesagem direta uma sonda ultra-sônica foi introduzida na suspensão para realizar a homogeneização das mesmas antes da amostragem.

Sandoval *et al.*^[70], realizaram um estudo de comparação entre diferentes procedimentos usados para homogeneizar e estabilizar suspensões de sedimento com o objetivo de determinar Cd e Pb através da técnica de GFAAS. Os diferentes procedimentos de homogeneização

avaliados foram: impacto, mecânico, por efeito “vortex” e ultra-som. Os meios diluentes utilizados para o preparo das suspensões, as quais foram homogeneizadas pelos procedimentos de impacto (utilizando pérolas de vidro) e mecânico, foram: glicerol, HNO_3 5 e 10% (v/v), e uma gota de Triton X-100. Para os outros procedimentos, o meio de suspensão foi HNO_3 5% (v/v), e uma gota de Triton X-100. Os autores concluíram que o procedimento de homogeneização por ultra-som é claramente superior aos outros, não somente em termos de melhora em precisão e exatidão, mas, também, na rapidez. Por outro lado, existe uma limitação, porque o uso da sonda ultra-sônica requer que pequenas quantidades de amostra sejam pesadas (1 – 10 mg). A calibração realizou-se utilizando ambas técnicas: padrões aquosos e o método de adição de analito.

Em 1994, Bermejo-Barrera *et al.*^[71] otimizaram um método para a determinação de Hg em suspensões de sedimento através da técnica de GFAAS. Os autores encontraram que um diâmetro de partícula menor que 20 μm foi suficiente para atomizar totalmente o analito. Este diâmetro foi obtido pela moagem mecânica da amostra em moinho equipado com bolas de zircônio. As suspensões foram preparadas em uma concentração de 2% (m/v) em meio de água e Triton X-100 0,01% (v/v), e agitadas magneticamente, enquanto duas alíquotas de 20 μL cada, foram injetadas no atomizador. O método para a construção da curva analítica foi o de adição de analito.

Um método para a determinação de As, Cd, Cu, Cr, Ni e Pb em suspensões de sedimento, através da técnica de atomização eletrotérmica (GFAAS) foi proposto, em 1995, por Klemm e Bombach^[72]. Para o preparo das suspensões, as amostras foram primeiramente secas em estufa e trituradas em um moinho mecânico obtendo-se um diâmetro de partícula

menor que 63 μm . O meio diluente utilizado foi uma solução de HNO_3 com pH ajustado para 2, contendo 1 gota de agente anti-aglutinante. Para a determinação de As, Cd, Cu, Ni e Pb, a calibração foi feita com padrões aquosos e, para Cr, a utilização do método de adição de analito foi necessário.

López-García *et al.*^[73,74] desenvolveram vários estudos envolvendo o uso da amostragem de suspensão para a determinação de metais em amostras de sedimento, pela técnica de GFAAS. Nesses estudos foram determinados metais tais como Se, Cd, Pb e Tl em suspensões de solo e sedimento, preparadas em meio de HF conc. (40% m/v) para Se; HF 5% (v/v) para Cd e Pb e, para Tl, HF 30% (v/v). As amostras foram trituradas em um moinho de bolas de ágata. Depois de prontas, as suspensões foram agitadas magneticamente e padrões aquosos foram utilizados para a construção da curva analítica na determinação de Se, Cd e Pb. O método de adição de analito foi usado para a determinação de Tl.

Em 1996, Dobrowolski^[75] determinou Ni e Cr em suspensões de solo por atomização eletrotérmica (GFAAS). A moagem da amostra foi realizada durante 15 min usando um moinho vibracional de bolas, confeccionado em carbeto de tungstênio. Após esse tempo, a amostra foi analisada em um microscópio eletrônico, onde, segundo o autor, foi possível obter um diâmetro de partícula menor que 20 μm . As suspensões foram preparadas em HNO_3 5% (v/v) e homogeneizadas por agitação ultra-sônica antes da amostragem. Para a construção da curva analítica, padrões aquosos e o método de adição de analito foram utilizados para a determinação de Cr e Ni, respectivamente.

Bermejo-Barrera *et al.*^[76,77] descreveram um método para a determinação de diferentes metais em suspensões de sedimento marinho,

por GFAAS. Para o preparo das suspensões, o sedimento foi triturado em um moinho de bolas de zircônio, com o qual obteve-se um diâmetro de partícula menor que $0,5\ \mu\text{m}$. Essas partículas foram suspensas em meio de água e Triton X-100 0,1% (v/v) e agitadas magneticamente. Para a construção da curva analítica, padrões aquosos foram utilizados na determinação de todos os metais.

Um método para a determinação de As, Sb e Hg em suspensões de solo e sedimento pela técnica de GFAAS, foi proposto em 1997 por López-García *et al.*^[78,79]. A amostra foi triturada durante 15 min em um moinho de bolas de ágata. Para a determinação de As, a amostra foi suspensa em uma solução de HF 0,4% (v/v) e NaHCO_3 1% (m/v), o Sb em HF conc. (40% v/v) e o Hg em HF conc. (40% v/v) contendo HNO_3 1% (v/v) e hexametáfosfato de sódio 1% (m/v). Depois de prontas, as suspensões foram agitadas magneticamente durante 15 min e a curva analítica foi construída através de padrões aquosos.

Slaveykova e Hoenig^[80] em 1997, propuseram um estudo comparativo para checar a eficiência de vários parâmetros analíticos, visando a melhora do desempenho analítico da técnica de atomização eletrotérmica (GFAAS) na determinação de Pb e Sn em suspensões de sedimento. Para tanto, os autores trituraram a amostra em um morteiro de carbeto de boro e obtiveram um diâmetro de partícula menor que $50\ \mu\text{m}$. Para o preparo das suspensões, foi utilizado, primeiramente, HNO_3 concentrado. As suspensões, assim preparadas, passaram 24 h sendo pré-digeridas. Depois desta etapa, adicionou-se água às suspensões, que foram imediatamente agitadas por uma sonda ultra-sônica. Foram utilizados padrões aquosos para a construção da curva analítica na

determinação de Pb, e o método de adição de analito na determinação de Sn.

Em um novo trabalho, Bermejo-Barrera *et al.*^[81], em 1997, otimizaram um método para a determinação de Sn em suspensões de sedimento marinho. Os sedimentos foram liofilizados e triturados em um moinho de bolas de zircônio. A amostra foi suspensa em meio de água e Triton X-100 0,1% e agitadas magneticamente. O método de adição de analito foi utilizado para a construção da curva analítica.

Mierzwa *et al.*^[82] determinaram Co e Ni em suspensões de sedimento e, em 1998^[83], determinaram Cr, Mn e V em suspensões de solo e sedimento. Ambas determinações foram realizadas através da técnica de GFAAS. Para a determinação de Co e Ni as amostras foram trituradas em um moinho de bolas de ágata durante 10-12 min e para a determinação de Cr, Mn e V, em um moinho confeccionado em carbeto de tungstênio. Depois da moagem, as amostras foram analisadas por um microscópio eletrônico, podendo-se demonstrar que 90% das partículas possuíam um diâmetro < 40 μm para Co e Ni, e < 50 μm para Cr, Mn e V. Para a determinação de Co e Ni, as amostras foram suspensas em HNO_3 4% (m/m) e Triton X-100 0,005%, e para Cr, Mn e V, em HNO_3 4% (m/m) e Triton X-100 0,004%. As suspensões foram homogeneizadas através de uma sonda ultra-sônica e a curva analítica foi construída com padrões aquosos.

López-García *et al.*^[84] em 1999, desenvolveram um método rápido para a determinação de Co, Ni e Cu em suspensões de solo e sedimento por atomização eletrotérmica (GFAAS). A amostra foi triturada em um moinho de bolas. Para a confecção das suspensões foi utilizado HF 50% (v/v) como meio diluente. Para a determinação de Cu e Ni, as suspensões

foram submetidas à uma etapa de aquecimento brando em um forno de microondas caseiro, durante 60 s à potência mínima, antes da introdução das mesmas no sistema de atomização do equipamento. Para a construção da curva analítica foram utilizados padrões aquosos.

Em menor proporção, outras técnicas de atomização também foram utilizadas para a determinação de metais em suspensões de solos e sedimentos, como a HGAAS, ICP OES e acoplamentos ICP-MS e ETV-ICP-MS.

Gutiñas *et al.*^[85] em 1991, desenvolveram um método para a determinação direta de Sb em suspensões de sedimento marinho, pela técnica de espectrometria de absorção atômica com geração de hidreto (HGAAS). As suspensões foram preparadas usando-se Triton X-100 1% (m/v) e algumas gotas de silicone. Depois de prontas, as suspensões foram homogeneizadas em um banho de ultra-som durante 20 min. O Sb também foi determinado no sobrenadante e observaram que quando a suspensão foi preparada em meio aquoso, somente 5% do analito era extraído para a fase líquida. Por outro lado, quando a suspensão foi preparada em uma solução de HCl 4 mol L⁻¹, o Sb foi totalmente extraído no sobrenadante.

Mierzwa e Dobrowolski^[86] em 1998, propuseram um método de determinação de As por HGAAS em suspensões de sedimento. Essas foram pré-tratadas, combinando agitação ultra-sônica e uma rápida decomposição por microondas. As amostras foram primeiramente trituradas em um moinho misturador durante 12 min. Depois desse tempo, a amostra foi analisada por um microscópio eletrônico podendo-se constatar que 90% das partículas possuíam um diâmetro menor que 25 µm. As suspensões foram preparadas em um meio diluente constituído de

HNO₃ 0,75 mol L⁻¹, L-cisteína 0,04% (m/v) e Triton X-100 0,005%. Depois de preparadas, as suspensões foram pré-digeridas em um forno de microondas caseiro durante 30 s à potência média, e 90 s à máxima potência. Em seguida, foram sonicadas por 12 min em um banho de ultrassom termostatizado à uma temperatura de 70°C. As suspensões, já frias, foram homogeneizadas através de um agitador por efeito “vortex” momentos antes da quantificação.

Williams *et al.*^[87], em 1987, desenvolveram um método de determinação de elementos majoritários e minoritários em suspensões de solo através da espectrometria de massa com fonte de plasma acoplado indutivamente (ICP-MS). Para o preparo das suspensões foi pesado 1 g de amostra em um frasco plástico contendo 10 g de bolas de zircônio e 2 mL de uma solução de pirofosfato tetrassódico 0,05% (m/v). Essa mistura foi triturada durante 24 h e, após este tempo, foi obtido um diâmetro de partícula menor que 3 µm. A amostra foi separada das bolas de zircônio e transferida para balão volumétrico de 100 mL, onde completou-se o volume com a solução de pirofosfato tetrassódico. Nenhum tipo de agente estabilizante ou mecanismo de agitação foi utilizado para a homogeneização das suspensões.

Em 1987, Halicz e Brenner^[88] introduziram suspensões de rocha de silicato e argila mineral em um ICP OES, para a determinação de Si, Ca, Al, Mg, Fe, Ti, Mn e Cu. As amostras de rochas foram primeiramente trituradas grosseiramente em um moedor de carbeto de tungstênio e, depois, re-trituradas em um moinho rotatório, o qual também continha peças de carbeto de tungstênio. Após a moagem, o material foi analisado por um microscópio eletrônico e o diâmetro médio de partícula encontrado foi menor que 2 µm. As amostra foram suspensas em uma solução de

glicerol 40% (m/m) e *Kodak photoflow* 0,2% (agente dispersante e anti-espumante).

Verbeek e Brenner^[89] em 1989, utilizando a técnica de ICP OES focalizaram seus estudos na distribuição espacial da intensidade das linhas espectrais de átomos e íons de diferentes elementos em suspensões de material geológico. Foram utilizadas diferentes misturas gasosas para a formação do plasma além de argônio puro, as quais pode-se destacar as misturas de Ar-N₂ e Ar-O₂, porque plasmas formados por essas misturas são considerados mais efetivos na decomposição de amostras geológicas, as quais muitas vezes apresentam um perfil irregular e heterogêneo com relação ao tamanho de partícula, devido as diferenças na composição mineralógica. As suspensões foram preparadas da mesma forma descrita previamente^[88].

Em 1990, Long e Brenner^[90] descreveram o resultado de estudos realizados com misturas gasosas para a formação do plasma no ICP OES, em suspensões de materiais geológicos e cerâmicos. O principal objetivo foi comparar a efetividade dessas misturas para a formação do plasma utilizando 5% (v/v) de O₂ ou 10% (v/v) de N₂ no argônio. Para o preparo das suspensões, as amostras foram moídas em triturador de carbeto de tungstênio. Depois de trituradas, as amostras foram analisadas em um microscópio eletrônico, e o diâmetro médio das partículas ficou ao redor de 5 µm. As suspensões foram preparadas com uma concentração de 1% (m/v) em meio de glicerol, *Kodak Photoflow* e água. A curva analítica foi construída com suspensões padrões.

Laird *et al.*^[91] elucidaram o efeito do tamanho de partícula e composição da matriz, estudando interferências de matriz na nebulização de suspensões de argila mineral na determinação de Al, Si, Fe, Ca e Mg

através da técnica de ICP OES. As suspensões foram preparadas em soluções de HNO_3 , cujas concentrações variaram de $0,5 - 3,0 \text{ mol L}^{-1}$ e uma mistura de $\text{NaCl } 0,1 \text{ mol L}^{-1}$ e $\text{HNO}_3 \text{ } 0,5 \text{ mol L}^{-1}$. Depois de prontas, as suspensões foram homogeneizadas magneticamente durante a nebulização.

Em 1991, Gervais e Salin^[92] estudaram a nebulização pneumática e ultra-sônica e um sistema de aquecimento e dessolvatação na determinação de Al, Cd, Cu, Ni, Pb e Zn em suspensões de sedimento por ICP OES. Antes do preparo das suspensões, as amostras foram trituradas em um moinho/misturador de bolas de ágata durante 30 min. Depois da moagem, o material foi analisado por microscopia eletrônica podendo-se observar que 90% das partículas possuíam um diâmetro menor que $2 \mu\text{m}$. As amostras foram suspensas em soluções aquosas de Triton X-100 0,01% ou $\text{HNO}_3 \text{ } 1 \text{ mol L}^{-1}$ para formar uma suspensão de concentração igual a 0,5% (m/v). As suspensões, depois de prontas, foram agitadas magneticamente por 5 min e depois homogeneizadas em um banho de ultra-som durante 30 min. A calibração foi feita com padrões aquosos.

Halicz *et al.*^[93] em 1993 desenvolveram um método simples para o preparo de suspensões de material geológico, visando minimizar o uso de agentes estabilizantes, espessantes, anti-espumantes e anti-aglutinantes, para a determinação de metais por ICP OES. A moagem do material foi feita usando um moinho equipado com esferas de zircônio. As suspensões foram preparadas em uma concentração de 1% (m/v), usando água como diluente e Sc como padrão interno. Nenhum tipo de agente estabilizante foi adicionado e as suspensões foram homogeneizadas com um misturador por efeito “vortex”. A curva analítica foi construída com padrões aquosos.

Liaw e Jiang^[94] desenvolveram um método para a determinação de Cu, Cd e Pb em amostras de sedimento utilizando a amostragem de suspensão com o acoplamento de técnicas ETV-ICP-MS. A amostra foi primeiramente triturada em um moinho equipado com partículas de carbeto de tungstênio e suspensas em uma solução de HNO₃ 2% (v/v) e Triton X-100 0,1% (v/v). Depois de prontas, as suspensões foram sonicadas em um banho de ultra-som por 30 minutos e, em seguida, homogeneizadas com um misturador por efeito “vortex” para a retirada de uma alíquota de 1 mL de suspensão. Esta foi depositada no copo amostrador do equipamento, a qual sofreu outra etapa de agitação por 25 s, por uma sonda ultra-sônica, antes da injeção de 10 µL de suspensão no sistema de atomização. A calibração foi realizada através de diluição isotópica e comparada com as técnicas de adição de analito e padrões aquosos.

Chen e Jiang^[95], em 1998, também desenvolveram um método para a determinação de Cd, Hg e Pb em suspensões de solo aplicando o mesmo acoplamento de técnicas anteriormente mencionado.

Magalhães *et al.*^[96], em 2000, propuseram um novo método para a determinação de Al em suspensões de sedimento de rio, empregando a técnica de espectrografia de emissão atômica com arco/centelha elétrica. As amostras foram trituradas em um almofariz com pistilo de ágata, até um diâmetro de partícula de 38 µm. Para preparo das mesmas, foram pesadas entre 8,5 e 50 mg de amostra e transferidas para balão volumétrico de 50 mL. O meio diluente foi HNO₃ 2% (v/v). Depois de prontas, as suspensões foram sonicadas em um banho de ultra-som por 10 min. e a curva analítica foi construída com o método de adição de analito ou padrões aquosos. Na utilização destes dois métodos de calibração os autores encontraram que

para se utilizar padrões aquosos era necessário aplicar um fator de correção de 0,855 nos resultados obtidos.

Existem poucas referências na literatura que descrevem especificamente procedimentos de amostragem de suspensão, aliados à técnica de FAAS na determinação de metais em amostras de sedimento de rio, em função da complexidade da matriz e da falta de informações na literatura sobre as reações que podem ocorrer na chama quando se nebuliza uma suspensão, ou seja, quando se introduz partículas sólidas na chama.

Há alguns anos, Stupar and Ajlec^[28] desenvolveram um método, visando sua utilização para análise de rotina, na determinação de Fe, Mn, Mg e Cu em suspensões de solo. As amostras foram moídas em meio etanólico em um moinho de bolas de ágata. Depois desta primeira etapa, as amostras foram secas em estufa e novamente trituradas com o emprego de um almofariz com pistilo de ágata, até que fosse atingido um diâmetro de partícula de 40 μm . As suspensões, com uma concentração de 0,25% (m/v), foram preparadas utilizando-se uma solução aquosa de 2 propanol 20% (v/v) como meio diluente. Depois de prontas, as suspensões foram agitadas magneticamente durante 10 min, deixadas em repouso por 24 h e depois agitadas por mais 1 min, imediatamente antes da sua introdução no sistema de nebulização do FAAS. Também utilizou-se um banho de ultrassom durante 5 min e depois 1 min sob agitação magnética. Das duas técnicas de homogeneização utilizadas, os autores concluíram que foram obtidos melhores resultados quando se utilizou a agitação ultra-sônica, porque esta é capaz de “quebrar” grandes agregados de argila. Segundo os autores, com um erro de 30%, é possível estender esse método para a determinação de Li, Ca, Cr, Al, Ti, Sr e Ba.

Em 1995, Brown *et al.*^[97] propuseram um método para a determinação de K em suspensões de solo por FAAS. Antes do preparo das suspensões, as amostras foram trituradas em um moinho vibracional, equipado com cilindro de porcelana e bolas de zircônio. Depois de 2 h de moagem, o material foi analisado em um microscópio eletrônico e observou-se que 95% das partículas possuíam um diâmetro médio de 10 μm . Os autores prepararam uma suspensão estoque pesando 100 mg de amostra em um balão volumétrico de 100 mL, a qual foi dispersa em HNO_3 conc., cujo volume variou para os diferentes tipos de solo. Estes foram caracterizados pelas técnicas de difração de raios-X e fluorescência de raios-X. Depois de pronta, a suspensão estoque foi homogeneizada durante 90 min em um banho de ultra-som termostatizado à 45°C. Desta suspensão estoque, diferentes alíquotas foram pipetadas e colocadas em frascos de poliestireno com capacidade para 10 mL, as quais foram adicionadas CsCl, e o volume completado com água. A calibração foi feita com padrões aquosos.

Na década de 90 foram realizados estudos envolvendo o acoplamento do sistema de análise por injeção em fluxo com um espectrômetro de absorção atômica com chama na determinação de metais, utilizando a amostragem de suspensões em diferentes matrizes^[98-100], mas nenhuma delas se relaciona com solos ou sedimentos.

3. Amostras Antárticas

3.1. Krill (*Euphausia superba*)

Próximo ao limite norte da Corrente Antártica Circumpolar, as águas antárticas (- 1,0 a 3,5°C no verão ; - 1,8 a 0,5°C no inverno) encontram as

águas quentes do sul, provenientes dos oceanos Atlântico, Índico e Pacífico, e nelas mergulham, dando origem a chamada Convergência Antártica, onde a água sofre um acréscimo de 2 a 3°C^[101].

Ao sul da Convergência Antártica está localizada a região marítima mais nutritiva da Terra, onde prolifera o krill, um crustáceo (Figura 1). O krill (*Euphausia superba*) é um pequeno camarão que pode variar em comprimento (1 - 6 cm) e pesa cerca de 1,2 g^[101,102].

Este organismo marinho alimenta-se de fitoplâncton e, por sua vez, serve de alimento para a maioria dos peixes, mamíferos e aves, sendo considerado a base da cadeia alimentar na Antártica^[102].

Das 85 espécies de krill, conhecidas como *Euphausiids*, que habitam os oceanos, somente 7 espécies vivem na Antártica, sendo que a espécie *Euphausia superba* é a mais importante, devido aos seus cardumes que formam extensas manchas na superfície do mar, e por viver até 7 anos, tempo bastante longo para um animal que se alimenta de plancton^[101-104].



Figura 1. Foto do krill em seu habitat natural.

A importância em se analisar o krill está baseada no fato, como já mencionado de que este microcrustáceo é fonte primária de alimentação, principalmente para as baleias, pingüins e focas, que provavelmente não sobreviveriam na ausência deste e, também, porque é usado para consumo humano em diversos países^[102].

Este microcrustáceo pode acumular metais pesados e outras substâncias químicas. Desta maneira, pode tornar-se promissor o uso deste animal como indicador de contaminação neste longínquo continente.

A determinação de Cu, Zn, Mn e Fe nas amostras de krill está baseada na importância destes elementos na nutrição humana e animal, bem como estes metais constituem alguns dos elementos que estão incluídos no programa de certificação de amostras Antárticas^[105], desenvolvido pelo Istituto Superiore di Sanità (Itália), órgão que realizou a coleta do krill na Antártica.

3.2. Lapa (*Nacella concinna*)

A lapa é um pequeno animal marinho, dotado de uma concha protetora, que habita as costas rochosas de todas as partes do mundo. A maioria das lapas tem menos de 8 cm de comprimento, são fáceis de serem encontradas na maré baixa e pertencem ao filo *Mollusca*.

Especificamente a lapa antártica, da espécie *Nacella concinna*, pertence a classe *Gastropoda Prosobranchia*, a ordem *Archaeogastropoda – Docoglossa – Euomphalina* e a família *Patellidae*. Ela é encontrada nas ilhas ao redor da Antártica e as suas conchas cônicas podem ser vistas nos rochedos marinhos expostos (Figura 2).



Figura 2. Foto de lapas fixadas à rocha.

A concha reveste completamente o corpo do animal, protegendo-o das aves marinhas. Embaixo da concha, o “pé” da lapa (um poderoso órgão muscular) fixa, por meio de sucção, o corpo do animal à rocha. Na maré alta, a lapa desloca-se sobre os rochedos a procura de algas e outras plantas marinhas. Antes de baixar a maré, a lapa retorna ao seu local primitivo no rochedo^[106].

3.3. Metais em Invertebrados

A avaliação da toxicidade de metais em organismos aquáticos pode realizar-se através de estudos das exposições agudas (estudo de período curto) ou crônicas (estudo de período longo). Entretanto, estudos que reportam o resultado de exposições a longo prazo, ou seja, dos efeitos crônicos, podem produzir melhores resultados na avaliação da poluição^[107].

O estudo de toxicidade por curtos períodos de tempo (exposição aguda) são certamente necessários durante 90 min para revelar a sensibilidade das espécies, comparando a toxicidade dos metais sobre

eles mesmos e conhecer a resposta biológica dos animais aquáticos pelo envenenamento agudo por metais. Desta forma, tais estudos poderiam ser considerados experimentos “Piloto”, como base para estudos ao longo do tempo sobre os efeitos biológicos letais e sub-letais dos metais nestes organismos^[107].

Invertebrados que vivem em rios poluídos podem conter resíduos de cobre entre 5 à 200 mg kg⁻¹ em seus tecidos moles. Manly e George^[108] reportaram níveis de 21 – 103 mg kg⁻¹ no mexilhão *Anodonta anatina*, encontrado no rio Tâmesa (Inglaterra).

As concentrações de Cu encontradas em invertebrados marinhos são freqüentemente maiores que as encontradas em invertebrados de água doce. Isso reflete a presença biodisponível do Cu que é, então, incorporado aos tecidos moles do animal. As maiores concentrações de Cu encontradas em invertebrados marinhos foram reportadas por Stenner e Nickless^[109] que encontraram um nível máximo de 1750 mg kg⁻¹ nos tecidos moles do molusco *Nucella lapillus* e, também, por Boyden e Romeril^[110] que encontraram uma concentração de 6480 mg kg⁻¹ para a ostra *Crassostrea gigas*.

A velocidade de sorção do cobre por invertebrados planctônicos, geralmente está associada as concentrações de cobre encontradas na água. Dependendo da espécie, baixas temperaturas reduzem a velocidade de sorção e, similarmente, a absorção varia com a salinidade e a presença de outros metais em solução. Embora existam exceções, as concentrações de cobre podem aumentar em função da idade e tamanho do animal^[61].

O zinco pode ser transferido para os invertebrados a partir de águas poluídas, mas não ocorre acumulação para a maioria das espécies. Ocasionalmente são reportadas altas concentrações de zinco para

invertebrados que vivem em águas poluídas, refletindo altos níveis no alimento e sedimento^[61].

Manly e George^[108] também reportaram dados sobre as concentrações de zinco encontradas nos tecidos moles de espécies do molusco *Anodonta anatina*, como sendo de 3500 mg kg⁻¹.

Os moluscos, especificamente, apresentam baixa resistência ao excesso de metais na água e são muito sensíveis ao envenenamento por zinco e, também, por cobre^[107].

3.4. Preparo das suspensões de organismos marinhos visando a determinação de metais por diferentes técnicas analíticas.

Existem alguns trabalhos na literatura que reportam o uso da amostragem de suspensões para a determinação de metais em amostras de tecido de ostra, mexilhão e peixe. Nestes trabalhos, os autores utilizam variadas técnicas de detecção^[29,111-118], sendo que a mais usada é a de GFAAS^[14,48,71,111-114].

Lima *et al.*^[111], em 1999, desenvolveram um método para a determinação de Cd em suspensões de amostras de peixe, através da técnica de GFAAS, utilizando Rh-W como modificador permanente. Para o preparo das suspensões, as amostras de peixe foram primeiramente moídas em um triturador doméstico. Em seguida, as amostras foram congeladas, liofilizadas durante 48 h e novamente trituradas em um moinho de bolas, até atingir um diâmetro de partícula menor que 30 µm, que foi estimado pela realização de uma microscopia eletrônica. As suspensões foram preparadas em concentrações que variaram desde 0,25 – 1,5% (m/v) em meio de HNO₃ 0,2% (v/v) contendo Triton X-100 0,04% (v/v), e foram sonicadas durante 10 min em um banho de ultra-som. Depois deste

procedimento, as suspensões foram transferidas para o copo do auto-amostrador e, com o emprego de uma sonda ultra-sônica, foram homogeneizadas por mais 25 s, imediatamente antes da introdução de uma alíquota de suspensão de 20 μL no atomizador. Padrões aquosos foram utilizados para a construção da curva analítica.

Em 1998, Meeravali e Kumar^[112], propuseram um método para a determinação de Cd, Cu, Mn e Pb, em suspensões de tecido de ostra e outros materiais biológicos, através da técnica GFAAS. As suspensões foram preparadas na concentração de 6% (m/v) em meio de HNO_3 5% (v/v), as quais foram agitadas magneticamente durante 30 min. Depois da homogeneização, a suspensão foi transferida para o copo do auto-amostrador do equipamento, e foram introduzidos no atomizador de 5 a 15 μL da suspensão, de acordo com a concentração do analito. Os materiais de referência assim analisados, receberam uma moagem adicional. O tamanho das partículas, para o tecido de ostra, ficou entre 15 e 30 μm determinado com um analisador de distribuição de tamanho de partícula com difração à laser. Para a construção da curva analítica, padrões aquosos foram utilizados na determinação de Cd, Mn e Pb e, para a determinação de Cu, utilizou-se o método de adição de analito.

A amostragem de suspensões foi também empregada por Januzzi *et al.*^[14], no desenvolvimento de um método para a determinação de Se em amostras de peixe, utilizando a técnica de GFAAS. As amostras de peixe foram trituradas, congeladas e liofilizadas por 48 h. Depois deste procedimento as amostras, liofilizadas, foram novamente trituradas em um almofariz de ágata e peneiradas em um tamis com diâmetro de partícula correspondente a 53 μm . As suspensões foram preparadas pesando-se 200 mg de tecido de peixe liofilizado, que foram dispersos em 25 mL de

HNO_3 0,014 mol L^{-1} contendo Triton X-100 1,2% (v/v) e sonicadas durante 25 min por um banho de ultra-som. Depois de aplicar este procedimento, as suspensões foram agitadas manualmente, transferidas para os copos do auto-amostrador do equipamento, e 20 μL de suspensão mais o modificador químico, foram injetados no forno de grafite. Para a construção da curva analítica utilizou-se padrões aquosos.

Em 1994, Bermejo-Barrera *et al.*^[71] desenvolveram um método para a determinação de As em suspensões de mexilhão e, em 1993^[113] para a determinação de Pb nas mesmas amostras por GFAAS. As amostras foram liofilizadas e trituradas em um almofariz até um diâmetro $\leq 250 \mu\text{m}$. Depois, foram novamente trituradas em um frasco agitador contendo esferas de Zr e água, durante 45 min para a obtenção de um diâmetro de partícula menor que 10 μm , que foi confirmado utilizando-se um analisador de distribuição de tamanho de partícula com difração à laser. As suspensões foram preparadas a uma concentração de 0,5% (m/v), o meio diluente para a determinação de As foi água e Triton X-100 0,015% (v/v), e para a determinação de Pb, água e Triton X-100 0,1% (v/v). A calibração para a determinação de As realizou-se através do método de adição de analito e, para Pb, padrões aquosos foram utilizados.

Ebdon *et al.*^[114] descreveram um método para a determinação de Cr, Co, Pb e Mn em suspensões de mexilhão por GFAAS utilizando ar na etapa de pirólise como modificador químico. Segundo os autores, com este recurso pode-se aumentar a eficiência da etapa de pirólise em função da diminuição do resíduo carbonáceo formado no tubo de grafite após a realização das análises. As suspensões foram preparadas triturando-se o material com água e esferas de Zr, durante 1-4 h. Depois deste procedimento, a suspensão foi separada das esferas de Zr e diluída com

água até uma concentração final de 1% (m/v). Padrões aquosos foram utilizados para a construção da curva analítica na determinação de todos os metais.

Um método para a determinação de Pb em suspensões de peixe e outros materiais biológicos foi desenvolvido por Lynch e Littlejohn ^[48], em 1989, pela técnica de atomização eletrotérmica (GFAAS), utilizando Pd como modificador químico e calibração com padrões aquosos. As amostras liofilizadas foram trituradas em um moinho de bolas de ágata até a obtenção de partículas com diâmetros menores que 50 μm . As suspensões foram preparadas em concentrações acima de 4% (m/v), onde adicionou-se às mesmas, o modificador e um agente anti-espumante (0,5% m/v). Para prevenir a deposição das partículas em suspensão, estas foram agitadas magneticamente antes que 20 μL da suspensão fossem injetados no atomizador.

Em 1990, Madrid *et al.* ^[115] avaliaram diferentes meios oxidantes de gerar o hidreto de Pb em suspensões de vegetais e peixe, com o intuito de se determinar Pb pela técnica de HGAAS. Nestas condições, três meios foram comparados: H_2O_2 – HNO_3 , persulfato de amônio – HNO_3 e dicromato de potássio – ácido láctico. O meio mais apropriado para a geração do hidreto na determinação de Pb em amostras de peixe e vegetais foi o dicromato de potássio – ácido láctico, que proporcionou baixos limites de detecção em função da alta sensibilidade e baixos valores de branco. As suspensões foram preparadas com uma concentração de 2% (m/v) em meio de Triton X-100 (durante 90 min 1% m/m) e um agente anti-espumante. O método de adição de analito foi utilizado para a construção da curva analítica.

Madrid *et al.*^[116] descreveram um método rápido e simples para a determinação de Pb em amostras biológicas (mexilhão), combinando a técnica de amostragem de suspensão com HGAAS. As amostras liofilizadas de mexilhão, foram trituradas em um moinho de bolas de ágata durante 30 min e as suspensões foram preparadas a uma concentração de 2% (m/v) em meio de Triton X-100 0,2% (v/v), contendo algumas gotas de agente anti-espumante (silicone 30% v/v). O hidreto foi gerado em meio nítrico-persulfato de amônio e NaBH₄.

Um método para a determinação de Al em suspensões de mexilhão e outros materiais biológicos utilizando o acoplamento de técnicas ETV-ICP-MS e politetrafluoretileno (PTFE) como modificador químico, foi desenvolvido em 1994 por Bin *et al.*^[117]. As amostras liofilizadas foram colocadas em cadinhos de quartzo e calcinadas primeiramente à baixa temperatura e depois a 550°C em uma mufla. As suspensões foram preparadas pesando-se 0,5 g de amostra calcinada, que foi dispersa em 2,0 mL de água, durante 40 min, com um processador ultra-sônico. Depois, 0,4 mL de suspensão foi colocado em um frasco no qual adicionou-se 0,2 mL de PTFE (60% v/v) e a suspensão foi diluída para 2 mL. Novamente, a suspensão foi homogeneizada com um processador ultra-sônico durante 30 min e, depois da estabilização do plasma, 10 µL da suspensão foram manualmente injetados no forno de grafite. A calibração foi feita com o método de adição de analito.

Em 1999, Río-Segade e Bendicho^[118] propuseram um método de determinação de Hg total em suspensões de amostras biológicas (mexilhão) e ambientais, pelo acoplamento de um sistema de análise por injeção em fluxo e a espectrometria de absorção atômica com geração de vapor frio (FIA-CVAAS). As amostras foram homogeneizadas em um

tritador e secas em estufa a 40°C por 48 h. A amostra seca, foi novamente triturada em um moinho de bolas e peneirada a um diâmetro de partícula < 100 µm. Para o preparo das suspensões, uma massa de 400 mg de amostra foi pesada e suspensa em 15 mL de HNO₃ 2,4 mol L⁻¹ contendo Triton X-100 0,02% (v/v). Estas suspensões foram homogeneizadas em um processador ultra-sônico por 2 min e, depois, agitadas magneticamente até a injeção de uma alíquota de 500 µL no sistema FIA. Através do sistema de fluxo HNO₃ 0,25% (v/v), como carregador, NaBH₄ 0,25% (m/v) e NaOH 1% (m/v) foram bombeados continuamente para a geração do hidreto em linha. O método de adição de analito foi utilizado para a construção da curva analítica.

Petrucci e Van Loon^[29] desenvolveram um método para a determinação de Cu e Zn em suspensões de ostra e lagosta por FAAS e Cu, Zn e Cd, nas mesmas amostras, por ICP OES. As amostras foram trituradas em um almofariz e peneiradas em um tamiz de diâmetro de partícula correspondente a 44 µm (325 mesh). O pó resultante foi novamente triturado durante 15 min para a obtenção de partículas menores que 20 µm. Para o preparo das suspensões entre 40 – 100 mg de amostra foram pesadas e o meio diluente foi HNO₃ 5,6% (v/v) contendo hexametáfosfato de sódio 0,5% (m/v). A suspensão, depois de preparada, foi misturada com um bastão de vidro e sonicada em um banho de ultra-som. Imediatamente antes da aspiração da suspensão no sistema de nebulização de ambas técnicas, esta foi manualmente agitada por alguns segundos. Depois, uma solução de HNO₃ 10% (v/v) foi aspirada através do nebulizador para remover qualquer resíduo da amostra anterior. Não

foram encontrados problemas com relação ao entupimento do capilar, e padrões aquosos foram utilizados para a obtenção da curva analítica.

Como pode ser contemplado nesta revisão bibliográfica existem diversos trabalhos na literatura nos quais se utiliza a amostragem de suspensão para a determinação de metais em sedimento aquático e organismos marinhos com as mais variadas técnicas de detecção. Entretanto, praticamente não existem trabalhos envolvendo a amostragem de suspensões aliada a técnica de FAAS. O trabalho desenvolvido nesta tese teve como principal objetivo suprir as deficiências que existem na literatura a respeito da determinação de metais em matrizes complexas, principalmente no que diz respeito ao preparo das mesmas aliada a uma técnica de detecção barata, rápida e bem conhecida. Dessa forma, foi possível desenvolver um método de determinação de metais em sedimento aquático e organismos marinhos com a obtenção de resultados rápidos, confiáveis e de baixo custo.

IV. EXPERIMENTAL

1. Equipamentos

Para a determinação de Cu, Pb, Zn e Ni nas suspensões, na fase líquida e nas amostras mineralizadas de sedimento de rio e lapa, utilizou-se um espectrômetro de absorção atômica com chama Perkin-Elmer 5100 (Norwalk, CT, USA), equipado com um nebulizador pneumático do tipo concêntrico e uma lâmpada de deutério para correção de fundo.

Para a determinação de Cu, Zn, Fe e Mn nas amostras de krill em suspensão, utilizou-se um espectrômetro de absorção atômica com chama AAnalyst 300 (Perkin-Elmer, Norwalk, CT, USA), equipado um nebulizador pneumático do tipo concêntrico e com uma lâmpada de deutério para a correção de fundo.

Lâmpadas de cátodo oco (Perkin-Elmer, Darmstadt, Alemanha) de Cu, Pb, Zn, Ni, Fe e Mn foram usadas como fonte de radiação.

Para a determinação de Cu, Zn, Fe e Mn nas amostras mineralizadas de krill, utilizou-se um Espectrômetro de Emissão Óptica por Plasma com Acoplamento Induzido 400 Perkin-Elmer (Norwalk, CT, USA) e um espectrômetro de absorção atômica com chama.

Para a determinação de Ni nas amostras mineralizadas de sedimento de rio, foi utilizado um espectrômetro de emissão óptica por plasma com acoplamento induzido OPTMA 3000 DV (Perkin-Elmer).

Para a mineralização das amostras de krill, foi utilizado um forno de microondas MLS-2000 (Milestone – FKV, Sorisole, Bérgamo, Itália), equipado com um sensor de pressão e temperatura, bombas de digestão de TFM e um magnetron de 2450 MHz.

Para a mineralização das amostras de sedimento de rio e lapa, foi utilizado um forno de microondas QCI, modelo QW-3000 (Mississauga, Canadá), com potência nominal de 1200 W, equipado com um sensor de pressão e temperatura e um magnetron de 2450 MHz.

Um banho de ultra-som Cole Parmer, modelo 8890 (Vernon Hills, Illinois, USA) foi usado para a homogeneização das suspensões de sedimento de rio, krill e lapa, antes da introdução das mesmas no sistema de nebulização do FAAS.

Um microscópio eletrônico de varredura Philips 515 (Holanda), operado a 30 KV foi utilizado para a realização da microscopia eletrônica das amostras de krill.

Para a liofilização das amostras de krill utilizou-se um liofilizador, free zone 4,4 Liter Benchtop, Freeze Dry System, modelo 77500 (Kansas City, Missouri), operado a uma temperatura de -40°C e pressão de 13,3 Pa (133×10^{-3} mBar) até massa constante.

A difração de raios-X foi feita com um difratômetro de raios-X, modelo XRD-6000 (Shimadzu), e a fluorescência de raios-X foi feita com um espectrômetro de fluorescência de raios-X Philips, modelo PW2404.

Um analisador elementar PE 2400 (Perkin-Elmer) foi empregado na Análise Elementar e um GPS (Sistema de Posicionamento Global), Garmin, modelo 45 XL, foi utilizado para a localização exata dos pontos de coleta das amostras de sedimento. As coletas foram feitas com um amostrador de testemunho de 50 cm.

2. Reagentes e Soluções

Todas as soluções foram preparadas com reagentes de grau analítico (Merck, Darmstadt, Alemanha) e água desionizada de alta pureza ($18 \text{ M}\Omega \text{ cm}$), purificada através do sistema Milli-Q (Millipore, Bedford, USA).

Soluções estoque de 1000 mg L^{-1} de Zn (II), Pb (II) e Fe (III) foram preparadas através de suas respectivas formas salinas, $\text{Zn}(\text{NO}_3)_2$, $\text{Pb}(\text{NO}_3)_2$ e $\text{Fe}(\text{NO}_3)_3$. As soluções estoque de Cu, Ni e Mn, também de 1000 mg L^{-1} , foram preparadas a partir de suas formas metálicas com 99,99% , 99,70% e 99,00% de pureza, respectivamente.

Os padrões para a curva analítica foram preparados diariamente, através de diluição serial em HNO_3 $6,0 \text{ mol L}^{-1}$ contendo NH_4Cl 2% (m/v) para Cu, Pb e Zn e, para Ni, em HCl $2,0 \text{ mol L}^{-1}$ contendo NH_4Cl 2% (m/v) para as suspensões de sedimento de rio.

Para as suspensões de krill as soluções-padrão usadas para construir a curva analítica, foram preparadas diariamente, através de diluição serial em soluções de HNO_3 $2,0 \text{ mol L}^{-1}$ para Cu, Zn e Fe e HNO_3 $4,0 \text{ mol L}^{-1}$ para o Mn, e em HNO_3 $1,0 \text{ mol L}^{-1}$ para Cu e Zn, nas determinações destes metais nas suspensões de lapa.

A seletividade dos métodos foi avaliada empregando-se soluções-estoque contendo 1000 mg L^{-1} dos seguintes concomitantes: Cr^{6+} a partir de $\text{K}_2\text{Cr}_2\text{O}_7$, Ni e Mn a partir de suas formas metálicas, cujo grau de pureza era de 99,7% e 99,0%, respectivamente, Al^{3+} a partir de $\text{Al}(\text{NO}_3)_3$, Ca^{2+} a partir de $\text{Ca}(\text{NO}_3)_2$, Mg^{2+} a partir de $\text{Mg}(\text{NO}_3)_2$, K^+ a partir de KNO_3 , Fe^{3+} a partir de $\text{Fe}(\text{NO}_3)_3$ e Na^+ a partir de NaCl .

3. Metodologia

3.1. Sedimento de rio

3.1.1. Coleta do Sedimento

A coleta realizou-se em três diferentes rios: Atibaia, Branco e Tietê. No rio Atibaia a coleta foi feita em Fevereiro de 1998, no ponto AT 2065, que é um ponto de coleta de água da CETESB. Esse ponto de coleta encontra-se sob a ponte do rio Atibaia situado na divisa dos municípios de Campinas-Valinhos, no estado de São Paulo, segundo referências de latitude S 22°44'43" e longitude W 47°09", cedidos pela CETESB.

No rio Tietê, localizado no estado de São Paulo, a coleta realizou-se na Represa de Barra Bonita, em Fevereiro de 1998, e o ponto de coleta situa-se a latitude S 22° 29' e longitude w 48° 34'.

O rio Branco, verdadeiramente denominado Lagoa Marginal Inundável, está localizado no Amazonas, e a coleta realizou-se em Janeiro de 1999 (época de seca), onde o ponto coletado situa-se a latitude S 01°14" e longitude W 61°50'.

A coleta nos três rios foi realizada com um amostrador de testemunho e, imediatamente depois de coletados, os sedimentos foram colocados em bolsas plásticas e acondicionados a 4°C até a sua chegada no laboratório. No caso do rio Atibaia, no momento da coleta, a amostra foi fracionada em sete partes iguais (5 cm), de acordo com a profundidade, e cada uma destas partes recebeu o mesmo tratamento descrito acima, até chegada no laboratório.

3.1.2. Preparo do Sedimento após Coleta

O sedimento, ainda molhado, foi peneirado em peneira de nylon de malha grossa (2 mm) para separar os galhos, folhas e pedras. Em seguida,

foi colocado para secar em estufa a 50°C até massa constante. O sedimento, já seco, foi manualmente triturado em um almofariz de porcelana e peneirado em peneiras com malha de aço inoxidável de 400 até 200 mesh (38 – 75 μm , respectivamente). Depois de empregar este procedimento, para os sedimentos dos rios Atibaia, Branco e Tietê, estes foram estocados em frascos plásticos até a análise.

3.1.3. Material Certificado de Referência

Para avaliar o método proposto, um material certificado de referência (NIST SRM 1646a - Estuarine Sediment) foi utilizado para as amostras em suspensão, amostras na fase líquida e amostras mineralizadas em forno de microondas.

3.1.4. Preparo das Suspensões

a) Determinação de Cu, Pb e Zn

Para a determinação de Cu, Pb e Zn as suspensões foram preparadas da seguinte maneira: pesaram-se 500 mg de amostra e 0,5 g de NH_4Cl em um balão volumétrico de 25,0 mL. Completou-se o volume do balão com HNO_3 6,0 mol L^{-1} e, em seguida, as suspensões foram colocadas em um banho de ultra-som durante 15 min. As amostras, uma vez retiradas do banho de ultra-som, foram levadas até um espectrômetro de absorção atômica com chama para a determinação dos metais. As condições experimentais do FAAS estão descritas na Tabela 1, e foram estabelecidas de acordo com os resultados obtidos empregando-se soluções de checagem propostas pelo fabricante.

Tabela 1. Condições experimentais do FAAS, usadas na determinação de Cu, Pb, Zn e Ni.

	Cu	Pb	Zn	Ni
Comp. de Onda (nm)	324,8	283,3	213,9	232,0
Fenda (nm)	0,7	0,7	0,7	0,2
Vazão de C ₂ H ₂ (L min ⁻¹)	1,8	1,8	1,8	1,8
Vazão de ar (L min ⁻¹)	8,8	8,8	8,8	8,8

b) Determinação de Ni

Para a determinação de níquel, as suspensões foram preparadas da seguinte maneira: pesaram-se 600 mg de amostra e 0,5 g de NH₄Cl em um balão volumétrico de 25,0 mL. Completou-se o volume do balão com HCl 2,0 mol L⁻¹ e, em seguida, as suspensões foram colocadas em um banho de ultra-som durante 15 min. As amostras, uma vez retiradas do banho de ultra-som, foram levadas até um espectrômetro de absorção atômica com chama (condições experimentais – Tabela 1) para a determinação do analito.

3.1.5. Preparo da Fração Líquida da Suspensão

A fração líquida da suspensão foi obtida pelo mesmo procedimento utilizado no item a para Cu, Pb e Zn e no item b para Ni. Não obstante, o sedimento foi filtrado, em filtro Whatman de filtração rápida, e só a fase líquida foi analisada e os metais foram determinados por FAAS, cujas condições experimentais estão descritas na Tabela 1.

3.1.6. Decomposição em Forno de Microondas

O procedimento utilizado para a realização da decomposição das amostras foi o seguinte: foram pesados 500 mg de sedimento seco, para a determinação de Cu, Pb e Zn, e 750 mg de sedimento seco para a determinação de Ni, com diâmetro de partícula de 75 μm . A massa foi transferida para frascos de Teflon®, com capacidade para 100 mL. Adicionou-se às amostras 15 mL de mescla digestora constituída de água régia e HF, na proporção 10:5. Depois de realizada a decomposição, cujo programa está descrito na Tabela 2, as amostras foram evaporadas em chapa elétrica, com cerca de 2 g de H_3BO_3 , para eliminação do HF, até quase secura. Neste ponto, a amostra foi retomada em HNO_3 2% (v/v) e completou-se o volume para 25,0 mL em balão volumétrico, para posterior determinação de Cu, Pb e Zn por FAAS (condições experimentais – Tabela 1) e Ni por ICP OES, cujas condições experimentais estão descritas na Tabela 3.

Tabela 2. Programa do forno de microondas para a mineralização das amostras de sedimento de rio. $T_{\text{lim}} = 190^\circ\text{C}$ e $P_{\text{lim}} = 2,41\text{MPa}$ (350 psi)

Etapa	Potência (W)	Tempo (min)
1	200	3
2	400	5
3	600	5
4	700	20
5	80	2

Tabela 3. Condições experimentais do ICP OES para a determinação de Ni nas amostras de sedimento de rio mineralizadas.

Potência (W)	1300
rf (MHz)	40
Observação no Plasma	Axial
Vazão do plasma (L min ⁻¹)	15
Vazão gás auxiliar (L min ⁻¹)	0,5
Vazão da amostra (mL min ⁻¹)	0,8
Comprimento de onda (nm)	Ni (II): 232,003
Tempo de integração (s)	15

3.1.7. Difração de raios-X

Para a realização desta análise, transferiu-se uma quantidade adequada de sedimento para o porta-amostra do equipamento e colocou-se, manualmente, uma lâmina de vidro por cima do porta-amostra para alisar e aplainar a superfície da amostra. Em seguida, retirou-se a lâmina de vidro e a amostra foi levada ao difratômetro de raios-X para ser irradiada na linha Cu K α .

3.1.8. Fluorescência de raios-X

As determinações foram efetuadas através de pastilhas prensadas, as quais foram irradiadas diretamente no espectrômetro.

As pastilhas prensadas (com diâmetro de 45 mm e espessura mínima de 3,5 mm) foram preparadas pela mistura de 9,0 g da amostra em pó com 1,5 g de cera em pó (Hoeschst/Alemanha). A mistura foi homogeneizada em misturador automático (Mixer Mill 8000 Spex/U.S.A.) e prensadas durante um minuto com pressão de 119 MPa, em prensa hidráulica HTP 40 (Herzog/Alemanha).

3.1.9. Análise Elementar

Para a quantificação de C, H e N nas amostras de sedimento rio, utilizou-se o método da combustão para converter os elementos da amostra em substâncias gasosas.

Pesou-se entre 1 – 2,5 g de amostra, a qual foi primeiramente oxidada em uma atmosfera de oxigênio puro. Os produtos formados na zona de combustão foram o CO₂, H₂O e NO_x que, depois de formados, foram homogeneizados e controlados em condições adequadas de volume, temperatura e pressão. Os gases, depois de homogeneizados, são despressurizados e, através de uma coluna de redução, são separados e detectados em função da sua condutividade térmica e convertidos em porcentagem de C, H e N contidos na amostra.

As temperaturas das colunas de combustão e redução foram 925°C e 640°C, respectivamente.

3.1.10. Teste de Seletividade

Para a realização deste teste, o efeito dos concomitantes foi estudado empregando-se soluções de Cu, Pb, Zn e Ni em concentrações de 200, 230, 980 e 548 µg L⁻¹, respectivamente, preparadas na presença de NH₄Cl 2% (m/v) em HNO₃ 6,0 mol L⁻¹ para Cu, Pb e Zn e NH₄Cl 2% (m/v) em HCl 2 mol L⁻¹ para o Ni, nas quais foram adicionados os concomitantes em uma faixa de concentração descrita no Quadro 1. Este estudo realizou-se baseado nas concentrações dos metais encontradas no material certificado usado para checar a exatidão do método (Estuarine Sediment).

Quadro 1. Faixa de concentração dos concomitantes estudados no teste de seletividade, para as amostras de sedimento de rio.

Concomitante	Concentração (mg L ⁻¹)	Concomitante	Concentração (mg L ⁻¹)
Cr ⁶⁺	0,40 e 1,50	Mg ²⁺	40,00 e 130,00
Ni ²⁺	0,20 e 1,00	K ⁺	85,00 e 290,00
Mn ²⁺	2,00 e 8,00	Pb ²⁺	0,10 e 0,50
Zn ²⁺	0,50 e 2,00	Cu ²⁺	0,10 e 0,40
Al ³⁺	230,00 e 800,00	Fe ³⁺	200,00 e 700,00
Ca ²⁺	200,00 e 700,00		

3.2. Krill (*Euphausia superba*)

3.2.1. Coleta da Amostra

Aproximadamente 20 kg de krill (*Euphausia superba*) foram amostrados durante a X Expedição Italiana ao continente Antártico (1994-1995). O krill foi amostrado perto da área do mar Ross, a uma profundidade de 30 m. O krill coletado foi transferido para frascos de polietileno, previamente limpos e imediatamente congelado a -20°C até chegada do material na base Italiana. Nestas condições de temperatura, as amostras foram levadas até o Centro de Coordenação do Projeto Antártico Italiano, o Istituto Superiore de Sanità (ISS)^[105].

3.2.2. Preparo da Amostra após Coleta

Após as amostras chegarem até o ISS, essas foram descongeladas para que o krill pudesse ser lavado. Depois, esse material foi liofilizado até massa constante. A amostra foi triturada e acondicionada em pequenos frascos de vidro, contendo aproximadamente 1,0 g de amostra cada um,

para posterior análise em todos os laboratórios que participaram do programa de certificação. Essa amostra chegou até o Instituto de Química - UNICAMP através da colaboração entre o nosso laboratório e o laboratório da Comisión Nacional de Energía Atómica, Unidad de Actividad Química - Centro Atómico de Constituyentes (Argentina), sendo que este último participou do processo de certificação.

3.2.3. *Preparo das Suspensões*

As suspensões foram preparadas pesando-se 250 mg de krill liofilizado em balão volumétrico, cujo volume foi completado para 25,0 mL com HNO_3 2,0 mol L^{-1} , para a determinação de Cu, Fe e Zn. No caso do Mn, a suspensão foi preparada pesando-se 200 mg de krill liofilizado em balão volumétrico, cujo volume foi completado para 10,0 mL com HNO_3 4,0 mol L^{-1} . As suspensões foram sonicadas em um banho de ultra-som durante 15 min e, após a sonicação, foram levadas até o sistema de nebulização do FAAS para a determinação de Cu, Fe, Zn e Mn, cujas condições experimentais estão descritas na Tabela 4.

Tabela 4. Condições experimentais do FAAS para a determinação de Cu, Fe, Zn e Mn nas amostras de krill em suspensão

	Cu	Fe	Zn	Mn
Comp. de Onda (nm)	324,8	248,3	213,9	279,5
Fenda (nm)	0,7	0,2	0,7	0,2
Vazão de C_2H_2 (L min^{-1})	3,0	2,5	3,0	3,0
Vazão de ar (L min^{-1})	10,0	10,0	10,0	10,0

3.2.4. Decomposição em forno de microondas

O procedimento utilizado para a realização da decomposição das amostras foi o seguinte: foram pesados 500 mg de krill liofilizado e colocados em frascos de teflon, com capacidade para 100 mL. Adicionou-se às amostras, 6 mL de HNO_3 conc e 1 mL de H_2O_2 (30% v/v). Depois de realizada a decomposição, cujo programa do forno está descrito na Tabela 5, as amostras foram evaporadas em chapa elétrica, até próximo da seca. Neste ponto a amostra foi retomada em HNO_3 0,014 mol L^{-1} e o volume foi completado para 50,00 mL em balão volumétrico, para posterior determinação de Cu, Fe, Zn e Mn por FAAS e, por ICP OES. As condições experimentais estão descritas na Tabela 6^[119].

Tabela 5. Programa do forno de microondas para a mineralização das amostras de krill

Etapa	Potência (W)	Tempo (min)
1	250	1
2	0	1
3	250	5
4	400	5
5	650	5

Tabela 6. Condições experimentais do ICP OES, para a determinação de Cu, Zn, Fe e Mn nas amostras de krill.

Potência (KW)	1,1	
Frequência gerador rf (MHz)	40	
Monocromador	Czerny – Turner	
Câmara de spray	Ryton Scott passagem dupla	
Vazão gás refrigerante (L min^{-1})	15	
Vazão de gás auxiliar (L min^{-1})	2	
Vazão amostra (mL min^{-1})	0,8	
Comprimento de onda (nm)	Cu (I) 324,75	Fe (II) 238,20
	Mn (II) 257,61	Zn (II) 213,87
Tempo de integração (s)	20	

3.3. Lapa (*Nacella concinna*)

3.3.1. Coleta e Preparo da Amostra

As lapas (*Nacella concinna*) foram coletadas manualmente nas imediações de Potter cove, King Georg Island, South Shetland Islands, Antártica, na época de maré baixa, durante o verão Austral. Os moluscos recolhidos, foram transferidos para frascos de polietileno, previamente limpos, e imediatamente congelados a -20°C até chegada do material na base Argentina. Nessas condições de temperatura, as amostras foram levadas até o Instituto Antártico Argentino. Uma vez chegada as amostras ao Instituto, essas foram descongeladas, separadas de suas conchas, e só o molusco foi seco em estufa (50°C) durante 72 h. Depois de seco, o material foi triturado em um almofariz de porcelana e acondicionado em frascos limpos^[120]. Essas amostras foram obtidas através da colaboração com o mesmo laboratório da Argentina (Comisión Nacional de Energía Atómica, Unidad de Actividad Química – Centro de Constituyentes).

3.3.2. Material Certificado de Referência

Para avaliar o método proposto, um material certificado de referência (NBS SRM 1566a – Oyster Tissue) foi utilizado para as amostras em suspensão.

3.3.3. Preparo das Suspensões

As suspensões foram preparadas pesando-se 250 mg de Lapa em balão volumétrico, cujo volume foi completado para 25,0 mL com HNO_3 1,0 mol L^{-1} . As suspensões foram sonicadas em um banho de ultra-som durante 15 min e, após, foram levadas até o sistema de nebulização do

FAAS para a determinação de Cu e Zn (Condições Experimentais – Tabela 1).

3.3.4. Decomposição em Forno de Microondas

O procedimento utilizado para a realização da decomposição das amostras foi o seguinte: foram pesadas 500 mg de amostra seca e colocadas em frascos de Teflon®, com capacidade para 100 mL. Adicionou-se aos frascos de teflon, contendo amostra, 10 mL de HNO₃ conc. Depois de realizada a decomposição, cujo programa do forno pode ser visto na Tabela 7, as amostras foram evaporadas em chapa elétrica até quase secura. Nesse ponto, a amostra foi retomada em HNO₃ 2% (v/v), onde completou-se o volume para 25,0 e 50,0 mL, em balão volumétrico, para a determinação de Cu e Zn, respectivamente, em um espectrômetro de absorção atômica com chama, cujas condições experimentais estão descritas na Tabela 1.

Tabela 7. Programa do forno de microondas utilizado para a decomposição das amostras de lapa. $T_{lim} = 190^{\circ}\text{C}$ e $P_{lim} = 1,24 \text{ MPa}$ (180 psi).

Temperatura (°C)	Potência (W)	Tempo de rampa (min)	Tempo de Permanência (min)
170	1000	10	15

3.3.5. Teste de Seletividade

Para a realização deste teste o efeito dos concomitantes foi estudado empregando-se soluções de Cu e Zn em concentrações de 1330,0 e 990,0 $\mu\text{g L}^{-1}$, respectivamente, preparadas na presença de HNO₃ 1,0 mol L⁻¹, as quais foram adicionados os concomitantes em concentrações descritas no Quadro 2 para Cu e no Quadro 3 para Zn. Este estudo realizou-se baseado

nas concentrações dos metais encontradas no material certificado usado para checar a exatidão do método (Oyster Tissue).

Quadro 2. Concentração dos concomitantes estudados no teste de seletividade para o Cu.

Concomitante	Concentração (mg L⁻¹)	Concentração (mg L⁻¹)
Na ⁺	167,0	417,0
K ⁺	316,0	790,0
Fe ³⁺	22,0	54,0
Al ³⁺	8,0	20,0
Mg ²⁺	47,0	118,0

Quadro 3. Concentração dos concomitantes estudados no teste de seletividade para o Zn.

Concomitante	Concentração (mg L⁻¹)	Concentração (mg L⁻¹)
Na ⁺	10,0	25,0
K ⁺	19,0	47,5
Fe ³⁺	1,3	3,2
Al ³⁺	0,5	1,2
Mg ²⁺	3,0	7,0
Cu ²⁺	0,2	0,4

V. RESULTADOS E DISCUSSÃO

1.0. Amostragem de Suspensão

Com o objetivo de otimizar o preparo das suspensões para o desenvolvimento dos métodos apresentados nesta Tese, parâmetros tais como: o tipo de ácido a ser empregado como meio diluente e sua concentração, o tamanho de partícula e a seletividade foram investigados. Os resultados obtidos a partir destes estudos serão discutidos a seguir.

1.1. Estabilidade da suspensão

Os erros associados com a amostragem de suspensões podem ser minimizados quando se trabalha com partículas pequenas, suspensões mais concentradas e uma estreita faixa de tamanho de partícula^[22]. Considerando um fato bem conhecido de que maiores quantidades de partículas reduz erros de amostragem, é prudente obter pequenos tamanhos de partícula, uma vez que isso resultará em um maior número delas que poderão chegar até a chama. De acordo com alguns autores^[24], com o uso de partículas menores que 25 μm pode-se chegar a melhores resultados. Neste trabalho, foram utilizados para sedimento de rio tamanhos de partícula entre 150 e 38 μm , sendo os tamanhos de partícula denominados como A, B, C e D correspondentes as seguintes faixas: $38 < \phi \leq 53 \mu\text{m}$ (A); $53 < \phi \leq 63 \mu\text{m}$ (B); $63 < \phi \leq 75 \mu\text{m}$ (C) e $75 < \phi \leq 150 \mu\text{m}$ (D). Quando se empregaram tamanhos de partícula na faixa correspondente a D, foi observado um decréscimo no sinal analítico de

50% para Cu, Pb e Zn, enquanto que, para partículas nas faixas correspondentes as letras A, B e C, não ocorreram diferenças significativas nos resultados, como pode ser observado na Figura 3. Para o Ni, foram obtidos melhores resultados quando utilizou-se uma faixa de diâmetro de partícula igual a B, o qual pode ser observado através da Figura 4. A partir desse estudo, utilizou-se um diâmetro de partícula na faixa correspondente a C para a determinação de Cu, Pb e Zn e na faixa correspondente a B para a determinação de Ni.

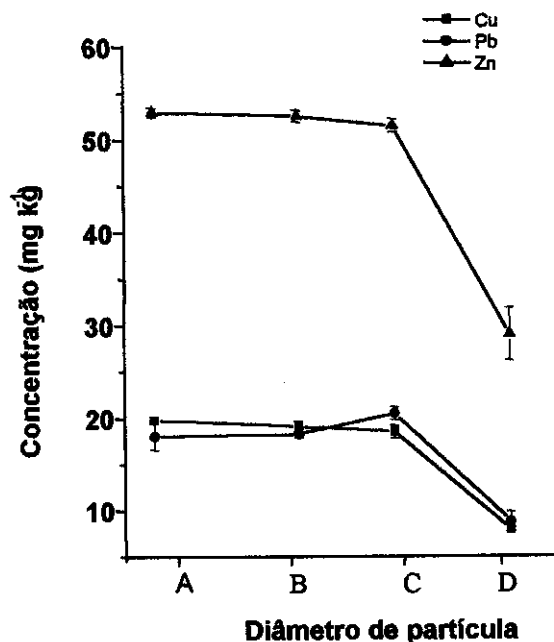


Figura 3. Influência do diâmetro de partícula na concentração de Cu, Pb e Zn para as amostras de sedimento de rio. A ($38 < \phi \leq 53 \mu\text{m}$); B ($53 < \phi \leq 63 \mu\text{m}$); C ($63 < \phi \leq 75 \mu\text{m}$); D ($75 < \phi \leq 150 \mu\text{m}$)

Por ser o krill um material que na época estava em processo de certificação, não foi realizado um estudo do tamanho das partículas, como nas amostras anteriores. Neste caso, foi realizada uma análise da

distribuição do tamanho de partículas, através de uma microscopia eletrônica de varredura. Com a realização desta análise, foi possível constatar que o material contém a maioria de suas partículas com um diâmetro médio de 40 μm e, portanto, dentro das faixas normais de trabalho (Figura 5). Desta forma, foi possível preparar as suspensões de krill sem que fosse realizada nenhuma moagem ou peneiramento adicionais.

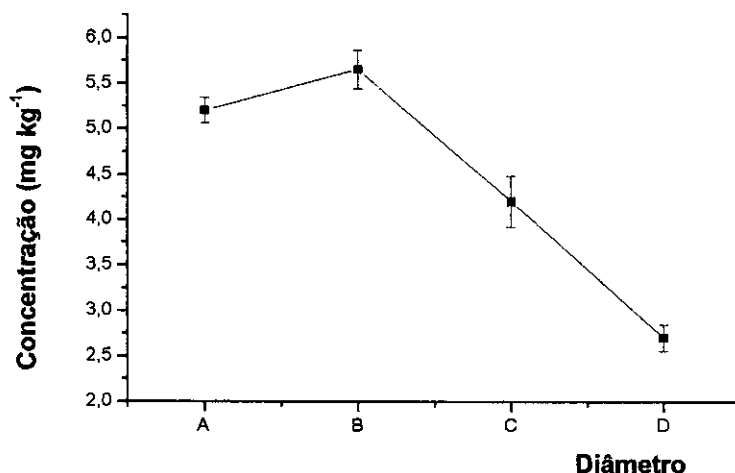


Figura 4. Influência do diâmetro de partícula na concentração de Ni para as amostras de sedimento de rio. A ($38 < \phi \leq 53 \mu\text{m}$); B ($53 < \phi \leq 63 \mu\text{m}$); C ($63 < \phi \leq 75 \mu\text{m}$); D ($75 < \phi \leq 150 \mu\text{m}$)

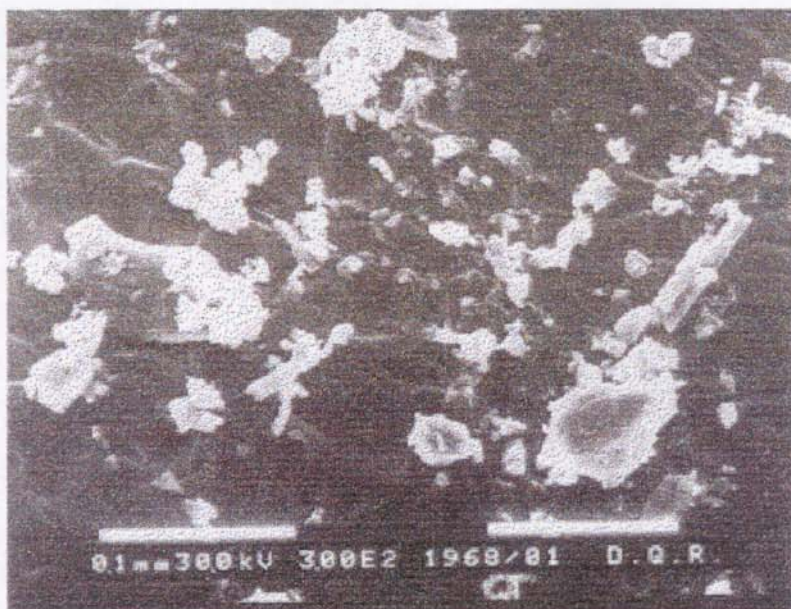


Figura 5. Microscopia eletrônica de varredura da amostra de krill

Para as lapas, não foi realizado um estudo em relação ao tamanho de partícula. Optou-se em utilizar diretamente um diâmetro de partícula correspondente a faixa C, em virtude dos estudos realizados para as amostras de sedimento de rio. Nesta faixa de tamanho de partícula pode-se quantificar 94,9 % e 101% dos elementos Cu e Zn, respectivamente, nas amostras de lapa.

O uso de agentes tixotrópicos, tais como, Triton X-100^[24], Viscalex^[18], Glicerol^[37] entre outros, são recomendados para estabilizar e homogeneizar a suspensão. Neste trabalho, a presença de Triton X-100 não melhorou o sinal analítico em nenhuma das amostras. Portanto, utilizando somente um banho de ultra-som (por 15 min), e agitando-se manualmente a suspensão, imediatamente antes da introdução das mesmas no sistema de nebulização do FAAS, foi o suficiente para estabilizar a suspensão no momento da quantificação de todos os metais

em estudo, nos quais foram obtidos resultados com boa precisão (RSD entre 2 e 5%).

1.2. Concentração dos ácidos usados no preparo das suspensões

De acordo com a literatura, as suspensões podem ser preparadas utilizando-se soluções ácidas^[44,100]. Neste trabalho, as amostras de sedimento de rio foram suspensas em HNO_3 , para a determinação de Cu, Pb e Zn, e HCl na determinação de Ni. As amostras antárticas também foram suspensas em HNO_3 . Os ácidos nítrico e clorídrico foram escolhidos como meio para as suspensões, considerando ser conhecido na literatura, que eles não provocam interferências quando usados em espectrometria de absorção atômica com chama.

As suspensões foram preparadas na ausência e na presença de HNO_3 ou HCl, até uma concentração máxima de $6,0 \text{ mol L}^{-1}$ para as amostras de sedimento de rio e de krill. Para as amostras de lapa, as suspensões foram preparadas somente na presença de HNO_3 , até a concentração máxima de $4,0 \text{ mol L}^{-1}$.

Para as amostras de sedimento de rio, os melhores resultados obtidos, quando somente água foi utilizada como meio para a suspensão, foi para o Cu, no qual pode-se quantificar ca. de 37%. Na presença de HNO_3 e NH_4Cl houve uma melhora significativa na quantificação de Cu, Pb e Zn, chegando a 60, 70 e 80% respectivamente. Os sinais analíticos permaneceram praticamente constantes quando empregou-se HNO_3 entre $2\text{--}4 \text{ mol L}^{-1}$. A determinação quantitativa de Cu, Pb e Zn (ca 95%) foi satisfatória somente com o emprego de HNO_3 $6,0 \text{ mol L}^{-1}$ contendo NH_4Cl 2% (m/v), que pode ser observado através da Figura 6.

Para o Ni, pode-se quantificar apenas 51% quando empregou-se HNO_3 $2,0 \text{ mol L}^{-1}$ contendo NH_4Cl 2% (m/v). Através deste resultado, pode-se concluir que existe grande probabilidade deste elemento estar formando $\text{Ni}(\text{NO}_3)_2$, que é utilizado como modificador químico em GFAAS^[73,78]. Neste caso, foi necessária a escolha de um outro ácido, como meio de suspensão alternativo, na determinação deste analito. Realizou-se um novo estudo da acidez utilizando HCl nas mesmas concentrações anteriores (Figura 7). Com este novo estudo, constatou-se que quando HCl $2,0 \text{ mol L}^{-1}$ contendo NH_4Cl 2% (m/v) foram utilizados como meio de suspensão, o Ni foi totalmente determinado (ca 98%).

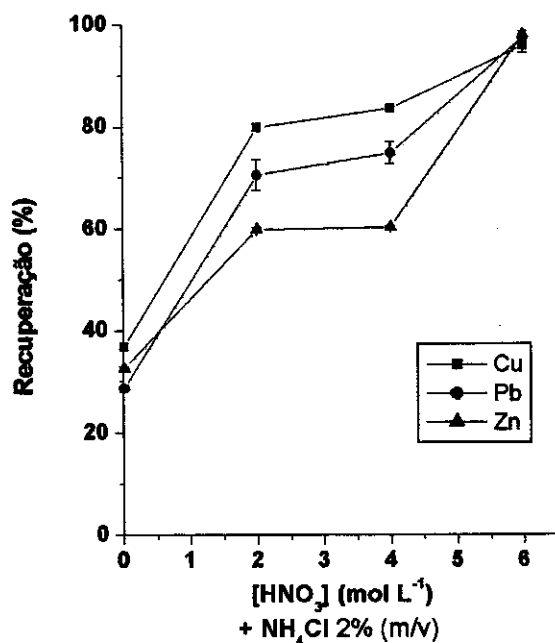


Figura 6. Influência da acidez para o preparo das suspensões de sedimento de rio na determinação de Cu, Pb e Zn.

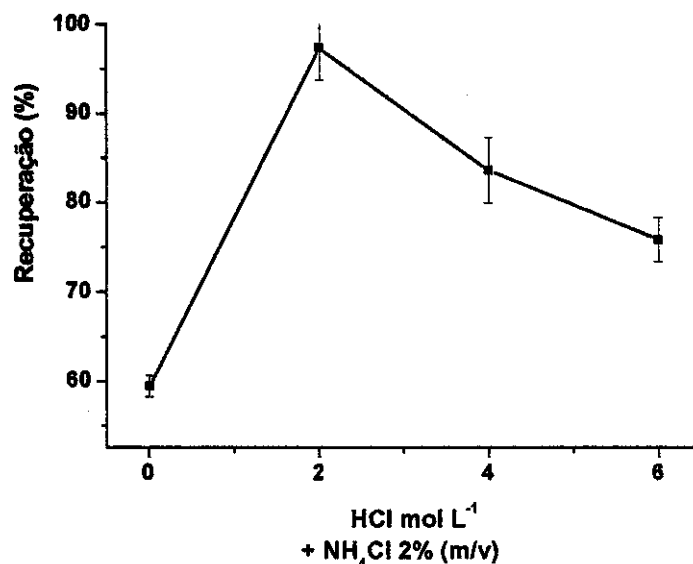


Figura 7. Influência da acidez no preparo das suspensões de sedimento de rio para a determinação de Ni.

Um outro experimento foi realizado somente na fase líquida da suspensão, através de uma filtração simples, com o objetivo de facilitar a introdução da amostra no FAAS. Não obstante, quando somente a fase líquida foi analisada, observou-se uma diminuição severa na quantificação de Cu, Pb, Zn e Ni para 41, 49, 25 e 50%, respectivamente. Este experimento é um indicativo de que, embora a concentração do ácido seja alta, não ocorre a extração total do metal para a fase líquida, tornando-se também necessária a introdução das partículas sólidas para uma quantificação correta.

Para as amostras de krill, realizou-se o teste de acidez na presença de água e soluções de HNO₃ em diferentes concentrações que variaram de 2,0 a 6,0 mol L⁻¹. Através desse estudo, observou-se que quando o meio de suspensão foi apenas água, não foi possível determinar quantitativamente os analitos em estudo, principalmente o Fe. Entretanto,

quando utilizou-se HNO_3 em concentrações de 2, 4 ou 6 mol L^{-1} , pode-se observar que para Cu e Zn a determinação foi quantitativa nas três concentrações, porém, para o Fe, houve uma diminuição do sinal analítico em função do aumento na acidez e, portanto, uma concentração de 2,0 mol L^{-1} foi a escolhida para o preparo das suspensões, onde Fe, Zn e Cu foram quantitativamente determinados ca. 99, 95 e 93%, respectivamente. Com relação a determinação de Mn, nenhuma alteração foi observada quando se utilizou HNO_3 4,0 ou 6,0 mol L^{-1} , no qual determinou-se ca. de 97,6% para as duas concentrações. Portanto, para o Mn HNO_3 4,0 mol L^{-1} foi selecionado para o preparo das suspensões, devido a segurança do operador e diminuição de custos (Figura 8).

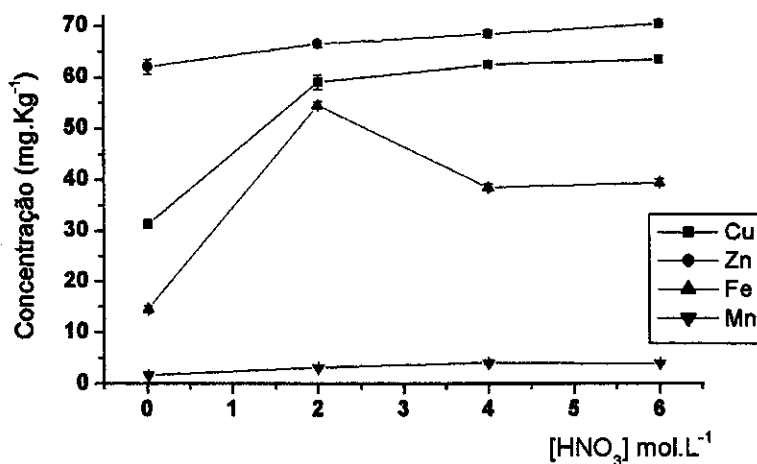


Figura 8. Influência da acidez para o preparo das suspensões de krill na determinação de Cu, Zn, Fe e Mn.

Para as lapas, o teste de acidez realizou-se somente com soluções ácidas, porque segundo Petrucci e Van Loon^[29] usar somente água como meio diluente, neste tipo de amostra, provoca uma grande agregação das

partículas sólidas que pode dificultar a quantificação dos analitos em estudos empregando-se FAAS. Dessa maneira, recomenda-se o uso de soluções de HNO_3 como meio diluente, porque este ácido é capaz de diminuir a tensão superficial da solução, minimizando a agregação das partículas e, portanto, melhorando a eficiência do transporte da suspensão através do sistema de nebulização do equipamento^[29].

Observou-se que com o uso de HNO_3 $0,014 \text{ mol L}^{-1}$, como meio diluente, pode-se determinar 96% para Zn, mas para o Cu esta ficou em torno de 41%. Por esta razão, aumentou-se a concentração do ácido para 1, 2 ou 4 mol L^{-1} . Quando utilizou-se um meio de suspensão nestas três concentrações, nenhuma diferença significativa na determinação de Cu e Zn foi observada. Portanto, elegeu-se uma concentração de $1,0 \text{ mol L}^{-1}$ para o preparo das suspensões porque, além de determinar quantitativamente os dois analitos (96% para Cu e 100% para Zn), foi mais seguro e barato trabalhar com soluções menos concentradas (Figura 9).

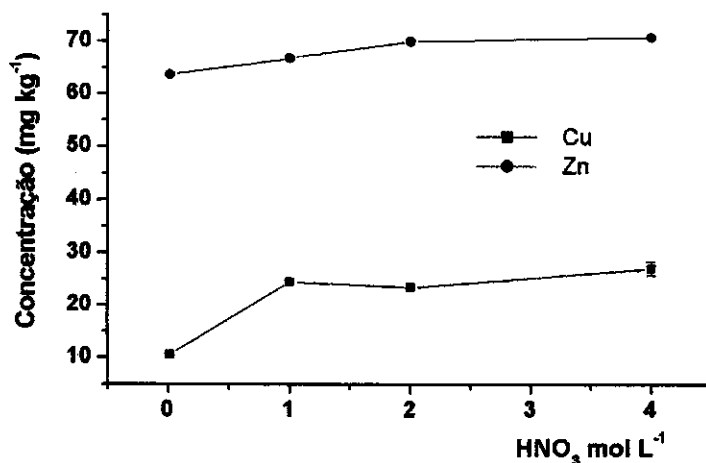


Figura 9. Influência da acidez para o preparo das suspensões de lapa na determinação de Cu e Zn.

1.3. Seletividade

Não foram observadas interferências espectrais. Entretanto, foram observadas interferências químicas negativas na determinação de Cu na matriz de sedimento de rio quando diferentes concomitantes foram estudados (tais como Cr, Al, Ca, Fe, Zn, Mn, K, Na). Interferências positivas somente foram observadas para Pb, principalmente para altas concentrações. Devido a complexidade da matriz (suspensões) e a não existência de dados na literatura sobre atomização de suspensões em chama, torna-se inviável afirmar qualquer posição relacionada as interferências observadas. Entretanto, uma hipótese pode ser avaliada sob o prisma de Rubeska e Pelikánová¹²¹, que tentaram explicar o aumento na absorbância por de reações heterogêneas que podem ocorrer na chama. Os autores atribuíram este comportamento devido ao aerosol de partículas secas que, ao entrarem em contato com a chama, formam óxidos. Simultaneamente, ocorre a redução de espécies que contém carbono nos gases da chama. Desse modo, a cinética das duas reações simultâneas (vaporização e redução) tomam lugar na atomização do metal, incrementando a absorbância. Com o intuito de solucionar este problema e melhorar a recuperação dos analitos estudados, NH_4Cl foi usado como modificador químico. Esta substância é capaz de aumentar a volatilidade dos analitos estudados, porque sais de amônio se decompõem a temperaturas menores que 400°C ^[122,123] e também pode alterar a via de atomização na chama através do íon Cl^- .

O efeito dos concomitantes foi estudado para a matriz de sedimento de rio, empregando-se soluções de Cu, Pb, Zn e Ni em concentrações de 200, 230, 980 e $548 \mu\text{g L}^{-1}$, respectivamente, preparadas na presença de HNO_3 $6,0 \text{ mol L}^{-1}$ contendo NH_4Cl 2% (m/v) para Cu, Pb e Zn e, para Ni, na

presença de HCl 2,0 mol L⁻¹ contendo NH₄Cl 2% (m/v) e dopadas com os concomitantes em uma faixa de concentração descrita no Quadro 1. Este estudo realizou-se baseado nas concentrações de metais descritas no material certificado usado para a exatidão do método (Estuarine Sediment), e as diluições foram as usualmente utilizadas para a determinação dos elementos estudados.

A recuperação para Zn e Ni não foi afetada por nenhum dos íons adicionados. Na determinação de Cu, observou-se uma depressão no sinal analítico de ca. de 14% na presença de 1,50 mg L⁻¹ de Cr⁶⁺. A recuperação de Pb foi afetada por todos os íons estudados. Neste caso, além de estudar os íons individualmente, um novo estudo foi realizado considerando-se a complexidade da matriz de sedimento de rio. Por esta razão, o efeito de uma mistura de todos os concomitantes foi avaliado, com o objetivo de simular o comportamento de uma amostra real. Depois deste estudo, pode-se observar que a interferência causada pelo Cr⁶⁺, na concentração de 1,5 mg L⁻¹ na quantificação do Cu, foi totalmente eliminada. Não obstante, as interferências causadas por grandes quantidades dos concomitantes na determinação do Pb não foram eliminadas, causando um aumento significativo na absorção deste elemento.

Para a matriz de lapa antártica, o efeito dos concomitantes também foi estudado, empregando-se soluções de Cu e Zn em concentrações de 1330,0 e 990,0 µg L⁻¹, respectivamente, preparadas na presença de HNO₃ 1,0 mol L⁻¹ e dopadas com os concomitantes nas concentrações descritas no Quadro 2 para Cu, e Quadro 3 para Zn. Este estudo realizou-se baseado nas concentrações de metais descritas no material certificado usado para a exatidão do método (Oyster Tissue).

Nenhuma interferência foi observada nas concentrações estudadas tanto para Cu quanto para Zn, onde pode-se concluir que o método proposto tem grande tolerância ao efeito dos concomitantes.

2. Decomposição das amostras de sedimento de rio em forno de microondas

Executaram-se estudos para o desenvolvimento de uma metodologia de abertura de amostra em forno de microondas para a determinação total de cobre, chumbo, zinco e níquel em sedimento de rio.

Neste estudo, foram otimizadas condições tais como: composição da mistura digestora, tempo de mineralização e modo de operação do forno.

Primeiramente, testou-se uma mistura digestora composta de $\text{HNO}_3/\text{HCl}/\text{HF}$ na proporção 2:6:5, onde utilizou-se 5 mL desta mistura para 250 mg de amostra, empregando-se o modo de operação do forno com o controle da temperatura, a uma temperatura de 180°C, durante 15 min e uma pressão de 1,37 MPa (200 psi). Essa metodologia não mostrou-se efetiva e, portanto, foi testada uma outra, na qual a pressão foi aumentada de 1,37 MPa para 2,07 MPa (300 psi), mantendo-se todas as outras condições de trabalho iguais as anteriores.

Não foram obtidos bons resultados com essa metodologia, visto que não foi possível determinar totalmente os elementos em estudo. Dessa forma, aumentou-se a quantidade de mistura digestora de 5 para 13 mL, mantendo-se a proporção dos reagentes. Com o aumento da quantidade de mistura digestora obteve-se uma melhora significativa na determinação de cobre, chumbo e zinco, a qual pode ser verificada utilizando-se um material certificado de referência (Estuarine Sediment).

Com o intuito de atingir a determinação quantitativa de todos os elementos propostos, um novo método foi empregado. Esta nova tentativa baseou-se em estudar a quantidade de mistura ácida e sua composição, potência, tempo de digestão e modo de operação do forno.

Primeiramente mudou-se o modo de operação do forno para controle da potência em função do tempo, utilizando 5 etapas como se segue: 200 W por 3 min, 400 W por 5 min, 600 W por 5 min, 700 W por 5 min e 80 W por 2 min. A temperatura limite foi de 180°C e a pressão limite de 2,41 MPa (350 psi).

Com este novo método, ainda não se obteve o sucesso desejado, ou seja, a determinação quantitativa dos analitos em estudo e, portanto, pode-se concluir que o tempo de digestão da etapa 4 deveria ser modificado para 20 min, e a temperatura limite alterada para 190°C (ver Tabela 2). Essa mudança na programação do forno resultou na determinação quantitativa de cobre, mas não para zinco.

Em função desses novos resultados um novo método foi testado utilizando 500 mg de amostra e uma mistura digestora composta de água régia e HF na proporção 10:5, mantendo-se a programação do forno (Tabela 2). Este método mostrou-se efetivo na determinação de cobre, zinco e chumbo, com um valor médio de determinação de 99, 99 e 95 % respectivamente. Para o Ni, ainda não foi possível sua total determinação.

Para a determinação de Ni em sedimento de rio utilizou-se a mesma metodologia de abertura de amostra em forno de microondas citada na Tabela 2. Dessa forma, o metal foi determinado diretamente no espectrômetro de absorção atômica com chama. Nessa primeira tentativa pode-se determinar apenas 42% do analito e, portanto, pode-se concluir que seria necessário adicionar um modificador químico à solução.

Foram testados vários supressores tais como cloreto de amônio, óxido de lantânio, 8-hidróxiquinolina, até mesmo a reação com Tiron, para complexar principalmente o ferro. Entretanto, a determinação ainda foi insatisfatória (53%). Objetivando a determinação quantitativa do analito recorreu-se a outra técnica analítica para a determinação de Ni por emissão atômica com plasma induzido (ICP OES), cujas condições experimentais podem ser vistas na Tabela 3, com o intuito de avaliar se o problema estava nas interferências que não foram possíveis de serem suprimidas no FAAS, ou no programa do forno utilizado para a decomposição da amostra. Dessa forma, com a determinação do níquel realizada por um ICP OES foi possível determinar 95,6 % do analito.

3. Caracterização das amostras de Sedimento de rio: análise elementar, XRD e XRF

Os resultados da análise elementar foram os seguintes:

- Rio Atibaia: C=1,01% N=0,50% H=0,16%
- Rio Tietê: C=2,90% N=0,63% H=1,44%
- Rio Branco: C=3,07% N=0,60% H=1,33%
- Estuarine Sediment: C=0,82% N=0,10% H=0,22%

De acordo com os resultados obtidos na análise elementar, pode-se observar que existem diferenças no conteúdo de matéria orgânica entre as amostras analisadas. Não obstante, essas diferenças não afetam a determinação dos analitos em estudo.

Executou-se, também, em paralelo a essas atividades, a XRD da amostra dos sedimentos dos rios Atibaia, Tietê e Branco, e também, do material certificado (Estuarine Sediment), com o intuito de obter mais informações sobre a matriz. Com a execução dessa análise torna-se

possível a elucidação da constituição básica das amostras dos sedimentos dos rios em estudo e do sedimento certificado.

Com a obtenção dos difratogramas de raios-X para as amostras dos sedimentos dos rios Atibaia, Tietê e Branco e sedimento certificado, pode-se observar que as amostras dos sedimentos em estudo são constituídas basicamente de uma mistura de argilo-minerais (provenientes dos grupos da montmorilonita, kaolinita e haloisita) e óxido de silício. O sedimento certificado é constituído basicamente de óxido de silício (Figuras 10 - 13). Pode-se observar também, nos difratogramas, que as amostras dos sedimentos dos rios Tietê e Branco apresentam maior quantidade de material amorfo que os sedimentos dos rios Atibaia e certificado.

Com esses resultados pode-se concluir que a matrizes dos rios Atibaia, Tietê e Branco são mais complexas que a do sedimento certificado (Estuarine Sediment), por possuírem, além da fração quartzo, uma grande fração de argilo-minerais.

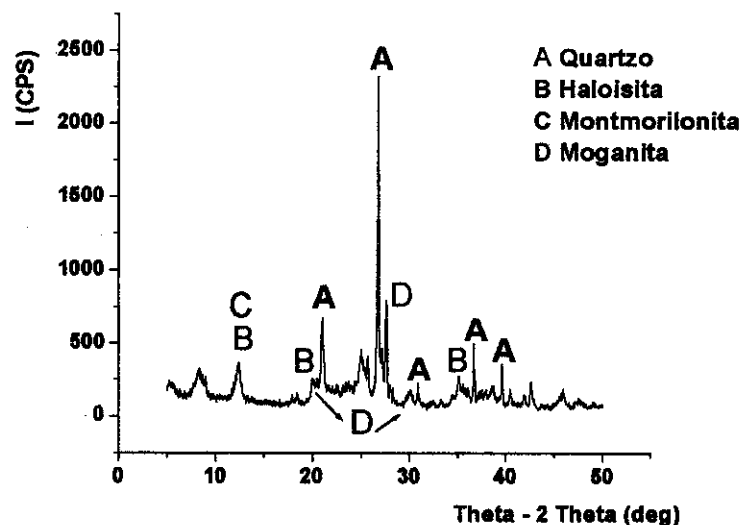


Figura 10. Difratograma de raios-X da amostra do sedimento do rio Atibaia

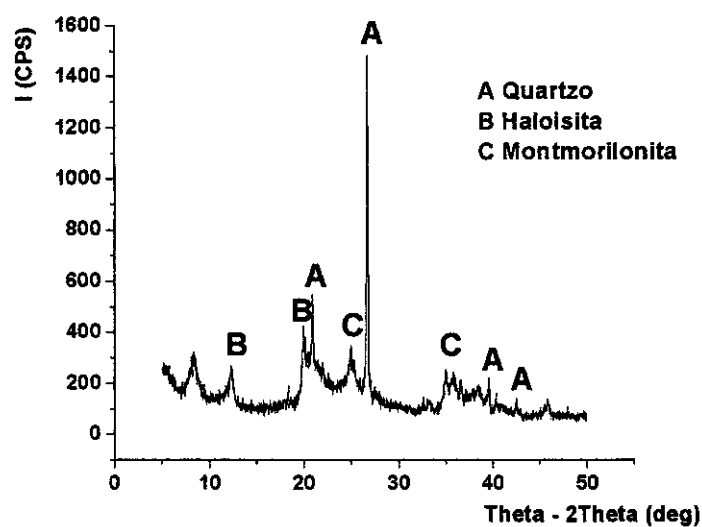


Figura 11. Difratoograma de raios-X da amostra do sedimento do rio Tietê

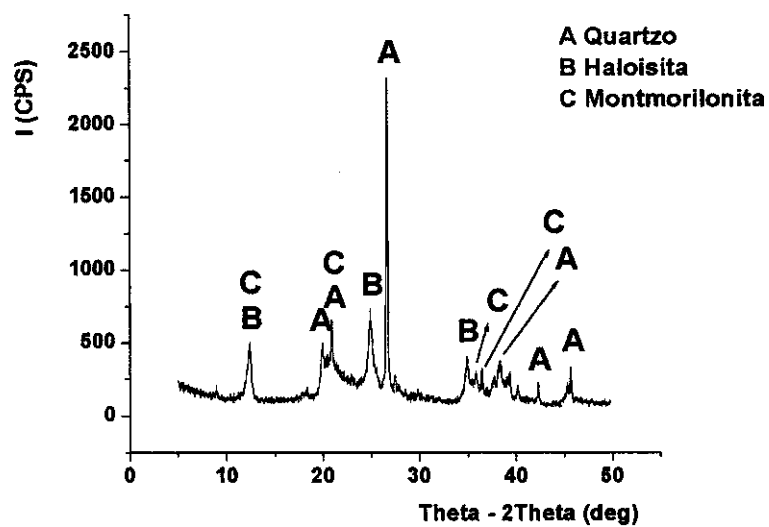


Figura 12. Difratoograma de raios-X da amostra do sedimento do rio Branco

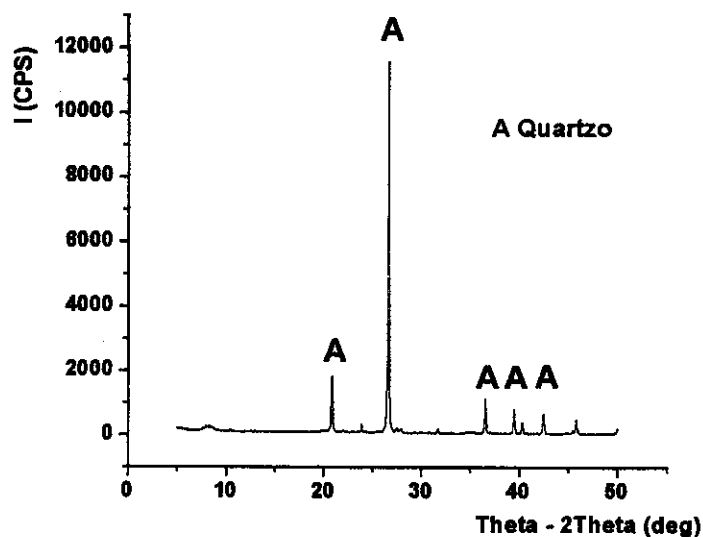


Figura 13. Difratoograma de raios-X da amostra do sedimento certificado (Estuarine Sediment)

A fluorescência de raios-X realizou-se depois da difração, para que fosse possível obter informação mais detalhada sobre a fração de argilo-minerais que constituem as amostras dos sedimentos dos rios em estudo, e do sedimento certificado. Com a execução dessa análise pode-se avaliar a porcentagem dos óxidos encontrados em cada um destes sedimentos. Com isto foi objetivado uma caracterização mais completa de cada amostra de sedimento. Os resultados podem ser vistos através da Tabela 8, os quais mostram as diferenças que existem entre as amostras.

Tabela 8. Resultados da fluorescência de raios-X realizada para as amostras dos sedimentos dos rios Atibaia, Tietê e Branco, e o sedimento certificado em % de óxido.

Óxido	Tietê	Atibaia	Branco	Sedimento Certificado
SiO ₂	55,40	52,60	59,80	85,40
TiO ₂	2,13	1,77	0,99	0,75
Al ₂ O ₃	18,40	31,90	28,10	4,50
Fe ₂ O ₃	11,21	5,21	4,93	2,90
MnO	0,29	0,01	0,04	0,03
MgO	0,64	0,63	0,36	0,67
CaO	0,23	0,11	0,11	0,71
Na ₂ O	0,04	0,87	0,05	1,05
K ₂ O	0,94	0,19	1,67	1,06
P ₂ O ₅	0,31	0,46	0,09	0,07

4.0. Características Analíticas

Os parâmetros analíticos usados na determinação de Cu, Pb, Zn e Ni em sedimento de rio, Cu, Zn, Fe e Mn em krill antártico e Cu e Zn em lapa antártica com o método de amostragem de suspensões, estão descritos nas Tabelas 9, 10 e 11, respectivamente. A precisão do método é boa para todas as diferentes amostras estudadas com RSD de 5% para sedimento de rio e RSD de 2,5% para as amostras antárticas. Foram obtidos resultados concordantes quando utilizou-se o teste-*t* (limite de confiança de 95%) para comparar os resultados entre as amostras reais e a amostra certificada e, também, entre amostras mineralizadas e em suspensão.

Tabela 9. Características analíticas na determinação de Cu, Pb, Zn e Ni em sedimento de rio, utilizando a técnica de amostragem de suspensão.

Elemento	Faixa Linear ($\mu\text{g L}^{-1}$)	Coefficiente correlação (r)	LD* ($\mu\text{g L}^{-1}$)	LQ** ($\mu\text{g L}^{-1}$)
Cu	100 – 2000	0,995	17,30	57,66
Pb	200 – 1000	0,997	44,00	148,00
Zn	100 – 1000	0,999	5,68	18,94
Ni	300 – 2500	0,999	27,29	90,97

* LD= limite de detecção

**LQ= limite de quantificação

Tabela 10. Características analíticas na determinação de Cu, Zn, Fe e Mn em krill antártico, utilizando a técnica de amostragem de suspensão.

Elemento	Faixa Linear ($\mu\text{g L}^{-1}$)	Coefficiente correlação (r)	LD* ($\mu\text{g L}^{-1}$)	LQ** ($\mu\text{g L}^{-1}$)
Cu	50-2000	0,999	4,5	15,0
Zn	50-1000	0,999	1,0	3,5
Fe	70-1000	0,999	8,4	28,0
Mn	50-1000	0,999	4,9	16,0

* LD= limite de detecção

**LQ= limite de quantificação

Tabela 11. Características analíticas na determinação de Cu e Zn em lapa antártica, utilizando a técnica de amostragem de suspensão.

Elemento	Faixa Linear ($\mu\text{g L}^{-1}$)	Coefficiente correlação (r)	LD* ($\mu\text{g L}^{-1}$)	LQ** ($\mu\text{g L}^{-1}$)
Cu	100-2000	0,999	4,3	14,5
Zn	100-1000	0,999	3,0	9,7

* LD= limite de detecção

**LQ= limite de quantificação

5. Comparação dos Resultados

A comparação dos resultados entre as amostras analisadas neste trabalho na forma de suspensão e mineralizada, pode ser apreciada através das Tabelas 12 e 13 para o sedimento certificado e amostras dos sedimentos dos rios Atibaia, Tietê e Branco, respectivamente.

Para amostras de krill, a comparação dos resultados pode ser vista através da Tabela 14, na qual os resultados das amostras mineralizadas obtidos por FAAS e ICP OES foram fornecidos pelo laboratório da Argentina, que nos enviou as amostras de krill, para a comparação dos resultados obtidos por suspensão. Para as amostras de lapa, os resultados obtidos no material certificado (Oyster Tissue) e a comparação dos resultados obtidos na determinação de Cu e Zn, nas amostras de lapa, na forma de suspensão e mineralizada podem ser apreciados pelas Tabelas 15 e 16, respectivamente.

A exatidão das análises foi avaliada utilizando-se um material certificado de referência, assim como um método alternativo para a decomposição total da amostra.

Tabela 12. Comparação dos resultados obtidos na determinação de Cu, Pb, Zn e Ni (mg kg^{-1}) no material certificado Estuarine Sediment, em suspensão e mineralizado ($n=5$).

Elemento	Valor certificado	Mineralizado	suspensão
Cu	$10,01 \pm 0,34$	$10,50 \pm 0,10$	$9,70 \pm 0,50$
Pb	$11,7 \pm 1,2$	$11,7 \pm 0,5$	$11,7 \pm 0,5$
Zn	$48,9 \pm 1,6$	$44,0 \pm 1,8$	$47,5 \pm 1,9$
Ni	23*	$22,2 \pm 1,1^{**}$	$20,8 \pm 0,6$

* Valor de Referência **ICP OES

Tabela 13. Comparação dos resultados obtidos (mg kg^{-1}) nas amostras dos rios Atibaia, Tietê e Branco em suspensão e mineralizadas ($n=5$)

Amostra	Elemento	Suspensão	Mineralizado
Rio Atibaia	Cu	$21,4 \pm 1,9$	$20,4 \pm 1,5$
	Pb	$23,6 \pm 1,4$	$23,0 \pm 1,9$
	Zn	$52,5 \pm 2,6$	$52,0 \pm 2,0$
	Ni	$11,5 \pm 0,3$	$12,6 \pm 0,3^*$
Rio Tietê	Cu	$60,5 \pm 1,5$	$62,4 \pm 2,3$
	Pb	$30,9 \pm 2,3$	$15,4 \pm 2,3$
	Zn	$82,5 \pm 0,8$	$83,2 \pm 1,1$
	Ni	$47,1 \pm 0,9$	$49,2 \pm 0,6^*$
Rio Branco	Cu	$27,8 \pm 0,7$	$26,1 \pm 0,6$
	Pb	$29,8 \pm 0,9$	$16,9 \pm 1,4$
	Zn	$88,0 \pm 0,9$	$84,0 \pm 0,6$
	Ni	$28,2 \pm 1,3$	$29,6 \pm 0,6^*$

* ICP OES

Tabela 14. Determinação de Cu, Zn, Fe e Mn (mg kg^{-1}) em krill antártico. Comparação dos dados obtidos em suspensão por FAAS ($n=5$) e mineralizadas por FAAS e ICP OES.

Elemento	Suspensão	Mineralizado (FAAS)	Mineralizado (ICP OES)	Valor Certificado
Cu	$63,8 \pm 1,1$	$64,5 \pm 1,2$	$65,1 \pm 0,8$	$64,1 \pm 5,1$
Zn	$70,0 \pm 0,7$	$68,4 \pm 0,9$	$68,4 \pm 0,6$	$66,0 \pm 3,1$
Fe	$54,7 \pm 1,6$	$58,1 \pm 1,6$	$60,6 \pm 1,5$	$56,6 \pm 2,8$
Mn	$3,9 \pm 0,2$	$4,0 \pm 0,4$	$4,3 \pm 0,2$	$4,1 \pm 0,2$

Tabela 15. Resultados obtidos na suspensão do material certificado Oyster Tissue, na determinação de Cu e Zn (n=5).

	Valor encontrado (mg kg⁻¹)	Valor certificado (mg kg⁻¹)
Cu	62,0 ± 0,4	66,3 ± 4,3
Zn	773,2 ± 7,0	830,0 ± 57,0

Tabela 16. Determinação de Cu e Zn (mg kg⁻¹) em lapa antártica. Comparação dos dados obtidos de amostras em suspensão e mineralizadas por FAAS.

Elemento	Suspensão	Mineralizado
Cu	26,0±0,54	28,3±0,79
Zn	64,7±1,70	64,6±2,40

6.0. Perfil de Profundidade (Testemunho)

O método proposto foi aplicado à amostra de sedimento do rio Atibaia, onde coletou-se um perfil de 35 cm de profundidade, repartido em 7 frações iguais de 5 cm cada. A determinação da concentração destes metais neste perfil, pode ser uma ferramenta útil com relação à reconstituição histórica do uso e ocupação de uma bacia hidrográfica, ou seja, pode fornecer informação se no sedimento, que constitui essa bacia, houve ou não perturbação. Desta maneira, o Cu, Pb, Zn e Ni foram determinados por FAAS em cada uma destas frações (Figura 14). A principal utilidade destes resultados é a interpretação que pode ser feita quanto a variação vertical ao longo do perfil, entretanto, uma melhor avaliação apenas será possível a partir da datação destes sedimentos com traçadores radioativos como ²¹⁰Pb ou ¹³⁷Cs. Apesar desta datação não ter

vido realizada na presente Tese, foi demonstrada aqui a potencialidade do emprego da amostragem de suspensões, também neste tipo de estudo.

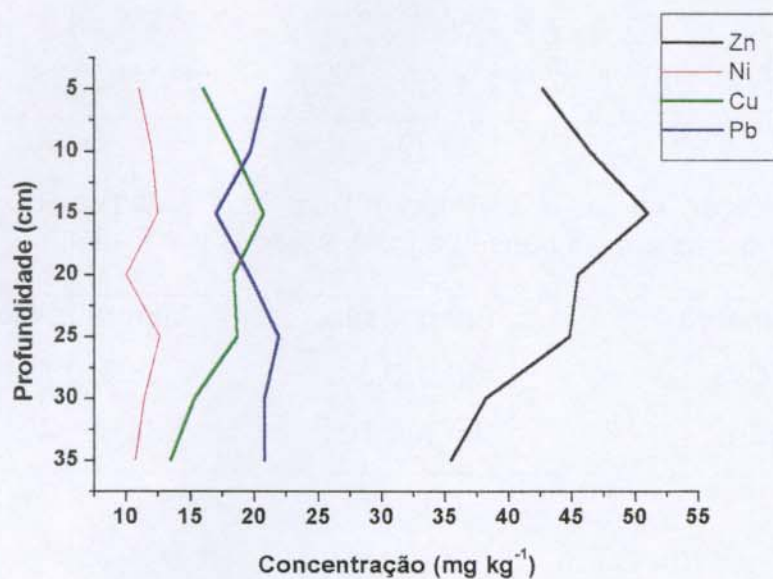


Figura 14. Determinação das concentrações de Cu, Pb, Zn e Ni no Testemunho do rio Atibaia.

VI. CONCLUSÃO

A amostragem de suspensão aliada a espectrometria de absorção atômica com chama demonstrou grande potencialidade para ser aplicada a diferentes matrizes ambientais tais como: sedimento de rio e organismos marinhos na determinação de diversos metais. Essa versatilidade permite que os métodos desenvolvidos nesta Tese, possam ser utilizados como uma ferramenta importante no monitoramento ambiental. Desta maneira, é possível administrar o meio ambiente de uma forma mais completa, analisando, por exemplo, não somente a água dos rios, mas também, o sedimento e a biota.

Além dessa vantagem, pode-se também estender a utilização destes métodos em outro tipo de estudo ambiental, tal como, a determinação de metais em um perfil de profundidade (Testemunho), para que seja possível a reconstituição histórica da ocupação de uma dada bacia hidrográfica.

Além destas aplicações, pode-se destacar, também, que a amostragem de suspensão mostrou-se eficaz para ser utilizada em processos de certificação de materiais (como no caso das amostras de krill), como um procedimento alternativo para ser empregado neste contexto.

Dessa forma, pode-se concluir que os métodos desenvolvidos neste trabalho apresentam características vantajosas para compor um processo analítico na determinação de metais, principalmente no que diz respeito a simplicidade de operação, versatilidade, rapidez e baixo custo das análises.

Embora os protocolos desenvolvidos nesta Tese para a determinação de metais em sedimento de rio e organismos aquáticos, tenham favorecido o fornecimento de subsídios para melhorar a qualidade da gestão ambiental, ainda existe um vasto campo de investigação a ser explorado objetivando estender esses estudos preliminares não apenas a outros metais de interesse, mas também a diferentes matrizes. Além desses estudos, pode-se também destacar que a exploração dos mecanismos envolvidos na interação chama/suspensão, e o caminho percorrido pelas partículas sólidas através do sistema de nebulização do equipamento de absorção atômica com chama até sua chegada no atomizador, é de grande importância na elucidação de novos caminhos para a determinação de metais em amostras de difícil dissolução.

Além de todas essas possibilidades, pode-se destacar que os métodos desenvolvidos podem ser utilizados com sucesso na determinação qualitativa dos metais propostos aqui e também de outros tais como Mn e Cr, como uma ferramenta na determinação dos pontos de coleta ao longo do curso de um rio, ou seja, o mapeamento de toda a bacia hidrográfica.

VII. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- [1] SEWELL, G. H. *Administração e Controle da Qualidade Ambiental* 1978, Edusp, 285 p.
- [2] HARRISON, R. M. *Pollution: Causes, Effects and Control* 1992, 2nd Ed. Royal Society of Chemistry, 388 p.
- [3] WESTMAN, W. E. *Ecology, Impact Assessment and Environmental Planning* 1985, John Wiley & Sons, 532 p.
- [4] CHIRAS, D. D. *Environmental Science* 1985, Benjamin/Cummings Publishing Company Inc. , 655 p.
- [5] HOGGES, L. *Environmental Pollution* 1977, 2nd Ed. Renhart and Winston, 482 p.
- [6] STUMM, W. ; MORGAN, J. J. *Aquatic Chemistry* 1996, 2nd Ed. John Wiley & Sons, 780 p.
- [7] GÜNTER, D. ; JACKSON, S. E. ; LONGERICH, H. P. ; *Spectrochim. Acta* 54B, 1999, 381.
- [8] KURFÜST, U. *Solid Sample Analysis* 1998, Springer-Verlag, 247 p.
- [9] EBDON L. ; WILKINSON, I. R. ; *J. Anal. At. Spectrom.* 2, 1987, 325.
- [10] MILLER-IHLI, N. J. *Fresenius' J. Anal. Chem.* 337, 1990, 271.
- [11] CABRERA, C. ; MADRID, Y. ; CÁMARA, C. ; *J. Anal. At. Spectrom.* 9, 1994, 1423.
- [12] ARRUDA, M. A. Z. ; GALLEGÓ, M. ; VALCÁRCEL, M. ; *J. Anal. At. Spectrom.* 9, 1994, 657.
- [13] ARRUDA, M. A. Z. ; GALLEGÓ, M. ; VALCÁRCEL, M. *J. Anal. At. Spectrom.* 10, 1995, 55.
- [14] JANUZZI, G. S. B. ; KRUG, F. J. ; ARRUDA, M. A. Z. *J. Anal. At. Spectrom.* 12, 1997, 375.

- [15] BERMEJO-BARRERA, P.; MOREDA-PIÑERO, A.; BERMEJO-BARRERA, A.; *Talanta* 45, 1998, 1147.
- [16] BRADY, D.V.; MONTALVO, J. G.; JUNG, J.; CURRAN, R. A.; *At. Absorpt. Newslett.* 13, 1974, 118.
- [17] BRADY, D. V.; MONTALVO, J. G.; GLOWACKI, G.; PISCIOTTA, A.; *Anal. Chim. Acta* 70, 1974, 448.
- [18] STEPHEN, S. C.; LITTLEJOHN, D.; OTTAWAY, J. M.; *Analyst* 110, 1985, 1147.
- [19] ARRUDA, M. A. Z.; GALLEG0, M.; VALCÁRCEL, M.; *Quim. Anal.* 14, 1995, 17.
- [20] LANGMYR, F. J.; *Analyst* 104, 1979, 993.
- [21] MILLER-IHLI, N. J.; *Anal. Chem.* 64, 1992, 964A.
- [22] MAJIDI, V.; HOLCOMBE, J. A.; *Spectrochim. Acta* 45B, 1990, 753.
- [23] BENDICHO, C.; DE LOSS VOLLEBREGT, M. T. C.; *J. Anal. At. Spectrom.* 6, 1991, 353.
- [24] MILLER-IHLI, N. J.; *J. Anal. At. Spectrom.* 9, 1994, 1129.
- [25] WILLIS, J. B. ; *Anal. Chem.* 47, 1975, 1752.
- [26] FULLER, C. W.; *Analyst* 101, 1976, 961.
- [27] O'REILLY, J. E.; HICKIS, D. G.; *Anal. Chem.* 51, 1979, 1905.
- [28] STUPAR, J.; AJLEC, R.; *Analyst* 107, 1982, 144.
- [29] PETRUCCI, G.; VAN LOON, J. C.; *Fresenius' J. Anal. Chem.* 326, 1987, 345.
- [30] FRY, R. C.; DENTON, M. B.; *Anal. Chem.* 49, 1977, 1413.
- [31] SUDDENDORF, R. F.; BOYER, K. W.; *Anal. Chem.* 50, 1978, 1769.
- [32] WOLCOTT, J. F.; SOBEL, C. B.; *Appl. Spectrosc.* 32, 1978, 591.
- [33] MOHAMED, M.; FRY, R. C.; *Anal. Chem.* 53, 1981, 450.

- [34] RICKWOOD, D. *Centrifugation* 1984, 2nd Ed. IRL Press, Washington (In: MAJIDI, V.; HOLCOMBE, J. A.; *Spectrochim. Acta.* 45B, 1990, 753).
- [35] EBDON, L.; PARRY, H. G. M.; *J. Anal. At. Spectrom.* 2, 1987, 131.
- [36] HOENIG, M.; VAN HOEYWEGHEN, P.; *Anal. Chem.* 58, 1986, 2614.
- [37] MILLER-IHLI, N. J.; *J. Anal. At. Spectrom.* 3, 1988, 73.
- [38] THOMPSON, D. D.; ALLEN, R. J.; *At. Spectrosc.* 2, 1981, 53.
- [39] YOSHIMURA, C.; SHINYA, N.; *Nippon Kogaku Kaishi.* 8, 1987, 1545 (In: BENDICHO, C.; DE LOOS VOLLEBREGT, M. T. C.; *J. Anal. At. Spectrom.* 6, 1991, 353)
- [40] MILLER-IHLI, N. J.; *At. Spectrosc.* 13, 1992, 1.
- [41] DOLINSEK, F.; STUPAR, J.; VRSCAJ, V. J.; *J. Anal. At. Spectrom.* 6, 1991, 653.
- [42] MILLER-IHLI, N. J.; *Fresenius' J. Anal. Chem.* 345, 1993, 482.
- [43] HINDS, M. W.; MOHAN, K.; JACKSON, K. W.; *J. Anal. At. Spectrom.* 3, 1988, 83.
- [44] LÓPEZ-GARCÍA, I.; CORTÉZ, J. A.; HERNÁNDEZ-CÓRDOBA, M.; *Anal. Chim. Acta* 283, 1993, 167.
- [45] MAY, T. W.; KAISER, M. L.; *J. Assoc. Off. Anal. Chem.* 67, 1984, 3.
- [46] SCHLADOT, J. D.; BACKHAUS, F.; BUROW, M.; FRONING, M.; MOHL, C.; OSTAPCZUK, P.; ROBBACH, M.; *Fresenius' J. Anal. Chem.* 345, 1993, 137.
- [47] KRAMER, G. N.; PAUWELS, J.; BELLIARDO, J. J.; *J. Anal. Chem.* 145, 1993, 133 (In: KURFÜST, U. *Solid Sample Analysis* 1998, Springer-Verlag, 247 p.).
- [48] LYNCH, S.; LITTLEJOHN, D.; *J. Anal. At. Spectrom.* 4, 1989, 157.
- [49] HOLCOMBE, J. A.; MAJIDI, V.; *J. Anal. At. Spectrom.* 4, 1989, 423.

- [50] EPSTEIN, M. S.; CARNIRICK, G. R.; SLAVIN, W.; MILLER-IHLI, N. J. ; *Anal. Chem.* 61, 1989, 1414.
- [51] LÓPEZ-GARCÍA, I.; NAVARRO, E.; VIÑAS, P.; HERNÁNDEZ-CÓRDOBA, M.; *Fresenius' J. Anal. Chem.* 357, 1997, 642.
- [52] SOLOMONS, W.; FÖRSTNER, U. *Metals in the Hydrocycle* 1984, Springer-Verlag, 349 p.
- [53] FÖRSTNER, U.; WITTMANN, G. *Metal Pollution in the Aquatic Environment* 1979, Springer-Verlag, 486 p.
- [54] JAMES, R. O. *Effects of Heavy Metals on Aquatic Life* 1978, Common Sci Indus Res Org (In: SOLOMONS, W. ; FÖRSTNER, U. *Metals in the Hydrocycle* 1984, Springer-Verlag, 349 p.).
- [55] MABESOONE, J. M. *Sedimentologia* 1968, Imprensa Universitária da Univ. Federal de Pernambuco, 453 p.
- [56] TERZAGUI, K.; PECK, R.B. *Soil Mechanics in Engineering* 1948, John wiley & Sons (In: SOLOMONS, W. and FORSTNER, U. *Metals in the Hydrocycle* 1984, Springer-Verlag, 349p.)
- [57] RAUDKIVI, A. J. *Loose Boundary Hydraulics* ; 1976, Pergamon-Oxford (In: SOLOMONS, W. and FORSTNER, U. *Metals in the Hydrocycle* 1984, Springer-Verlag, 349p.)
- [58] MANAHAN, S. E. *Environmental Chemistry* 1994, 6th Ed. lewis Publishers, 811 p.
- [59] WILEY, J. D.; FITZGERALD, R.A.; *Canadian J. of Earthy Science* 17, 1980, 254 (In: MOORE, J. W.; RAMAMOORTHY, S. *Heavy metals in Natural Waters. Applied Monitoring and Impact Assessment* 1984, Springer-Verlag, 268 p.).
- [60] BANAT, K.; FÖRSTNER, U.; MULLER, G.; *Chemical Geology* 14, 1974, 199 (In: MOORE, J. W.; RAMAMOORTHY, S. *Heavy metals in*

Natural Waters. Applied Monitoring and Impact Assessment 1984, Springer-Verlag, 268 p.).

[61] MOORE, J. W.; RAMAMOORTHY, S. *Heavy metals in Natural Waters. Applied Monitoring and Impact Assessment* 1984, Springer-Verlag, 268 p.

[62] NRIAGU, J. O.; COKER, R. D.; *Environ. Sci. Technol.* 14, 1980, 443.

[63] RAMAMOORTHY, S.; RUST, B. R.; *Geology* 2, 1978, 165 (In: MOORE, J. W.; RAMAMOORTHY, S. *Heavy metals in Natural Waters. Applied Monitoring and Impact Assessment* 1984, Springer-Verlag, 268 p.).

[64] TESSIER, A.; CAMPBELL, P. G. C.; BISSON, M.; *Canadian J. of Earthy Science* 17, 1980, 90 (In: MOORE, J. W.; RAMAMOORTHY, S. *Heavy metals in Natural Waters. Applied Monitoring and Impact Assessment* 1984, Springer-Verlag, 268 p.).

[65] FULLER, C. W.; *Analyst* 101, 1976, 961.

[66] JACKSON, K. W.; NEWMAN, A. P.; *Analyst* 108, 1983, 261.

[67] HINDS, M. W. ; JACKSON, K. W.; NEWMAN, A. P.; *Analyst* 110, 1985, 947.

[68] HINDS, M. W.; LATIMER, K. E.; JACKSON, K. W.; *J. Anal. At. Spectrom.* 6, 1991, 473.

[69] HOENIG, M.; REGNIER, P.; WOLLAST, R.; *J. Anal. At. Spectrom.* 4, 1989, 631.

[70] SANDOVAL, L.; HERRAEZ, J. C.; STEADMAN, G.; MAHAN, K. I.; *Mikrochim. Acta* 108, 1992, 19.

[71] BERMEJO-BARRERA, P.; MOREDA-PIÑERO, J.; MOREDA-PIÑERO, A.; BERMEJO-BARRERA, A.; *Anal. Chim. Acta* 296, 1994, 181.

[72] KLEMM, W.; BOMBACH, G.; *Fresenius' J. Anal. Chem.* 353, 1995, 12.

[73] LÓPEZ-GARCÍA, I.; SÁNCHEZ-MERLOS, M.; HERNÁNDEZ-CÓRDOBA, M. ; *J. Anal. At. Spectrom.* 11, 1996, 1003.

- [74] LÓPEZ-GARCÍA, I.; SÁNCHEZ-MERLOS, M.; HERNÁNDEZ-CÓRDOBA, M.; *Anal. Chim. Acta* 328, 1996, 19.
- [75] DOBROWOLSKI, R.; *Spectrochim. Acta* 51B, 1996, 221.
- [76] BERMEJO-BARRERA, P.; BARCIELA-ALONSO, M. C.; MOREDA-PIÑERO, J.; GONZÁLEZ-SIXTO, C.; BERMEJO-BARRERA, A.; *Spectrochim. Acta* 51B, 1996, 1235.
- [77] BERMEJO-BARRERA, P.; BARCIELA-ALONSO, M. C.; BERMEJO-BARRERA, A.; *Mikrochim. Acta* 124, 1996, 251.
- [78] LÓPEZ-GARCÍA, I.; SÁNCHEZ-MERLOS, M.; HERNÁNDEZ-CÓRDOBA, M.; *Spectrochim. Acta* 52B, 1997, 437.
- [79] LÓPEZ-GARCÍA, I.; SÁNCHEZ-MERLOS, M.; HERNÁNDEZ-CÓRDOBA, M.; *Spectrochim. Acta* 52B, 1997, 2085.
- [80] SLAVEYKOVA, V. I.; HOENIG, M.; *Analyst* 122, 1997, 337.
- [81] BERMEJO-BARRERA, P.; BARCIELA-ALONSO, C.; GONZÁLEZ-SIXTO, C.; BERMEJO-BARRERA, A.; *Fresenius' J. Anal. Chem.* 357, 1997, 274.
- [82] MIERZWA, J.; YUH-CHANG, S.; MO-HSIUNG, Y.; *Anal. Chim. Acta* 355, 1997, 277.
- [83] MIERZWA, J.; YUH-CHANG, S.; MO-HSIUNG, Y.; *Spectrochim. Acta* 53B, 1998, 63.
- [84] LÓPEZ-GARCÍA, I.; SÁNCHEZ-MERLOS, M.; HERNÁNDEZ-CÓRDOBA, M.; *Mikrochim. Acta* 130, 1999, 295.
- [85] GUNTIÑAS, M. B. C.; MADRID, I.; CÁMARA, C.; *Analyst* 116, 1991, 1029.
- [86] MIERZWA, J.; DOBROWOLSKI, R.; *Spectrochim. Acta* 53B, 1998, 117.
- [87] WILLIAMS, J. G.; GRAY, A. L.; NORMAN, P.; EBDON, L.; *J. Anal. At. Spectrom.* 2, 1987, 469.

- [88] HALICZ, L.; BRENNER, I. B.; *Spectrochim. Acta* 42B, 1987, 207.
- [89] VERBEEK, A.A.; BRENNER, I. B.; *J. Anal. At. Spectrom.* 4, 1989, 23.
- [90] LONG, G. L.; BRENNER, I. B.; *J. Anal. At. Spectrom.* 5, 1990, 495.
- [91] LAIRD, D. A.; DOWDY, R. H.; MUNTER, R. C.; *J. Anal. At. Spectrom.* 5, 1990, 515.
- [92] GERVAIS, L. S.; SALIN, E. D.; *J. Anal. At. Spectrom.* 6, 1991, 41.
- [93] HALICZ, L.; BRENNER, I. B.; YOFFE, O.; *J. Anal. At. Spectrom.* 8, 1993, 475.
- [94] LIAW, M.; JIANG, S.; *J. Anal. At. Spectrom.* 11, 1996, 555.
- [95] CHEN, S.; JIANG, S.; *J. anal. At. Spectrom.* 13, 1998, 1113.
- [96] MAGALHÃES, C. E. C.; PASQUINI, C.; ARRUDA, M. A. Z.; *Lab. Rob. Autom.* 12, 2000, 46.
- [97] BROWN, J. H.; VAZ, J. E.; VELOSA, M.; *Analyst* 120, 1995, 1215.
- [98] LÓPEZ-GARCÍA, I.; ARROYO-CORTÉZ, J.; HERNÁNDEZ-CÓRDOBA, M.; *Talanta* 40, 1993, 1677.
- [99] VIÑAS, P.; CAMPILLO, N.; LÓPEZ-GARCÍA, I.; HERNÁNDEZ-CÓRDOBA, M.; *Anal. Chim. Acta* 283, 1993, 393.
- [100] BAUTISTA, M. A.; PÉREZ-SIRVENT, C.; LÓPEZ-GARCÍA, I.; HERNÁNDEZ-CÓRDOBA, M.; *Fresenius' J. Anal. Chem.* 350, 1994, 359.
- [101] <http://www.ufsm.br/antartica/411.html>
- [102] CAROLI, S.; SENOFONTE, O.; CAIMI, S.; PUCCI, P.; PAUWELS, J.; KRAMER, G. N.; *Fresenius' J. Anal. Chem.* 360, 1998, 410.
- [103] NICOL, S.; DE LA MARE, W. K.; *Am. Sci.* 81, 1993, 36 (In: CAROLI, S. ; SENOFONTE, O.; CAIMI, S.; PUCCI, P.; PAUWELS, J.; KRAMER, G. N.; *Fresenius' J. Anal. Chem.* 360, 1998, 410.).

- [104] ROSS, R. M.; QUETIN, L. B.; *Bioscience* 36, 1986, 264 (In: CAROLI, S. ; SENOFONTE, O.; CAIMI, S.; PUCCI, P.; PAUWELS, J.; KRAMER, G. N.; *Fresenius' J. Anal. Chem.* 360, 1998, 410.).
- [105] CAROLI, S.; SENOFONTE, O.; CAIMI, S.; PAUWELS, J.; KRAMER, G. N.; *Mikrochim. Acta* 123, 1996, 119.
- [106] ENCICLOPÉDIA Delta universal. Ed. Delta; Rio de Janeiro – Brasil, Vol. 9, p. 4716.
- [107] WILBER, C. G. *The Biological Aspects of Water Pollution* 1996, Charles C. Thomas – Publisher, 296 p.
- [108] MANLY, R.; GEORGE, W. O.; *Environ. Pollut.* 14, 1977, 139.
- [109] STENNER, R. D.; NICKLESS, G.; *Nature* 247, 1974, 198 (In: MOORE, J. W.; RAMAMOORTHY, S. *Heavy metals in Natural Waters. Applied Monitoring and Impact Assessment* 1984, Springer-Verlag, 268 p.).
- [110] BOYDEN, C. R.; ROMERIL, M. G.; *Marine Pollut. Bull.* 5, 1974, 74 (In: MOORE, J. W.; RAMAMOORTHY, S. *Heavy metals in Natural Waters. Applied Monitoring and Impact Assessment* 1984, Springer-Verlag, 268 p.).
- [111] LIMA, E. C.; KRUG, F. J.; FERREIRA, A. T.; BARBOSA Jr., F.; *J. Anal. At. Spectrom.* 14, 1999, 269.
- [112] MEERAVALI, N. M.; KUMAR, S. J.; *J. Anal. At. Spectrom.* 13, 1998, 647.
- [113] BERMEJO-BARRERA, P.; ABOAL-SOMOZA, M.; SOTO-FERREIRO, R. M.; DOMÍNGUEZ-GONZÁLEZ, R.; *Analyst* 118, 1993, 665.
- [114] EBDON, L.; FISHER, A. S.; PARRY, H. G. M.; *J. Anal. At. Spectrom.* 5, 1990, 67.
- [115] MADRID, Y.; BONILLA, M.; CÁMARA, C.; *Analyst* 115, 1990, 563.
- [116] MADRID, Y.; BONILLA, M.; CÁMARA, C.; *J. Anal. At. Spectrom.* 4, 1989, 167.

- [117] BIN, H.; ZUCHENG, J.; YUNE, Z.; *Anal. Chim. Acta* 296, 1994, 213.
- [118] RÍO-SEGADE, S.; BENDICHO, C.; *J. Anal. At. Spectrom.* 14, 1999, 1907.
- [119] SMICHOWSKI, P. ; Comunicação Pessoal.
- [120] VODOPIVEZ, C.; CURTOSI, A.; Dirección Nacional del Antártico – *Contribución Científica del Instituto Antártico Argentino N° 459* , 1997.
- [121] RUBESKA, I.; PELIKÁNOVÁ, M.; *Spectrochim. Acta* 33B, 1983, 301.
- [122] PRICE, W. J. *Analytical Atomic Spectrometry* 1978, 2nd Ed. Heyden & Sons Ltd. , 239 p.
- [123] NG, K. C.; CARUSO, J. A.; *Analyst* 198, 1983, 476.